

REPUBLIQUE ALGERIENNE DIMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT

**UNIVERSITE DE JIJEL**  
**FACULTE DES SCIENCES**  
**DEPARTEMENT DE BIOLOGIE MOLECULAIRE ET CELLULAIRE**



BC.12/07

## **Mémoire**

De fin D'étude En Vue de l'obtention du Diplôme Des études Supérieures  
(D.E.S) en Biologie  
Option : Biochimie

## **Thème**

**LA MITOCHONDRIE ET FLAVONOÏDES  
ENTRE INDUCTION ET PREVENTION DU  
STRESS OXYDANT ET DE L'APOPTOSE**



**Membres du jury :**

**Encadreur : ROUIBAH Hassiba**  
**Examineur : ALLANE Mohamed**

**Présenté par :**

**FOUGHALIA Sihem**  
**AIBECHÉ Chafia**  
**AZZOUNE Souhila**

Promotion : Juin 2007



## **RMERCIEMENT**

*Nous commençons par remercier Dieu de nous avoir donné le courage et la volonté pour mener ce travail à terme.*

*Nous tenons à remercier très sincèrement notre encadreur : Melle Rouibeh Hassiba, qui a dirigé l'ensemble de ce travail avec enthousiasme et énergie. Merci de nous avoir fait confiance et encouragé toute cette période, la qualité de son encadrement tant sur le plan scientifique qu'humain, sa rigueur et son expérience et ses conseils avisés nous servent sans aucune doute pour la suite.*

*Nos sincères gratitudee à Mr Alian Mohamed pour nous avoir fait l'honneur d'être examinateur de notre travail.*

*Nous tenons à exprimer nos remerciement à Melle Keba Widad, nous la remercions chaleureusement pour son aide, sa disponibilité et ses encouragements constants.*

*Nous tenons également remercier tous les enseignants de la biologie de l'université de Jijel, pour le transmit de leurs savoir tous le long de quatre années.*

*Nous remercions également tous ceux qui nous ont aidé et encourager de près ou de loin, durant la réalisation de travail.*



# Sommaire

## INTRODUCTION

## ANALYSES BIBLIOGRAPHIQUES

### I-GENERALITE SUR LA MITOCHONDRIE

I-1. Historique et définition.....	4
I-2. Phylogénèse des mitochondries.....	4
I-3. Organisation de la mitochondrie.....	4
I-3-1. La membrane externe.....	4
I-3-2. La membrane interne.....	5
I-3-3. L'espace intermembranaire.....	5
I-3-4. La matrice mitochondriale.....	5
I-3-5. Le génome mitochondrial.....	5
I-4. Renouvellement des mitochondries.....	6
I-5. La chaîne respiratoire mitochondriale.....	6
I-5-1. Complexe I.....	7
I-5-2. Complexe II.....	7
I-5-3. Complexe III.....	7
I-5-4. Complexe IV.....	7
I-5-5. Complexe V.....	7
I-6. Les principaux rôles de la mitochondrie.....	8
I-6-1. Synthèse d'ATP.....	8
I-6-2. Synthèse des acides gras.....	8
I-6-3. Synthèse des hormones stéroïdes.....	8
I-6-4. Implication de la mitochondrie dans l'apoptose.....	8
I-6-5. Implication de la mitochondrie dans le stress.....	9
I-6-6. Régulation de l'hémostase de calcium.....	9

### II-LE STRESS OXYDANT

II-1. Définition.....	10
II-2. Les espèces réactives de l'oxygène.....	10
II-3. Différentes sources des espèces réactives de l'oxygène.....	11
II-3-1. Sources exogènes.....	11
II-3-2. Sources endogènes.....	11
• Le NADH oxydase.....	12
• La xanthine oxydase.....	12
• Les ions métalliques.....	13
• La NO-synthase.....	13
• Les peroxysomes.....	13
• L'implication de la mitochondrie dans la production des espèces réactives de l'oxygène.....	13
*Le complexe I et transfert reverse des électrons.....	13
*Le complexe III et cycle Q.....	14

II-4. Les dégâts oxydatifs des espèces réactives de l'oxygène.....	15
• Peroxydation lipidique.....	16
*Phase d'initiation.....	16
*Phase de propagation.....	16
*Phase de terminaison.....	17
• Oxydation de l'ADN.....	17
• Oxydation des protéines.....	18
II-5. Système de défense contre le stress oxydant.....	18
II-5-1. Les antioxydants enzymatiques.....	18
*La superoxyde dismutase .....	18
*Les catalases. ....	19
*La glutathion peroxydase (GPx).....	19
*Les glutathion transférases.....	19
*la glutathion réductase.....	19
*Les thiorédoxines (TR <sub>x</sub> ) et la thiorédoxine réductase (TR <sub>x</sub> R).....	20
II-5-2. Les antioxydants non enzymatiques.....	20
*Glutathion.....	20
*La vitamine C (l'acide ascorbique).....	20
*La vitamine E (α-tocophérol).....	20
*Les oligo-éléments.....	21
*L'ubiquinone et cytochrome C.....	21
II-6. Les radicaux libres sont-ils indispensables à la vie ?.....	21

### III-LA MITOCHONDRIE ET L'APOPTOSE

III-1. Définition de l'apoptose.....	22
III-2. Les voies de l'apoptose.....	22
III-2-1. La voie extrinsèque ou la voie récepteur dépendant.....	22
III-2-2. La voie intrinsèque ou la voie mitochondriale.....	23
*Le cytochrome C.....	23
*Smac /Diablo.....	23
*L'AIF apoptosis inducing factor.....	23
*L'endonucléase G.....	23
*Le pore de perméabilité transitoire PTP.....	24
*Les caspases.....	24
III-2-3. Le déroulement de l'apoptose mitochondrial.....	25
III-2-4. Les théories de perméabilisation des membranes mitochondriales.....	26
III-2-5- L'intervention de la famille Bcl-2 dans la régulation de l'apoptose....	27
III-3. Les maladies liées au stress, apoptose et mitochondrie.....	28
III-3-1. L'ischémie-réperfusion.....	28
III-3-2. Le vieillissement.....	28
III-3-3. Sclérose amyotrophique latérale (SAL).....	29
III-3-4. Les maladies oculaires.....	29
III-3-5. Le cancer.....	29
III-3-6. Les maladies neurodégénératives.....	29

## **IV-LES FLAVONOÏDES**

IV.1- Définition.....	31
IV.2- Distribution et localisation.....	31
IV.3- Structure.....	32
IV.4- Classification.....	32
IV.5- Biosynthèse.....	32
IV.6- Pharmacologie des flavonoïdes.....	33
IV.6.1- Biodisponibilité des flavonoïdes.....	33
IV.6.2- Métabolisme des flavonoïdes.....	34
IV.7- Les activités biologiques des flavonoïdes.....	34
IV.8- Effet antioxydant des flavonoïdes.....	35
a-Chélation des ions métalliques.....	35
b-Piégeage des radicaux libres.....	35
c-L'inhibition enzymatique.....	36
<b>DISCUSSION.....</b>	<b>37</b>
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>41</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	

## Liste des abréviations

<b>ADN</b>	Acide désoxyribonucléique
<b>ADP</b>	Adénosine di-phosphate
<b>ATP</b>	Adenosine tri- phosphate
<b>AIF</b>	Apoptosis inducing factor
<b>Bax</b>	Bcl-2-associated protein
<b>Bcl-2</b>	B-cell lymphoma-2
<b>CARD</b>	Caspase recruitment domain
<b>CAT</b>	Catalase
<b>Cyt C</b>	Cytochrome C
<b>DRO</b>	Dérivés réactives de l'oxygène
<b>FAD</b>	Flavine-Adenosine-Dinucléotide
<b>FADH</b>	Flavine-Adenosine-Dinucléotide, forme réduit
<b>FADD</b>	Fas-associated death domain
<b>Fe /S</b>	Fer soufre
<b>FMN</b>	Flavine mononucléotide
<b>GPx</b>	Glutathion peroxydase
<b>GSH</b>	Glutathion réduit
<b>GSSH</b>	Glutathion-disulfure
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Deroxyde d'hydrogène
<b>HSP</b>	Heat Shock Protein
<b>IAP</b>	Inhibitors of apoptosis
<b>MDA</b>	Malondialdéhyde
<b>NADPH</b>	Nicotinamide Adenine Dinucléotide Phosphate
<b>NADH</b>	Nicotinamide Adenine Dinucléotide
<b>NO°</b>	Monoxyde d'azote
<b>OH°</b>	Radical hydroxyle
<b>ONOO<sup>-</sup></b>	Péroxynitrite
<b>O<sub>2</sub><sup>-</sup></b>	Anion superoxyde
<b>PTP</b>	Permeability transition pore
<b>R°</b>	Radical alkyl
<b>RET</b>	Transfert reverse des électrons
<b>RL</b>	Radical libre
<b>ROI</b>	Réactive oxygen intermediate
<b>ROS</b>	Réactive oxygen species
<b>ROM</b>	Réactive oxygen metabolites
<b>SOD</b>	Superoxyde dismutase
<b>TRxR</b>	la thiorédoxine réductase (TRxR)
<b>VDAC</b>	Voltage-dependent anion channel
<b>Vit</b>	Vitamine

# La liste des figures

Figure 01 : mitochondrie et la structure de la chaîne respiratoire mitochondrial.....	6
Figure 02 : La balance prooxydant /antioxydant.....	10
Figure 03 : Sources cellulaires de radicaux libres.....	12
Figure 04 : Transfert reverse (F.E.T) et transfert normal (R.T.E) des électrons au niveau du complexe I.....	14
Figure 05 : Formation de radicaux super oxydes en parallèle au métabolisme énergétique par fuite d'électrons à partir de l' ubisemiquinone.....	15
Figure 06 : Différents dégâts oxydatifs des espèces réactif de l'O <sub>2</sub> .....	16
Figure 07: Phase de propagation de la peroxydation lipidique.....	17
Figure 08: Le pore de transition de perméabilité.....	24
Figure 09 : Les sentiers extrinsèques et intrinsèques de l'apoptose.....	25
Figure 10 : Modes d'activation des caspases.....	26
Figure 11: Structure des protéines Bcl-2 et Bax.....	28
Figure 12: Squelette de base des flavonoïdes.....	31
Figure 13: Etapes communes de la biosynthèse de toutes les flavonoïdes.....	33
Figure 14 : Flavonoïdes et leurs sites proposés pour la chélation des ions métalliques (Me <sup>n+</sup> ).....	35
Figure 15 : Piégeage des ROS (R·) par les flavonoïdes.....	36

# *Introduction*

## INTRODUCTION

Depuis une dizaine d'années, il est maintenant clairement établi que la mitochondrie, le "*poumon de la cellule*", responsable de la production de l'énergie nécessaire à la cellule sous forme d'ATP, joue un rôle clé dans la production des espèces réactives de l'oxygène ROS. Ces ROS sont indispensables à l'organisme en intervenant à différents processus physiologiques vitaux tels que la transduction des signaux cellulaires et le fonctionnement de certaines enzymes, mais aussi dans le déclenchement de nombreuses pathologies à savoir le vieillissement, le cancer, le diabète, et les maladies neurodégénératives (Servais., 2004).

Les ROS peuvent être produites en excès créant un état de stress oxydant. Le stress oxydant est un syndrome au cours duquel les éléments pro-oxydants surpassent les capacités antioxydantes de l'organisme. Il en résulte un déséquilibre entre pro-oxydants et antioxydants. En vue de protéger l'organisme contre les radicaux libres nocifs et l'établissement d'un stress oxydatif, la formation des ROS est contrebalancée par un système de défense antioxydant qui comporte des molécules antioxydantes d'origine endogène comme la superoxyde dismutase SOD et la catalase CAT et d'autres exogène, rapportées par l'alimentation (Oullet., 2004).

L'apoptose, mort cellulaire programmée, joue un rôle déterminant dans le développement et l'homéostasie tissulaire. Paradoxalement, elle contribue à la "*sculpture du vivant*" à l'image de remodelage progressif de nos doigts "*transformant une moufle en gan*". L'intervention de la mitochondrie ne s'explique pas par une simple perte de fonction ayant pour conséquence un déficit énergétique, mais est reconnue plutôt comme un mécanisme actif s'accompagnant de profondes altérations. Lors de ce processus, on observe l'ouverture d'un megacanal mitochondrial appelé pore de transition de perméabilité et une dissipation du potentiel membranaire mitochondrial impliqués dans l'induction de relargage des molécules apoptotiques comme le cytochrome C qui se traduit au niveau de la mitochondrie par une peroxydation lipidique, protéique et des mutations de l'ADN mitochondrial; une situation que l'on observe dans le vieillissement et dans la plupart des maladies humaines (Mallissein., 2005).

Une grande partie de l'intérêt des recherches actuelles porte sur l'étude de molécules antioxydantes comme les vitamines, les caroténoïdes et les polyphénols. De nombreuses études ont démontré le pouvoir antioxydant des flavonoïdes, substances naturelles issues des plantes présentes dans tout le règne végétal. Leur activité antioxydante occupe une place importante dans le piégeage et l'inhibition de la production de radicaux libres en exprimant ainsi leur capacité à être pharmacologiquement des molécules très intéressantes bénéfiques dans le traitement de nombreuses pathologies (Marfak., 2003).

*Analyse*  
*Bibliographique*

## I. Généralité sur la mitochondrie

### I.1. Historique et définition

Une des différences les plus significatives entre les eucaryotes et les procaryotes est la possession de mitochondries. Ces organites ont été décrits pour la première fois en 1850 par un auteur allemand, La Valette Saint-Georges, et chaque cellule humaine contient en moyenne 1500 mitochondries. En 1890, Altman découvre dans le cytoplasme, des granulations et des filaments qui les dénomma bioblastes (du grec bios: vie et blastos: germe). Benda, qui, en 1902, reconnaît la présence constante de ces éléments (dans les cellules eucaryotes), donne à ces "*germes de vie*" le nom de mitochondries (du grec mitos:filament et kondria:granule). L'organisation générale des mitochondries, telle que nous la connaissons actuellement, a été mise en évidence grâce à la microscopie électronique par Palade (1952) et Sjostrand (1953). En 1959, Chevremont découvre la présence de molécules d'ADN dont la structure est fondamentalement différente et indépendante de celle de l'ADN nucléaire (Marc., 2000 ; Delbark., 2002).

Les mitochondries sont des organites présentes dans le cytoplasme de cellules eucaryotes aérobies (Yues et Clos., 1999 ; Peter et al., 2002). Elles affectent la forme de petits bâtonnets de 0,5µm à 1 µm de diamètre pouvant atteindre une longueur maximale de 7 µm. Elles se divisent et donnent naissance à des mitochondries filles de petites dimensions, subissent une phase de croissance pour atteindre leur taille habituelle. Le nombre, la forme, la taille et la distribution des mitochondries varient en fonction de l'activité de la cellule (Marc., 2000). Bien qu'elles contiennent une petite quantité d'ADN dont l'expression permet la synthèse de quelques protéines mitochondriales, la grande majorité des protéines que les mitochondries renferment proviennent du cytoplasme. Sources principales d'énergie produite sous forme d'ATP au niveau de la chaîne respiratoire, elles sont également impliquées dans le catabolisme des acides gras (Peter et al., 2002).

### I-2.Phylogenèse des mitochondries

La mitochondrie provient d'une endosymbiose entre un eucaryote primitif et une bactérie hétérotrophique aérobique peut-être comparable aux  $\alpha$ -proteo-bactéries actuelles. (Yues Maller., 1999 et Francois Widmer et al., 2004). Il y a plus d'un milliard d'années, la plupart des gènes de cette bactérie ont migré vers le noyau et nettement changé, mais toutes les mitochondries connues contiennent des gènes bactériens au niveau d'un chromosome (Thomas et al., 2004).

### I-3.Organisation de la mitochondrie

La mitochondrie comporte deux membranes tout à fait dissemblables, la membrane externe et la membrane interne qui délimitent deux compartiments; l'espace inter-membranaire et l'espace matriciel (Lodish et al., 1998).

#### I-3-1.La membrane externe

Est une membrane classique (40% de lipides et 60% de protéines) et ne présente aucun caractère morphologique distinctif (Echaniz., 2006). Contient des porines ; protéines porteuses non glycosylées comprenant des canaux appelés VDAC: voltage-dependent anion Channel, permettent le passage de molécules de 5 KD, y compris la plus part des métabolites nécessaires à la synthèse d'ATP (Cau et Seite., 1996 ; Thomas et al..

2004 ; Marc., 2000). Elle contient également des récepteurs d'importation TOM (translocase of the outer membrane), des complexes d'importation du cholestérol et les protéines de la famille B-cl2 (Marc., 2000).

### **I-3-2. La membrane interne**

Est très particulière; contient environ 20% des lipides et 80% des protéines (Lodish et al., 1997). S'invagine en replis appelés crêtes, dont le nombre et la morphologie varient en fonction de l'espèce, du tissu et de l'état métabolique. Ces crêtes peuvent se présenter sous forme de tubules ou de sacs aplatis, reliés par des jonctions. La membrane interne se caractérise par une perméabilité sélective (imperméable à la plus part des ions, en particulier les protons) (Thomas et al., 2004). La membrane interne comporte; les quatre complexes protéiques de la chaîne respiratoire, l'ATP synthétase qui seront décrits ci-après, deux types de transporteurs d'électrons cytochrome c et l'ubiquinone, des enzymes de la B-oxydation des acides gras et des perméases (Cau et Seïte.,1996).

### **I-3-3. L'espace intermembranaire**

Cet espace particulièrement étroit, perméable aux molécules de taille inférieure à 10 KD (ions, protons...). Il est particulièrement riche en protons, et contient des composants clefs impliqués dans la mort cellulaire qui sont la caspase 2 et 3, l'AIF ainsi que le cytochrome c (Marc., 2000).

### **I-3-4. La matrice mitochondriale**

Milieu aqueux interne, renferme des cations  $Ca^{++}$  et  $Mg^{++}$ , des ribosomes mitochondriaux constitués d'ARN et de protéines et d'ADN mitochondrial. Elle renferme aussi de très nombreux systèmes enzymatiques intervenant dans la B-oxydation des acides gras, l'oxydation de l'acide pyruvique et le cycle de l'acide citrique (Alberts et al., 1994 ; Maillet., 2000).

