

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 du glutathion dans l'organisme et son  
rôle comme antioxydant et détoxification

Promoteur :

Mr. KHALEF Yahia

Présenté par :

ZEKAIRA chaouki  
MESSAOUDI abd elkrim  
KOUIDRI douiem

Année universitaire 2012/2013

---

## SOMMAIRE

Introduction générale	
<b>Chapitre I : Le stress oxydant</b>	
I.1. Définition .....	4
I.2. Les radicaux libres .....	4
I.3. Les différents dérivés réactifs de l'oxygène .....	5
I.3.1. Les dérivés non radicalaires .....	5
I.3.2. Les dérivés radicalaires .....	7
I.4. Les principales sources d'espèces réactives de l'oxygène .....	8
I.4.1. Source endogène de ROS.....	8
I.4.1.1. Mitochondrie .....	8
I.4.1.2. Peroxysome .....	8
I.4.1.3. Réticulum endoplasmique .....	9
I.4.1.4. Xanthine oxydoréductase .....	9
I.4.1.5. Au cours d'une infection .....	10
I.4.1.6. Comme moyen de défense .....	10
I.4.2. Source exogène de ROS .....	11
I.5. Les conséquences moléculaires du stress oxydant .....	13
I.5.1. Peroxydation lipidique .....	13
I.5.2. Oxydation des protéines .....	13
I.5.3. Oxydation des acides nucléiques .....	14
I.6. Les systèmes antioxydants.....	15
I.6.1. Les systèmes antioxydants enzymatiques .....	16
I.6.1.1. Superoxyde dismutase (SOD) .....	17
I.6.1.2. Les catalase (CAT) .....	17
I.6.1.3. Les glutathions peroxydases.....	18
I.6.1.4. L'hème oxygénase .....	18
I.6.1.5. La thiorédoxine (TRX) .....	18
I.6.2. Les systèmes antioxydants non enzymatiques .....	19
I.6.2.1. Les antioxydants endogènes .....	19

a) L'acide urique .....	19
I.6.2.2. Les antioxydants exogènes.....	20
I.6.2.2.1. La vitamine E (ou $\alpha$ -tocophérol).....	20
I.6.2.2.2. La vitamine C (ou acide ascorbique).....	21
I.6.2.2.3. La relation entre ces vitamines.....	22
I.6.2.2.4. Les antioxydants phénoliques .....	22
I.6.2.2.4.1. Les antioxydants phénoliques naturels .....	22
I.6.2.2.4.1.1. Les flavonoïdes .....	23
I.6.2.2.4.1.2. Les non-flavonoïdes .....	25
I.6.2.2.4.1.2.1. Les acides phénoliques .....	25
I.6.2.2.4.1.2.2. Les stilbènes .....	25
I.6.2.2.4.2. Les antioxydants phénoliques de synthèse .....	26
<b>Chapitre II : Le glutathion</b>	
II.1. Définition .....	30
II.2. Métabolisme de glutathion .....	31
II.2.1. La synthèse de glutathion .....	31
II.2.2. La régulation de la synthèse de glutathion .....	32
II.2.3. Oxydo-réduction du glutathion .....	34
II.2.3.1. Glutathion peroxydase (GPX) .....	34
II.2.3.2. Glutathion réductase (GR) .....	34
II.3. Les pools de glutathion et son turnover .....	37
II.4. Principaux rôles du glutathion .....	39
II.4.1. Agent antioxydant .....	39
II.4.2. Agent de détoxification .....	40
II.5. Glutathion et apoptose .....	42
Conclusion générale.....	45
Référence bibliographique .....	46
Résumé et mots-clés	

## LISTE DE FIGURES

Numéro	Titre	Page
<b>Figure 1</b>	Déséquilibre du statut pro/ antioxydant favorisant l'état de stress oxydant	04
<b>Figure 2</b>	Mécanisme de la formation de HOCl	06
<b>Figure 3</b>	Espèces réactives de l'azote dérivées de NO <sup>•</sup>	06
<b>Figure 4</b>	Action de la xanthine oxydase ( XO) conduisant à la formation d'anion superoxyde à partir de la xanthine	09
<b>Figure 5</b>	Représentation des facteurs impliqués dans l'activation de la NADPH oxydase	11
<b>Figure 6</b>	Oxydation de la guanine formant le 8-hydroxy-2-déoxyguanosine (8-oxodG)	15
<b>Figure 7</b>	Répartition des principales défenses antioxydantes dans la cellule.	16
<b>Figure 8</b>	Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques	19
<b>Figure 9</b>	Structure de l'acide urique	20
<b>Figure 10</b>	Structure de la vitamine E (ou $\alpha$ -tocophérol) (T-OH)	20
<b>Figure 11</b>	Formation d'hydroperoxyde (AGPI-OOH)	21
<b>Figure 12</b>	Structure de la vitamine C (Asc)	21
<b>Figure 13</b>	Relation entre les vitamines E et C	22
<b>Figure 14</b>	Structure du FLAVONE	24
<b>Figure 15</b>	Structure du FLAVANE	24
<b>Figure 16</b>	Structure de dérivés de l'acide p-hydroxycinnamique	26
<b>Figure 17</b>	Structures chimiques de quelques stilbènes	26
<b>Figure 18</b>	Structures de quelques antioxydants de synthèse	27
<b>Figure 19</b>	Structures de quelques antioxydants de synthèse cités dans la littérature	28
<b>Figure 20</b>	La structure chimique du glutathion	30
<b>Figure 21</b>	Cycle de la biosynthèse et de la dégradation du glutathion au niveau cellulaire	31
<b>Figure 22</b>	Détoxification par le glutathion des xénobiotiques par conjugaison et formation d'un dérivé de l'acide mercapturique	42
<b>Figure 23</b>	Schéma des voies apoptotiques mitochondriales et des récepteurs de mort induites par les EOR.	43

---

LISTE DES TABLEAUX

<b>Numéro</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Tableau 1</b>	Les grandes familles de polyphénols	23
<b>Tableau 2</b>	Activités relatives des différentes GPx vis à vis de différents substrats	34
<b>Tableau 3</b>	Concentrations tissulaires en glutathion chez des souris après administration aiguë (expérience A) ou chronique (expérience B) d'un inhibiteur de la synthèse de glutathion	39

---

## Liste des abréviations

**ADN** : Acide désoxyribonucléique

**AGPI-OO'** : Le radical peroxy

**AGPI-OOH** : D'hydroperoxyde

**ARNm** : Acide RiboNucléique messenger

**ATP**: Adénosine TriPhosphate

**C** : Caspase

**CCl4** : Tétrachlorure de carbone

**Cd** : Le cadmium

**Cys** : Cystéine

**ERO** : Espèces réactives de l'oxygène

**FADH2/FAD** : Flavine adénine dinucléotide réduite/oxydée

**GPx** : La glutathion peroxydase

**GPx1** : La glutathion peroxydase 1

**GPx2** : La glutathion peroxydase 2

**GPx3** : La glutathion peroxydase 3

**GPx4** : La glutathion peroxydase 4

**GR** : La glutathion réductase

**GS•** : Radical thyle

**GS** : La glutathion synthase

**GSH/GSSG** : Glutathion réduit/oxydé

**GST** : Les glutathion S-transférases

**GS-X** : Conjugués du glutathion

**GTPase** : Protéine G liée aux complexe NADPH oxydase

**HO•** : Hydroxyles

---

**H<sub>2</sub>O**: Molecule l'eau

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : Peroxyde d'hydrogène (eau oxygénée)

**LDL** : Lipoprotéine de faible densité

**NADH, H<sup>+</sup>/NAD<sup>+</sup>** : Nicotinamide adénine dinucléotide réduit/oxydé

**NADPH, H<sup>+</sup>/NADP<sup>+</sup>** : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate réduit/oxydé

**NF-κB** : Nuclear Factor-kappa

**NO** : L'oxyde d'azote

**NO<sub>2</sub>** : Dioxyde d'azote

**O<sub>2</sub><sup>•-</sup>** : Anion superoxide

**O<sub>2</sub>**: Dioxygène

**OCl** : L'acide hypochloreux

**OH<sup>•</sup>** : Hydroxyl Radical

**O<sub>3</sub>**: Ozone

**Rac 2** : Protéine G

**ROS** : Les radicaux libres

**ROOH** : Hydroperoxyde lipidique

**RO<sub>2</sub><sup>•</sup>** : Radicaux peroxydes

**R-OOH** : hydroperoxydes

**SIDA** : Syndrome d'immunodéficience acquise

**SOD** : La superoxyde dismutase

**TNF** : Tumor Necrosis Factor

**T-O<sup>•</sup>** : Radical tocophéryle

**XDH** : Xanthine DésHydrogénase

**XO** : Xanthine Oxydase

**γ-GCS** : La γ-glutamylcystéine synthase

---

## Introduction générale

La vie à la surface de la Terre s'est développée dans une atmosphère riche en O<sub>2</sub>. A partir de cette molécule, diverses adaptations ont permis aux êtres vivants de réaliser l'oxydation de composés biologiques, point de départ du métabolisme énergétique. Certaines réactions physiologiques peuvent aussi conduire à l'activation de l'O<sub>2</sub> et à la formation d'espèces oxygénées réactives (EOR). Ces EOR présentent une ambivalence, elles sont essentielles pour le fonctionnement cellulaire en particulier dans des processus de transduction de signal, cependant elles peuvent avoir des effets néfastes sur les cellules. En effet, leur excès peut conduire à des perturbations graves par des modifications de nombreuses structures cellulaires comme les membranes et l'ADN (**Chabory E., 2009**).

Par ailleurs, les cellules ont développé des systèmes de défenses pour métaboliser les espèces oxydantes et ainsi limiter les dégâts qu'elles provoquent. Ces systèmes antioxydants protègent les constituants cellulaires des agressions radicalaires en interagissant directement avec ces radicaux ou indirectement en produisant des peptides comme le glutathion (**Nzengue Y., 2008**).

Le glutathion (GSH) est un tripeptide naturel qui protège les cellules, les tissus et les organes contre différentes pathologies. En effet, la faible concentration de glutathion dans les cellules est associée à de nombreuses maladies dégénératives incluant la maladie de Parkinson, d'Alzheimer et le SIDA, pour ne citer que les plus connues, mais aussi au vieillissement en général. La modulation du taux de glutathion des cellules saines et cancéreuses pourrait de même être liée à l'apparition de cancer et au phénomène de résistance des cellules cancéreuses. Le glutathion intervient dans l'organisme à différents niveaux : c'est un agent antioxydant, mais aussi un agent de détoxification. Il joue donc un rôle essentiel, c'est pourquoi le nombre d'études dont il fait l'objet se multiplie (**Chenot E., 2008**).

Glutathion ne fait pas encore partie du langage courant. Même les médecins en ayant entendu parler n'en ont qu'une vague idée. Mais nous savons que d'ici quelques années, tous parleront de cette substance vitale. Il fut un temps où des mots comme « cholestérol » et « vitamines » n'étaient connus et compris seulement que par les scientifiques, mais de nos jours, tous en ont entendu parler. Maintenant c'est le tour du glutathion.

C'est pourquoi, nous nous sommes intéressés à étudier le glutathion, substance vitale puissant contre les toxiques et qui est très important pour la santé de notre corps. Ce travail nécessite une étude sur les stress oxydative et leurs conséquences.

---

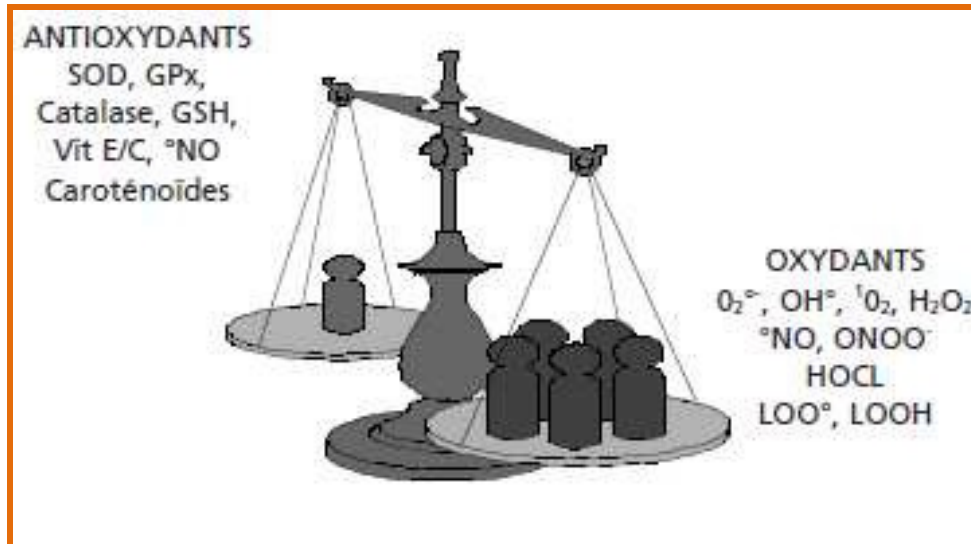
Notre travail sera réparti en deux chapitre : La première chapitre est consacré sur le stress oxydant, en particulier la notion d'espèces oxygénées réactives, Nous avons ensuite abordé au second chapitre la définition du glutathion et leur métabolisme dans l'organisme puis leurs principaux rôles.

# Chapitre I

## Le stress oxydant

## I.1. Définition

Le stress oxydant est défini comme un état tissulaire particulier qui déséquilibre l'homéostasie de nos cellules (**Charles et al., 2005**). Dans les systèmes biologiques, le stress oxydant est la conséquence d'un déséquilibre entre la production des radicaux libres et leur destruction par des systèmes de défense anti-oxydant (**Soares A., 2005**). C'est à dire un déséquilibre de la balance oxydants-antioxydants en faveur des oxydants, il se développe lorsque les radicaux libres des molécules oxydants, sont produits plus rapidement qu'ils ne peuvent être neutralisés par l'organisme (**Rioux C., 2009**). Ce déséquilibre peut avoir une origine exogène : toxine, molécule oxydante comme l' $O_3$ , ou une origine endogène telle que des dysfonctionnements des certaines sources de production ou des systèmes d'élimination des ROS (**Servais S., 2004**). Ce déséquilibre entre les systèmes de défense et de production des radicaux libres entraîne des lésions biochimiques au niveau des cellules de l'organisme du fait de leurs conséquences sur le plan moléculaire, 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 (**Bouldjadj R., 2009**).



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

## I.2. Les radicaux libres

Un radical libre est défini comme une molécule possédant un ou plusieurs électrons

---

libre. Le plus souvent l'électron non apparié se trouve sur l'orbitale externe de la molécule. Cet électron libre la rend très réactive. Parmi les composés qui répondent à cette définition, citons : l'atome d'hydrogène, les ions métalliques de transition, les molécules dérivées de l'oxygène et l'oxyde nitrique. Les principaux radicaux libres dérivent de la molécule d'oxygène par addition successive d'un électron (**Borg J et Reeber A., 2008**).

L'oxygène est indispensable à la vie des animaux, des plantes et de certains microorganismes vivants en aérobie. En effet, il est essentiel pour la production d'énergie sous forme d'ATP qui est réalisée par des mécanismes d'oxydoréduction, c'est à dire de transfert d'un ou plusieurs électrons d'une molécule à l'autre. Lors de ces différentes réactions, l'accepteur final d'électrons est l'oxygène. Lorsqu'un nombre impair d'électrons est transféré sur celui-ci, il est transformé en dérivés de l'oxygène appelés radicaux libres. On les appelle ERO (espèces réactives de l'oxygène) ou ROS (reactive oxygen species) (**Chabory E., 2009**).

### **I.3. Les différents dérivés réactifs de l'oxygène**

#### **I.3.1. Les dérivés non radicalaires**

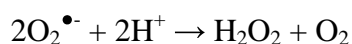
Ils ne possèdent pas d'électrons non appariés mais sont des précurseurs des radicaux libres et sont aussi réactifs que ceux-ci (**Belkheiri N., 2010**).

##### L'oxygène singulet $^1\text{O}_2$

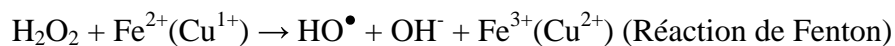
L'oxygène fondamental (celui que nous respirons) possède 2 électrons célibataires à spins parallèles. Sous l'impact d'un photon il peut se transformer en oxygène singulet (forme excitée de l'oxygène moléculaire). Il accouple ses 2 électrons célibataires qui se retrouvent dans la même case quantique avec des spins anti-parallèles. Cette molécule est instable. Elle est produite principalement par photosensibilisation (risque cutané) (**Borg J et Reeber A., 2008**).

##### Le peroxyde d'hydrogène $\text{H}_2\text{O}_2$

Ce n'est pas un radical libre à proprement parler mais une molécule car tous ses électrons périphériques sont appariés Il se forme par dismutation de l'anion superoxyde  $\text{O}_2^{\bullet-}$  sous l'action d'une enzyme : la superoxyde dismutase (SOD) (**Belkheiri N., 2010**).



