

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE.

UNIVERSITÉ DE JIJEL



80.4/07

Faculté Des Sciences
Département de biologie moléculaire et cellulaires

MEMOIRE

de fin d'études en vue d'obtention du diplôme d'études supérieures
(D.E.S)

option : *Biochimie*

Thème:

Polyphénols et stress oxydatif

Membres du Jury :

- Encadreur : Mohamed KEBIECHE
- Examineur : Mohamed SEBTI

Présenté par :

- Madjda MERABET
- Loubna CHOUFI
- Sihem LALILI

PROMOTION JUIN 2007.

REMERCIEMENTS



Nous tenons à remercier en premier lieu Dieu de nous avoir donné la force et la volonté pour réaliser ce travail.

*Nous remercions vivement notre honorable encadreur Monsieur : **KEBIECHE MOHAMMED** qui nous a proposé ce sujet de recherche et qui nous a encadré par ses conseils judicieux, ses encouragements, sa compréhension et sa totale disponibilité.*

Nos remerciements vont aux membres du jury pour nous avoir honoré en acceptant de juger notre travail.

Nos remerciements vont aussi aux étudiants du Département Biologie (Option Biochimie).

Nous voudrions remercier tout particulièrement les enseignants qui ont participé à notre formation.

Nous tenons enfin à remercier toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Introduction.

Chapitre I: Les polyphénols

1. Généralités

1.1. Définition	03
1.2. Classification.....	03
1.2.1. Formes simples	04
1.2.1. Formes condensées	06
1.2.2.1. Tanins	06
1.2.2.2. Les lignines.....	08
1.3. Biochimie des polyphénols.....	09
1.3.1. Biosynthèse des polyphénols.....	09
1.3.2. Régulation de la biosynthèse et de l'accumulation	12
1.3.3. Les enzymes des métabolismes phénoliques	13
1.3.4. Les aspects métaboliques de métabolisme	14
1.3.4.1. Inhibition des fonctions métochondriales par les flavonoides	14
1.3.4.2. Action sur la chaîne de transfert des électrons dans la mitochondrie	14
1.3.4.3. Action sur la phosphorylation oxydative.....	14
1.3.4.4. Action sur la réduction des formes activées de l'oxygène.....	14
1.3.4.5. Action relative à l'apoptose cellulaire	15
1.3.5. Caractéristiques de la réaction d'oxydation enzymatique.	15
1.3.5.1. Les polyphénols oxydases.	15
1.3.5.2. Les peroxydases	15
1.4. Propriétés biologiques	16
1.4.1 Rôles chez les plantes.	16
1.4.2. Utilisation et importance économique chez l'homme.	18
1.4.2.1. Digestion et assimilation et pharmacocinétique des Polyphénols.....	19

Chapitre II: Le stress oxydatif

1. définition.....	21
2. Origines	
2. 1 Origines exogènes	21
2.2. Origines endogènes.....	2
3. Les radicaux libres	
3.1 Les différents radicaux libres.....	21
a. L'anion peroxyde O_2^-	22
b. La peroxydase d'hydrogène H_2O_2	23
c. Le radical hydroxyle OH	23

d. Les radicaux peroxydes (ROO ⁻).....	23
e. Les radicaux alcoyles (ROO ^o)	23
f. L'hydro peroxyde organique (ROOH)	23
3.1.1. Sources endogènes des dérivés réactifs de l'oxygène	23
a. l'auto-oxydation de petites molécules	24
b. peroxydome	24
c. Réticulum endoplasmique.....	24
d. Xanthine oxydase.....	25
e. Lipoxygénase et acide arachidonique.....	25
f. NADPH oxydase.....	25
g. Mitochondrie:.....	26
Complexe I : NADPH-Ubiquinone oxydoréductase	26
Complexe II : Succinate-Ubiquinone Oxydo-réductase	26
Complexe III: Ubiquinol-cytochrome c réductase (complexe b-c1).....	26
Complexe IV: Cytochrome C oxydase	27
h. Effet des ROS sur la mitochondrie	27
3.1.2. Sources exogène des radicaux libres	27
4. Mécanisme peroxydant	29
5. Mécanisme antioxydant	30
5.1. Les antioxydants enzymatiques fig3 :	30
5.1.1 Les superoxydes dismutases (LA SOD)	30
5.1.2 LES catalases	31
5.1.3 Les peroxydases	31
5.1.4 Les Peroxyrédoxines : (PRx) ou thioredoxines :.....	32
5.2.1 Les antioxydants non enzymatique.	33
5.2.1 Les antioxydants naturels	33
a. La vitamine C	33
b. LA vitamine E	34
c. Les caroténoïdes.....	35
d. Les polyphénols	35
e. Le zinc	35
f. Le sélénium	36
g. Les métallothionéines	36
6. La balance pro oxydants/antioxydants.....	36
7. Pathologies du stress oxydant	37
a. Le Cancer	38
b. Stress et fumée de cigarette :.....	38
c. Le diabète	39
d. Maladie cardiovasculaire.	40

7.1. Effets sur les macromolécules biologiques	41
7.1.1. Dommages lipidiques (peroxydation lipidique)	41
7.1.2 Oxydation des protéines	42
7.1.3. Dommages oxydatifs de l'ADN :.....	43
a.Oxydation directe	44
b. Modification de base par formation de produits secondaires :	
Formation d'adduits de l'ADN	44
7.1.4. Stress oxydatif et apoptose.....	45
Chapitre III: Activité antioxydant des polyphénols.....	48
1. Propriétés préventives	48
1.1. La protection contre les maladies coronariennes et vasculaires...48	
L'activité anti-inflammatoire.....	49
L'activité antitoxique et antitumoral	49
2. Propriétés thérapeutiques	50
2.1. Action antiulcéreuse.....	50
2.2 Action anticancéreuse	50
2.3. Action antinflammatoire.....	51
2.4. Action antineurodégénératives.....	51
• L'activité thérapeutique des flavonoides.....	51
a.Inhibition des enzymes.....	52
b.Chélation des ions métalliques.....	53
c. Piégeage des ROS	53

Conclusion

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Ainsi, l'objectif de notre étude bibliographique consiste en la classification et les propriétés biochimiques et biologiques de ces métabolites secondaires dans une première partie, en la mise au point sur le stress oxydatif et les radicaux libres et leurs conséquences sur l'apparition des différentes maladies, et en l'évaluation de l'activité à la fois préventive et thérapeutique afin de limiter ou arrêter les agressions oxydatives suite à un stress oxydant particulièrement néfastes pour le fonctionnement et la survie cellulaire.

CHAPITRE : I

Généralités sur les Polyphénols

1- Généralités

1-1- Définition

Ce sont des composés importants de métabolites secondaires des végétaux, se reconnaissent à la présence d'un ou plusieurs groupes hydroxyles, modifiés ou non, attachés à une structure aromatique [3].

1-2- Classification

Les composés phénoliques peuvent être regroupés en de nombreuses classes qui se différencient d'abord, par la complexité du squelette de base (allant d'un simple C₆ à des formes très polymérisées), ensuite par le degré de modification de ces squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation, de méthylation..), enfin par les liaisons possibles de ces molécules de base avec d'autres molécules (glucides, lipides, protéines, autres métabolites secondaires pouvant être ou non des composés phénoliques): Il est possible de rendre compte dans un espace restreint de la complexité des différents composés phénoliques présents chez les végétaux. Nous nous tiendrons donc à quelques grandes lignes, en signalant un exemple significatif, le plus important du point de vue biologique ou technologique. Pour cela, on utilisera dans cette présentation une subdivision allant des molécules les plus simples aux formes complexes [4,5] (Tableau 1).

Tableau.1. Les différents squelettes carbonés des différentes classes polyphénoliques [4,5].

Squelette carboné	Classe	Exemple	Origine (exemple)
C ₆	Phénols simples	Catéchol	
C ₆ -C ₁	Acides hydroxybenzoïques	<i>p</i> -Hydroxybenzoïque	Epices, fraise
C ₆ -C ₃	Acides hydroxycinnamiques Coumarines	Acides caféique, férulique Scopoléline, esculétine	Pomme de terre, pomme Citrus
C ₆ -C ₄	Naphtoquinones	Juglone	Noix
C ₆ -C ₂ -C ₆	Stilbènes	Resvératrol	Vigne
C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoïdes		
	• Flavonols	Kaempférol, quercétine	Fruits, légumes, fleurs
	• Anthocyanes	Cyanidine, pélargonidine	Fleurs, fruits rouges
	• Flavanols	Catéchine, épicatechine	Pomme, raisin
	• Flavanones	Naringénine	Citrus
	Isoflavonoïdes	Daidzéine	Soja, pois
(C ₆ -C ₃) ₂	Lignanes	Pinorésinol	Pin
(C ₆ -C ₃) _n	Lignines		Bois, noyau des fruits
(C ₁₅) _n	Tannins		Raisin rouge, kaki

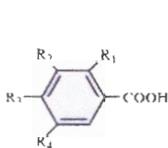
1-2-1- Les formes simples

Les formes phénoliques les plus simples présentent des structures chimiques allant du simple phénol C6 (non présent naturellement chez les végétaux) aux flavonoïdes en C15 (figure1):

a- Acides hydroxybenzoïques: Sont dérivés de l'acide benzoïque et ont une formule de base de type C6-C1.

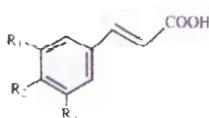
b- Acide hydroxycinnamique: Leur structure de base C6-C3 dérive de celle de l'acide cinnamique [5, 6, 7].

Acides hydroxybenzoïques



- | | |
|--|----------------------------------|
| $R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = H$ | acide benzoïque (non phénolique) |
| $R_1 = R_3 = R_4 = H, R_2 = OH$ | acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque |
| $R_1 = R_4 = H, R_2 = R_3 = OH$ | acide protocatéchique |
| $R_1 = R_4 = H, R_2 = OCH_3, R_3 = OH$ | acide vanillique |
| $R_1 = H, R_2 = R_3 = R_4 = OH$ | acide gallique |
| $R_1 = H, R_2 = R_4 = OCH_3, R_3 = OH$ | acide syringique |
| $R_1 = OH, R_2 = R_3 = R_4 = H$ | acide salicylique |
| $R_1 = R_4 = OH, R_2 = R_3 = H$ | acide gentisique |

Acides hydroxycinnamiques («phénylpropanoïdes»)



- | | |
|----------------------------------|-----------------------------------|
| $R_1 = R_2 = R_3 = H$ | acide cinnamique (non phénolique) |
| $R_1 = R_3 = H, R_2 = OH$ | acide <i>p</i> -coumarique |
| $R_1 = R_2 = OH, R_3 = H$ | acide caféique |
| $R_1 = OCH_3, R_2 = OH, R_3 = H$ | acide férulique |
| $R_1 = R_2 = OCH_3, R_3 = OH$ | acide sinapique |

Fig.1. Structure des acides phénoliques simples [5, 6, 7].

c- Flavonoïdes: L'ensemble des flavonoïdes de structure générale en C15 (C6-C3-C6), comprend à lui seul plusieurs milliers de molécules regroupées en plus de dix classes dont certains ont une très grande importance biologique et technologique à savoir : Les anthocyanes, pigments rouge ou bleus; les flavones et flavonols, de couleur crème ou jaune clair ; les flavanes dont les produits de condensation sont à l'origine d'un groupe important de tannins et les isoflavones qui jouent un rôle dans la santé humain [4,8].

C'est d'abord la structure de l'hétérocycle central et son degré d'oxydation qui permet de distinguer les différentes classes de flavonoides. Le cas extrême d'oxydation de l'hétérocycle central correspond aux anthocyanidines, toujours présentes en milieu Acide sous forme d'un cation de couleur rouge dit « cation flavylum » [4]. Au contraire, dans le cas des flavanes, le cycle central est très fortement réduit. On trouve des Situations intermédiaires chez les les flavanones, les flavones, les flavonols et d'autres groupes. A l'intérieur de chacune des classes, les variations autour du squelette chimique de base en C15 portent principalement sur trois points [4,8], (Figure 2) :

1-le degré d'hydroxylation des différents cycles.

2-le niveau de méthylation (groupement O-CH₃ à la place des seules Fonctions phénoliques).

3-le niveau de glycosylation.

CHAPITE I

GENERALITES SUR LES POLYPHENOLS.

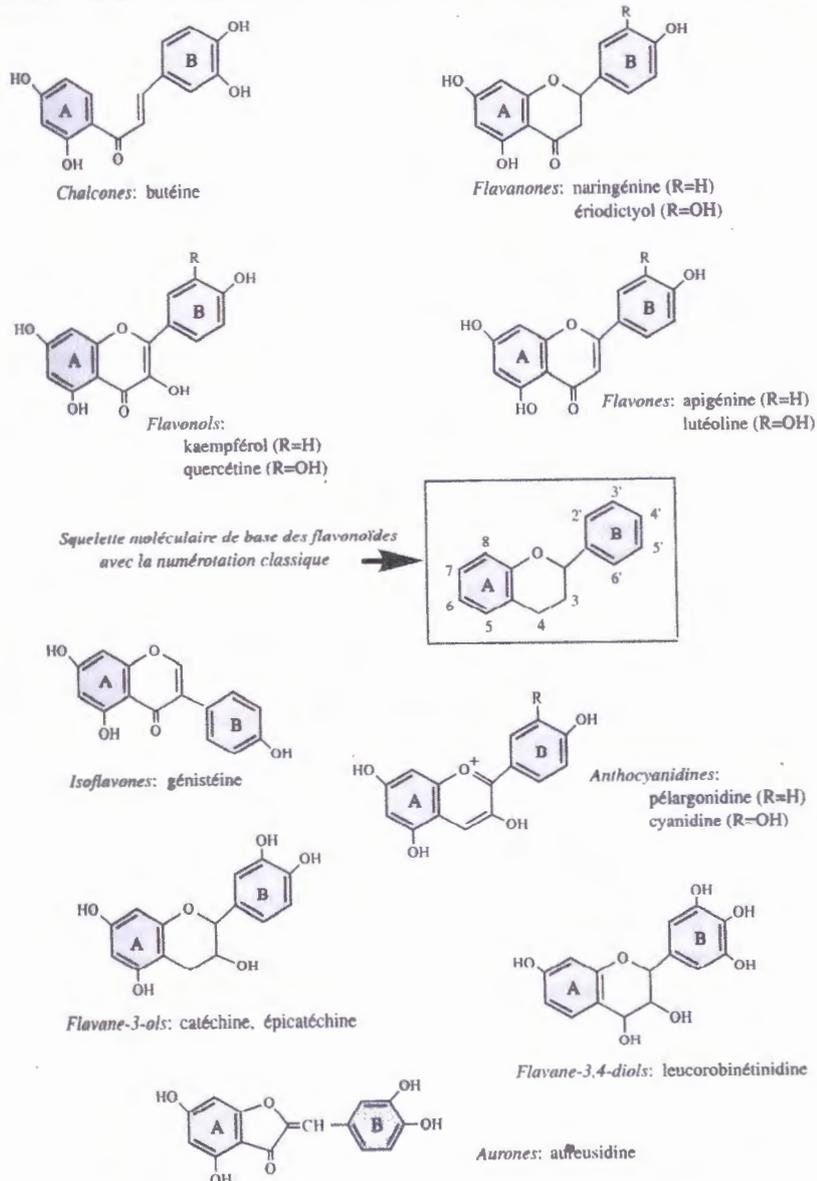


Fig.2. les principales classes de flavonoïdes [4,8].

Dérivés (thé, vin,..).On peut considérer que les tannins sont des formes phénoliques condensées capables de se lier aux protéines en solution et de les précipiter.

Il est classique de distinguer de grands groupes de tannins différents à la fois par leur composition et par leur réactivité chimique [9,10] :

- a-** les tannins hydrolysables: Abondants chez les dicotylédones et certains arbres en sont des sources industrielles: Tannins de chênes, de chine,...Ils sont caractérisés par le fait qu'ils peuvent être dégradés par hydrolyse chimique (alcaline ou acide) ou enzymatique. Ils libèrent alors une partie non phénolique (souvent du glucose ou de l'acide quinique) et une partie phénolique qui peut être soit de l'acide gallique, soit un dimère de ce même acide. Une forme simple de tannins hydrolysables est le penta-galloylglucose, molécule très réactive qui est à l'origine de la plupart des formes complexes [9] (figure 3).

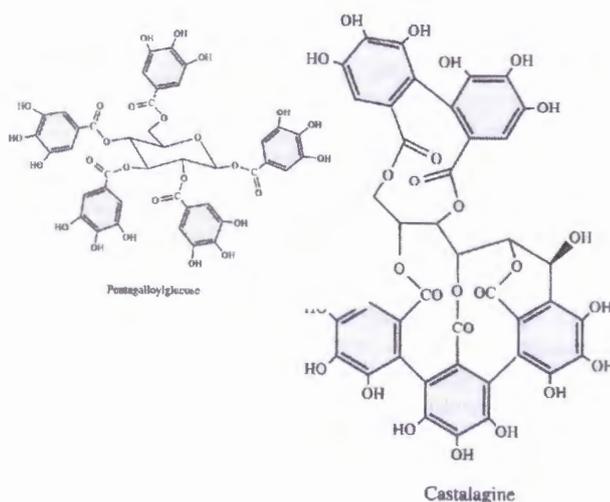
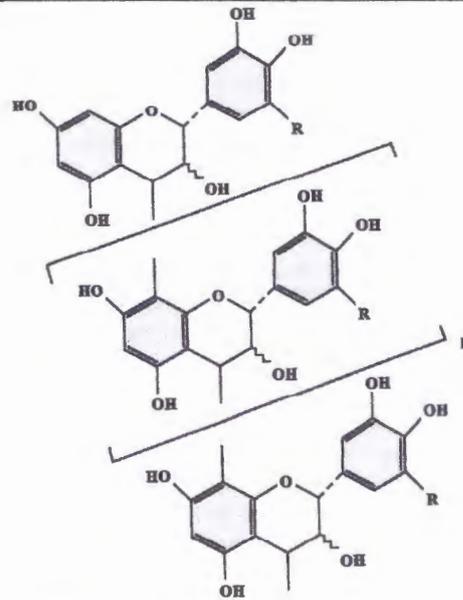


Fig.3. Deux exemples de tanins hydrolysables [9,10].

