



N° d'ordre :

N° de série :

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE**

UNIVERSITE D'EL-OUED

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLECULAIRE

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Licence Académique

Filière : Biochimie

Spécialité : Biochimie

THEME

**Etude biochimique des antioxydants enzymatiques et non
enzymatiques**

Encadré par:

M^{elle} MEDILA Ifriqya

Présenté par :

ALIA Ouidad

BOUTERA Meriem

HALEM Ferdaous

Année universitaire 2012/2013

Remerciements

Après avoir remercié Dieu le Tout-Puissant et de générosité

Nous tiens à remercier nos encadreur de mémoire: Melle MEDILA

Ifriqya, Enseignante à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie à l'Université d'El-OUED qui n'est épargné aucun effort pour que ce travail s'effectue dans les meilleures conditions. Nous voudrions leur exprimer notre profonde gratitude pour l'accueil bienveillant. Leur soutien s'est avéré déterminant pour mener ce travail à terme.

Nous la remercier également d'être présente parmi les membres de jury de nous travail.

Nous somme particulièrement reconnaissante à Monsieur DEROUICHE Samir, Enseignant à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie à l'Université d'El-OUED, qui est le propriétaire du nous premiers pas dans la recherche, pour leur conseils qui nous servent toujours.

Nous n'oublions pas de remercier: Melle RAMDANE Farah et Melle CHANNA Adala, Des enseignantes à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie à l'Université d'El-OUED pour son aide dans ce travail, et chaque fois que nous avions besoin.

C'est avec un réel plaisir que nous réservons ces lignes en signe de gratitude et de profonde reconnaissance à tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation et à l'aboutissement de ce travail.

Dedicace

J'offre tous mes efforts :

A mes chères parents.

A ma bel grand père "Ben Djadou" .

A mes frères et mes sœurs: Zohra, Samira, Noura, Tahar, Radia, Ambarka, Mohamed, Nour Eddine, Salima.

A mes frères épouses: Mona et Luisa

A mes nièces "surtout : Hadia ,Salah, Kawla, Chayma ; Hoda, Yacine, Toufik," .

A mes collègues de ce travail: Meriem et Ouidad

A mes amies: Radja, Kaira et Asma, Hoda, Naziha, Karima .

A tous les étudiants de la promotion biochimie Appliquée 2013.

Je dis merci avec mon respect a mes professeurs.

Ferdaous

Dédicace

Je dédie cette travail à tous ceux qui me sont chers et pour tout l'amour qu'il me porte Ma mère BELLEHCEN Rachida pour sa tendresse et sa patience, mon père Ammar qui après mon dieu sans lui je ne serais pas là aujourd'hui.

Mes sœurs Yasmina, Salima, Saliha et Nouora,

et mes frères Djamel, Abed elhamide, Ibrahim et Taher,

qui m'ont toujours encouragés, écoutés et priés pour moi.

A Hayate, Salma et Samira

A ma grande famille

A mes amies : Houda, Raja, Oumelkeir, Asma, Naziha, Mona et Nouora, pour tous les moments...

Meriem

Dédicace

A mes chers parents qu'ils trouvent ici toute ma gratitude pour leur soutien tout au long de mon étude.

A mes chers sœurs; Leila, Rachida, Hadjra, Souad, Salima, Nadjet, et mes chers frères; Boubaker et Mohamed, en témoignage de mes sentiments les meilleurs.

A ma chère tante Massouda.

A Mes amis; Asma, Aya, Houda, Meriem, Mouna, Mounia, Nadjet, Naziha, Nora, Oumelkheir, Raja, Rofaida....

A mon régente NOUAR Massouda qui à lui je conservai tous respects et estimation

A Mon camarades, étudiants de la biochimie appliquée et BPV- promotion 2012-2013, sans exclusivement.

Je dédie ce travail

Quidad

ABREVIATIONS

$^1\text{O}_2$: l'oxygène singulet

4HHE : le 4- hydroxyhexenal

AGPI : acide gras polyinsature

AscH⁻ : l'ascorbate

ATM :proteine “*ataxia telangiectasia mutated*”-1-

ATP :adenosine triphosphate

BH4 :tetrahydrobiopterine

CAT: catalase

cCu-Zn SOD : cuivre-zinc superoxyde dismutase cytosolique

CO : monoxyde de Carbone

CoQ10 : forme oxydée d'ubiquinone

CoQ10H2 :forme réduite d'ubiquinone

Cu⁺² : ion cuivre

Cu-Zn SOD: cuivre-zinc superoxyde dismutase

DHA : acide deshydroascorbique

DHLA: acide dihydrolipoique

EC : enzyme commission

EC-SOD : cuivre-zinc superoxyde dismutase extracellulaire

eNOS : monoxyde d'azote synthase endothéliale

ERN : les espèces réactives dérivées de l'azote

ERO : espèces réactives de l'oxygène

FAD : flavine adenine dinucleotide

Fe(IV)=O : oxyferryl

Fe²⁺ : ion ferreux

Fe³⁺ : ion ferrique

FMN : flavine mononucleotide

G6PD : glucose 6-phosphate deshydrogenase

GPx : glutathion peroxydase

GR : glutathion reductase

GSH : glutathion reduit

GSH Synthase : la glutathion synthetase

GSSG : glutathion oxyde

GSSG-R : glutathion oxyde reductase

GST : la glutathion- S-transferase

H₂O₂ : le peroxyde d'hydrogene

HO : heme oxygénase

HOCl : acide hypochloreux

iNOS : monoxyde d'azote synthase inductible

LA : acide lipoique

LDL : low density lipoprotein

MDHA : monodehydroascorbate

Mn SOD : superoxyde dismutase manganese-dependante

mtNOS : monoxyde d'azote synthase mitochondriale

NAD : nicotinamide adenine dinucleotide

NADPH : nicotinamide adenine dinucleotide phosphate

NADPH oxydase : nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxydase

NFκB :nuclear factor κB.

NiSOD :superoxyde dismutase nickel-dependante

nNOS : monoxyde d'azote synthase neuronale

NO⁻ : anion nitroxyl

NO⁺ : cation nitronium

NO[°] : le monoxyde d'azote

NOH L-arginine : N-hydroxy- L-arginine

NOS : nitrique oxide synthase

N-ter : N-terminal

O₂^{°-} : Le Radical Superoxyde

OH⁻ : ion hydroxyle

OH[°] : le radical hydroxyle

ONOO⁻ : peroxy nitrite

ONOOH : Nitroperoxyde

PL : phospholipide

PTD : protein transduction domain

Q : ubiquinone

QH[°] : radical semiquinone

QH₂ : ubiquinol

R[°] : radical d'acide gras

RCIU : retard de croissance intra-uterin

RL : radical libre

RO[°] : le radical alkoxyde

ROO[°] : radical peroxydes

ROOH : hydroperoxyde ou hydroperoxyde lipidique

SOD : superoxyde dismutase

SOR : superoxyde-réductases

UrH[•] : radical d'urate

UrH₂⁻ :urate

UV: ultraviolet

vit. C : vitamine C

vit. E : vitamine E

γGCS :la gamma glutamyl cysteine synthetase

SOMMAIRE

Introduction générale	
CHAPITRE I: LE STRESS OXYDANT	
I.1. Définition	02
I.2. Origine du stress oxydant.....	02
I.2.1. Les radicaux libres	02
I.2.1.1. Nature des radicaux libres	03
I.2.1.1.1. Les espèces réactives dérivées de l'oxygène	03
I.2.1.1.1.1. Ion superoxyde	04
I.2.1.1.1.2. Radical libre hydroxyle.....	05
I.2.1.1.1.3. Le radical peroxyde	06
I.2.1.1.1.4. L'oxygène singulet	06
I.2.1.1.1.5. Autres espèces réactives dérivées de l'oxygène	07
I.2.1.1.2. Les espèces réactives dérivées de l'azote	08
I.2.1.2.Principales sources d'espèces réactives	09
I.2.1.3. Rôle physiologique des radicaux libres	11
I.2.1.3.1. Rôle dans la phagocytose	11
I.2.1.3.2.Rôle dans la communication cellulaire	11
I.2.1.4. Les lésions cellulaires associées aux radicaux libres	13
I.2.1.4.1. Dommages des protéines	14
I.2.1.4.2. Dommages des lipides	15
I.2.1.4.3.Dommage de l'ADN	17
I.3. Stress oxydant et glucotoxicité	18

CHAPITRE II: LES SYSTEMES DE DEFENSE ANTIOXYDANT

II.1. Définition.....	20
II.2. Rôles	20
II.3. Les antioxydants enzymatiques	21
II.3.1. La superoxyde dismutase.....	21
II.3.2. Les superoxyde-réductases	23
II.3.2.1. Classes de superoxyde-réductase	24
II.3.2.2. Le cycle catalytique	27
II.3.3. Glutathion peroxydase	27
II.3.4. La glutathion réductase	29
II.3.5. La catalase	29
II.4. Les antioxydants non enzymatiques	31
II.4.1. Les antioxydants non enzymatiques exogènes.....	31
II.4.1.1. La vitamine C	31
II.4.1.2. La vitamine E	32
II.4.1.3. La vitamine A	34
II.4.1.4. Les caroténoïdes	35
II.4.1.5. Les polyphénols	36
II.4.1.6. Le sélénium	36
II.4.1.7. Le zinc	37
II.4.2. Les antioxydants non enzymatiques endogènes	37
II.4.2.1. Le glutathion	37
II.4.2.2. La bilirubine	38
II.4.2.3. L'acide urique	40
II.4.2.4. L'ubiquinone (coenzyme Q)	40

II.4.2.5. L'acide lipoïque	42
II.5. Balance oxydants-antioxydants.....	42
II.6. Pathologies liées aux variations des antioxydants	44
Conclusion générale	47
Résumé et mots clés	48
Références bibliographiques	49

LISTE DES FIGURES

Numéro	Titre	Page
Figure 1	Déséquilibre du statut pro/ antioxydant favorisant l'état de stress	02
Figure 2	Production de l'anion superoxyde en condition physiologique par la fuite d'électrons de la chaîne respiratoire mitochondriale	05
Figure 3	Les principales sources cellulaires des ERO	07
Figure 4	Illustration de la réaction enzymatique réalisée par la Nitric Oxide Synthase (NOS) à partir de L-Arginine produisant le monoxyde d'azote <i>via</i> un composé intermédiaire le NOH L-Arginine	08
Figure 5	Production de radicaux libres lors de la phagocytose d'une bactérie	11
Figure 6	Rôle des radicaux libres dans la communication cellulaire	13
Figure 7	Cibles biologiques et endommagement oxydatifs induits par les EOR	14
Figure 8	Mécanisme de la peroxydation lipidique	15
Figure 9	Les trois étapes de la peroxydation lipidique	16
Figure 10	Lésions radio-induites de l'ADN	18
Figure 11	Sites d'action des nutriments antioxydants	20
Figure 12	Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants	21
Figure 13	Les différents types de la SOD	23
Figure 14	Site actif de la SOR	24
Figure 15	Structure cristallographique d'un monomère de la SOR de <i>Desulfoarculus baarsii</i> et coordinations de l'atome de fer dans chacun des deux sites	25

Figure 16	Structure cristallographique d'un monomère de la SOR de <i>Pyrococcus furiosus</i>	25
Figure 17	Structure cristallographique d'un monomère de la SOR de <i>Treponema pallidum</i>	26
Figure 18	Comparaison de la structure des trois classes de SORs	26
Figure 19	mécanisme proposé pour la SOR de <i>D. baarsii</i>	27
Figure 20	Structure de l'acide ascorbique (ou vitamine C)	31
Figure 21	Réactions d'oxydoréduction faisant intervenir les différentes formes de la vitamine C	32
Figure 22	Structure de la vitamine E	32
Figure 23	Structure générale de tocophérol	33
Figure 24	régénération du tocophérol (vit. E) par l'acide ascorbique (vit. C)	34
Figure 25	Formules chimiques développées du rétinol (A), rétinol (B), acide rétinolique (C)	34
Figure 26	Structure des principaux caroténoïdes	35
Figure 27	Structures de base des quatre familles des flavonoïdes	36
Figure 28	Structure du glutathion (GSH)	38
Figure 29	Catabolisme de l'hème : mode d'action de l'hème oxygénase et de la biliverdine réductase	39
Figure 30	Structure de l'ion urate	40
Figure 31	Structure chimique des formes réduites (ubiquinol-10), radicalaire (radical ubiquinol) et oxydée (ubiquinone) du CoQ	41
Figure 32	Equilibre des couples redox intracellulaires	43
Figure 33	Régulation redox et stress oxydant	43

LISTE DES TABLEAUX

Numéro	Titre	Page
Tableau 1	Les différentes isoformes de l'oxyde nitrique synthase et leurs caractéristiques chez l'homme	09
Tableau 2	Principales sources des RL (endogènes et exogène)	10
Tableau 3	Différentes caractéristiques des GPxs de mammifères	28
Tableau 4	Structure des composés à action vitaminique E	33

Introduction générale

Introduction générale

L'oxygène représente, après l'azote, le deuxième élément le plus abondant dans l'atmosphère (21%). Il a été caractérisé en 1772-1774 par Lavoisier, un chimiste français.

A l'exception de certains organismes anaérobies et aérotolérants, l'oxygène est nécessaire à tous les animaux, plantes et bactéries pour produire de l'énergie par l'intermédiaire de chaînes de transport d'électrons telles que celle existant dans les mitochondries des cellules eucaryotes (Chatard J., 2003; Gardes-Albert M., 2003). Cependant, quand on oxyde les molécules avec l'oxygène, ce dernier est réduit et forme des intermédiaires radicalaires, très réactifs connus sous le nom espèces réactives de l'oxygène (Milane H., 2004).

Les ERO sont des molécules contenant de l'oxygène mais dont la réactivité est bien supérieure à celle de la molécule d'O₂. Ces ERO comprennent des radicaux tels l'anion superoxyde ou le radical hydroxyle et les espèces non radicalaires telles que le peroxyde d'hydrogène, l'oxygène singulet (Barouki R., 2006 ; Nzengue Y., 2008).

Cette production de ERO peut être amplifiée de façon excessive par différents mécanismes physio-pathologiques (inflammation, activité sportive...) ou facteurs environnementaux (tabac, alcool, médicament, rayons gamma ou ultra-violets...) créant un déséquilibre de la balance prooxydant/antioxydant : c'est le stress oxydant (Garait B., 2006).

Cependant, en guise de protection, les cellules possèdent des mécanismes de défense qui, de manière générale, suffisent à renverser le stress oxydant résultant du métabolisme aérobique et que l'on appelle antioxydants, qui leur permettent de neutraliser les ERO pour les maintenir à un faible taux dans les cellules et par conséquent, empêcher le déclenchement d'un stress oxydant (Fontaine D., 2004 ; Cillard J., 2007 ; Penchev P., 2010).

De ce fait, on a choisis de faire une étude bibliographique sur les systèmes de défences antioxydants et on a précisé leur constituants et faire la mise en évidence de leur mécanisme d'action au sein de notre organisme

Notre travail sera réparti en deux chapitres:

Le premier chapitre détaille le stress oxydant, leur origine et les lésions cellulaires associées aux radicaux libres.

Le deuxième chapitre présente les différents types d'antioxydants et leurs mécanismes d'action.

CHAPITRE I

Le stress oxydant

CHAPITRE I: LE STRESS OXYDANT

I.1. Définition

La terminologie de "stress oxydant" est généralement utilisée pour toute agression environnementale ayant pour conséquence une production accrue d'oxydants, molécules toxiques dérivées de l'oxygène (Souguir D., 2009). Le stress oxydant se définit comme un déséquilibre de la balance entre les systèmes de défenses antioxydants et la production des espèces réactives de l'oxygène (ERO) (figure 1) (Bouldjadj R., 2009), Cette définition ne signale aucun effet délétère d'un tel changement sur la fonction des tissus et n'indique pas l'origine de ce déséquilibre s'il est dû à une augmentation de la production des oxydants ou à une diminution de la capacité réductrice des tissus (Boumaza A., 2009).

L'ERO peuvent provoquer des dommages telles que les altérations au niveau des protéines, l'apparition de cassures au niveau de l'ADN, ou des atteintes de l'intégrité de la membrane cellulaire par l'induction de la peroxydation lipidique (El Ghazouani A., 2007 ; Bouldjadj R., 2009).

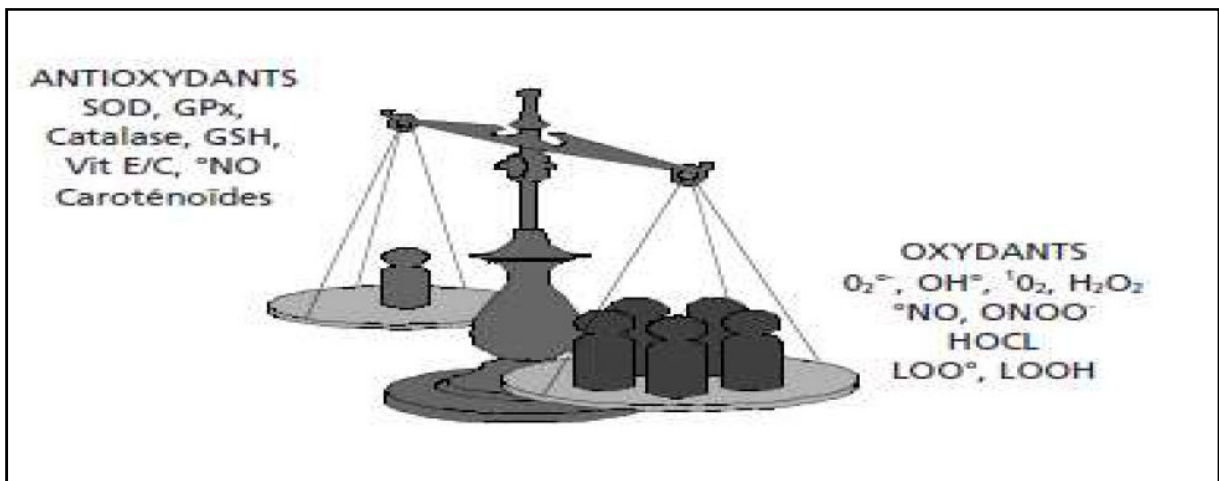


Figure 1 : Déséquilibre du statut pro/ antioxydant favorisant l'état de stress (Bouldjadj R., 2009).

I.2. Origine du stress oxydant

I.2.1. Les radicaux libres

Les RL sont des espèces chimiques indépendantes, atome, molécules où leurs fragments possédant un ou plusieurs électrons célibataires. En toxicologie, les RL sont ceux qui existent dans un état libre et capables d'interagir avec différents composés de tissus (Boumaza A.,

2009). De par sa structure particulière, il a tendance à attirer les électrons d'autres atomes et molécules pour gagner en stabilité (Pastre J., 2005).

Il existe deux grandes voies de formation des radicaux libres :

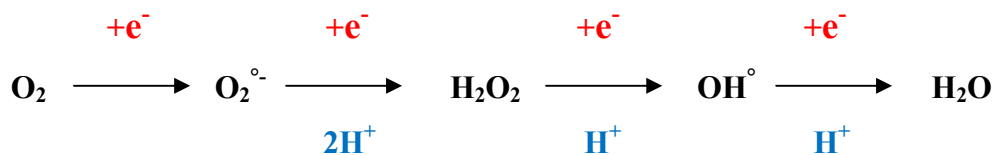
- La première voie consiste en un transfert d'électrons catalysé par les métaux de transition (Fe, Cu), ils transforment H_2O_2 en radical hydroxyle (OH°), encore plus toxique, et accélèrent la peroxydation lipidique.
- La deuxième voie se fait au niveau de la scission homolytique des liaisons covalentes des molécules. Cette voie nécessite de l'énergie qui pourra être fournie par les radiations ionisantes, par la lumière, la chaleur et les ultrasons (Bouhadjra K., 2011).

I.2.1.1. Nature des radicaux libres

I.2.1.1.1. Les espèces réactives dérivées de l'oxygène

L' O_2 possède deux électrons radicalaires non appariés sur sa couche orbitale externe. Cette molécule est essentielle au bon fonctionnement de l'organisme (Pastre J., 2005).

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) résultent de réductions mono-électroniques successives du dioxygène (O_2) aboutissant à la formation d'eau (El Ghazouani A., 2007).



Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer trois groupes :

- **Les radicaux primaires**, qui constituent un ensemble restreint de composés radicalaires et dérivent de l'oxygène par des réductions à un électron tels l'anion superoxyde $\text{O}_2^{\circ-}$ et le radical hydroxyle OH° , ou de l'azote tel le monoxyde d'azote NO° . Ils jouent un rôle particulier en physiologie.
- **Les radicaux secondaires**, se forment par réaction des radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule.
- **D'autres espèces dérivées de l'oxygène**, dites espèces actives de l'oxygène, comme l'oxygène singulet $^1\text{O}_2$, le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou le nitroperoxyde (ONOOH), ne sont pas des radicaux libres, mais sont aussi réactives et peuvent être des précurseurs de certains radicaux (Boumaza A., 2009).

I.2.1.1.1.1. Ion superoxyde

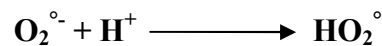
Par sa configuration électronique l'oxygène moléculaire est un radical, il possède en effet deux électrons non appariés, heureusement un blocage cinétique limite sa réactivité ; les spins de ses deux électrons sont parallèles lui attribuant une stabilité relativement grande (Meziti A., 2009).

Ion superoxyde ($O_2^{\circ-}$) est l'espèce la plus couramment générée par la cellule, par réduction d'une molécule d' O_2 . Cette réaction semble surtout catalysée par des NADPH oxydases membranaires (Bouldjadj R., 2009; Chaaya R., 2010).

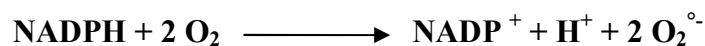
L' $O_2^{\circ-}$ est régulé par des enzymes, les superoxydes dismutases qui catalysent sa dismutation (Bouldjadj R., 2009).

Il peut se former par réaction de l'oxygène avec un électron (généralement cet électron provient d'une fuite au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale) (figure 2) (Vibet S., 2008; Bouldjadj R., 2009; Chaaya R., 2010).