## **I-4. Le génome mitochondrial**

L'existence d'un génome mitochondrial a été démontré par la première fois en 1964 par des travaux sur une moisissure de genre *Neurospora* (Eberhard., 2003). La matrice mitochondriale contient 5 à 10 copies d'ADN<sub>mt</sub> ; il s'agit d'un ADN bicaténaire circulaire (Echaniz., 2006), dépourvu d'histones et d'introns, sa longueur est de 16569 Pb, code pour 13 protéines de la chaîne respiratoire, 22 ARNt et 2 ARNr. La transmission est exclusivement maternelle (Widmer et al., 2004 ; Andrews et al., 1999): toutes les mitochondries d'une cellule œuf proviennent de la mère, au cours de la fécondation, un spermatozoïde fournit son génome nucléaire pour la formation de la cellule œuf, mais ne transmet pas ses mitochondries (Ouellet., 2004). L'ADN<sub>mt</sub> se réplique dans la matrice selon le même processus que pour l'ADN nucléaire (mécanisme semi conservatif), mais contrairement à la réplication nucléaire, la réplication mitochondriale n'est pas limitée à la phase S du cycle cellulaire et se produit pendant toute l'interphase. La réplication et la réparation de l'ADN<sub>mt</sub> sont moins fidèles que celle de l'ADN nucléaire, ce qui explique l'évolution rapide des gènes mitochondriaux (Yues et Clos., 1999). La quantité d'information portée par l'ADN<sub>mt</sub> est 100.000 fois inférieure à celle portée par l'ADN nucléaire. L'ADN<sub>mt</sub> représente 1 à 5 % de l'ADN cellulaire total (Maillet., 2000).

### I-5. Renouvellement des mitochondries

Les mitochondries ont une durée de demi vie de l'ordre de 6 à 10 jours selon les cellules. Le remplacement des mitochondries est assuré par la division binaire de mitochondries préexistantes en mitochondries filles plus petites qui augmenteront ensuite de volume. Le mécanisme de division est rapide, de l'ordre de 60 secondes.

Les constituants mitochondriaux sont renouvelés en permanence soit par des synthèses se déroulant dans la mitochondrie, soit par des importations. Les mécanismes d'importation protéiques de la mitochondrie sont extrêmement complexes et font intervenir des séquences d'adressage protéiques, des molécules chaperons (Comme par exemple : les protéines Hsp pour heat shock proteins) (Echaniz., 2006).

### I-6. La chaîne respiratoire mitochondriale

La chaîne transporteuse d'électron, voie réactionnelle catabolique, assure le transfert d'électrons libérés par le catabolisme qui sont cédés au NAD ou FAD puis aux 4 complexes de la chaîne respiratoire, le transfert d'électrons libère une énergie qui permet l'exportation des protons dans la chambre externe (Widmer., 2004 ; Marc., 2000).

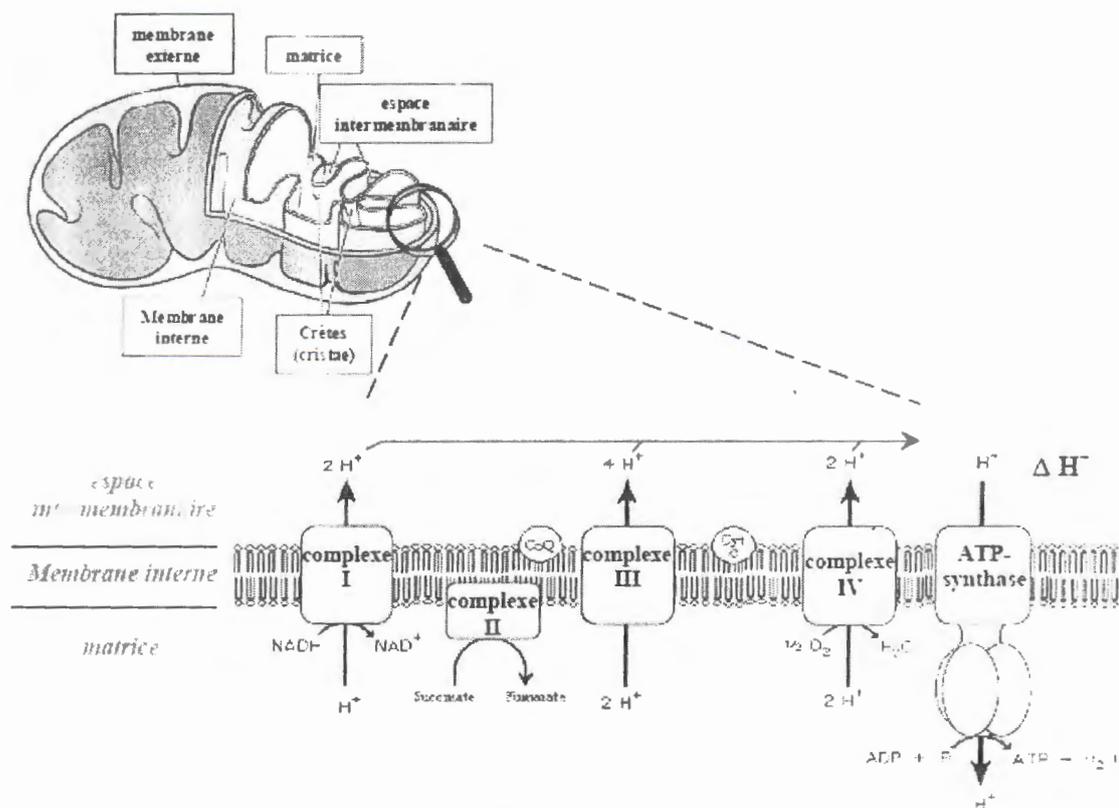


Figure01 : mitochondrie et la structure de la chaîne respiratoire mitochondriale (Servais., 2004).

### I-5-1.Complexe I: NADH ubiquinone oxydoréductase

Il s'agit de l'élément le plus volumineux de poids moléculaire supérieur à 900 KD, il comporte plus de 40 sous unité protéiques différentes portant de la matrice vers la membrane interne. Il peut être séparé en 03 fractions: une flavoprotéine qui porte le coenzyme FMN, une protéine fer-soufre porteuse de 6 ou 7 centres (ou *clusters*) fer-soufre et une protéine hydrophobe. Le complexe I est le premier élément de la voie de transport des électrons, pour chaque molécule de NADH oxydé par NADH déshydrogénase, il entraîne la migration de quatre protons de la matrice vers la membrane interne. Le complexe I est inhibé par la roténone, les barbituriques (Peter et al., 2002 ; Servais., 2004 ; Thomas et al., 2004).

### I-5-2.Complexe II: succinate ubiquinone réductase

Une enzyme transmembranaire qui fait partie du cycle du Krebs, il comporte 4 sous unité:la flavoprotéine porteuse d'un groupe His-FAD et une sous unité fer-soufre qui porte les trois centres fer-soufre, deux polypeptides membranaires intrinsèques (Peter et al., 2002). Assure le couplage de l'oxydation de succinate en fumarate et la réduction de FAD en FADH<sub>2</sub>, il ne pompe pas les protons mais transfère les électrons à l'ubiquinone. L'utilisation de malonate permet d'inhiber l'activité de ce complexe (Cau et al., 1996, Thomas et al., 2004 ; Servais., 2004).

### I-5-3.Complexe III: cytochrome bc<sub>1</sub>

Ce complexe protéique transmembranaire dimère (550 KD) comporte 11 sous unités différentes (cytochrome b, cytochrome c<sub>1</sub>, cytochrome c...etc.). Il assure le couplage de l'oxydation et la réduction de l'ubiquinone au transfert des protons de la matrice à travers la membrane mitochondriale interne. L'énergie des électrons qui passent dans le cytochrome b est cédée à une sous unité comportant un centre d'oxydoréduction 2Fe2S qui pivote pour permettre le transfert des électrons au cytochrome c<sub>1</sub>. L'électron migre ensuite vers une protéine hydrosoluble:le cytochrome c (Thomas et al., 2004). L'antimycine A et le myxothiazol inhibent le complexe III à des étapes différentes de transfert d'électrons (Servais., 2004).

### I-5-4.Complexe IV: cytochrome C oxydase

Constitué de 13 sous-unités, les sous unités 1 et 2 portent des groupements hémiques qui réagissent avec l'oxygène moléculaire aussi que des ions cuivres qui sont impliqués dans le mécanisme d'action de complexe V, il accepte les électrons provenant de quatre molécules de cytochrome c pour assurer la réduction de l'oxygène moléculaire en deux molécules d'eau et le pompage de 4 protons hors de la matrice mitochondriale. Les trois unités qui constituent l'élément central de cette enzyme sont codées par des gènes mitochondriaux les dix unités adjacentes sont codées par des gènes nucléaires (Thomas et al., 2004). Le complexe V est inhibé par le cyanure et le monoxyde de carbone (Servais., 2004).

### I-5-5.Complexe VI : ATP synthase

Complexe multiprotéique de 550 KD appelé ATPase à protons ou facteur de couplage F<sub>0</sub>/F<sub>1</sub> (Echaniz., 2006). Il est constitué de deux sous-unités F<sub>1</sub> et F<sub>0</sub>. F<sub>0</sub> en comporte 7 sous unités et F<sub>1</sub> en comporte 9 sous unités (Peter et al., 2002). Le gradient électrochimique de protons créé par la chaîne de transport d'électrons fournit l'énergie nécessaire à la synthèse de l'ATP à partir de celui-ci (Thomas et al., 2004).

## **I-6. Les principaux rôles de la mitochondrie**

C'est dans les mitochondries qui se déroule la totalité des réactions de la chaîne respiratoire, ainsi que le cycle de Krebs; cycle de réactions biochimiques assurant la production d'énergie sous forme utilisable par la cellule (ATP, et GTP, les enzymes) (Ouellet., 2004). On les rencontre également dans les réactions chimiques et les processus biologiques humains, tels que la synthèses des lipides, la synthèses des hormones stéroïdiennes, la régulation de  $\text{Ca}^{++}$  intracytoplasmique, la participation à l'apoptose, la thermorégulation, le contrôle du poids corporel, la production de ROS (Réactive Oxygène Species). Ils interviennent également dans le cycle de l'urée et dans le cycle de l'hème (Cau et Seïte., 1996 ; Peter et al., 2002 ; Thomas et al., 2004).

### **I-6-1. La synthèse d'ATP**

Les mitochondries sont le site de conversion de l'énergie en ATP par la phosphorylation oxydative, en utilisant l'acétyle COA issu du pyruvate (la glycolyse) et des acides gras (la lipolyse) (Thomas et al., 2004). Sa dégradation au cours d'un cycle de Krebs permet la synthèse de 03 molécules de  $\text{NADH}_2$  et une molécule de  $\text{FADH}_2$  qu'ils sont oxydées par les complexes I et II respectivement, ce qui entraîne la réduction de l'ubiquinone. Les électrons libérés sont alors transférés au complexe III, puis au cytochrome C, enfin au complexe IV avant d'être oxydés par l'oxygène (Peter et al., 2002). L'énergie provenant des électrons est utilisée pour pomper les protons provenant de la matrice vers la membrane interne. Ce phénomène crée un gradient électrochimique de protons qui est exploité par l'ATP synthase pour la synthèse d'ATP) à partir d'ADP et de Pi (Peter et al., 2002; Thomas et al., 2004).

### **I-6-2. La synthèse des lipides**

Les acides gras sont synthétisés dans le cytosol, alors que l'acétyle COA, l'axaloacetate et le citrate (produits nécessaires à la synthèse des lipides) sont formés à partir du pyruvate dans les mitochondries, ils doivent donc être transféré des mitochondries vers le cytosol; le citrate est formé dans la matrice mitochondriale par condensation de l'acétyle COA avec l'axaloacetate. Quand il est présent à concentration élevée, le citrate est transporté vers le cytosol où il entre dans une série de réactions permettant la synthèse des acides gras (Streyer., 1997).

### **I-6-3. La synthèse des hormones stéroïdes**

Les molécules de cholestérol nécessaire a la synthèse des stéroïdes (œstrogènes, androgènes, progestérone) pénètrent dans la matrice. Des molécules de cytochrome P450 situées dans la membrane (leur site actif prolonge dans la matrice, transforment les molécules de cholestérol en molécule de pregnolone. Les molécules prégnénolone gagnent le REL qui les transforme soit en oestrogène, progestérone, androgène soit en un métabolite intermédiaire qui retourne vers la matrice mitochondriale pour y être transformé en cortisol ou en aldostérone (Marc., 2000).

### **I-6-4. L'implication de la mitochondrie dans l'apoptose**

La mitochondrie est reconnue comme étant d'intégration majeur de la voie de mort cellulaire (Ouellet., 2004). Cette voies est déclanchée par une grande variété d'agression toxique (Thomas et al., 2004) caractérisé par l'ouverture de pore de transition de perméabilité (PTP) de la mitochondrie. Conduisant a une altération de protéines pro-apoptotiques (la protéine de transport des électrons : le cytochrome C et l'AIF) dans le

cytoplasme ou on trouve les caspases capables de déclencher l'apoptose. La famille de Bcl2 joue un rôle crucial dans la régulation du sentir mitochondrial (Yues et al., 1999).

#### **I-6-5.L'implication de la mitochondrie dans le stress**

Au niveau de la chaîne respiratoire, le transfert des électrons d'un complexe à l'autre se fait jusqu'à l'accepteur final ; l'oxygène (Marfek., 2003). En condition pathologique le dysfonctionnement de synthèse de régulation de l'oxygène et de ces métabolite est à l'origine de la production des espèces réactives de l'oxygène (ROS) (Gardés et al., 2003). Lorsque on a un déséquilibre entre la production de ces ROS et l'activité des anti-oxydants, la cellule se trouve alors dans un état de stress oxydant (Coulent., 2004).

#### **I-6-6.La régulation de l'homéostasie du Calcium**

L'homéostasie est la capacité de conserver l'équilibre de fonctionnement en dépit des contraintes extérieures (Milanie Crondin., 2002). Dans la mitochondrie, le calcium est la clé régulatrice de la fonction mitochondriale. Les mitochondries sont capables de prendre de grandes quantités de  $\text{Ca}^{++}$  cytosolique, elles agissant tant que dispositifs de sécurité contre des augmentation potentiellement toxiques du  $\text{Ca}^{++}$  cytosolique. elles captent et libèrent le  $\text{Ca}^{++}$  par des modes de transport différents. Ainsi le  $\text{Ca}^{++}$  entre à travers les uni porteurs  $\text{Ca}^{++}$ , et il est libéré essentiellement par un transport antiport ( $\text{Na}^{++}/\text{Ca}^{++}$ ) ( $\text{Na}^{++}/\text{H}^{+}$ ) au niveau de la membrane mitochondriale d'importation de  $\text{Ca}^{++}$  sont les désydrégénase de cycle kreebs car toutes ces enzymes sont régulées par le  $\text{Ca}^{++}$  est un important déclencheur de l'apoptose (Ouellet., 2004), de plus, l'accroissement du calcium intracellulaire à partir des mitochondries entraîne l'augmentation de la production des radicaux libre est une augmentation de l'oxyde d'azote synthétase (Marc.. 2000).

## II-LE STRESS OXYDANT

En conditions physiologiques, l'oxygène, élément indispensable à la vie, produit en permanence au niveau de la mitochondrie des espèces réactives de l'oxygène (ROS) dont font partie les radicaux libres. Favorisant habituellement le bon fonctionnement de l'organisme, leur excès peut être néfaste. L'organisme a développé des systèmes de défense qui permettent de réguler la production de ROS qui sont les antioxydants (Pincemail, 1999).

### II-1.Définition

Pour définir le stress oxydant, il faut avant tout définir ceux que sont les radicaux libres. Un radical libre est une espèce chimique, (atome ou molécule) contenant un électron non apparié sur sa couche périphérique. Ce déséquilibre n'est que transitoire et est comblé soit par l'acceptation d'un autre électron, soit par transfert de cet électron libre sur une autre molécule (Marfak., 2003). Cette propriété rend les radicaux libres aptes à réagir avec différentes molécules, notamment lors de la réaction en chaîne dont l'exemple le plus connu est celui de la peroxydation des lipides. La réactivité des radicaux de l'oxygène ne doit pas plus être exagérée car elle est très variable selon la nature du radical (Laurent., 2005). Dans certaines situations, l'excès de ces radicaux aboutit à ce qu'on appelle : stress oxydant, qui se définit comme étant le résultat d'un déséquilibre entre la balance des prooxydants/antioxydants avec comme conséquence, l'apparition des dégâts souvent irréversibles pour nos cellules (Pincemail et al., 1999).

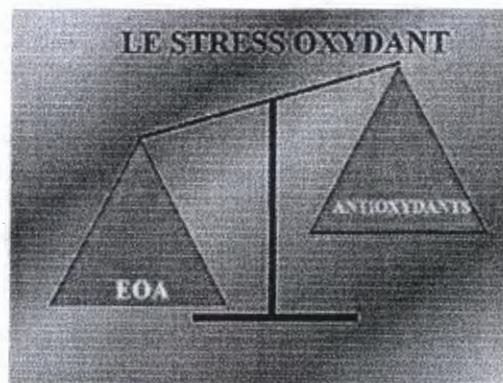


Figure 02: La balance prooxydant /antioxydant (Pincemail., 2000).