- b-** les tannins condensés : Sont des oligomères ou des polymères de flavane-3-ols (éventuellement de flavane-3,4diols) dérivés de la (+)-catéchine ou de nombreux isomères.

Contrairement aux tannins hydrolysables, ils sont résistants à l'hydrolyse et seules des attaques chimiques fortes permettent de les dégrader. ainsi, par traitement acide à chaud, ils se transforment en pigments rouges et pour cette raison, les formes dimères et oligomères sont dénommées « proanthocyanidines ». Les tannins condensés sont très abondants dans certains organes végétaux consommés par l'homme, par exemple de nombreux fruits (pomme, fraise,..)Ou des boissons fermentée ou non (thé, cidre,..)Dans tout les cas, la matière première végétale de départ, les traitements technologiques et les Conditions de conservation du produit influencent fortement la capacité tannante donc ses propriétés organoleptiques [11, 12], (Figure4).



R=H : unité procyanidine , dérivée de la catéchine

R=OH : unité prodelphinidine, dérivée de la gallocatéchine

Fig.4. Exemple de structure d'un tanin condensé [11,12]

1-2-2-2- les lignines

La lignine a été mise en évidence dès le début du 18^e siècle par BRACONNOT comme étant la fraction du bois résistante aux attaques acides relatives aux végétaux et sa nature phénolique est maintenant bien établie [13,14].

Trois types d'approches ont permis de progresser dans la connaissance de la composition chimique et de la structure des lignines d'abord les approches analytiques sous structurales portant sur des lignines d'origines diverses et à des stades de dégradations différents et contrôlés. Ensuite, les essais de reconstitution de lignines modèles à partir d'unités chimiques de base, en présence ou non d'enzymes extraites des végétaux. Enfin, les approches de génies génétiques appliqués à l'obtention de plante transformée pour des gènes intervenant dans la biosynthèse des lignines. Les lignines résultent de la polymérisation tridimensionnelle de trois molécules phénoliques de base Dénommées « MONOLIGNOLS » correspondant respectivement aux acides p-coumarique, férulique et sinapique [15,16], (figure5).

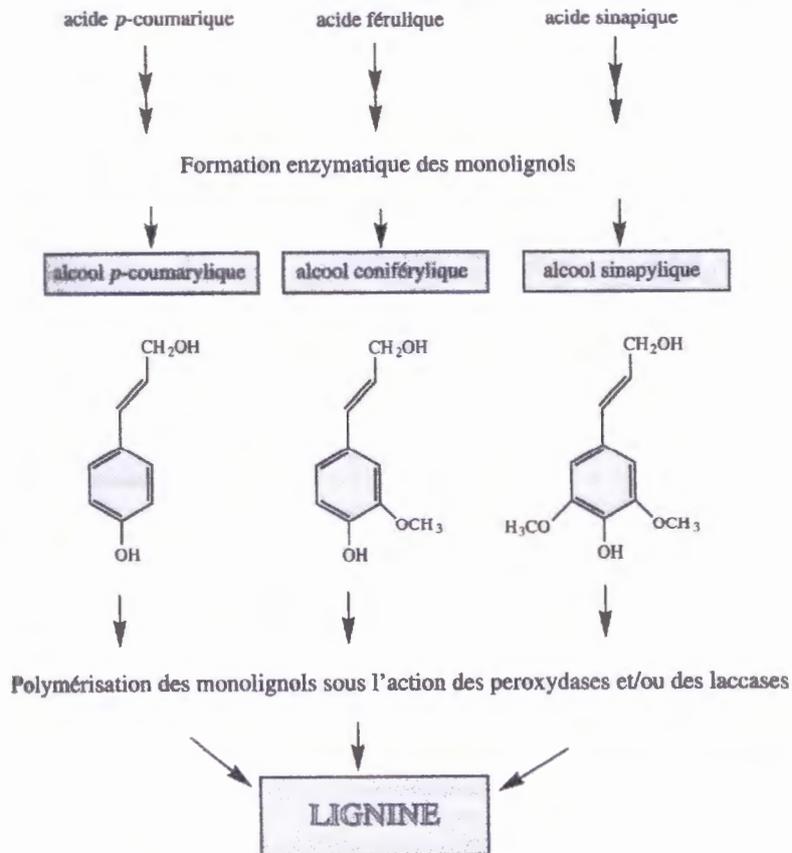


Fig.5. les monolignols dérivés des acides hydroxycinnamiques et leur intégration dans la lignine [14]

1-3-Biochimie des polyphénols

1-3-1- Biosynthèse des polyphénols

Les connaissances concernant les voies de biosynthèse des composés phénoliques ont d'abord été obtenues en utilisant des approches classiques ; identification des intermédiaires métaboliques, fourniture de précurseurs radioactifs, action métabolique, caractérisation et purification des enzymes qui catalysent des réactions de biosynthèse, modulation possible par les facteurs externes, biotiques ou abiotiques. Ces approches ont permis d'établir les grandes lignes du métabolisme phénolique et de montrer comment il est relié au métabolisme primaire [4]. La production des composés phénoliques par des suspensions cellulaires végétales passe d'abord par une phase d'optimisation, plusieurs approches sont souvent utilisées de manières conjointes :

- sélectionner la meilleure lignée végétale ;
- agir sur les facteurs de l'environnement dont certains peuvent déclencher l'expression de plusieurs gènes du métabolisme phénolique ;

- agir sur le milieu de culture par apport de substances de croissances, de sucres précurseurs métaboliques des composés phénoliques (phénylalanine, tyrosine) ;
- modifier les plantes par des méthodes de génie génétique.

En combinant plusieurs des approches ci-dessus, on peut obtenir une production stable et de haut niveau.

Les organismes disposent de plusieurs voies réactionnelles pour synthétiser les cycles aromatiques des composés phénoliques (figure 6), à savoir:

a- la voie du shikimate : L'acide cinnamique se forme par l'intermédiaire de l'acide shikimique, cette voie est responsable de la synthèse des acides aminés parmi eux la phénylalanine qui sert directement de précurseur direct à l'acide cinnamique. Elle est contrôlée par une modulation de l'activité des enzymes clés par le biais d'un feed-back [17].

b- la voie acétate malarate : Les systèmes aromatiques sont aussi formés par condensation répétée d'unités acétate, c'est le malonyl COA qui fournit, par décarboxylation, les unités en C2 pour allonger le complexe acylCOA.

c- la voie acétate-mavalonate: Ce fait par la synthèse de monoterpènes cycliques, ces derniers acquièrent un caractère aromatique par déshydrogénation exemple thymol [18].

Les grandes lignes des voies de biosynthèse des principaux composés phénoliques sont maintenant bien connues, les deux acides aminés aromatiques, phénylalanine et tyrosine sont à l'origine de la formation de la plupart des molécules phénoliques chez les végétaux [19]. Ils sont eux-mêmes formés à partir de sucres simples issus du métabolisme primaire, par la voie bien connue de l'acide shikimique. la désamination de la phénylalanine est une première étape primordiale de la biosynthèse de l'immense majorité des composés phénolique naturels.

Eh fait, les formes métaboliquement actives des acides hydroxycinnamiques sont leurs esters avec le co-enzyme A (COA) qui permettent d'accéder aux principales classes de composés phénoliques. On peut citer quelques orientations majeures:

- vers les acides de la série benzoïque par B-oxydation ;
- vers les esters hydroxycinnamiques par estérification avec un acide alcool comme l'acide quinique ;
- vers les coumarines par cyclisation interne des molécules suivies de modifications complémentaires ;

- vers les lignines, par deux réductions successives conduisant au monolignols qui sont ensuite intégrés dans la lignine par polymérisation oxydative initiée dans la paroi cellulaire par des peroxydases et les lactases, etc...

- vers les flavonoides, dont le squelette moléculaire de base est une chalcone qui a une origine biosynthétique mixte: D'une part, trois molécules d'acétyl COA (apporté sous forme de malonyl COA) pour le cycle A et d'autre part, une molécule de p-coumaryl COA pour le cycle B et l'hétérocycle C.

Les flavonoides représentent donc, un groupe de substances naturelles important à la fois par le nombre de molécules concernées et par leurs propriétés, mais également par l'originalité d'une origine biosynthétique mixte, chacune des deux voies (celles de l'acétate et celle de l'acide shikimique) conduisant, dans la molécule du flavonoïde final, à la formation d'un cycle benzénique plus ou moins hydroxylé.

A partir de la chalcone, la biosynthèse des différents groupes de flavonoïde implique un ensemble complexe de réactions comprenant des hydroxylations, méthylations, oxydations, réductions, glycosylation, etc... [20 à 22].



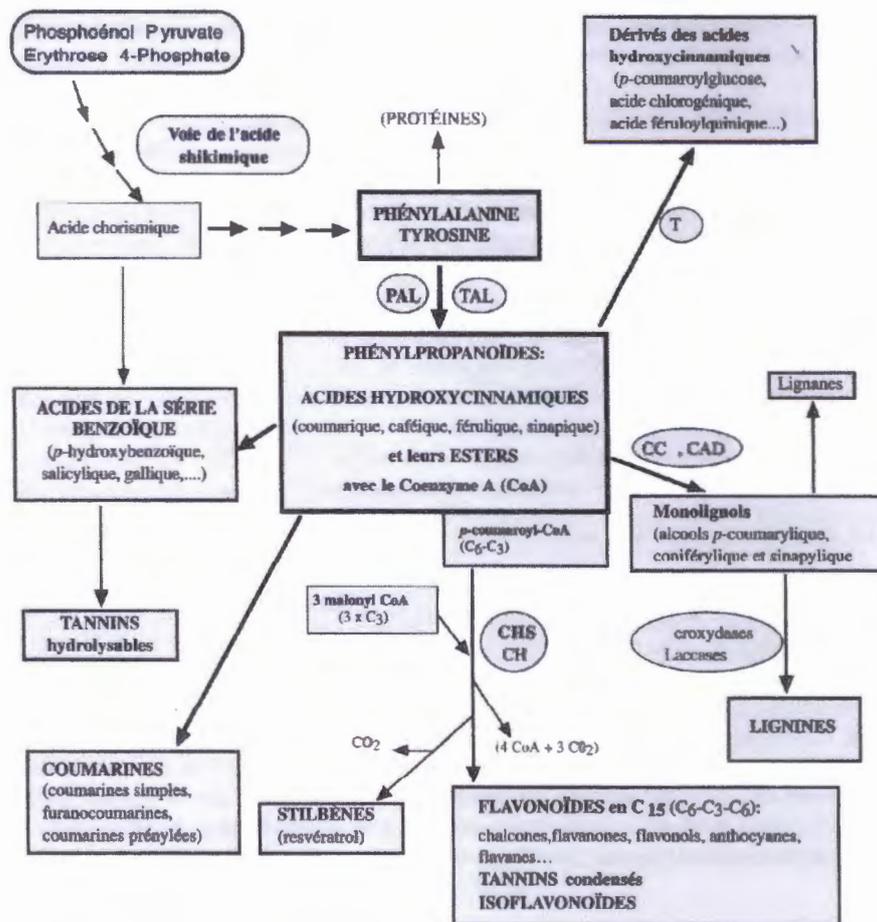


Fig.6. les grandes lignes de la biosynthèse des principaux groupes de composés [23].
phénoliques.abréviations des principales enzymes : PAL : phénylalanine ; TAL : tyrosine
ammonialyase ; CCR : chalcone flavanone isomérase ; TR : transférases

1-3-2- Régulation de la biosynthèse et de l'accumulation

Différents facteurs physiques, chimiques et biologiques, externes ou endogènes jouent un rôle important dans la modulation de l'expression du métabolisme phénolique:

a-la lumière: La lumière agit directement, par l'intermédiaire des radiations rouges, bleues et UV qui sont perçues par différents photorécepteurs dont le phytochrome et différents récepteurs aux UVA et UVB [24], l'action de la lumière porte sur l'induction de la synthèse de plusieurs enzymes du métabolisme phénolique et tout particulièrement de la PAL, l'effet de la lumière est d'activer l'expression des gènes PAL ce qui conduit à la transcription des ARN_m puis la formation des protéines enzymatiques [25].

b- la température: Elle agit souvent en interaction avec la lumière. Ainsi, un abaissement de la température associé à un traitement lumineux adéquat induit

Fréquemment une accumulation des anthocyanes chez de nombreux fruits (pomme, raisin).des perturbations du métabolisme phénolique peuvent également apparaître a la suite de traitements au froid des fruits et légumes, conduisant alors a des brunissements [26].

c- Les éliciteurs: Ce sont des molécules produites généralement par les microorganismes qui vont déclencher chez la plante l'expression de gène de défense conduisant à la mise en place de molécules antibiotiques dénommées « phytoalexines », parmi lesquelles certains groupes de composés phénoliques : coumarines, isoflavonoides,.. [27].

d- Autres facteurs: Beaucoup d'autres facteurs peuvent moduler la teneur de la plante en composés phénoliques. Il s'agit souvent de traitements qui sont appliqués par l'homme: hormonaux, applications des fertilisants, irradiations,

e- Les apports de la biologie et du génie génétique moléculaire:

L'obtention de mutants naturels ou issus de transformation de plante par les voies de génie génétique, a permis de préciser le rôle de différents gènes et de mieux comprendre pourquoi il s'exprime de manière spatio-temporelle [28,29]. Un facteur externe agit sur l'expression des gènes du métabolisme phénolique par l'intermédiaire d'une signalisation intracellulaire complexe mais dont les grandes lignes sont connues.

1-3-3- Les enzymes du métabolisme phénolique

Une des caractéristiques communes de toutes les enzymes du métabolisme secondaire réside dans le fait qu'il est difficile de les étudier et de les purifier, car elles toujours très faiblement représentées parmi les protéines des végétaux. De plus, elles sont facilement inhibées lors du broyage et de l'extraction, en particulier par les composés phénoliques eux-mêmes qui se combinent alors de manière irréversible aux protéines. Il est donc indispensable d'utiliser dans les milieux d'extractions des pièges a phénol (résines anioniques) et des réducteurs forts (acides ascorbique, métabisulfite de sodium) afin d'éviter les oxydations. Les enzymes concernées sont :

- la phénylalanine ammonialyase(PAL), permet la formation de l'acide cinnamique à partir de la phénylalanine ;

- les COA ligase synthases permettent la mise en place des formes activées des acides hydroxycinnamiques avec leCOA. La chalcone synthase (CHS) permet l'entrée Dans la voie des flavonoides, par condensation de phényle propanoïdes avec des maillons acétate. Elle est donc à l'origine de la mise en place de nombreuses molécules ayant une grande importance dans la vie de la plante [30].

1-3-4- Les aspects métaboliques des polyphénols

1-3-4-1- inhibitions des fonctions mitochondriales par les flavonoides

Les composés phénoliques peuvent interférer avec le fonctionnement mitochondrial, l'expérimentation est généralement été conduite in vitro sur des enzymes préalablement isolées, soit encore in vivo sur des cultures cellulaires saines ou tumorales. Certains des composés phénoliques sont des inhibiteurs de séquences métaboliques mitochondriales (chaîne de transfert des électrons, gradient de protons).

1-3-4-2- Actions sur la chaine de transfert des électrons dans la mitochondrie

Elle intervient d'abord par inhibition de la NADH-oxydase du complexe 1 mitochondrial par les flavonols, isoflavones [31]. L'action inhibitrice des flavonoides est également ressentie au niveau de la succino-oxydase du complexe2 mitochondrial.

1-3-4-3- Actions sur la phosphorylation oxydative

Certains composés phénoliques sont des inhibiteurs de l'ATP SYNTHASE de la membrane interne de la mitochondrie, enzyme permettant la formation de l'ATP a partir de l'ADP au cours de la phosphorylation oxydative .les composés phénoliques interviennent plus spécifiquement, en raison d'une certaine similarité structurale avec le substrat normal (ATPouADP), par compétition au niveau du site actif de l'enzyme.

1-3-4-4- Actions sur la réduction des formes activées de l'oxygène

La mitochondrie est la source importante de production de H₂O₂ et de différentes formes activées et toxiques de l'oxygène. Grâce a leurs pouvoir antioxydants et a leurs capacité a piéger et neutraliser les radicaux libres, les flavonoides participent a la régulation de l'état d'oxydoréduction, a la protection des structures lipidiques contre les peroxydations .leur potentiel anti-oxydant dépend alors de leurs structures, et de leurs liposolubilité /hydro solubilité et de la localisation des zones cibles de la

Mitochondrie, Matrice ou membrane et également dans l'expression des gènes codant certaines enzymes protectrices permettant de dégrader l'anion superoxyde.

1-3-4-5- Actions relatives a l'appoptose cellulaire

Les composés phénolique en particulier les flavonoides (cathéchine,..) peuvent intervenir pour limiter l'appoptose dans les cellules non tumorales en réduisant le cytochrome c ou en empêchant son oxydation, car ce dernier est localisé dans l'espace motichondrial intermembranaire participe au déclenchement de l'appoptose lorsqu'il est libéré sous forme oxydée dans le cytosol.

1-3-5- caractéristique de la réaction d'oxydation enzymatique

Parmi les composés, les substrats directs des enzymes d'oxydation appartiennent à deux groupes différents : les dérivés hydroxycinnamiques et les flavonoides [32].

Les enzymes impliquées dans l'oxydation des composés phénoliques appartiennent à deux grands groupes : les polyphénols oxydases (PPOs) et les peroxydases (PODs), toutes deux des enzymes très ubiquitaires. Elles ont été détectées dans de nombreux organes de plantes supérieures : feuilles, racines, organes de réserve [32, 33,34]

1-3-5-1- Les polyphénols oxydases

Sont des métalloprotéines a cuivre fonctionnant en présence d'oxygène. En fait, le terme « polyphénol oxydase » est un terme regroupant plusieurs activités enzymatiques (activité crésolase, activité cathécolase,..) [35].