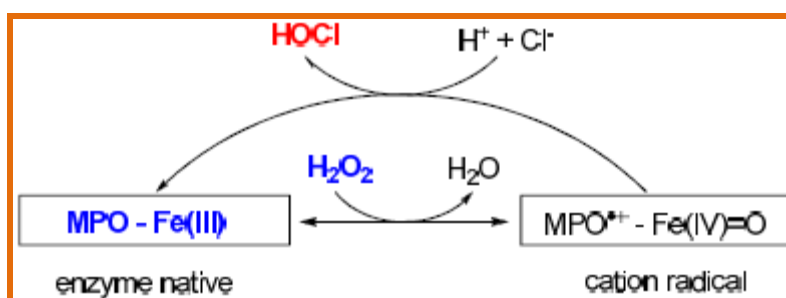
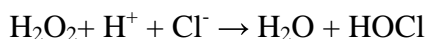
En présence de métaux de transition (fer et cuivre), l' $\text{H}_2\text{O}_2$  donne naissance via la réaction de Fenton à un radical hydroxyle  $\text{HO}^{\bullet}$  hautement réactif (**Bouldjadj R., 2009**).



Le peroxyde d'hydrogène est moins réactif que l'anion superoxyde, mais il possède une capacité de diffusion importante et une durée de vie plus longue. Il diffuse facilement à l'intérieur des cellules (**Borg J et Reeber A., 2008**).

### L'acide hypochloreux HOCl

Essentiellement produit par les myeloperoxydases (MPO) leucocytaires à partir de peroxyde d'hydrogène et d'ion chlorure (figure 2) :

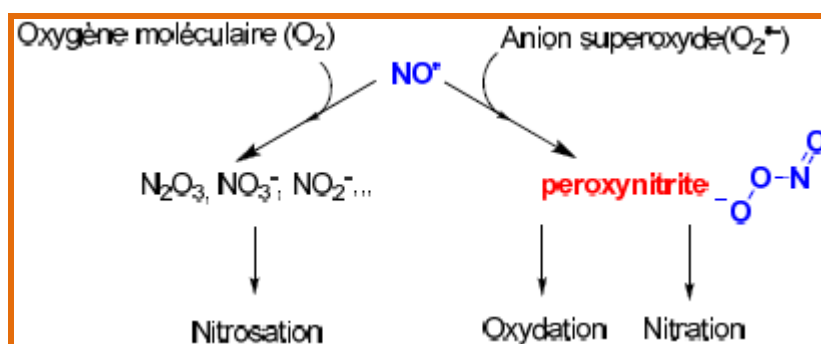


**Figure 2** : Mécanisme de la formation de HOCl (**Belkheiri N., 2010**).

### Le peroxynitrite ONOO

En présence de dioxygène, NO<sup>•</sup> donne des oxydes d'azote (ONOO<sup>•</sup>, N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) qui sont généralement des agents nitrosants conduisant à la formation de nitrites et de nitrosothiols dans les milieux biologiques (**Belkheiri N., 2010**).

Le monoxyde d'azote peut réagir avec l'O<sub>2</sub><sup>•-</sup> et générer ONOO<sup>-</sup> : le peroxynitrite composé encore plus réactif. Le temps de demi-vie *in vivo* du peroxynitrite est relativement élevé environ 20 ms. Il peut notamment oxyder directement les thiols en sulfates, et être une des causes de la peroxydation des lipides (figure 3) (**Chabory E., 2009**).



**Figure 3** : Espèces réactives de l'azote dérivées de NO<sup>•</sup> (**Belkheiri N., 2010**).

---

### I.3.2. Les dérivés radicalaires

Ils possèdent un électron libre non apparié et sont extrêmement réactifs. (**Belkheiri N., 2010**).

#### Le radical hydroxyle HO<sup>•</sup>

Le radical hydroxyle est le composé le plus réactif. Il agit en captant un électron d'une autre molécule (**Borg J et Reeber A., 2008**). Le radical hydroxyle est particulièrement délétère vis-à-vis des matériaux biologiques. Il peut se former par réaction du peroxyde d'hydrogène avec un ion ferreux (réaction de Fenton) ou par réaction du peroxyde d'hydrogène avec l'anion superoxyde (réaction de Haber-Weiss) ou sous l'effet de radiations ionisantes (rayons X ou gamma) (**Belkheiri N., 2010**).

#### L'anion superoxyde O<sub>2</sub><sup>•-</sup>

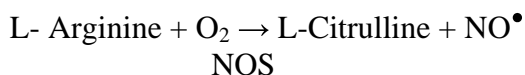
La réduction de l'oxygène par un électron produit l'anion superoxyde ou O<sub>2</sub><sup>•-</sup>, le précurseur de nombreuses EOR. Il est naturellement produit dans toutes les cellules des êtres vivants en aérobie Il est généré en partie au niveau de la mitochondrie, au cours du transfert d'électrons dans la chaîne respiratoire (**Chabory E., 2009**). L'anion superoxyde possède 17 électrons pour 16 protons avec un électron célibataire qui le rend instable (**Borg J et Reeber A., 2008**).

#### Le radical hydroperoxyde HO<sub>2</sub><sup>•</sup>

C'est la forme protonée de l'anion superoxyde. L'anion superoxyde est en équilibre constant avec le radical perhydroxyle (HO<sub>2</sub><sup>•</sup>) qui est beaucoup plus oxydant que lui [pKa(HO<sub>2</sub><sup>•</sup>/O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) = 4,8]. L'anion superoxyde peut être alors transformé soit spontanément, soit par la superoxyde dismutase en peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (**Belkheiri N., 2010**).

#### Le monoxyde d'azote ou oxyde nitrique NO<sup>•</sup>

Le monoxyde d'azote (NO<sup>•</sup>) est synthétisé naturellement par l'organisme à partir de la L-arginine et de l'oxygène, par une enzyme spécifique la nitric oxide synthase ou NOS (**Chabory E., 2009**). Cette production est physiologique et joue par exemple un rôle majeur dans le tonus vasculaire. Une seconde forme de NO-synthase existe : sous l'action des cytokines et des endotoxines libérées lors d'un sepsis, cette forme est inductible et produit de grandes quantités de NO<sup>•</sup>. A forte concentration, le NO<sup>•</sup> devient délétère pour les cellules, notamment en réagissant avec un radical superoxyde O<sub>2</sub><sup>•-</sup> pour former un puissant oxydant : le peroxynitrite ONOO<sup>•</sup>. (**Kebieche M., 2009**)



---

## **I.4. Les principaux sources d'espèces réactives de l'oxygène**

Les facteurs responsables de l'augmentation de la production de radicaux libres par l'organisme sont appelés facteurs oxydants. Ils se divisent en facteurs endogènes et exogènes. **(Rioux C., 2009).**

### **I.4.1. Source endogène de ROS**

#### **I.4.1.1. Mitochondrie**

Une des plus grandes sources endogènes est la membrane mitochondrial. En effet 95% de l'oxygène utilisé par la cellule est réduit en eau dans la mitochondrie en vue de la formation d'ATP. Cette réaction fait intervenir en particulier le coenzyme Q. Il peut se produire une fuite d'électrons au niveau de ce coenzyme par la NADH-coenzyme Q réductase, la coenzyme Q-cytochrome c réductase et le cytochrome c oxydase. Elle aura pour conséquence la formation de radicaux libres aux dépens de l'oxygène. Ainsi 5% de l'oxygène qui transite au niveau de la mitochondrie devient de l'anion superoxyde. Cela représente une quantité non négligeable de composés potentiellement toxiques produit quotidiennement au sein des cellules de l'organisme **(Borg J et Reeber A., 2008)**. Ainsi, la production de radicaux libres est proportionnelle à la consommation d'oxygène, ce qui signifie que l'activité physique, malgré ses nombreux bienfaits, constitue un facteur oxydant. Dans leur revue, Finaud et coll. affirment que dans la majorité des cas, malgré les mécanismes d'adaptation antioxydants dont bénéficie l'humain, l'exercice physique intense ou de longue durée dépasse les capacités antioxydantes de l'organisme et contribue au développement du stress oxydatif **(Rioux C., 2009)**.

#### **I.4.1.2. Peroxysome**

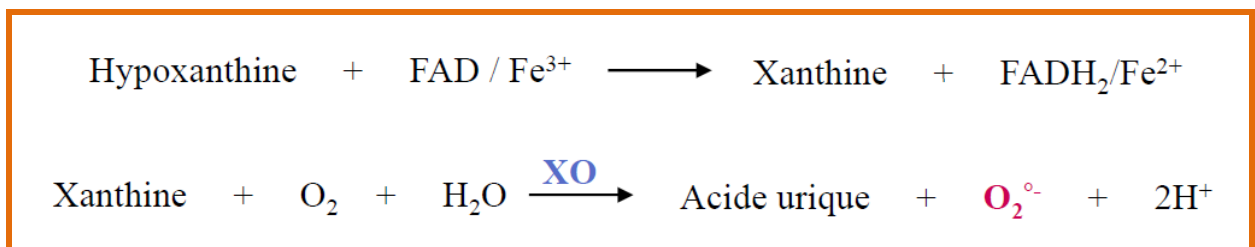
Le peroxysome est une source important dans la production cellulaire de  $H_2O_2$  car cet organite contient nombreuse enzyme générant de  $H_2O_2$ . Toutefois ce dernier est utilisé comme substrat par catalase peroxysomale afin de réaliser des réactions de peroxydation d'autre substrat. Ces réactions sont importantes dans les processus détoxification présentes dans le foie et le rein. Il semble cependant que seule une faible quantité de  $H_2O_2$  produit au niveau du peroxysome pourrait échapper à la catalase **(Servais S., 2004)**.

### I.4.1.3. Réticulum endoplasmique

Au sein du réticulum endoplasmique (les microsomes) se trouve le cytochrome P450. Il s'agit d'une hydroxylase qui intervient dans le métabolisme des stéroïdes et des médicaments. Le fer présent à l'intérieur de ce cytochrome est susceptible de réagir avec l'oxygène et de produire l'anion superoxyde. Ce sera le déclencheur préférentiel de la peroxydation lipidique (**Borg J et Reeber A., 2008**).

### I.4.1.4. Xanthine oxydoréductase

La xanthine oxydoréductase est également capable de produire l'anion superoxyde ainsi que le peroxyde d'hydrogène. Cette enzyme existe sous deux formes : la xanthine déshydrogénase (XDH) et la xanthine oxydase (XO). La XDH utilise le NAD<sup>+</sup> pour produire à partir de la xanthine et de l'hypoxanthine l'acide urique, alors que XO utilise l'oxygène comme accepteur d'électron formant ainsi l'O<sub>2</sub><sup>°-</sup> ou l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (figure 4). Ces enzymes sont produites à partir du même gène. Après être générée, la XDH est convertie en XO de manière irréversible par protéolyse ou réversible par oxydation de ses résidus cystéines. Les cytokines inflammatoires stimulent l'activité de ces enzymes dans les cellules épithéliales de mammifères. L'hypoxie augmente également leur activité sans modifier leur taux d'ARNm et de protéines dans les cellules endothéliales (**Chabory E., 2009**). La xanthine oxydase qu'intervient au cours de phénomènes d'ischémie suivie de reperfusion. En cas de blocage d'un vaisseau sanguin par un thrombus, l'approvisionnement en oxygène du tissu environnant est interrompu (phase d'anoxie). Il s'en suit un manque de production d'ATP, car le tissu est placé dans des conditions anaérobies. Les réserves d'ATP sont mobilisée, avec production de métabolites qui en dérivent, tel que l'hypoxanthine et la xanthine (**Borg J et Reeber A., 2008**).



**Figure 4** : Action de la xanthine oxydase (XO) conduisant à la formation d'anion superoxyde à partir de la xanthine (**Chabory E., 2009**).

---

#### I.4.1.5. Au cours d'une infection

Par ailleurs au cours d'une infection, la NADPH oxydase présente à la surface de la membrane bactérienne produit des anions superoxydes. Ils diffusent dans l'organisme et produisent dans le sang du peroxyde d'hydrogène et des radicaux hydroxyles (en présence du fer sérique). Ces radicaux libres peuvent entraîner des dommages tissulaires importants à distance de l'infection (**Borg J et Reeber A., 2008**).

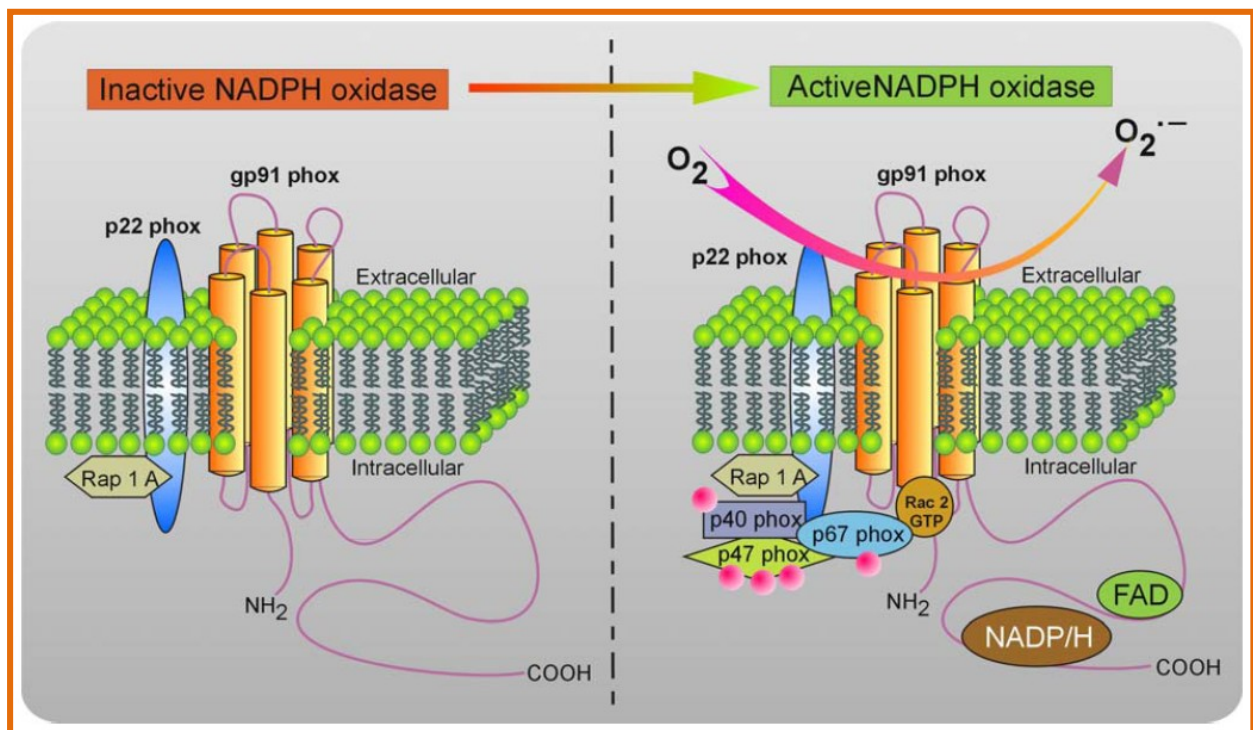
#### I.4.1.6. Comme moyen de défense

Les neutrophiles au cours de la phagocytose et la formation de phagosome, ce dernier renferme une enzyme s'appelée la myéloperoxydase, qui catalyse en présence de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et d'ions Cl<sup>-</sup> la formation de l'acide hypochloreux OCl (**Kebieche M., 2009**).



Ce composé est un bactéricide puissant, car il est à l'origine de radicaux libres auxquels les bactéries sont très sensibles (**Borg J et Reeber A., 2008**).

Il existe également un moyen très efficace de production d'O<sub>2</sub><sup>°-</sup>, c'est la NADPH oxydase qui est différente des systèmes précédents car elle est inductible. C'est un complexe enzymatique membranaire présent dans les phagocytes (polynucléaires neutrophiles et éosinophiles, monocytes et macrophages), et dans les lymphocytes B. Plusieurs facteurs sont impliqués, en condition physiologique, les protéines gp91phox, gp22phox et une protéine G monomérique Rap1 formant le cytochrome b558 sont enchâssées dans la membrane et les sous unités catalytiques p47phox, p67phox et p40phox sont cytosoliques. Lors d'une infection bactérienne, la NADPH oxydase va être activée pour détruire les microorganismes phagocytés en produisant une quantité importante d'O<sub>2</sub><sup>°-</sup>. L'activation de ce complexe est réalisée par la phosphorylation de p40phox dans un premier temps, puis d'autres facteurs, ce qui permet l'interaction du complexe avec une petite protéine G (GTPase) appelée Rac 2 (figure 5). L'association de ces facteurs cytosoliques et membranaires entraîne une translocation du complexe et l'activation de l'enzyme. Celle-ci catalyse le transfert d'électrons de son substrat le NADPH à l'accepteur final l'oxygène entraînant la production d'anions superoxyde (**Chabory E., 2009**). Cet exemple montre bien la dualité de ces composés. D'une part ils peuvent être dommageables pour l'organisme, d'autre part celui-ci peut les produire comme moyen de défense contre une attaque bactérienne.