### II-2.Les espèces réactives de l'oxygène

L'appellation de ROS n'est pas restrictive. Elle inclut les hydroxyles ( $O^{\circ}H$ ), monoxyde d'azote ( $NO$ ), et aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante tels que le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) et le peroxonitrite ( $ONOO^{\circ}$ ) (Marfak., 2003). Ils sont nommés "*dérivés réactif de l'oxygène*" (DRO) ou pour les Anglo-saxons, *reactive oxygen species* (ROS), *reactive oxygen intermediates* (ROI) ou encore "*reactive oxygen metabolites*" (ROM) (Aurouseau., 2000). En dehors de toutes pathologies, une première origine des phénomènes radicalaire est la formation initiale de l'anion superoxyde ( $O^{\circ}_2$ ), le plus courant des radicaux oxygénés libres. Le premier mécanisme impliqué est la combinaison directe de l'oxygène apporté aux cellules avec les électrons qui échappent à la chaîne respiratoire (Cadenas et al., 1997). Cet anion superoxyde peut alors dismuter soit spontanément, soit de façon enzymatique pour donner de l'eau oxygénée ( $H_2O_2$ ), qui peut à son tour se transformer en radical hydroxyle

production d'ATP, la synthèse des eicosanoïdes ou encore la réponse inflammatoire (Haton., 2005).

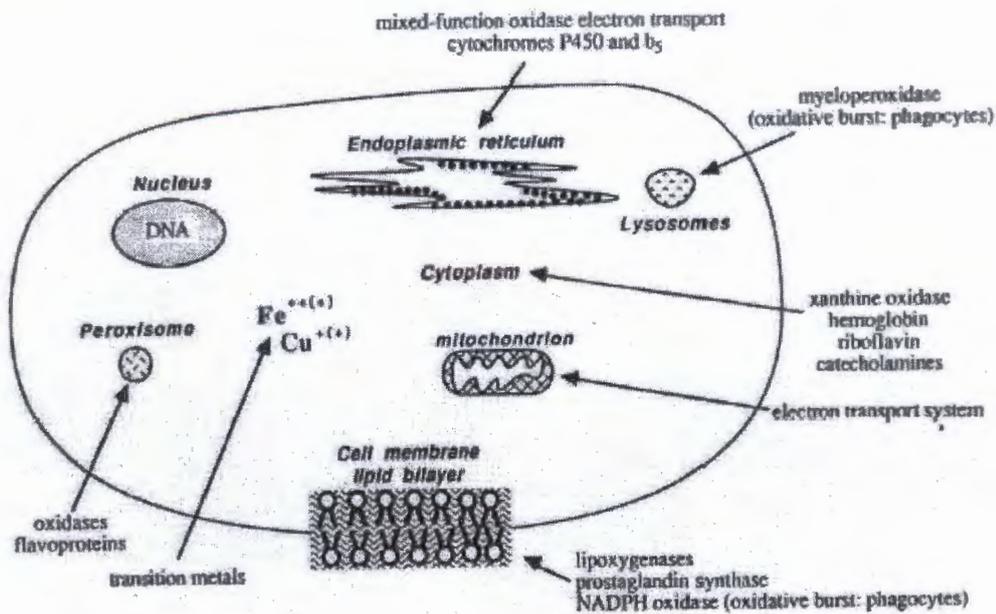
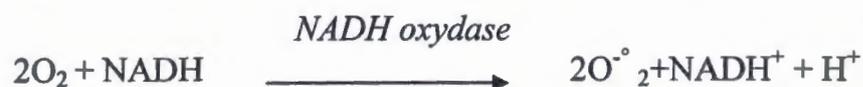


Figure 03 : Sources cellulaires de radicaux libres (Ouellet., 2004).

#### • NADH oxydase

L'inflammation est une source importante de RL produits directement par les cellules phagocytaires activées qui sont le siège d'un phénomène appelé *respiratory burst* consistant à l'activation du complexe de la NADH oxydase.



Cette enzyme est normalement dormante est activée lorsque la cellule phagocytaire est stimulée soumise à un phénomène appelé explosion oxydative. Cette production du superoxyde est à l'origine de la synthèse de molécules comme le peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) ou l'hypochlorite ( $\text{ClO}$ ), indispensable à la destruction du matériel phagocyté. Cette voie de production de dérivés réactifs de l'oxygène est particulièrement stimulée au cours de processus infectieux et participe certainement au stress oxydatif pouvant compliquer ces états (Haton., 2005).

#### • La xanthine oxydase

La xanthine déshydrogénase est une enzyme ubiquitaire dans le catabolisme de l'ATP. Au cours des phénomènes d'ischémie-reperfusion, cette enzyme est modifiée en xanthine oxydase qui génère du superoxyde en présence d'oxygène et de xanthine ou d'hypoxanthine. Ainsi cette voie de production de dérivés réactifs de l'oxygène participe Probablement au stress oxydatif chez tout patient présentant une pathologie ischémique, que celle-ci soit facilement (infarctus) ou difficilement reconnue (état de choc, micro thromboses...etc.) (Fahn et al., 1992).

### • Les ions métalliques

Les ions métalliques comme le fer et le cuivre, sont de remarquables promoteurs de processus radicalaire, ils transforment le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en radical hydroxyle (<sup>•</sup>OH), encore plus toxique, et accélèrent la peroxydation lipidique. En situation physiologique, la concentration libre de fer ou de cuivre est particulièrement basse, ces métaux étant séquestrés par des protéines spécialisées, de sorte que cette réaction n'a pas lieu. En revanche, les destructions cellulaires (hémolyse, cytolysse, etc.) entraînent une libération de ces métaux pouvant engendrer un stress oxydatif (Fahn et al., 1992).

### • La NO-synthase

Beaucoup de cellules sont capables de produire du monoxyde d'azote (NO) à partir d'arginine et d'oxygène, dans une réaction catalysée par la NO-synthase. Il existe une seconde forme de NO-synthase, sous l'action des cytokines et des endotoxines libérées lors d'un sepsis, cette forme est inductible et produit de grandes quantités de NO (Halliwell et Gutteridge., 1984).

### • Les peroxysomes

Les peroxysomes est une source importante dans la production cellulaire des ROS, car cet organite contient de nombreuses enzymes générant du peroxyde d'hydrogène, toutes fois ce dernier est utilisé comme substrat par la catalase peroxysomale afin de réaliser les processus de détoxification présents dans le foie et le rein (Servais., 2006).

### • Implication de la mitochondrie dans la production de ROS

La chaîne respiratoire mitochondriale est la source principale de ROS dans la cellule, elle produit en effet 90% des ROS (Garait et al., 2005). Au cours de la respiration cellulaire, la mitochondrie génère de l'ATP via la réduction de l'oxygène par une série d'addition d'électron et d'ions H<sup>+</sup>. L'inflammation est une source importante de RL produits directement par les cellules phagocytaires activées qui sont le siège d'un phénomène appelé "*respiratory burst*" consistant à l'activation du complexe de la NADH oxydase (Haton., 2005). Environ 0,4 à 4 % de cet oxygène ne seront pas correctement convertis en eau suite à des fuites électroniques résultant d'imperfection de la chaîne respiratoire mitochondriale (Anisio., 2005; Curtin et al., 2002). La réduction de l'oxygène par les électrons échappant à la chaîne respiratoire (réduction mono-électronique) conduit à la formation de l'anion superoxyde (Curtun et al., 2002).

La production de ROS se fait par au moins neuf enzymes dans les mitochondries des mammifères, ils sont ubiquitaires, mais leur capacité de produire les ROS, également leur expression varient selon les tissus et les espèces (Andrey et al., 2004). L'évolution de concepts a permis de confirmer l'importance des complexes I et III dans la production de ROS (Kushnareva et al., 2002).

#### \*Complexe I et transfert reverse des électrons

Le complexe I oxyde le NADH en utilisant le coenzyme Q comme accepteur d'électrons dans une réaction réversible (Andrey et al., 2004). A ce jour le site exact de la production de ROS par ce complexe reste controversé. Trois hypothèses sont émises : Cette production aurait lieu au niveau des quinones (Cadenas et al., 1997), au niveau du groupe des flavines mononucléotides (FMN) (Liu et al., 2002) ou au niveau du groupe fer soufre (Fe/S) (Genova et al., 2001; Kushnareva et al., 2002). Comme ces trois structures sont très proches les unes les autres et interagissent les unes avec les autres il est difficile

production de ROS par ce complexe reste controversé. Trois hypothèses sont émises : Cette production aurait lieu au niveau des quinones (Cadenas et al., 1997), au niveau du groupe des flavines mononucléotides (FMN) (Liu et al., 2002) ou au niveau du groupe fer soufre (Fe/S) (Genova et al., 2001; Kushnareva et al., 2002). Comme ces trois structures sont très proches les unes les autres et interagissent les unes avec les autres il est difficile de dire la quelle intervient spécifiquement dans cette production mais, les données globales dans ce sujet supportent l'opinion que les ROS sont très probablement produite par le centre Fe-S et que le centra N-1aFe-S est le candidat le plus puissant. (Garat., 2006). Le complexe I génère du superoxyde à partir du NADH lorsqu'il est inhibé par un mécanisme potentiel membranaire indépendant, il peut aussi produire du superoxyde à partir de l'ubiquinol par un mécanisme potentiel dépendant dit "transfert reverse des électrons" (RET) : est une série des réactions s'effectuant au niveau de la chaîne respiratoire conduisant au transfert des électrons contre le gradient du potentiel redox des transporteurs d'électrons, de Coenzyme Q vers le NADH+ au lieu de l'oxygène. Le complexe I est inhibé également par l'acidification du milieu (Andrey et al., 2004).

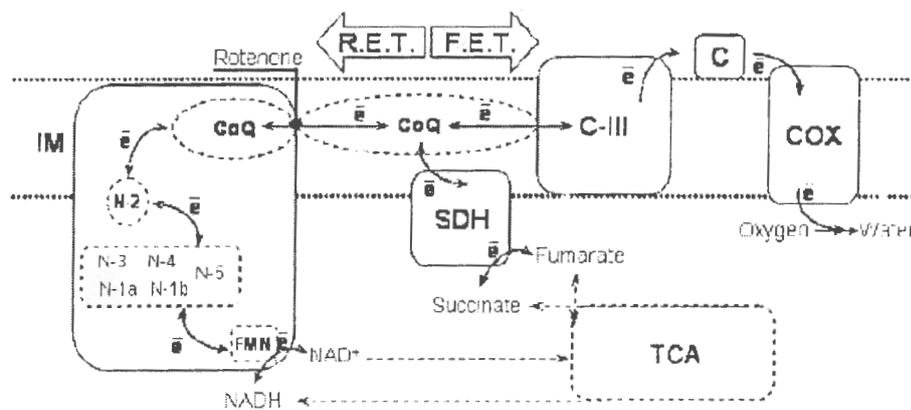
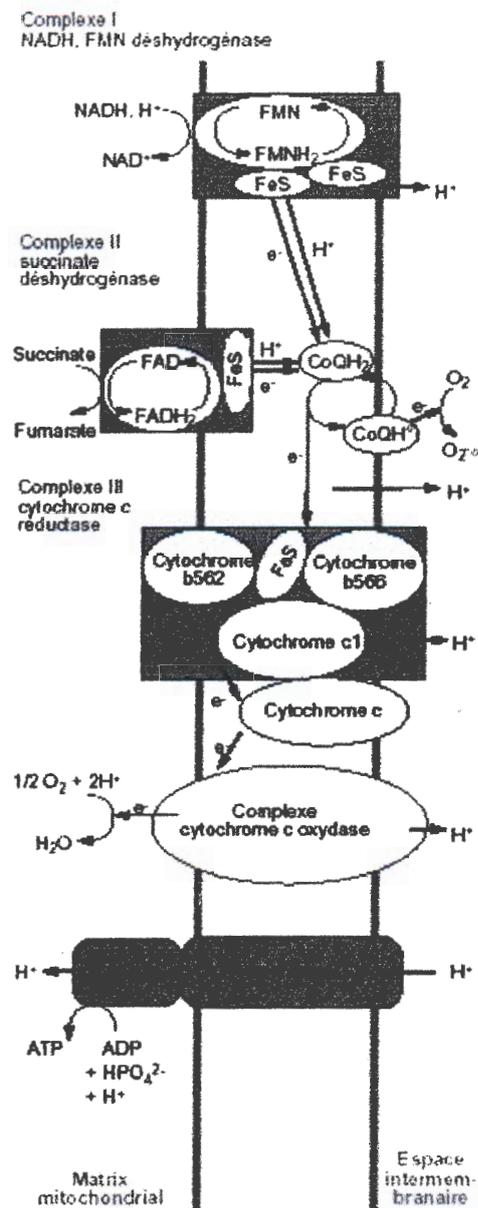


Figure 04 : *Transfert reverse (R.E.T) et transfert normal (F.T.E) des électrons au niveau du complexe I (Andrey et al., 2004).*

#### • Complexe III et cycle Q

La production de ROS par le complexe III représente un exemple remarquable de recherche déductive en sciences biochimiques. Il est capable de la production robuste de l' $O_2^{\cdot-}$ , et utilise le cytochrome C comme accepteur d'électron (Turrens et Boveris., 1980). Lors du cycle Q, une partie des électrons s'échappe à partir de la forme intermédiaire radicalaire du Coenzyme Q pour réagir directement avec l'oxygène dissous dans la matrice et forme les anions superoxydes radicalaires (Aurousseau., 2002). Au niveau de ce cycle, deux molécules d'ubiquinol  $QH_2$  pénètrent dans le cycle, délivrent chacune un électron au cytochrome  $C_1$  (Via Fe-S) ce qui aboutit à la formation d'anion ubisemiquinone  $Q^{\cdot-}$ . Les protons libérés lors de cette réaction passent dans l'espace intermembraire pour oxyder le radical  $Q^{\cdot-}$  en ubiquinone par le cytochrome  $b_{566}$ . Une molécule d'ubiquinone Q produite par cette voie est alors réduite en ubisemiquinone par un électron du cytochrome  $b_{562}$ , qui lui-même, a été réduit par le cytochrome  $b_{566}$ . Un second électron du  $b_{562}$  réduit ensuite  $Q^{\cdot-}$  en  $QH_2$ . L'autre molécule de Q formée précédemment est réduite en  $QH_2$  par le complexe I ou par une autre flavoprotéines ubiquinone-réductase et le cycle peut alors continuer (Peter et al., 2002). Il existe plusieurs substances qui agissent sur le cycle comme par exemple; l'antimycine A, qui

*in vivo*, le complexe I est la source majeure de ROS lors du transfert normal des électrons et surtout à travers le transfert reverse (Pierre et al., 2002; Herrero et Barjao., 2000).



**Figure 05 : Formation de radicaux super oxydes en parallèle au métabolisme énergétique par fuite d'électrons à partir de l'ubisémiquinone (Aurousseau., 2002).**

#### I-4. Les dégâts oxydatifs des espèces réactives de l'oxygène

Lorsqu'un déséquilibre se produit entre la production de ROS et l'activité antioxydante des cellules, la concentration de ROS augmente, déclenchant ainsi un stress oxydant. Les dommages liés à ce dernier se traduisent par diverses altérations biochimiques intracellulaires telles que la perturbation de l'homéostasie du calcium intracellulaire, l'oxydation des protéines, d'ADN, des glucides, et la peroxydation des lipides (Bacot., 2004).

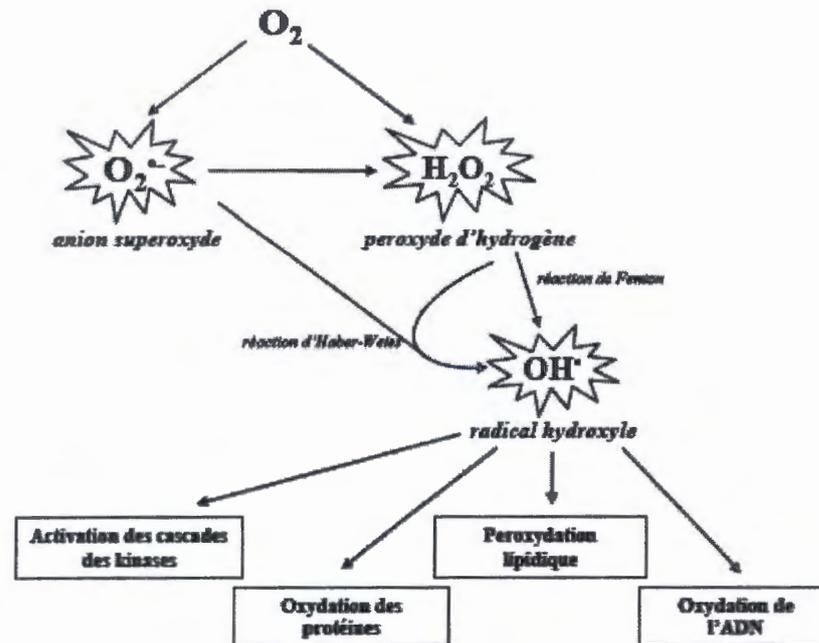


Figure 06: Différents dégâts oxydatifs des espèces réactives de l'oxygène (Garait., 2006).

### • Peroxydation lipidique

Les AGPIS (Acide Gras Polyinsaturés) sont les cibles privilégiées des ROS en raison de leurs hydrogènes bis allyliques facilement oxydables (Bacot., 2004; Laurent., 2005). La lipoperoxydation peut résulter de plusieurs voies réactionnelles en fonction du milieu et des initiateurs principalement les métaux (Eymard., 2003). Elle s'agit d'un enchaînement des réactions radicalaires organisées en 03 phases successives: phase limitante d'initiation, phase explosive de propagation et phase de terminaison (Laurent., 2004).

#### \*Phase d'initiation

Le mécanisme de la peroxydation lipidique est initié lorsqu'une espèce radicalaire est capable d'arracher un atome d'hydrogène provenant d'un groupement méthylène (-CH<sub>2</sub>-) d'un acide gras polyinsaturé (RH) (Halliwell et Gutteridge., 1984). Le radical hydroxyle OH• considéré comme le véritable initiateur de la lipoperoxydation, rôle qu'il partage avec le radical hydroperoxyde <sup>•</sup>OOH (Laurent., 2004). Cette phase d'initiation aboutit à la formation de radical d'acide gras (R). Le radical libre ainsi obtenu est stabilisé par un réarrangement électronique conduisant à la formation de deux diènes conjugués (Bielski et al., 1983).



#### \*Phase de propagation

C'est une étape d'amplification où le radical libre se combine avec l'oxygène, dont la concentration dans les tissus et le sang est toujours très supérieure à celle qui est nécessaire pour former un radical peroxyde (ROO•). Ce dernier est capable de réagir avec une molécule lipidique voisine (RH) entraînant la formation d'un hydroperoxyde (ROOH) et d'un nouveau radical alkyle (R), qui assure la propagation de la réaction.