L' $O_2^{\circ-}$ est relativement peu réactif, il peut agir en solution aqueuse comme base, en devenant un accepteur d' H^+ selon la réaction suivante:



La NADPH oxydase est également une source importante d'anion superoxyde:



Le radical superoxyde est moins réactif que l'hydroxyle, mais leur durée de vie est longue (de l'ordre de la dizaine de seconde) et peut diffuser loin de son lieu de production (Vibet S., 2008 ;Chaaya R., 2010).

Il joue un rôle très important dans la génération de d'autre radicaux libres tels que Le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , le radical hydroxyle OH° , et l'oxygène singulet $^1O_2^{\circ}$ (Hamadi N., 2010):



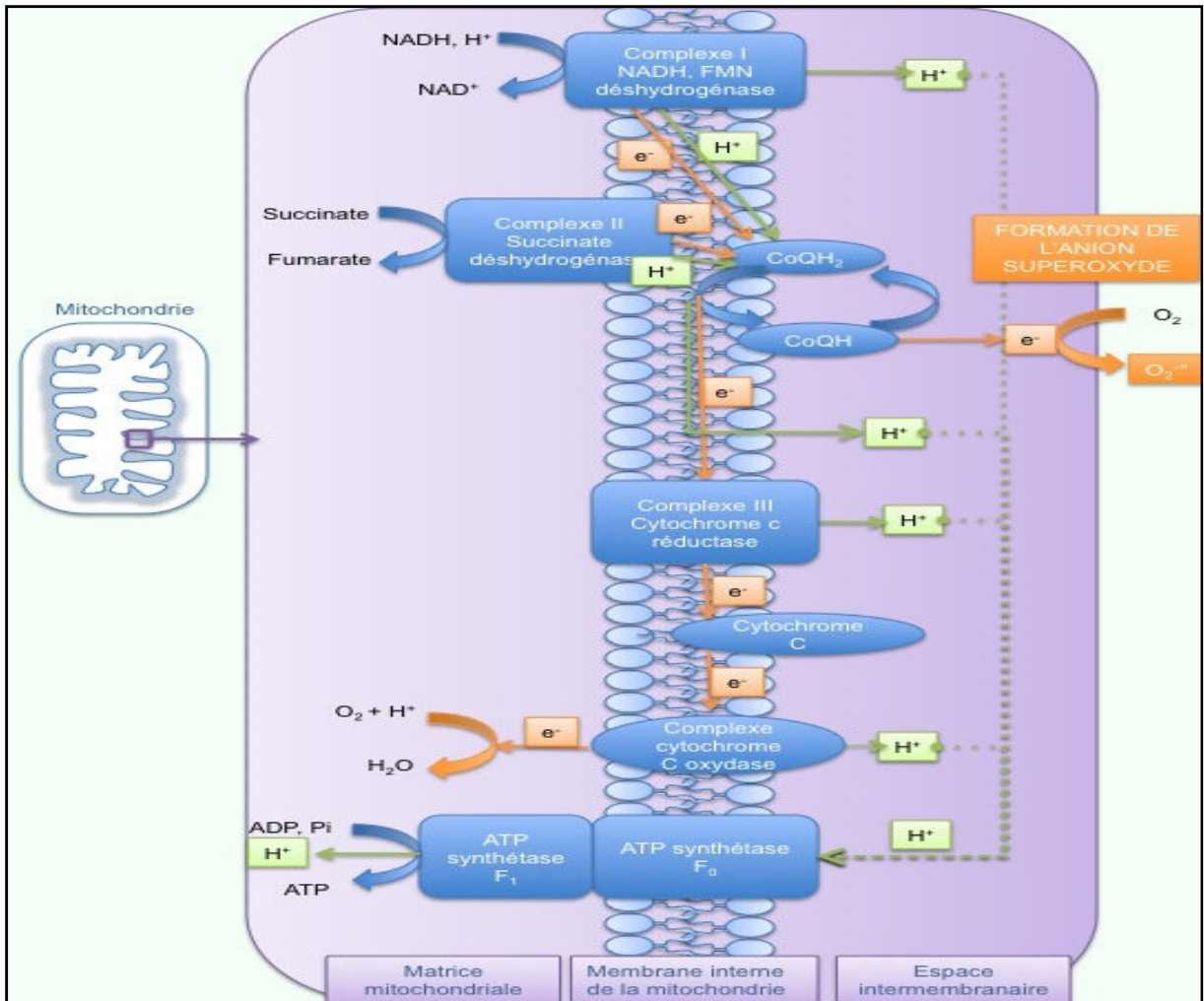
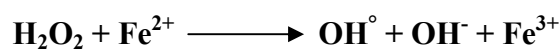


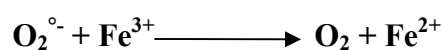
Figure 2 : Production de l'anion superoxyde en condition physiologique par la fuite d'électron de la chaîne respiratoire mitochondriale (Vibet S., 2008).

I.2.1.1.1.2. Radical libre hydroxyle

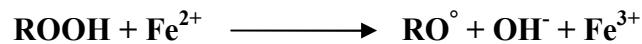
Le radical hydroxyle est le plus réactif des radicaux libres oxygénés. Il est particulièrement délétère vis-à-vis des matériaux biologiques et se forme par la réaction de Fenton (El Ghazouani A., 2007; Meziti A., 2009; Chaaya R., 2010; Hamadi N., 2010), selon cette dernière, l'H₂O₂ se décompose, en présence d'ions ferreux (Fe²⁺), en un ion OH⁻ et un radical hydroxyle (OH[•]) (Garait B., 2006).



Cette réaction s'interrompt rapidement par épuisement du fer ferreux, excepté en présence d'anion superoxyde (O₂^{•-}) qui régénère Fe³⁺ en Fe²⁺ selon la réaction d'Haber-Weiss (Garait B., 2006; El Ghazouani A., 2007; Meziti A., 2009; Chaaya R., 2010).



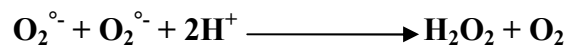
Dans l'oxydation des lipides, la réaction de Fenton peut s'écrire de la manière suivant (Bouhadjra K., 2011) :



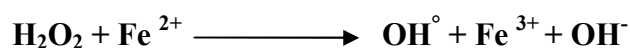
L' OH° , avec une demi-vie de l'ordre de la nanoseconde, est la plus instable et la plus réactive de toutes les espèces dérivées de l'oxygène. La diffusion limitée de ce radical lui permet de réagir avec de nombreuses espèces moléculaires se trouvant à proximité (protéines, lipides, ADN...) entraînant ainsi de multiples dommages cellulaires. L' OH° apparaît comme l'espèce radicalaire ayant un rôle majeur dans la cytotoxicité des ERO (Garait B., 2006 ; Meziti A., 2009).

I.2.1.1.1.3. Le radical peroxyde

Le peroxyde d'hydrogène est un produit plus stable que les produits qui lui donnent naissance (Hamadi N., 2010), mais diffusible. Il est généré dans le peroxysome, les microsomes et les mitochondries par une réaction de dismutation (Bouldjadj R., 2009).



Ce n'est pas un radical libre à proprement parler mais une molécule car tous ses électrons périphériques sont appariés. Cependant, il peut générer des radicaux hydroxyles OH° en présence de cations métalliques tels que Fe^{2+} (réaction de Fenton) ou Cu^{2+} (Pastre J., 2005 ; Meziti A., 2009).



Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) se forme par la dismutation d' $\text{O}_2^{\circ-}$ spontanée ou catalysée par les superoxydes dismutases est la source majeure de l' H_2O_2 .

Contrairement à l'anion superoxyde, le peroxyde d'hydrogène est capable de traverser les membranes des cellules et des organites cellulaires pour engendrer des dommages loin de son site de production (Meziti A., 2009 ; Chaaya R., 2010 ; Hamadi N., 2010).

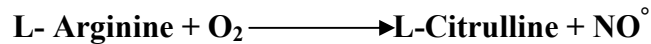
À côté de la SOD, il existe d'autres enzymes produisant H_2O_2 , comme les oxydases présentes particulièrement dans les peroxysomes (Meziti A., 2009).

I.2.1.1.1.4. L'oxygène singulet

Forme excitée de l'oxygène moléculaire, est souvent assimilée à un radical libre en raison de sa forte réactivité (Bouldjadj R., 2009). Lorsque de l'énergie est apportée à l'oxygène,

I.2.1.1.2. Les espèces réactives dérivées de l'azote

À côté des EROs, il existe des espèces réactives nitrogenées. Concernant les ERN, le monoxyde d'azote (NO°) est une petite molécule qui contient un électron non apparié. Il est généré dans différents types cellulaires : les cellules endothéliales, les macrophages, les cellules du foie et les neurones. Il est synthétisé naturellement par l'organisme à partir de la L-arginine et de l'oxygène, par une enzyme spécifique l'oxyde nitrique synthase ou NOS (figure 4) selon la réaction (Belkheiri N., 2010 ; Chaaya R., 2010):



Cette réaction dépend de nombreux co-facteurs : NADPH, FAD, FMN, BH4 (tetrahydrobioptérine) et du fer (Chaaya R., 2010).

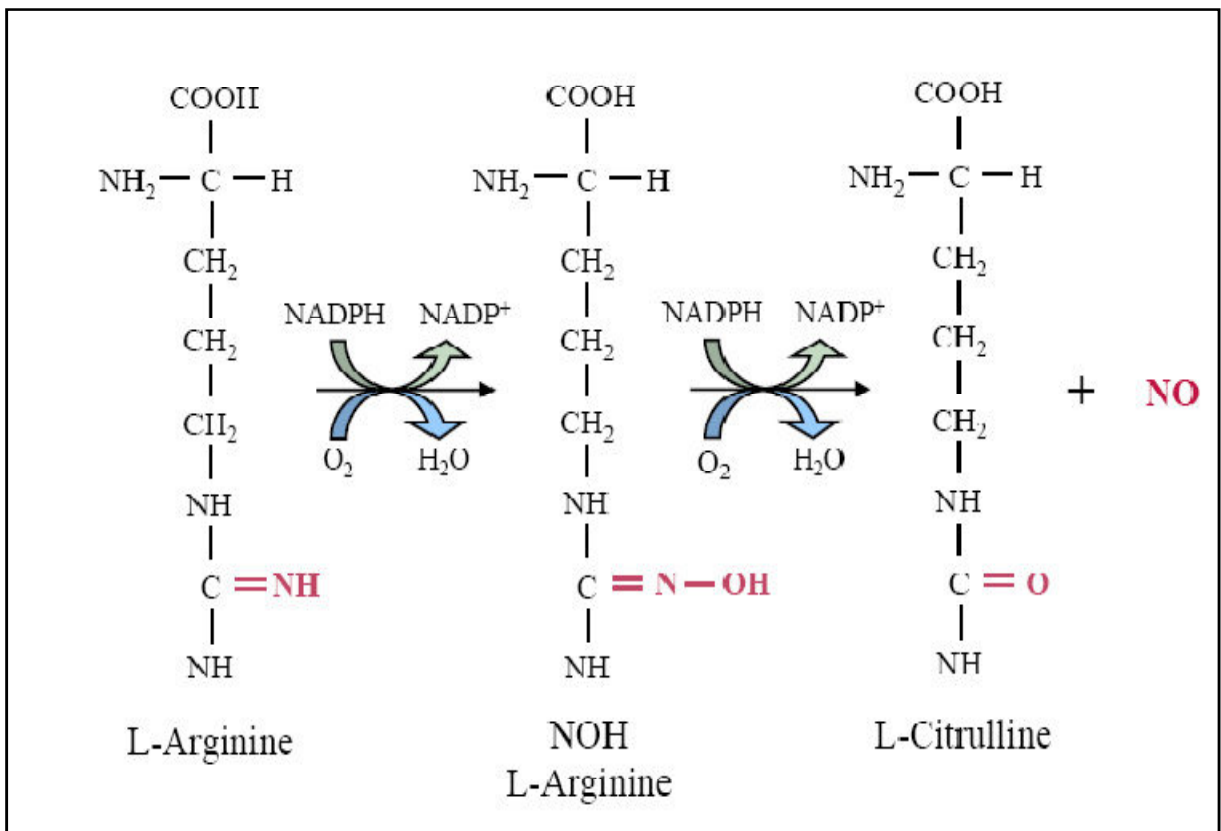


Figure 4: Illustration de la réaction enzymatique réalisée par l'oxyde nitrique synthase (NOS) à partir de L-Arginine produisant le monoxyde d'azote *via* un composé intermédiaire le NOH L-Arginine (Chabory E., 2009).

Le NOS peut être mitochondriale (mtNOS), neuronale (nNOS), endothéliale (eNOS), ou inductible (iNOS) et elle requiert du Ca^{2+} pour son activité (tableau 1) (Chabory E., 2009 ; Chaaya R., 2010 ; Yzydorczyk C., 2011).

Tableau 1: Les différentes isoformes de l'oxyde nitrique synthase et leurs caractéristiques chez l'homme. NA: non applicable.

	nNOS	eNOS	iNOS	mtNOS
Expression	Constitutive	Constitutive	inductible	Constitutive
Lieu d'expression	Neurone	Cellules endothéliales	Macrophage, Cellules endothéliales, hépatocytes, fibroblastes	Mitochondrial
Ca²⁺ dépendant	oui	Oui	non	oui
Inducteurs	NA	NA	Hypoxie, TNF α , Il-1	NA

(Chabory E., 2009)

Même si le NO $^{\circ}$ n'est pas une ERO, il réagit avec O $_2^{\circ-}$, produisant un puissant agent oxydant, le peroxy-nitrite (ONOO $^{\circ}$). Dépendamment du microenvironnement, le NO $^{\circ}$ peut être également converti en cation nitronium (NO $^+$) ou en anion nitroxyl (NO $^-$) (Yzydorczyk C., 2011).

Par ailleurs, il est bien établi que le NO $^{\circ}$ est une molécule de signalisation clé puisqu'il favorise la relaxation endothéliale, régule le tonus vasculaire et participe à la transduction du signal au niveau neuronal. Le radical NO $^{\circ}$ est la seule espèce radicalaire contenant un atome d'azote qui, dans les conditions aérobiques est capable de réagir avec l'oxygène moléculaire pour donner naissance au dioxyde d'azote ou nitrite (NO $_2^{\circ}$) et au nitrate (NO $_3^{\circ}$). Du fait de son grand pouvoir oxydant, le NO $_2^{\circ}$ est impliqué dans plusieurs voies oxydatives, incluant la peroxydation lipidique au sein des molécules de cholestérol (LDL) en circulation et la formation de résidus de nitrotyrosine (Yzydorczyk C., 2011).

Le NO $^{\circ}$ peut être responsable de pathologies, telles que certaines maladies auto-immunes, l'asthme, et l'hypertension (Chabory E., 2009).

I.2.1.2. Principales sources d'espèces réactives

La production cellulaire des ERO/ERN est physiologique et continue *via* différents processus incluant le transfert mitochondrial d'électrons (cytochrome C), l'activation des cellules phagocytaires (NADPH oxydase), l'activation de certaines enzymes (oxydases) localisées dans différents compartiments cellulaires, le métabolisme intracellulaire des toxines et drogues (cytochrome P $_{450}$, mono-oxygénases) et l'exposition à des facteurs environnementaux (ex : exposition aux rayons ultra-violet). Des oxydants tels que l'H $_2$ O $_2$ et

le ONOO⁻, même s'ils ne possèdent pas d'électrons non appariés, peuvent être générés au niveau cellulaire et comme mentionné précédemment, agir en qualité de pro-oxydants. Au niveau du mur vasculaire, plusieurs enzymes et systèmes enzymatiques peuvent produire des ERO. On en trouve principalement quatre : la chaîne respiratoire mitochondriale, la NADPH oxydase, la xanthine oxydase et l'oxyde nitrique synthase endothéliale (eNOS). D'autres ont un rôle plus secondaire telles que la cytochrome P₄₅₀ mono-oxygénase, la cyclo-oxygénase et la lipoxygénase (tableau 2) (Pastre J., 2005 ; Boumaza A., 2009 ; Yzidorczyk C., 2011).

Tableau 2 :Principales sources d'espèces réactives (endogènes et exogène).

Sources endogènes	Sources exogènes
- NADPH oxydase.	- Toxiques environnementaux.
- Chaîne respiratoire mitochondrial.	- Radiations ionisants.
- Peroxysomes.	- Radiations UV.
-Cytochrome P ₄₅₀ .	- Champs électriques.
-Cyclo-oxygénases.	- Xénobiotiques prooxydants.
- Lipo- oxygénases.	- Cytokines pro inflammatoires.
- Phagocytes.	- Tabagismes.
- Réactions des ions de transition.	- Chimiothérapie.
- Inflammation.	- Ozones.
- Etat d'ischémie-reperfusion.	
- Atherogénèse.	
- Hémodialyse.	
- Exercices intensifs.	

(Boumaza A., 2009)

On dit que la source principale des radicaux libres au cours des états d'hyperglycémie est bien la mitochondrie par l'intermédiaire de sa chaîne respiratoire. Le taux élevé du glucose favorise un gradient électrochimique (de protons) au niveau de la membrane interne mitochondriale suite à une activation des donneurs d'électrons du cycle des acides tricarboxyliques, ce qui induit une forte production de l'anion superoxyde (Boumaza A., 2009).

I.2.1.3. Rôle physiologique des radicaux libres

I.2.1.3.1. Rôle dans la phagocytose

Les radicaux libres jouent un rôle essentiel dans le bon déroulement de la réaction immunitaire (Pastre J., 2005 ; Bouldjadj R., 2009). Ils sont produits par les cellules phagocytaires pour être utilisés dans la lutte contre les bactéries. Après sa phagocytose par un macrophage, une bactérie se retrouve dans une vésicule appelée phagosome (Pastre J., 2005). Au sein du phagosome, l'activation de la NADPH oxydase et l'action des superoxydes dismutases (SOD) et NO synthase (NOS) aboutissent à un mélange très corrosif de $O_2^{\circ-}$, H_2O_2 , HO° , $ONOOH$, avec en plus dans le polynucléaire $HOCl$ et $^1O_2^{\circ}$ (Bouldjadj R., 2009). Celui-ci va fusionner avec un lysosome pour donner un phago-lysosome. Alors, une succession de réactions appelées « explosion respiratoire » a lieu. Son but est de générer des oxydants bactéricides (H_2O_2 , $O_2^{\circ-}$, $^{\circ}OH$, NO) (figure 5) (Pastre J., 2005).

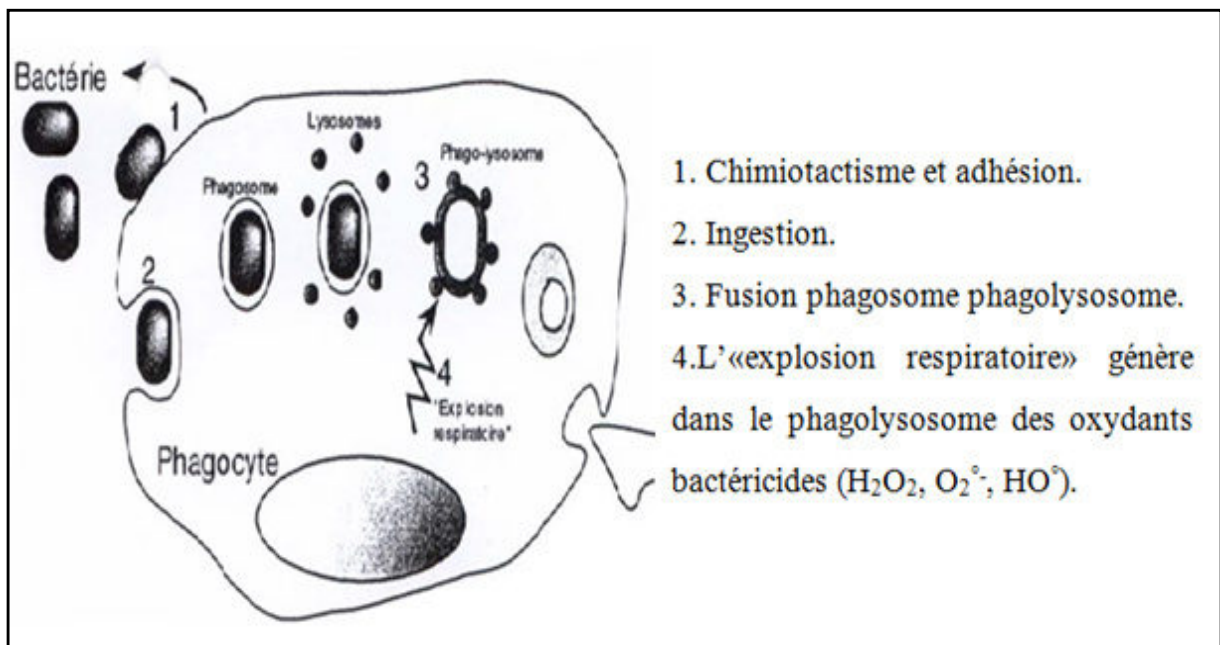


Figure 5: Production de radicaux libres lors de la phagocytose d'une bactérie (Pastre J., 2005).

I.2.1.3.2. Rôle dans la communication cellulaire

Les ERO peuvent agir en tant que « molécule-signal » et ainsi intervenir dans la communication intracellulaire et intercellulaire. Ils participent à l'expression de certains gènes et à leur régulation. Cela leur confère un rôle important dans les phénomènes de croissance et de mort cellulaire (Pastre J., 2005 ; Bouldjadj R., 2009).

Les mécanismes de communication cellulaire faisant intervenir les radicaux libres ne sont pas encore élucidés. Les principes généraux sont présentés sur la figure 6. En résumé:

- les radicaux libres joueraient un rôle dans la régulation de l'expression des gènes. La présence de radicaux libres dans le milieu extracellulaire est à l'origine de l'activation de certains facteurs de transcription par des mécanismes encore mal compris. Il en résulte ensuite l'expression des gènes correspondants.
- les radicaux libres extracellulaires peuvent interagir avec certains récepteurs membranaires et les activer. Ils sont ensuite à l'origine d'un signal cellulaire.
- les radicaux libres peuvent intervenir en tant que second messenger intracellulaire. La fixation d'un ligand extracellulaire sur son récepteur membranaire est à l'origine d'une succession de réactions conduisant à la genèse de ERO.
- Les antioxydants pourraient intervenir dans ces mécanismes et moduler la transmission du signal et l'expression des gènes. Par exemple, en piégeant les radicaux libres, ils coupent court à toute la chaîne de réactions qui conduisait à l'activation de gènes. Or, les messages cellulaires faisant intervenir les ERO sont impliqués, en particulier, dans les phénomènes de croissance cellulaire, d'apoptose et, éventuellement, dans les phénomènes de cancérogenèse (Pastre J., 2005 ; Bouldjadj R., 2009).