**Figure 5** : Représentation des facteurs impliqués dans l'activation de la NADPH oxydase (Chabory E., 2009).

#### I.4.2. Source exogène de ROS

Les facteurs exogènes associés à une production accrue et/ou à une diminution de l'élimination de radicaux libres sont également très variés. Parmi ces facteurs, on retrouve:

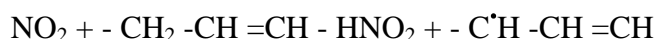
- L'alimentation ( antibiotiques, alcool, café, aliments riches en protéines et/ou en lipides et/ou à indice glycémique élevé, faible consommation d' antioxydants ) (Rioux C., 2009). selon Schisler et Singh (1989), l'alcool diminue l'activité des enzymes de protection (SOD-GSH-Px). De même, les concentrations sériques en sélénium et vitamine E sont abaissées chez les alcooliques et corrélées avec une atteinte hépatique plus ou moins sévère. (Kebieche M., 2009).
- Le CO<sub>2</sub> atmosphérique (Rioux C., 2009).
- Les polluants (fumée de cigarette, pollution atmosphérique (SO<sub>2</sub>, NO<sub>2</sub>, O<sub>3</sub>, hydrocarbures), métaux occupationnels (métaux de transition tels le mercure, le fer, le cadmium et le nickel), arsenic, amiante) (Rioux C., 2009).

Des toxiques tels que l'oxyde d'azote (NO) et le dioxyde d'azote (NO<sub>2</sub>), présents dans notre environnement (suies, goudron, tabac, polluants industriels), participent à la genèse de radicaux libres : ils sont responsables d'une auto-oxydation des acides gras polyinsaturés des alvéoles pulmonaires selon 2 réactions: (**Kebieche M., 2009**).

✓ Réaction réversible :



✓ Réaction irréversible:



NO et NO<sub>2</sub> peuvent aussi réagir avec le peroxyde d'hydrogène produit par les macrophages au niveau des alvéoles pulmonaires et donner naissance à des radicaux OH<sup>•</sup>. La fumée de cigarette joue un rôle majeur dans la formation de ces espèces radicalaires : elle contient NO et NO<sub>2</sub>, renferme de fortes concentrations en composés insaturés et stimule, par son action irritante, les macrophages des alvéoles pulmonaires. D'autres toxiques agissent par transfert d'électrons, comme le tétrachlorure de carbone (CCl<sub>4</sub>) dont la toxicité s'exerce par l'intermédiaire des radicaux CCl<sub>3</sub> et mis en évidence dans des hépatocytes de rat par résonance paramagnétique électronique (RPE). La réduction de CCl<sub>4</sub> en CCl<sub>3</sub> s'effectue, soit sous l'action du cytochrome P450 hépatique  $\text{CCl}_4 + \text{e}^- \rightarrow \text{CCl}_3 + \text{Cl}^-$  soit en présence de fer ferreux  $\text{CCl}_4 + \text{Fe}^{+2} \rightarrow \text{CCl}_3 + \text{Fe}^{+3} + \text{Cl}^-$  (**Bouldjadj R., 2009**).

– Les médicaments (traitements contre le cancer, psoralène) (**Rioux C., 2009**).

Des antibiotiques anticancéreux, tels que les anthracyclines, sont également capables de générer des radicaux libres. La formation d'espèces radicalaires serait responsable de leur mode d'action anticancéreux et de leur toxicité en agissant selon un mécanisme de transfert d'électron. Des travaux réalisés sur des cultures de cellules tumorales mammaires, l'adriamycine est bioactivée en radical semiquinone de l'adriamycine (SQ<sup>•</sup>) par réduction enzymatique (cytochrome P450), ce radical peut réagir avec l'oxygène pour former l'anion superoxyde. Pour une autre anthracycline, la daunorubicine, la réduction en radical libre (DSO<sup>•</sup>) se réalise alors que la molécule est déjà intercalée dans l'ADN. Enfin, sur des cultures de cardiomyocytes, l'épirubicine, un autre dérivé des anthracyclines, s'avère inducteur d'une toxicité avérée modifiant les propriétés physicochimiques des membranes cellulaires par la génération des radicaux libres (**Kebieche M., 2009**).

- 
- Les radiations (ionisantes, ultraviolets, micro-ondes) (**Rioux C., 2009**).
  - L'absorption dermique (insecticides, médicaments) (**Rioux C., 2009**).

## **I.5. Les conséquences moléculaires du stress oxydant**

### **I.5.1. Peroxydation lipidique**

Les acides gras polyinsaturés sont les cibles privilégiées des ERO radicalaires en raison de leurs hydrogènes bis-allyliques facilement oxydables. Plus l'acide gras est insaturé et plus il est susceptible d'être peroxydé (**Bouldjadj R., 2009**). Les membranes cellulaires constituant les premières cibles pour les radicaux libres circulants à cause de leur richesse en acides gras.

La peroxydation lipidique est considérée comme normale quand elle reste contrôlée par des enzymes, comme la prostaglandine synthase, la cyclooxygénase, la thromboxane synthase ou la 5 lipoxygénase (substrat = acide arachidonique). Elle devient pathologique quand son mécanisme est non enzymatique (**Borg J et Reeber A., 2008**).

La peroxydation des lipides peut résulter de plusieurs voies réactionnelles en fonction du milieu et des agents initiateurs :

- l'auto-oxydation provient de la température (scissions radicalaires à température élevée), de la présence d'ions métalliques (oxydation), ou de radicaux libres déjà présents ;
- la photo-oxydation, initiée par la lumière en présence de photosensibilisateurs ;
- l'oxydation enzymatique, catalysée par la lipoxygénase.

La peroxydation des lipides est une réaction auto-catalytique. D'après Moureau et Dufraisse (1926) l'auto-oxydation correspond à une fixation d'oxygène sur des molécules insaturées. Il s'agit d'un enchaînement de réactions radicalaires se déroulant en trois étapes : l'amorçage, la propagation et la terminaison (**Guzun T., 2010**).

### **I.5.2. Oxydation des protéines**

Les modifications oxydatives des protéines par les ERO provoquent l'introduction d'un groupement carbonyle dans la protéine (**Levine R., 2002**). Ces réactions d'oxydation sont fréquemment influencées par les cations métalliques comme le  $\text{Fe}^{2+}$  ou le  $\text{Cu}^{2+}$ . Les réactions d'oxydation de protéines peuvent être classées en deux catégories : d'une part, celles qui cassent

---

les liaisons peptidiques et modifient la chaîne peptidique, et d'autre part, les modifications des peptides par addition de produits issus de la peroxydation lipidique comme le 4-HNE (**Bouldjadj R., 2009**). Ces changements sont tels qu'ils conduisent à une modification structurale des protéines dont les conséquences sont majeures (perte de fonction catalytique, augmentation de la sensibilité aux protéases...) (**Garait B., 2006**). L'oxydation de la cystéine est réversible mais peut également perturber les fonctions biologiques du GSH ou de certaines protéines. Le rôle des protéines dans la cellule est tel que leur dysfonctionnement peut bouleverser le fonctionnement cellulaire (enzymes, protéines structurales) (**Bouldjadj R., 2009**).

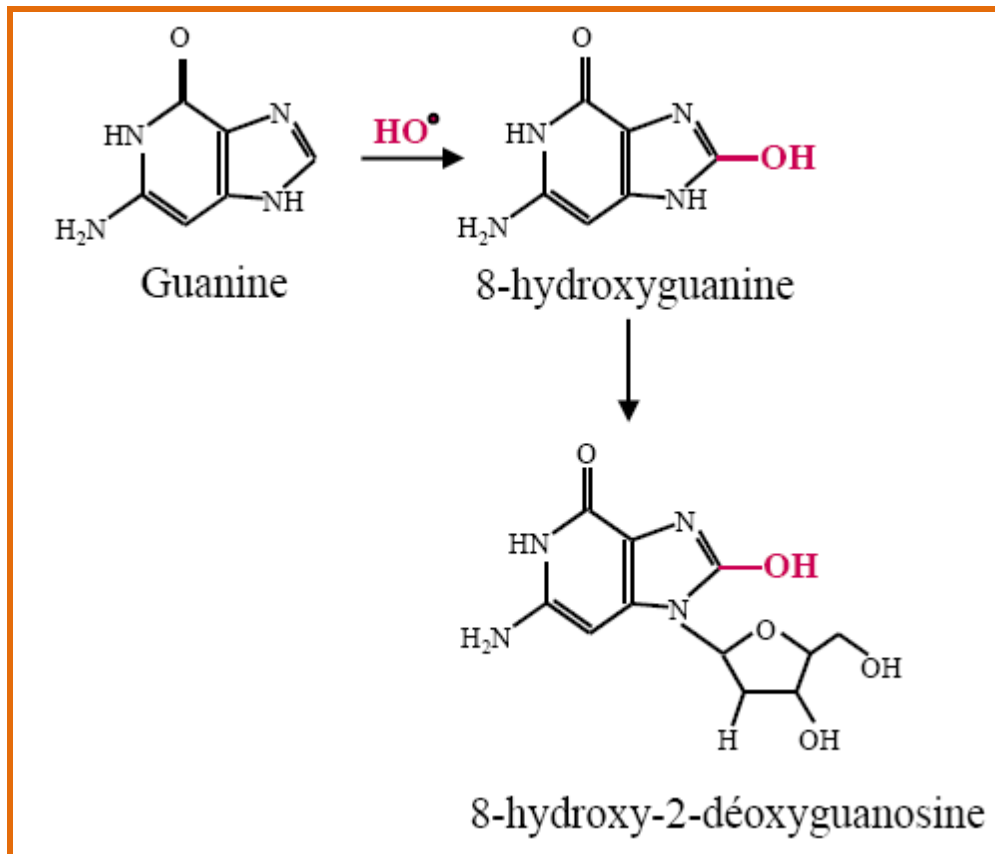
### **I.5.3. Oxydation des acides nucléiques**

Il existe au sein de la cellule, deux types d'ADN : l'ADN nucléaire et l'ADN mitochondrial (**Servais S., 2004**). Les acides nucléiques sont sensibles au stress oxydant au niveau des bases purines ou pyrimidiques. L'ADN génomique est touché par cette oxydation mais la cible privilégiée est l'ADN mitochondrial (10 fois supérieure à celle du génome nucléaire) (**Garait B., 2006**) (**Chabory E., 2009**). 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 et une structure circulaire sans introns augmentant statistiquement le risque de mutations pathogènes (**Garait B., 2006**).

Les EOR induisent différentes formes de dommages sur l'ADN, la première est l'oxydation des nucléotides, la base majoritairement touchée dans les cellules de mammifères est la guanine. Son oxydation forme le 8-hydroxy-2-déoxyguanosine ou 8-oxodG (figure 6). Ce phénomène entraîne un mésappariement 8-oxodG-A, puis au final une mutation de transversion : l'appariement de départ G-C va être remplacé par un T-A. La formation du 8-oxodG peut être mise en évidence par un anticorps spécifique ce qui permet de détecter une modification oxydative de l'ADN. Mais d'autres bases peuvent également subir une oxydation c'est le cas de l'adénine ou de la cytosine formant respectivement le 8-oxodA et le 5-oxodC (**Chabory E., 2009**).

L'ADN peut aussi être touché de manière indirecte par d'autres composés issus d'attaques radicalaires. Par exemple l'oxydation des lipides peut entraîner la formation d'adduits comme le MDA-guanosine. Lorsque le stress oxydant est trop important avec des

cassures de l'ADN nombreuses ou, que les différents systèmes de réparation sont touchés et ne fonctionnent pas de manière correcte, la cellule peut entrer en apoptose (Chabory E., 2009).

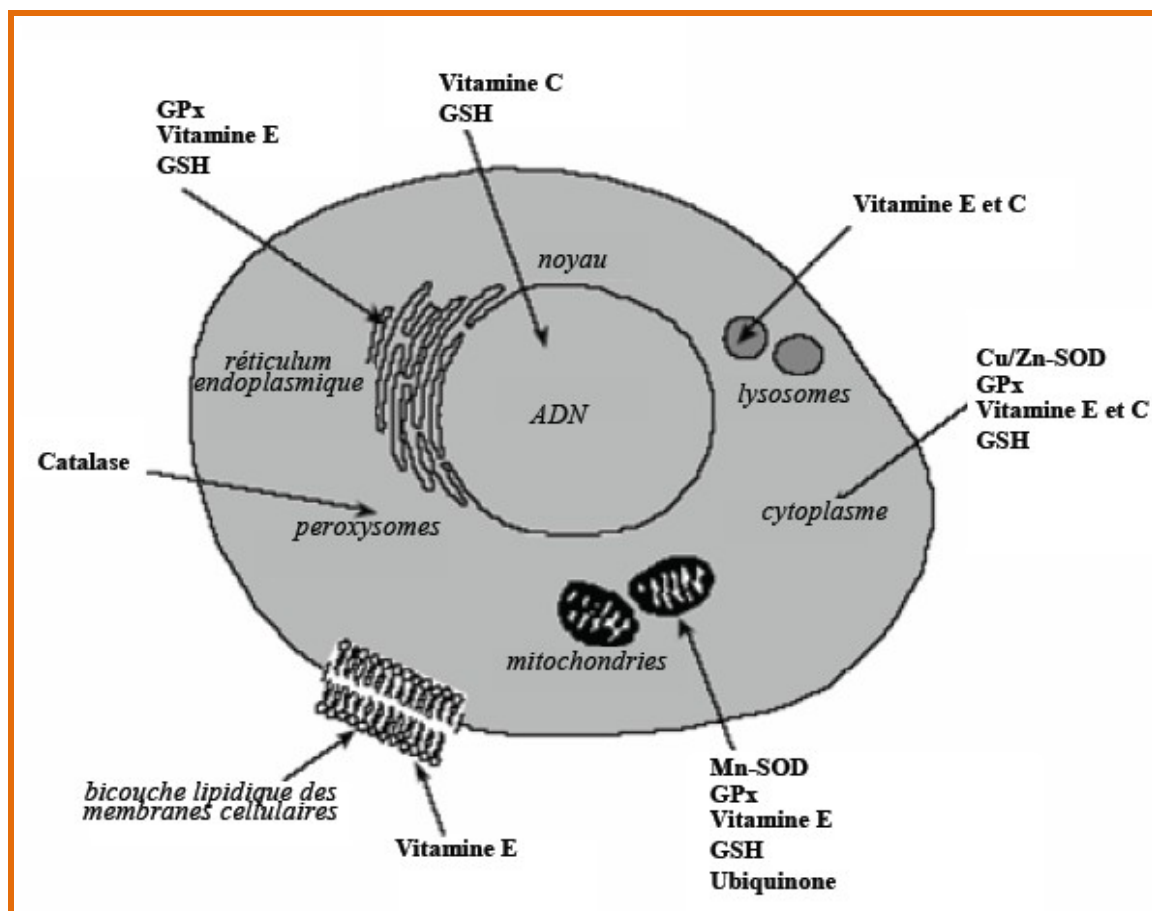


**Figure 6** : Oxydation de la guanine formant le 8-hydroxy-2-déoxyguanosine (8-oxodG) (Chabory E., 2009).

## I.6. Les systèmes antioxydants

Les radicaux libres sont produits spontanément et de manière continue au sein de notre organisme. Le maintien d'un niveau non cytotoxique de ROS est assuré par des systèmes antioxydants. Un déficit ou un dysfonctionnement de ces systèmes engendre une augmentation des dommages tissulaires (Garait B., 2006). Les antioxydants sont des agents redox qui réagissent avec les oxydants et stoppent ou ralentissent le processus d'oxydation, et ainsi régulent l'équilibre redox cellulaire. Par conséquent, le concept d'une thérapie à l'aide d'antioxydants, dans le but de renforcer les défenses antioxydantes endogènes pour une protection plus efficace contre le stress oxydant, représente un enjeu thérapeutique important d'intérêt scientifique et public. En effet, plusieurs études démontrent que la défense

antioxydante peut être soit diminuée ou compromise dans certaines conditions pathophysiologiques (Belkheiri N., 2010). Les antioxydants sont des systèmes enzymatiques ou non-enzymatiques (figure 7) (Servais S., 2004).



**Figure 7 :** Répartition des principales défenses antioxydantes dans la cellule. (Mn-SOD) (Garait B., 2006).

### I.6.1. Les systèmes antioxydants enzymatiques

Face à la production permanente de ROS, les organismes vivants ont développé des systèmes de défense qui les protègent des dommages liés aux formes radicalaires. Ces défenses permettent de maintenir la concentration en espèces radicalaires à un taux basal. En effet, elles possèdent une grande affinité pour les ROS, avec lesquelles elles réagissent très rapidement pour les neutraliser (Belkheiri N., 2010). Les antioxydants enzymatiques (la superoxyde dismutase, la catalase, la glutathion peroxydase) sont considérés comme la première ligne de défense de notre organisme contre les ROS (Garait B., 2006).