1-3-5-2- les peroxydases

Les PODs sont des enzymes héminiques (a fer dans la majorité des cas) présentant un important degré de glycosylation et une forte affinité pour le calcium. Ils sont généralement mises en place par la voie sécrétoire réticulum endoplasmique puis vésicules golgiennes), elles sont ainsi excrétées a l'extérieur de la cellule chez les bactéries et les champignons, alors qu'elles se retrouvent en abondance dans le lait et la salive chez les mammifères. Les PODs sont directement impliqués dans l'oxydation et la polymérisation des monolignols lors de la formation de la lignine.

PPOs et PODs peuvent intervenir en synergie dans l'oxydation des composés phénoliques mais ce sont les PPOs qui sont généralement les plus impliquées dans le

Développement du brunissement enzymatique rapide qui apparaissent après les stress mécanique. De plus l'intervention des PODs pourrait être limitée par le fait que leur activité semble plus rapidement bloquée que celle des PPOs par les premières quinones formées [36].

1-4- Propriétés biologiques

1-4-1- Rôles chez les plantes

D'après les références consultées, on a recensé plusieurs rôles attribués aux composés polyphénoliques, à savoir:

➤ la défense

Deux groupes principaux de composés phénoliques constitutifs participent à la défense de la plante contre l'infection par les agents pathogènes :

a- les barrières physiques: Les tissus lignifiés représentent des barrières mécaniques difficiles à franchir et ils opèrent selon une stratégie de contournement des structures correspondants. Ces réactions aboutissent à la formation au niveau de la blessure d'un tissu cicatriciel résistant aux infections. La cutine et la subérine sont des structures physiques efficaces pour bloquer la pénétration du parasite [37, 38].

b- les barrières chimiques : Les composés chimiques constitutifs solubles forment une barrière chimique efficace contre les agressions d'origine animale ou microbienne [39,40]. Parmi tous les composés phénoliques, l'acide salicylique joue **simultanément** un rôle important comme messenger intracellulaire déclanchant l'induction de l'ensemble des mécanismes qui permettent à la plante de se défendre vis-à-vis des virus (cas des tabacs) [41,42].

➤ Rôles biologiques

La capacité d'une espèce végétale à résister à l'attaque des insectes et des microorganismes et souvent corrélée avec la teneur en composés phénoliques. Le tableau 1 dessous démontre les principales activités des composés polyphénoliques [37]. Les composés phénoliques vacuolaires ou présents au niveau de la paroi jouent un rôle Protecteur au cours de la sénescence, en relation avec leurs propriétés antioxydants et leurs capacités à moduler la division et le grandissement cellulaire.

- La germination est généralement améliorée lorsque la teneur en phénols des graines diminue, soit au cours de l'évolution naturelle, soit à la suite de traitements appliqués aux graines [38].

- Certains composés phénoliques peuvent être responsables de la sensation d'amertume que présentent parfois les organes et produits végétaux exemple : les olives présentent une forte amertume qui les rend impropres à la consommation directe [40]. Le principe majeur de cette amertume est un composé phénolique nommé « OLRUROPEINE » qui joue un rôle essentiel dans la qualité de fruits [43].

- La composition de l'arôme des fruits est complexe et les composés phénoliques y occupent généralement une place modeste [33]. Divers autres phénols volatils peuvent participer également à l'arôme de différents fruits murs : Clou de girofle, thymol de mandarine, ... Les composés phénoliques vacuolaires ou présents au niveau de la paroi jouent un rôle protecteur au cours de la sénescence, en relation avec leurs propriétés antioxydants et leurs capacités ont modulé la division et le grandissement cellulaire.

- La plupart des pigments qui sont responsables de la coloration des fleurs sont des anthocyanes, des aures et des chalcones, ces pigments attirent les animaux (insectes et oiseaux) pollinisateurs par représentation des signaux visuels.

- Les flavonoides pourraient jouer un rôle dans la chaîne d'oxydoréduction et modifier certaines réactions concernant la croissance, la respiration et la morphogénèse. Les flavonoides, dont l'adsorption en UV est importante protège la plante vis-à-vis du rayonnement nocif.

- Les flavonols jouent un rôle dans la formation du pollen, et l'acide salicylique peut induire la floraison de certaines plantes de jours longs [44,45].

TABLEAU.2. activités biologiques des composés polyphénoliques [44]

POLYPHENOLS	ACTIVITES	AUTEURS
Acides Phénols (cinnamiques et benzoïques)	Antibactériennes Antifongiques Antioxydantes	Didry et al. 1982 Ravn et al. 1984 Hayase et Kato 1984
Coumarines	Protectrices vasculaires et antioedémateuses	Mabry et Umbelen 1980
Flavonoïdes	Antitumorales Anticarcinogènes Anti-inflammatoires Hypotenseurs et diurétiques Antioxydantes	Stavric et Matula 1992 Das et al. 1994 Bidet et al. 1987 Bruneton 1993 Aruoma et al. 1995
Anthocyanes	Protectrices capillaro-veineux	Bruneton 1993
Proanthocyanidines	Effets stabilisants sur le collagène Antioxydantes Antitumorales Antifongiques Anti-inflammatoires	Masquelier et al. 1979 Bahorun et al. 1994, 1996 De Oliveira et al. 1972 Brownlee et al. 1992 Kreofsky et al. 1992
Tannins galliques et catéchiques	Antioxydantes	Okuda et al. 1983 Okamura et al. 1993

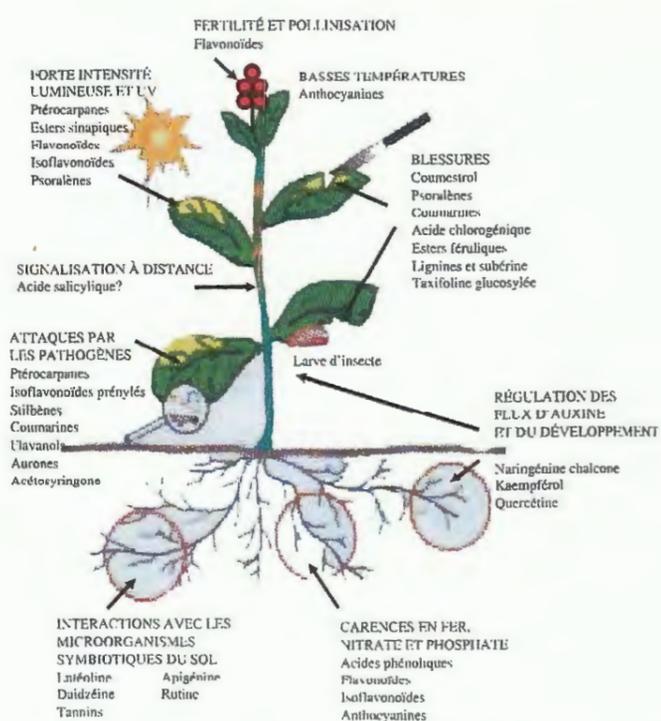


Fig.7. quelques exemples de l'implication des composés phénoliques dans le développement de la plante et son interaction avec l'environnement [54].

1-4-2 Utilisation et importance économique chez l'homme

L'utilisation des composés végétaux par l'homme se confond avec l'histoire même de l'humanité, à la fois à des fins alimentaires, de protection énergétiques et de lutte

Contre la maladie par constitution d'une médecine et d'une pharmacopée traditionnelle. Les implications économiques des résultats obtenus se rapportant aux composés phénoliques sont considérables. Elles concernent d'abord l'utilisation directe et les débouchés commerciaux de nombreux produits végétaux issus de l'agriculture, en particulier les fruits et légumes [46]. Elles se retrouvent dans de nombreux secteurs des industries agroalimentaires, soit sous des formes développées traditionnellement sous des formes renouvelées, par exemple la préparation de jus de fruits, purées [47]. L'extraction et l'utilisation d'additifs alimentaires naturels d'origine phénolique représentent également une activité industrielle aux fortes conséquences économiques, elle concerne essentiellement les colorants et antioxydants phénoliques extraits des végétaux et qui remplacent de plus en plus les additifs chimiques. Les composés phénoliques sont impliqués dans différents paramètres qui permettent de définir les qualités sensorielles et nutritionnelles des produits végétaux consommés par l'homme.

1-4-2-1- Digestion et assimilation et pharmacocinétique des polyphénols

Notre organisme est soumis à un stress oxydant qui développe diverses pathologies. Les effets protecteurs contre ces dernières sont bien établis. En effet la consommation d'aliments riches en polyphénols qui sont absorbés à travers la barrière intestinale et parviennent au niveau des tissus cibles pour y exercer leur capacité antioxydant.

A la différence des vitamines et des caroténoïdes qui s'accumulent dans les tissus adipeux, les polyphénols ne peuvent pas être stockés [48]. Ils subissent la plupart du temps une transformation chimique. L'efficacité dans l'absorption intestinale dépend largement de la nature des composés phénoliques, notamment le cas des flavonoïdes qui Après leur ingestion orale sont dégradés par la flore intestinale :

Les flavonoïdes qui traversent la muqueuse intestinale sont en majorité transportées jusqu'au foie via la veine porte sous forme liée à l'albumine, le foie à la capacité de modifier les flavonoïdes et leurs métabolites, il peut les méthyler, réduire le groupement

Carboxyle, changer le nombre de position des groupements hydroxyles, ou encore produire les dérivés conjugués avec un sulfate ou un acide glucuronique [49].

Seules les flavonoïdes sous forme de génine (ou aglycone) sont susceptibles d'être réabsorbées. L'hydrolyse des liaisons hétérosidiques (reliant la génine à la chaîne sucrée)

N'intervient que dans le colon où les organismes dégradent simultanément les flavonoïdes d'origine alimentaires [50].

Dans le plasma les polyphénols n'excèdent généralement pas 1 μM après consommation de 10 à 100mg d'un composé phénolique donné, cependant ces concentrations permettent d'augmenter significativement la capacité antioxydant du sérum plasmatique, cette augmentation peut atteindre 20% dans les deux heures qui suivent la consommation d'aliments riches en polyphénols [51]. Leur absorption est excessivement variables les taux urinaires représentent de 1 à 25% des doses ingérées en fonction de la nature des polyphénols

➤ **Action sur l'organisme**

Les polyphénols sont des réducteurs donc des antioxydants ; sont des composés, naturels ou ajoutés qui permettent de ralentir le phénomène d'oxydation et apparaissent ainsi comme essentiels pour maintenir la qualité des aliments riches en lipides et les protéger des oxydations. Ils ont également un effet bénéfique direct sur la santé humaine en évitant l'accumulation des formes activées de l'oxygène, hautement réactives et susceptibles d'accélérer le vieillissement cellulaire.

- Protection des molécules biologiques de la dégradation oxydative, en particulier l'ADN, et lipides cellulaires ou qu'on trouve dans les dérivés des plantes ou des animaux [52]. leur permettant de jouer un rôle prépondérant dans la lutte :

- Contre maladies cardiovasculaires : Effet protecteur sur les lipoprotéines sanguines.
- Anti-inflammatoire: Concerne en premier lieu l'acide salicylique sous sa forme acétylée (acide acétyle salicylique).
- Anti-agrégant plaquettaire : Par la diminution du taux de plaquettes activées [53].

CHAPITRE : II

Le stress oxydatif

1- Définition

Le stress oxydatif correspond à une perturbation du statut oxydatif intracellulaire, induit soit par production excessive de radicaux libres, soit par diminution de la capacité de défense antioxydante. [55] C'est un déséquilibre entre les oxydants et les antioxydants, en faveur des oxydants, potentiellement conduisant à des dégâts structuraux et fonctionnels [56]. Il est également caractérisé par une augmentation de l'activité des radicaux libres et d'une réduction des défenses antioxydants (fig.8) [57]

Selon SELYE, (1950) ; la définition du stress est comme une réponse de l'organisme aux facteurs des agressions physiologiques et psychologiques qui nécessitent la mise en jeu de processus d'adaptation [58].

2- Origines

2- 1- Origines exogènes

- L'alimentation: Intoxication aux métaux lourds (mercure, plombs,..), consommation excessive d'alcool, tabagisme, en général tous les xénobiotiques de nocivité notable.

- Irradiations ionisantes (ultra violet (UV), rayons X..).

2-2- Origines endogènes

- Inflammation

- Carence nutritionnelle en vitamines à pouvoir antioxydant et oligoéléments.

- Phénomènes d'ischémies, reperfusions (thromboses, exercice).

- Anomalies génétiques (mauvais codage pour une protéine).

Le stress oxydatif localisé au niveau tissulaire, dans un type cellulaire précis objet de la défaillance et pas au niveau de l'organisme entier [59].

3- Les radicaux libres

Les Radicaux libres ont une forme particulière d'espèce chimique (atomes ou molécules) qui possèdent un électron célibataire (ou non apparié) [60], qui lui confère une réactivité variable selon la nature du radical vis à vis d'autres molécules

[61]. Le champ magnétique créé par sa rotation, ou spin n'est donc pas compensé par la rotation en sens inverse d'un électron apparié [59], ce déséquilibre est transitoire, et est comblé soit par l'acceptation d'un autre électron, soit par transfert de cet électron libre sur une autre molécule, rendant ces molécules beaucoup plus réactives que l'atome dont elle est issue [62].

En biologie, les radicaux libres sont formés le plus souvent par l'oxygène (ROS : radical oxygen species) regroupent l'ensemble des dérivés radicalaires de l'oxygène mais également les composés non radicalaires (hydroperoxydes ROOH et H₂O₂) [61].

3-1- Les différents radicaux libres

Il y'a 3,5 milliards d'années, la transformation de l'énergie solaire en énergie chimique stockable grâce à un flux d'électrons a favorisé l'apparition de la vie sur terre. Dans la cellule eucaryote aérobie, cette transformation d'énergie s'appelle la phosphorylation oxydative. L'oxydation d'une molécule correspond à la perte d'un électron et nécessite une deuxième molécule capable d'accepter cet électron (la réduction). La cellule produit des ROS. En effet, le métabolisme cellulaire entraîne l'oxydation d'un grand nombre de molécules. Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer un ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appellerons radicaux primaires. Les autres radicaux dits radicaux secondaires, se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule, ces radicaux primaires viennent de l'oxygène par des réductions à un électron tels l'anion superoxyde $^{\circ}\text{O}_2$ et le radical hydroxyle $^{\circ}\text{OH}$, ou l'azote tel le monoxyde d'azote NO° [63]. Les principales formes de radicaux libres oxygénés générés en permanence dans les mitochondries, les peroxysomes, le réticulum endoplasmique, la membrane plasmique et le cytoplasme sont:

a- L'anion peroxyde $\text{O}_2^{\circ-}$: Non réactif, produit dans la mitochondrie par des fuites électroniques au niveau des complexes I et III, ou par le coenzyme Q semi réduit produit au niveau du complexe II de la chaîne respiratoire, ou par des

réactions enzymatiques (NADPH oxydase membranaire, NADPH, cytochrome P₄₅₀ réductase, xanthine oxydase, aldéhyde oxydase).

b- Le peroxydase d'hydrogène H₂O₂: Non réactif, provenant de la dismutation de l'anion superoxyde par les superoxydes dismutases :

$2O_2^- + 2H^+ \longrightarrow H_2O_2 + O_2$, l'anion superoxyde étant non-diffusible alors que le peroxyde d'hydrogène l'est et a une durée de vie longue.

c- Le radical hydroxyle OH: Le plus réactif des radicaux, car sans moyen de défense directe, produit essentiellement par la réaction d'Haber –Weiss (réaction 1) et de fenton (réaction 2 et 3) catalysées par les métaux de transition tel que le fer:



d- Les radicaux peroxydes (ROO⁻): C'est des radicaux formés par l'addition d'O₂, moléculaire sur des radicaux libres de carbone, très réactifs et issus respectivement de l'hydroxylation des lipides (peroxydation et du clivage du peroxyde d'hydrogène H₂O₂) par la réaction de fenton.

e- Les radicaux alcoyles (ROO^o): Sont formés lors de dégradation des peroxydes organiques.

f- L'hydro peroxyde organique (ROOH): Ce sont les formes protonées des radicaux peroxydes, ces derniers sont très réactifs et se redécomposent en R-peroxydes ou en R-alcoyles

3-1-1- Sources endogènes des dérivés réactifs de l'oxygène

Dans l'organisme il y'a de nombreuses sources de ROS dont l'importance varie selon les tissus. La réaction chimique de fenton produit des ROS dans la cellule, les autres sources cellulaires de ROS sont enzymatiques et non enzymatiques [61].

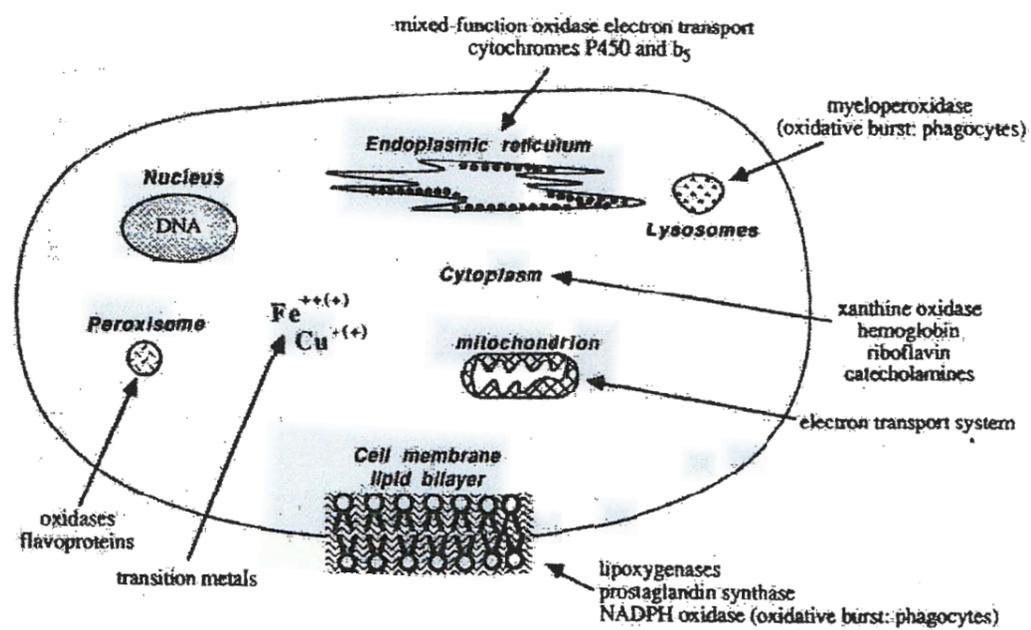


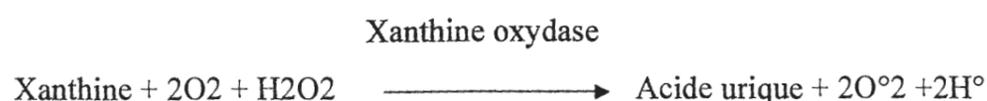
Fig. 8. Sources cellulaires de radicaux libres [61].

a- l'auto-oxydation de petites molécules: Une importante source de ROS cellulaires est liée à l'auto-oxydation des molécules comme la dopamine l'adrénaline, les flavines et les hydroquinones, le produit direct de ces auto-oxydations est souvent l'anion superoxyde.

b- peroxysome: Le peroxysome est une source importante dans la production cellulaire de H_2O_2 car cet organelle contient de nombreuses enzymes générant du H_2O_2 . Toute fois ce dernier est utilisé comme substrat. Il semble cependant que seule une faible quantité de H_2O_2 produit au niveau du peroxysome pourrait échapper à la catalase.