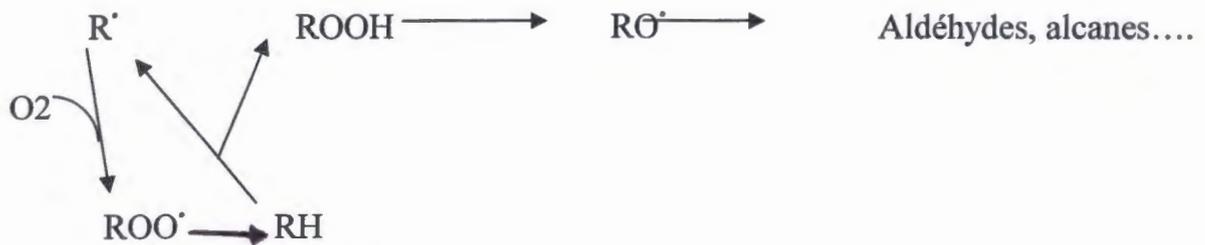
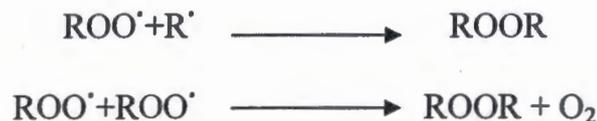


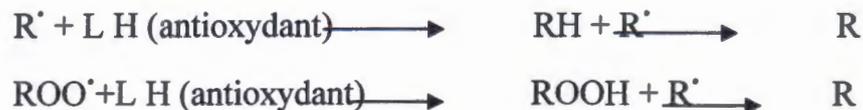
Figure 07: Phase de propagation de la peroxydation lipidique (Bacot., 2004).

### \*Phase de terminaison

Cette dernière étape consiste en la formation de composés stables issus de l'association de deux espèces radicalaires (Laurent., 2004). Le radical (R) réagit avec un autre radical libre (ROO) ou (R) permettant la neutralisation des radicaux libre, aboutissant ainsi à la terminaison de la chaîne de peroxydation:



La phase de terminaison peut aussi faire intervenir des molécules antioxydantes en particulier l' $\alpha$ -tocophérol (vit E), qui joue le rôle de piègeur de radicaux libres. Cette dernière est présente dans les structures lipidiques membranaires et est convertie en un radical tocophéryle qui est généralement annihilé par la vit C (Bacot., 2004).



Les hydroperoxydes lipidiques formés sont dégradés principalement en malonedialdéhyde (MDA), et 4-hydroxynonéal (4-HNE), ce sont des produits très toxiques (mutagènes) puis qu'ils peuvent également modifier l'ADN et sont impliqués dans les mécanismes apoptotiques. La détermination du MDA par l'acide thiobarbiturique a été utilisée pour évaluer *in vivo* la présence d'une peroxydation lipidique (Reilly., 1996).

### • Oxydation de l'ADN

Bien que l'ADN soit la mémoire de toute la composition biochimique des êtres vivants, il s'agit d'une molécule très sensible à l'attaque par les radicaux de l'oxygène (Favier et al., 2002). Les ROS réagissent avec la guanine, base constitutive de l'ADN, pour la transformer en 8-hydroxy-2' désoxyguanosine qui est capable d'induire des mutations spécifiques impliquées dans le développement du cancer (Pincemail et al., 1999 ; Meyers ., 2000). Mais le stress oxydant peut aussi attaquer la liaison entre la base et le désoxyribose créant un site abasique, ou attaquer le sucre lui même, créant une coupure de la chaîne simple brin (Favier., 2003). Le stress oxydant étant principalement d'origine mitochondriale, ces organites sont les premières cibles de ROS. En effet, le

génomique mitochondriale présente une susceptibilité au stress oxydant qui est 10 fois supérieure à celle du génome nucléaire (Richter et al., 1988).

### • Oxydation des protéines

En présence de ROS, les protéines peuvent se dénaturer, se fragmenter ou perdre leurs structures primaire et secondaire (Davies., 1999). Les plus sensibles aux attaques radicalaires sont surtout celles qui comportent un groupement sulfhydrate (SH) (Favier., 2002). Les modifications des structures primaires, secondaires et tertiaires des protéines par les ROS seront à la base de la formation de dérivés protéiques carbonyles via plusieurs mécanismes incluant la fragmentation et l'oxydation des acides aminés (Pincemail et al., 1999). C'est le cas de nombreuses enzymes cellulaires et protéines de transport qui vont ainsi être oxydées et inactivées. D'autres lésions irréversibles conduisent à la formation d'un intermédiaire radicalaire. Les protéines modifiées par l'oxydation perdent leurs propriétés biologiques (enzymes, anti-enzymes, récepteur...etc.) et deviennent beaucoup plus sensibles à l'action des protéases et notamment du protéasome. Les protéines oxydées deviennent aussi très hydrophobes, soit par suppression de groupement amines ionisables, soit par extériorisation de zones hydrophobes centrales (Favier., 2002). La mise en évidence des groupements carbonyles est la technique la plus utilisée pour évaluer la présence des protéines oxydées (Marqueurs d'oxydation protéiques) (Pantke et al., 1999).

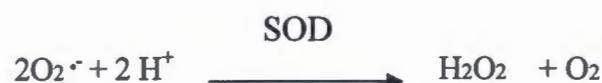
## II-5.Système de défense contre le stress oxydant

L'équilibre entre les effets positifs et négatifs des EOA est particulièrement fragile. La production des EOA sera strictement régulée par notre organisme qui a développé des défenses antioxydantes pouvant nous protéger contre les effets potentiellement destructeurs de ROS (Sies., 1991). Les antioxydants peuvent être définis comme toute substance qui, présente à faible concentration par rapport au substrat oxydable (Buettner et al., 1996). Les défenses antioxydantes permettent de prévenir la génération des EOA (antioxydants primaires), d'inactiver ceux-ci ou encore de limiter les effets délétères des EOA (antioxydants secondaires) (Demoffart et al., 2005).

### II-5-1.Les antioxydants enzymatiques

#### \* La superoxyde dismutase (SOD)

Comme l'indique son nom, la superoxyde dismutase (SOD), qui existe sous différentes formes, est une enzyme qui accélère la dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène selon la réaction suivante :



Le mécanisme réactionnel est catalysé par un métal situé au centre de l'enzyme dont la nature permet de distinguer trois isoformes: la cuivre/Zinc SOD (Cu/Zn-SOD), la manganèse SOD mitochondriale (Mn-SOD) et la SOD extracellulaire (EC/SOD). La SOD mitochondriale est induite par le stress oxydant, contrairement à la forme cytosolique, et par la thioredoxine (Marfak., 2003).

### \* La catalase

Les catalases sont présentes dans un grand nombre de tissus mais sont particulièrement abondantes dans le foie et les globules rouges. Ce sont des enzymes tétramériques, chaque unité portant une molécule d'hème et une molécule de NADPH, avec une masse moléculaire de 240 KD (Matés et al., 1999).

Dans les cellules des mammifères, sa principale localisation subcellulaire est le peroxyosome, où elle catalyse la dismutation du peroxyde d'hydrogène:



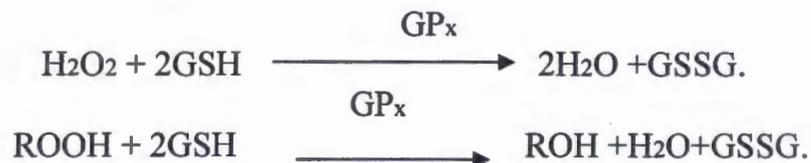
La catalase possède également la propriété de détoxifier différents substrats, tels que les phénols et les alcools, via un couplage avec la réaction du peroxyde d'hydrogène:



L'un des majeurs rôles antioxydants de la catalase est donc de diminuer la formation de radicaux hydroxyles générés par la réaction de Fenton à partir d' $\text{H}_2\text{O}_2$  (Fridovich., 1999).

### \* La glutathion peroxydase (GP<sub>x</sub>)

C'est la dernière GP<sub>x</sub> découverte (Pfeifer et al., 2001). C'est une sélénoprotéine de 34 KD qui est fortement exprimée dans les spermatides tardives. Elle est localisée dans le noyau et semble impliquée dans la protection de l'ADN contre les dommages oxydatifs (Bacot., 2004), l'élimination des peroxydes lipidiques résultant de l'effet du stress oxydant sur les acides gras polyinsaturés (Néve et al., 1989) et de réduire d'une part le peroxydes d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) en molécule d'eau (Soares., 2005 ; Marfak., 2003) et d'autre part les hydroperoxydes organiques (ROOH) en alcools. Lors de cette réaction, qui demande l'intervention de deux molécules de glutathion (GSH), celles-ci se transforment en glutathion-disulfure (GSSG):



### \* Les glutathion transférases

Ces enzymes constituent une classe formée d'un très grand nombre d'isoenzymes. Elles possèdent une activité peroxydasique vis-à-vis des peroxydes organiques mais pas vis-à-vis de  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Elles détoxifient un très grand nombre de composés électrophiles (médicaments, agents cancérigènes...etc.) en les conjuguant au glutathion réduit (Van Bladen., 2000).

### \* La glutathion réductase

Elle est localisée dans le cytosol et dans les mitochondries (Marfak., 2003). Elle réduit le glutathion oxydé GSSG en GSH consommant du NADPH, lui-même régénéré grâce au glucose 6 phosphate déshydrogénase (G6PDH) (Matés et al., 1999 ; Bacot., 2004) selon les réactions suivantes :



**\* Les thiorédoxines (TR<sub>x</sub>) et la thiorédoxine réductase (TR<sub>x</sub>R)**

Les thiorédoxines sont des protéines possédant une activité oxydoréductase et sont exprimées de façon ubiquiste dans les cellules de mammifères (Taniguchi et al., 1996). Une foie oxydée, la thiorédoxine est réduite par la thiorédoxine réductase (TR<sub>x</sub>R) qui est une enzyme possédant un groupement selenocystéine dans son site actif. La TR<sub>x</sub>R intervient dans la dégradation des peroxydes lipidiques et du peroxyde d'hydrogène et dans la régénération du radical ascorbyl en acide ascorbique (Ryter et al., 2000). La thiorédoxine joue un rôle important dans la régulation du système immunitaire (Hattori et al., 2003), et un rôle protecteur contre une grande variété de stress oxydatifs grâce à ces propriétés de capture des radicaux libres. Des données biochimiques montrent que les thiorédoxines réduisent des protéines clés pour le développement, la division cellulaire ou la réponse au stress oxydatif (Reichheld et al., 2005).

**II-5-2. Les antioxydants non enzymatiques**

Les cellules utilisent de nombreuses stratégies antioxydantes et consomment beaucoup d'énergie pour contrôler leur niveau d'espèces réactives de l'oxygène. Les antioxydants apportés par l'alimentation contiennent non seulement des vitamines (E, C, B-carotène...etc.) et des oligo-éléments (Sélénium, cuivre, Zinc, manganèse...etc.), mais aussi 600 sortes de caroténoïdes, 4000 de polyphénols et des flavonoïdes; des alcaloïdes et des acides organiques (Favier., 2004). La défense non enzymatique comprend des substances liposolubles et des substances hydrosolubles (Laurent., 2005).

**\* Glutathion**

Le glutathion ou L-γ-glytamul-L-cystéinyl-glucine est un tri peptide dont les propriétés réductrices et nucléophiles jouent un rôle majeur dans la protection contre les altérations oxydantes des lipides, des protéines et des acides nucléiques. C'est un constituant intracellulaire ubiquiste présent à des concentrations milli molaires dans la plupart des cellules et micro molaires dans le plasma (Gérard-Monnier et Chaudière., 1996). La fonction thiol confère au glutathion un rôle d'antioxydant, c'est-à-dire de réducteur (donneur d'électron ou d'atome H) (Gardés-Albert et al., 2003).

**\* La vitamine C (l'acide ascorbique)**

La vit C est l'antioxydant majeur du plasma et intervient également comme antioxydant dans les membranes biologiques (May et al., 1999). Cependant à fortes doses et en présence de fortes quantités de métaux de transition, elle peut devenir pro oxydant, lors de son oxydation en acide dehydroascorbique, elle passe par une forme radicalaire intermédiaire (radical ascorbyl) qui joue un rôle essentiel dans la régénération de la vitamine oxydée (Laurent., 2003).

**\* La vitamine E (α-tocophérol)**

Parmi les tocophérols naturels (d-α, d-β, d-γ et d-δ tocophérols), le d-α tocophérol (vit E) est celui qui est le plus efficace. C'est un antioxydant liposoluble, est donc localisé au sein des chaînes d'acides gras des phospholipides constituant les membranes et les lipoprotéines (Gardés-Albert et al., 2003). La partie active de la molécule étant la fonction phénol réductrice, lors de l'initiation de la peroxydation lipidique, suite à une attaque radicalaire, la vit E, connu comme inhibiteur de la propagation lipidique, cède son hydrogène situé dans le noyau phénolique, réduisant ainsi le radical ROO<sup>•</sup>, et constitue par ce biais le seul antioxydant liposoluble assurant cette protection (Laurent., 2005). Les

caroténoïdes et les polyphénols sont généralement de bons capteurs de radicaux hydroxyles OH et peroxyde ROO<sup>•</sup> (Gardés-Albert et al., 2003).

#### \* Les oligo-éléments

Qui ont une origine nutritionnelle (Zinc, cuivre, sélénium, magnésium), participent au processus de défense contre les ROS comme cofacteur des enzymes antioxydants. Ils en résulte, grâce à ces agents protecteurs, une certaine tolérance de l'organisme vis-à-vis du stress oxydatif. Par exemple le sélénium qui est un constituant de la glutathion peroxydase, enzyme qui joue un rôle intracellulaire antioxydant, voisine de la vit E. Cet effet de détoxification serait responsable des effets anti-cancéreux et anti-vieillessement, attribués au sélénium (Pincemail.,2000).

#### \*L'ubiquinone et cytochrome C

Il a été décrit précédemment que les ubiquinones, sous leur forme semi- radicalaire jouaient un rôle fondamental dans la production de ROS. Inversement, il a pu être défini que la forme "*ubiquinol*" agissait comme antioxydant. L'ubiquinol protège les membranes de la peroxydation lipidique par une diminution de la formation et de la propagation de radicaux peroxy. L'ubiquinone est également impliquée dans la régénération de la vitamine E ce qui amplifie son rôle protecteur contre les ROS. Le cytochrome c présent dans l'espace intermembranaire à un rôle de détoxification en captant l'électron libre d'O<sub>2</sub> •- produit au niveau de la chaîne respiratoire. Ainsi réduit, il cède cet électron au complexe IV formant du cytochrome c oxydé et de l'H<sub>2</sub>O (Allevar et al., 1997).

### II-6.Les radicaux libres sont-ils indispensables à la vie ?

Le paradoxe des radicaux libres en biologie est qu'ils constituent des espèces extrêmement dangereuses, susceptibles d'engendrer un nombre considérable de maladies, tout en étant des espèces indispensables à la vie. Ils remplissent en effet de très nombreuses fonctions utiles qui, à part la phagocytose, ont été découvertes récemment (Favier., 2004). Les ROS ont un rôle physiologique important dans l'initiation et/ou le fonctionnement propre de diverses voies de signalisation en réponse à la stimulation de certains récepteurs par des cytokines, des facteurs de croissance ou par des hormones (Usatyuk et al., 2003). Les radicaux oxygénés peuvent être considérés comme des messagers secondaires capables de réguler le phénomène d'apoptose (Curtin et al., 2002), d'activer des facteurs de transcription (NFκB, P<sub>38</sub>-MAP, Kinase,...etc.), eux-mêmes responsables de l'activation du gène impliqué dans la réponse immunitaire (Owuor et al., 2002), de moduler l'expression de gène de structure codant pour les enzymes antioxydants (Holgren., 2003), et aussi ils ont un rôle essentiel dans la régulation de la contraction et de la relaxation des muscles lisses des vaisseaux sanguins, l'absorption de l'eau dans le tractus digestif, la prolifération cellulaire, le fonctionnement de certains neurones et notamment ceux de la mémoire et la régulation du métabolisme de la cellule (Aurousseau., 2000).

### III-MITOCHONDRIE ET APOPTOSE

#### III-1. Définition de l'apoptose

La reconnaissance que la mort est un phénomène biologique important ne venue que beaucoup plus tard avec l'essor de microscope et de la théorie cellulaire, plusieurs études de biologie du développement ont contribué à l'idée d'une mort cellulaire physiologique et active (Brush et al., 2000 ; Jones., 2001). En 1972 l'équipe de Kerr a proposé le terme "apoptose", qui, en grec, décrit la chute des feuilles en automne pour décrire un processus de mort cellulaire hautement régulé (Thomas et al., 2004 ; Lucie., 2005). Ce type de mort cellulaire est défini par des modification morphologiques caractéristiques; condensation de la chromatine, dégradation de l'ADN, fragmentation de la cellule en "corps apoptotiques", délimité par une membrane sans qu'il y ait fuite du contenu cellulaire, suivies d'une phagocytose et d'une dégradation rapide des corps apoptotiques par les cellules voisines (Thomas et al., 2004; Ouellet., 2004). Cette définition de l'apoptose vise à exclure la mort cellulaire dénommée "nécrose": une mort accidentelle non régulée. Au cours de ce dernier la cellule gonfle et éclate, ce qui induit une réponse inflammatoire problématique pour l'organisme (Peter et al, 2004). L'apoptose est observée chez tous les métazoaires, aussi bien chez les végétaux que chez les animaux (Thomas et al., 2004). Au cours de la vie adulte elle est essentielle pour maintenir l'homéostasie tissulaire, intervient dans la suppression de cellules en surplus, endommagées ou âgées, dans les tissus sains tout comme lors de la maturation des organes, au cours de l'embryogenèse, notamment lors de la neurogenèse et de la fabrication de la mémoire immunitaire (Pelletier et Valette., 2001). Une dérégulation du programme de mort cellulaire peut-être à l'origine de nombreuses pathologies, certaines sont liées à une inhibition de l'apoptose (cancer, syndromes lymphoprolifératifs,...) alors que d'autres sont associées a une stimulation de ce phénomène (SIDA, maladie neurodégénératives, maladies auto-immunes,...) (Thomas et al., 2004).