---

### **I.6.1.1. Superoxyde dismutase (SOD)**

La superoxyde dismutase (SOD, EC : 1.15.1.1) est une métalloprotéine qui catalyse la dismutation du superoxyde en oxygène et peroxyde d'hydrogène. Pour cette raison, cette enzyme représente une partie importante du système de défense contre les radicaux libres. Elle est présente dans presque tous les organismes aérobies. Une des rarissimes exceptions est *Lactobacillus plantarum* et les *Lactobacillus* apparentés, qui n'en possèdent pas et utilisent un mécanisme de défense différent (**Belkheiri N., 2010**). Chez les mammifères, on distingue dans cette famille trois isoenzymes qui catalysent la même réaction mais diffèrent selon la localisation chromosomique du gène, leur contenu métallique, leur structure quaternaire et leur localisation cellulaire. Le mécanisme réactionnel est catalysé par un métal situé au centre de l'enzyme dont la nature permettra de distinguer la SOD à cuivre-zinc présent dans le cytoplasme (cCu-ZnSOD), la SOD à manganèse (MnSOD) présent dans les mitochondries, et une SOD extracellulaire c'est une SOD à cuivre-zinc (**Bouldjadj R., 2009**).

### **I.6.1.2. Les catalase (CAT)**

La catalase (EC : 1.11.1.6) est une enzyme hémique capable de transformer le peroxyde d'hydrogène (généralement produit par les SOD) en eau et oxygène moléculaire (**Bouldjadj R., 2009**). Cette enzyme est abondante dans le foie et les globules rouges. Elle se retrouve préférentiellement dans les peroxysomes et en plus faible quantité dans le cytosol (**Garait B., 2006**). La catalase humaine, possédant une taille d'environ 240 kDa, est formée de quatre sous-unités, chacune comportant un groupement ferriprotoporphyrine dans son site actif avec un atome de fer à l'état  $Fe^{3+}$  (**Nzengue Y., 2008**). La catalase et la glutathion peroxydase ont des rôles protecteurs similaires et leur contribution relative est assez variable. 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 en permettant d'éliminer l'excès de peroxyde d'hydrogène afin que la réaction de Fenton ne puisse pas s'amplifier (**Bouldjadj R., 2009**).

---

### **I.6.1.3. Les glutathions peroxydases**

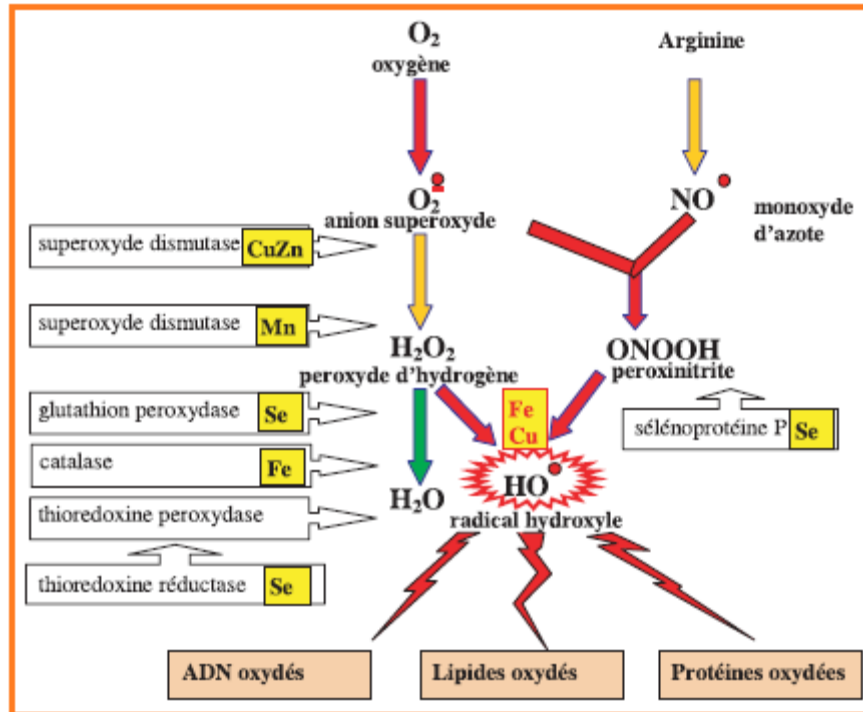
La glutathion peroxydase (EC 1.11.1.9) est présente dans les liquides extracellulaires et dans les cellules au niveau du cytosol et des mitochondries (**Belkheiri N., 2010**). La glutathion peroxydase décompose les hydroperoxydes organiques et peroxyde d'hydrogène. Elle réduit un grand nombre de ces peroxydes avec des vitesses comparables. Elle est donc en compétition avec la catalase pour le substrat H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et est la source majeure de protection contre les faibles niveaux de stress oxydant (**Nzengue Y., 2008**).

### **I.6.1.4. L'hème oxygénase**

L'hème oxygénase dégrade l'hème (prooxydant) en bilirubine qui est un antioxydant capable de prévenir l'oxydation des LDL (**Belkheiri N., 2010**). On distingue l'hème oxygénase constitutive et inductible. Cette dernière est induite par le stress oxydant et les oxLDLs, et possède un effet antiathérogène chez la souris (**Bouguerne B., 2012**).

### **I.6.1.5. La thiorédoxine (TRX)**

la thiorédoxine est un enzyme à activité antioxydante intrinsèque comme toutes les protéines à groupement thiol (-SH) (**Bouguerne B., 2012**). Cet enzyme a une structure proche de celle de la glutathion réductase. Il consomme aussi du NADPH dans son fonctionnement (**Soares A., 2005**). Les thiorédoxines sont localisées dans le cytosol, les mitochondries, les peroxysomes, associées au noyau et aux membranes ces protéines exercent sont rôle antioxydant dans la cellule à travers une activité peroxydase, où H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, le peroxynitrite et de nombreux hydroperoxydes sont les substrats. Malgré leur plus faible efficacité catalytique par rapport à la GPx et la CAT. De plus, les TRX joueraient un rôle significatif lors du développement du poumon et en réponse à un stress oxydant pulmonaire (**Servais S., 2004**).



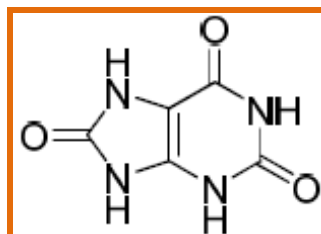
**Figure 8** : Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques (Favier A., 2003).

## I.6.2. Les systèmes antioxydants non enzymatiques

### I.6.2.1. Les antioxydants endogènes

#### a) L'acide urique

L'acide urique (figure 9) est un piègeur de  $^1\text{O}_2$ , des radicaux peroxydes et hydroxyles ( $\text{RO}_2^\bullet$  et  $\text{HO}^\bullet$ ) (Belkheiri N., 2010). La réaction de l'acide urique avec ces ROS génère des radicaux moins réactifs que  $\text{HO}^\bullet$  (Bouguerne B., 2012).

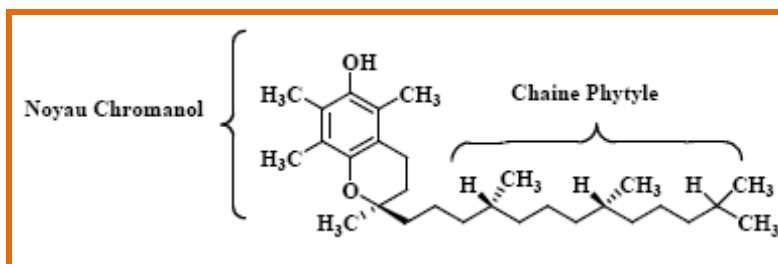


**Figure 9** : Structure de l'acide urique (Belkheiri N., 2010).

## I.6.2.2. Les antioxydants exogènes

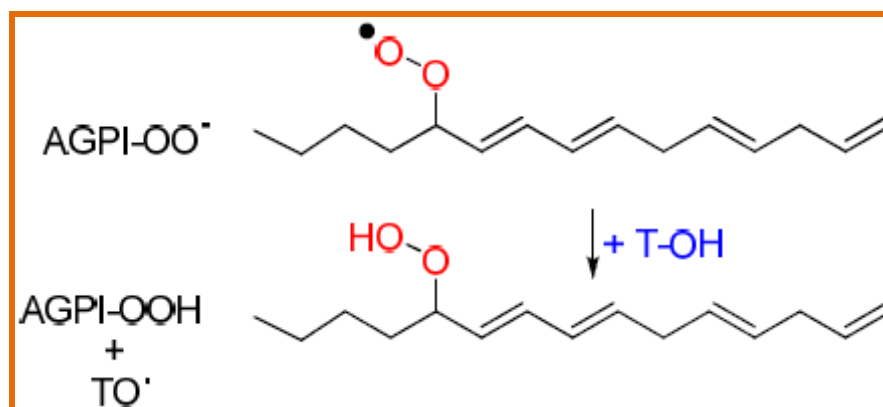
### I.6.2.2.1. La vitamine E (ou $\alpha$ -tocophérol)

La vitamine E ou  $\alpha$ -tocophérol ( $\alpha$ -Toch) est le principal antioxydant de la famille des tocophérols (**Bouguerne B., 2012**). Sa structure moléculaire comporte une extrémité hydrophile (noyau chromanol) et une extrémité hydrophobe (chaîne phytyle) (**Soares A., 2005**).



**Figure 10** : Structure de la vitamine E (ou  $\alpha$ -tocophérol) (T-OH) (**Bouguerne B., 2012**).

L' $\alpha$ -tocophérol est le principal antioxydant contenu dans les LDL. Chaque particule de LDL contient en moyenne de 6 à 12 molécules de vitamine E. La vitamine E (figure 10) interrompt la chaîne de propagation radicalaire dans les membranes en limitant la peroxydation des acides gras polyinsaturés. En effet, la cinétique de cette étape de propagation étant lente, la vitamine E peut l'arrêter, en réparant le radical peroxy ( $\text{AGPI-OO}^\bullet$ ) par la formation d'hydroperoxyde ( $\text{AGPI-OOH}$ ) (figure 11).

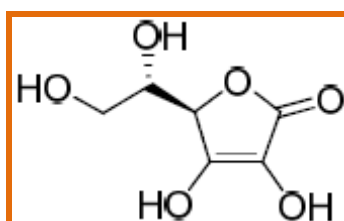


**Figure 11** : Formation d'hydroperoxyde ( $\text{AGPI-OOH}$ ) (**Belkheiri N., 2010**).

Dans cette réaction de piégeage, la vitamine E devient à son tour radicalaire et la vitamine C la régénère. La vitamine E est la molécule antioxydante liposoluble la plus abondante de notre organisme. Elle est présente dans les membranes cellulaires et circule dans le sang liée aux lipoprotéines (**Belkheiri N., 2010**).

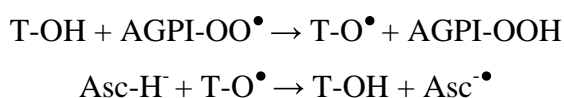
L'  $\alpha$ -TocH peut aussi réguler à la hausse les enzymes antioxydantes, telles que la SOD, la glutathion peroxydase, la catalase du foie, la glutathion-transférase et la NAD(P)H réductase. L'  $\alpha$ -TocH n'est pas biosynthétisée. Elle est présente dans les huiles végétales, principalement dans l'huile de germe de blé, de tournesol, de soja, d'arachide ou d'olive. Elle se trouve aussi en moindre quantité dans les céréales, les amandes, les légumes verts, le beurre, la margarine, les poissons gras (**Bouguerne B., 2012**).

#### I.6.2.2.2. La vitamine C (ou acide ascorbique)



**Figure 12** : Structure de la vitamine C (Asc) (**Belkheiri N., 2010**).

La vitamine C ou acide ascorbique est un antioxydant majeur présent dans tous les organes (**Carreras M., 2004**). La vitamine C est l'un des principaux antioxydants hydrosolubles présents dans les fluides intra- et extra-cellulaires (compartiments hydrophiles). Ses activités biologiques antioxydantes viennent de son potentiel réducteur puissant ( $E^\circ = - 0,29 \text{ V}$ ). Elle est aussi capable de recycler l' $\alpha$ -tocophérol de façon à agir en synergie avec ce dernier dans la prévention de la peroxydation lipidique (**Bouguerne B., 2012**):



Alors que la plupart des mammifères sont capables de la synthétiser, la majorité des primates (dont l'être humain), le cochon d'Inde et certains oiseaux ou poissons en sont incapables. Ceci est le résultat d'une mutation génétique, survenue il y a 40 millions d'années, bloquant la transformation du glucose en acide ascorbique. Les animaux dépourvus de cette capacité de synthèse de la vitamine C doivent donc la puiser dans leur alimentation (**Belkheiri N., 2010**).

### I.6.2.2.3. La relation entre ces vitamines

Par interaction avec un radical lipidique  $R^\bullet$ , la vitamine E (T-OH) se transforme en un radical tocophéryle ( $T-O^\bullet$ ).

Ce dernier est régénéré en T-OH sous l'action de la vitamine C (Asc) qui, à son tour, prend une forme radicalaire ( $Asc^\bullet$ ). Le glutathion réduit (GSH) permet de régénérer la vitamine C en se transformant en un radical thyle ( $GS^\bullet$ ) qui, par réaction avec lui-même, donne du glutathion oxydé (GSSG) (figure 13) (Belkheiri N., 2010).

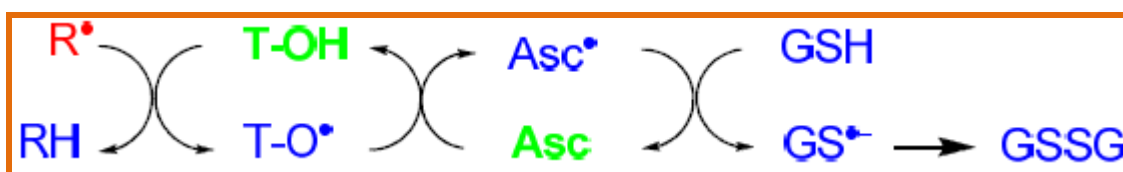


Figure 13 : Relation entre les vitamines E et C (Belkheiri N., 2010).

### I.6.2.2.4. Les antioxydants phénoliques

Les phénols sont des molécules qui contiennent un ou plusieurs noyaux aromatiques avec un ou plusieurs groupes hydroxyle (OH). Ils peuvent être extraits à partir de plantes ou synthétiques (Bouguerne B., 2012).

Les polyphénols jouent un grand rôle dans la quantité nutritive et hygiénique des aliments. Ils interviennent également dans la digestibilité des aliments, dans l'utilisation physiologique des protéines. (Belkheiri N., 2010).

#### I.6.2.2.4.1. Les antioxydants phénoliques naturels

Les antioxydants présents dans le raisin, le thé ou les fruits sont souvent de type phénolique. Les composés phénoliques présents dans le vin peuvent être séparés entre les flavonoïdes et les non-flavonoïdes (Belkheiri N., 2010). Les plus connus sont les acides phénoliques (benzoïque ou cinnamique), les flavonoïdes, et les tanins. Les stilbènes et le lignan sont moins connus (tableau 1) (Bouguerne B., 2012).

**Tableau 1** : Les grandes familles de polyphénols (**Bouguerne B., 2012**).

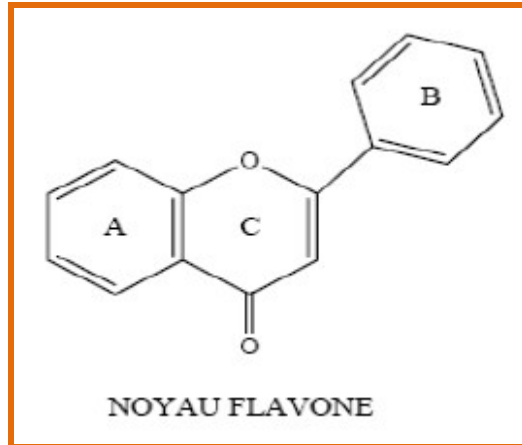
Famille	Principaux composés	Origine
Acide hydroxy- benzoïques	Acide vanillique Acide gallique	Vanille Feuilles de thé
Acides hydro- cinnamiques	Acide caféique Acide férulique Acide chlorogénique	Café Riz, blé, asperges Pelure de pomme de terre, pomme, artichaut
Stilbène	Resvératrol	Raisin, vin
Flavonoïdes - Flavonoïls - Flavones - Flavanones - Flavones-3-ols - Isoflavones - Anthocyanidines	Quercétine, kaempférol Luéoline, apigénine Naringénine Catéchine, épicatechine Génistéine, daidzéine Cyanidine	Oignon, brocoli Céleri Agrumes Raisin, thé vert, chocolat, Soja Fruits rouges, raisin
Tannins hydrosolubles ou non	Polyphénols de haut poids moléculaire	Plantes supérieures
Lignines	Lignane	Bois

#### **I.6.2.2.4.1.1. Les flavonoïdes**

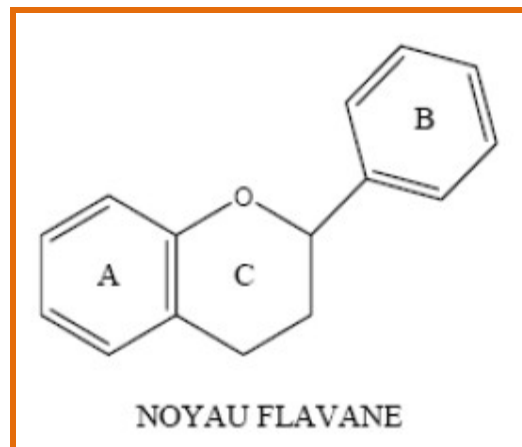
Le terme flavonoïde rassemble de nombreux composés naturels répartis en plusieurs familles dont les plus importantes sont les catéchines, la quercitine, les isoflavones ou l'acide gallique. Parmi les flavonoïdes, il existe aussi les anthocyanes (du grec anthos = fleur, kuanos = bleu sombre) qui sont présents dans un certain nombre de végétaux tels : myrtille, mûre, raisin noir, aubergine, prune, bleuet (airelle bleue du Canada), mauve, etc (**Belkheiri N., 2010**). Ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles assurant ainsi la protection des tissus contre les agressions des ultraviolets.