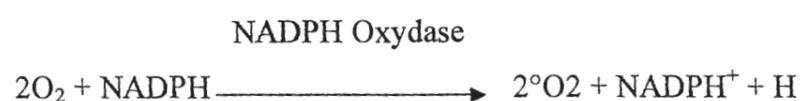
c- Réticulum endoplasmique: Le réticulum endoplasmique lisse contient des enzymes qui catalysent des réactions pour détoxifier des drogues liposolubles et d'autres produits métaboliques toxiques la plus connue de ces enzymes est le cytochrome P_{450} qui oxyde les acides gras insaturés et les Xénobiotiques et produit ainsi des ROS, il semble que cette production radicalaire régule les fonctions de réticulum comme par exemple la sécrétion de protéines.

d- Xanthine oxydase: La xanthine oxydase est une enzyme soluble qui génère des ROS en réduisant l'hypoxanthine en xanthine et la xanthine en acide urique selon la réaction ci-après, cette enzyme est présente dans le sang, les cellules endothéliales des capillaires et de façon très importante dans le foie, et les intestins. La localisation cellulaire de la xanthine oxydase est principalement cytoplasmique la production de ROS par la xanthine oxydase est faible en condition basal, mais jouerait un rôle important lors de l'ischémie [65].



e- Lipoxgénase et acide arachidonique: L'acide arachidonique provenant de l'hydrolyse des phospholipides par la phospholipase A2, et est le substrat de la lipoxgénase pour la synthèse des leucotriènes, cette synthèse met en jeu une série d'oxydations qui implique la production de ROS qui pourrait jouer un rôle important dans le cadre de l'initiation de la réponse inflammatoire pulmonaire.

f- NADPH oxydase: C'est une oxydase liée à la membrane plasmique, elle a été initialement décrite dans les cellules phagocytaires ou' elle joue un rôle fondamentale dans la réponse immunitaire, dans la lutte contre les micro-organismes, il semble qu'il existe aussi une NADPHoxydase dans des cellules non phagocytaires dont le rôle serait de réguler la croissance cellulaire. La NADPH oxydase phagocytaire représente une source majeure de production de ROS dans les poumons dans le cadre de la réponse immunitaire [66] (fig.).



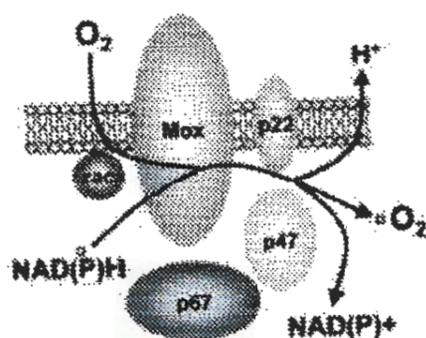


Fig.9. Représentation schématique de la structure de la NAPH oxydase [66].

g- Mitochondrie

La mitochondrie est un organe intracellulaire considérée comme une des principales sources de ROS dans la cellule par le fonctionnement de la chaîne respiratoire mitochondriale. Elle produirait en effet 90 % des ROS cellulaires [67]. Les quaternaires complexes qui constituent la chaîne respiratoire mitochondriale sont la résultante de l'association d'une cinquantaine de polypeptides. Chaque complexe est indépendant et contient des groupements prosthétiques engagés dans une série de réactions d'oxydoréduction. En terme de flux d'électrons les complexes sont disposés en fonction de leur potentiel d'oxydoréduction.

▪ Complexe I : NADPH-Ubiquinone oxydoréductase

Le transfert initial d'électrons nécessite le cofacteur équivalent réduit NADPH, ce dernier est oxydé sur la face matricielle de membrane par le NADH-deshydrogénase. Le complexe I catalyse le transfert de deux électrons de NADH à l'ubiquinone, couplé à l'expulsion de protons de la matrice à l'espace intermembranaire (fig.10).

▪ Complexe II : Succinate-Ubiquinone Oxydo-réductase

Le complexe II catalyse la réoxydation du succinate en fumarate, qui permet le transfert de 2 électrons au complexe III par l'intermédiaire de l'oxydation du

FADH₂ et d'un pool d'Ubiquinone. Ce transfert d'électrons n'est pas couplé à l'efflux de protons.

▪ **Complexe III: Ubiquinol-cytochrome c réductase (complexe b-c1)**

Les Ubiquinones sont des transporteurs libres d'électron du complexe I et II vers le complexe III. Ce dernier permet un transfert des électrons à un deuxième transporteur mobile situé dans l'espace inter-membranaire, le cytochrome C, qui le relie au dernier complexe de la chaîne respiratoire.

▪ **Complexe IV: Cytochrome C oxydase**

Ce complexe catalyse la dernière réaction d'oxydoréduction qui réduit l'O₂ en H₂O par quatre électrons. Le transfert des électrons est irréversible contrairement à celui ayant lieu au complexe I et III. Ce transfert d'électrons est associé à un efflux de protons vers l'espace inter membranaire [68].

h- Effet des ROS sur la mitochondrie

Les ROS peuvent avoir une action directe sur l'activité mitochondriale. Ainsi, l'O₂^{•-} peut réagir avec l'oxyde d'azote (NO), et produire le peroxy-nitrite (ONOO^{•-}) qui peut inhiber la chaîne respiratoire, et endommager différents composants mitochondriaux (complexe de la chaîne respiratoire, membrane et ADN). Une altération de l'ADN Mt pourrait altérer le fonctionnement de la chaîne respiratoire et déclencher un cercle vicieux augmentant la production de ROS et les dégâts oxydatifs mitochondriaux [69].

3-1-2- Sources exogène des radicaux libres

L'organisme humain est soumis à l'agression de différents agents capables de donner naissance à des radicaux libres :

- Les rayonnements UV induisent la synthèse de radicaux libres et de molécules génératrices de radicaux libres par l'intermédiaire d'agents photosensibilisants.

- Les radiations ionisantes provoquent également la génération de radicaux libres dérivés de l'oxygène.

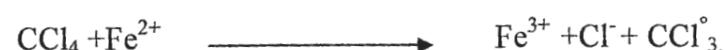
- L'ingestion d'alcool est suivie de la formation de radicaux libres selon divers mécanismes : la xanthine oxydase et l'aldéhyde oxydase peuvent oxyder le principale métabolite de l'éthanol, l'acétaldéhyde avec production d'O₂^{•-}. L'éthanol stimule également la production d'anion superoxyde par induction de la synthèse des NADPH oxydase, NADPH cytochrome réductase, et du cytochrome P450.

- Des toxines tels que l'oxyde d'azote (NO) et le dioxyde d'azote (NO₂), présents dans notre environnement, 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.

NO et NO₂ peuvent aussi réagir avec le peroxyde d'hydrogène produit par le macrophage au niveau des alvéoles pulmonaires et donner naissance à des radicaux OH[•].

- La fumée de cigarette joue également un rôle majeur dans la formation des espèces radicalaires : elle contient NO et NO₂, renferme de fortes concentrations de composés insaturés et stimule, par son action irritante, les macrophages des alvéoles pulmonaires.

- D'autres toxiques agissent par transfert d'électrons. Il en est ainsi du tétrachlorure de carbone (CCl₄) dont la toxicité s'exerce par l'intermédiaire des radicaux CCl₃[•]. La réduction de CCl₄ en CCl₃[•] s'effectue, soit sous l'action du cytochrome P₄₅₀ hépatique CCl₄+E⁻ → CCl₃[•], soit en présence de fer ferreux



Les travaux de Malaya et al [70], ont montré que le CCl₃[•] était capable d'induire l'auto oxydation des acides gras polyinsaturés, et donc de provoquer une augmentation importante des produits de peroxydation lipidique tel que le MDA (Malondialdéhyde).

Enfin, 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. Ils agissent selon un mécanisme de transfert d'électrons. Ainsi, selon les travaux de Sinha et al [70]. Réalisés sur des cultures de cellules tumorales mammaires, l'adriamycine est bioactivé en radical semi quinone de l'adriamycine par réduction enzymatique (cytochrome P₄₅₀). Ce radical peut réagir avec l'oxygène pour former l'anion superoxyde.

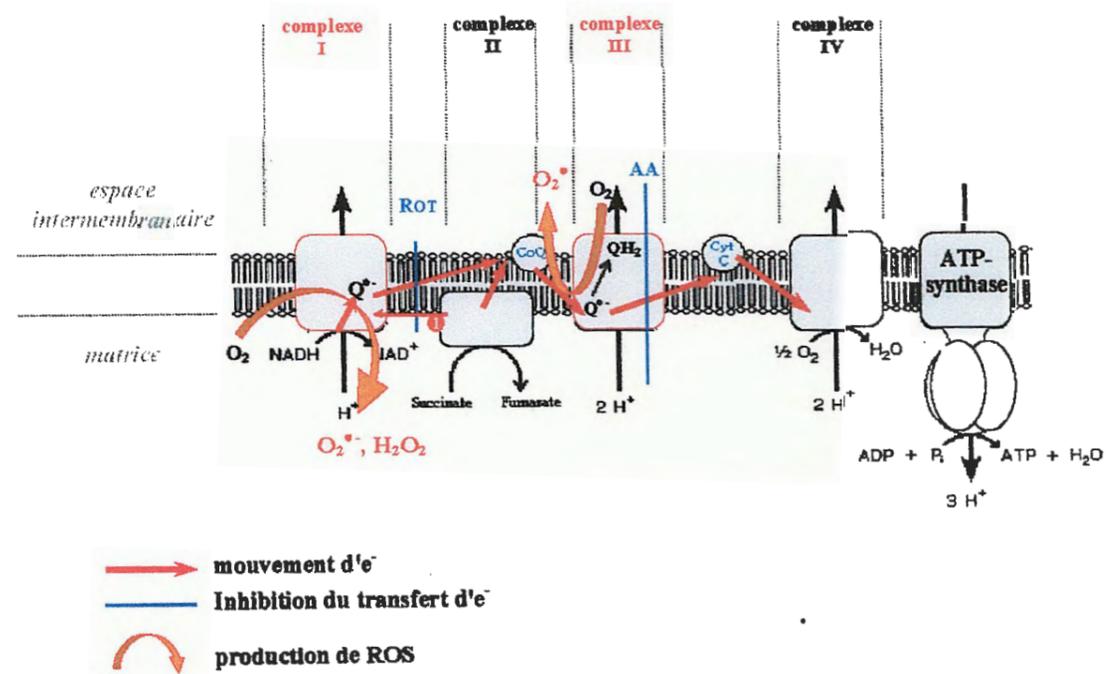


Fig. 10. Production des ROS dans la chaîne respiratoire mitochondriale [68].

4-Mécanisme peroxydant

Une protection continue superoxyde se produit lorsque la chaîne respiratoire mitochondriale fonctionne. Si cette production de radicaux superoxydes reste faible elle ne concerne que quelques pourcents de l'O₂ utilisé par la respiration, elle s'amplifie lorsque la respiration devient plus intense (effort physique) ou lors des désordres mitochondriaux génétiques, inflammatoires ou nutritionnelles. L'inflammation est par ailleurs une source importante de radicaux oxygénés produit directement par les cellules phagocytaires activées soumises à un phénomène appelé

explosion oxydative et qui consiste en l'activation du complexe de la NADPH oxydase capable d'utiliser l'O₂ pour produire de grande quantité d'anions superoxyde dans la membrane cellulaire. D'autres cellules comme les lymphocytes B possédant sur leur membrane des systèmes NADPH oxydase similaires produisant des radicaux en quantité plus faible comme médiateurs intercellulaires.

De plus les cellules inflammatoires et immunes peuvent produire des cytokines comme le TNF α qui est capable de faire produire les radicaux par la mitochondrie des cellules cible [71].

5- Mécanisme antioxydant

La réponse des cellules au stress oxydatif, est contribué par une : première ligne correspondant au système de défenses anti-oxydants avec les systèmes non enzymatiques et les systèmes enzymatiques et une deuxième ligne de réponse formé par les systèmes de dégradation et de réparation de l'ADN, des lipides et des protéines. Enfin, la dernière ligne de réponse est un processus conduit à la mort cellulaire. Face aux espèces réactives de l'O₂, les cellules s'adaptent et se défendent [72].

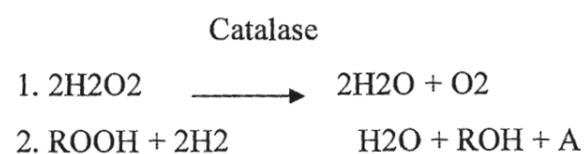
Les systèmes de défenses antioxydants agissent à différents niveaux de la cascade d'activation de l'O₂ et sont de plusieurs natures. Les cellules contiennent un spectre d'antioxydants chimique et enzymatique qui travaillent de concert pour minimiser les réactions oxydatives dans la cellule [73].

5-1- Les antioxydants enzymatiques :

5-1-1- Les superoxydes dismutases (LA SOD): est une enzyme antioxydant primaire essentielle qui réagit en défense de l'organisme contre les produits toxiques de la mitochondrie (figure 3). IL existe trois iso formes des SOD chez les mammifères : une forme cytosolique et nucléaire associée aux ions cuivre et Zinc (SOD cytoplasmique), une forme mitochondriale associée au manganèse (SOD_{mn}) cette forme permet la dismutation quasi instantane et une forme extracellulaire (SOD_{ec}). La SOD capable d'éliminer l'anion superoxyde par une réaction de

dismutation son rôle est de transformer dans les mitochondries, les radicaux superoxydes en peroxydes d'hydrogène, ce dernier, était beaucoup moins réactifs [74]. Il existe différents cofacteurs sur son site actif, qui sont classés par iso enzymes, dont la structure d'ensemble est très bien conservée lors de l'évolution. Les iso enzymes forment un point hydrophobe au centre de la protéine, dans lequel se glisse l'anion superoxyde. Le mécanisme réactionnel est catalysé par un métal situé au centre de l'enzyme dont la nature permet de distinguer les différentes SODs : La SODa cuivre -Zinc (CuZn-SOD), possèdent SOD à manganèse (mn SOD) et au fer (Fe SOD) dont le rôle biologie est la protection de la mitochondrie, et la SOD au Nickel (Ni-SOD) [75].

5-1-2- LES catalases : Localisées principalement dans le peroxysome, et présentent dans un grand nombre de tissus mais sont particulièrement abondantes dans le foie et les globules rouges, parmi les enzymes connus c'est un des plus efficace. Elles catabolisent les peroxydes d'hydrogène en molécules d'eau pour prévenir la formation de radicaux hydroxyles [76]. La réaction se fait en 2 étapes



5-1-3- Les peroxydases : La GPx fait partie d'un système complet qui joue un rôle central dans le mécanisme d'élimination du H₂O₂, ce système prend aussi en charge les lipides peroxydés. La GPx est l'enzyme chef du système et nécessite la présence de glutathion réduit (GSSG) ainsi produit est à nouveau réduit par la glutathion réductase (GR) qui utilise le NADPH comme donneur des électrons

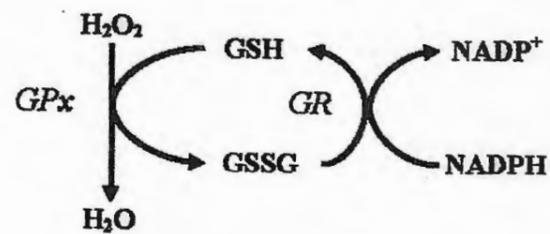


Fig.11. élimination du H₂O₂ par les réactions enzymatiques combinées de la GPx et de la GR [77]

Le rapport GSH/GSSG est un index de l'état d'oxydation dans la cellule (schéma réactionnel). Il existe plusieurs formes de GPx

a- la GPx à selenium Son rôle est important dans la plupart des tissus où elle réalise la quasi-totalité de l'élimination de H₂O₂ comme dans les globules rouges ou les plaquettes.

b- La GPx phospholipide – hydroperoxyde (HPGPx) se trouve dans le cytosol et peut directement réduire les phospholipides hydroperoxydes, et les hydroperoxydes de cholestérol

c- Gluthation peroxydase cytosolique et mitochondriale : présente dans la plupart des tissus

d. Gluthation peroxydase plasmatique

e- Gluthation peroxydase membranaire HPGPx [77].

5-1-4- Les Peroxyrédoxines : (PRx) ou thioredoxines : Ont été découvertes récemment et font l'objet de nombreux travaux concernant leurs fonctions. Elles sont au nombre de six chez les mammifères et sont localisées dans le cytosol des mitochondries, les peroxysomes, associées aux noyaux et aux membranes. Ces protéines exercent leur rôle antioxydant dans la cellule à travers une activité peroxydase, ou H₂O₂, le peroxyde d'azote et de nombreux hydroperoxydes sont les

substrats ; malgré leur plus faible efficacité catalytique par rapport à la GPX et la cat, ces protéines pourraient jouer un rôle majeur dans l'élimination des hyperoxydes du fait de leur quantité importante (0,1 à 0,8 % de protéines solubles cellulaires) et leur large distribution dans la cellule. de plus, les PRx joueraient un rôle significatif lors du développement du poumon et en réponse à un stress oxydatif pulmonaire [78]. Des données biochimiques montrent que les thioredoxines réduisent des protéines clés pour le développement division cellulaire et le réponse au stress oxydatif grâce à ces propriétés de capture des radicaux libres [79].