#### III-2. Les voies de l'apoptose

En terme général, les voies apoptotiques peuvent être divisées en deux catégories principales: la voie intrinsèque et la voie extrinsèque.

##### III-2-1. La voie extrinsèque ou la voie de récepteur dépendant

Le sentier extrinsèque de l'apoptose est souvent appelé le sentier des récepteurs de mort cellulaire, implique une réception du signal au niveau de la membrane plasmique. Plusieurs récepteurs connus appartiennent à la famille des récepteurs TNF (*Tumor Necrosis Factor*) tels que Fas, TNF-R, (*Tumor Necrosis Factor Récepteur*) ou TRAIL (*TNF-related apoptosis-inducing ligand*) (Poulin., 2005). Une fois le message perçu, la transmission du message s'effectue par l'intermédiaire de la protéine adaptatrice FADD (*Fas-Associated Death Domain*). FADD présente la particularité de posséder, en plus de son DD (*Death Domain*), un domaine effecteur de mort cellulaire DED (*Death Effector Domain*) qui interagit avec la caspase-8. L'activation subséquente de la caspases-3, 6 et 7 par un clivage protéolytique de la caspase-8 induit l'auto destruction cellulaire en clivant les composants essentiels au maintien de la vie cellulaire (Reed., 2000; Borner., 2003).

### III-2-2. La voie intrinsèque ou la voie mitochondriale

La mitochondrie a un rôle central dans la transduction du message apoptotique, dans la majorité des cas, elle constitue un passage obligé, mais parfois, seulement un lieu de potentialisation de l'apoptose. Au cours de ce type de mort cellulaire on observe une perturbation dans la chaîne de transport d'électrons, dans la phosphorylation oxydative et aussi dans la production d'ATP (Pelletier et valette., 2001). La voie mitochondriale est caractérisée par la libération de protéines apoptotiques séquestrées dans l'espace intermembranaire de la mitochondrie (Viot., 2004), elles sont associées soit à une voie mitochondriale caspase dépendante, comme le cytochrome C, la protéine Smac /Diablo et même certaines pro- caspase (caspase-2,3 et 9), soit à une voie mitochondriale caspase indépendante comme l'AIF et endonucléase G (Green et al., 1998).

#### • Le cytochrome C

Le cytochrome C est une petite protéine de 14,5 KD, chargée positivement et localisée dans l'espace intermitochondrial, où il exerce sa fonction physiologique de transporteur d'électron entre les complexes III et IV de la chaîne respiratoire. Son rôle dans la mort cellulaire est clairement connu depuis une dizaine d'années et a pu être démontré aussi bien *in vitro* qu'*in vivo*. Ces études montrent qu'aucune autre protéine cellulaire ne peut remplacer le cyt C pour l'oligomérisation d'Apaf-1 « *Apoptotic Protein Activating Factor* » et pour l'activation de la caspase-3, induite par un stress cellulaire ou par agents ciblant la mitochondrie (Viot., 2004).

#### • Smac /Diablo

Une autre protéine agissant sur la voie Apaf-1/ caspase 9 a été isolée par deux groupes nommée alternativement Diablo ou Smac. C'est une protéine mitochondriale de 27KDa, libérée simultanément avec le cytochrome c lors de l'engagement de la mitochondrie dans l'apoptose. Le mode d'action de cette protéine est l'enlèvement de l'inhibition des caspases par la liaison et la séquestration des protéines de la famille IAP (protéines inhibitrices de l'apoptose (Verhagen et al., 2000 ; Srinivasula et al., 2001).

#### • L'AIF : Apoptosis Inducing Factor

L'AIF est une flavoprotéine de 57 KD, leur gène est localisé sur le chromosome X, peut être considéré comme un agent à double fonction parce que cette protéine a une activité oxydante supposée au niveau de la mitochondrie et un rôle dans l'apoptose nucléaire lors de l'exposition de la cellule à un stimulus pro-apoptotique. L'AIF se transloque de l'espace intermembranaire vers le cytosol puis vers le noyau et induit le clivage de l'ADN en fragments de haut poids moléculaire. Il provoque en présence d'extraits cytosolique une perméabilisation de la membrane mitochondriale et donc la libération du Cyt C et la procaspase 9 (Susan et al., 1999).

#### • L'endonucléase G

L'endonucléase G est une nucléase mitochondriale non spécifique très conservée chez les eucaryotes. Son rôle précis dans le métabolisme des acides nucléiques de la mitochondrie n'est documenté, en revanche, au cours de l'apoptose, cette protéine migre de la mitochondrie vers le noyau où elle clive l'ADN. Elle agit avec l'exonucléase et l'ADNase

I dans le noyau pour générer les fragments d'ADN de haut poids moléculaire (Widloket et al., 2001), mais elle peut également générer des fragments oligonucléosomiques (Samehima et al., 2001).

#### • Le pore de perméabilité transitoire PTP (Permeability Transition Pore)

Le PTP (*Permeability Transition Pore*) est un canal non sélectif " de haute conductance" pouvant être formé par l'opposition de protéines transmembranaires résidant au niveau de la membrane interne et au niveau de la membrane externe de la mitochondrie (Crompton., 1999). Les différentes études réalisées montrent que les PTP sont des structures multiprotéiques, réparties dans les deux membranes de la mitochondrie, comprenant notamment le canal amino-voltage dépendant (VDAC), le transporteur d'adénine (ANT), la créatine kinase (CK), l'Hexokinase (HK) et la cyclophiline D (cyp-D) (Marzo et al., 1998). Le PTP peut être inhibé expérimentalement par la cyclosporine A (CsA) qui provoque notamment sa fermeture, elle va former un complexe avec cyp-D qui se lie à l'ANT et le bloque (Crompton et al., 1999). L'ouverture du pore peut être induite par différents effecteurs physiologiques comme le calcium, la diminution de la concentration en adénine nucléotide ou en phosphate inorganique, la production des ROS ou le changement du pH. De plus l'ouverture de pore est inhibée par plusieurs composés compris l'ADP et l'ATP (Kroemer et al., 1997; Shimuza al., 1998; Vander., 1999).

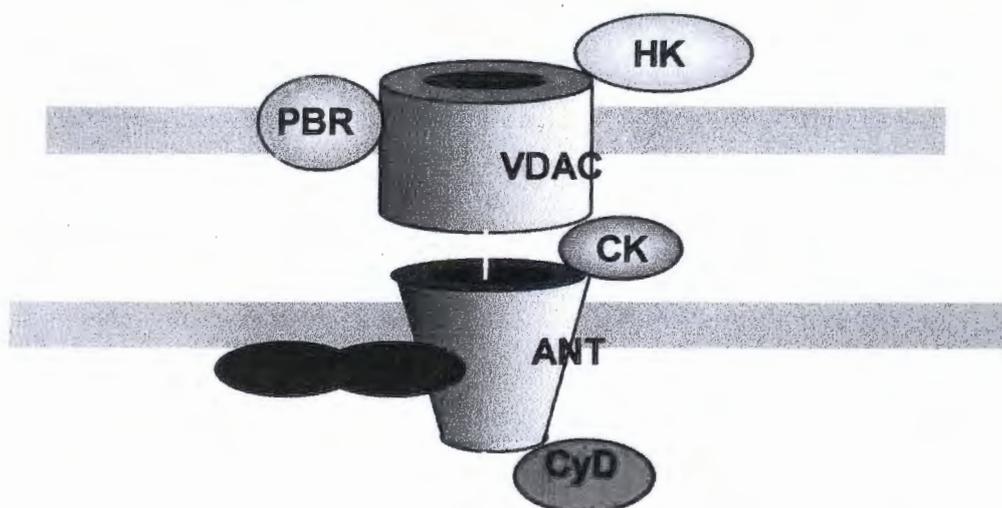


Figure08: Le pore de transition de perméabilité (Viot, 2004).

#### • Les caspases

Les caspases sont des protéases à cystéine appartenant à la famille des ICE (*Interleukine-1B Converting Enzyme*), clivent les polypeptides après un résidu aspartate ce qui leur a valu leur nom (*Cystéine ASPartyl proteASE*) (Alnemri et al., 1996; Salvesen., 1998). Les caspases sont bien conservées évolutivement de l'humain jusqu'aux nématodes et aux insectes. Elles sont toutes produites sous forme d'un grand précurseur inactif ou zymogènes; procaspase de 30-50 KD contenant trois domaines (Ouellet., 2004). Après

maturation protéolytique, les caspases peuvent s'auto cliver et activer d'autres caspases ou substrat formant une cascade enzymatique. Chez les mammifères, 14 caspases ont été identifiées: caspase 1 à caspase 14 selon la nomenclature phylogénétique usuelle (Alnemri et al., 1996). Les caspases impliquées dans l'apoptose peuvent être subdivisées en caspases initiatrices (caspases 2, 8, 9 et 10) possédant un pro-domaine long, responsables du déclenchement de la cascade d'activation des caspases; la caspase 8 (spécifique de la voie des récepteurs de mort) et la caspase 9 (spécifique de la voie mitochondriale) (Muzio et al., 1996, et en caspases effectrices possédant un prodomain court (caspases 3, 6, 7) qui dégradent des substrats cellulaires spécifiques (Ouellet., 2004; Mallissein., 2005).

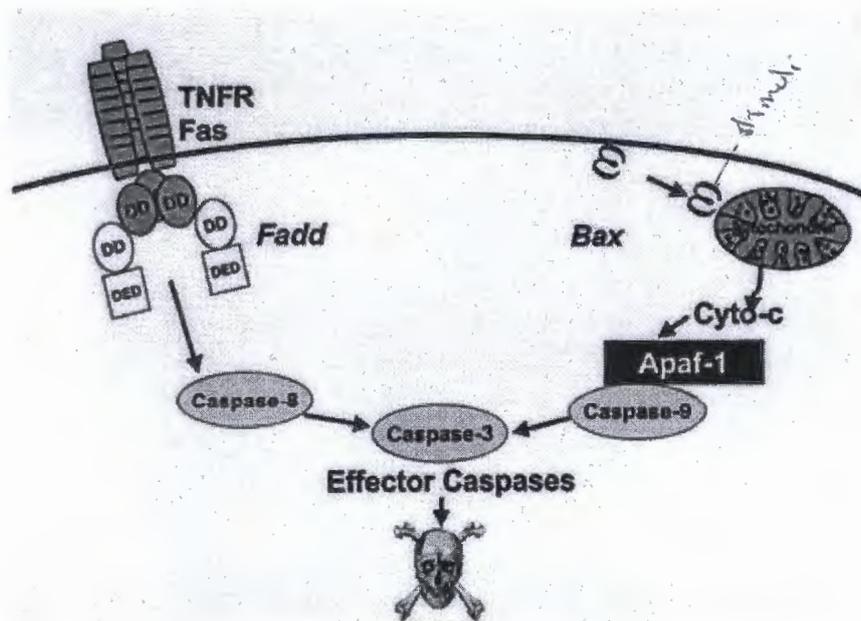


Figure09 : Les sentiers extrinsèques et intrinsèques de l'apoptose (Lucie., 2005).

### III-2-3. Le déroulement de l'apoptose mitochondriale

La perméabilisation de la membrane mitochondriale entraîne le relâchement du cytochrome C, du facteur induisant l'apoptose (AIF) et de l'endonucléase G (Borner., 2003; Polster et Fiskum., 2004). La présence du cyt C dans le cytosol revêt une grande importance dans la suite des événements conduisant à la mort cellulaire programmée. Il s'associe avec le domaine C-terminal de la protéine Apaf-1 qui facilite le recrutement d'ATP (Viot., 2004). La protéine Apaf-1 contient un domaine CARD (*domaine de recrutement des caspases*) dans sa région N-terminale, par lequel elle recrute la procaspase-9, ce qui conduit à l'activation de la caspase 9 (Viot., 2004), une caspase initiatrice mène à l'activation des caspases effectrices telles que les caspases 3, 6 et 7. Ce complexe de 1 MD, appelé *l'apoptosome*, contient sept molécules de Apaf-1, de cyt C et de caspase-9. L'activation de toutes ces caspases, des endonucléases conduit à l'autodestruction cellulaire (Borner., 2003).

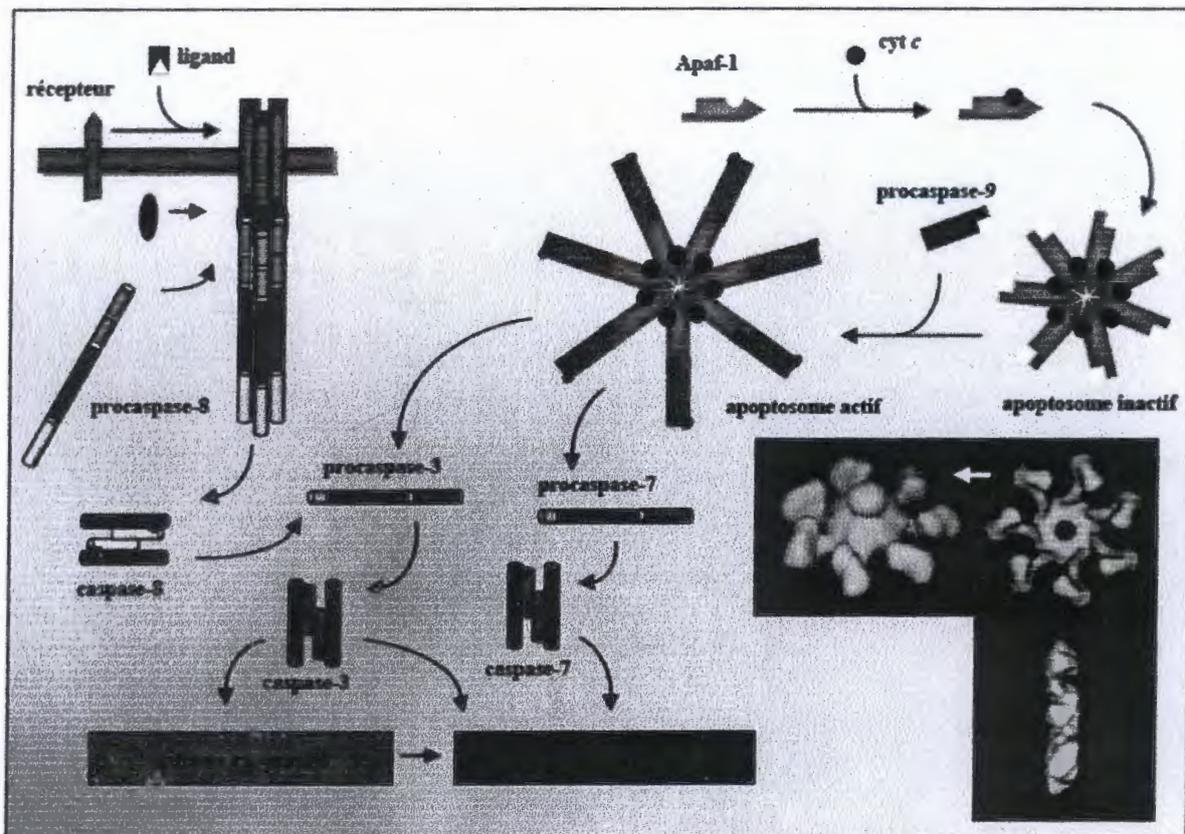


Figure10 : Modes d'activation des caspases (Ouellet, 2004).

### III-2-4. Les théories de perméabilisation des membranes mitochondriales

Plusieurs modèles ont été proposés pour expliquer comment lors d'un signal de mort, l'ouverture du pore et la dissipation du potentiel peuvent être impliquées dans l'induction du relargage de molécules apoptogènes. Le premier modèle "*PTP-induced mitochondrial swelling model*" implique l'hyperpolarisation de la membrane interne précédant la libération de cytochrome C dans certains systèmes (Vander et al., 1999), ce modèle est caractérisé par l'ouverture du VDAC, puis augmentation du potentiel membranaire mitochondrial qui peut être à l'origine du gonflement osmotique de la matrice conduisant à la rupture de la membrane mitochondriale externe (Deshger et Martinu., 2000). Le deuxième modèle "*PTP-non swelling model*" ne mettrait pas en jeu le gonflement de la matrice. Des travaux ont montré à partir des mitochondries isolées que le relargage du cyt c peut être induit par de faibles concentration de Bax recombinant ou de Bid tronqué, sans observer de gonflement de la matrice ou de rupture de la membrane externe mitochondriale (Pastorino et al., 1999). Le troisième modèle "*Formation of conducting channels model*" mettrait en jeu des protéines pro-apoptotique de la famille Bcl-2 qui pourraient s'insérer, après changement conformationnel, au niveau de la membrane externe mitochondriale ou une fois oligomérisées pour former des pores de façon autonome (Shimizu et al., 2000). Le dernier modèle "*VDAC closure modèle*" implique la fermeture du PTP et plus précisément la fermeture de VDAC. On n'observe pas un rapide effondrement de potentiel mais plutôt une

hyperpolarisation transitoire et précoce de la mitochondrie précédant la rupture de la membrane externe et le relargage de facteurs pro-apoptotiques dans le cytoplasme (Vander et al., 1999). Cette hyperpolarisation soit la conséquence d'un dysfonctionnement de l'échange ATP/ADP mitochondrial lié à la fermeture du VDAC, provoquant l'accumulation de protons dans l'espace intermembranaire (Zamzami et Kromer., 2001).

### III-2-5.L'intervention de la famille Bcl-2 dans la régulation de l'apoptose

La décision d'entrée en apoptose ou de survie est contrôlée par l'action balancée des membres de la famille Bcl-2 "*B-cell leukemia / Lymphoma 2-like protéine*".