Les antioxydants, en bloquant ces types de messages, pourraient influencer la multiplication cellulaire. De plus amples recherches sont nécessaires avant de savoir si l'utilisation des antioxydants peut être bénéfique (Pastre J., 2005).

De plus, ce type de communication cellulaire semble faire intervenir des mécanismes spécifiques. N'importe quel antioxydant n'est donc pas capable de modifier ces réactions. C'est pourquoi il faut déjà bien comprendre les mécanismes de communication cellulaire faisant intervenir les ERO, pour voir s'il est, à la fois, possible et bénéfique de les modifier avec des antioxydants (Pastre J., 2005).

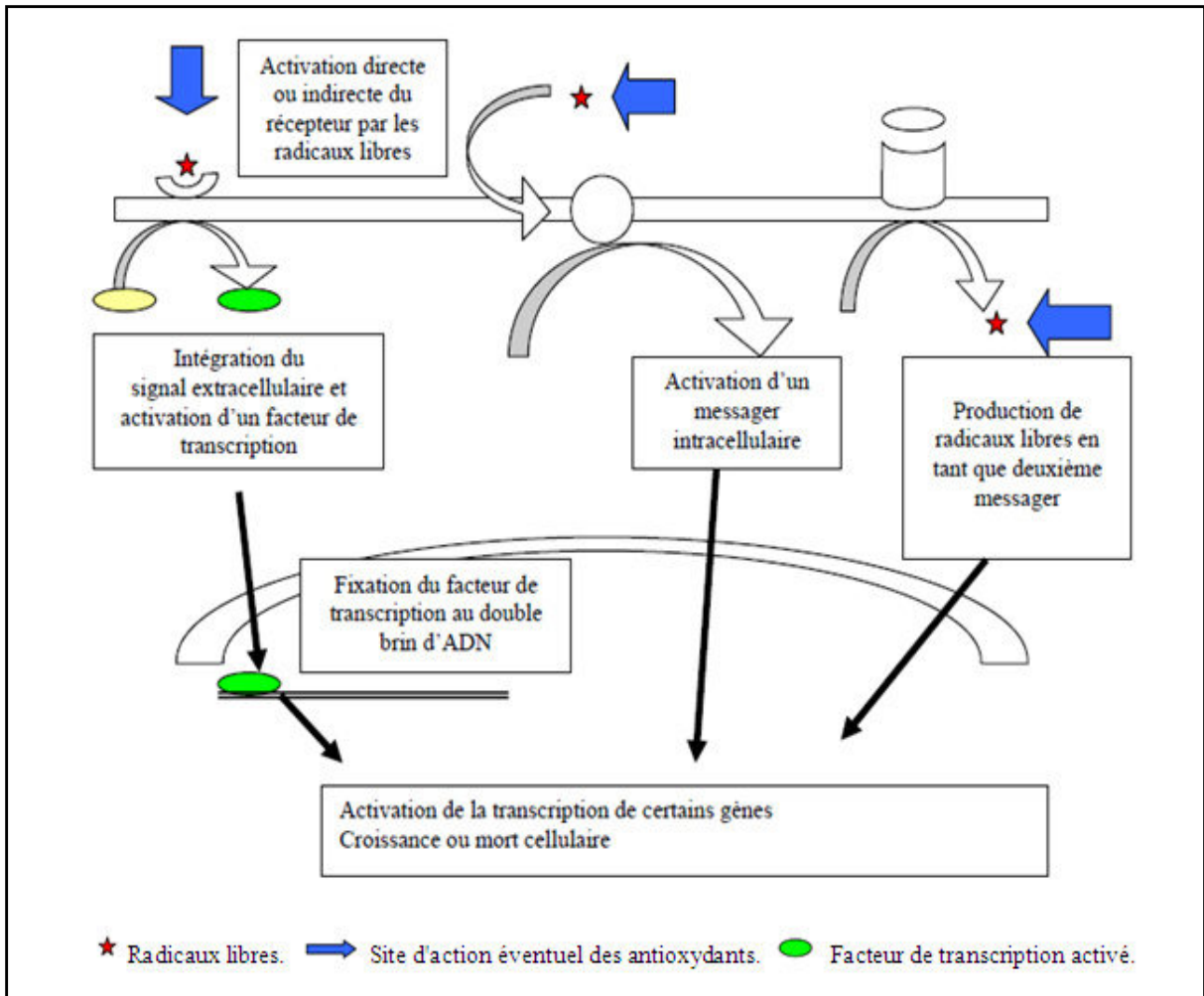


Figure 6: Rôle des radicaux libres dans la communication cellulaire (Pastre J., 2005).

I.2.1.4. Les lésions cellulaires associées aux radicaux libres

En plus des fonctions biologiques, la réactivité particulière des ERO ajoute des propriétés toxiques et diversifiées (Boumaza A., 2009).

Dans le cas où les systèmes de défense ont été dépassés, les radicaux s'attaquent aux macromolécules biologiques dans l'environnement direct de leur lieu de production. Les radicaux étant très réactifs et ayant donc une durée de vie courte, toutes les molécules biologiques possédant des doubles liaisons sont susceptibles d'être touchées et des produits de dégradation sont engendrés (bases oxydées et coupures de l'ADN nucléaire et mitochondrial, produits de peroxydations lipidiques, protéines oxydées, cholestérol oxydé). Ces produits de dégradation ont une durée de vie plus longue et certains d'entre eux peuvent entraîner l'activation ou la répression de gènes (ATM, NFκB, AP1, c-jun, c-fos...) (figure 7) (Laurent C., 2005).

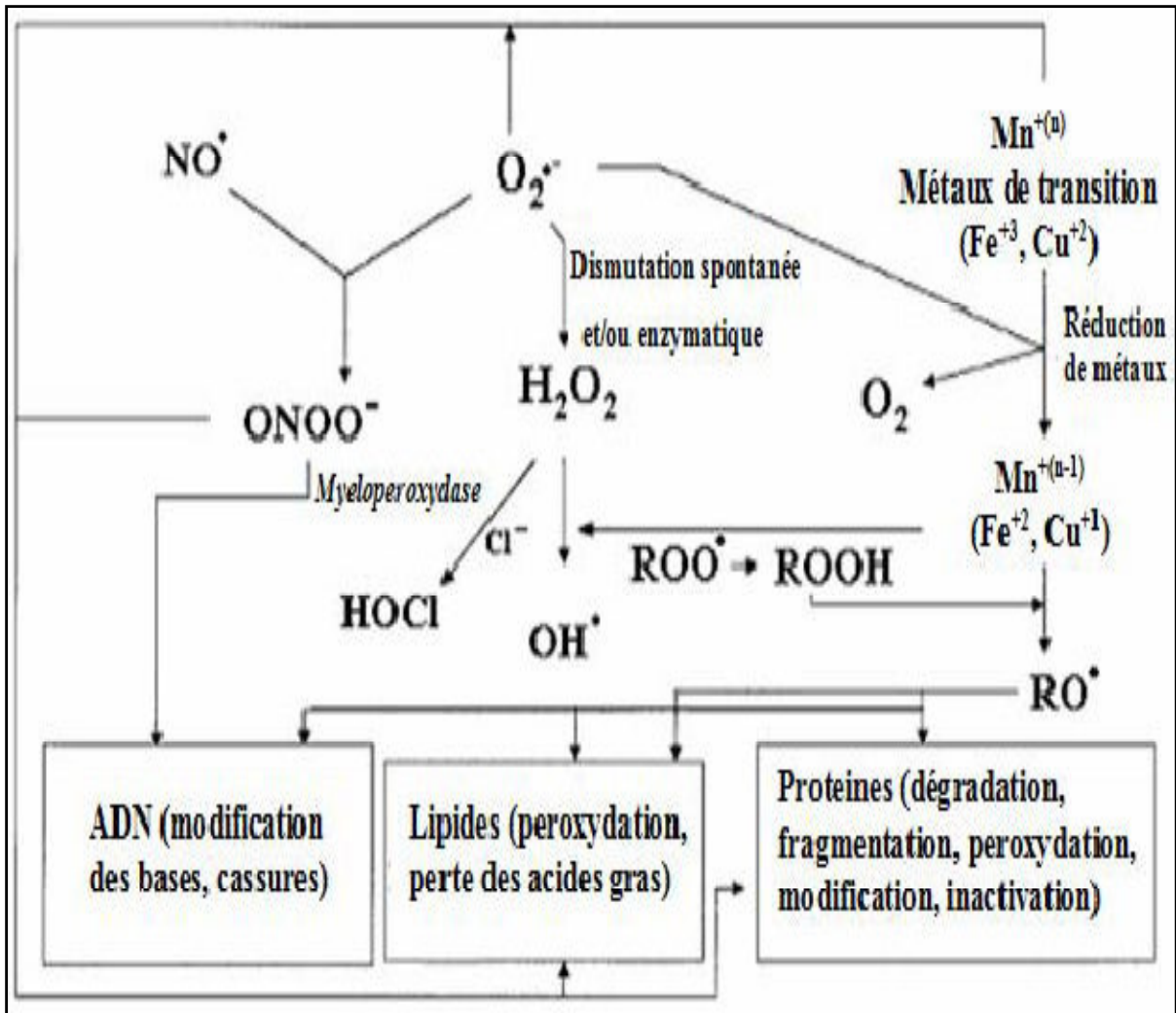


Figure 7 : Cibles biologiques et endommagement oxydatifs induits par les EOR (Meziti A., 2009).

I.2.1.4.1. Dommages des protéines

Les protéines sont aussi des cibles pour les ERO en particulier certains acides aminés comme la cystéine, la méthionine, la tyrosine (Boumaza A., 2009), tryptophane (sont les plus sensibles) (Meziti A., 2009), l'histidine, la proline, l'arginine et la lysine (Hamadi N., 2010), soit au niveau de leur chaîne latérale, avec formation de produits d'oxydations, soit au niveau de la liaison peptidique, entraînant la fragmentation de la chaîne (Meziti A., 2009).

Lors d'un stress oxydatif important, les cellules sont incapables d'éliminer par protéolyse les protéines oxydées accumulées, ce qui conduit aux dégâts protéiques observés dans le diabète. Les deux principaux marqueurs biologiques de l'oxydation des protéines sont la formation de carbonyles protéinés et de groupes nitrotyrosines (Garait B., 2006 ; Hamadi N., 2010).

I.2.1.4.2. Dommage des lipides

Les premières cibles des ERO sont les lipides, notamment ceux présents dans les membranes cellulaires et subcellulaires (Garait B., 2006). Les membranes riches en les acides gras mono- et polyinsaturés (AGPI) (Pastre J., 2005 ; Garait B., 2006), comme l'acide linoléique ou l'acide arachidonique sont les cibles privilégiées des ERO (Boumaza A., 2009 ; Meziti A., 2009) (en raison de leurs hydrogènes bis allyliques facilement oxydables) qui conduisent à la formation des radicaux et des peroxydes lipidiques (figure 8) (Garait B., 2006 ; Boumaza A., 2009 ; Meziti A., 2009).

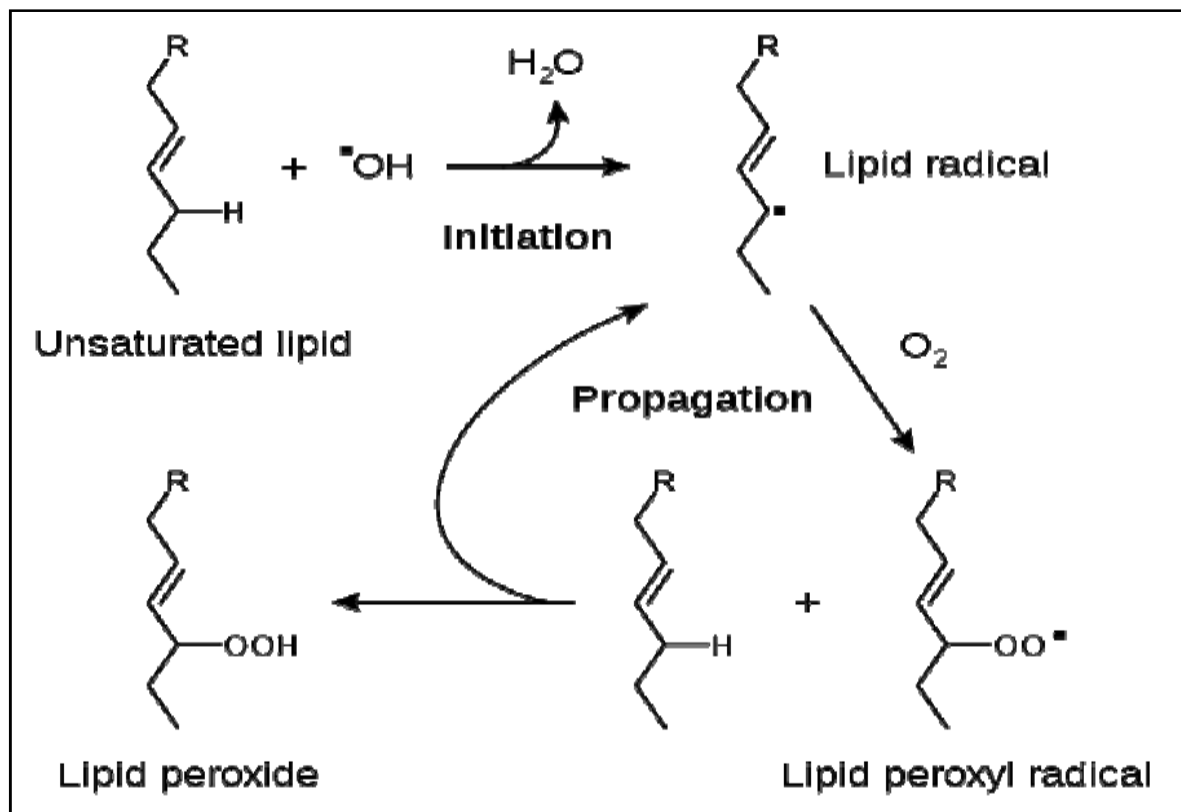


Figure 8: Mécanisme de la peroxydation lipidique (Boumaza A., 2009).

Les produits d'oxydation formés peuvent participer en tant que second messager à la régulation de fonctions métaboliques, de l'expression des gènes et de la prolifération cellulaire. Ils peuvent aussi, et surtout, se comporter comme des substances toxiques responsables des dysfonctionnements et d'altérations cellulaires (perte d'acides gras polyinsaturés, diminution de la fluidité membranaire, modification de l'activité des enzymes et des récepteurs membranaires, libération du matériel à partir du compartiment subcellulaire) (Meziti A., 2009).

La peroxydation lipidique, se déroule commesuivante (illustrées par la figure 9) (Meziti A., 2009):

Premièrement, l'initiation: l'attaque par un radical OH^\bullet du groupement méthylène présent entre deux doubles liaisons d'acide gras polyinsaturés produit un radical carboné R^\bullet (OH^\bullet enlève un atome d'hydrogène du CH_2 puis les doubles liaisons subissent un réarrangement moléculaire conduisant à la formation de diènes conjugués), en présence d' O_2 le radical carboné est transformé en radical peroxyde RO_2^\bullet (Meziti A., 2009 ; Hamadi N., 2010).

Deuxièmement, la propagation: le radical RO_2^\bullet enlève un hydrogène à un nouvel AGPI voisin qui à son tour produira un radical R^\bullet puis un radical RO_2^\bullet , une réaction en chaîne s'installe. En présence de métaux de transitions, les hydroperoxydes formés peuvent soit être réduits et neutralisés par la glutathion peroxydase (Hamadi N., 2010), soit subir un clivage au niveau des liaisons C-C pour donner naissance à divers produits de décompositions (aldéhydes, acides et alcanes volatiles) (Meziti A., 2009 ; Poaty-Poaty B., 2009).

Troisièmement, la terminaison : cette phase consiste à former des composés stables issus de la rencontre entre deux espèces radicalaires ou le plus souvent par la réaction d'un radical avec une molécule antioxydante dite "briseur de chaîne" (Meziti A., 2009 ; Poaty-Poaty B., 2009).

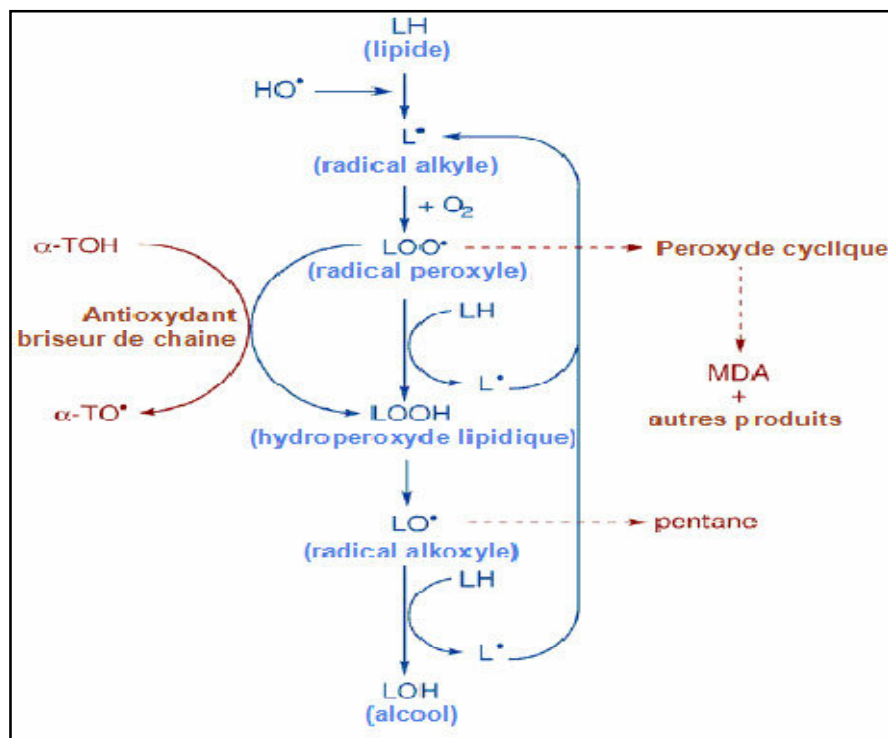


Figure 9: Les trois étapes de la peroxydation lipidique (Meziti A., 2009).

Cette attaque des lipides peut concerner aussi bien les phospholipides (PL) membranaires que les lipoprotéines circulantes, avec des conséquences différentes (Hamadi N., 2010 ; Pastre J., 2005). En effet, l'atteinte des PL entraîne une modification de la fluidité membranaire, altère les systèmes de transfert d'ions, ainsi que le fonctionnement de nombreux transporteurs, récepteurs et affecte les voies de transduction des signaux (Hamadi N., 2010).

I.2.1.4.3. Dommage de l'ADN

Le stress oxydant étant principalement d'origine mitochondriale, ces organites sont les premières cibles des ERO (Decarroz et *al.*, 1986 ; Garait B., 2006). En effet, le génome mitochondrial présente une susceptibilité au stress oxydant qui est 10 fois supérieure à celle du génome nucléaire (Ward, 1985 ; Garait B., 2006). Les mécanismes explicatifs proposés sont:

- L'absence d'histones protectrices autour de l'ADN mitochondrial.
- Sa localisation proche de la membrane interne.
- Des mécanismes de réparations frustrés.
- Une structure circulaire sans introns augmentant statistiquement le risque de mutations pathogènes (Garait B., 2006).

Les fonctions de la mitochondrie sont donc particulièrement exposées aux dommages oxydatifs provoquant principalement une diminution de la synthèse d'ATP (Pastre J., 2005 ; Garait B., 2006). Les modifications de l'expression du programme génétique de la cellule peuvent être à l'origine d'un cancer (Pastre J., 2005).

Le spectre des lésions de l'ADN est large: modifications des bases puriques et pyrimidiques, perte de bases « sites abasiques », cassures simple- ou double-brins, altérations des sucres (2-désoxyriboses) et aussi pontages ADN-protéines (figure 10) (Cadet et *al.*, 2003 ; Garait B., 2006 ; Meziti A., 2009).

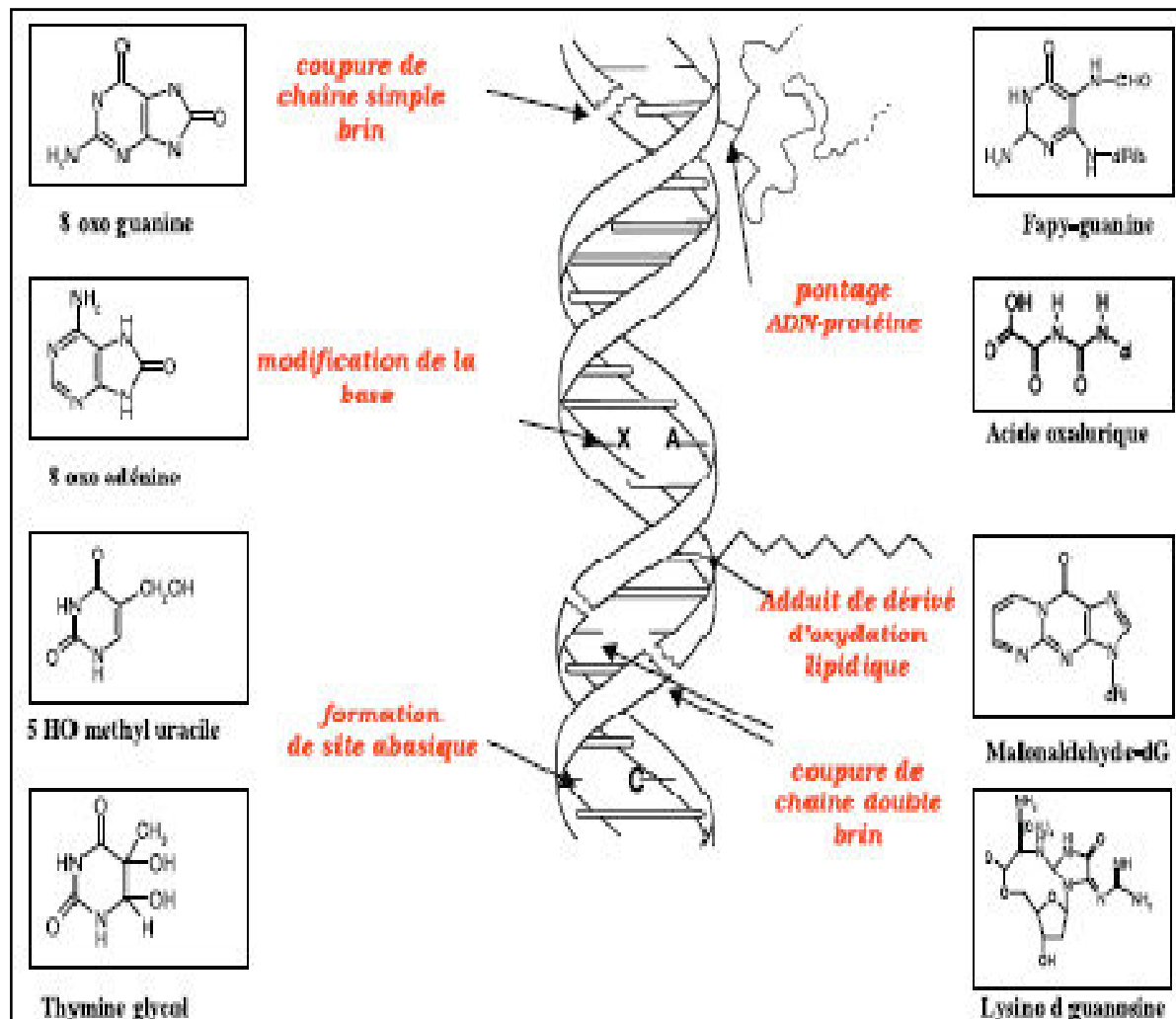


Figure 10: Lésions radio-induites de l'ADN (Favier A., 2003).