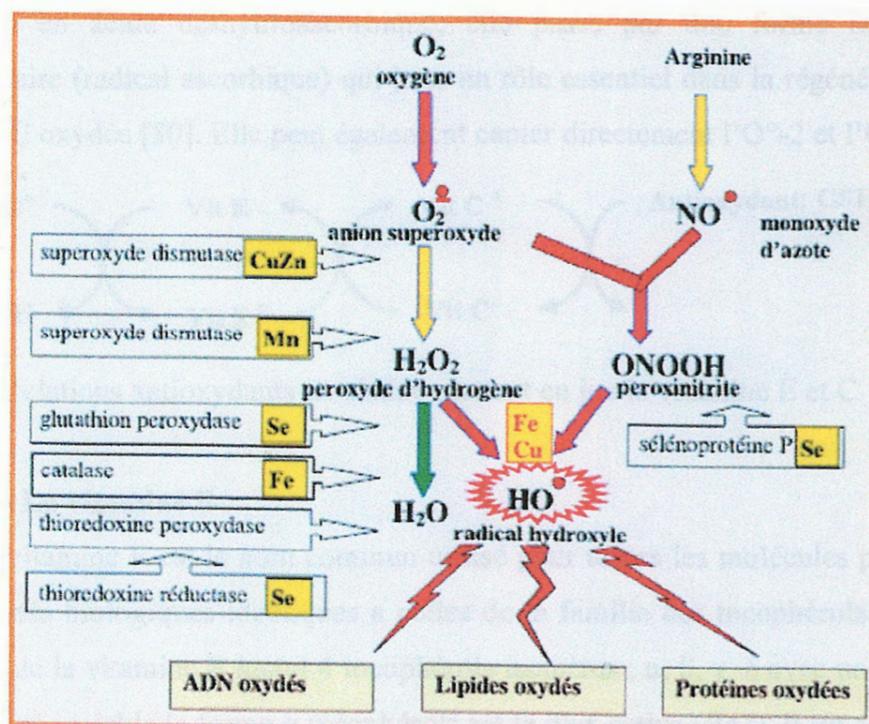


Fig.12. Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et leurs cofacteurs métalliques [78].

5-2-Les antioxydants non enzymatiques

5-2-1-Les antioxydants naturels : les antioxydants sont naturellement produits dans presque toutes les plantes, tous les microorganismes, les champignons et même dans les tissus des animaux. Les antioxydants non enzymatiques réagissent directement avec les agents selon leurs concentrations, les piègeurs de radicaux libres ont des effets protecteurs ou pathologiques. ces molécules doivent être

capable de réaliser cette fonction a très faibles concentrations .elles constituent la première ligne de défense. Les molécules les plus importantes sont :

a- La vitamine C

La vitamine C ou acide ascorbique, est un nutriment essentiel ce qui signifie qu'il n'est pas synthétisé par l'organisme. Elle empêche l'oxydation des LDL produites par divers systèmes générateurs d'espèces réactives de l'O₂ (ROS) (neutrophiles et cellules endothéliales activées, et les myéloperoxydases).lors de son oxydation en acide déshydroascorbique, elle passe par une forme radicalaire intermédiaire (radical ascorbique) qui joue un rôle essentiel dans la régénération de vitamine E oxydée [80]. Elle peut également capter directement l'O^o-2 et l'OH^o.

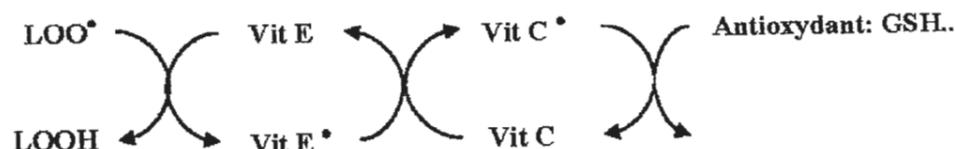


Fig.13. Relations antioxydants en chaîne mettant en jeu la vitamine E et C [80].

b- La vitamine E

La vitamine E est le nom commun utilisé pour toutes les molécules possédant des activités biologiques identiques a celles de la famille des tocophérols.la forme naturelle de la vitamine E inclut 4 tocophérols isomères ; α , β , γ , δ avec une activité antioxydant variable.la forme α tocophérols est la plus active (fig7), il est admis que les radicaux tocophéryles sont régénérés par l'acide ascorbique et que sans cette synergie, les tocophérols sont inactifs [81].

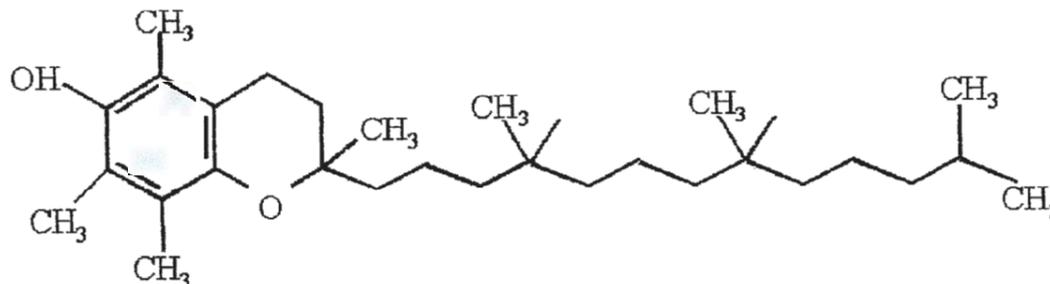


Fig.14. Structure de l' α -tocophérol [81].

Lors de l'initiation de la peroxydation lipidique à une attaque radicalaire, l' α -tocophérol, connu comme inhibiteur de la propagation lipidique, cède son hydrogène situé dans le noyau phénolique, réduisant ainsi le radical RO₂, et constitué par ce biais le seul antioxydant liposoluble assurant cette protection [82]. La vitamine E est apportée par l'alimentation sous 8 formes stériques différentes et est trouvée dans l'organisme essentiellement sous la forme α -tocophérol. C'est la plus efficace des petites molécules, elle s'oxyde en piégeant O₂, O₂^{•-2}, OH ou un radical peroxyde lipidique produit dans la membrane plasmique ou alors donner un H[•] qui va neutraliser les radicaux libres.

c- Les caroténoïdes

Ce sont des composés pigmentés présents dans les fruits et légumes. L'un des caroténoïdes, le β -carotène, est un précurseur de la vitamine A, ayant un effet antioxydant. Les caroténoïdes comme la vitamine E, sont liposolubles et donc s'accumulent dans les tissus. Le β -carotène (dans les carottes), le lycopène (dans les tomates), et la lutéine (épinards) ce sont les caroténoïdes les plus recherchés.

d- Les polyphénols

Ils peuvent agir comme des antioxydants dans l'organisme et contribuer à prévenir ces diverses pathologies. Les effets protecteurs de la consommation de polyphénols contre le stress oxydant se traduisent également par une diminution des teneurs des produits d'oxydation des lipides et acides nucléiques. Les flavonoïdes sont des piègeurs efficaces des radicaux libres les plus pro oxydants, de plus ils ont une activité chélatrice des métaux tels que le cuivre et le fer.

La seconde famille des polyphénols, représentée par les anthocyanes, se trouve en quantité importante dans certains fruits, ils sont connus pour leur action protectrice contre les maladies cardiovasculaires [83].

e- Le zinc

Cet oligoélément est un des cofacteurs essentiels de la SOD. La prise de zinc conduit à long terme à l'induction de protéines anti oxydantes comme les

métallothionéines. Le zinc protège également les groupements thiols de la protéine, il peut inhiber partiellement les réactions de formation d'espèces oxygénées par le fer et le cuivre [84].

f-Le sélénium

C'est un oligoélément largement distribué à des concentrations relativement faibles dans la chaîne alimentaire humaine. C'est un constituant de la glutathion peroxydase, enzyme qui joue un rôle intracellulaire antioxydant, voisin de celui de la vitamine E, cet effet antioxydant est capital dans la détoxification des radicaux libres produit par le métabolisme cellulaires cette détoxification serait responsable des effets anticancéreux et anti-âge attribués au sélénium [85].

g-Les métallothionéines

Ce sont de petites protéines de faibles poids moléculaires riches en cystéine, capables de se lier aux cations divalents métalliques tels que le cuivre, l'argent, le zinc, grâce à leurs nombreux ponts disulfures portés par l'acide aminé cystéine. Ils sont impliqués dans l'homéostasie des métaux essentiels, ils sont donc chargés d'assurer la régulation des métaux intracellulaires [86]. Des travaux récents tendent à montrer le rôle des MT dans la protection contre les radicaux oxygénés. Plusieurs études in vitro ont montré que les MT sont capables de fixer les ERO (superoxyde, peroxyde d'H₂, radical hydroxyle ou oxyde nitrique) de façon plus efficace que les glutathions, la SOD ou la catalase [87]. La sur-expression de MT dans les lignées cellulaires augmente leur résistance au stress oxydatif alors que les cellules déficientes en MT y sont sensibles, le niveau cellulaire des MT augmente en présence d'oxydants.

A ces molécules nous pouvons citer de nombreux autres antioxydants non enzymatiques tels que ; urate, glucose, bilirubine, taurine, albumine.

6- La balance pro oxydants/antioxydants

A de faibles concentrations, les espèces réactives de l'oxygène, ou de l'azote, sont impliquées dans la modulation de la fonction cellulaire (différenciation, prolifération) et jouent un rôle dans les réactions inflammatoires et dans la signalisation en tant que seconds messagers. A des concentrations plus élevées, les radicaux peuvent être néfastes.

Afin de s'en protéger, la cellule a mis en place des systèmes de défense. S'ils sont dépassés ou inefficaces, un déséquilibre se produit en faveur des radicaux libres, il y a alors stress oxydatif, pathologique pour les tissus et cellules (fig. 15).

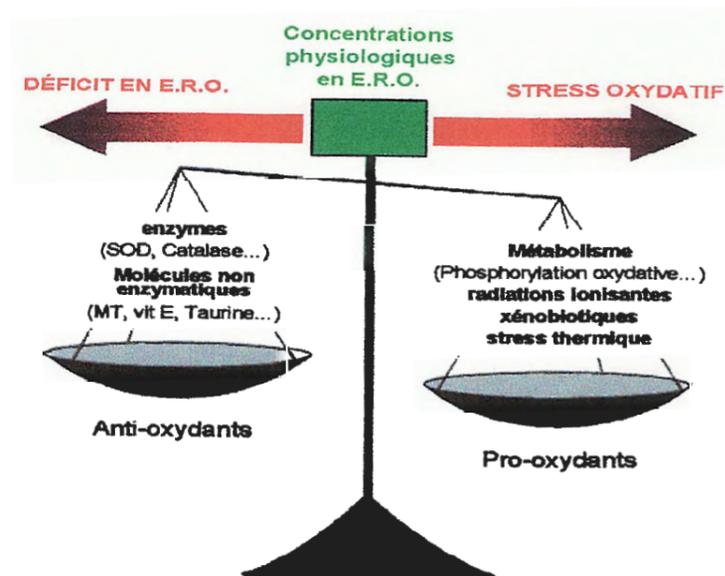


Fig. 15. La balance d'équilibre prooxydants /antioxydants [36].

L'équilibre entre oxydants et antioxydants est un processus continu de la vie embryonnaire à la sénescence, les principales enzymes antioxydants vont être mobilisées afin de faire face à ce stress oxydant [36].

7. Pathologies du stress oxydant :

Le stress oxydant est impliqué dans de très nombreuses maladies TAB 3. Il se localisera à un tissu et à des types cellulaires particuliers, mettra en jeu des espèces radicalaires différentes et sera associé à d'autres facteurs variables et à des anomalies génétiques spécifiques à chaque individu. La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydants et augmente la production mitochondriale de radicaux libres [88].

Il est donc la principale cause initiale de plusieurs maladies :

a- Le Cancer : Le développement du cancer se divise en trois grandes étapes : initiation, promotion, progression. Les relations entre stress et cancer s'avèrent très étroites, les radicaux libres interviennent dans l'activation des pro-carcinogènes en carcinogènes, et jouent un rôle important dans l'altération du matériel génétique des cellules (mutation de l'ADN, amplifiant les signaux de prolifération et inhibant des gènes suppresseurs de tumeur comme P53). Les RL peuvent réagir comme messagers secondaires [89], en modifiant dans la cellule la régulation redox du glutathion qui est un important antioxydant. Il en résulte une activation de la thioredoxine (TRx) qui active le facteur de transcription NF-Kb normalement inactif dans le cytoplasme. Une fois activé ce dernier migre dans le noyau de la cellule où il peut transactiver des gènes cibles (fig16). Il participe de la sorte à la synthèse de nombreux médiateurs comme des protéines d'adhésion impliquées dans le processus du développement du cancer.

b- Stress et fumée de cigarette : Le stress oxydant s'accroît chez les fumeurs suite à l'augmentation de la présence de cellules inflammatoires (polymorphonucléaires PMNS, macrophages) dans la circulation sanguine et dans la microcirculation pulmonaire (fig17). La fumée de cigarette active cette cellule séjournant dans l'espace alvéolaire qui, sous l'action de ce stimulus indésirable, libère dans le milieu extracellulaire de grandes quantités d'anion superoxyde et de peroxyde d'hydrogène, l'anion superoxyde peut interagir avec le NO° pour générer des peroxynitrite (ONOOH) de toxicité élevée. Les PMNS activées libèrent également de la myéloperoxydase qui augmente le pouvoir destructeur du peroxyde d'hydrogène en le transformant en espèce chlorée toxique [90].

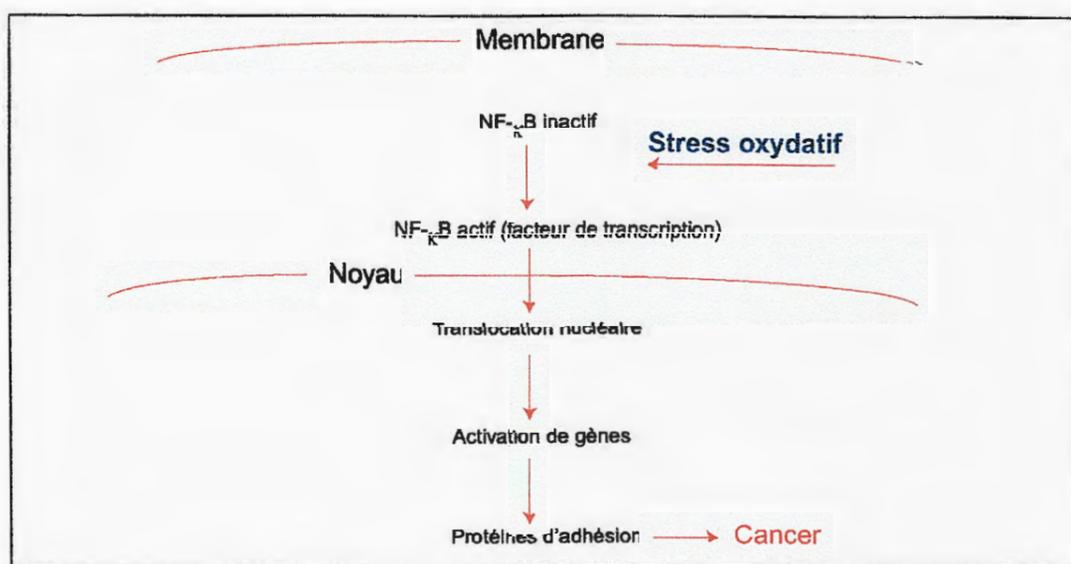


Fig.16. Induction de la cancérogenèse et l'activation du facteur transcriptionnel NF-Kb [89].

..

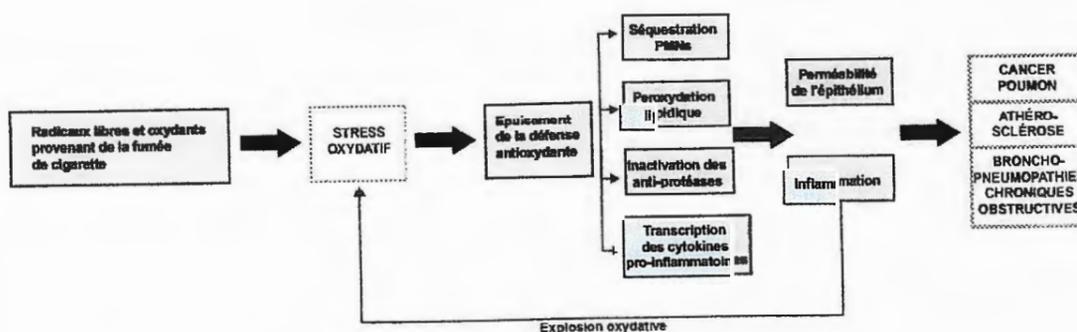


Fig.17. Mécanismes biochimiques de certaines pathologies liées a la fumée de cigarette [90].

C- Le diabète : les cellules bêta sont particulièrement vulnérables au stress oxydatif en raison d'une part de leur paramètre en Cu/Zn superoxyde dismutase, catalase et glutathion peroxydase, d'autres part de leur faible contenu en glutathion réduit [91]. Les RL inhibent la sécrétion d'insuline, ils interfèrent avec différentes étapes du couplage stimulus-sécrétion. Dans l'îlot ils provoquent une

hyperpolarisation membranaire par activation de canaux potassiques dépendants de l'ATP [92, 93] par un mécanisme qui semble impliquer une diminution de la concentration en ATP sans modification des taux de calcium intracellulaires [94]. Ils inhibent l'activation du métabolisme mitochondrial par le glucose, de même le 4-HNE diminue la sécrétion d'insuline en réponse au glucose de manière dose-dépendante [95].