---

Les flavonoïdes sont des dérivés du noyau FLAVONE ou 2-PHENYL CHROMONE (figure 14) portant des fonctions phénols libres, éthers ou glycosides. Le noyau FLAVONE est lui même un dérivé du noyau FLAVANE de base (figure 15).



**Figure 14** : Structure du FLAVONE (Kebieche M., 2009).



**Figure 15** : Structure du FLAVANE (Kebieche M., 2009).

Les flavonoïdes sont donc des polyphénols complexes dont la structure est constituée de deux noyaux aromatiques (noyaux A et B) et d'un hétérocycle oxygéné, cycle C

les flavonoides sont des antioxydants puissants susceptibles d'inhiber la formation des radicaux libres et de s'opposer à l'oxydation des macromolécules En effet, les flavonoïdes sont des piègeurs efficaces des radicaux libres les plus prooxydants, particulièrement impliqués dans la peroxydation lipidique, De plus, ils ont une activité chélatrice des métaux tels que cuivre et fer qui, à l'état libre, peuvent être à l'origine de la production de radicaux libres par les réactions de Fenton et d'Haber-Weiss (Kebieche M., 2009 et Bouldjadj R., 2009).

#### I.6.2.2.4.1.2. Les non-flavonoïdes

Les composés non-flavonoïdes regroupent les acides phénoliques et les stilbènes. Ils ne possèdent pas de squelette « flavone » (Belkheiri N., 2010).

##### I.6.2.2.4.1.2.1. Les acides phénoliques

Les acides phénoliques sont divisés en deux catégories : les dérivés de l'acide benzoïque comme l'acide gallique ou vanillique et les dérivés de l'acide cinnamique comme l'acide caféique, coumarique, sinapique et férulique. Ces derniers ont une bonne activité (Bouguerne B., 2012).

On trouve aussi des dérivés de ces acides, comme l'acide chlorogénique présent dans les pommes. Ce dernier s'avère être un antioxydant intéressant, à tel point que de nombreux laboratoires tentent d'en faire sa synthèse (figure 16). (Belkheiri N., 2010).

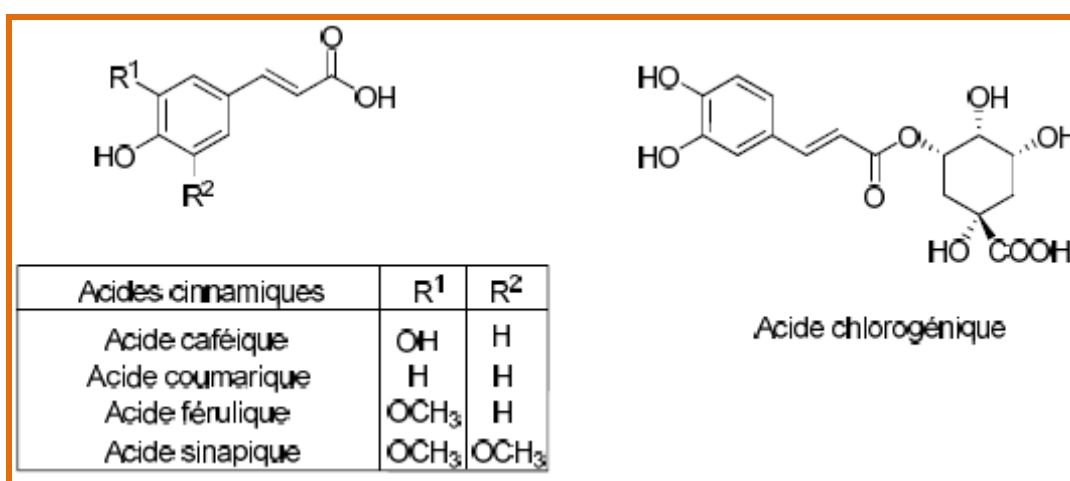
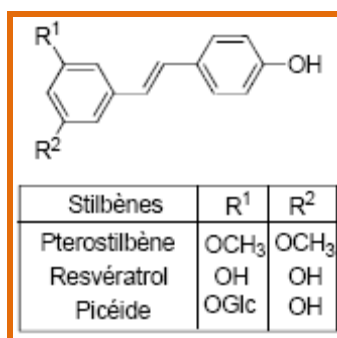


Figure 16 : Structure de dérivés de l'acide p-hydroxycinnamique (Belkheiri N., 2010).

##### I.6.2.2.4.1.2.2. Les stilbènes

Les stilbènes sont des composés phénoliques contenant au minimum deux noyaux aromatiques reliés par une double liaison, formant un système conjugué. Cette particularité leur confère une grande réactivité due à la délocalisation des électrons  $\pi$  sur la totalité de la molécule. Les stilbènes sont connus pour leurs propriétés antioxydantes vis-à-vis des lipoprotéines à basse densité LDL. Ils pourraient ainsi jouer un rôle protecteur contre les maladies cardiovasculaires. Les plus abondants dans le raisin sont le trans-resvératrol et son

dérivé glucosylé : le picéide, ainsi que les dimères comme le resvératrol qui présent dans le raisin noir et dont l'activité antioxydante est probablement associée à sa capacité à régénérer la vitamine C. Ce composé intervient également dans différents mécanismes biologiques (inhibition de l'aggrégation des plaquettes, antagonisme aux récepteurs à oestrogènes, propriétés anti-inflammatoire, etc) (**Belkheiri N., 2010**).

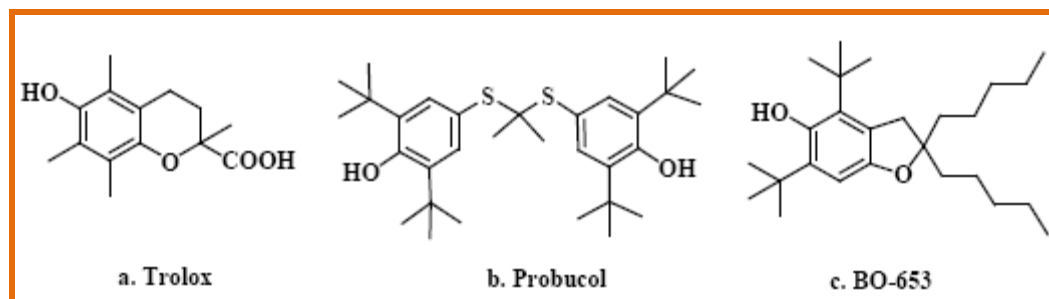


**Figure 17** : Structures chimiques de quelques stilbènes (**Belkheiri N., 2010**).

#### I.6.2.2.4.2. Les antioxydants phénoliques de synthèse

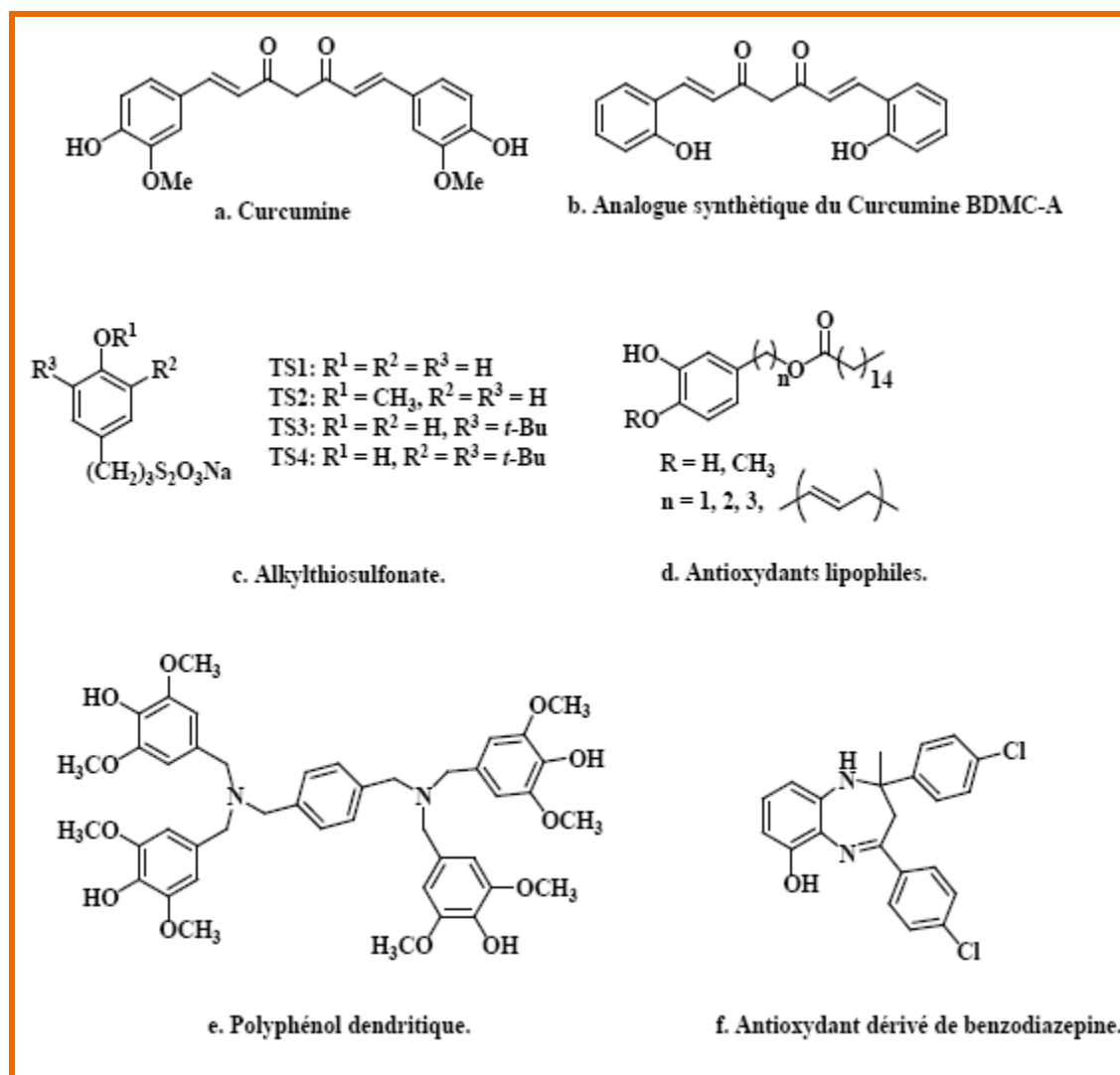
Il existe aussi de nombreux antioxydants synthétiques dont les squelettes sont souvent dérivés des antioxydants naturels (hémisynthèse ou mime de structures naturelles). Le but de ces synthèses est l'amélioration de l'activité antioxydante, la biodisponibilité et le coût des molécules. Les principaux composés sont :

- Trolox<sup>®</sup> ou l'acide 6-hydroxy-2,5,7,8-tétraméthylchroman-2-carboxylique est l'exemple classique d'antioxydant synthétique dérivé de la vitamine E, cette molécule est souvent utilisée comme antioxydant de référence (figure 18a) (**Bouguerne B., 2012**).
- Probucol, un hypolipidémiant. Ses propriétés antioxydantes et antiathérogènes ont été étudiées *in vivo*, il inhibe la formation de la plaque d'athérome chez le lapin (figure 18b) (**Bouguerne B., 2012**).
- Le 2,3-dihydro-5-hydroxy-2,2-dipentyl-4,6-ditertiobutyl-benzofurane ou BO-653, un composé dont l'activité antioxydante est meilleure que celle de l' $\alpha$ -tocophérol et du probucol (figure 18c) (**Noguchi N and Nikie E., 2000**).



**Figure 18** : Structures de quelques antioxydants de synthèse (**Bouguerne B., 2012**).

- Une équipe indienne a montré qu'un analogue synthétique du curcumine (figure 19 a et b) était plus efficace que la curcumine qui avait déjà un rôle protecteur sur l'inhibition du stress oxydant provoqué par la nicotine (**Bouguerne B., 2012**).
- D'autres molécules phénoliques dérivées d'alkylthiosulfonate (figure 19c) ont été synthétisées et testées, en particulier sur leur capacité à empêcher le métabolisme oxydant des polynucléaires et piéger les radicaux libres tels que le  $\text{NO}^\bullet$  (**Zenkov N et al., 2007**).
- Une équipe espagnole a synthétisé des acides gras phénoliques qui auraient une activité antiradicalaire importante (figure 19d) (**Torres de Pinedo A et al., 2007**).
- Un nouveau polyphénol dendritique (figure 19e) a été synthétisé, et a montré une forte capacité antioxydante et protectrice des LDLs *in vitro* contre les attaques des radicaux libres (**Lee C et al., 2009**).
- Très récemment, un groupe grec a publié un ensemble de molécules antioxydantes dont un phénol dérivé de benzodiazepine (Figure 19f). Cette molécule a montré une bonne inhibition de la peroxydation lipidique (**Bouguerne B., 2012**).



**Figure 19** : Structures de quelques antioxydants de synthèse cités dans la littérature (Bouguerne B., 2012).

# Chapitre II

## Le glutathion

## II.1. Définition

Le glutathion ( $\gamma$ -glutamylcystéinyglycine) est le tripeptide composé de cystéine, glutamate et glycine (figure 20). Principal sulfhydrile de faible poids moléculaire de l'organisme, il présente deux caractéristiques structurales qui permettent sa participation à de nombreuses fonctions cellulaires : sa liaison  $\gamma$ -carboxyle entre les résidus glutamate et cystéine, qui le protège de l'hydrolyse, et son groupement sulfhydrile (ou thiol), porté par son résidu cystéine (Blouet C., 2006). Le glutathion produit naturellement par l'organisme, on le trouve surtout dans les cellules de mammifères mais plus généralement dans les organismes aérobies tels que les plantes ou les micro-organismes (Chenot E., 2008). Ce tripeptide, avec une concentration qui varie de 0,1 à 10 mM, est le thiol intracellulaire (SH) non protéique le plus abondant. C'est dans le foie qu'on le trouve à la concentration la plus élevée (10 mM). On le retrouve également dans les liquides physiologiques, mais à des concentrations plus faibles (1 à 50  $\mu$ M) (Schnekenburger M., 2004).

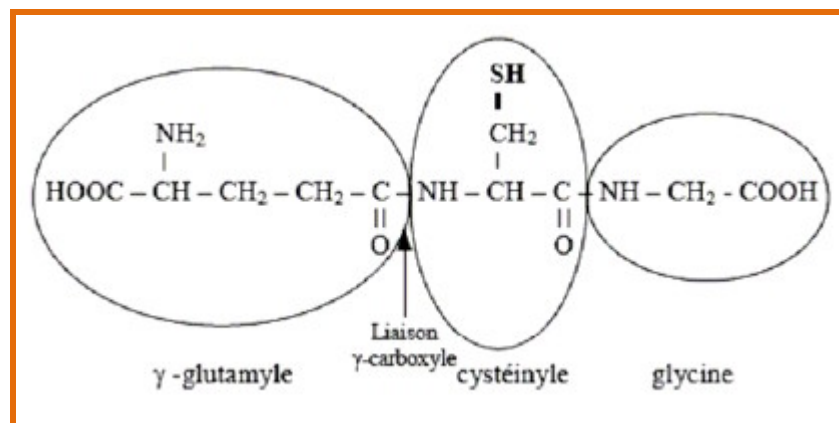


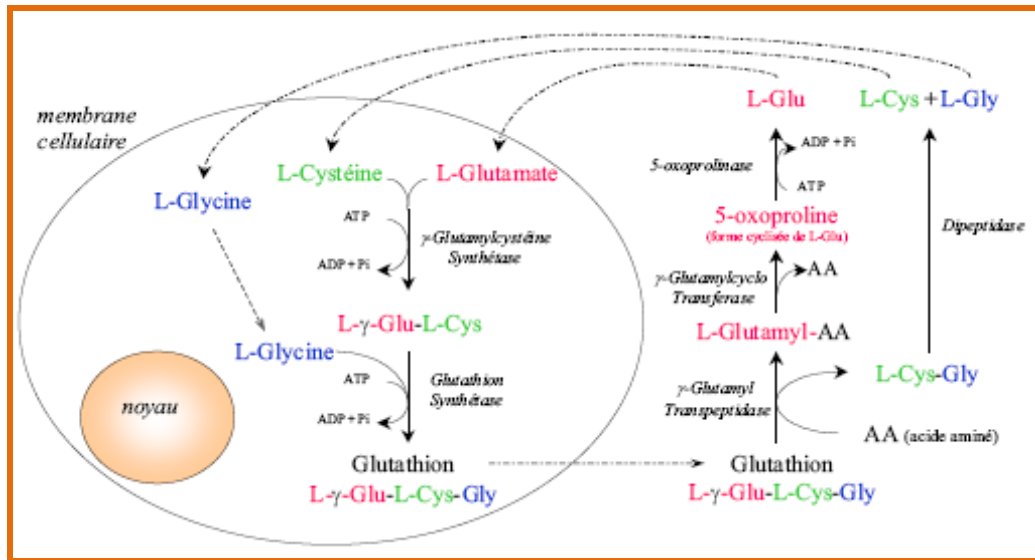
Figure 20 : La structure chimique du glutathion (Blouet C., 2006).