I.3. Stress oxydant et glucotoxicité

Le stress oxydatif semble être largement impliqué dans le développement du diabète et les complications associées. En fait, il a été démontré que la génération de ERO est 5 fois plus élevée chez les patients atteints de diabète de type 1 et 2 que chez les patients sains. Il est également impliqué dans le développement de la résistance à l'insuline induite par l'hyperglycémie chronique dans plusieurs tissus. En effet, l'incubation chronique d'adipocytes en présence de fortes concentrations de glucose induit l'augmentation des marqueurs du stress oxydatif et il a également été mis en évidence que le stress oxydatif inhibait la translocation du récepteur au glucose GLUT-4 à la membrane plasmique dans la lignée cellulaire 3T3-L1 (lignée d'adipocytes de rat), induisant ainsi une augmentation de la résistance à l'insuline dans ces cellules (Papin J., 2009).

L'importance majeure de la glucotoxicité est maintenant bien établi comme une condition favorisant la production des ERO et ERN avec une diminution de la capacité antioxydante cellulaire (Yzydorczyk C., 2011).

Enfin, les stress oxydatif induit par l'hyperglycémie est impliqué dans le développement de nombreuse pathologies associées au diabète telles que des altérations du système vasculaire mais également l'apparition de rétinopathies, neuropathies ou néphropathies (Papin J., 2009).

CHAPITRE II

Les systèmes de défense
antioxydant

CHAPITRE II: LES SYSTEMES DE DEFENSE ANTIOXYDANT

II.1. Définition

Le terme "antioxygène" fut assez promptement remplacé par l'expression d'origine anglo-saxonne "antioxydant" (Souguir D., 2009).

Du point de vue de la terminologie, ils ont successivement utilisé les termes « inhibiteurs », « antioxydants », puis « antioxygènes ». Le terme « antioxygène » désigne des substances qui, ajoutées à faible dose à des matières spontanément oxydables à l'air, sont capables d'empêcher l'action de l'oxygène libre, communément appelée *autoxydation* (Boumaza A., 2009). Ces substances cellulaires peuvent être enzymatiques ou non-enzymatiques (figure 11) (Souguir D., 2009).

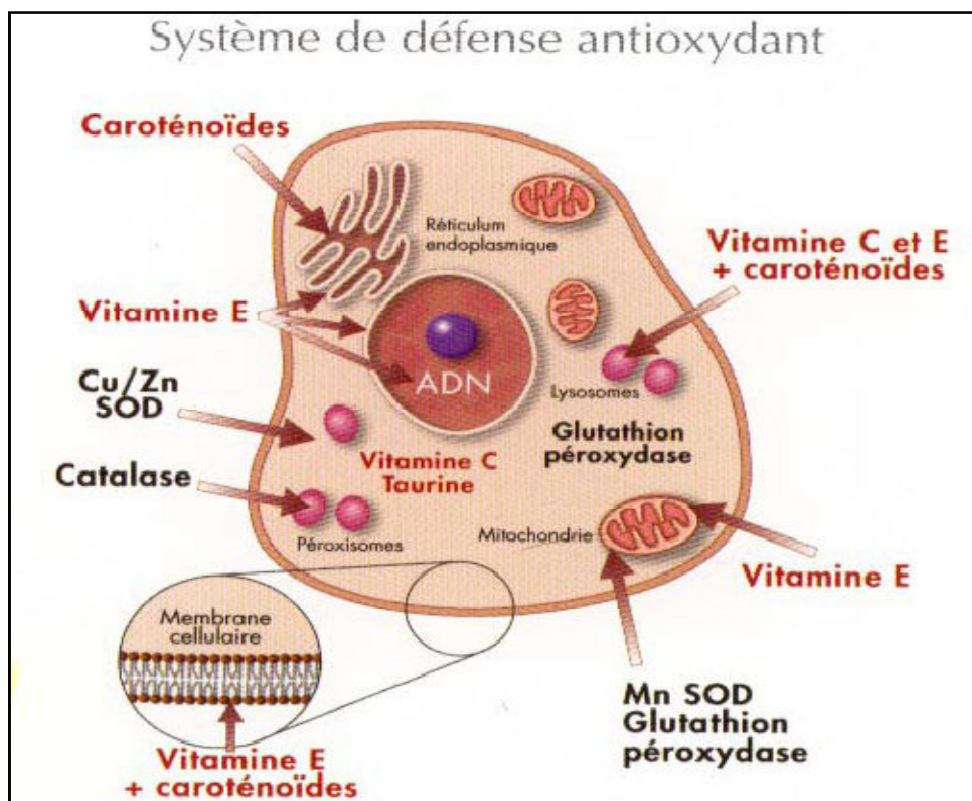


Figure 11: Sites d'action des nutriments antioxydants (en rouge) et des enzymes antioxydantes (en noir) (Pastre J., 2005).

II.2. Rôles

Les antioxydants peuvent jouer leur rôle à différents niveaux du processus oxydatif en:

- neutralisant les radicaux initiateurs.
- Liant les ions métalliques.

- Neutralisant les radicaux peroxydes.
- Éliminant les biomolécules endommagées par oxydation, ainsi que d'autres types de réactions (Boumaza A., 2009).

II.3. Les antioxydants enzymatiques

Les antioxydants enzymatiques sont considérés comme la première ligne de défense de notre organisme contre les ERO (figure 12) (Garait B., 2006).

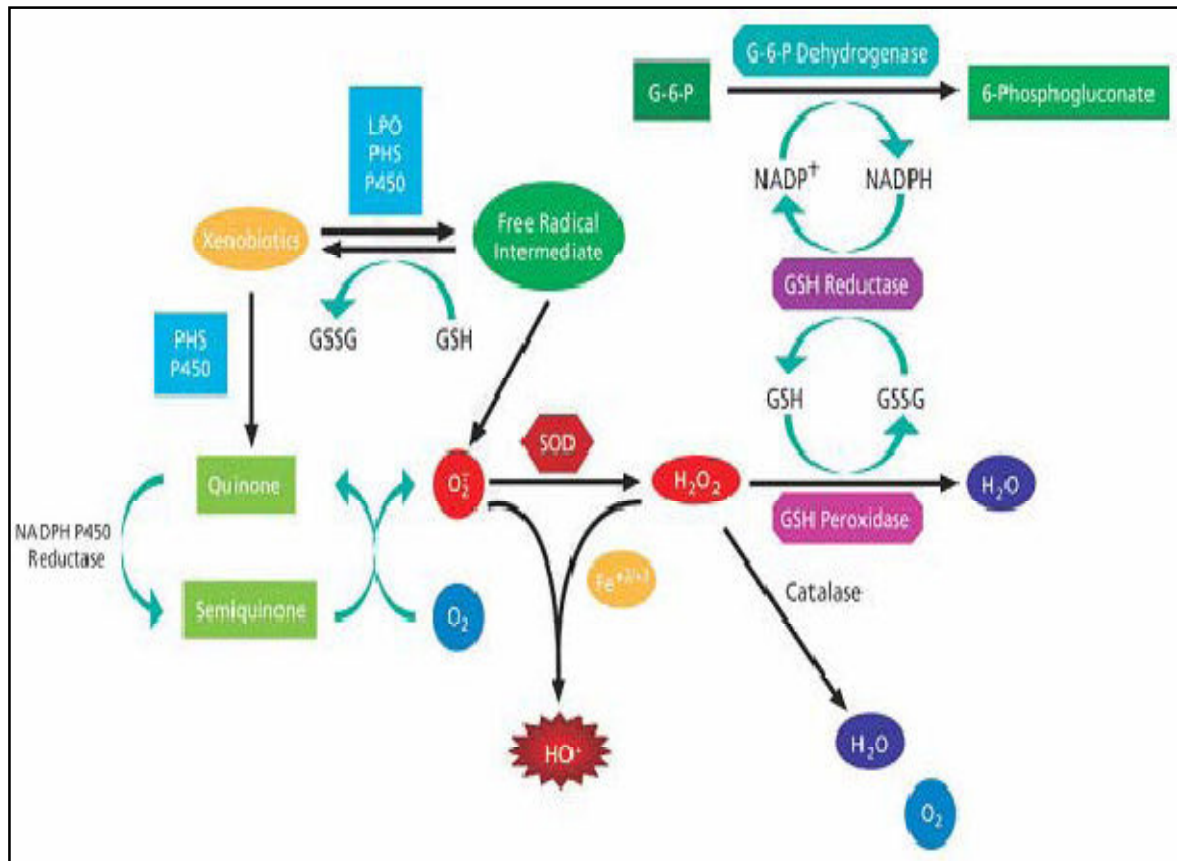


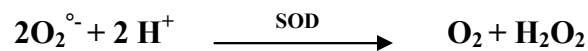
Figure 12: Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants (Nzengue Y., 2008).

Ces protéines sont essentielles au maintien de l'homéostasie redox car elles catalysent l'élimination des ERO par réduction (El Ghazouani A., 2007).

II.3.1. La superoxyde dismutase

Le radical superoxyde qui présente une certaine toxicité est éliminé ou tout au moins maintenu à un niveau de concentration assez bas par des métalloenzymes appelées superoxyde dismutases (SOD) (EC:1.15.1.1) (Bouldjadj R., 2009 ; Kebieche M., 2009 ; Belkheiri N., 2010 ; Chaaya R., 2010 ; Hamadi N., 2010).

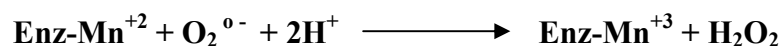
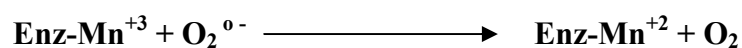
Le rôle déterminant de la superoxyde dismutase (SOD) dans les systèmes de défense antioxydante de l'organisme est connu depuis 1968. On sait que l'ion superoxyde ($O_2^{\circ-}$) est le point de départ de la chaîne de production des radicaux libres (Vozenin-Brotons et *al.*, 2001 ; Souguir D., 2009). Or, dès ce stade précoce, la superoxyde dismutase inactive l'ion superoxyde en le transformant en peroxyde d'hydrogène selon la réaction suivante (El Ghazouani A., 2007 ; Souguir D., 2009) :



On a montré que le DHA et 2-méthoxyœstradiol sont capables d'exercer des effets cytotoxiques sur les cellules tumorales en inhibant l'expression des enzymes antioxydantes SOD (Wood L., 2001 ; Vibet S., 2008).

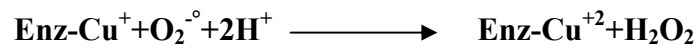
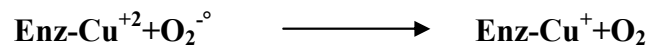
Il existe trois classes de SOD (isoformes) (Souguir D., 2009) en fonction du métal de transition présent dans le site actif mais la plupart des organismes n'en possèdent qu'une seule qui diffère selon la localisation chromosomique du gène, leur contenu métallique, leur structure et leur localisation cellulaire (El Ghazouani A., 2007 ; Meziti A., 2009). Elles sont sous forme de monomère, de dimère ou de tétramère (El Ghazouani A., 2007):

- Les SOD manganèse-dépendantes (MnSOD) (Guo et *al.*, 2003 ; Kebieche M., 2009 ; Souguir D., 2009) qui est située à la fois dans la matrice et au niveau de la membrane interne de la mitochondrie (Favier A., 2003 ; Vibet S., 2008 ; Bouldjadj R., 2009).



Notons que le gène de la Mn-SOD est situé sur le chromosome 6 (6q25) 5 exons (Jadot G., 1994).

- Les SOD cuivre-dépendantes (Cu/ZnSOD). On distingue la SOD à cuivre-zinc présent dans le cytoplasme (cCu-ZnSOD) (Chromosome 21 (21q22) 5 exons) et SOD à cuivre-zinc extracellulaire (EC-SOD) (Chromosome 4 (4p-q21) 3 exons), elle joue un rôle important dans la protection des surfaces cellulaires et des protéines de la matrice extracellulaire contre l'action des $O_2^{\circ-}$, la Cu/Zn-SOD était également présente dans l'espace intermembranaire mitochondrial (figure 13) (Favier A., 2003 ; Garait B., 2006 ; Bouldjadj R., 2009).



Le EC-SOD peut aussi se retrouver dans le plasma, la lymphe et le liquide synovial qui agit à la surface des cellules.

- les SOD nickel-dépendantes (NiSOD) ont été purifiées à partir de plusieurs espèces de *Streptomyce* (El Ghazouani A., 2007 ; Hamadi N., 2010).

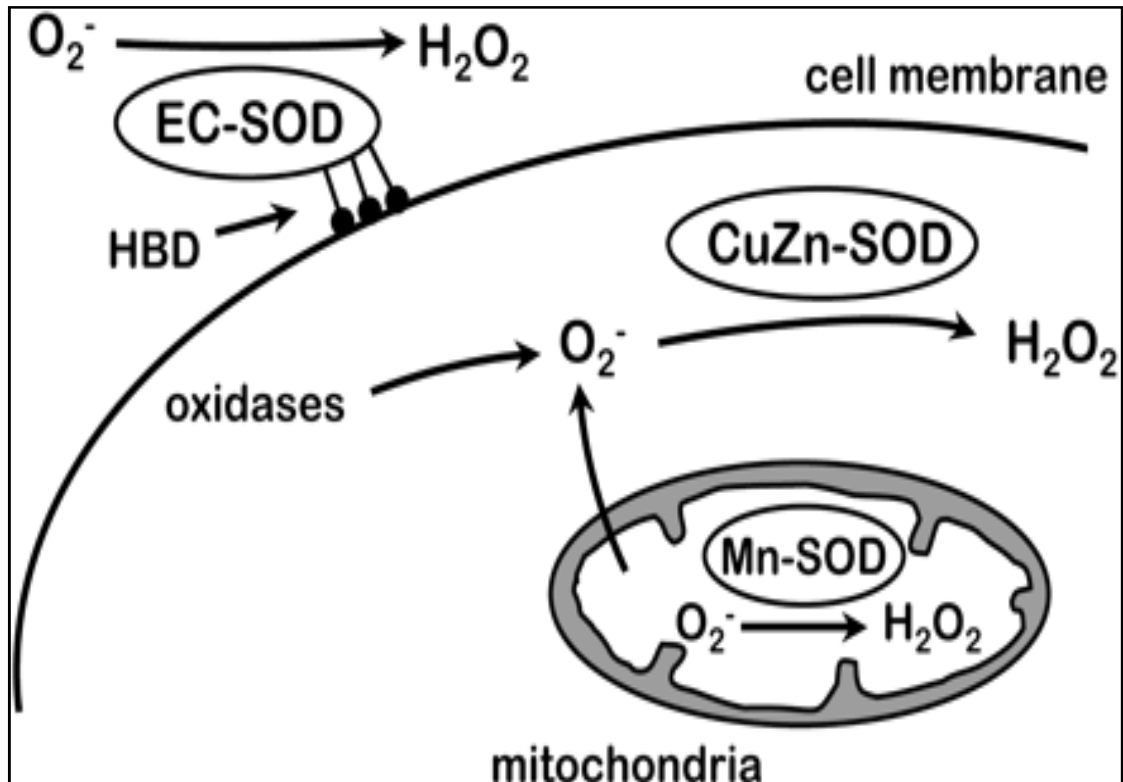


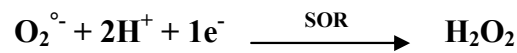
Figure 13: Quelques types de la SOD (Hamadi N., 2010).

Pour leur effet antioxydant, les superoxyde-dismutases sont utilisées en thérapeutique: dans les maladies inflammatoires chroniques, les anions superoxydes relargués par les phagocytes activés stimulent et amplifient la réponse inflammatoire. L'administration de SOD peut prévenir les lésions tissulaires dues à l'anion superoxyde. Les SOD semblent également réduire l'étendue de l'infarctus du myocarde (Kebieche M., 2009).

II.3.2. Les superoxyde-réductases

Jusqu'à très récemment, la seule enzyme connue pour éliminer le radical superoxyde était la superoxyde dismutase (SOD), mais des études récentes ont montré que certaines bactéries (*Desulfovibrio baarsi*, *Archeoglobus fulgidus*, *Treponema pallidum* par exemple) sont dotées d'un autre système enzymatique permettant l'élimination du superoxyde c'est le superoxyde

réductase (SOR) qui a été mise en évidence chez les bactéries anaérobies strictes ou microaérophiles, et est retrouvée uniquement chez les bactéries (Olry A., 2005 ; El Ghazouani A., 2007 ; Roussel X., 2009).



H_2O_2 est, quant à lui, éliminé par des peroxydases (Olry A., 2005). Cette famille de métalloenzymes est capable de suppléer l'absence d'activité SOD dans une souche d'*Escherichia coli*, en éliminant directement $\text{O}_2^{\circ-}$ mais sans activité SOD (Roussel X., 2009 ; Tremey E., 2009). La délétion du gène de la SOR dans cette bactérie entraîne une très forte sensibilité à l'oxygène. Ceci démontre l'importance de la SOR pour la survie de cette bactérie anaérobie lors d'expositions transitoires à l'air (Tremey E., 2009).

La SOR est une petite métalloprotéine qui contient un atome de fer au niveau de son site actif (figure 14) (El Ghazouani A., 2007).

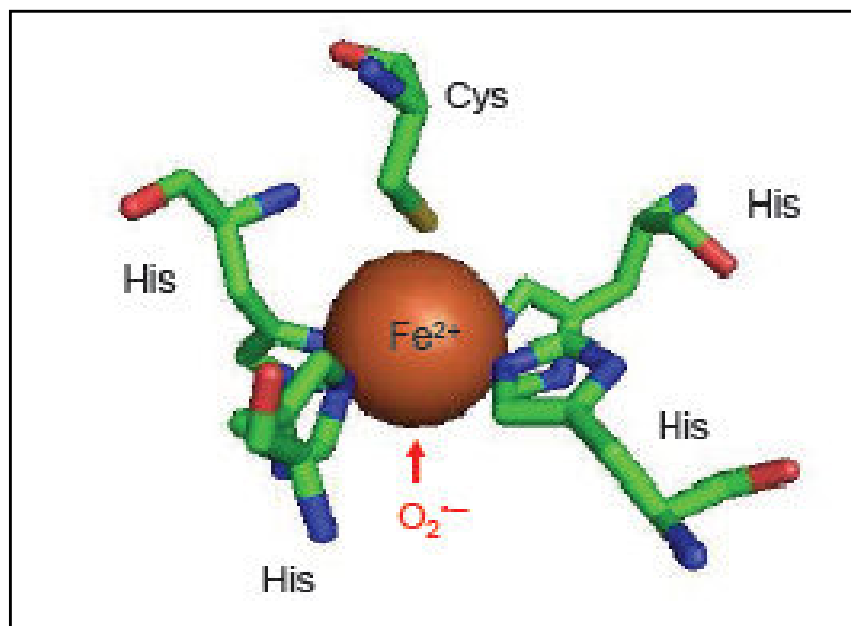


Figure 14: Site actif de la SOR (Tremey E., 2009).

II.3.2.1. Classes de superoxyde réductase

Les superoxydes réductases présentent toutes un domaine C-terminal avec une forte homologie de séquence (El Ghazouani A., 2007). Elles diffèrent entre elles par la présence ou non d'un domaine N-terminal pouvant renfermer un second site à fer de type desulforedoxine (El Ghazouani A., 2007 ; Tremey E., 2009). Il existe trois différentes classes structurales de SOR. Cependant, malgré quelques différences structurales elles ont toutes le même site actif:

- **Les SORs de classe 1:** On retrouve ces enzymes chez les bactéries sulfato-réductrices telles que *Desulfoarculus baarsii*. Ce sont des métalloprotéines contenant deux centres mononucléaires de fers'organisent en structure homodimère; les deux domaines d'un monomère renferment chacun un centre mono-nucléaire à fer (figure 15) (El Ghazouani A., 2007 ; Tremey E., 2009).