Cette famille, contenant environ 15 membres peut être divisée en 2 groupes en fonction de leur activité:les protéines possédant une activité anti-apoptotique comme Bcl-2, Bcl-xl, Bcl-w, Mcl-1, A1/Bfl-1 contiennent les domaines BH 1, 2, 3 et 4 "*BH pour Ncl-2 homology*" et les protéines possédant une activité pro-apoptotique comme Bax, Bak, Bok/MTD, Bad, Bim possèdent uniquement le domaine BH3 (Vhrot., 2004 ; Oullet., 2004). Toutes les protéines de la famille Bcl-2 contiennent un domaine carboxypeptidase hydrophobe de 20 acides aminés permettant leur ancrage dans la membrane intercellulaire en majorité au niveau de la mitochondrie, le noyau et le réticulum endoplasmique (Poulin., 2005). D'autres, tel que Bax, Bid, Bim, et Bad sont cytosoliques, leur localisation est gouvernée par leur association/dissociation avec le cytosquelette, les protéines cytosoliques ou membranaires ou de la même famille (Olvai et al., 1993). La protéine Bid de 22KD est un substrat de la caspase-8 et doit être clivée pour être active. Le fragment C terminal de 15 KD généré par la protéolyse peut ainsi s'insérer au niveau de la membrane mitochondriale et permettre l'activation de la voie mitochondriale amplifiant ainsi le signal de mort initié par la voie des récepteurs. La Bax est transloquée du cytosol vers la mitochondrie pendant l'apoptose. La capacité d'insertion au niveau de la membrane externe mitochondriale semble être liée à l'homologie de structure des membres de la famille Bcl-2 avec certaines toxines bactériennes, leur permettent de former des pores au niveau de la mitochondrie. Cette insertion est en effet rapidement suivie par le relargage du cyt C et facilitée par l'interaction avec le canal anionique voltage dépendant ou VDAC. Ces changements dans la conformation de Bax semble être favorisées par l'interaction avec Bid, et peuvent être réduits ou empêchés par les anti-apoptotiques Bcl-2 ou Bcl-xl qui agissent par liaison directe avec Bax (Desagher et al, 1999). Il a été montré que la protéine Bcl-2 pouvait empêcher l'activation des caspases par Bax sans effet sur le relargage du cytochrome C. Ainsi, la protéine Bad pouvant se lier a Bcl-xl et inhiber son activité anti-apoptotiques. Les protéines antiapoptotiques pourrait empêcher directement ou indirectement la libération du cytochrome par la mitochondrie (Green et Reed., 1998; Zamzami et al., 2001).

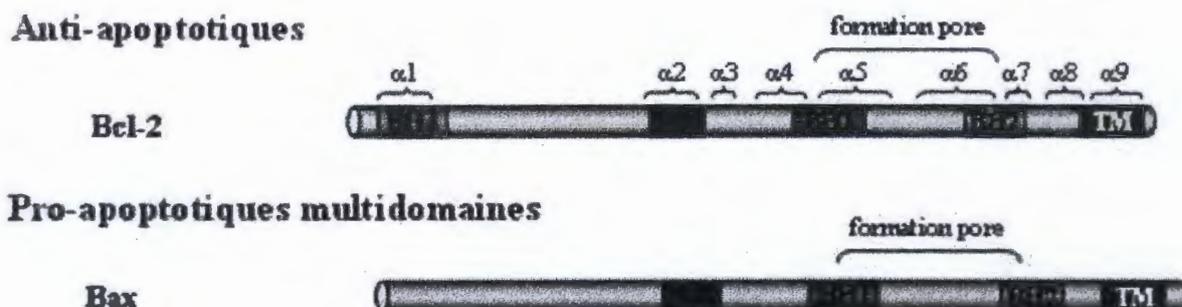


Figure11: Structure des protéines Bcl-2 et Bax (Ouellet, 2004).

### III-3. Les maladies liées au stress, apoptose, et mitochondrie

Dans leur grande majorité, les études épidémiologique indiquent qu'il existe une association étroite entre l'altération des défenses antioxydantes, l'augmentation des marqueurs d'oxydation et le développement de plus de 200 pathologies différents allant de l'athérosclérose au cancer en passant par le SIDA, neurodégénératives, le diabète, le vieillissement (Echaniz., 2006).

#### III-3-1.L'ischémie-réperfusion

L'ischémie correspond à l'interruption complète ou partielle de l'irrigation sanguine d'un tissu ou d'un organe. La ré perfusion correspond à la ré oxygénation de tissu ischémique observer surtout lors des thromboses et la transplantation d'organes (Morin et al, 2001).Deux théorie concernant l'implication des ROS en hypoxie s'affrontent (Semenza., 1999), la premier est fondé sur le rôle joue par NADPH oxydase, une deuxième théorie de décrit au contraire une augmentation de la production des ROS en situation d'hypoxie (Schroedl et al., 2002).

#### III-3-2. Le vieillissement

Les fonctions, la morphologie et le renouvellement des mitochondries sont altérés au cours du vieillissement, notamment en raison de l'accumulation de mutations somatique de l'ADN mitochondrial, une cible privilégiée des ROS produites par la chaîne respiratoire (Melov et al., 2000). La théorie radicalaire du vieillissement "*Free radical theory of aging*" proposée par Harman relie la sénescence au dommage des radicaux super oxydes et des autres ROS générés lors de la respiration mitochondriale. Une autre théorie la théorie mitochondriale de vieillissement "*Mitochondrial théorie of aging*" propose que le vieillissement soit résultat de l'accumulation de l'ADN<sub>mit</sub> endommagé par les ROS conduisant au dysfonctionnement des complexes de la chaîne et par la suite la sénescence. Ainsi le taux de mutation de l'ADN<sub>mt</sub> augmenté graduellement et le fonctionnement mitochondrial s'altère progressivement avec l'age (Delbark., 2002).

### III-3-3. La sclérose amyotrophique latérale (SAL)

La SAL est une maladie létale avec des paralysies provoquées par la mort des neurones moteurs cérébraux et spinaux (Marc., 2000). Plusieurs mécanismes cellulaires sont altérés dans la maladie et démontrent : le rôle nocif de glutamate, le rôle nocif du stress oxydatif et du calcium intracellulaire, l'induction de l'apoptose...etc. (Scarmeas et al., 2002). Les mécanismes de l'excitotoxicité du glutamate aboutissent à une entrée excessive de calcium libre dans les cellules qui a un effet toxique sur la fonction des mitochondries et la chaîne respiratoire (Menziés et al., 2002). La présence d'une mutation d'un gène situé sur le chromosome 21, le gène de la "superoxyde dismutase cuivre Zinc" une enzyme qui intervient dans le contrôle du métabolisme de l'O<sub>2</sub>: elle protège les cellules contre les lésions provoquées par les radicaux libres. La SAL serait donc provoquée par une surexpression de SOD qui libère le calcium contenu dans la matrice mitochondriale, augmente la concentration des radicaux libres et provoque des lésions mitochondriales (Marc., 2000). Dans les modèles mutés de SAL1, il a montré d'une part l'activation des voies apoptotiques et d'autre part que l'expression de Bcl-2 et l'inhibition des caspases démontrait un effet protecteur sur la survie des neurones moteurs donc des traitements géniques potentiellement utiles (Hand et al., 2002).

### III-3-4. Les maladies oculaires

Toute une série d'importantes délétions dans l'ADN<sub>mt</sub> entraînent des maladies comme l'ophtalmoplégie chromique externe progressive et le syndrome de Kearns-Sayre, résultant en trouble oculaire. Ainsi, la neuropathie optique congénitale de Leber (dégénérescence du nerf optique) menant à la cécité est due à une mutation du gène mitochondrial codant le protomère 4 de la NADH-CoQ réductase (Lodish et al., 1997). Chez certains patients, une mutation ponctuelle récurrente au niveau d'une sous unité du complexe I peut entraîner l'apparition brutale d'une cécité à un âge moyen à la suite de la mort des neurones du nerf optique. Les mutations des gènes responsables du codage des sous unités de l'ATP-synthétase se traduisent par une faiblesse musculaire et une dégénérescence rétinienne (Thomas et al., 2004).

### III-3-5. Le cancer

L'augmentation de la transcription du gène Bcl-2 est directement responsable du phénotype cancéreux, faisant ainsi de Bcl-2 un oncogène promoteur du cancer (Thomas et al 2004). En 1990, on a reconnu P<sub>53</sub> comme un gène suppresseur de tumeurs, il ne protège pas seulement l'organisme du cancer en arrêtant le cycle cellulaire, d'un autre côté, il peut orienter une cellule génétiquement endommagée sur une voie qui mène à la mort par apoptose. On suppose que la protéine P<sub>53</sub> intervient en activant l'expression du gène bax, dont le produit Bax déclenche l'apoptose. Il est aussi que la P<sub>53</sub> peut agir sur le PTP et la libération du cytochrome C et l'AIF et qu'elle subit des mutations dans la majorité des cancers chez l'homme (Schuler Metal., 2000).

### III-3-6. Les maladies neurodégénératives

Des anomalies mitochondriales ont été mises en évidence dans des nombreuses affections neurodégénératives (Beal., 2005). Ces pathologies sont souvent liées à des facteurs génétiques liés en grande part à des facteurs exogènes comme le stress (Marai.,

2003). La maladie de parkinson (MP) se caractérise par la dégénérescence des neurones dopaminergiques de la substance noire, cette mort cellulaire provoque une déficience en dopamine dans les régions innervées par ces cellules (Vila et al., 2001). Certaines formes familiales récessives de maladie de parkinson sont provoquées par des mutations d'un gène codant pour une kinase mitochondriale, d'autres formes familiales sont provoquées par mutations des gènes parkin et GJ1 qui lorsqu'ils sont inactivés provoquent des anomalies mitochondriales. Les inhibiteurs du complexe I de la chaîne respiratoire mitochondriale provoquent ainsi des syndromes parkinsoniens. La maladie d'Alzheimer se caractérise par une perte progressive de la mémoire à court terme puis à long terme, par une diminution des capacités intellectuelles et, par fois par des troubles moteurs. Les neurones cholinergiques au niveau du cortex et l'hippocampe sont particulièrement sensibles à l'apoptose. La mutation de l'ADN<sub>mt</sub> est plus fréquente dans le cerveau, et le peptide bêta-amyloïde (PA) est retrouvé à l'intérieur des mitochondries, où il module de manière pathologique la production de RL. On retrouve une autre mutation de cette protéine sur le chromosome 21 (Stege et al, 1999; Echaniz., 2006). La maladie de Huntington; il s'agit d'une pathologie héréditaire à caractère dominant, elle se caractérise par un changement progressif du comportement, des déficiences cognitives (Young., 1997). Elle est provoquée par des mutations du gène codant pour la huntingtine qui, lorsqu'elle est mutée, se fixe à la membrane externe de la mitochondrie diminue le recaptage calcique mitochondrial et se lie à la protéine P<sub>53</sub> pour induire une dépolarisation anormale de la membrane mitochondriale (Echaniz., 2006).

## IV. LES FLAVONOÏDES

Depuis toujours, les plantes médicinales ont été utilisées pour prévenir ou soigner diverses maladies et les médicaments actuels ont, pour la majorité d'entre eux, une origine naturelle (Fiorucci., 2006). Les composés phénoliques importants de métabolites secondaires végétaux se reconnaissent à la présence d'un ou de plusieurs groupements hydroxyles, modifiés ou non, attachés à une structure aromatique (Gerhard., 1993). Ils constituent un groupe d'une extrême diversité dont les flavonoïdes font partie (Winkel-Shinley., 2001).

### IV-1. Définition

Le nom flavonoïdes est dérivé du mot "*Flavus*" en latin, qui signifie jaune, furent découvertes en 1936 par Hongrois Szent Gyogui dans le zeste de citron. Les flavonoïdes sont des pigments quasiment universels des végétaux presque toujours hydrosolubles, appartenant à la famille des polyphénoles, ils sont responsables à la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Les flavonoïdes sont également présents dans les cellules épidermiques des feuilles, assurant la protection de tissus contre les effets nocifs du rayonnement ultraviolet (Bruneton., 1993; Marfek., 2003).

### IV-2. Répartition et localisation

Les flavonoïdes sont présents, d'une manière générale, dans toute les plantes vasculaires, ou ils peuvent localisés dans divers organes : racines, tiges, bois, feuilles, pollens, graines, fleurs et fruits. Les flavonoïdes, sont largement abondants dans les dans la propolis des abeilles (Marfek., 2003). Les formes hétérosidiques des flavonoïdes, hydrosolubles, s'accumulent dans les vacuoles et, selon les espèces, se concentrent dans l'épiderme des feuilles ou se repartissent entre l'épiderme et le mésophile. Dans le cas des fleurs, elle sont concentrées dans les cellules épidermiques. Lorsque les flavonoïdes sont présents dans la cuticule foliaire, il s'agit presque toujours de génies libres (Bruneton., 1993).

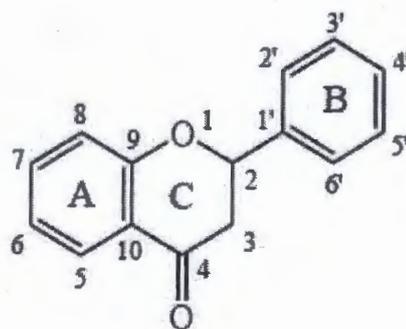


Figure12 : squelette de base des flavonoïdes (Peterson et Dwyer., 1998).

### IV.3. Structure

Tous les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune, et de ce fait, ont la même unité structurale de base, le squelette de base à quinze atomes de carbone constitué de deux cycles benzéniques (noyau aromatique) A et B et d'un hétérocycle oxygéné centrale C relié par une chaîne de trois carbones (Peterson et Dwyer., 1998; Manach et al., 2004; Bruneton., 1993).

### IV.4. Classification

Les flavonoïdes sont classés selon plusieurs critères : présence ou non d'une double liaison en position 2, et présence ou non d'un groupement hydroxyle en position 3 de l'hétérocycle C (Manach et al., 2004). Ils se répartissent en quinze familles de composés, dont la plus importante sont les suivantes : flavones, flavonols, flavanones, flavanonols, iso flavones, iso flavanones, chalcones, aurones et antaucyanes (Bruneton., 1993 ; Gerrard., 1993). Il est important de noter que les flavonoïdes se rencontrent également sous forme libre ou sous forme glycosylées (O et C hétérosides) qui résultent de la combinaison du groupe réducteur d'un ose avec une substance non glucidique : l'aglycone ou la génine, au contraire des formes aglycones qui ne sont pas substituées par un ose. La partie osidique peut être mono, di, ou tri saccharidique (Bruneton., 1993). En effet, les techniques d'analyse récentes ont permis d'identifier plus de 8000 flavonoïdes (Manache et al., 2004).

### IV.5. Biosynthèse

Les flavonoïdes sont synthétisés au niveau des chloroplastes (Marfek., 2003). A l'origine, ils sont proviennent de la désamination d'un acide aminé essentiel, la phénylalanine. Ils sont issus de deux voies complémentaires : voie de l'acide malonique consiste à la formation de noyau A qui résulte de la condensation d'une para-coumaroyl COA avec trois unités de malonyl-COA, et la voie de l'acide shikimique consiste à la formation du noyau B et les hétérocycles. En fin l'étape clé de la formation des flavonoïdes (une structure de base en C15) est la condensation des deux voies catalysées par la chalcones synthase de 5 molécules de malonyl-COA avec un ester du co-enzyme A et d'un acide hydroxycinnamique, le produit du réaction est une Chalcone : un précurseur commun la 4, 2, 4, 6' tétra hydroxychalcone, un intermédiaire caractéristique de la biosynthèse des divers flavonoïdes (Richter., 1997).

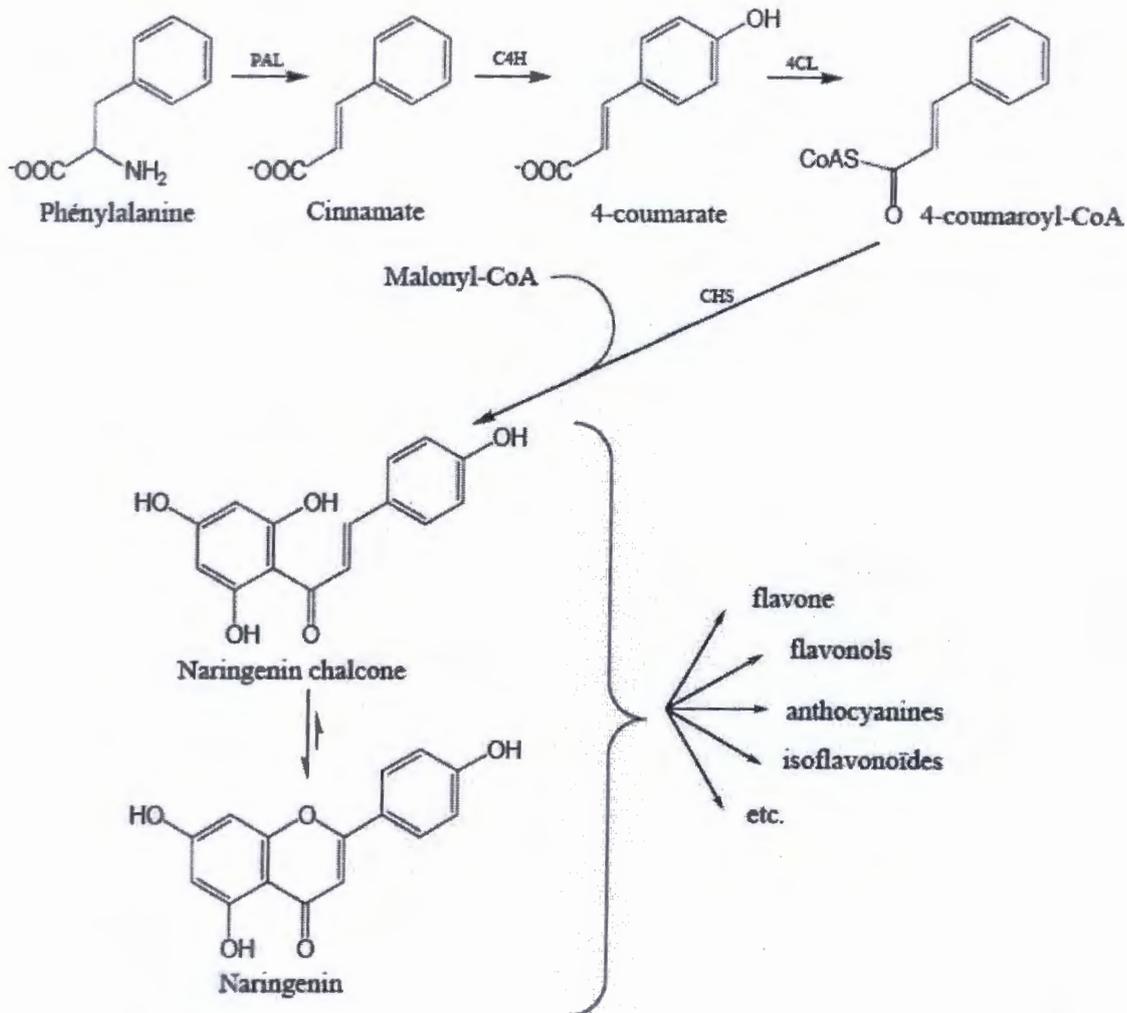


Figure 13 : Etapes communes de la biosynthèse de toutes les flavonoïdes (Winkel-Shirley., 2002).