La corrélation entre stress oxydatif et hyperglycémie est bien connue dans le domaine des complications secondaires du diabète [96]. Il a été proposé que le stress oxydatif puisse présenter un mécanisme par lequel l'hyperglycémie chronique aggrave le dysfonctionnement de la cellule bêta dans le diabète de type 2 (hypothèse de glucotoxicité) [97].

d- Maladie cardiovasculaire : L'athérosclérose est une maladie systémique des artères larges et moyennes qui se caractérise par le durcissement et la perte de l'élasticité de la paroi artérielle ainsi qu'un rétrécissement de la lumière artérielle. L'oxydation des lipoprotéines des basses densités (LDL) joue un rôle important dans le développement de cette maladie. Après migration dans l'espace sous endothélial, les LDL oxydés peuvent s'accumuler au sein des macrophages. Ceux-ci deviennent des cellules spumeuses (foam cells) qui sont à l'origine de la formation des couches graisseuses impliquées dans cette pathologie. Il existe une relation étroite entre un taux sanguin élevé d'anticorps dirigés contre les lipoprotéines oxydées et la progression de l'athérosclérose carotidienne.

Le stress oxydant joue également un rôle dans l'apparition des autres facteurs athérogènes : augmentation de la résistance à l'insuline, activation des cellules endothéliales libérant des médiateurs pro oxydants (prostacycline, cytokines, facteur de fibrinolyse, super oxyde). Un facteur de risque découvert récemment, l'homocystéine, voit son action liée en partie à la génération de radicaux libres au cours de son métabolisme.

La responsabilité la plus nette des radicaux libres est mise en évidence dans les maladies directement induites par des anomalies d'un gène antioxydant. Plusieurs mutations de la CuZn superoxyde dismutase ont été observées dans les formes familiales d'une maladie neurologique de la sclérose latérale amyotrophique

(SLA). La dégénérescence musculaire liée à l'âge est fortement associée avec la forme valine/alanine du polymorphisme du gène du superoxyde dismutase [98].

7-1- Effets sur les macromolécules biologiques

Dans le cas où les systèmes de défenses ont été dépassés, les radicaux libres s'attaquent aux macromolécules biologiques dans l'environnement direct de leur lieu de production. Les radicaux libres étant très réactifs et ayant donc des durées de vie courtes. Toutes les molécules biologiques possédant des doubles liaisons sont susceptibles d'être touchées et des produits de dégradation sont engendrés (fig. 18).

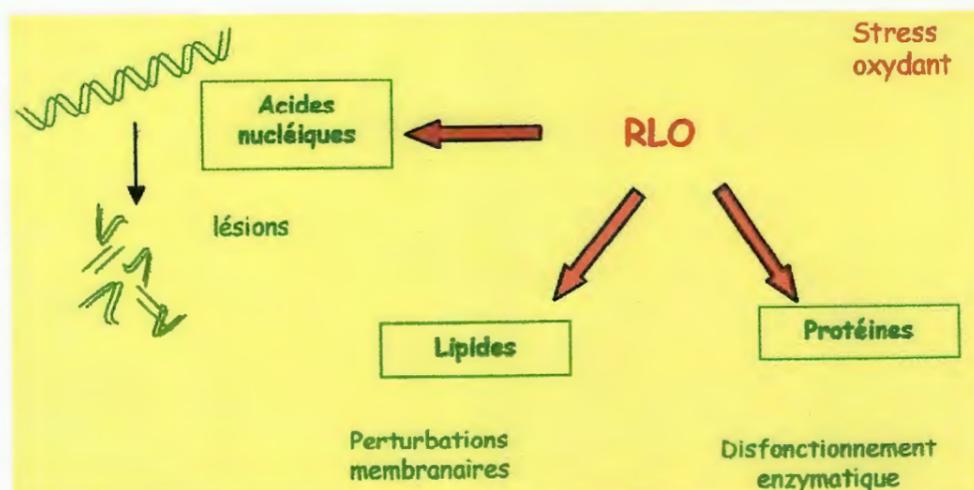


Fig.18. Effets du stress oxydant sur les molécules biologiques [98].

7-1-1- Dommages lipidiques (peroxydation lipidique)

Les lipides ont de nombreux rôles : molécules énergétiques, molécules signal et font partie intégrante des membranes cellulaires. Les phospholipides sont les plus abondants, la partie hydrophobe des phospholipides est liée à la présence d'acides gras qui peuvent être saturés, mono insaturés ou polyinsaturés. Les acides gras polyinsaturés sont plus susceptibles aux attaques radicalaires et génèrent des peroxydes lipidiques qui sont eux-mêmes très réactifs provoquant une désorganisation membranaire (perturbation des propriétés physicochimiques des

membranes, des communications intercellulaires et du fonctionnement des enzymes membranaire) (fig12). Cette attaque radicalaire se déroule en 3 phases : initiation, propagation et terminaison fig. [99]. La peroxydation lipidique fournit aussi une grande variété de produits, les hydroperoxydes lipidiques sont dégradés principalement en malonedialdéhyde (MDA) [100] et 4-hydroxynonanal (4-HNE) [101] qui réagissent de manière covalente avec les protéines et des désactivent. Ce sont des produits très toxiques (mutagènes) puisqu'ils peuvent également modifier l'ADN et sont impliqués dans les mécanismes apoptotiques [102]. Ces deux derniers produits réagissent avec l'ADN et protéines. Une fois fixé à la molécule d'ADN, le MDA semble être le produit le plus mutagène, alors que le 4-HNE est le plus toxique pour la cellule.

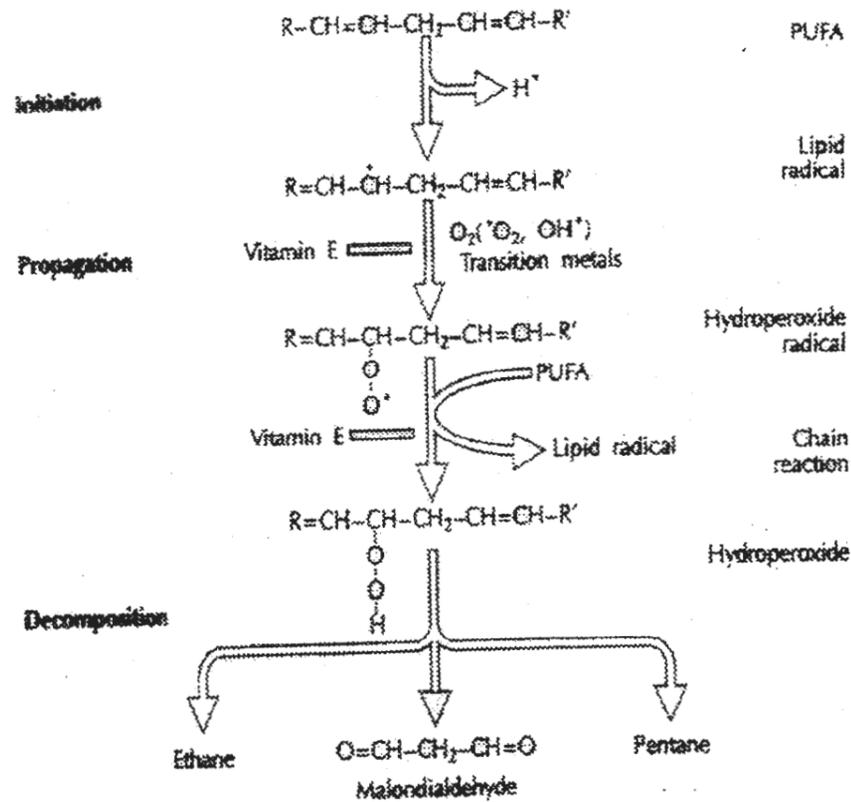


Fig. 19. Peroxydation des acides gras polyinsaturés [102]

7-1-2- Oxydation des protéines

Les modifications oxydatives des protéines par les radicaux libres provoquent l'introduction d'un groupe carbonyle dans la protéine. Ces réactions

d'oxydation sont fréquemment influencées par les cations métalliques comme le Cu^{2+} , Fe^{2+} , on peut classer les réactions d'oxydations des protéines en deux catégories : d'une part, celles qui cassent la chaîne peptidiques, et d'autres part, les modifications des peptides par addition de produits issus de la peroxydation lipidique comme le 4-HNE, de telles modifications conduisent généralement à une perte de fonction catalytique ou structurale de protéines affectées [103]. Le rôle des protéines dans la cellule est tel que leur dysfonctionnement peut bouleverser le fonctionnement cellulaire. Les protéines modifiées par l'oxydation vont être prises en charge par des protéines spécifiques de stress (HSP) heat shock protein. Ces dernières sont une famille de protéines permettent à la cellule de répondre à des stress de façon rapide. Elles sont habituellement classées selon leur poids moléculaires [104]. Les membres de la famille de HSP70 ont un rôle de protéines chaperonnes et prennent en charge les protéines dénaturées au cours du stress. La protéine HSP72 inducible par le stress et localisée dans le cytoplasme, elle jouerait un rôle important dans le fonctionnement mitochondrial notamment via la régulation de l'apoptose [105].

7-1-3- Dommages oxydatifs de l'ADN

Il existe au sein de la cellule deux types d'ADN, nucléaire et mitochondrial. Ce dernier est la cible privilégiée des oxydations par les radicaux libres du fait de son potentiel de réparation plus faible que celui de l'ADN nucléaire et de sa proximité directe de l'une des principales sources des RL cellulaires : la chaîne respiratoire mitochondriale. Ainsi le taux de bases oxydées serait de 2 à 3 fois supérieures dans l'ADNmt par rapport à l'ADNn [106] (fig13).

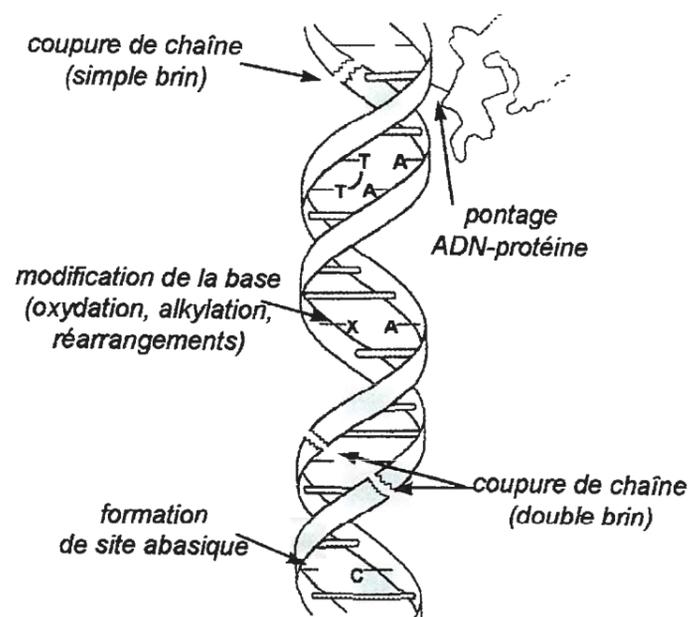


Fig.20. Lésions oxydatifs de l'ADN [106]

Les réactions d'oxydation de l'ADN créent un grand nombre de dommages de l'ADN et peuvent être classés en deux catégories :

a-Oxydation directe

Parmi ces dommages, nous pouvons citer les lésions des bases purines et pyrimidines. La plus abondante des bases oxydées est la 8-oxo-7,8-dihydro-2-deoxyguanosine (8-oxodGUO) [107]. En effet la guanine est la cible privilégiée de nombreux oxydants tels que le OH^\bullet et le peroxy-nitrite (fig21). La 8-oxodGuo est considérée comme une lésion pré-mutagénique car elle peut conduire, en l'absence de réparation, à une transversion (passage d'une base purique à une base pyrimidique) $\text{GC} \longrightarrow \text{TA}$.

b- Modification de base par formation de produits secondaires : Formation d'adduits de l'ADN

Les aldéhydes réactifs issus de la peroxydation lipidique (MDA, 4-HNE) peuvent s'ajouter au groupe amine de bases de l'ADN en constituer ainsi une autre

TABLEAU 3 : Quelques exemples de pathologies humaines associées avec des modifications de la concentration en antioxydants [90].

Evolution de l'antioxydant	Situations pathologiques
Diminution de la vitamine C	Maladies respiratoires (emphysème, bronchopneumopathies chroniques obstructives (BPCO), fumeur) Pancréatite aiguë Hémochromatose
Diminution de la vitamine E	Syndrome de détresse respiratoire Transplantation d'organes Pontage coronarien Choc septique Traumatisme crânien Hémochromatose
Diminution du glutathion, protéines-SH	Syndrome immunodéficient acquis Syndrome de détresse respiratoire
Diminution de l'ubiquinone	Hyperlipidémie
Augmentation de l'acide urique	Phénomènes d'ischémie - reperfusion
Diminution pouvoir antioxydant total	Maladies respiratoires (asthme, BPCO, fumeur) Maladies du foie Naissance de prématurés
Diminution de la GPX, carence en sélénium	Cancer Alcoolisme Mucoviscidose Maladie de Keshan Maladies cardiovasculaires Stérilité Maladie de Crohn Arthrite rhumatoïde Cataracte (cristallin)
Augmentation de la SOD	Leucémie Hépatite Diabète Dystrophie musculaire de Duchenne Syndrome de détresse respiratoire Syndrome de Down
Diminution de la SOD	Arthrite rhumatoïde Anémie de Fanconi Hypocuprose Syndromes immunologiquement déficients

CHAPITRE : III

Activité antioxydante des polyphénols.

L'activité des antioxydants naturels contre le stress oxydant est devenue une notion incontournable en biologie médicale et porteuse de beaucoup d'espoir thérapeutique. Toutefois l'idéal serait d'aboutir à des médicaments ciblés permettant un contrôle de l'état redox des cellules ou la prévention du stress d'un tissu particulier, plutôt qu'à un effet global antioxydant qui ferait perdre à la cellule le bénéfice potentiel qu'elle tire paradoxalement des ROS [112]. Cette activité se retentit sur l'état de santé de l'être humain en le prévenant contre les maladies ou encore sur les différentes atteintes pathologiques en favorisant sa guérison.

1- Propriétés préventives

L'intérêt du métabolisme des antioxydants alimentaires fait à l'heure actuelle l'objet d'un grand nombre de travaux. Parmi ces antioxydants de nombreux auteurs ont mis en évidence le rôle prépondérant des polyphénols [112]. Ceci, grâce à la reconnaissance de leurs propriétés antioxydant et ainsi leur implication probable dans la prévention des divers pathologies associées au stress oxydant. En effet, l'effet protecteur de la consommation des polyphénols contre le stress oxydant peut se retentir sur la prévention de plusieurs pathologies.

1-1- La protection contre les maladies coronariennes et vasculaires

Les antioxydants phénoliques ont un effet protecteur sur les vaisseaux sanguins, ils interviennent dans le maintien d'une perméabilité vasculaire normale selon différents processus: L'augmentation de la vasodilatation, la diminution de la pression sanguine, mais aussi comme améliorant de la résistance des vaisseaux en protégeant le tissu conjonctif péri vasculaires des dégradations enzymatiques. Ils favorisent ainsi les échanges liquidiens transcapillaires et la diffusion des protéines plasmatiques. L'impact des flavonoïdes sur les parois vasculaires est à l'origine de l'utilisation en thérapeutiques comme vasculoprotecteurs et veinotoniques [113].

Par ailleurs, la protection des lipoprotéines sanguines de type LDL contre leur oxydation, permettant la lutte contre les athéromes et par delà réduit le risque coronarien [114]. Ils réduisent également l'agrégation plaquettaire et certains inhibent la production de thromboxane, qui contribue à lutter contre les phénomènes de thrombose [113, 115].

Peu d'études systématiques ont été menées sur la pharmacocinétique des flavonoïdes chez l'homme. Les travaux de Hertog [116] ont été montré que la présence des flavonoïdes en quantité importante dans l'alimentation diminue de 68 % les risques cardiovasculaires par rapport à une alimentation qui en est faiblement pourvue.

Les flavonoïdes sont des piègeurs efficaces des RL les plus prooxydants, particulièrement impliqués dans la peroxydation lipidiques puisqu'ils peuvent réagir avec la plupart des RL susceptible d'arracher un hydrogène sur le groupement CH_2 situé entre les deux doubles liaisons des acides gras polyinsaturés. Une source très importante des flavonoïdes telle que la consommation de thé pourrait contribuer à diminuer les taux de cholestérol plasmatiques [117].

Les tanins ont également des potentialités dans l'inhibition de la peroxydation des lipides, ce sont des inhibiteurs enzymatiques notamment par le blocage de la 5-lipoxygénase.

Si la biodisponibilité était suffisante, les flavonoïdes auraient de nombreux rôles tels que:

- La capacité d'interagir avec les RL empêchant ainsi la dégradation des antioxydants endogènes, une activité chélatrice des métaux à l'état libre tel que le cuivre et le fer [118].

- Les flavonoïdes présentent ainsi des propriétés biologiques et antioxydantes bénéfiques. Cependant la qualité nutritionnelle et les effets systémiques des flavonoïdes dépendent de leur absorption au niveau de tractus digestif.

1-2-L'activité anti-inflammatoire

Cette activité concerne en premier lieu les flavonoïdes: L'effet anti-inflammatoire des flavonoïdes est d'abord dû à l'inhibition d'enzyme impliquées dans les réactions de l'inflammation

L'effet anti-inflammatoire de l'hespéridine et de la diosmine est également retrouvé au niveau de la prévention des inflammations du colon où les propriétés antioxydants de ces composés semblent jouer un rôle important [119].

1-3- L'activité antitoxique et antitumorale

De nombreuses molécules phénoliques sont: Cytotoxiques et anti-cancérogènes, Ils agissent à tous les stades de la cancérogénèse (initiation, promotion et progression): Ils inhibent la croissance de lignée cellulaire cancéreuse, en interférant avec les mécanismes de transduction des signaux mitogènes. Appartenant à plusieurs classes: Lignines, catéchines, chalcones, flavones, flavonoles, flavonones, acide hydroxycinnamique. Beaucoup d'autres composés phénoliques agissent en synergie avec le tamoxifène, leur action anticancéreuse implique fréquemment d'autres mécanismes pouvant intervenir conjointement. On peut citer par exemple: Leur activité antioxydante et leur capacité à neutraliser les radicaux libres en synergie avec les tocophérols [120].