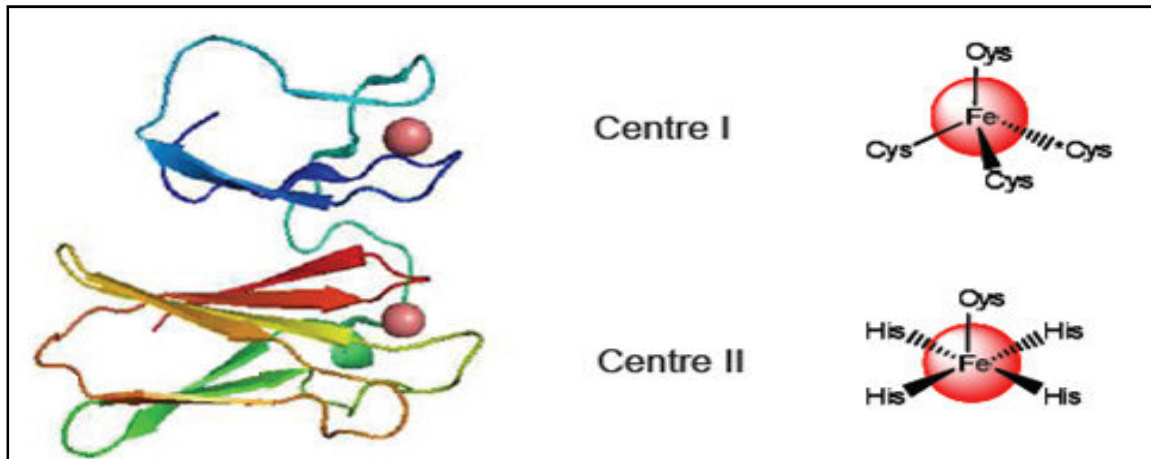


Figure 15: Structure cristallographique (à gauche) d'un monomère de la SOR de *Desulfoarculus baarsii* et coordinations de l'atome de fer (à droite) dans chacun des deux sites (Tremey E., 2009).

- **Les SORs de classe 2:** On retrouve ces enzymes chez les bactéries archaées extrémophiles, *Pyrococcus furiosus*. Elle présente une forme homodimère où le fer présent dans le site actif s'oxyde facilement à l'air (El Ghazouani A., 2007). L'absence de trois des quatre cystéines liant le fer explique l'absence de centre I chez cette classe de SOR (figure 16) (Olry A., 2005 ; El Ghazouani A., 2007 ; Tremey E., 2009). Les enzymes de cette classe présentent le même type de réactivité vis-à-vis du $O_2^{\circ-}$ que les enzymes de la classe 1 (Tremey E., 2009).

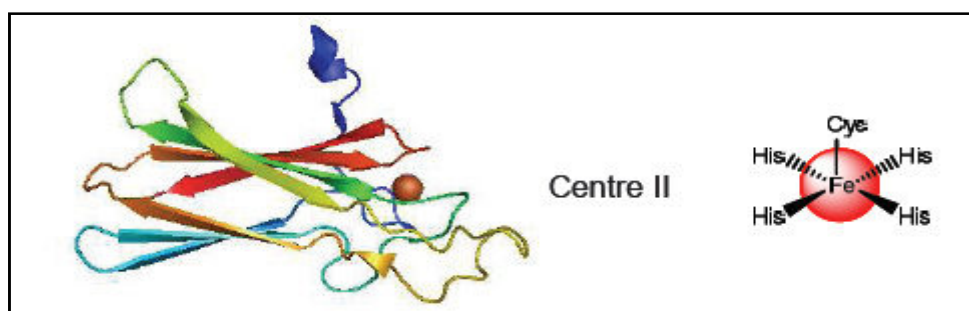


Figure 16: Structure cristallographique d'un monomère de la SOR de *Pyrococcus furiosus* (Tremey E., 2009).

- Les SORs de classe 3:** On retrouve ces enzymes chez les bactéries hyperthermophiles telles que *Treponema pallidum*. Cependant cette SOR ne contient qu'une seule cystéine au niveau du centre I (Tremey E., 2009). La partie N-terminale de l'enzyme ne peut donc pas lier d'atome de fer (ne possèdent pas de domaine N-Ter (figure 17) (El Ghazouani A., 2007 ; Tremey E., 2009). La partie C-terminale contient également un centre à fer identique au centre II des SORs de classe 1 et constitue le site actif de l'enzyme (Tremey E., 2009). Elles se présentent sous la forme d'homotétramère avec un site actif par monomère où le fer s'oxyde facilement à l'air (El Ghazouani A., 2007).

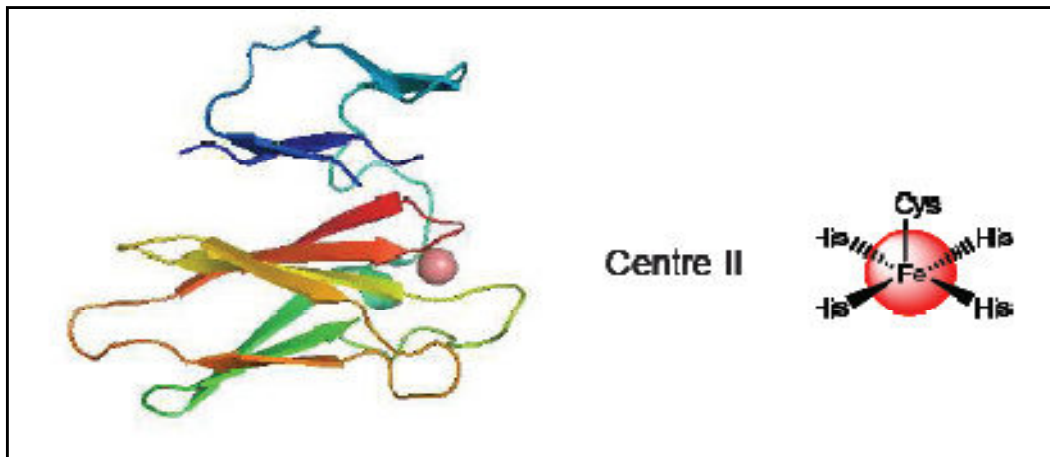


Figure 17: Structure cristallographique d'un monomère de la SOR de *Treponema pallidum* (Tremey E., 2009).

Ces trois types de SOR ont une réactivité comparable vis-à-vis du superoxyde et ceci malgré leurs différences structurales au niveau du domaine N-terminal (figure 18) (Tremey E., 2009).

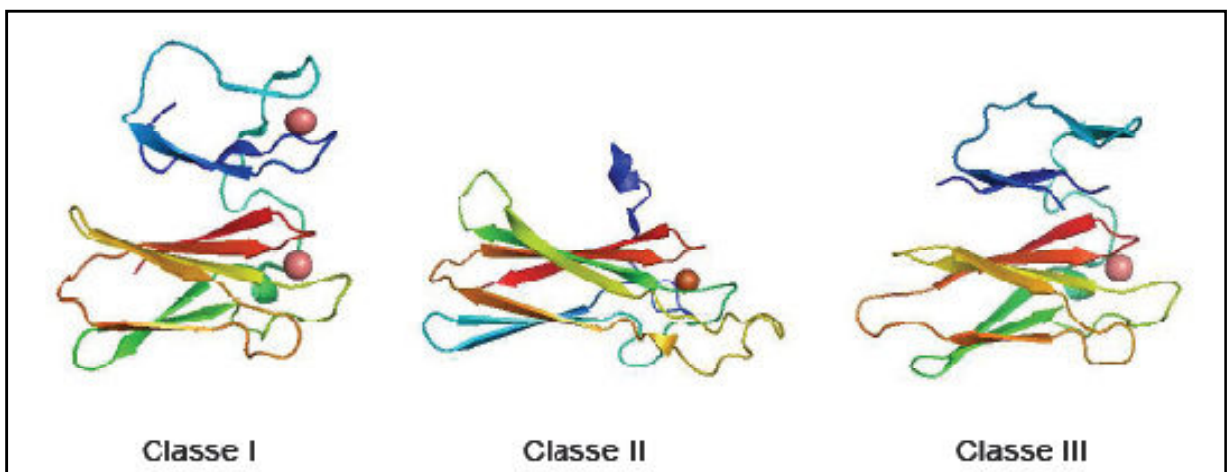


Figure 18: Comparaison de la structure des trois classes de SORs (Tremey E., 2009).

II.3.2.2. Le cycle catalytique

Dans le cas de la SOR de *Desulfovibrio baarsii* (classe 1), un mécanisme en trois étapes a été proposé pour la réduction de $O_2^{\circ-}$ (figure 19) (El Ghazouani A., 2007).

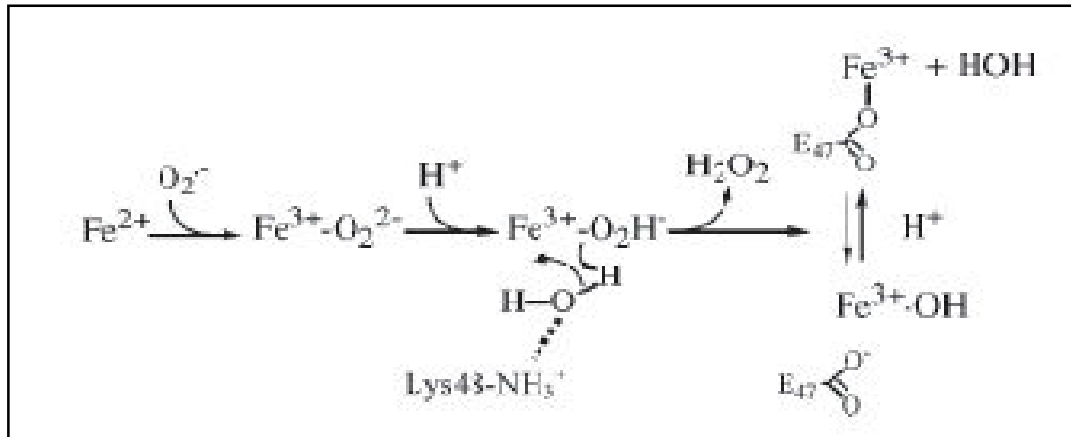


Figure 19: mécanisme proposé pour la SOR de *D. baarsii* (El Ghazouani A., 2007).

Dans un premier temps, l'anion superoxyde réagit avec le Fe^{2+} du site actif. Le premier intermédiaire réactionnel est proposé comme étant un Fe^{3+} -peroxo résultant de la fixation de $O_2^{\circ-}$ sur la 6^{ème} position de coordination du fer. La seconde étape correspond à un processus de protonation dont la constante de vitesse est dépendante du pH, signifiant que le proton vient directement du solvant. Le second intermédiaire est supposé être un Fe^{3+} -hydroperoxo (Roussel X., 2009). Enfin, la dernière étape consisterait en un second processus de protonation (El Ghazouani A., 2007). Cette réaction serait associée à la présence d'une espèce protonée au sein du site actif qui fournirait le proton nécessaire à la libération de H_2O_2 (El Ghazouani A., 2007 ; Roussel X., 2009).

Les superoxydes dismutases et les superoxydes réductases permettent donc de prévenir la toxicité liée à la présence d'ions superoxyde. Mais elles engendrent la production d'un autre composé potentiellement toxique, le peroxyde d'hydrogène ; les catalases et les peroxydases entrent alors en action (El Ghazouani A., 2007).

II.3.3. Glutathion peroxydase

Les glutathion-peroxydases (GPx) ont été les premières peroxydases découvertes, initialement décrites chez les vertébrés comme des sélénio-enzymes, capables de catalyser la réduction des peroxydes (Roussel X., 2009). Il existe des GPx avec ou sans résidu sélénocystéine dans leur site actif mais les plus courantes sont celles possédant une sélénocystéine (Bouldjadj R., 2009):

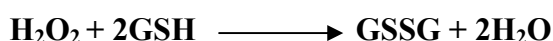
- Les GPxs sélénio-dépendantes: GPx1, GPx2 et GPx3 sont des protéines tétramériques qui comprennent 4 sous unités identiques alors que GPx4 est monomérique.
- Les GPxs sélénio-indépendantes: GPx5 et GPx6 (tableau 3) (Chabory E., 2009).

Tableau 3: Différentes caractéristiques des GPxs de mammifères. ND: non déterminée.

	GPx1	GPx2	GPx3	GPx4	GPx5	GPx6
Nom	GSH-Px	GSH-Px-GI	GSH-Px	PH-GSH -Px	Ep-GSH -Px	
Expression	Ubiquiste	Estomac Intestin Foie	Rein Poumon Epididyme	Testicule Spermatozoïde Foie Rein	Epididyme Spermatozoïde	Corps ciliaire
Localisation	Cytosol Mitochondrie	Cytosol	Sécrotée Cytosol	Mitochondrie Nucléaire	Sécrotée	
Masse moléculaire (kDa)	21	22	22	19	24	
Polymérisation	4	4	4	1	ND	
Sélénio-cystéine	oui	oui	oui	oui	non	non

(Chabory E., 2009)

La GPx métabolise le H₂O₂ en eau en utilisant le Glutathion réduit (GSH) comme un donneur d'hydrogène, telqu'illustré dans la réaction suivante (Lavoie M., 2012) :



Où GSSG est la forme oxydée du glutathion (Glutathion oxydé) aussi appelé glutathion disulfure. Ce dernier est recyclé en GSH par l'enzyme Glutathion oxydé réductase (GSSG-R) en utilisant le cofacteur NADPH généré par l'enzyme glucose 6-phosphate déshydrogénase (G6PD) (Lavoie M., 2012).

Cette enzyme est sans doute le principal système de protection car elle détruit non seulement l'H₂O₂, mais aussi les peroxydes organiques toxiques formés par oxydation des acides gras ou du cholestérol (Chaaya R., 2010).

L'activité des GPx peut être inhibée par les acides mercaptocarboxyliques et mercaptans tertiaires. Ainsi les acides thiomalique et mercaptosuccinique exercent une forte inhibition réversible alors que la cystéine et le mercaptoéthanol inhibent de façon modérée l'activité des GPx. Les oxydants tels que le monoxyde d'azote et le peroxyde d'azote inactivent l'enzyme de manière irréversible en oxydant la sélénocystéine par formation d'un sélénylsulfure. De

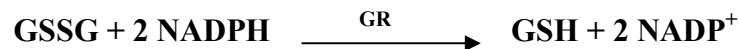
même, l'iodoacétate inhibe l'enzyme en acétylant la sélénocystéine. Ainsi que le DHA est capable d'exercer des effets cytotoxiques sur les cellules tumorales en inhibant l'expression des enzymes antioxydantes GPx-4 (Vibet S., 2008).

II.3.4. La glutathion réductase

La glutathion réductase (GR) est une flavoprotéine membranaire dépendante de NADPH et FAD (Flavine Adénine Dinucléotide), quant à elle, a pour rôle de régénérer le GSH à partir du GSSG tout en utilisant le NADPH, comme un cofacteur (Garait B., 2006 ; Meziti A., 2009 ; Chaaya R., 2010).

En effet, la concentration cellulaire en glutathion étant limitée, il est nécessaire de le réduire constamment pour que la GPx maintienne sa fonction (Garait B., 2006). Cet enzyme est présente dans le cytosol et dans les mitochondries (Garait B., 2006 ; Meziti A., 2009).

La glutathion réductase (GR) joue un rôle essentiel dans la protection des chloroplastes contre le dommage oxydant en maintenant un rapport GSH/GSSG élevé. Cette enzyme catalyse la réduction de GSSG en GSH (glutathion réduit) selon la réaction suivante (Souguir D., 2009):



II.3.5. La catalase

Les catalases (EC 1.11.1.6) (Bouldjadj R., 2009 ; Belkheiri N., 2010) sont des métalloenzymes à centre hémique, presque exclusivement localisées dans les peroxyosomes des cellules eucaryotes (El Ghazouani A., 2007 ; Roussel X., 2009), mais aussi dans les mitochondries et le cytoplasme (pour les cellules qui ne possèdent cette organelle ex : érythrocytes) (Remon E., 2006 ; Bouldjadj R., 2009 ; Souguir D., 2009).

La catalase existe chez tous les organismes aérobies chez lesquels elle participe à la défense contre les dérivés toxiques de l'oxygène. C'est un tétramère qui est formé de quatre chaînes polypeptidiques qui comportent chacune un groupe hème (Chabory E., 2009). La catalase est surtout active lorsque le niveau de stress oxydatif est élevé ou que la quantité de glutathion peroxydase est limitée et elle joue un rôle significatif dans le développement d'une tolérance au stress oxydatif dans la réponse adaptative des cellules. La dissociation des sous-unités résulte en une perte de l'activité catalase (Vibet S., 2008).

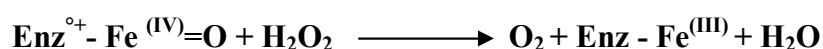
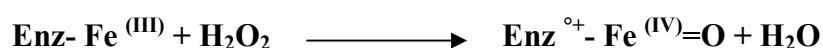
Il existe trois classes de catalases:

- catalases typiques présentent une structure généralement tétramérique, Elles sont retrouvées chez les eubactéries, archaebactéries, protistes, champignons, plantes et animaux et forment le groupe le plus important.
- Les catalase-peroxydases, elles, ne sont pas présentes chez les plantes ni les animaux.

Ces deux groupes ont une activité catalytique et peroxydatique.

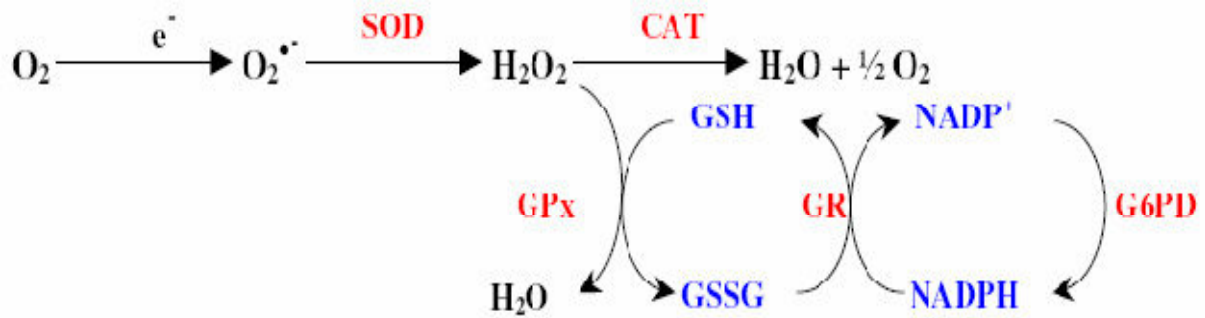
- Le troisième groupe, appelé dimanganèse-catalases, est constitué de protéines de bactéries uniquement (par exemple *Thermus thermophilus*), contenant un site actif présentant un dimanganèse. La dimanganèse-catalase est composée de six sous unités, le centre actif étant composé de deux atomes de manganèse profondément ancrés dans un monomère entre quatre hélices (Gama F., 2010).

Ces enzymes catalysent la dismutation de deux molécules d' H_2O_2 , en deux étapes (Morel C., 2007 ; Roussel X., 2009 ; Souguir D., 2009). Dans la première étape, l'enzyme réduit une molécule de H_2O_2 par transfert de deux électrons de l'hème vers H_2O_2 aboutissant à la formation d'une espèce oxydée de l'hème en une espèce « oxyferryl » ($\text{Fe}^{(\text{IV})}=\text{O}$) et d'une molécule d'eau (El Ghazouani A., 2007 ; Roussel X., 2009). Dans la seconde étape, une deuxième molécule d' H_2O_2 est utilisée comme réducteur pour régénérer l'enzyme, produisant ainsi de l'eau et du dioxygène (Roussel X., 2009). Ce dernier est formé par l'oxydation à deux électrons de la deuxième molécule de H_2O_2 sans rupture de la liaison O-O (Roussel X., 2009 ; Belkheiri N., 2010).



Les catalases exercent une double fonction, selon la concentration en H_2O_2 (El Ghazouani A., 2007). Si la concentration en H_2O_2 est faible (inférieure à 1 μM), les catalases réalisent une réaction de peroxydation où différents donneurs d'hydrogène, comme l'éthanol ou l'acide ascorbique, peuvent être oxydés au niveau de la deuxième étape. Si la concentration en H_2O_2 devient trop élevée (en situation de stress oxydant), l'enzyme joue alors son rôle de détoxification. H_2O_2 est donc à la fois donneur et accepteur de protons (Roussel X., 2009).

Au total, le mécanisme réactionnel invoqué dans cette détoxification enzymatique peut être résumé dans l'équation suivant (Meziti A., 2009):



II .4. Les antioxydants non enzymatiques

Contrairement aux enzymes antioxydantes, la plupart de ces composants ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation (Garait B., 2006 ; Hebuteme X., Piquet M., 2007). En effet, avec l'âge, les individus sont plus sensibles au stress oxydant. Leur capacité d'absorption intestinale de molécules antioxydantes d'origine alimentaire est moins efficaces (Pastre J., 2005).

II.4.1. Les antioxydants non enzymatiques exogènes

II.4.1.1. La vitamine C

L'acide L-ascorbique ou vitamine C est considéré comme le plus important antioxydant dans les fluides extracellulaires (figure 20) (Hebuteme X., Piquet M., 2007 ; Bouldjadj R., 2009).

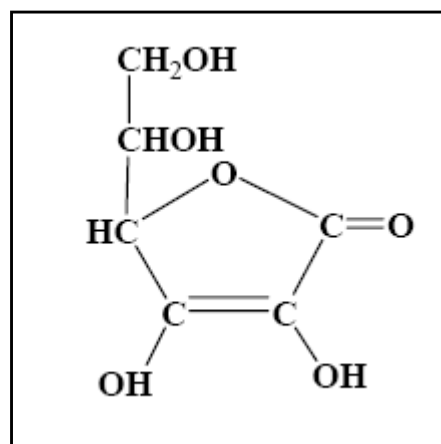


Figure 20: Structure de l'acide ascorbique (ou vitamine C) (Olry A., 2005).

C'est un piègeur très efficace des ions superoxydes, du peroxyde d'hydrogène, de l'hypochlorite, des radicaux hydroxyles et pyroxyles, et de l'oxygène singulet (Bouldjadj R., 2009 ; Souguir D., 2009 ; Tremey E., 2009). Il se retrouve oxydé sous forme de monodéhydroascorbate (MDHA) ou déhydroascorbate (DHA) (Gama F., 2010).

La vitamine C peut être régénérée tant à partir du radical ascorbyle que de l'acide déshydroascorbique (DHA) par des processus enzymatiques et non enzymatiques. Le radical ascorbyle est réduit par une semidéhydroascorbate réductase-NADH dépendante et par une sélénoenzyme, la NADPH-dépendante thiorédoxine réductase. Le DHA peut être réduit en ascorbate de manière non enzymatique par le GSH ou l'acide lipoïque aussi bien que par la thiorédoxine réductase et la glutarédoxine, enzyme dépendante du GSH (Vibet S., 2008 ; Gama F., 2010).