## IV-6. Pharmacocinétique des flavonoïdes

### IV-6-1- Biodisponibilité des flavonoïdes

La reconnaissance inégale des flavonoïdes dans le monde vient en grande partie du manque d'information dont on dispose quant à leur métabolisme (blanche maison 2000). En générale la biodisponibilité des flavonoïdes est relativement faible avec une élimination lente et dépend de trois facteurs principaux: la capacité de transport via la cellule intestinale, l'intensité de la sécrétion des métabolites conjugués à l'activité de la sécrétion biliaire. La quercétine le principale flavonoïdes consommée par l'homme avec ses aliments (frites et légumes), prise par voie orale, elle présente une concentration plasmatique maximale (c max) de 196 µg/ml après 2.9heures, un temps de demi-vie d'absorption de 0.87 heures, de distribution de 3.8 heure et d'élimination de 16.8 (Elliott Middleton et al., 2000; Vanessa et al., 2003; Williams et al., 2004).

#### IV-6-2. Le métabolisme des flavonoïdes

Les Flavonoïdes aglycones sont absorbés au niveau de l'intestin grêle, sans que les formes glycosylées doivent être hydrolysées par la flore intestinale au niveau du colon avant d'être absorbées (Crespy et al., 2001; Manach et al. 2004). Les flavonoïdes qui traversent la muqueuse intestinale sont en majorité transportés jusqu'au foie via la veine, porte sous forme liée à l'albumine. Le foie a la capacité de modifier les flavonoïdes et leur métabolites : il peut les méthyle, réduire le groupement carbonyle de l'hétérocycle, changer le nombre et la position des groupements hydroxyles, ou encore produire des dérivées conjuguées avec un sulfate ou un acide glucuronique (Bokke-Nheuser., 1987). Les dérivées conjuguées de flavonoïdes sont excrétées plus ou moins selon les espèces dans l'urine et surtout dans la bile, ou la partie éliminée est captée par le foie, et métabolisée par les enzymes hépatiques. Une fois excrétée dans la bile, ces métabolites sont déversés dans le duodénum, ils sont soumis à l'action des enzymes bactériennes dans le colon, ce qui peut conduire à la formation des dérivées de fragmentations où a lieu l'hydrolyse des acides glucuronique et des sulfates, avec libération des métabolites de flavonoïdes. Ces derniers, pourraient être réabsorbés et subir ainsi une circulation antérohépatique permettant de maintenir une concentration non négligeable dans le sang (Hugues., 1996)

#### IV-7. Les activités biologiques des flavonoïdes

La fonction principale des flavonoïdes est de contribuer à la couleur des plantes et notamment à celle des fleurs, c'est par la couleur de ces fleurs, les insectes pollinisateurs assurent par ce biais une étape fondamentale de sa reproduction (Hertog et al., 1992). Autre propriété intéressante dans le contrôle de la croissance et du développement des plantes en interagissant de manière complexe avec les diverses hormones végétales de croissance. Certains flavonoïdes jouent un rôle de phytoalexines, c'est à dire les métabolites que la plante synthétise en grande quantité pour lutter contre les infections causées par les champignons ou par les bactéries (Gerrard., 1993). On peut également noter que les flavonoïdes, en repoussant les prédateurs par leurs goûts désagréables, peuvent jouer un rôle dans la protection des plantes (Marfak., 2003).

En règle générale, les flavonoïdes sont, *in vitro*, des inhibiteurs d'une large gamme des enzymes telles que la lipooxygénase, la cyclooxygénase, monooxygénase, xanthine oxydase, phospholipase A2 et la protéine kinase (Gil et al., 1994). Par leur propriété "*vitaminique p*", ils diminuent la perméabilité des vaisseaux capillaires, renforçant leur résistance (Chanvallon et al., 1994). Ils possèdent des propriétés antiallergiques, diurétiques, hépatoprotecteurs, antibactériennes et antiviraux (Bruneton., 1993). Les flavonoïdes possèdent aussi une activité anti-inflammatoire et autre antidiabétique (Blanche Maison., 2000), ils réduisent l'apparition de tumeurs dans les études de cancérogenèse, notamment pour les cancers de la peau, du colon et du sein (Block et al., 1992) et peuvent aussi participer à la prévention cardiovasculaire (Swuise et al., 1984). Certains flavonoïdes sont utilisés comme anti-oxydant pour la conservation des huiles comestibles en cosmétologie dans les shampoings colorants, et dans certaines préparations de plantes médicinales (Swain., 1986; Hertog et al., 1993).

#### IV- 8. Effet antioxydant des flavonoïdes

Les flavonoïdes ont une capacité antioxydante, cette faculté leur permet de capter les radicaux libres, notamment l'union superoxyde (Blanche Maisan., 2000), ceci leur confère in vitro la capacité de diminuer l'activité d'enzymes la cyclooxygénase, les hydrolases...Ils possèdent également une grand affinité pour les ions divalents ( $\text{Cu}^{++}$ ,  $\text{Zn}^{++}$  ...) (Husain., 1987; Robak., 1988).

##### a. Chélation des ions métalliques

Les ions métalliques présents dans notre organisme comme le fer ou le cuivre, peuvent être à l'origine de la production des radicaux hydroxyles très réactifs à partir de l'espèce moins réactive  $\text{H}_2\text{O}_2$  via la réaction de Fenton (Deletre., 2005; Stryer., 1992).



Les flavonoïdes sont connus pour leur capacité à former des complexes stables avec des ions métalliques et sont alors capable d'inhiber la réaction de fenton et aussi empêcher la production des ROS (Feralli et al., 1997; Engelmaun et al., 2005). Donc les flavonoïdes sont considérés comme un bon chélateur de ces ions métalliques, On peut résumer les sites essentiels pour la chélation des ions métalliques: un noyau catéchol sur le cycle B, (ii) les groupes 3-hydroxyle et 4-oxo du cycle C, et (iii) les groupes 4-oxo et 5-hydroxyle entre le cycle A et C (Marfek., 2003).

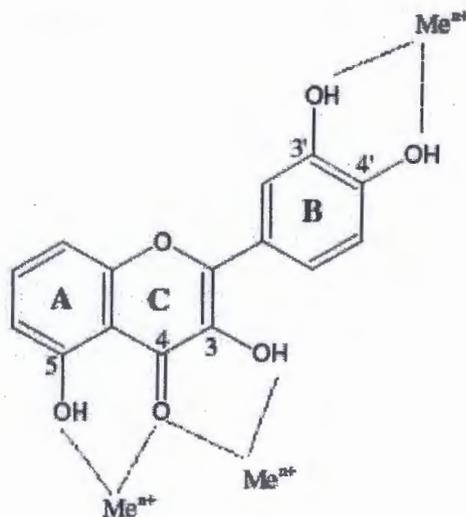


Figure14 : Flavonoïdes et leurs sites proposés pour la chélation des ions métalliques ( $\text{Me}^{n+}$ ) (Marfek., 2003).

##### b. Piégeage des radicaux libres

Les flavonoïdes possèdent une structure chimique aromatique permettant une délocalisation électronique, donc une stabilisation de leurs formes radicalaire, c'est pourquoi les propriétés antioxydantes des flavonoïdes sont souvent associées à leur potentiel antiradicalaire. De nombreuses études soutiennent le fait que l'activité antioxydante des flavonoïdes est essentiellement liée à leur capacité à piéger les ROS comme les radicaux superoxydes, hydroxyle, peroxyde et alkoxyde (Erben-

Rurs., 1987; Jovanovic., 1998). A cause de leurs faibles potentiels redox les flavonoïdes (FL-OH) sont thermo- dynamiquement capable de réduire les radicaux libres oxydants par transfert d'hydrogène selon la réaction suivante:



Où  $\text{R}^\bullet$  représente l'anion super oxyde, le peroxyde, l'alcoxyde et l'hydroxyle.

Le radical flavonoxy (FL-O) peut réagir avec un autre radical pour former une structure quinone stable comme le montre le schéma 13 ou interagir avec l'oxygène pour donner une quinone et un anion super oxyde. Cette réaction est responsable d'un effet peroxydant des flavonoïdes (Marfek., 2003).

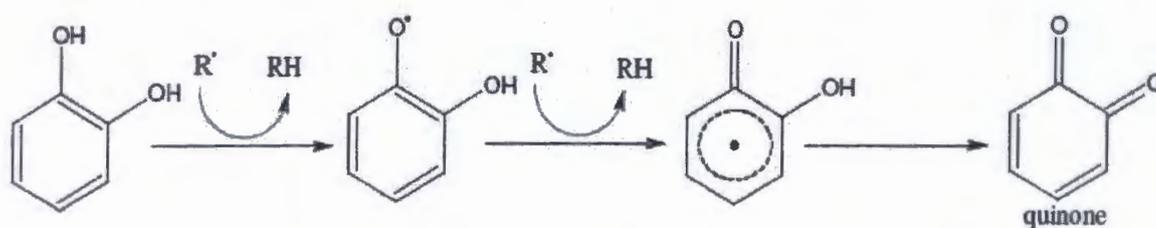


Figure15 : Piégeage des ROS (R) par les flavonoïdes (Marfek., 2003)

### c. L'inhibition enzymatique

En règle générale, les flavonoïdes sont in vitro, des inhibiteurs enzymatiques, tel que l'histidine décarboxylase, l'elastase, la hyaluronidase...etc. (Bruneton.,1993). Deux revues très complètes rendent compte de l'incroyable potentialité (Havsteen., 2002; Middleton., 2002). Les enzymes directement impliqués dans le stress oxydant et pouvant être inhibées par les flavonoïdes sont les glutathions transférase, les lipoxygénases, les cycloxygénases, la xanthine oxydase et les nitriques oxyde synthases (Nos), certains flavonoïdes inhibent les kinases. C'est le cas par exemple de la quercétine et la myricétine qui inhibent la phosphoinositide3-kinase, port intervenant dans la signalisation cellulaire. Les modes d'inhibition peuvent être différents selon le flavonoïde et l'enzyme étudié (Fiorucci., 2006).

# *Discussion*

## DISCUSSION

La mitochondrie, site principal de la production de l'énergie, constitue la source majeure de la production cellulaire des ROS et reconnue également comme le point de départ du processus d'apoptose. Aujourd'hui, le concept des maladies mitochondriales est bien admis et beaucoup de pathologies comme le diabète, les maladies neurodégénératives, les maladies cardiovasculaires...etc. sont liées au dysfonctionnement mitochondriale, de ce fait elle a fait l'objet de nombreuses études.

Plusieurs études sont faites pour mesurer la production de ROS au niveau de la chaîne respiratoire ; servais à mesurer la production de  $H_2O_2$  on présence du succinate seul, afin de mesurer la production de ROS par le complexe III et de complexe I par le retour des électrons depuis le complexe II (Servai., 2004). En convention, la chaîne respiratoire altérée peut reproduire plus de superoxyde selon le degré d'insuffisance, l'excès de production peut dépasser les capacités de la superoxyde dismutase et par conséquent le déclenchement de l'apoptose par ces derniers ou leurs dérivées (Geremol et al., 2001).

St pierre et al. (2002) ont étudiées la topologie de production de l'anion superoxyde au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale. Pour cela, ils ont mesuré la production de  $H_2O_2$  sur des mitochondries intactes en présence de différents substrats et inhibiteurs, avec ou sans SOD exogène ajoutée. Si la production de  $H_2O_2$  a lieu sur la face cytoplasmique de la membrane interne, l'ajout de SOD exogène va augmenter la dismutation du  $O_2^{\cdot -}$  et provoquer une augmentation de la production d'  $H_2O_2$ . Par contre, si la production de  $H_2O_2$  se fait du coté matriciel de la membrane interne mitochondrial, l'anion superoxyde sera dismuté en  $H_2O_2$  par la SOD mitochondriale, le  $H_2O_2$  diffuse ensuite a l'exterieure et donc la SOD exogène n'aura pas d'effet. Ces auteurs ont pu observés que le complexe I produit l'anion superoxyde sur la face matricielle de mitochondrie. Une autre équipe de recherche a récemment décrit, en utilisant d'autres méthodes, la production d'anion superoxyde au niveau du complexe III sur la face cytoplasmique de la membrane interne mitochondriale (Chen., 2003).

On connaît bien que le maintien de l'intégrité de la chaîne de transfert des électrons dans la mitochondrie, par inhibition de la peroxydation lipidique et protéique, permet de limiter au maximum les fuites électroniques et la formation des ROS et par la suite l'incidence de l'apoptose (Hoi YL et al., 2005 ; Salvioli S et al., 2001; Kelso GF et al ., 2002). La peroxydation lipidique est un processus auto-catalytique qui est une cause commune de la mort cellulaire. Par conséquent, l'inhibition de cette lipopéroxydation a été employée comme index important de l'activité antioxydante (Si Eun L et al., 2002). Pendant de nombreuses année la détermination de la concentration de MDA par l'acide tiobarbiturique (TBARS méthode) a été utilisé pour évaluer *in vivo* une peroxydation lipidique (Kroemer et Reed., 2000). Le malondialdéhyde MDA est l'un des produits finals de la peroxydation lipidique qui est intensivement étudié et les flavonoïdes ont été montrés pour réduire de manière significative son niveau dans la cellule (Inal ME et al., 2000).

Plusieurs produits naturels tels que les flavonoïdes, métabolites secondaires appartenant à la famille des polyphénols qui sont largement étudiés dans le domaine médical, les terpénoïdes et les stéroïdes ont suscité ces dernières années l'attention considérable due à leurs propriétés pharmacologiques diverses comprenant l'activité antioxydante et hépatoprotectrice. Par cette activité antioxydante intéressante, ils sont capables d'atténuer le développement des tumeurs et des maladies inflammatoires. Les antioxydants jouent un rôle important dans le piégeage des radicaux libres, la chélation des ions métalliques, et également l'inhibition des enzymes responsables de la formation des radicaux libres en exprimant ainsi leurs capacités à être pharmacologiquement bénéfiques dans la prévention et le traitement de telles pathologies (Banskota AH et al., 2000; Malaya G et al., 2004).

L'intérêt métabolique 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 (Subirade et al., 1997). Les flavonoïdes sont susceptibles de réagir avec la plupart des espèces réactives oxygénées. En fait, leur activité antiradicalaire nécessite:

- la structure ortho-diphénolique du cycle B, qui est essentielle à l'activité des flavonoïdes possédant un hétérocycle saturé,
- la double liaison 2-3 conjuguée avec la fonction 4-oxo-, qui est responsable de la délocalisation d'électrons stabilisant le radical aroxy,
- les hydroxyles en positions 3 et 5 qui permettent une activité antiradicalaire maximale.

Les flavonoïdes et en particulier la quercétine qui présente les trois éléments de structure décrits ci-dessus, sont des piègeurs efficaces des radicaux hydroxyles et peroxydes particulièrement impliqués dans la peroxydation lipidique. Enfin, les flavonoïdes possédant une structure catéchol sur le cycle B, et en particulier la (+)-catéchine, sont des piègeurs de l'oxygène singulet, une forme réactive de l'oxygène. Les flavonoïdes sont de puissants inhibiteurs de la peroxydation lipidique (Yoshino et al., 1994), ce qui est un élément important pour la protection des membranes cellulaires et qui complète les systèmes enzymatiques de défense cellulaire (Galvez et al., 1995). Le rôle protecteur des flavonoïdes ou de divers acides phénoliques vis-à-vis de la peroxydation lipidique a fait l'objet d'une étude exhaustive.

D'après une enquête récente de Hertog et al. en 1993, 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 (Hertog et al., 1993). Parmi les composés les plus antioxydants, on peut citer l'épigallocatechine gallate, la catéchine, la quercétine, la lutéoline, la myricétine et l'apigénine mais aussi des acides phénoliques tels que les acides caféique et chlorogénique. La théorie du paradoxe français, à savoir qu'une grande partie de la population ingère autant de graisses que les Américains tout en présentant un moindre risque cardiovasculaire, a été reliée à une consommation plus abondante de produits végétaux et en particulier à celle de vin, riche en flavonoïdes

(Commenges et al. ; 2000). Il a été montré chez l'homme, que la consommation de vin rouge, contrairement au vin blanc, augmente la capacité antioxydante du sérum (Whitehead et al., 1995) et réduite la susceptibilité des LDL à l'oxydation (Fuhrman et al., 1995).

Lorsque l'équilibre entre les niveaux intracellulaires des prooxydants est perturbé, les radicaux libres sont produits en excès, accumulés dans la cellule qui devient devant un stress oxydant certain. Pour se protéger des effets toxiques de ces radicaux, les cellules ont développé des variétés de mécanismes de défense tant enzymatiques que non enzymatiques. Les systèmes cellulaires et mitochondriaux de défense contre les différents types de stress incluent essentiellement la SOD, la CAT, le glutathion peroxydase GPx, des molécules antioxydantes d'origine endogène tel que la glutathion et celles d'origine exogène comme la vit E et les flavonoïdes (281).