L'activité antitumorale des flavonoïdes correspond à une action antimitotique de la podophylotoxine et des flavones polyméthoxylées des citrus et une perturbation du fonctionnement mitochondrial par les isoflavonoïdes (inhibition de la chaîne de transport des électrons et stimulation de l'apoptose mitochondrial ou un blocage de la formation des nitrosamines cancérogènes) [120].

La prévention anticancéreuse ne sera pas totalement efficace qu'en présence de tanins, avec entre autre, la famille des catéchines dont le principal représentant est l'epigallocatechine gallate (EGCG), le principal ingrédient de thé vert. Celui-ci, contient les plus puissants antioxydants polyphénoliques avec une activité anti-radicalaire [121], particulièrement remarquables parce qu'ils protègent des cancers à tout les stades.

Parmi les tanins hydrolysables des groupes des ellagitanins, certains dimères ou trimères cycliques en particulier les oenothéine β présente une activité antitumorale

intéressante [122]. Ces molécules sont naturellement présentes chez différentes espèces de plantes (eucalyptus, épilobe..), et peuvent être produites grâce à la biotechnologie végétale [48].

1- Propriétés thérapeutiques

L'efficacité thérapeutique des composés phénoliques, dépendent de plusieurs paramètres à savoir: La nature, la concentration des composés, leur vitesse d'absorption dans l'intestin grêle, leur dégradation par la flore intestinale et leur métabolisation à l'intérieur de l'organisme. L'ensemble détermine la biodisponibilité de chacun des composés. Cependant, les influences nutritionnelles sont toujours très complexes et il est nécessaire de réunir le maximum de facteurs favorables pour bénéficier des effets potentiels de l'alimentation.

Les études des végétaux et des matières premières d'origine végétale connaît un regain d'intérêt sans précédent, on peut estimer qu'actuellement des composés phénoliques sont la source de nouvelles applications thérapeutiques contre diverses pathologies (antiulcéreuses, anticancéreuses, antiinflammatoires..).

2-1- Action antiulcéreuse

À titre d'exemple:

- La quercétine: satisfait à tous ces critères et par conséquent elle est le composé le plus actif de la famille des flavonoïdes (fig17). Des études ont permis d'établir un rôle important dans la réduction de l'ulcère et la protection des cellules gastriques. Il a été suggéré que la quercétine exerce son activité via un mécanisme complexe impliquant la production du mucus et également l'inhibition de la production de leucotriènes [123]. D'autres études ont démontré l'existence d'une relation étroite entre les propriétés antiulcéreuses des quercétine, naringénines, rutine et kaempférol, et la production du PAF (Platelet Activating Factor) qui est un agent ulcérogène potentiel. En effet il s'est avéré que la réduction des dommages gastro-intestinaux est probablement due à l'inhibition du PAF par ces flavonoïdes [123].

- Les coumarines : ont un rôle dans le traitement symptomatique de troubles digestifs, ballonnement épigastrique et traitement des troubles de la fragilité capillaires et leurs expressions hémorragiques [124].

1-2- Action anticancéreuse

La capacité anticancéreuse de la quercétine est d'inactiver le t-PA (tissue-type plasminogen activator) en greffant à celui-ci la laminine, une molécule de la matrice extracellulaire qui joue un rôle important durant la mort cellulaire. Ainsi l'effet antiprolifératif pourrait s'expliquer par leurs capacités à inhiber l'activation de certaines protéines kinases (protéine kinase C ou protéine tyrosine kinase) [123].

Les tanins ont plusieurs activités antiradicalaires, des régulateurs réduisent le risque de cancer de l'œsophage de 60%, il inhibe la croissance de lignine cellulaire cancéreuse. Diminue radicalement le cancer déjà initié, participe dans la libération de TNF et une réduction de l'activité de l'onithine décarboxylase (biomarqueurs du cancer)

de l'estomac et du colon) [125]. Quelques tanins ellagiques s'opposent à la mutagénicité de certains cancérigènes à la transplantation de tumeur expérimentale [126].

L'action de L'épigallocatechin-gallat (EGCG): Son rôle s'expliquerait par une inhibition de la libération du tumor necrosis factor (TNF) et une réduction de l'activité de l'onithine décarboxylase (biomarqueurs des cancer de l'estomac et le colon.

L'oenothéineβ: C'est un composé des tanins connu pour son efficacité sur le blocage du développement de différentes tumeurs humaines est nette, le mode d'action précis a fait l'objet de différentes interprétation par exemple: La stimulation des défenses immunitaires par libération d'interleukines et activation des macrophages, l'inhibitions d'enzymes virales ou encore d'induction de phénomène apoptotique [127].

Les études ont montré des effets antiprolifératifs du resvératrol sur des cellules tumorales en culture, ainsi qu'une réduction de la taille et du nombre de tumeurs. L'action du resvératrol pourrait s'expliquer par des actions au niveau de l'expression de différentes protéines médiatrices (facteurs de transcription, oxygénase) [128].

2-3- Action antinflammatoire

Les tanins sont actuellement l'objet de nombreuses études à cause de leur action bénéfique sur la santé. L'une de leur propriété majeure et de former des complexes avec des protéines, la complexation tanin- protéine pouvant être à la base de nombreux effets biologiques des polyphénols. Cette complexation est un processus de reconnaissance moléculaire qui semble impliquer principalement les interactions hydrophobes, renforcer par la formation de liaison hydrogène exemple du tanin le β-1, 2, 3, 4,6-penta-O-galloyl-Glucose connu pour sa grande capacité à complexer les protéines. Cette complexation est impliquée dans certains processus physiopathologique comme l'inflammation et l'hypotension. Ainsi que dans plusieurs mécanismes physiologiques comme le control de la pression sanguine [125].

2-4- Action antineurodégénératives

Des études in vivo menées sur le rats ont montré un effet que le resvératrol permettait de réduire dans le cas de maladies neurodégénératives comme la maladie d'Alzheimer en induisant la dégradation du peptideAβ, constituant majeure des plaques séniles formées au cours de cette maladie par un mécanisme impliquant la protéasome [128].

• L'activité thérapeutique des flavonoides

Les flavonoides constitue une classe prépondérante chez les polyphénols du point du vue quantitative et diversité structurale par rapport aux tannins et acides phénoliques. Ils présentent un intérêt thérapeutique qui date de la découverte de la vitamine C par Szent Gyorgyi (prix Nobel 1937) [121], qui a constaté que les symptômes hémorragiques du scorbut liées à la fragilité ou l'hyperperméabilité des vaisseaux, étaient guéris par des extrait des paprika ou de jus de citron riches en

vitamine C et flavonoïdes, cette action a été appelée propriété vitaminique P (P étant première lettre du mot perméabilité) (fig.22). Malgré ces premiers résultats prometteurs, les recherches ne permirent pas ensuite d'attribuer un rôle essentiel aux divers polyphénols du monde végétal. A partir des années quatre-vingts, c'est la découverte du rôle des ROS dans le processus pathologique qui a relancé l'intérêt pour ces molécules dont les propriétés antioxydants sont très marquées.

Le mécanisme d'action d'un antioxydant peut comprendre:

- Le piégeage direct des ROS.
- L'inhibition des enzymes et la chélation de la trace métallique Responsable de la production des ROS.
- La protection des systèmes de défense antioxydants [121].

a- Inhibition des enzymes

La xanthine oxydase (NO) catalyse l'oxydation de l'hypoxanthine et de la xanthine en acide urique. Par conséquent elle est considérée comme une source biologique importante du radical superoxyde. Il a été démontré par Hansaki et ses collaborateurs [51] dans la maladie de la goutte, que les flavonoïdes peuvent agir sur l'activité de la xanthine oxydase et par conséquent faire régresser cette maladie en réduisant à la fois les concentrations d'acide urique et celle du radical superoxyde dans les tissus humains, ils ont ainsi déterminé la relation entre la structure chimique des flavonoïdes et leur activité inhibitrice de la xanthine oxydase [49].

b- Chélation des ions métalliques

Les ions du fer et du cuivre sont essentiels pour certaines fonctions physiologiques, mais sont aussi responsables de productions du radical hydroxyle par la réduction du peroxyde d'hydrogène selon la réaction:



Les flavonoïdes sont considérés comme de bons chélateurs de ces ions métalliques [50]. Les études menées par Van Acker [51] et ses collaborateurs sur la chélation du fer par certains flavonoïdes, ont montré que :

- Le flavonol (3,5-OH ; 7, 3,4'-O et OH) possèdent une activité supérieur à celle du (3-OGLU ; 5-OH ; 7,3',4'-OEtOH) ce qui indique l'importance du groupement 3-OH.
- Le (3-Glu, 5-OH ; 7,4'-OEtOH ; 3'-OH) est moins actif que le (3-OGLu, 5-OH ; 7-OEtOH ; 3',4'-OH) ceci démontre l'efficacité d'un groupement cathécol sur le cycle β (3',4'-OH).

La figure (23) résume les sites essentiels pour la chélation des ions métalliques; (i) un noyau catéchol sur le cycle β ; (ii) les groupes 3-hydroxyle et 4-oxo du cycle C, et (iii) les groupes 4-oxo et 5-hydroxyle entre les cycles A et C.

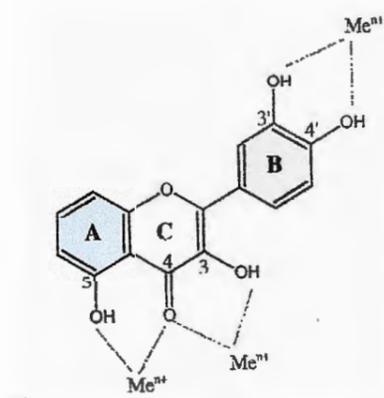


Fig.23. Flavonoïdes et leurs sites proposés pour la chélation des ions métalliques [51].

c- Piégeage des ROS

De nombreuses études ont établi des relations entre les structures des flavonoïdes et leurs capacité à piéger les ROS [129]. Leur interaction avec de nombreux radicaux a été employée dans plusieurs études afin de déterminer l'élément majeur de l'activité antioxydant. À cause de leurs faibles potentiels redox [129], les flavonoïdes sont thermodynamiquement capables de réduire les radicaux oxydants comme le superoxyde, le peroxyde, par transfert d'hydrogène, ou $^{\circ}R$ représente le radical oxydant (fig16). De nombreuses études ont établi des relations entre les structures des flavonoïdes et leurs capacité à piéger les ROS [129].

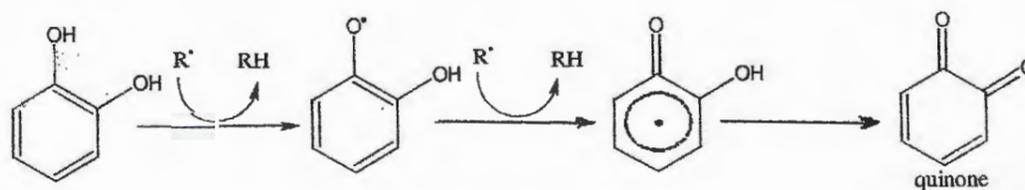


Fig.24. piégeage des ROS par les flavonoïdes [129]

En analysant tout les résultats concernant la capacité des flavonoïdes à piéger les ROS, la communauté scientifique a pu conclure que les composés les plus actifs sont ceux qui combinent les trois critères:

- La structure ortho-dihydroxy sur le cycle β (groupement catéchol) qui confère la stabilité au radical flavonoxy et participe à la délocalisation des électrons.
- La double liaison C2-C3 en conjugaison avec la fonction 4-oxo.
- La présence du groupe 3-OH en combinaison avec la double liaison C2-C3.

L'effet des flavonoïdes sur le système immunitaire est complexe et demeure encore mal illustré. Certains d'entre eux réduisent l'activation du complément, diminuent de façon générale l'inflammation. L'activité immuno-modulatrice des flavonoïdes, d'une part, de leur capacité à inhiber la formation des eicosanoïdes et de leur pouvoir piègeurs des RL [130]

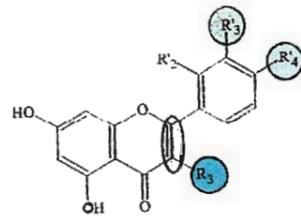


Fig.25. éléments essentiels pour l'activité antioxydante des flavonoides [129].

CONCLUSION

Conclusion

Il est actuellement bien admis que le stress oxydatif est devenu l'étiologie principale de diverses pathologies. Le leitmotiv essentiel de ce stress, sont les radicaux libres oxygénés dû, essentiellement à la pollution de l'environnement humain. Les xénobiotiques toxiques d'origines alimentaires (insecticides, pesticides, conservateurs chimiques..) ou médicamenteuses (les anticancéreux, les corticoïdes..) ou encore les polluants physiques (UV, irradiation cosmique,..); tous ces polluants participent dans l'induction et la production des ROS susceptible ainsi de provoquer des dommages cellulaires importants pouvant conduire à des défaillances au sein d'un organe. Dans ce contexte, le Stress oxydant est de plus en plus impliqué dans les processus du vieillissement accéléré, l'apparition de complications cliniques de certaines maladies telles que le diabète et les maladies cardiovasculaires.., ou le développement de maladies multifactorielles (Athérosclérose, cancer, maladies neuro- dégénératives).

Un champ d'investigations important est donc en train de s'ouvrir dans le domaine du diagnostic du stress oxydant et des thérapies permettant de limiter ses effets néfastes. Il semble évident de chercher à le supprimer ou au moins de le réduire. Pour ce là, il convient de disposer d'outils d'analyses performants et spécifiques devant permettre de le mettre en évidence et de l'évaluer. Chaque marqueur de stress présente des limites et ne peut donc à lui seul refléter un état de stress oxydant. Il sera donc nécessaire d'utiliser une combinaison de tests adaptés, car le stress oxydant se manifeste de façon différente selon la situation physiologique ou pathologique envisagée.

Le retour à la nature pour rechercher des substances bioactives à visée antioxydante est le choix de plusieurs laboratoires de renommée universelle. De nombreuses études sont déjà en faveur d'un impact positif des polyphénols sur la santé, apparaissant parmi les plus efficaces grâce à leurs effets préventifs et thérapeutiques dans l'organisme.

Ces composés phénoliques sont largement distribués dans la nature sous forme de pigments dans les plantes comestibles ou non et notamment chez les plantes à fleurs et les

Conclusion

fruits de couleurs (jaune, rouge,...etc). Donc, les polyphénols sont dotés d'une biodiversité naturelle et aussi d'une diversité structurale importante.

Un encouragement à la consommation d'aliments riches en composés phénoliques constitue désormais une des principales recommandations en santé publique cette utilisation est devenue fondamentale vis à vis de l'incapacité des médicaments de synthèse de guérir quelques maladies tel que sida, cancer, Les effets nocifs des médicaments sur les organes non ciblés ; effets toxiques par leur métabolites inclue le stress oxydatif issus de différentes biotransformations.

RÉFÉRENCES

- [1] Rodrigo,R;Bosco, 2006. c.oxydative stress and protective effects of polyphenols: comparative studies in human and rodent kidney. A review; *coup biochem. And physiol.*, part c, 142,pp.317-327.
- [2] Cheynier V.Grape,2000. Polyphenols and their reactions in wine .In XXth international conference on polyphenols. Freising –weihenstephan (Germany), technishe universitat munchen,pp.1-14.
- [3] Grisebach H., 1975.Enzymologie de flavonoid biosynthese,berdtsch,bot.Ges,VOL 88,pp.61
- [4] Harborne J.B.,1980 . Plant phenolics in:secondary plant products encyclopedia of plant physiology,bell EA, charlwood BV, eds,pringer verlay,berlin,VOL 8,PP.329-402.
- [5] Macheix J. J.,Fleuriet A .,Billot., 1990.Fruit phenolics,CRC press bocaraton , PP.378.
- [6] Herrmann K.,1989.Occurence and content of hydroxyl cinnamic and hydroxyl benzoic acid compounds in foods .*Crit Rev. Food sci .Nutr* 28,PP.315-347.
- [7] Clifford M.N.,1999.Chlorogenic acids and other cinnamates nature,occurrence and dietary burden *J.Sci food agric* 79,PP.362-372.
- [8] Harborne J. B.,1988. The flavonoides advances in research since 1980,chapman and hall, new york,PP.621.
- [9] Haslam E .,1989. Plant polyphenols.vegetable tannins revisited, Cambridge university press,PP.230.
- [10] Santos –Buelga C., Scal bert A., 2000.Proanthocyanidines and tanninlike compounds-nature,occurrence dietary intake and effects on nutrition and health *J. SCI. Food agric*, VOL 80,PP01094-1117.
- [11] Mol J.,Grotewold E., Koe S.R.,1998.Haw genes paint flowers and seeds, *trends plant sci* 3, PP.212-217.
- [12]Winkel-Shirley B.,2001.Flavonoid biosynthesis A, colorful model for genetics,biochemistry,cell biology and biotechnology, *plant physiology*,VOL 126,PP 485-493.
- [13] Monties B.,1989.Lignins in:plant phenolics, methods in plant biochemistry,H airborne J.B,ed,academic press,London,VOL 1,PP 113-157.
- [14] Monties B., 1980.Les lignins in:les polymers végétaux,polymères pariétaux et alimoentaires non azotés,monties B, eds Gauthier- Villars,paris, PP.122-155.
- [15] Baucher M .,Monties B., Van montagh M. , Boerjan W .,1998.Biosynthése and genetic engineering of lignin.*Crit .Rev,plant sci* 17,PP.125-197.
- [16] Boudet A.M.,1998.Anew view of lignification, *trends plant sci*, VOL 3,PP.67-71.