Le rôle antioxydant de la vitamine C est basé sur sa réaction avec les radicaux peroxydes aqueux, le produit formé étant le radical ascorbyle qui joue un rôle essentiel dans la régénération de la vitamine E oxydée (Soares A., 2005 ; Bouldjadj R., 2009). Il fait intervenir des réactions d'oxydoréduction entre la forme réduite de la vitamine C (l'acide ascorbique) et sa forme oxydée (dehydroascorbate) (figure 21) (Pastre J., 2005).

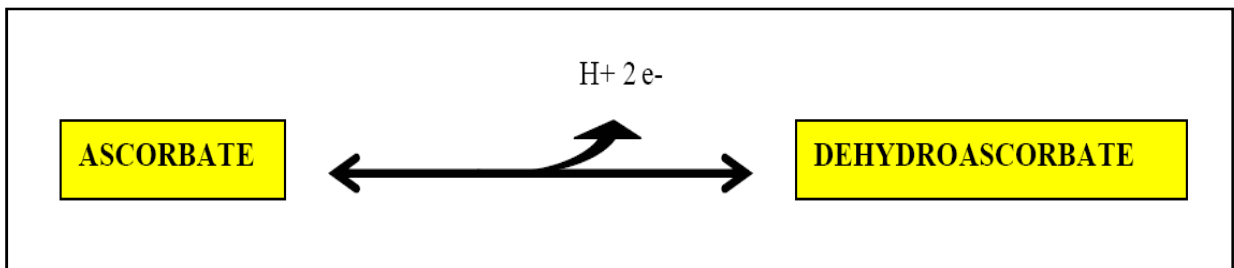


Figure 21: Réactions d'oxydoréduction faisant intervenir les différentes formes de la vitamine C (Pastre J., 2005).

II.4.1.2. La vitamine E

La vitamine E ou α -tocophérol est un des principaux antioxydants des membranes cellulaires (figure 22) (Jadot G., 1994 ; Olry A., 2005).

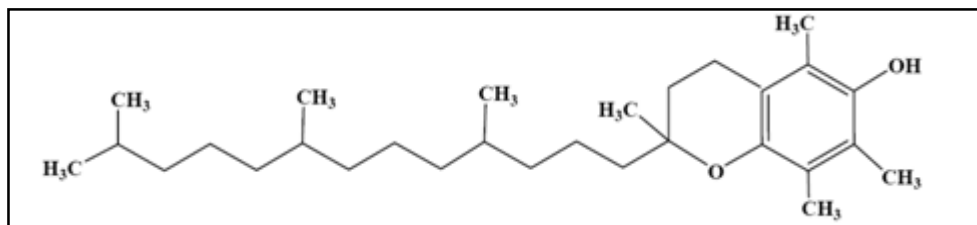


Figure 22 : Structure de la vitamine E (Olry A., 2005).

C'est un composé amphiphile (Pastre J., 2005 ; Soares A., 2005), capable de s'insérer dans les membranes cellulaires : globules rouges, cellules endothéliales, cellules musculaires, neurones (c'est le seul antioxydant du système nerveux central), gamètes... (Pastre J., 2005).

La vitamine E est le nom commun utilisé pour toutes les molécules possédant des activités biologiques identiques à celles de la famille des tocophérols. La forme naturelle de la vitamine E inclut quatre tocophérols isomères α , β , γ , δ , avec une activité antioxydante variable (tableau 4) (Soares A., 2005).

Ils sont différenciés par les substituants du noyau chromanol (noyau benzyle associé à un hétérocycle à 6 carbones substitué par un hydroxyle et par une chaîne latérale ramifiée saturée s'il s'agit de tocophérol ou insaturée s'il s'agit de tocotriénols) (Pastre J., 2005). Il agit en tant que piègeur des radicaux peroxydes et prévient ainsi la peroxydation des lipides (figure 23) (Olry A., 2005).

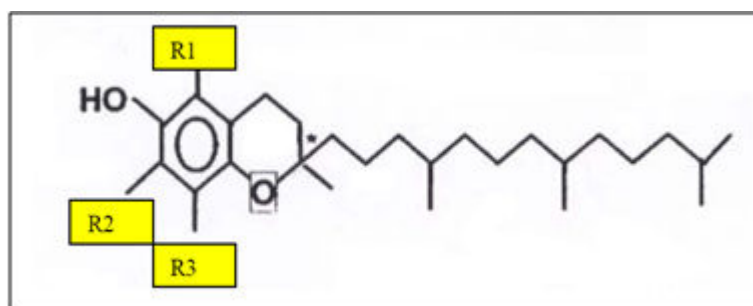


Figure 23 : Structure générale de tocophérol (Pastre J., 2005).

Tableau4: Structure des composés à action vitaminique E.

	R1	R2	R3
α -tocophérol	Me	Me	Me
β -tocophérol	Me	H	Me
γ -tocophérol	H	Me	Me
δ -tocophérol	H	H	Me

(Pastre J., 2005)

Son activité antioxydante est liée à sa capacité à capter l'électron célibataire des radicaux libres. Après ce processus la vitamine E se retrouve sous forme d'un radical α - tocophéroxy. Une fois activé, le tocophérol peut ensuite réagir avec un nouveau radical libre pour former une espèce neutre, ou être régénéré par des agents réducteurs hydrosolubles tels que la vitamine C, ou le glutathion (figure 24) (Hebuteme X., Piquet M., 2007 ; Chabory E., 2009):



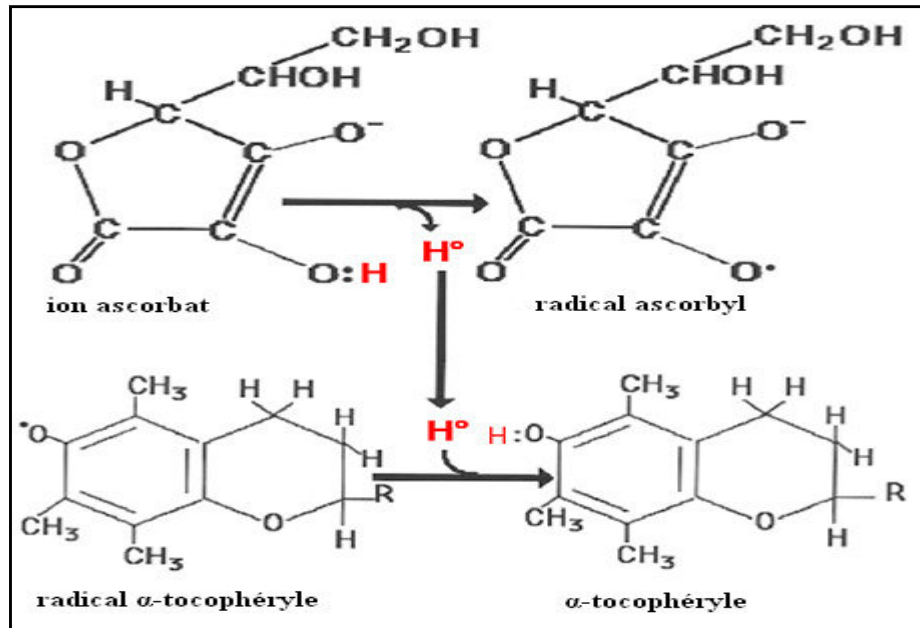


Figure 24: régénération du tocophérol (vit. E) par l'acide ascorbique (vit. C) (Chabory E., 2009).

II.4.1.3. La vitamine A

La vitamine A existe sous forme de rétinol, de rétinol, d'acide rétinoïque et de rétinyl phosphate (figure 25). Ces molécules sont altérées par l'oxygène de l'air, ce qui est accéléré par la lumière et la chaleur. Elles sont liposolubles et leur rôle principal est la protection des membranes cellulaires en réduisant la peroxydation lipidique. Elles agissent en captant les radicaux libres et les ERO (Vibet S., 2008 ; Chabory E., 2009). La vitamine A est plus efficace que la vitamine E pour protéger les Acide gras polyinsaturé (AGPI) (Vibet S., 2008).

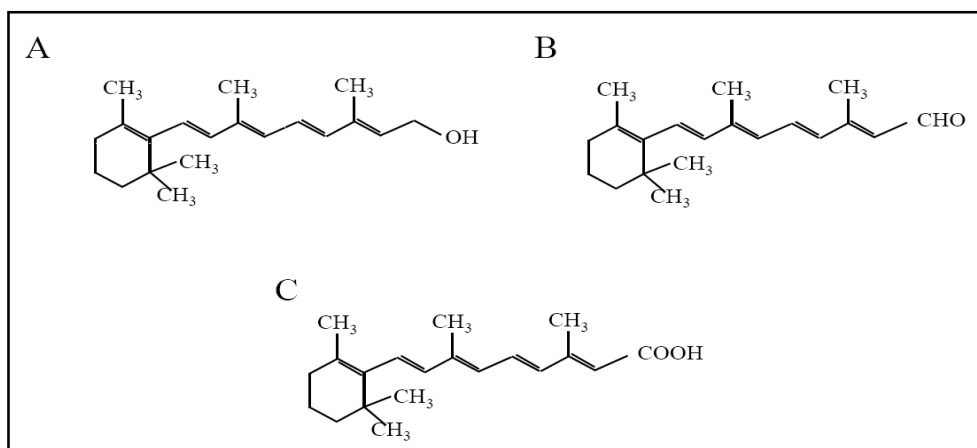


Figure 25: Formules chimiques développées du rétinol (A), rétinol (B), acide rétinoïque (C) (Chabory E., 2009).

II.4.1.4. Les caroténoïdes

Les caroténoïdes sont une famille de pigments contenant au moins 600 membres retrouvés dans les bactéries, les algues et les champignons et appartenant à la famille des rétinoïdes (figure 26) (Olry A., 2005 ; Bouldjadj R., 2009).

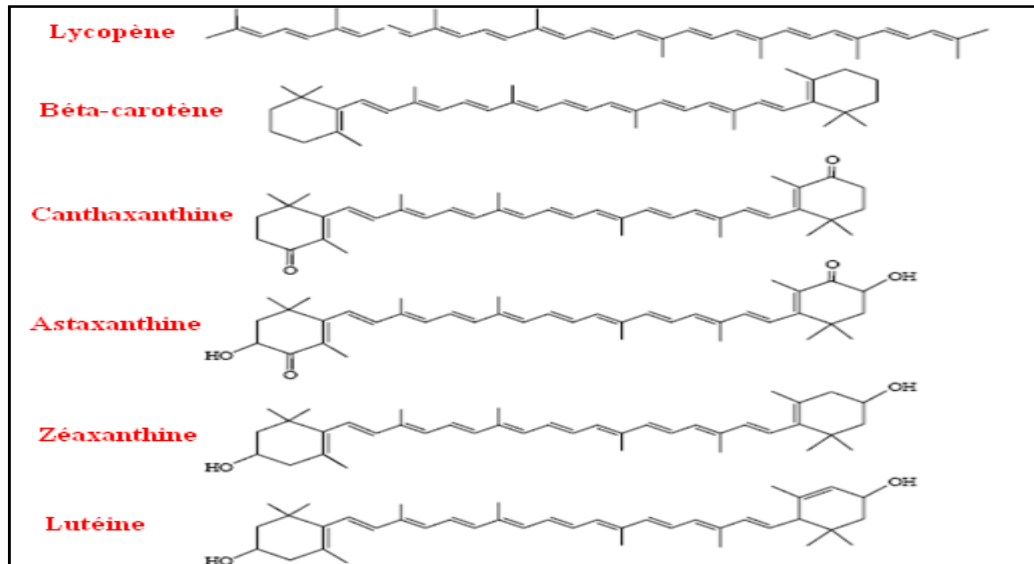
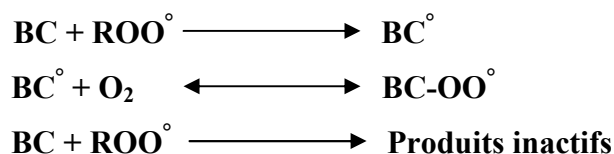


Figure 26: Structure des principaux caroténoïdes (Olry A., 2005).

La structure chimique de chaque caroténoïde dérive d'une structure de base : le lycopène formé par l'enchaînement de 8 unités isopréniques. Les caroténoïdes se différencient par leur taux de cyclisation, d'insaturation et d'oxydation. Dans les cellules, les caroténoïdes sont associés aux bicouches lipidiques et sont transportés dans l'organisme par les lipoprotéines (Olry A., 2005).

- **β -carotène**

Le plus important et le plus connu des caroténoïdes est le β -carotène. Il a longtemps été étudié pour son activité de provitamine A (Pastre J., 2005). Il capte l'oxygène singulet sous faible pression d'oxygène et, avec les autres caroténoïdes, il a le pouvoir de terminer les réactions en chaîne de lipoperoxydation. Il protège les structures cellulaires contre l'agression oxydante (Vibet S., 2008 ; Bouldjadj R., 2009).



Où **BC** : β -carotène

II.4.1.5. Les polyphénols

Les polyphénols, parmi lesquels les flavonoïdes (figure 27), sont des piègeurs de radicaux libres et des chélateurs d'ions métalliques, ce qui leur confère des propriétés anti-oxydantes plus ou moins importantes selon leur structure. Ils fonctionnent notamment en cédant un atome d'hydrogène à des radicaux formés lors de la peroxydation lipidique, tels que les radicaux peroxyde ROO ou alcoyle RO° (Vibet S., 2008). Ils contenus dans les légumes, les fruits, le thé, le vin ont des effets protecteurs vis-à-vis du vieillissement, des maladies cardiovasculaires, et certains cancers (Carreras M., 2004 ; Vibet S., 2008). et sont impliquées dans la régulation de nombreuses activités enzymatiques (Olry A., 2005).

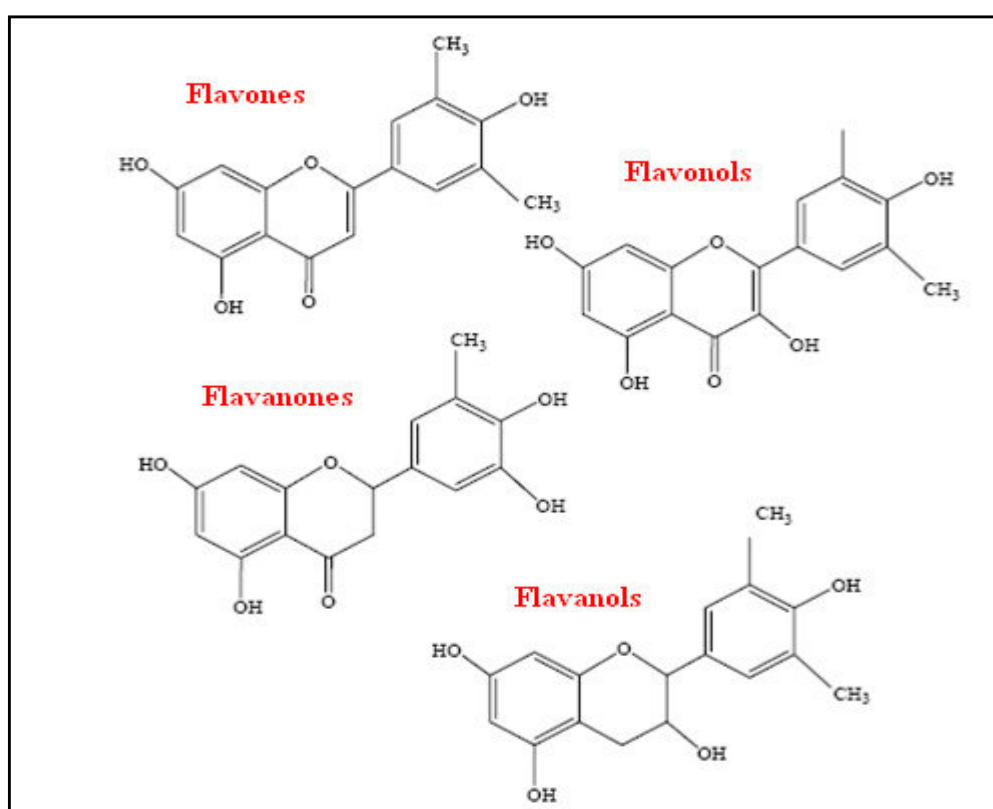


Figure 27: Structures de base des quatre familles des flavonoïdes (Olry A., 2005).

II.4.1.6. Le sélénium

Le sélénium est présent sous forme de résidus sélénocystéine dans les sélénoprotéines comme les glutathion peroxydases, la sélénoprotéine P, la thioredoxine réductase, et aussi il nécessaire pour leurs activités (Vibet S., 2008 ; Boumaza A., 2009). Cet effet antioxydant est capital dans la détoxification des radicaux libres produits par le métabolisme cellulaire. Cet effet de détoxification serait responsable des effets anti-cancéreux et anti-vieillessement, attribués au sélénium (Soares A., 2005).

II.4.1.7. Le zinc

Le zinc exerce une action antioxydante par le biais de plusieurs mécanismes: il protège de l'oxydation les groupes sulfhydryls de certaines protéines (enzymes), il peut avoir un effet antioxydant direct en captant les radicaux OH^\cdot , il a une action antioxydante indirecte en entrant en compétition avec le fer et avec le cuivre. Le zinc a un effet stabilisant au niveau des membranes ayant subi une peroxydation (Hebuteme X., Piquet M., 2007). Il joue aussi un rôle fondamental dans la structure d'enzymes antioxydantes comme la superoxyde dismutase. Le zinc, associé au cuivre, fait partie du site actif d'une enzyme antioxydante, la Cu/Zn-SOD (Soares A., 2005 ; Hebuteme X., Piquet M., 2007 ; Boumaza A., 2009). Le zinc peut inhiber partiellement les réactions de formation d'espèces oxygénées induites par le fer ou le cuivre (Soares A., 2005).

II.4.2. Les antioxydants non enzymatiques endogènes

Ce groupe de systèmes antioxydants renferme de nombreuses substances endogènes parmi lesquelles on peut citer le glutathion, l'acide urique, la bilirubine, les hormones sexuelles, la mélanine, la mélatonine, et le coenzyme Q (Bouldjadj R., 2009). De tous ces composés endogènes synthétisés par les cellules, le plus important est sans doute le glutathion réduit (thiol majeur au niveau intracellulaire) qui protège non seulement contre les radicaux oxygénés, mais aussi contre les peroxydes ou le NO° (Bouldjadj R., 2009 ; Belkheiri N., 2010).

II.4.2.1. Le glutathion

Le glutathion réduit (GSH) (figure 28) est un tripeptide (Vibet S., 2008), composé de trois acides aminés : l'acide L-Glutamique, la L-Cystéine et la L-Glycine, Le GSH est synthétisé par l'action séquentielle de la glutamate-cystéine ligase et la glutathion synthétase (Favier A., 2003).

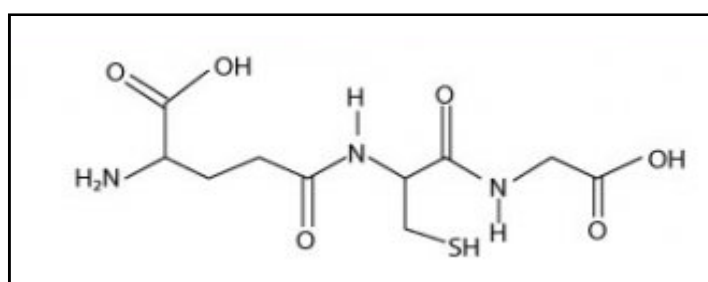
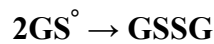
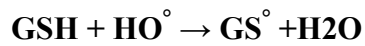


Figure 28: Structure du glutathion (GSH) (Belkheiri N., 2010).

Il réduit le peroxyde d'hydrogène et/ou les peroxydes organiques grâce à la réaction catalysée par la glutathion peroxydase (GPx) (Garait B., 2006 ; El Ghazouani A., 2007 ; Vibet S., 2008). L'oxydation du GSH en GSSG fait intervenir la formation d'un pont disulfure intermoléculaire entre les résidus cystéines de deux molécules (Carreras M., 2004 ; El Ghazouani A., 2007 ; Roussel X., 2009).



Il peut aussi réduire les radicaux formés par l'oxydation des vitamines E et C, baissant ainsi les niveaux de peroxydation lipidique. Le rapport glutathion réduit/glutathion oxydé (GSH/GSSG) est souvent utilisé comme un marqueur du stress oxydant car plus le flux d' H_2O_2 est important, plus le glutathion réduit est consommé et le glutathion oxydé augmenté (Garait B., 2006 ; Bouldjadj R., 2009).

Le glutathion agit également comme cosubstrat d'enzymes antioxydantes telles que la glutathion peroxydase, glutathion réductase et transférase (Pelletier E. *et al.* ; 2004 ; Bouldjadj R., 2009 ; Roussel X., 2009 ; Lavoie M., 2012).

Les niveaux de glutathion diminuent aussi lorsque nous vieillissons et plusieurs maladies généralement associées au vieillissement sont reliées à une déficience en glutathion (Gutman J., 2004).

II.4.2.2. La bilirubine

La dégradation de l'hème par le « système » hème oxygénase (HO) comporte trois étapes successives d'oxygénation nécessitant un total de sept électrons fournis par le NADPH, par l'intermédiaire de la cytochrome P₄₅₀ réductase. Une des étapes d'oxygénation (non représentée sur la figure) comporte l'hydroxylation du carbone a-mésio de la porphyrine. L'a-mésiohydroxyhème obtenu réagit avec une nouvelle molécule d'O₂ qui libère le monoxyde de carbone (CO) et le verdohème. La réduction finale qui nécessite un dernier électron, libère l'ion ferreux (Fe²⁺) et la biliverdine. Cette dernière est réduite immédiatement en bilirubine par la biliverdine réductase en présence de NADPH (figure 29) (Lyoumi S. *et al.*, 2007).