Il existe sous deux formes : sa forme réduite, plus communément appelée glutathion réduit ou GSH et sa forme oxydée également appelée glutathion disulfure ou GSSG (Chenot E., 2008). Il joue un rôle particulièrement important dans les défenses antioxydants et le maintien du statut redox de l'organisme (Blouet C., 2006).

## II.2. Métabolisme de glutathion

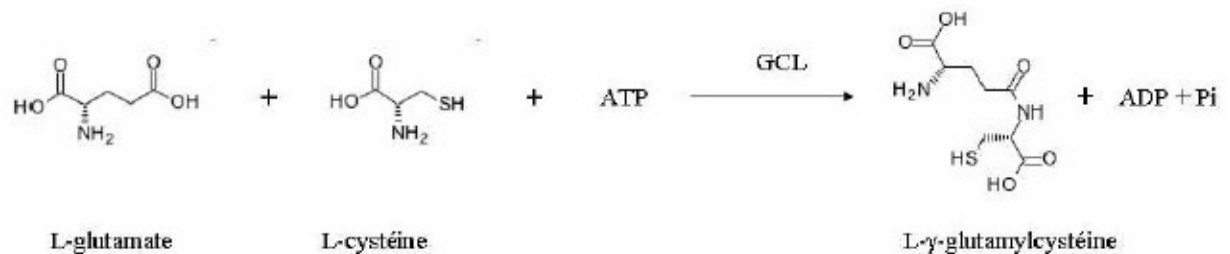
### II.2.1. La synthèse de glutathion

La synthèse de glutathion, consommatrice d'ATP, est assurée par l'action séquentielle de deux enzymes cytosoliques ubiquitaires, la  $\gamma$ -glutamylcystéine synthase ( $\gamma$ -GCS EC.6.3.2.2 (Franco P., 2009)) et la glutathion synthase (figure 21).



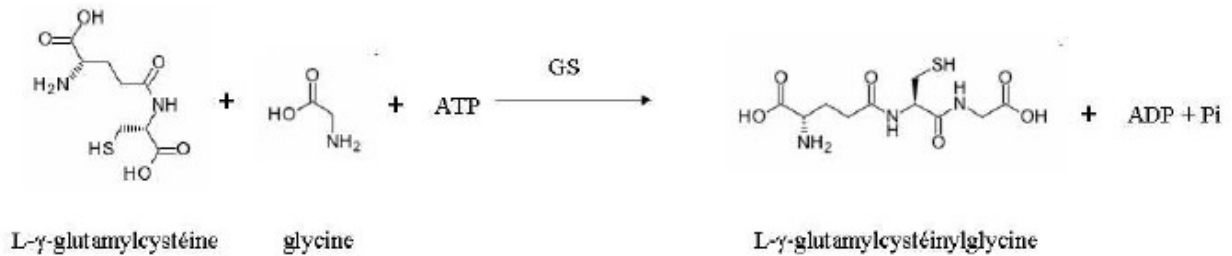
**Figure 21** : Cycle de la biosynthèse et de la dégradation du glutathion au niveau cellulaire (Chenot E., 2008).

Lors de la réaction catalysée par la  $\gamma$ -GCS, le groupement  $\gamma$ - carboxyle du glutamate réagit avec le groupement aminé de la cystéine. Cette première réaction, qui constitue l'étape limitante de la synthèse de glutathion, permet la formation d'une liaison peptidique résistante aux peptidases.



Bien qu'elle puisse être convertie en 5- oxoproline et cystéine par la  $\gamma$ -glutamyl cyclotransférase, 95 % de la  $\gamma$ -glutamylcystéine formée lors de cette première réaction est orientée vers la synthèse de glutathion par la glutathion synthase (GS E.C.6.3.2.3 (Franco P., 2009)), une enzyme présentant une forte affinité pour ses deux substrats, la glycine et la  $\gamma$ -

glutamylcystéine. Cette seconde étape de la synthèse de glutathion est rarement limitante (**Blouet C., 2006**).



Le glutathion est d'ailleurs considérée comme un moyen de stockage de la cystéine, car en milieu extracellulaire la cystéine est extrêmement instable et s'oxyde facilement en cystine. Les  $\gamma$ -glutamyl transpeptidases (présentes à la surface des cellules), les  $\gamma$ -glutamyl transférases, les  $\gamma$ -glutamylcyclotransferases et la 5-oxoprolinase sont des enzymes qui catalysent la dégradation extracellulaire du glutathion en ses acides aminés constituants. Les  $\gamma$ -glutamyl transpeptidases permettent de catalyser la coupure de la liaison  $\gamma$  entre le glutamate (acide glutamique) et la cystéine. L'inhibition de la  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase entraînerait une augmentation de la concentration du glutathion dans le plasma à l'inverse de ce qu'entraînerait l'inhibition de la  $\gamma$ -glutamylcystéine synthétase (**Chenot E., 2008**).

Le transport du glutathion est un aspect important du métabolisme. La concentration de GSH intracellulaire varie de 1 à 10 mM, cependant elle n'est que de quelques  $\mu$ M dans le sang plasmatique. L'aptitude qu'ont certaines cellules à transporter le glutathion dans les compartiments extracellulaires aide au transport de la cystéine, qui est l'acide aminé limitant lors de la synthèse du glutathion. Ce dernier ne peut pas directement entrer dans la cellule, c'est pourquoi il doit donc être hydrolysé en acides aminés (**Chenot E., 2008**).

La synthèse de glutathion peut avoir lieu dans toutes les cellules de l'organisme, mais le foie en est le principal site de production et la plus grande partie du glutathion hépatique est exportée vers les autres tissus (**Blouet C., 2006**).

### II.2.2. La régulation de la synthèse de glutathion

L'homéostasie du glutathion est finement contrôlée par l'activité de la  $\gamma$ -GCL, ainsi que par les concentrations et la biodisponibilité de ses substrats, en particulier de la cystéine. La  $\gamma$ -GCL est une enzyme constituée de deux sous-unités, une sous-unité catalytique (GCLc) et une sous-unité régulatrice ou modulatrice (GCLm). La sous-unité catalytique est

---

fonctionnelle, mais son activité est plus faible que celle de l'holoenzyme; la sous-unité régulatrice a pour rôle la modulation de l'affinité de la sous-unité catalytique pour ses substrats et inhibiteurs (**Guelzim N., 2011**).

La GCL (E.C. 6.3.2.2) est aussi appelée  $\gamma$ -glutamylcystéine synthétase (GCS). Cette enzyme intervient dans la première étape de la biosynthèse du GSH intracellulaire, elle catalyse la synthèse de  $\gamma$ -glutamylcystéine à partir de cystéine et de glutamate ; après la biodisponibilité en cystéine, c'est l'autre étape limitante de cette synthèse. De plus, la GCL subit un rétrocontrôle négatif par le GSH (**Schnekenburger M., 2004**). L'expression de la  $\gamma$ GCL est régulée par Les facteurs associés au stress oxydant ou nitrosant, par certains antioxydants, par les facteurs de croissance (tels que le facteur de croissance hépatique) ou encore par les facteurs de transcription, tels que NF-kB. Ces régulations géniques sont expliquées par la présence d'éléments de réponse aux espèces oxydantes, aux électrophiles ou encore aux facteurs de transcription au niveau du promoteur du gène codant pour la  $\gamma$ GCL. Au niveau post- traductionnel, l'activité de la  $\gamma$ GCL est régulée par les phosphorylations, mais aussi de façon importante par une inhibition compétitive exercée par le glutathion et la  $\gamma$ -glutamylcystéine. En effet, les résidus -glutamyl et -cysteinyl de ces peptides viennent occuper respectivement les sites de fixation du glutamate et de la cystéine, réduisant ainsi l'activité enzymatique. La formation de l'holoenzyme est aussi associée à une diminution de l'affinité de l'enzyme pour le glutathion et la  $\gamma$ -glutamylcystéine. D'autres facteurs peuvent aussi influencer l'activité et/ou l'expression de la  $\gamma$ GCL, tels que les cytokines inflammatoires, ou encore les hormones (**Guelzim N., 2011**).

Ainsi la synthèse de glutathion est également affectée par la disponibilité en glycine. Lorsque la glycine devient limitante pour la synthèse de glutathion, la  $\gamma$ -glutamylcystéine en excès est orientée vers la synthèse de 5-oxoproline, qui est ensuite excrétée au niveau urinaire. Chez des sujets recevant un alimentation pauvre en protéines ( $0,4 \text{ g.kg}^{-1} \cdot \text{j}$  de protéines) ou dépourvue de glycine, l'excrétion urinaire de 5-oxoproline augmente. Cette augmentation de l'excrétion urinaire de 5-oxoproline est associée à une diminution du taux de synthèse du glutathion (**Blouet C., 2006**).

## II.2.3. Oxydo-réduction du glutathion

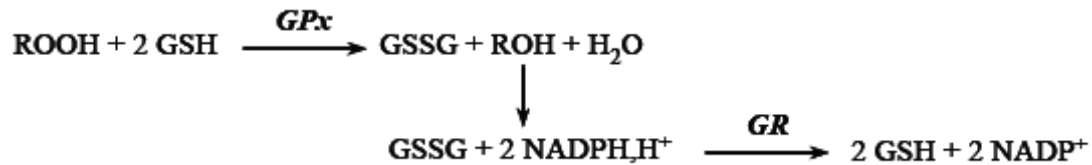
### II.2.3.1. Glutathion peroxydase (GPX)

La glutathion peroxydase est une enzyme (EC 1.11.1.9) formée de quatre sous-unités contenant chacune un atome de sélénium incorporé dans une molécule de sélénocystéine (dans laquelle l'oxygène du groupement hydroxyle de la sérine est remplacé par le sélénium). La glutathion peroxydase est présente dans les liquides extracellulaires et dans les cellules au niveau du cytosol et des mitochondries (**Belkheiri N., 2010**). Les glutathion peroxydases métabolisent une grande variété d'hydroperoxydes (R-OOH) en plus de l' $H_2O_2$  (tableau 2).

**Tableau 2:** Activités relatives des différentes GPx vis à vis de différents substrats. Ces valeurs sont exprimées en pourcentage par rapport à leur substrat préférentiel (100) (**Chabory E., 2009**).

	GPx1	GPx2	GPx3	GPx4	GPx5	GPx6
$H_2O_2$	96	100	100	55	ND	ND
Hydroperoxyde de tert-butyl	100	31	86	6	ND	ND
Hydroperoxyde de phospholipides	0	0,2	27	100	ND	ND

Néanmoins pour GPx1, GPx2 et GPx3 le substrat  $H_2O_2$  reste préférentiel. Par contre, la GPx4 est la seule capable d'agir directement sur les hydroperoxydes de phospholipides, les autres interviennent après clivage des hydroperoxydes par des phospholipases. Ces enzymes utilisent le glutathion réduit comme donneur d'électron (**Chabory E., 2009**). A partir des réactions suivantes :



Ce GSH est ensuite régénéré par la glutathion réductase avec comme cofacteur le NADPH, H<sup>+</sup>. Elles sont induites par l'augmentation de la teneur en oxygène. Cette activation est réalisée au niveau transcriptionnel conduisant à l'accumulation des ARNm (**Chabory E., 2009**).

### (a) GPx1

GPx1 est retrouvée au niveau du cytoplasme, du noyau et la mitochondrie (**Franco P., 2009**). A été séquencée dans plusieurs espèces telles que l'homme, la souris, le rat, le lapin, la chèvre...etc. Le gène humain de la GPx1 est localisé sur le chromosome 3. Dans toutes les espèces, il s'agit d'une protéine tétramérique constituée de 4 sous unités identiques de 22 à 23 kDa avec chacune 4 hélices  $\alpha$  et 4 feuillets  $\beta$ . Chaque sous unité comporte un atome de sélénium sous la forme d'un résidu sélénocystéine, La sélénocystéine est localisée au centre d'une poche composée de deux résidus hydrophobes glutamine et tryptophane distants l'un de l'autre dans la structure primaire et formant des liaisons hydrogène avec le sélénium. Ces trois résidus constituent la triade catalytique (Sec52, Gln87, Trp165 dans la séquence de la GPx1 érythrocytaire bovine), essentielle et caractéristique des GPx. D'autres acides aminés sont importants car impliqués dans l'orientation correcte du glutathion et sa liaison avec l'enzyme (les arginines en position 57, 103, 184, 185 et la lysine en position 91). La masse moléculaire de la GPx1 varie selon l'espèce. De 83 kDa dans les érythrocytes bovins, elle est de 95 kDa dans les érythrocytes humains. Dans les plaquettes, la GPx1 a une masse de 90 à 100 kDa et de 23 kDa en conditions dénaturantes (**Carreras M., 2004**).

### (b) GPx2

La protéine GPx2 est exprimée principalement dans le tractus gastro-intestinal et est cytosolique. Le clonage du gène GPx2 en 1996. Chez l'homme et la souris montre la présence de 2 exons. GPx1 et GPx2 ont des propriétés enzymatiques similaires en agissant sur les mêmes substrats H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et les acides gras hydroperoxydés et ont la même localisation cytoplasmique. Cependant GPx1 est ubiquiste alors que GPx2 est spécifique du tractus gastro-intestinal. Des

---

études sur les doubles « knock out » GPx1 et GPx2 ont montré que GPx2 a un rôle plus important que GPx1 au niveau du tractus gastro-intestinal puisque les rats transgéniques invalidés seulement pour GPx2 développent des tumeurs au niveau de l'intestin (**Chabory E., 2009**).

### (c) GPx3

GPx3 est extracellulaire (**Franco P., 2009**). Et est retrouvée majoritairement dans le plasma. Elle est tétramérique et présente des sites de glycosylation. Son activité enzymatique permet de réduire le peroxyde d'hydrogène mais également les acides gras peroxydés. Le gène *gpx3* contient 5 exons et a été cloné pour la première fois chez l'homme. Bien que son ARNm soit présent dans plusieurs types cellulaires, la protéine n'est retrouvée que dans le plasma, le rein et l'épididyme (**Chabory E., 2009**).

### (d) GPx4

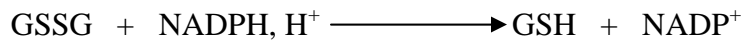
GPx4 est liée aux membranes cellulaires ou elle catalyse la régénération des hydroperoxydes de phospholipide (**Franco P., 2009**). La GPx4 ou phGPx, spécifique des hydroperoxydes lipidiques, est une enzyme antioxydante qui protège les membranes cellulaires puisqu'elle est capable de réduire les phospholipides peroxydés et les lipoprotéines membranaires. Elle comprend 3 isoformes : une cytosolique c-GPx4, une mitochondriale (m-GPx4) et une nucléaire (n-GPx4). Ces 3 formes sont issues du même gène qui comprend 7 exons, et un exon alternatif situé entre l'exon 1 et 2 appelé. En permettant de distinguer la forme nucléaire. Les souris homozygotes pour l'inactivation de ce gène présentent une létalité embryonnaire précoce. Par contre, la perte de la forme nucléaire n'est pas létale, ce qui laisse supposer un plus grand rôle des formes cytosoliques et mitochondriales dans l'embryogenèse. La forme nucléaire a également un rôle important dans la maturation des spermatozoïdes que nous détaillerons plus tard (**Chabory E., 2009**).

#### 2.2.3.2. Glutathion réductase (GR)

La glutathion réductase (GR, EC1.6.4.2) (**Ramel F., 2009**). Cette enzyme catalyse irréversiblement la réduction de GSSG en GSH. Elle fonctionne essentiellement avec du NADPH comme cofacteur, et son substrat, le GSSG est très spécifique. Dans la zone physiologique du pH (6,6 à 7,5), l'affinité de l'enzyme varie respectivement de 15 pM à 6 pM

---

pour le NADPH, et de 40 à 80 pM pour le GSSG. Le pH optimum de son activité se situe entre pH 7,5 et 8,0. En régénérant du GSH (**Acad C., 1984**). Lors de la réaction suivante :



Cette réaction est irréversible, ce qui explique pourquoi le glutathion disulfure, GSSG, constitue généralement moins de 1% de glutathion total, l'augmentation du pool de GSSG au cours d'un stress oxydant est généralement transitoire tant l'action des glutathion réductases est rapide (**franco P., 2009**).