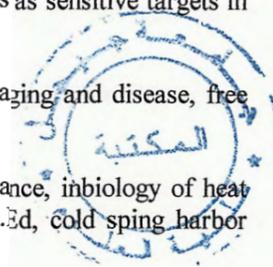
Références

- [17] Hahlbrock K., Grisebach H., 1975. Biosynthese of flavonoids in: the flavonoides chapman & Hall, London, PP. 866.
- [18] Hahlbrock K., Knobloch K.H., Kreuzaler F., Potts J.R.M., Wellmann E., 1976. Coordinated induction and subsequent activity changes of two groups of metabolically interrelated enzymes, Eur J. Biochem, VOL 61, PP. 199.
- [19] Harborne J.B., 1980. Plant phenolics in: secondary products encyclopedia of plant physiology, Bell EA, Charlwood BV, eds Springer-Verlag, Berlin. VOL 8, PP 329-402.
- [20] Macheix J.J., 1996. Les composés phénoliques des végétaux: quelles perspectives à la fin du xx siècle? Acta. Bot gallica, VOL 143, PP. 473-479.
- [21] Baucher M., Monties B., Van Montagu M., Boerjan W., 1998. Biosynthesis and genetic engineering of lignin, Crit. Rev. plant sci, VOL 17, PP. 125-197.
- [22] Weishaar B., Jenkies G.I., 1998. Phenyl propanoid biosynthesis and its regulation, Curr. Opin. Plant Biol, VOL 1, PP. 251-257.
- [23] Winkel-Shirley B., 2001. Flavonoid biosynthesis A, colorful model for genetics, biochemistry, cell biology and biotechnology, plant physiol, VOL 126, PP. 722-727.
- [24] Schafer E., Kunkel L., Frohne yer H., 1997. Signal transduction in the photocontrol of chalcone synthase gene expression, plant cell environ, VOL 20, PP. 722-727.
- [25] K., Hahlbrock 1981. Flavonoids in: biochemistry of plants, secondary plant products, connee ed. Academic press, new york, PP. 425-456.
- [26] Macheix G.G., Fleuriet A., Billot G., 1990. Fruits phenolics, CRC press, Boca raton, PP. 378
- [27] Dixon R.A., Paiva N.L., 1995. Stress induced phenylpropanoid metabolism, plant cell, VOL 7, PP. 1085-1097
- [28] Ulbrich B., Wiesner W., Arebs H., 1985. Large-scale production of rosmarinic acid from plant cell cultures of coleus blumei benth in: primary and secondary metabolism of plant, cell cultures, Neumann K H, reinhard E, eds spinger-verlag, Berlin, PP. 293-303.
- [29] Holton T.A., Cornish E.S., 1995. Genetics and biochemistry of anthocyanin biosynthesis, plant cell, VOL 7, PP. 1071-1083.
- [30] Jackson D., Roberts K., Martin C., 1992. Temporal and spatial control of expression of anthocyanin biosynthetic genes in developing flowers of antirrhinum majus plant J, VOL 2, PP. 425-434.
- [31] Moller I.M., Rasmusson A.G., Fredlund K.M., 1993. NAD(P)H-Ubiquinone oxidoreductases in plant mitochondria J, bioenerg, biomembr, VOL 25, PP. 377-384.
- [32] Amiot M.J., Fleuriet A., Cheynier V., Nicolas J., 1997. Phenolics compounds and oxidative mechanisms in fruit and vegetables in: phytochemistry of fruit and vegetables, Tonias-Barberan F.A., Robins R.J, eds, charendon press, Oxford, PP. 51-85.

Références

- [33] Macheix J.J., Fleuriet A., Billot J., 1990. Fruit phenolics, C.R.C, press. Boca raton, PP.378
- [34] Maroues L., Macheix J., Fleuriet A., 2005. Le brunissement enzymatique partiel: importance des polyphénols, des polyphénols en agroalimentaire, Cheynier V., Sarni-machado P, eds. Tec&Doc. lavoisier, Paris à paraître.
- [35] Mayer A.M., Harel E., 1991. Phenoloxidasés and their significance in fruit and vegetables in : food enzymology. Fox P.F, ed, elsevier applied sciences, London, PP.373-398.
- [36] Lopez-Serrano M., Ros Barceloa., 2002. Comparative study of the products of the peroxidase-catalysed and the polyphenoloxidase catalyzed (+) -Catechin oxidation, their possible implications in strawberry (Fragaria x ananassa), browning reactions J. Agric food chem, VOL 50, PP.1218-1224.
- [37] Fleuriet A., Macheix J.J., 1984. Orientation nouvelle du métabolisme des acides hydroxy cinnamiques dans les fruits de tomates blessés (Lycopersicon esculentum) : physiologie plant, VOL 61, PP.64-68.
- [38] Macheix J.J., Fleuriet A., Billot J., 1990. Fruit phenolics, CRC press, Boca raton, PP.378.
- [39] Grayer R.J., Harborne J.B., 1994. A survey of antifungal compounds from higher plants 1982-1993, phytochemistry, VOL 37, PP.19-42.
- [40] Haslam E., 1989. Plant polyphenols vegetable tannins revisited cambridge university press cambridge, PP.230.
- [41] Klessig D.F., Malamy J., 1994. The salicylic acid signal in plants, plant MOL. Biol, VOL 26, PP.1439-1458.
- [42] Kunel B.N., Brooks D.M., 2002. Cross talk between signaling pathways in pathogen defense, Curr. Opin. plant biol, VOL 5, PP.325-331.
- [43] Amiot M.J., Fleuriet A., Macheix J.J., 1986. Importance and evolution of phenolic compounds in olive during growth and maturation J. Agric food chem, VOL 34, PP.823-826.
- [44] Moy Nagel C., Taylor L.P., 1992. Biochemical complementation of chalcone synthase mutants defines a role for flavonols in functional pollen, Proc. Natl. Acad. Sci USA 89, PP.7213-7217.
- [45] Napoli C.A., Taylor L.P., 1992. Biochemical complementation of chalcone synthase mutants defines a role for flavonol accumulation in a petunia mutant that abolishes pollen flavonol accumulation, induces male sterility, and is complemented by a chalcone synthase transgene, plant physiology, VOL 120, PP.615-622.
- [46] Martin-Tanguy J., 1997. Conjugated polyamines and reproductive development : biochemical, molecular and physiological approaches, physiologie plant, VOL 100, PP.675-688.
- [47] Rice-Evans G.A., Miller N.J., Paganga., 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds, trends plant Sci, VOL 2, PP.152-159.
- [48] Rice-Evans C.A., Packer R. L., 2003. Flavonoids in health and disease Marcel Dekker, New York, PP.152-159.

- [87] Schawanz et al, 1994., Laz Q et al 1995., Schwarz et al, 1995.
- [88] Sohal, R. S., Mockehr, J., ORR, W. C, 2002. mechanisms of aging: An appraisal of the oxidative stress hypothesis, free rad –biol. Med, vol 33 (5), PP.575.
- [89] Palmer H.J., Paul son K.E., Nutr Rev, 1997. vol55, PP.353-361.
- [90] Rahman et Mac Nee, 1996. Free Radbiol med vol 21, PP.669-681.
- [91] Ammon, H.P., Hagele. R., Youssif, N et al, 1983. A possible role of intracellular and membranethiols of rat pancreatic is lets in calcium aptake and insulin release. Endocrinology, vol 112, P.720-726.
- [92] Krippeit-Drews, P., Lang, F., Havssinger, D., Drews, 1994. H2O2 induced hyperpolarisation of pancreatic B cells P flugers. Arch, vol 426, P. 552-554.
- [93] Nakazaki, M., Kakeim., Koriyaman., Tanakah, 1995, in volvevement of ATP-Sensitive K Cahannels in free radical mediated inhibition of insulin secretion in rat pancreatic beta-cells, diabetes vol 44, PP. 878-833.
- [94] Kripput-Drewsl., Kramerc., Walkers et al, 1999, interference of H2O2 with stimulus-secretion coupling mousse pancreatic beta-cells. J Physiol (lond), 514, PP. 471-481.
- [95] Baynes, J.W, 1991, role of oxidative stress in development of complications in diabetes,vol40,PP.405-412.
- [96] Tajari Y., Molle RC., Grill. V, 1997, long temeffects of amino guanidine on insulin release and biosynthesis: evidence that the formation of advanced glycosylation and products in hibéts B-cell function. Endo eminology, PP. 273-280.
- [97] Roertson, R.P., Harmon, J. S.,Tanaka, Yet al, 2000, glucose toxicity of Beta cell: Cellular and molecular mechanisms in: D le Roith, SI Taylor., Jmolefsky. Diabetes mellitus, A Fandamental and chemical tesct. And edition, Philadelphia, lipincott Williams, wilkins, PP. 125-132.
- [98] Guheridge, J; M., And b. Halliwell, 1990, the measwement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems ;trnds biochem Sci, vol 15, PP. 129-135.
- [99] Chaudhary, A.K., G-R-Reddy, I. A., Blair, and L.J-Marnett.1996, characterization of an N6-Oxoperophyl-2-deoxyadenosine adduct in malondialdehyde- modified DNA using liquid chromatography: carcinogenesis. Vol17, P1167-1170.
- [100] Chen, H. J., and F.L. Chu ng, 1996, epoxidation of trans-4-hydroxy-2-2nonenal by fatty acid hydro peroides and hydrogen peroxide: Chemres toxicol, vol9, P. 306-312.
- [101] Ramakri Shnan, N., D.E-Mcclain, and G. N. Catravas, 1993, Membranes as sensitive targets in thymocyte apoptosis: Int J radiatbiol, vol 63, P. 693-701.
- [102] Levinie, R. L., 2002. Carbonylmodified proteins in cellular regulation, aging and disease, free radic-boil, med, vol 32, PP. 790-796.
- [103] Parsell, D. A., Lind ouist, S, 1994, heat schck proteins and stress tolerance, inbiology of heat scock proteins and molecular charpiron: Mrimot, R. I., A. Georg opoals, C .ed, cold sping harbor laboratory press, PP. 457-494.



Références

- [104] Polla, B. S., kantengwa, S., François, D., Salvioli. S., Franc. Shi, C., conssariza, A, 1996.mitochondria are selective targets for the protective effects of heat shock against oxidative, injury-proc—nath.Acid. Sci. 93, PP. 6458-6463.
- [105] Stevnsner, T., Thorslund, T., de sauza- pints, N. C., Bohr,V. A., 2002. Mitochondrial repair of 8-oxoguanine and changes with ageing Exp. Gerontol, vil 37, PP.1189-1196.
- [106] Helbock, H. J., Beckman, K. B., Ames, B. N, 1999, 8 hydroxydeoxyguanosine and 8-hydroxyguanine as biomarkers of oxidative DNA damage. Methods enzymol. 300, PP. 156-166.
- [107] Marnett, L. J.,1999, lipid peroxidation –DNA damage by malonaldehyde-Mutat. Res. 424, PP. 83-95.
- [108] Bokr, V. A., Stevn Snert, T., De Souza-pinto, N.C., 2002. Mitochondrial DNA repair of oxidative damage in mammalian cells.gene 286, PP. 127-134.
- [109] Sies H., 1997, antioxidant in disease mechanisms and therapy advances in pharmacology, academic press, New York, PP.38.
- [110]Ren, W.;Qiao,Z.;Wang,H.;Zhu,L.Zhang,2003,L.Flavonoids/Promising Anticancer Agents., Med. Res.Rev.,23,519-534.
- [111] Van Acker, S.A.BE; VAN Denberg D.J; tromp M.N.J.L; Griffioen .D.H; VAN Bennekom W.P; Van Der Vijgh W.J.T; Bast A.1996, Structural aspect of antioxidant activity of flavonoides, Free Rad. Biol 11ed 20, PP.331-342.
- [112] Leake DS, 1998, effects of flavonoides on the oxidation of low-density lipoproteins. flavonoides in Health and disease, chapter 10, PP.253-276.
- [113] Hal Per n 11.J; et al., 1998, red- wine polyphenols and inhibition of platelet aggregation, possible mechanisms, and potential use in Health promotion and disease prevention Jint med RES. 26., PP.171-180.
- [114] Stavic, B; Matula, TL, 1992, Flavonoids in foods: their significance for nutrition. And health lipid soluble antioxidants: biochemistry and chemical applications, PP.274-294.
- [115] Hetog, M.G; Feskens, E.J; how man, P.C., Katan, M.B., Krom hond, D, 1993, antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen study lancet, VOL 342, PP.1007-1011.
- [116] Harbone, JB. Bascter H., 1999, the hand book of natural flavonoids, VOL 2 Wileg,chichester.
- [117] Leake D, 1998, effects of flavonoids on the oxidation of LOW- density lipoproteins in: flavonoids in health and disease, Rice- evans C, Packer, eds,

Marcel dekker, new York, pp.253-276.

[118] Bagchi, D., Sen C.K., Ray S.D., Das D.K., Bagchi M., Preuss H.G., Vinson J.A. 2003 molecular mechanisms of cardio protection by a novel grape seed proanthocyanidin extract, *MUST, RES* 523-524, PP.87-97.

[119] Wang H. Nair M.G; Strasburg, G.M, Booren A11., GRAY, J.I, 1999, antioxidant polyphenols from tart cherries (*prunus cerasus*), *J.agric. Food chem.* VOL 47, PP.840-844.

[120] Chen, Z.Y., and Chan, P.T, 1996, antioxidative activity of green Tea. Catechinsin canola oil, *chemistry and physics of lipids*, PP.163-172.

[121] Yoshida T., Hata No.T., Itoh. Okudat, 2000. Chemical and biological perspectives of ellagitannin oligomers from medicinal plants. In: *studies in natural products chemistry*. Atta- ur-rahman, ed, Elsevier, Amsterdam, PP. 395-453.

[122] Taniguchi S., Nakamura N., Nose M., Takeda S., Yabu- Uchi R., ito. H., Yoshida T., Yazaki K, 1998. Production of macrocyclic ellagitannin oligomers by *oenothera laciniata* callus. *Cultures, plytochemistry* 48, PP.981-985.

[123] Cao G., Russell RMm, Lischner N, Prior RI, 1998, serum antioxidant capacity is increased by consumption of straw berries, spinach, red wine or vitamin C in elderly women, *Amer. Soc. Nutr. sci*, PP. 2383-2390.

[124] Jovanovic. Sv., Ssteenken S., Tosic. M., Marjanovic B., Simic, MG, 1994. Flawonoides as-antioxidants. *J. Am- chenn Soc*, Vol 116, PP 4846-4851.

[125] Kuo, YC., Yang, Lm., Lin Lc, 2004, isolation anci imminodulatory effect of flavonoides from *syzy guin somarangense*, *planta Med*, 70/12, PP. 1237-.

[126] Brunton J, 1994, *Pharmacognosie phytochimie, plantes médicinales*, (3^{ème} ed) . Paris : éditions médicales internationales éditions Tec et Doc- lavoisier, PP. 1999- 1120.

[127] Brunton J, 1993, *Pharmacognosie, phytochimie: plantes médicinales* (3^{eme} ed.) Paris, PP. 266-350.

[128] Sakagami .H., Jiang Y, Kusama K., Atsumit, Meha T., Togchi M., Iwakurai., Satoh K., Itoh, Hatano T., Yoshida T, 2000, cytotoxic activity of hydrolysable tannins against human oral tumor cell lines- a possible mechanism, *phytochemistry* , Vol 7, PP. 37-47.

[129] Marambaud ,P.Zhao,H ;Davies,P.2005, resveratol promotes clearance of Alzheimer's disease amyloid- β peptides. *J.biol.chem.* ,280.37377-37382..

[130] Kuo y.C , Yang L.M , Lin L.C (2004) isolation and immunomodulatory effect of flavonoides from *syzygium somarangense* , *planta . Med .* 70 (12) : 1237-9 .

Présenté par :	Date de Soutenance :	Membres du jury :
<ul style="list-style-type: none"> • Madjda Merabet • Loubna Choufi • Sihem Lalili 	Le 20 Juin 2007	<ul style="list-style-type: none"> • Med SEBTI Examineur • Med KEBIECHE Encadreur

Titre : Polyphénols et stress oxydatif.

الملخص

الفينولات مركبات أضيوية ذات نطاق واسع ضمن النباتات الطبية . التنوع في هياكلها الكيميائية يعرف كمصدر للعديد من الأنشطة الوقاعية والعلاجية .

الهدف من هذا البحث هو تسليط الضوء على فوائد مضادات الإجهاد التاكسدي و الدور الوقائي والعلاجي لهذه المكونات الفعالة . أولا تظهر الفينولات كمواد طبيعية كثيرة الانتشار في النباتات، هذا من جهة و من جهة أخرى، التنوع الهيكلي الهام يمنحها قدرة رائعة لمكافحة مختلف الأمراض . والواقع أن العديد من أعمال البحث تسعى لتوضيح قدرة هذه المركبات ذات النشاط الحيوي على تقديم فعل مضاد الإجهاد بلعب دور الحاميات الكيميائية أو الواجبة ضد الجذور الحرة . هذه القدرة تعدل الإنتاج الزائد في الجذور الأوكسجينية من الأصل لتقديم فعل وقائي أو لتقليلها على المستوى الخلوي من أجل معالجة مختلف الأمراض

Abstract

The phenolic compounds are the metabolites largely widespread at the medicinal plants. The diversity of their chemical structures is recognized to be the source of many activities as well preventive as curative. The objective of this bibliographical set of themes is to highlight the interest antistress and the preventive and therapeutic role of these active ingredients. The polyphenols appear initially natural substances very widespread at the plants on the one hand and of an important structural diversity their conferring a capacity remarkable to fight against various pathologies of the other share. Indeed, several work of seeks brought the virtue anti stress of these bioactive substances by playing the part of chémoprotectors or screen against the free radicals. This capacity neutralizing the excessive production of the ROS in the beginning to bring a preventive effect or reducing the cellular level of these radicals by scavenging to treat various diseases.

Résumé

Les composés phénoliques sont des métabolites largement répandus chez les plantes médicinales. La diversité de leurs structures chimiques est reconnue pour être la source de maintes activités tant préventives que curatives. L'objectif de cette thématique bibliographique est de mettre en évidence l'intérêt antistress et le rôle préventif et thérapeutique de ces principes actifs. Les polyphénols apparaissent d'abord comme des substances naturelles très répandues chez les plantes d'une part et d'une diversité structurale importante leurs conférant une capacité remarquable de lutter contre diverses pathologies d'autre part. En effet, plusieurs travaux de recherches ont apporté la vertue antistress de ces substances bioactives en jouant le rôle de chémoprotecteurs ou d'écran contre les radicaux libres. Ce pouvoir neutralisant la production excessive des ROS à l'origine pour apporter un effet préventif ou réduisant le niveau cellulaire de ces radicaux par scavenging pour traiter diverses maladies.

Les mots clés: Polyphénols, antioxydants, les radicaux libres, stress oxydant.