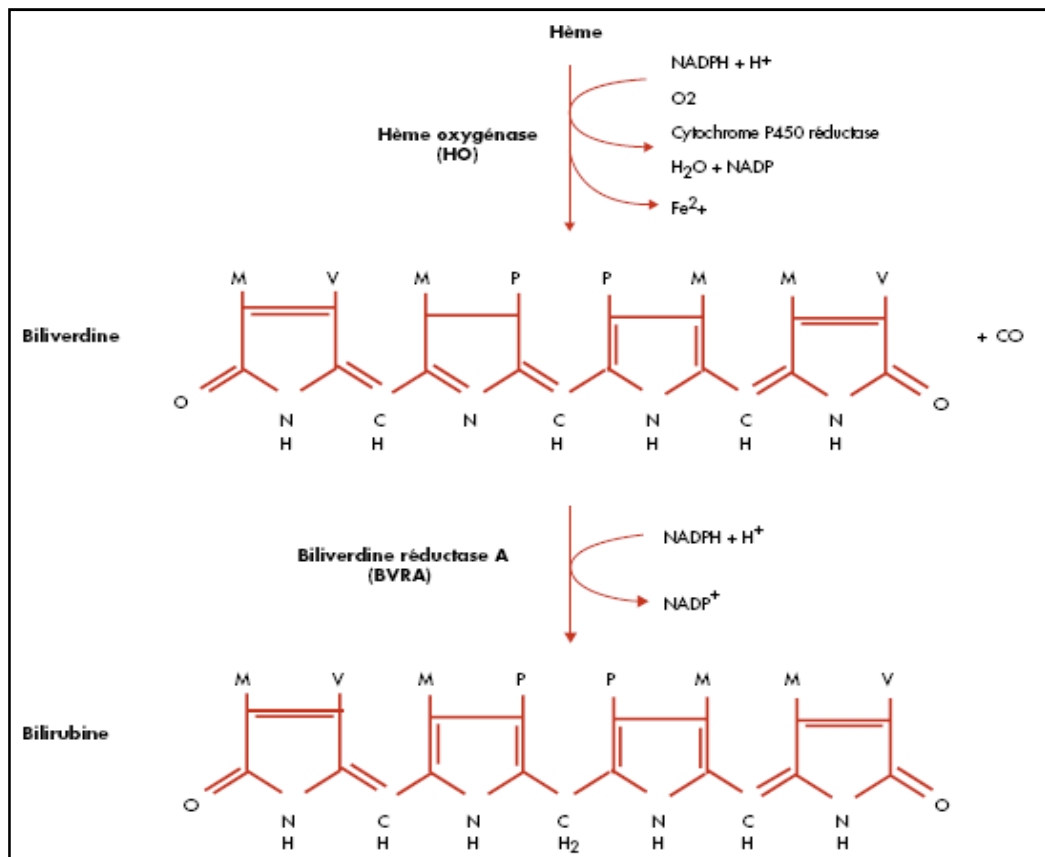
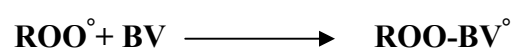
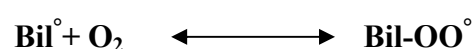
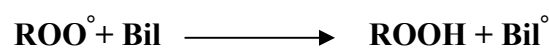


Figure 29: Catabolisme de l'hème : mode d'action de l'hème oxygénase et de la biliverdine réductase. M : radical méthyl (-CH₃) ; V : radical vinyl (-CH=CH₂) ; P : radical propionyl (-CH₂-CH₂- COOH) (Lyoumi S. et *al.*, 2007).

Dès 1959, il a été suggéré que la bilirubine pourrait être un antioxydant. La bilirubine peut supprimer l'oxydation de lysosomes à des concentrations d'oxygène qui sont physiologiquement relevant (Stocker R. et *al.*, 1987).

La bilirubine est, quant à elle, capable de piéger des radicaux peroxydes ROO[°] et l'oxygène singulet, protégeant ainsi l'albumine et les acides gras liés à l'albumine des attaques radicalaires (Bouldjadj R., 2009 ; Boumaza A., 2009).

Leur mécanisme comme antioxydant (Stocker R. et *al.*, 1987):



II.4.2.3. L'acide urique

L'acide urique est formé suite à l'oxydation de l'hypoxanthine et de la xanthine par la xanthine oxydase (figure 30). réducteur. Dans les conditions physiologiques, l'acide urique est majoritairement ionisé sous sa forme d'urate (UrH_2^-) (Belkheiri N., 2010).

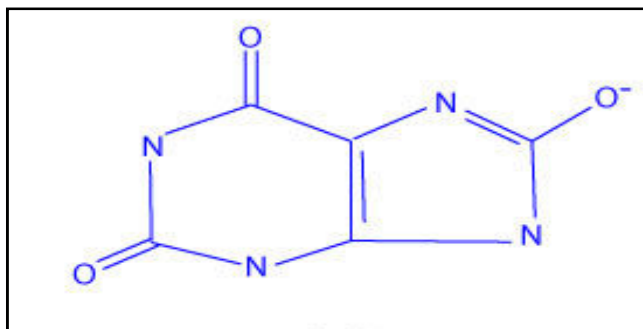
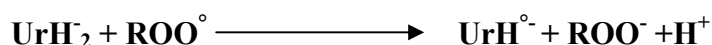
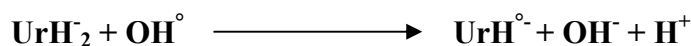
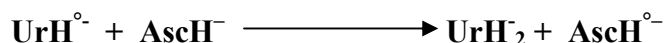


Figure 30: Structure de l'ion urate (Belkheiri N., 2010).

C'est un puissant piègeur de radicaux OH° et ROO° en produisant le radical $\text{UrH}^{\circ-}$, qui est relativement stable en raison de la délocalisation des électrons dans le noyau purine (Vibet S., 2008 ; Boumaza A., 2009 ; Belkheiri N., 2010). La réaction de l'acide urique avec ces ERO génère des radicaux moins réactifs que HO° (Belkheiri N., 2010).



L'ion urate peut être ensuite régénéré suite à la réduction du radical $\text{UrH}^{\circ-}$ par l'ascorbate (AscH^-), ce qui limite ainsi l'action du radical urate avec d'autres cibles:



II.4.2.4. L'ubiquinone (coenzyme Q)

Le coenzyme Q, aussi appelé ubiquinone en raison de son ubiquité dans les cellules. Il s'agit d'un dérivé benzoquinonique avec une longue chaîne latérale isoprénique (figure 31) (Pincemail J., Defraigne J-O., 2003). Il est une molécule présente au niveau des membranes cellulaires. On la retrouve au niveau de la membrane interne et externe mitochondriale, des vésicules golgiennes et des membranes lysosomales en grande quantité mais en quantité négligeable au niveau des membranes des particules LDL. Cette distribution inégale suggère un rôle différent selon la membrane concernée. Une de ses fonctions *in vivo* est d'assurer le transfert d'un électron directement à O_2 via l'ubiquinone réduite de manière univalente, ceci

participant à la formation d' $O_2^{\cdot-}$ (Olry A., 2005). Le coenzyme Q agit en synergie très étroite avec la vitamine E dans la protection des membranes cellulaires contre le stress oxydant (Pincemail J., Defraigne J-O., 2003).

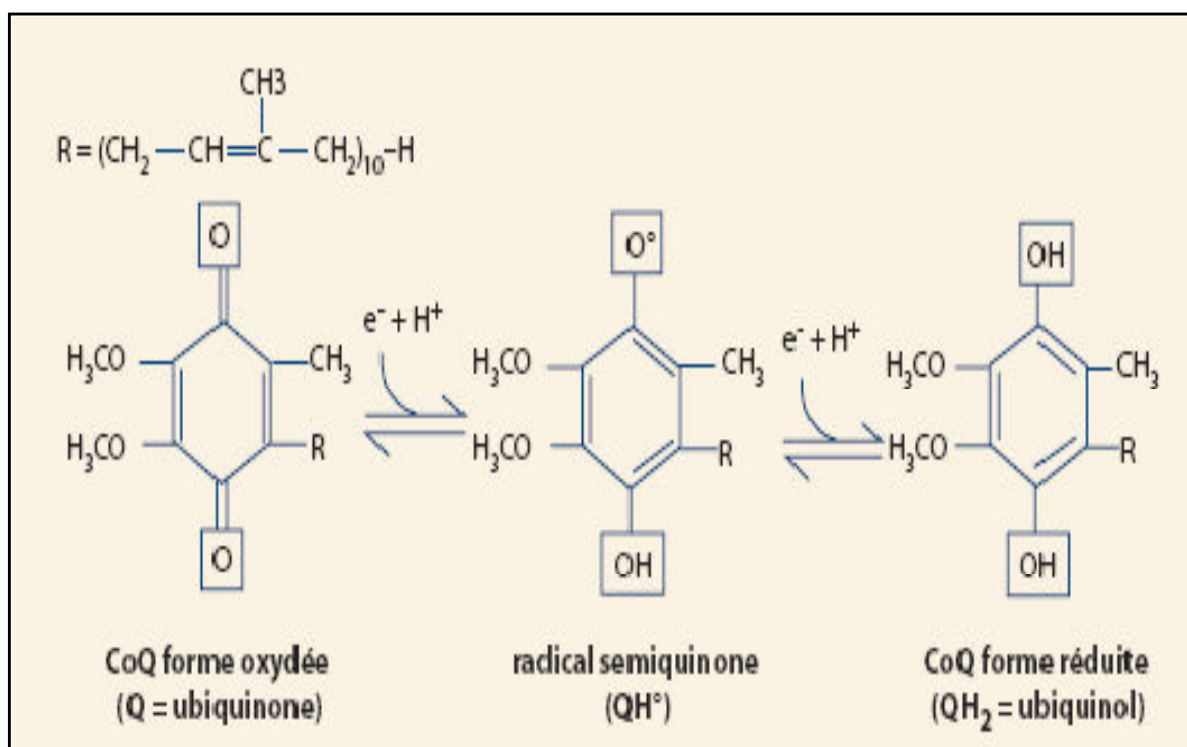


Figure 31: Structure chimique des formes réduites (ubiquinol-10), radicalaire (radical ubisemiquinone) et oxydée (ubiquinone) du CoQ (Pincemail J., Defraigne J-O., 2003).

Parmi ces trois formes (figure 31), c'est la seule forme réduite CoQ₁₀H₂ qui est dotée de propriétés antioxydantes

Il a été longtemps suggéré que l'ubiquinone participait à la formation de ERO. Au contraire de cette fonction prooxydante, l'ubiquinone réduite de manière divalente (ubiquinol) est considérée comme antioxydante en contrôlant notamment la peroxydation des lipides (Olry A., 2005 ; Boumaza A., 2009), en recyclant l' α -tocophérol en sa forme réduite active et en réduisant l' $O_2^{\cdot-}$ (Olry A., 2005).

le coenzyme Q est considéré comme un agent thérapeutique intéressant dans diverses pathologies caractérisées par des altérations mitochondriales (mitochondrial diseases) et/ou par la présence d'un stress oxydant (athérosclérose) (Pincemail J., Defraigne J-O., 2003).

Dans la circulation sanguine, le coenzyme Q se trouve essentiellement sous sa forme réduite CoQ₁₀H₂. Au niveau des lipoprotéines, il s'oxyde très rapidement en CoQ₁₀ lorsque celles-ci sont soumises à un stress oxydant. Plusieurs études ont montré l'intérêt de mesurer

dans le plasma ou les lipoprotéines le rapport CoQ10H2/CoQ10 comme marqueur de la présence d'un stress oxydant dans diverses pathologies (Pincemail J., Defraigne J-O., 2003).

II.4.2.5. L'acide lipoïque

L'acide lipoïque, sous forme libre, pourrait aussi constituer un antioxydant en réagissant avec certains ERO comme notamment $O_2^{\circ-}$ et OH° , ou en chélatant certains métaux. Toutefois, sa fonction première semble être de servir de cofacteur à plusieurs enzymes mitochondriales. Sa forme réduite est l'acide dihydrolipoïque (DHLA) alors que sa forme oxydée est le LA (Gama F., 2010). Inhibiteur de la glycooxydation, prévention de la lipodystrophie et la neuropathie mendiée par les ERO (Boumaza A., 2009).

II.5. Balance oxydants-antioxydants

Il est maintenant bien établi que les espèces réactives ont un double rôle, à la fois bénéfique pour défendre l'organisme et délétère dans le cadre d'un stress oxydant intense et/ou prolongé. À de faibles concentrations, elles sont bénéfiques jouant un rôle dans la régulation redox de plusieurs fonctions physiologiques. Au contraire, une surproduction, résultant par exemple de l'activité mitochondriale de la chaîne de transport des électrons ou d'une stimulation excessive des NADPH oxydases, provoque un stress oxydant qui peut entraîner des dommages aux constituants cellulaires (lipides, protéines et ADN) (figure 32) (Yzydorczyk C.,2011).

La régulation redox et le stress oxydant sont déterminés par l'amplitude et la durée de l'augmentation des niveaux de ces molécules comme schématisé sur la figure 33. Les faibles concentrations cellulaires (« I) baseline level ») de ces espèces réactives peuvent être augmentées de façon contrôlée, conduisant à un déséquilibre temporaire (« II) Regulatory imbalances »), nécessaire à l'activation de certaines fonctions cellulaires. La production soutenue et excessive va conduire à des modifications persistantes de voies de signalisation, d'expression génique ainsi qu'à des dommages oxydants (« III) Dysregulation by chronic oxidative stress ») (Yzydorczyk C.,2011).

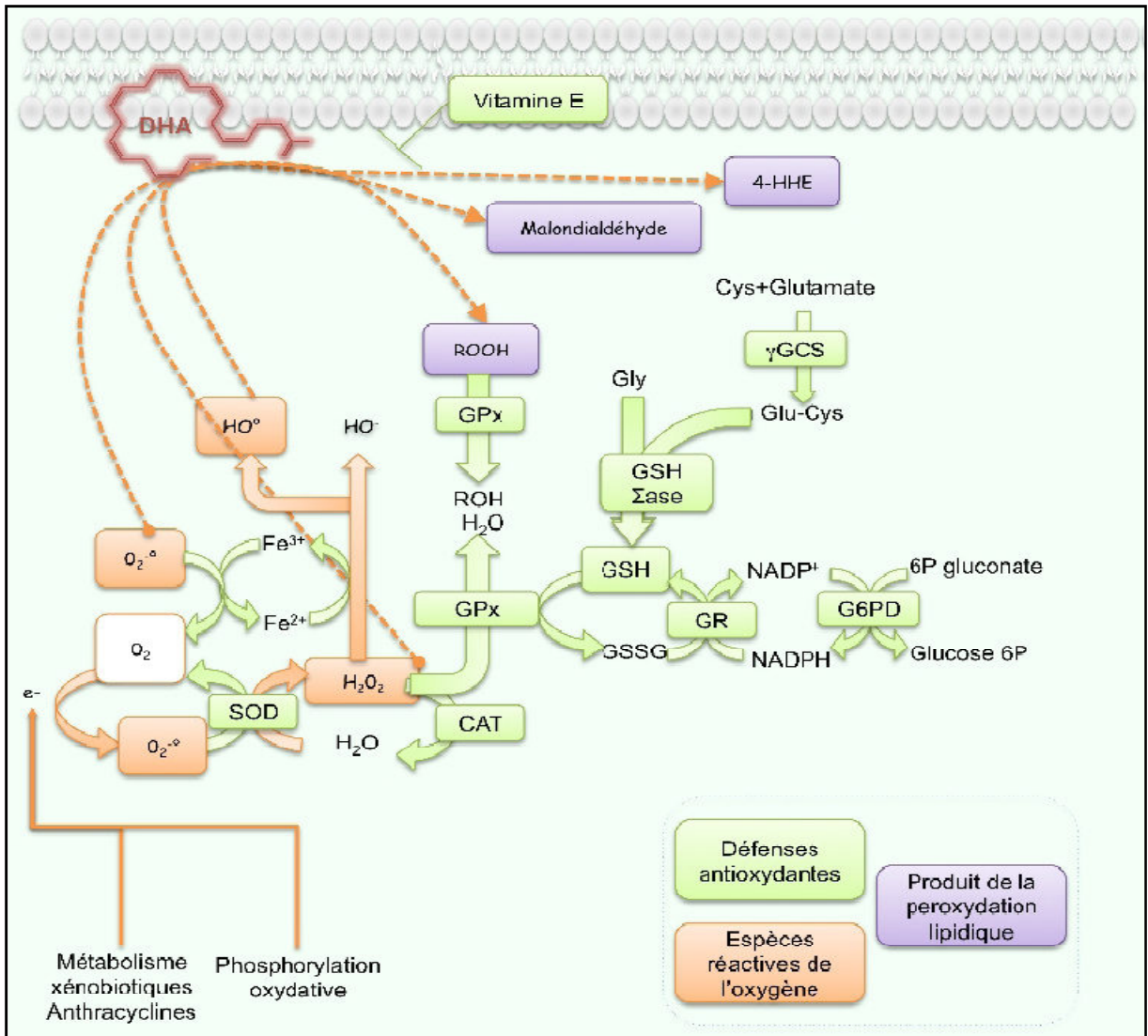


Figure 32 : Equilibre des couples redox intracellulaires (Vibet S., 2008).

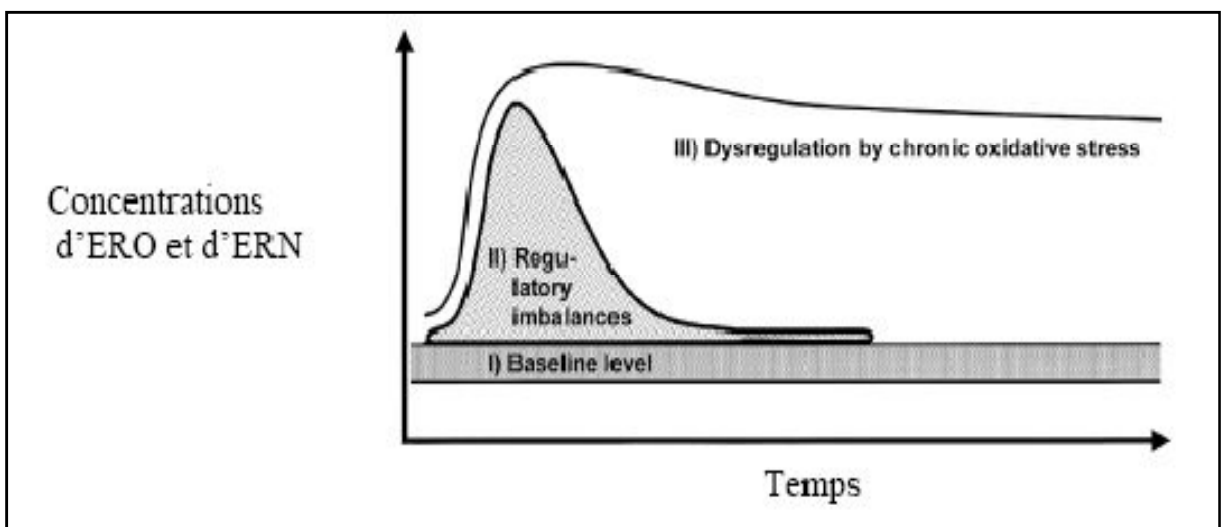


Figure 33 : Régulation redox et stress oxydant (Yzydorczyk C.,2011).

II.6. Pathologies liées aux variations des antioxydants

L'exploration du statut radicalaire peut se faire par trois abords : la mesure de la production de radicaux (statut prooxydant), la mesure des capacités de défenses (statut antioxydant) et la mesure de l'étendue des désordres biochimiques spécifiques résultant d'un déséquilibre entre la balance antioxydants/prooxydants (Favier A., 2003).

Comme approche biologique l'utilisation en thérapeutique des enzymes antioxydantes s'est avérée décevante, sans doute parce que la quasitotalité des essais thérapeutiques ont porté sur la superoxyde dismutase cuivre-zinc cytosolique, enzyme ambiguë quant à son rôle strictement antioxydant puisque sa surexpression fait produire à la cellule du peroxyde d'hydrogène plus dangereux que le superoxyde, car étant neutre, il traverse les membranes et peut générer OH° par la réaction de Fenton. Les enzymes à sélénium comme les protéines soufrées (métallothionéines, thioredoxines) seraient théoriquement beaucoup plus intéressantes mais doivent être produites en grande quantité par génie génétique et testées chez l'animal (Favier A., 2003).

Deux autres approches semblent prometteuses : la thérapie génique et le transfert de protéines ciblées. La thérapie génique par transfert de gènes antioxydants a donné des résultats encourageants chez l'animal : diminution des conséquences de l'ischémie du myocarde par les gènes de la catalase ou des SOD, suppression des métastases de cancer du poumon par le gène de la SOD extracellulaire, suppression des tumeurs gliales par la SOD. Le transfert de protéines taguées permet de les faire pénétrer dans les cellules, grâce à une petite séquence peptidique cationique, le PTD (ou « protein transduction domain »), qui par un récepteur membranaire et de l'énergie, permet à la protéine fusionnée de traverser la membrane plasmique et même la barrière hémato-méningée (Favier A., 2003).

De nombreuses études ont été menées dans le but de mettre en évidence un éventuel déficit des systèmes enzymatiques antioxydants au cours du vieillissement, en particulier au niveau des érythrocytes puisqu'ils renferment notamment la Cu,Zn-SOD, la glutathion peroxydase (GPx) et la glutathion- S-transférase (GST). Toutefois, les résultats de ces études présentent des divergences. En revanche, en ce qui concerne les antioxydants non enzymatiques (vitamine E, vitamine C, caroténoïdes, glutathion...) et les oligoéléments (sélénium, zinc), des carences ont peut être observées, en particulier en vitamine C dans des unités de long séjour, et en sélénium, cette dernière carence étant accompagnée d'une diminution de l'activité du GPx (Bonnefont-Rousselot D., 2007).

L'obésité est associée à un stress oxydant qui favoriserait l'apparition d'un diabète de type 2. En outre, il a été récemment montré que les polyphénols du thé inhibent la formation d'adipocytes (graisse) (Cillard J., 2007).

En 2003, Favier A, est mis en évidence qu'il était possible de faire entrer des protéines antioxydantes dans des îlots de Langerhans (cellules sécrétant l'insuline au sein du pancréas) et de les protéger des stress oxydants très importants chez le diabétique.

Certaines études ont suggéré une implication du stress oxydant dans la maladie de Parkinson (Nzengue Y., 2008 ; Tanguy M. et *al.*, 2009). Cette maladie neurodégénérative a une forte incidence dans la population âgée. Elle se déclare autour de 60 ans et dure, en moyenne, 13 ans. Les dommages oxydatifs ont été observés après une analyse *post mortem* du cerveau des individus atteints de la maladie de Parkinson. Une diminution de la quantité du glutathion réduit (GSH) et de l'activité du complexe I de la chaîne respiratoire mitochondriale a également été rapportée. Une diminution de GSH suggère l'induction d'un stress oxydant (Nzengue Y., 2008).