La glutathion réductase requiert des niveaux élevés de NADPH pour réduire le glutathion oxydé (GSSG) et restaurer ainsi les niveaux endogènes du glutathion réduit (GSH). La diminution en NADPH entrave le cycle redox de régénération de GSH (**Bouldjadj R., 2009**).

### 2.3. Les pools de glutathion et son turnover

Le glutathion existe sous forme réduite et sous forme de disulfure lorsqu'il est oxydé. Le plus souvent, les quantités totales de glutathion sont estimées avec la formule suivante : glutathion réduit + 2 × glutathion oxydé. Cette formule ne prend pas en compte le glutathion complexé aux protéines, qui représente environ 15% du pool total de glutathion (**Blouet C., 2006**). Le glutathion est présent dans différents compartiments intracellulaires (cytosol, noyau, mitochondries et réticulum endoplasmique) (**Guelzim N., 2011**). Les concentrations intracellulaires les plus élevées sont retrouvées dans la mitochondrie (entre 5 et 11 mmol.L<sup>-1</sup>), qui contient environ 15% du glutathion intracellulaire total, et le cytosol/noyau (entre 0,5 et 10 mmol.L<sup>-1</sup>). Le glutathion y est présent principalement sous forme réduite, et le ratio glutathion oxydé/glutathion réduit est compris entre 1/30 et 1/100 Le réticulum endoplasmique ne contient qu'une faible proportion du pool de glutathion intracellulaire et dans ce compartiment, le ratio glutathion oxydé/glutathion réduit avoisine 1/3 (**Blouet C., 2006**).

La concentration de GSH est augmentée chez les mammifères lors de traitement par les métaux lourds comme le mercure, par des concentrations élevées en glucose, et de fortes températures. De même, la présence d'espèces activées de l'oxygène et de l'azote, notamment le peroxyde d'hydrogène et l'oxyde nitrique, induisent une augmentation de la quantité de glutathion. Certaines composés endogènes modifient le pool de GSH tels que 15-deoxy-prostaglandine J<sub>2</sub>, le 4-HNE et quelques lipoprotéines oxydées, en augmentant l'activité des enzymes de synthèse (**Franco P., 2009**). Le glutathion est présent à des concentrations

---

différentes dans les organes. Le foie étant le producteur majoritaire, il en contient des concentrations 3 fois plus importantes que celles retrouvés dans le rein, le poumon ou le cerveau, autres organes impliqués dans le métabolisme du glutathion. Dans le plasma, le glutathion est présent à des concentrations très faibles, de l'ordre du micromolaire. Les niveaux de glutathion sont stables dans les organes extra-hépatiques, mais peuvent varier dans le foie en réponse aux modulations nutritionnelles et au statut antioxydant de l'organisme. Les variations du pool hépatique du glutathion et de son turnover sont principalement la conséquence de l'équilibre entre une exportation de glutathion vers les organes extra-hépatiques, et une synthèse suffisante pour maintenir les niveaux hépatiques intracellulaires de glutathion (**Guelzim N., 2011**).

Les concentrations hépatiques de glutathion indiquent l'état des réserves en glutathion de l'organisme, tandis que les concentrations sanguines reflètent le niveau d'export hépatique de glutathion, dont le rôle est de maintenir les concentrations extra-hépatiques en glutathion. Les pertes nettes de glutathion sont limitées et sont principalement la conséquence des réactions de conjugaison qui aboutissent à la formation d'acide mercapturique, excrétés via l'urine.

Le transport transmembranaire de glutathion est assuré par deux types de transporteurs, les transporteurs sinusoidaux exprimés uniquement par les hépatocytes, et les transporteurs canaliculaires ubiquitaires. Ces transporteurs permettent un flux bidirectionnel mais fonctionnent principalement dans le sens d'une diffusion passive du glutathion du milieu intracellulaire vers le milieu extracellulaire, du fait de l'important gradient de concentrations existant entre l'intérieur et l'extérieur de la cellule. Dans des conditions physiologiques normales, les concentrations intracellulaires en glutathion varient peu, elles sont la résultante d'un système dynamique où le turnover est important. Au niveau hépatique, rénal et pancréatique, la demi-vie du glutathion est de l'ordre de 2 à 3 heures. Ainsi chez l'animal, l'administration d'un inhibiteur de la synthèse de glutathion comme le D,L-Buthionine sulfoximine induit une diminution très rapide des concentrations hépatiques en glutathion, rénales et pancréatiques, tandis qu'elles sont peu modifiées dans les autres organes (tableau 3). Au niveau hépatique, le turnover du glutathion est principalement la conséquence d'un export important vers la circulation, compensé par une synthèse de glutathion suffisante pour maintenir les niveaux hépatiques intracellulaires de glutathion. Dans les autres organes, le turnover du glutathion est la conséquence des flux importants d'entrée/sortie de la cellule par l'intermédiaire du cycle du  $\gamma$ -glutamyl. Ce cycle permet une utilisation efficace du glutathion

en tant que source de cystéine, contrôle les concentrations extracellulaires en glutathion et la disponibilité extra-hépatique en cystéine (Blouet C., 2006).

**Tableau 3** : Concentrations tissulaires en glutathion chez des souris après administration aiguë (expérience A) ou chronique (expérience B) d'un inhibiteur de la synthèse de glutathion (Blouet C., 2006).

Tissue	Tissue GSH, $\mu\text{mol/g}$ (%)		
	Control	Exp. A*	Exp. B†
Brain	2.08 ± 0.15	1.93 ± 0.11 (93)	1.74 ± 0.13 (84)
Heart	1.35 ± 0.10	1.19 ± 0.14 (88)	0.20 ± 0.05 (15)
Lung	1.52 ± 0.13	1.42 ± 0.09 (94)	0.79 ± 0.07 (52)
Spleen	3.43 ± 0.35	3.46 ± 0.07 (101)	1.73 ± 0.18 (51)
Liver	7.68 ± 1.22	2.67 ± 1.15 (35)	4.26 ± 1.11 (56)
Pancreas	1.78 ± 0.31	0.81 ± 0.30 (46)	0.14 ± 0.06 (8)
Kidney	4.13 ± 0.15	0.75 ± 0.16 (18)	0.19 ± 0.05 (4)
Small intestine mucosa	2.94 ± 0.16	2.40 ± 0.36 (82)	1.64 ± 0.41 (56)
Colon mucosa	2.11 ± 0.19	1.83 ± 0.16 (87)	0.29 ± 0.14 (14)
Skeletal muscle	0.78 ± 0.05	0.52 ± 0.11 (67)	0.016 ± 0.009 (2)
Plasma, $\mu\text{M}$	28.4 ± 6.2	9.3 ± 3.8 (33)	9.1 ± 2.7 (32)

## 2.4. Principaux rôles du glutathion

Le glutathion joue d'importants rôles physiologiques (Chenot E., 2008). Les deux principaux sont les suivants :

- agent antioxydant,
- agent de détoxication.

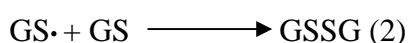
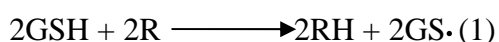
### 2.4.1. Agent antioxydant

Le glutathion réduit et le glutathion oxydé constituent un couple d'oxydoréduction dont l'un des objectifs est de protéger les cellules contre l'oxydation. Par cette propriété d'oxydoréduction, le glutathion sert de coenzyme transporteur d'hydrogène destiné principalement à maintenir les protéines dans leur état réduit. Dans le cas des globules rouges, il empêche l'hémoglobine d'être oxydée en méthémoglobine, laquelle est incapable de transporter l'oxygène. Or l'oxygène est un élément indispensable à la vie mais peut dans certains cas devenir un réel danger (Chenot E., 2008). Le glutathion est le principal antioxydant non enzymatique endogène de l'organisme, en raison de sa capacité à capter

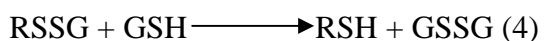
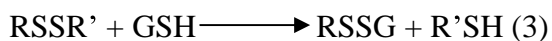
---

directement et spontanément différentes espèces radicalaires. Il agit aussi en tant que cofacteur de réactions enzymatiques antioxydantes catalysées par les différents isoformes de la glutathion peroxydase (GPx), enzyme impliquée dans l'élimination des hydroperoxydes et peroxydes lipidiques (**Guelzim N., 2011**). L'élimination des peroxydes par la glutathion peroxydase produit du glutathion oxydé, qui peut être recyclé sous l'action de la glutathion réductase ou exporté et éliminé par le rein (**Blouet C., 2006**).

Le GSH peut également réagir directement avec les radicaux libres, sans passer par la voie enzymatique, comme le montrent les équations (1) et (2).



Le glutathion intervient également dans l'échange thiol/disulfure. (cf. équations (3) et (4))



Cette réaction d'échange est catalysée par les thiol-transférases. Sans ce processus de réduction, les composés possédant un résidu cystéinyle (comme la plupart des enzymes) peuvent être oxydés, entraînant ainsi un changement de l'activité catalytique pouvant conduire à des disfonctionnements.

Les cellules sont très sensibles à un changement de leur environnement. Le rapport GSH/GSSG est un très bon indicateur de l'environnement rédox de la cellule. Ainsi, le glutathion joue un rôle essentiel en tant qu'antioxydant (**Chenot E., 2008**).

### 2.4.2 Agent de détoxification

Les cellules sont en permanence exposées à des substances chimiques naturelles ou synthétiques provoquant des dommages. On peut citer comme exemple les toxines, la fumée de cigarette, les métaux lourds ou d'autres composés chimiques tels que les médicaments, les pesticides, les conservateurs, etc. Il existe de nombreux mécanismes de détoxification comme la réduction ou la conjugaison. Ce n'est que dans les années 1970 que le glutathion a été reconnu comme agent de détoxification car il se conjugue à ces substances, appelées généralement xénobiotiques, rendant plus facile leur élimination par l'organisme (**Chenot E., 2008**).

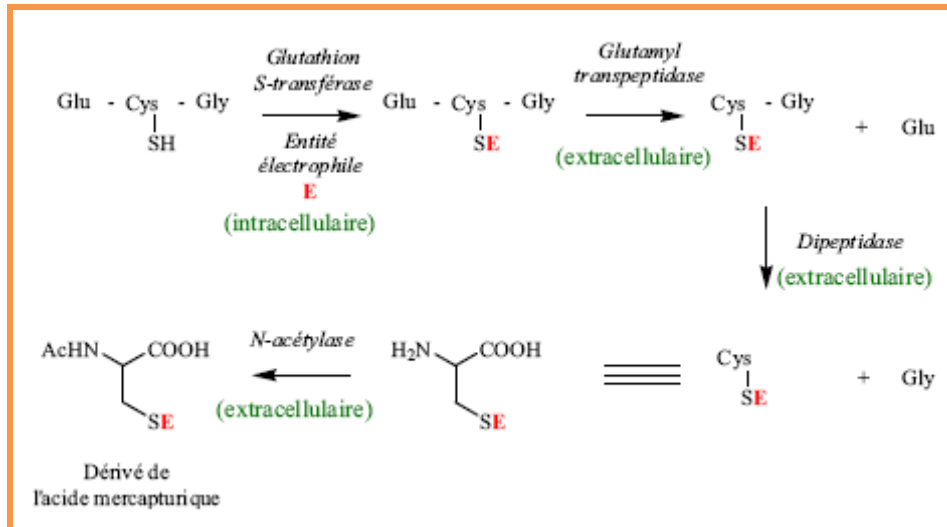
La liaison  $\gamma$ -glutamyl ainsi que la fonction thiol du GSH lui confèrent une fonction de la détoxification des métaux lourds et autres xénobiotiques par action directe ou indirecte (**Nzengue Y., 2008**). Ces xénobiotiques sont des composés qui ne sont pas normalement

---

présents dans l'organisme (**Chenot E., 2008**). Le GSH forme des complexes avec les métaux dans des réactions non-enzymatiques. Le GSH est un des meilleurs ligands pour les métaux (le mercure, l'argent, le cadmium, l'arsenic, le plomb, l'or, le zinc et le cuivre) et joue un rôle important dans leur transport, leur stockage et leur métabolisme. C'est le groupement stulhydride du résidu Cys qui confère au GSH ces propriétés (**Bernard D., 2005**). Le cadmium (Cd), par exemple, est bien connu pour sa toxicité sur les organismes vivants. Le glutathion peut agir directement sur lui, par complexation, ou sur les radicaux libres (ROS) générés suite à un stress oxydant produit par le Cd. Ces différentes actions du glutathion permettent de protéger la cellule contre la toxicité de ce métal. D'autres métaux peuvent également se complexer avec le glutathion comme le plomb, le zinc ou le cuivre (**Chenot E., 2008**).

Les glutathion S-transférases (GST) font partie des enzymes de détoxification car elles catalysent la conjugaison du GSH avec les substances électrophiles pour former des conjugués du glutathion (GS-X) (**Chenot E., 2008**). Ces derniers sont moins réactives, plus hydrosolubles et par conséquent plus facilement éliminables. Cette réaction de conjugaison des espèces électrophiles au GSH se fait de manière spontanée ou catalysée par la famille des enzymes GST. Les conjugués au GSH sont généralement éliminés des cellules et dans le cas des hépatocytes sont excrétés dans la bile (**Bernard D., 2005**).

L'élimination de ces composés se fait grâce aux "pompes pour l'export des dérivés S-modifiés" (pompes GS-X), c'est à dire par transport hors de la cellule et par dégradation. (figure 22) Le processus de dégradation, représenté sur le schéma ci-dessus, est le même que lors de la dégradation du glutathion. Une fois le GSH-conjugué formé, la  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase va couper le motif  $\gamma$ -glutamyl de ce complexe pour ne laisser que le motif cysteinglycine S-substitué. Le dipeptide sera ensuite coupé par la dipeptidase pour donner la glycine et la cystéine S-substituée. Cet acide aminé S-substitué sera N-acétylé par l'intervention de la N-acétylase (présente dans les reins) pour donner un acide mercapturique. Ces acides sont stockés dans les reins pour être ensuite éliminés dans les urines. Cependant, cette élimination des xénobiotiques entraîne la perte irréversible du résidu L-cystéine du GSH. Ceci a un côté néfaste car comme nous l'avons vu, c'est l'acide aminé limitant dans la synthèse du glutathion (**Chenot E., 2008**). La transformation du conjugué en acide mercapturique commence dans la bile, l'intestin ou les reins mais la formation du conjugué N-acétylé a lieu généralement dans les reins (**Bernard D., 2005**).



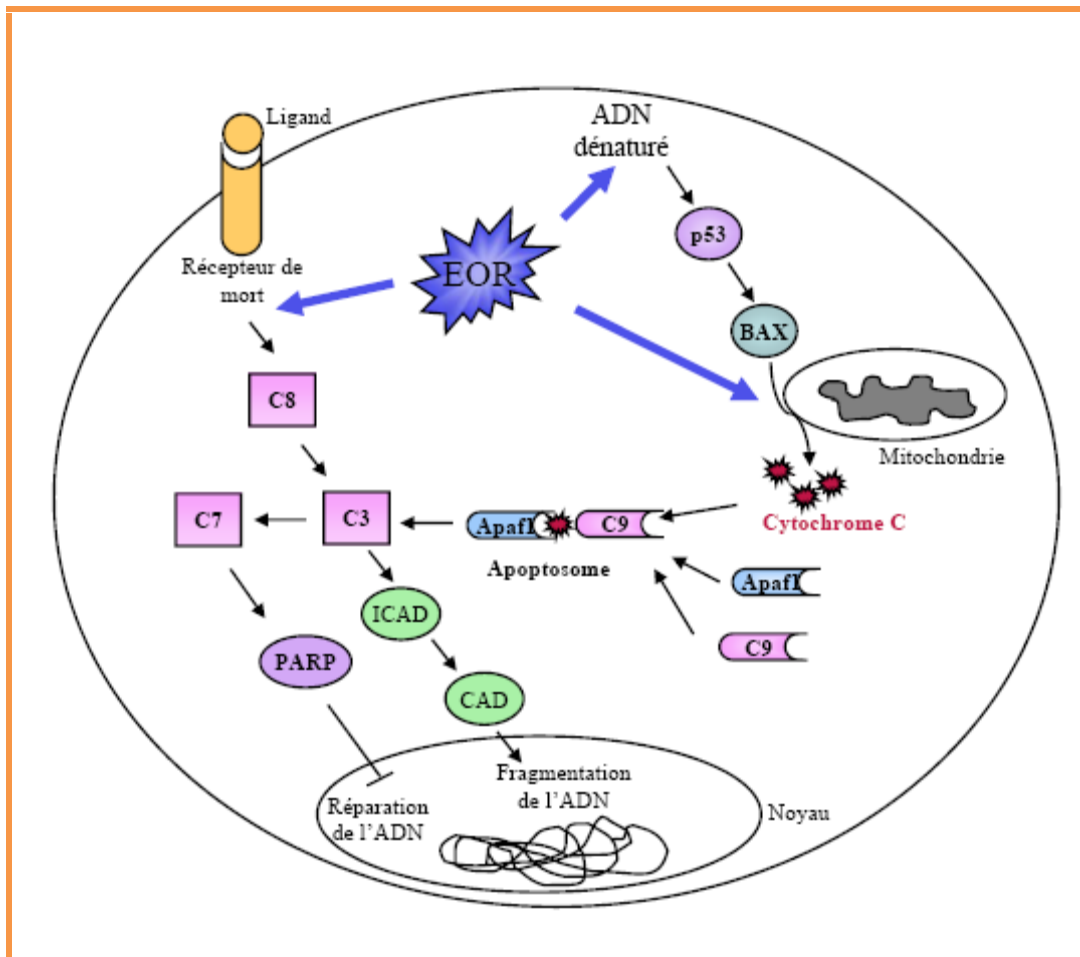
**Figure 22** : Détoxication par le glutathion des xénobiotiques par conjugaison et formation d'un dérivé de l'acide mercapturique (**Chenot E., 2008**).