Expérimentalement, les antioxydants présentent des activités anticancéreuses non seulement en piégeant les ERO mais aussi en augmentant la réponse immunitaire, en stimulant les gènes inhibiteurs du cancer, en diminuant l'expression d'oncogènes ou en inhibant l'angiogenèse des tumeurs (Pincemail J. et *al.*, 1999 ; Nzengue Y., 2008). Des dérivés d'oxydation de l'ADN signant un stress oxydant sont retrouvés dans le sang et les tissus des malades cancéreux (Nzengue Y., 2008). De très nombreuses études épidémiologiques suggèrent qu'une alimentation en fruits et/ou en légumes riches en antioxydants est associée à une réduction du risque de développer différents types de cancer (Pastre J., 2005 ; Defraigne J.O., Pincemail J., 2007). Une étude récente a montré que des sujets sains consommant une formulation alimentaire pauvre en acides gras polyinsaturés mais riche en vitamine E présentaient un ADN mieux protégé contre le stress oxydatif que celui d'autres sujets sains consommant une formulation riche en acides gras polyinsaturés mais pauvre en vitamine E, propice dans le développement de certains cancers comme celui du sein chez les femmes. Dans de futures investigations, il sera impératif d'évaluer différents biomarqueurs sanguins ou urinaires de l'oxydation de l'ADN et de corrélés ceux-ci avec l'apparition de la maladie (Pincemail J. et *al.*, 1999 ; Baguet J. et *al.*, 2010).

Des études épidémiologiques chez l'homme comme la « Lens Opacities case control study », la « Nurse Health Study » et la « Baewer Dam Eye Study » ont mis en évidence une

association entre une alimentation enrichie en antioxydants et un moindre risque d'apparition de la cataracte (Pastre J., 2005 ; Tanguy M. et *al.*, 2009).

Dans l'étude réalisée à l'initiative de l'Office Mondial de la Santé sur une cohorte de sujets, la valeur du rapport de concentrations molaires entre les vitamines C et E est un facteur prédictif de l'apparition de pathologies cardiovasculaires. Une valeur idéale de ce rapport (entre 1, 3 et 1,5) signifie que la mortalité par accident cardiovasculaire est plus faible que la valeur du rapport 0,6 à 0,8 où la mortalité est plus forte (Defraigne J.O., Pincemail J., 2007 ; Tanguy M. et *al.*, 2009).

Un antioxydant peut devenir prooxydant dans certaines situations et favoriser alors l'apparition d'un stress oxydant dommageable. Des effets prooxydants ont été observés *in vivo* pour des doses élevées en vitamines C et E (≥ 400 UI/jour) (Cillard J., 2007). Des effets indésirables (maux de tête, nausées, fatigue, vertiges, troubles de la vision) peuvent se manifester et sont attribués au fait que la vitamine E, à cette dose, s'oppose à l'action de la vitamine A. D'autres effets secondaires comme une perturbation du fonctionnement de la thyroïde ou une chute de l'hématocrite ont également été décrits. La vitamine E peut aussi interférer avec le métabolisme de la vitamine K, ce qui entraîne des anomalies au niveau de la prothrombine (Defraigne J.O. et *al.*, 1998). Ainsi les fumeurs supplémentés en bêta carotène ont développé des cancers du poumon en plus grand nombre (Cillard J., 2007 ; Tanguy M. et *al.*, 2009 ; Baguet J. et *al.*, 2010).

Les effets des antioxydants *in vivo* ce sont avérés beaucoup plus complexes qu'on ne le pensait. Outre leur rôle d'antioxydant perse, leurs effets sur la signalisation cellulaire et la régulation de l'expression des gènes ouvrent de nouvelles perspectives. La nutriginomique est une science émergente qui vise d'une part à mieux comprendre comment la consommation d'un aliment particulier agit sur les gènes, et d'autre part à expliquer pourquoi certains individus répondent moins bien à un régime à cause de leur génotype. Cette nouvelle approche devrait conduire à personnaliser la nutrition en fonction des individus et des pathologies à prévenir (Cillard J., 2007).

Conclusion générale

Conclusion générale

En conclusion, il existe une évidence considérable à partir de cette étude, c'est que les constituants majeurs de notre organisme (lipides, protéines, ADN) peuvent être oxydés par les espèces réactives de l'oxygène ou d'azote incluant des radicaux libres, qui sont produits continuellement dans notre organisme à partir de l'oxygène que nous respirons. Les dommages oxydatifs provoqués par les RL au niveau des biomolécules portent le nom de Stress Oxydant.

Dans les conditions physiologiques normales, nos cellules sont équipées de systèmes de défense antioxydante, qui leur permettent de neutraliser les ERO pour les maintenir à un faible taux dans les cellules et par conséquent, empêcher le déclenchement d'un stress oxydant.

Le système de défense est constitué de 2 pools d'antioxydants : Un premier pool est synthétisé par les cellules. C'est le cas des enzymes antioxydantes tels que le superoxyde dismutase qui neutralise l'ion superoxyde en le transformant en peroxyde d'hydrogène, la catalase qui est capable de transformer le peroxyde d'hydrogène (généralement produit par les SOD) en eau et oxygène moléculaire et le glutathion peroxydase qui catalyse la réduction des peroxydes, mais également du glutathion, de l'acide urique, de l'acide lipoïque, du coenzyme Q10, de la bilirubine comme substances endogènes. L'autre pool d'antioxydant est apporté par l'alimentation comme constituants naturels des fruits et des végétaux en exerçant une activité antioxydante significative incluant: les vitamines C, E et A, les caroténoïdes, les polyphénols, le sélénium et le zinc.

Beaucoup reste encore à découvrir au niveau micronutritionnel. Les antioxydants constituent une des pistes en médecine préventive : des études ont démontré la réduction du risque de différentes maladies ; déficits et insuffisances en nutriments à effet antioxydant sont *a priori* délétères, mais aussi de fortes doses de nutriments isolés.

Il est nécessaire de réaliser d'autres études pour comprendre les mécanismes pathogéniques où est impliqué le stress oxydatif, savoir quelle molécule est efficace et comment elle agit.

Résumé

Le but de la présente étude visait à étudier l'effet des antioxydants contre le stress oxydatif qui peut se produire, résultant d'un déséquilibre entre les systèmes antioxydants et les radicaux libres, qui sont des membres d'une famille chimique réactive appelée des espèces réactives de l'oxygène ou d'azote endommageront les macromolécules intracellulaires, lipides, ADN ou protéines. Ces systèmes antioxydants constituent: les enzymes antioxydantes (la superoxyde dismutase, les superoxyde-réductases, glutathion peroxydase, la glutathion réductase et la catalase), ou les molécules d'extracteur absorbées du régime (vitamine C, E, A, caroténoïdes, Polyphénols, sélénium et le zinc) ou produit de manière endogène (glutathion, bilirubine, l'acide urique, l'ubiquinone et l'acide lipoïque). Des études épidémiologiques et cliniques démontrent qu'un individu présentant un statut en antioxydants équilibré, grâce à une alimentation saine, court moins de risques de développer certaines maladies chroniques qu'une personne dont le taux sanguin en antioxydants est trop faible.

Mots-clés : antioxydants enzymatiques, antioxydants non enzymatiques, le stress oxydatif, les radicaux libres.

Références bibliographiques

1. Baguet J., Boudry D., Christiaens T., Courtens A., D'Hollander K., Gilliet T., Lannoy J., Leunckens I., Staessen W., Tigra I., Vanderdonck S., Van Elsen J. et Verhofstadt K. (2010). Vitamines et minéraux. Formul R info. vol. 17(3) : 17-28.
2. BAROUKI R. (2006). Stress oxydant et vieillissement. MEDECINE/SCIENCES. (22) : 266-272.
3. BELKHEIRI N. (2010). derives phenoliques a activites antiatherogenes. Thèse de doctorat: Chimie-Biologie-Santé. Toulouse: UT. 244p.
4. Bonnefont-Rousselot D., (2007). Stress oxydant et vieillissement. SPECTRA BIOLOGIE. (157) : 23-26.
5. Bouhadjra K. (2011). etude de l'effet des antioxydants naturels et de synthese sur la stabilite oxydative de l'huile d'olive vierge. Thèse magister: Chimie. Tizi-ouzou: UMM. 122p.
6. Bouldjadj R. (2009). Étude de l'effet antidiabétique et antioxydant de l'extrait aqueux lyophilisé d'artemisia herba alba asso chez des rats sains et des rats rendus diabétiques par STREPTOZOTOCINE. Mémoire de magistère: Biologie Cellulaire et Moléculaire. Constantine: UMC. 111p.
7. Boumaza A. (2009). Effet de l'extrait méthanolique de Zygophyllum cornutum coss contre le stress oxydant associé au diabète sucré et les organes en relation. Mémoire de magistère: Biologie Cellulaire et Moléculaire. Constantine: UMC. 126p.
8. Cadet J., Douki T., Gasparutto D. et Ravanat J L. (2003). Oxidative damage to DNA: formation, measurement and biochemical features: Mutat Res. vol. 531 : 5-23. Cité par Laurent C. (2005).
9. Carreras M. (2004). Etat pro/antioxydant en relation avec le métabolisme lipidique dans les plaquettes sanguines lors du diabète. Mémoire de magistère: Sciences de la Vie et de la Terre. Lyon: EPHE. 41p.
10. Chaaya R. (2010). Rôle du stress oxydant induit par les monoamine oxydases dans la fibrose rénale : étude *in vivo* dans un modèle d'ischémie reperfusion chez le rat. Thèse de doctorat: Innovation pharmacologique. Toulouse: UT. 200p.
11. Chaborry E. (2009). Caractérisation fonctionnelle de la glutathion peroxydase 5 murine. Thèse de doctorat: Physiologie et Génétique moléculaires. Clermont-Ferrand: UBP. 378p.

12. Chatard J. (2003). Lutter contre le dopage en gérant la récupération physique. Ed. Université de Saint-Etienne, France. 248p.
13. Cillard J. (2007). Les antioxydantes sont - ils nos alliés santé ?. VALORIAL NUTRITION SANTE. (6) : 20-24.
14. Decarroz C., Wagner J R., Van Lier J E., Krishna C M., Riesz P. et Cadet J. (1986). Sensitized photo-oxidation of thymidine by 2-methyl-1,4-naphthoquinone. Characterization of the stable photoproducts: Int J Radiat Biol Relat Stud Phys Chem Med. vol. 50 : 491-505. Cité par Laurent C. (2005).
15. Defraigne J.O., Pincemail J.(2007). stress oxydant et antioxydants : mythes et réalités. Med Liege. vol. 62(4) : 1-10.
16. Defraigne JO., Pincemail J., Meurisse M. et Limet R. (1998). Antioxydants et prévention des maladies cardiovasculaires 2ème partie: la vitamine E. M E D I S P H E R E. (90) : 23-28.
17. El Ghazouani A. (2007). Etude biochimique et fonctionnelle de la protéine PerR de Bacillus subtilis : un senseur bactérien du peroxyde d'hydrogène. Thèse de doctorat: Chimie-Biologie. Grenoble I: UJFGI. 230p.
18. Favier A. (2003). Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. l'actualité chimique. (269-270) : 108-115.
19. Fontaine D. (2004). analyse pharmacologique comparative de l'action vasculaire du ramipril et d'inhibiteurs de l'hmg-coa réductase sur l'aorte isolée de rat; perspectives d'applications cliniques. Thèse de doctorat: Sciences Pharmaceutiques. Bruxelles: ULB. 135p.
20. Gama F. (2010). Les glutarédoxines : de la réduction des peroxyrédoxines de type II aux systèmes d'assemblage des centres fer-soufre. Thèse de doctorat: Biologie Végétale et Forestière. Nancy I: UHP. 269p.
21. Garait B. (2006). Le stress oxydant induit par voie métabolique (régime alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la GliSODin®. Thèse de doctorat: Biologie Cellulaire. Grenoble I: UJF. 196p.
22. Gardès-Albert M., Bonnefont-Rousselot D., Abedinzadeh Z. et JoreD. (2003). Espèces réactives de l'oxygène Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ?. l'actualité chimique. (269-270) : 91-96.
23. Girardi Cl. (2006). Caractérisation fonctionnelle d'un facteur d'élongation mitochondrial le EF-Tsmt chez la tomate. approches par transgénèse et protéomique. Thèse de doctorat: Qualité et Sécurité des Aliments. Toulouse: SEVAB. 130p.

24. Guo H., Seixas-Silva J A., Epperly W., Gretton J E., Shin D M., Bar-Sagi D., Archer H. et Greenberger J S. (2003). Prevention of radiation-induced oral cavity mucositis by plasmid/liposome delivery of the human manganese superoxide dismutase (SOD2) transgene: *Radiat Res.* vol. 159 : 361-70. Cité par Laurent C. (2005).
25. Gutman J. (2004). *Glutathione Aide Essentielle à une Bonne Santé.* Ed. LA LIBRAIRIE KUDO, France. 285p.
26. Hamadi N. (2010). Effet du resveratrol sur les défenses antioxydantes chez les rats rendus diabétiques par la Streptozotocine. Thèse magister: Biologie Moléculaire et Cellulaire. Constantine: UMC. 98p.
27. Hebuteme X., Piquet M. (2007). *Nutrition en pathologie digestive.* Ed. Wolters Kluwer, France. 253p.
28. Jadot G. (1994). *Antioxydants et vieillissement.* Ed. John Libbey Eurotext, Paris. 300p.
29. Kebieche M. (2009). *Activité biochimique des extraits flavonoïdiques de la plante Ranunculus repens L : effet sur le diabète expérimental et l'hépatotoxicité induite par l'Epirubicine.* Thèse de doctorat: Biochimie. Constantine: UMC. 143p.
30. Laurent C. (2005). *Rôle du stress oxydatif dans le développement des effets cellulaires radio-induits au niveau cutané : application aux irradiations localisées accidentelles.* Thèse de doctorat: Biologie. Yvelines: UVSQ. 226p.
31. Lavoie M. (2012). *Inflammation, stress oxydant, profil métabolique : influence des apports alimentaires et de la dépense énergétique.* Thèse de doctorat: nutrition. Montréal: UM. 326p.
32. Lyoumi S., Tamion F., Leplingard A., Beaumont C., PuyH. et Lebreton J P. (2007). *Rôles protecteurs de l'hème oxygénase et des catabolites de l'hème.* *Hématologie.* vol. 13(4) : 251-263.
33. Meziti A. (2009). *Activité antioxydante des extraits des graines de Nigella sativa L Étude in vitro et in vivo.* Thèse magister: Biochimie Appliquée. Batna: UEHL. 105p.
34. Milane H. (2004). *La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques.* Thèse de doctorat: Pharmacochimie. Strasbourg I: ULP. 268p.
35. Morel C. (2007). *Etudes de la régulation de la sulfhydryl oxydase QSOX1 et de son implication dans l'apoptose induite par les stress oxydants.* Thèse de doctorat: Sciences de la Vie et de la Santé. Besançon: UFC. 220p.
36. Nzengue Y. (2008). *Comparaison des mécanismes de toxicité redox du cadmium, du cuivre et du zinc : place des métallothionéines et de p53.* Thèse de doctorat: Biologie. Grenoble I: UJFG. 299p.

37. Olry A. (2005). Mécanisme et spécificité structurale des Méthionine sulfoxyde réductases (Msr) de *Neisseria meningitidis* et rôle du métal dans les MsrB. Thèse de doctorat: Enzymologie Moléculaire. Nancy I: UHP. 234p.
38. Papin J. (2009). Bases moléculaires des défauts sécrétoires des cellules β -pancréatiques lors de la glucotoxicité. Thèse de doctorat: Biologie cellulaire et Physiopathologie. Bordeaux: UB1. 204p.
39. Pastre J. (2005). Intéret de la supplémentation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. Thèse de doctorat: Biologie Moléculaire. Toulouse: ENV. 120p.
40. Pelletier E., Denizeau F. et Campbell P G C. (2004). ecotoxicologie moléculaire Principes fondamentaux et perspectives de développement. Ed. Presses de l'Université du Québec, Canada. 462p.
41. Penchev P. (2010). Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions. Thèse de doctorat: Génie des Procédés et de l'Environnement. Toulouse. UT. 239p.
42. Pincemail J., DEFRAIGNE J-O. (2003). Le CoEnzyme Q10 ou ubiquinone: un antioxydant particulier. *Vaisseaux, Cœur, Poumons*. vol. 8(2) : 55-60.
43. Pincemail J., Meurisse M., Limet R. et Defraigne J O. (1999). Espèces oxygénées activées, antioxydants et cancer, *Vaisseaux, Cœur, Poumons*. vol. 4(4) : 16-20.
44. Poaty-Poaty B. (2009). modification chimique d'antioxydants pour les rendre lipophiles : application aux tannins. Thèse de doctorat: Sciences et Techniques de la Matière et des Procédés. Nancy I: UHPNI. 193p.
45. Remon E. (2006). Tolérance et accumulation des métaux lourds par la végétation spontanée des friches métallurgiques : vers de nouvelles méthodes de bio-dépollution. Thèse de doctorat: Biologie Végétale. Saint Etienne: UJM. 166p.
46. Roussel X. (2009). Enzymologie moléculaire d'une sulfinyl réductase, la sulfirédoxine : caractérisation du mécanisme catalytique. Thèse de doctorat: Enzymologie Moléculaire et Biologie Structurale. Nancy I: UHP. 205p.
47. Soares A. (2005). Effets du stress oxydant sur le fonctionnement des adipocytes : adiponectine et prostaglandines. Thèse de doctorat: Biochimie. Lyon: INSAL. 133p.
48. Souguir D. (2009). Modifications métaboliques, moléculaires et génotoxicité induites par le cadmium chez *Vicia faba*. Thèse de doctorat: Sciences Biologiques. Lyon: EDSVS. 238p.

49. Stocker R., Yamamoto Y., Mc Donagh AF., Glazer AN. et Ames BN. (1987). Bilirubin is an antioxidant of possible physiological importance. *Science*. (235) : 1043-1046.
50. Tanguy M., Anne M. et Begué S. (2009). Antioxydants Deuxième partie : données cliniques d'efficacité. *Médecine*. vol. 5(7) : 303-307.
51. Tremey E. (2009). Etude du rôle du ligand axial cystéine du site actif de la superoxyde réductase dans la réactivité avec le superoxyde. Thèse de doctorat: Chimie- Biologie. Grenoble I: UGF. 210p.
52. Vibet S. (2008). Augmentation de la sensibilité des cellules tumorales mammaires aux agents anticancéreux par les acides gras polyinsaturés n-3 : rôle du statut oxydant et de la vascularisation tumorale. Thèse de doctorat: Sciences de la Vie & Santé. Tours: UFR. 216p.
53. Vozenin-Brotans M C., Sivan V., Gault N., Renard C., Geffrotin C., Delanian S., Le faix J L. et Martin M. (2001). Antifibrotic action of Cu/Zn SOD is mediated by TGFbeta1 repression and phenotypic reversion of myofibroblasts: *Free Radic Biol Med*. vol. 30 : 30-42. Cité par Laurent C. (2005).
54. Ward J F. (1985). Biochemistry of DNA lesions: *Radiat Res*. vol. 104 : 103-111. Cité par Laurent C. (2005).
55. Wood L. (2001). Inhibition of superoxide dismutase by 2-methoxyestradiol analogues and oestrogen derivatives: structure-activity relationships. *Cancer Sciences Research Division*. vol. 16(4-5) : 209-215.
56. Yzydorczyk C. (2011). Rôle du stress oxydant en période néonatale dans l'hypertension artérielle et la dysfonction vasculaire et métabolique de l'adulte. Thèse de doctorat: sciences de la vie et de la santé. Auvergne: UA. 333p.

Résumé

Le but de la présente étude visait à étudier l'effet des antioxydants contre le stress oxydatif qui peut se produire, résultant d'un déséquilibre entre les systèmes antioxydants et les radicaux libres, qui sont des membres d'une famille chimique réactive appelée des espèces réactives de l'oxygène ou d'azote endommageront les macromolécules intracellulaires, lipides, ADN ou protéines. Ces systèmes antioxydants constituent: les enzymes antioxydantes (la superoxyde dismutase, les superoxyde-réductases, glutathion peroxydase, la glutathion réductase et la catalase), ou les molécules d'extracteur absorbées du régime (vitamine C, E, A, caroténoïdes, Polyphénols, sélénium et le zinc) ou produit de manière endogène (glutathion, bilirubine, l'acide urique, l'ubiquinone et l'acide lipoïque). Des études épidémiologiques et cliniques démontrent qu'un individu présentant un statut en antioxydants équilibré, grâce à une alimentation saine, court moins de risques de développer certaines maladies chroniques qu'une personne dont le taux sanguin en antioxydants est trop faible.

Mots-clés : antioxydants enzymatiques, antioxydants non enzymatiques, le stress oxydatif, les radicaux libres.

المخلص

تهدف هذه الدراسة إلى دراسة تأثير المواد المضادة للأكسدة ضد الأكسدة التي قد تحدث نتيجة لاختلال التوازن بين المواد المضادة للأكسدة ونظم الجذور الحرة، التي هي أعضاء في عائلة تسمى أنواع الأكسجين أو النيتروجين التفاعلية تسبب ضرر للجزيئات داخل الخلايا، الدهون، الحمض النووي أو البروتينات. هذه الأنظمة المضادة للأكسدة تشمل: الإنزيمات المضادة للأكسدة (سوبر أكسيد ديسموتاز، سوبر أكسيد ريدكتاز، الجلوتاثيون، الجلوتاثيون ريدكتاز و الكاتالاز)، أو الجزيئات المستخرجة من الغذاء (فيتامين C، E، A، الكاروتينات، البوليفينول، السيلينيوم و الزنك) أو المنتجة داخل الجسم (الجلوتاثيون، البيبيريدين، حمض البولة، مرافق إنزيم Q وحمض الليبويك). تظهر الدراسات الوبائية و السريرية أن الفرد مع حالة مضادة للأكسدة متوازنة، وذلك بفضل إتباع نظام غذائي صحي، هو أقل عرضة لتطور أمراض مزمنة من الشخص الذي تكون نسبة المواد المضادة للأكسدة في دمه منخفضة جدا.

الكلمات المفتاحية : مضادات الأكسدة الأنزيمية، مضادات الأكسدة غير الأنزيمية، الأكسدة، الجذور الحرة.