Chez l'homme, le principal organe de détoxication est le foie. Il est le réservoir de la plus grande concentration en glutathion dans le corps. Contrairement aux autres organes, il peut synthétiser la L-cystéine ou la puiser directement dans l'alimentation. Des études montrent que de bas niveaux de GSH mènent à une diminution de l'activité du foie, amenant ainsi de plus en plus de toxines à circuler dans le corps et provoquant ainsi des dommages aux cellules et aux organes (**Chenot E., 2008**).

## 2.5. Glutathion et apoptose

L'apoptose est une mort cellulaire physiologique, génétiquement programmée, nécessaire à la survie des organismes pluricellulaires. Elle est en équilibre constant avec la prolifération cellulaire. L'apoptose peut être induite par les EOR qui agissent aussi bien sur la voie mitochondriale que sur la voie des récepteurs de mort (figure 23) (**Chabory E., 2009**).

La voie mitochondriale suite à un signal apoptotique (lésion, perturbation,...), le gène p53 est activé donnant ainsi l'ordre à la protéine BAX de migrer vers la mitochondrie. Cette migration entraîne généralement l'expulsion de cytochrome C (CytC). Cependant, la présence de Bcl-2 à la surface de la mitochondrie module la perméabilité de cette dernière. Cette protéine a pour effet de contrôler la libération de CytC. Dans le cas de l'apoptose (second cas), le CytC est expulsé dans le cytosol et va former un complexe avec Apaf1 et la Procaspase 9 qui activera la Caspase 9. Cette dernière, étant une caspase initiatrice, va permettre l'activation de la Caspase 3 (caspase effectrice) qui va déclencher l'apoptose (**Chenot E., 2008**).



**Figure 23** : Schéma des voies apoptotiques mitochondriales et des récepteurs de mort induites par les EOR (Chabory E., 2009).

La deuxième voie est celle des récepteurs de mort. Elle est dépendante d'une famille de récepteurs : les récepteurs aux TNF (Tumor Necrosis Factor). Des traitements avec des antioxydants comme la N-acétylcystéine bloquent l'activation de ces récepteurs ce qui suggère un rôle fonctionnel des EOR dans cette activation. Les récepteurs aux TNF présentent un motif commun, riche en cystéine trouvé dans le domaine extracellulaire qui pourrait être important pour leur activation par les EOR et qui est nécessaire pour induire l'activation des caspases. Le récepteur Fas appartenant à la famille des récepteurs TNF est induit par les EOR dans les monocytes ce qui renforce le rôle des EOR dans l'activation de la voie des récepteurs de mort. Une fois ces récepteurs activés, les protéines d'association TRAD et FAD s'apparient sur la partie intracellulaire du récepteur. Ce complexe permet le recrutement de la procaspase 8 et son activation par clivage. La caspase 8 clive à son tour la caspase 3, qui provoque la fragmentation

---

de l'ADN par l'intermédiaire de CAD. La caspase 3 est donc une protéine commune aux deux voies de l'apoptose. Par la suite elle peut activer la caspase 7, qui va cliver PARP (Poly ADP-Ribose Polymérase) et la rendre inactive. Cette protéine induit la réparation de l'ADN par synthèse d'un polymère d'ADP-ribose sur divers facteurs nucléaires généralement associés à la chromatine (système de réparation de l'ADN) ou sur elle-même. Ces modifications contribuent à la survie de la cellule (**Ame et al., 2004**) et l'inactivation de PARP contribue donc à l'apoptose (**Chabory E., 2009**).

L'apoptose peut également être régulée par un état rédox de la cellule ou par la présence directe des espèces intermédiaires oxygénées réactives (ROS). Or, nous avons vu que le glutathion est le composé principal qui détermine le potentiel redox intracellulaire et qui permet l'élimination des ROS.

Ces dernières années, de nombreuses recherches ont montré que la concentration de glutathion intracellulaire intervient dans le phénomène d'apoptose. En effet, comme cela a été montré, une trop faible concentration en glutathion est associée à de nombreuses maladies liées à l'apoptose (Alzheimer, hépatite C, diabète (type II), cataractes,...) (**Chenot E., 2008**).

---

## Conclusion générale

Le stress oxydant est un syndrome résultant d'un déséquilibre entre les systèmes de défense antioxydants et la production de radicaux libres oxygénés. Ce déséquilibre peut avoir diverses origines: déficit nutritionnel en antioxydant, surproduction endogène d'origine inflammatoire, exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants. Pour y faire face l'organisme dispose d'enzymes antioxydants codés par un génome permettant une adaptation à une dose raisonnable de radicaux de l'oxygène.

Le stress oxydant se traduit aussi par une modification des concentrations en antioxydants (glutathion, ascorbate, tocophérol), mais surtout du rapport entre forme réduite et oxydée de ces composés.

Les antioxydants sont des agents redox qui réagissent avec les oxydants et stoppent ou ralentissent le processus d'oxydation, et ainsi régulent l'équilibre redox cellulaire. Par conséquent, le concept d'une thérapie à l'aide d'antioxydants, dans le but de renforcer les défenses antioxydantes endogènes pour une protection plus efficace contre le stress oxydant, représente un enjeu thérapeutique important d'intérêt scientifique et public. Parmi les différents antioxydants, les plus connus sont les enzymes SOD, catalase et glutathion peroxydase, les vitamines C et E, et le glutathion. D'autres antioxydants comme les bioflavonoïdes, les antioxydants minéraux (cuivre, zinc, manganèse et le sélénium) peuvent aussi défendre de façon synergique l'organisme contre le stress oxydant (**Belkheiri N., 2010**).

Le système antioxydant du glutathion est le mécanisme de protection cellulaire le plus important. La diminution de cette petite molécule est une conséquence répandue de la formation accélérée des espèces d'oxygène réactives durant les activités cellulaires soutenues. Le phénomène peut se produire dans les lymphocytes pendant le développement de la réponse immunitaire et dans les cellules musculaires durant un exercice vigoureux.

---

## Références bibliographiques

- Acad C. (1984).** Mise en évidence d'une glutathion réductase dans le sérum cytoplasmique du latex d'*Hevea brasiliensis*. *BIOCHIMIE CELLULAIRE*. Vol.298 (2) : 35-38.
- Belkheiri N. (2010).** Derives phenoliques a activités antiatherogenes. Thèse Doctorat: Chimie-Biologie-Santé.Toulouse III. l'Université Toulouse III - Paul Sabatier.206p.
- Bernard D. (2005).** synthèse d'analogues pathoactivables de glutathion pour l'étude du système cellulaire du glutathion. Thèse Doctorat : Chimie Moléculaire. l'Université de Metz. Ecole doctorale S.E. S.A.M.E. S.177p.
- Blouet C. (2006).** Proteines alimentaires et prevention des dysregulations glycoliques : effets du glutathion et de l'apport en cystéine. Thèse Ingénieur : Agronomie. Paris-Grignon. : L'institut National Agronomique Paris-Grignon.130p.
- Borg J et Reeber A. (2008).**biochimie métabolique. ED, S.A.S. en France.285p.
- Bouguerne B. (2012).** Conception et synthèse de dérivés phénoliques hautement fonctionnalisés et étude de leurs propriétés biologiques vis-à-vis de maladies cardiovasculaires (athérosclérose). Thèse Doctorat :Chimie-biologie-santé. Toulouse. l'Université Toulouse III - Paul Sabatier. 198p.
- Bouldjadj R. (2009).** Etude de antidiabétiques et antioxydant de L'extrait aqueux lyophilisé d'artemisia herba akba asso chez des rats sains et desrats rendus diabétiques par Streptozotocine. Magistère : Toxicologie Cellulaire : Constantine: Université Mentouri.72p
- Carreras M. (2004).** etat pro/antioxydant en relation avec le metabolisme lipidique dans les plaquettes sanguines lors du diabete. Mémoire du diplôme de l'Ecole Pratique des Hautes Etudes : Sciences de la Vie et de la Terre. Ecole pratique des hautes études Sciences de la Vie et de la Terre. 42p.
- Chabory E. (2009).** Caractérisation fonctionnelle de la glutathion peroxydase 5 murine. Thèse Doctorale : Physiologie et Génétique moléculaires. L'Université Blaise Pascal.129p.
- Charles M. (2005).** Le sport après 50 ans. ED.de Boeck, Bruxelles. 299p.
- Chenot E. (2008). Développement de nouvelles sondes photoactivables pour la caractérisation des cibles cellulaires du glutathion. Thèse Doctorat : Chimie Organique. L'université Paul Verlaine – Metz.295p.
- Favier A. (2003).** Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *mécanismes biochimiques* : 108-115.

- 
- Franco P. (2009).** Etude des glutathion S-transférases chez les algues brunes *Laminaria digitata* et *Ectocarpus siliculosus*. Thèse Doctorat : biologie. Rennes .Université de Rennes 1.249p.
- Garait B. (2006).** Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la GliSODin. Thèse Doctorat : Biologie Cellulaire. Grenoble1: Université Joseph Fourier- Grenoble1.195p.
- Guelzim N. (2011).** Régulation du métabolisme secondaire de l'arginine et de la cystéine par l'acide alpha-linolénique. Implication dans la physiopathologie du syndrome métabolique. Thèse Doctorat : Physiologie de la nutrition. Paris. L'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (AgroParisTech).108p.
- Guzun T. (2010).** Peroxydation des lipides émulsionnés et transfert d'ions de fer à l'interface huile/eau stabilisée par des protéines de lait : influence des résidus phosphates et de la stabilité de chélate de fer. Doctorale : Science de l'aliment (physico-chimie). Université de Bourgogne.227p.
- 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 Doctorat : Biochimie: Constantine: Université Mentouri.124p.
- Lee C Y et Sharma A, Cheong J E, and Nelson J L. (2009).** Synthesis and antioxidant properties of dendritic polyphenols. *Bioorg.Med. Chem. Lett.* 19:6326-6330p.
- Levine R L.(2002).** carbonyl modified proteins in cellular regulation,aging,and, disease.free radic. *Boil.Med.*32:790-796p
- Noguchi N and Nikie E. (2000).** Phenolic antioxidants: a rationale for design and evaluation of novel antioxidant drug for atherosclerosis. *Free Radical Biology & Medicine.* 28, No. 10:1538–1546.
- Nzengue Y. (2008).** Comparaison des mécanismes de toxicité redox du cadmium, du cuivre et du zinc : place des métallothionéines et de p53. Thèse Doctorat : biologie. Grenoble1: Université Joseph Fourier- Grenoble1. 297p.
- Poortmans J ., Boisseau N. (2003).** biochimie des activités physiologie. ED.deBoeck, Bruxelles. 477p.
- Ramel F. (2009).** Implication des sucres solubles dans les réponses aux stress xénobiotique et oxydatif chez *Arabidopsis thaliana*. Thèse Doctorat : biologie. Rennes 1. Université de Rennes 1.199p.
- Rioux C. (2009).** Stress oxydatif et prévention des maladies chroniques. Mémoire : médecine sociale et préventive. québec. Université laval.76p

---

**Schnekenburger M. (2004).** Régulation de l'expression de la glutathion S-transférase P1-1 au cours de la différenciation de la lignée leucémique humaine K562. Thèse Doctorat : Biochimie et Biologie Moléculaire : Champagne- Ardenne. Université de Reims Champagne-Ardenne.256p.

**Soares A. (2005).**effets du stress oxydant sur le fonctionnement des adipocytes adiponectine et prostaglandine. Doctorale: biochimie école doctorale interdisciplinaire sciences-santé : Lyon : l'institut national des sciences appliquées. 133p.

**Stéphane S. (2004).**Alterations mitochondriales et stress oxydant pulmonaire en réponse à l'ozone : effets de l'âge et d'une supplémentation en oméga-3. Thèse Doctorat : Lyon : Université Claude Bernard-Lyon 1. 161p.

**Torres de Pinedo A, Penalver P, Perez-Victoria I, Rondon D, and Morales J C. (2007).** Synthesis of new phenolic fatty acid esters and their evaluation as lipophilic antioxidants in an oil matrix. *Food. Chemistry.* 105: 657-665.

**Zenkov N K et K, Menshchikova E B, Kandalintseva N V. (2007).** Oleynik A S, Prosenko A E, Gusachenko O N, Shklyayeva O A , Vavilin V A, and Lyakhovich V V, *Biochemistry (Moscow).* 72:644-651.

## Résumé

Pour étudier le glutathion dans l'organisme et pour déterminer son rôle comme antioxydant et détoxification, nous avons traité le stress oxydant qui est la déséquilibre de la balance oxydants-antioxydants en faveur des oxydants. Il se développe lorsque les radicaux libres, des molécules oxydantes, sont produits plus rapidement qu'ils ne peuvent être neutralisés par l'organisme. Les radicaux libres sont des espèces chimiques (atomes ou molécules) possédant un électron célibataire. Cette propriété les rend aptes à réagir avec des molécules lors de réactions en chaîne. Il retrouvera sa stabilité en participant à des réactions chimiques dont la conséquence est l'oxydation des lipides membranaires, l'oxydation des acides aminés composant les protéines. Les cellules des mammifères ont conçu de nombreux mécanismes pour prévenir ou traiter les incidents préjudiciables pouvant résulter des sous-produits oxydatifs normaux du métabolisme cellulaire. Le « système antioxydant du glutathion » est le protecteur endogène le plus important parce qu'il participe directement à la destruction des composés d'oxygène réactifs par la peroxydase du glutathion et qu'il maintient les vitamines C et E dans des formes actives réduites. En outre, le glutathion neutralise les composés étrangers dans une réaction catalysée par les transférases du glutathion. Pour ces raisons, le glutathion cellulaire joue un rôle de premier plan dans la défense de l'organisme contre l'infection, les radicaux libres et les cancérogènes. Il n'est pas étonnant que le foie, organe principal de détoxification et d'élimination des substances toxiques, détienne la plus forte concentration de glutathion

**Mots clés :** stress oxydant, Les radicaux libres, Le système antioxydant, glutathion, détoxification

## ملخص

لدراسة الفلوتاثيون في الجسم و تحديد ادواره كمضاد للاكسدة و مزيل السم تطرقنا لتعرف على الخلل في التوازن بين المؤكسد و ضد المؤكسد بسبب زيادة في المؤكسد. الجذور الحرة هي أنواع كيميائية تحتوي على اليكترونات حرة. هذه الخاصية تكسبه التفاعل مع جزيئات بتفاعلات متسلسلة. و هي جزيئات جد متفاعلة و غير مستقلة مثل مشتقات الأوكسجين يؤدي هذا إلى دخولها في تفاعلات كيميائية. أكسدة الدهون والأغشية وأكسدة الأحماض الأمينية المكونة للبروتينات و من جهة أخرى قد ينتج الجسم الجذور الحرة كعامل دفاعي عن العضوية (الخلايا المناعية). الخلايا عند الثدييات تقوم بعدة آليات من اجل حماية الحوادث الضارة التي قد تنتج من النواتج الثانوية المؤكسدة الطبيعية من الايض الخلوي النظام الدفاع غلوتاثيون هو ثلاثي ببنيدي ينتج داخل الجسم دوره الوقاية والدفاع عن العضوية وهو النظام الدفاع المهم لأنه يقوم بهدم المركبات الأوكسوجينية المتفاعلة ( غير مستقرة) والجذور الحرة بواسطة أكسدة الغلوتاثيون. الذي يؤمن للفيتامينات (ج . ه) في شكل المتفاعل نشط لكي تلعب دور في الدفاع عن الجسم. من جهة أخرى. غلوتاثيون ينزع المركبات الدخيلة عن العضوية و المضرة بتفاعلات تحفز بواسطة إنزيم GST. و الغلوتاثيون الخلوي يلعب دور أساسي وأولي في الدفاع عن العضوية ضد الإصابة الجذور الحرة والمواد التي تسبب السرطان. خاصة في الكبد العضو الأساسي التي يحدث فيها إزالة السم وإقصاء المواد السامة .

**الكلمات المفتاحية :** الجذور الحرة، الاكسجين، الايض الخلوي، الغلوتاثيون، إنزيم GST، الكبد