Face au stress oxydant la SOD comportera de deux manières différentes. Dans un premier temps, l'organisme réagira lors d'un stress oxydant modéré en surexprimant la SOD. Si le stress devient intense et produit de façon massive des espèces radicalaires toxiques, la SOD sera détruite (Levine et Kidd., 1996). Il est d'intérêt particulier de noter que la dismutation de superoxyde prévient la formation de  $^{\circ}\text{OH}$  et par conséquent la défense contre la toxicité de l'oxygène. L'activité de l'élimination des ROS est efficace seulement si elle est suivie par l'action de la catalase. Il est donc logique d'obtenir une augmentation de l'activité enzymatique de la SOD associée à celle de la catalase (SI EUN et al., 2002).

Dans un travail réalisé par Paul Brookes et al, la quercétine a montré ces capacités protectrices lors de l'ischémie reperfusion cardiaque. Ils ont trouvé que le traitement par la quercétine augmente l'activité enzymatique de la SOD et ont proposé que cela revienne sa capacité d'induire la synthèse protéique de l'enzyme par action au niveau génétique. Il est largement rapporté que l'expression des gènes qui codent la superoxyde dismutase répond au différents types de stress incluent les espèces réactives de l'oxygène (Metodieva D et al., 1999).

Actuellement beaucoup de travaux visent à protéger la mitochondrie des effets nocifs de ROS produite lors de l'ischémie-reperfusion constitue un objectif majeur. L'extrait de Ginkgo biloba obtenu à partir des fruits de la plante de Ginkgo biloba a été fortement utilisé dans la médecine traditionnelle. L'extrait nommé EGB ou bilobalide est utilisé en France pour traiter les pathologies vasculaires et neurodégénératives et la prévention de l'ischémie reperfusion. Leur mécanisme d'action n'est pas bien défini mais il est évident maintenant que cet effet est attribué à sa capacité à piéger les radicaux libres oxygénés de temps que le bilobalide contient des flavonoïdes, des acides organiques et des terpénoïdes. Récemment, l'utilisation de la mitochondrie comme cible de recherche a permis d'expliquer l'effet bénéfique de Ginkgo biloba dans l'ischémie-reperfusion. Seif-El-Nasr et El Fattah ont démontré que l'extrait réduit la peroxydation lipidique, protège les complexes de la chaîne respiratoire mitochondriale et corrige le déficit de la phosphorylation oxydative induites par l'anoxie-reoxygénation (Morin D et al., 2001).

# *Conclusion*

## CONCLUSION

La mitochondrie constitue à la fois la centrale énergétique de la cellule aussi bien qu'un producteur robuste et cible primaire des effets délétères des espèces réactives de l'oxygène (ROS). La protection des fonctions mitochondriales et des systèmes antioxydants tant que mitochondriaux que cellulaires par les molécules naturelles en se basant sur les différentes stratégies de prévention semble constituer un point très intéressant dans la prévention de plusieurs pathologies graves induites par le dysfonctionnement mitochondrial, le stress oxydant et/ou l'apoptose. Les flavonoïdes, composés naturels largement présents dans les fruits et les légumes, qui sont reconnus pour leur activités antioxydantes, sont capables de piéger les radicaux libres, de chélater les ions métalliques et d'inhiber la production de ROS en agissant à différents niveaux de la chaîne respiratoire mitochondriale. Pour cela, une alimentation saine et équilibrée doit théoriquement être suffisante pour apporter à notre organisme les antioxydants et obligatoirement nécessaire pour limiter au maximum l'effet nocif des ROS. Enfin nous voudrions conseiller les gens de retourner à notre origine, à la nature, en utilisant ses usines thérapeutiques gratuites que le Dieu nous a donné afin de lutter contre les maladies agressives en espérant avoir un jour un traitement de toutes les maladies qui sont dans la quasi totalité liées à la plaque tournante de la cellule, la mitochondrie.

**Alnemri ES, Livingston DJ, Nicholson DW, Salvesen G, Thornberry NA, Wong WW, and Yuan J.** Human ICE/CED-3 protease nomenclature. *Cell* 1996 ; 87: 171.

**Andreyev Yu A, Kushnareva Yu E, and Starkov AA.** Review: mitochondrial metabolism of reactive oxygen species. *Biochemistry* 2005; 70: 200-214.

**Aurousseau. B.** les radicaux libres dans paryanisme des animaux aux d'élevage : conséquence sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leur produits, *INRA Prod. Ani* 2000; 15 : 67-82.

**Aust SD, Svingen BA.** Free radical in biological systems. Acad. Press. London, 1985; 1-28.

**Bacot S.** Caractérisation d'un nouvel Aldéhyde d'origine plaquitaire (4 Hydrxydodecadienel) et formation d'adduits de michael avec les phospholipides a ethanolamine. Thèse de doctorat, *école doctorale interdisciplinaire science-santé* 2004 ; pp : 69-98.

**Banskota AH, Tezuka Y, Adnyana IK, Xiong Q, Hase K, Tran KQ, Tanaka K, Saiki J, Kadota S.** Hepatoprotective effect of commbretum quadrangular and its constituents. *Biol Pharm Bull* 2000; 23: 456-460.

**Bhaumik S, Anjum R, Rangarai N, Pardhasaradhi BV, Khar A.** Curcumin mediated apoptosis in AK-5 tumor cells involves the production of reactive oxygen intermediates. *FEBS Lett* 1999; 456: 311-314.

**Blanche Maison P.** Les phlébotoniques de 1930 à nos jours. *Act Med an giologie* 2000; 54:4- 473.

**Block G, Patterson B, and Subar A.** Fruits, vegetables, and cancer prevention, areview of the epidemiology evidence. *Nature Cancer* 1992; 18: 1-29.

**Borner CD, and Cidlowski JA.** Cellular mechanisms of the repression of apoptosis. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2002; 42:259-81.

**Boukkenheuser VD, Shackleton CHL, and Winter J.** Hydrolysis of dietary flavonoïds glycosids by strains of intestinal bacteroids from humans. *Biochem J* 1987; 248:953-6.

**Bruneton J.** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, (3ème éd). Paris: édition tec et doc Lavoisier 1993 ; pp: 266-293,1120.

**Bursch W, Ellinger A, Gerner C, Fröhwein U, and Schulte-Hermann R.** Programmed cell death - apoptosis, autophagic PCD, or others? *Ann NY Acad Sci* 2000; 926: 1-12.

**Cadenas E, Boveris A, Ragan CL, and Stoppani AO.** Production of superoxide radical and hydrogen peroxide by NAOH. Ubiquinone reductase and ubiquinol cytochrome from breef heart mitochondrial. *Arch. Biochim. Biophys* 1997; 180: 248-257.

**Cau P et Seïte R.** Cours de biologie cellulaire ellipse/ édition marketing S.A, 1996; pp: 179-198.

**Cauttridge, M.** Free radicals in disease processes: a complication of cause and consequence. *Free radical. Res commun.* 1993; 14:141-158.

**Chanvallon C, and Blanche maison P.** Cance-Sanchez B.Les flavonoides. *Act Med angiologie*

1994; 197:3846-50.

**Crespy V, Morand C, Besson C, Manach C, Demigne C, and Remezy C.** Comparison of the intestinal absorption of quercetin, phloretin and their glycosides in rats. *J Nutr* 2001; 131: 2109-2114.

**Crompton M.** The mitochondrial permeability transition pore and its role in cell death. *Biochem J* 1999; 341:49-233. **Curtin JF, Donovan M, and Cotter TG.** Regulation and measurement of oxidative stress in apoptosis. *J Immunol Methods* 2002 ; 265:49-72.

**Davies MJ.** Stable markers of oxidant damage to proteins and their application in the study of human disease. *Free Rad Biol Med* 1999; 27:1151-1163.

**Delattre J, Beaudeau JL, and Bonnefort-Rousselot D.** *Radicaux libres et stress oxydant. Aspects biologiques et pathologiques.* Tec et Doc Lavoisier: Londres Paris New York 2005.

**Delbart C.** Les mitochondries: biologie et incidences physiopathologiques. Editions TEC et DOC. Londres-Paris-New Yor 2000.

**Delcorso L, Pastine F, Protti MA, Romanelli AM, Moruzza D, Rucco I, and Penlimone F.** Blood zinc, copper and magnesium in aging. A study in healthy home-living elderly. *Panminerva Med* 2000; 42: pp: 273-277.

**Delcorsol, Pastin F, Protti MA, Romanelli AM, Moruzza D, Ruccol L, and Pentimone F.** blood zink. Copper and magnesium in aging. A study in healthy home living elderly. *Panminewa Med.*2000; 42: 273-7.

**Desogher S, and Martinet JC.** Mitochondria as the central control point of apoptosis. *Trends Cell Biol* 2002; 10:77-369.

**Echaniz-Laguna A.** Etude de la fonction mitochondriale et de l'expression du gène Nogo dans le muscle squelettique dans la sclérose latérale amyotrophique sporadique chez l'homme. Thèse de doctorat, *université louis pasteur Strasbourg* 2006 ; pp : 17-27.

**Elliott Middleton, Jr. Chithan Kandaswami, and Theoharis C Theoharides.** The effect of plant flavonoids on mammalian cells: implication for inflammation, heart diseases and cancer. *Pharmacological Review* 2000; 52: 673-751.

**Erben-Russ M, Bors W, and Saran M.** Reactions of linoleic acid peroxy radicals with phenolic antioxydants: a pulse radiolysis study. *Int. J. Radiat. Biol* 1987; 52: 393-412.

**Eymard S.** Mise en évidence et suivi de l'oxydation des lipides au cours de la transformation du chinchard (*Trachurus trachurus*): choix des procédés. Thèse de doctorat, *université de Nantes* 2003; pp : 28-38.

**Favier A.** Le stress oxydant, intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité chimique novembre- décembre 2003; pp: 108-115.

**Ferrali M, Signorini C, Caciotti B, Sugherini L, Ciccoli L, and Giachetti D.** Protection against oxidative damage of erythrocyte membrane by the flavonoid quercetin and its relation to iron chelating activity. *FEBS Lett* 1997; 416: 123-129.

**Fiorucci S.** Activité biologiques de composés de la famille des flavonoïdes approchés par des méthodes de chimie quantique et de dynamique moléculaire. Thèse de doctorat, université Nice-Sophia Antipolis 2006; pp:12-30.

**Garait B.** Le stress oxydant induit par voie métabolique (régime alimentaire) ou par voie gazeuse (hypoxie) et effet de la GLISODin®. Thèse de doctorat, université Joseph Fourier - Grenoble 1 sciences-technologie-santé 2006; PP: 8-42.

**Genova ML, Ventura B, Giuliano G, Bovina C, Formiggini G, Parenti Castelli G, and Lenaz G.** The site of production of superoxide radical in mitochondrial Complex I is not a bound ubiquinone but presumably iron-sulfur cluster N2. *FEBS Lett* 2001; 505: 364-368.

**Gerard-Monnier D, and Chaudière J.** metabolism and antioxidant function of glutathion. *Pathol. Biol. (Paris)* 1996; 44: 77-85.

**Gerard R.** Métabolisme des végétaux: physiologie et biochimie, paris 1993; pp : 15-32, 333-339.

**Gerrard Umier O, and Chaudière, J.** Metabolism and antioxidant function of glutathion. *Pathol. Boil. , Paris* 1996; 44: pp: 77-85.

**Gil B, Sanz MJ, Terencio MC, Fernandez ML, Buslos G, Paya M, Gunasegaran R, and Alcaraz MJ.** Effect of flavonoids on *Naja naja* and human recombinant synovial phospholipases A2 and inflammatory response in mice. *Life Sci* 1994; 54:333-338.

**Grardés-Albert M, Bonnefont-Rousselot D, Abedinzadeh Z, and Jore D.** Espèce réactives de l'oxygène : comment l'oxygène peut il devenir toxique. *Actualité biochimique* 2000; pp 91-96.

**Green DR, and Reed JC.** Mitochondrial and apoptosis. *Science* 1998; 281:1309-12.

**Hahlbrock, K.** Flavonoïd. In *The Biochemistry of Plants: A Comprehensive Treatise: Secondary Plant Products.* Academic Press: New York 1981.

**Halliwell B, and Gutteridge.** Oxygen toxicity, oxygen radical, transition metal and diseases. *Biochem* 1984; 214: 9-14.

**Hand CK, Khoris J, Salachas F, Gros-Louis F, Lopes AAS, and Mayeux-Portas V.**

**Haton C.** effets des rayonnements ionisants sur la structure et la fonction de la cellule épithéliale intestinale. Thèse de doctorat, *université Paris VI Pierre et Marie curie* 2005 ; pp : 43-58.

**Hattori I, Nakmura H, and Masutai H .** Zhioredoxin-dependenet redox regulation-implication in aging and neurological disease, critical review of oxidative stress and aging. RG culture and H Rodriguez Eds. *Word scientific* 2003; pp87-101.

**Havsteen B.** flavonoïdes, a class of natural product of high pharmacological protency. *Biochemical pharmacology* 1983; 32: 1141-1148.

**Havsteen BH.** The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol. The* 2002; 96: 67-202.

**Herdog MGI, Hollman PCH, and Van De putte B.** Content of potentially anticarcinogenic flavonoïds of tea in fusions, wine and fruits juices. *J agric food chem.* 1993; 41:1242-1246.

**Herrero A, and Barja G.** Localization of the site of oxygen radical generation inside complex I of heart and non-synaptic brain mitochondrial. *J Bioenerg Biomember* 2002; 32:609-615.

**Hertog M G, Feskens E J , Hollman P C, Katan M B, and Kromhout D** Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. *Lancet* 1993; 342 (8878): 1007-11,

**Hertog MGL, Hollman PCH, and Katan MB.** Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in the Netherlands. *Agic food chem* 1992; 40: 2379-2383.

**Hoi YL, PO YC, Miche KTP, and Kam MK.** A Yang-Invigorating Chinese herbal formula enhances mitochondrial functional ability and antioxidant capacity in various tissues of male and female rats. *Rejuvenation research* 2005; 8: 238-247.

**Holgrem A.** Redox regulation of genesand cell function. In: critical review of oxidative stress and aging. *RG cutler and Hrodriguez Eds. Worlde scientific* 2003; 02:102-111.

**Hugues DP.** Medicine et nutrition, simmare A ed. *Medetnutr* 1996; pp: 23.

**Husain SR, Gillard J, and Gillard P.** Hydroxyl radical scavenging activity of flavonoïds. *Phytochemistry* 1987; 26:2489-2491.

Hydroxyflavone (Flavonol), 5,7-Dihydroxyflavone (Chrysin), and 3',4'-Dihydroxyflavone. *J. Agric Food Chem* 2005; 53: 2953-2960.

**Inal ME, Kahraman A.** The protective effect of flavonol quercetin against ultraviolet- induced oxidative stress in rats. *Toxicology* 2000; 154: 21-29.

**Jones AM.** Programmed cell death in development and defense. *Plant Physiol* 2001; 125: 7-94.

**Jovanovic SV, Steeke S, Simic MG, and Hara Y.** Antioxydant properties of flavonoïds: reduction potentials and electron transfer reactions of flavonoid radical. In *Flavonoïds in health anddisease*,

Rice-Evans, C. A.; Packer, L., Eds. Marcel Dekker: *New York* 1998; pp 137-162.

Jovanovic SV, Steenken S, Tosic M, Marjanovic B, and Simic MG. Flavonoïds as antioxydants. *J. Am. Chem. Soc* 1994; 116: 4846-4851.

kashif SM, Zaidi R, and Naheed B. antioxidant potential of vitamins A, E and C in modulating oxidative stress in rat brain. *Clinica Chimica Acta* 2004; 340: 229-233.

Kelso GF, Porteous CM, Hughes G, Ledgerwood EC, Gane AM, Smith RA, and Murphy MP. Prevention of mitochondrial oxidative damage using targeted antioxidants. *Ann NY Acad Sci* 2002; 959: 263-274.

Krinsky NI, and Yeum KJ. Caroténoïd-radical interaction. *Biochem.biophys.Res.commun* 2003 ; 305 : 754-760.

Kromer G, Zamzami N, and Susin SA. Mitochondrial control of apoptosis. *Immunology Today*1997; 18: 44-51.

Kushnareva Y, Murphy AN, and Andreyev A. Complex I-mediated reactive oxygen species generation: modulation by cytochrome c and NAD(P)<sup>+</sup> oxidation-reduction state. *Biochem J* 2002; 368: 545-553.

Laurent C. Effet d'un hydroperoxyde lipidique et de LDL oxydées sur les enzymes impliquées dans la libération de l'acide arachidonique de phospholipides plaquettaires. Thèse de doctorat, *Institut National des Sciences Appliqués de Lyon* 2004, pp : 59-70.

Laurent C. Rôle du stress oxydatif dans le développement des effets cellulaires radio-induits au niveau cutané : application aux irradiations localisées accidentelles. Thèse de doctorat, *université de Versailles Saint-Quentin-en-Yvelines* 2005 ; pp : 32-59.

Lenaz G.A. Role of mitochondria in oxidative stress and aging. *Biolphys Acta* 1998; 1366: 53-67.

Li J, Gao X, Qian M, and Eaton JW. Mitochondrial metabolism underlies hyperoxic cell damage. *FreeRadic Biol Med* 2004; 36: 1460-1470.

Li Y, Huai TT, Carlson E.J, Melov S, Ursell P, Colson JL, and Noble L J, Yoshimura M. P., Berger C., Chan P. H., et al. *Nat. Genet*1995; 11, 376-381.

Liu Y, Fiskum G, and Schubert D. Generation of reactive oxygen species by the mitochondrial electron transport chain. *J Neuro chem* 2002; 80,780-787.

Lodisk B, Berk, Zipursky, Matsudaire, Darnell. Biologie moléculaire de la cellule. *De bœck université Sa 3<sup>ème</sup> édition* 1997 ; pp : 745-746.

Lucie P. Etude de la relation structure-fonction de la protéine BI-1 chez *Saccarmyces cervisies*. Thèse de doctorat, *Laval QUEBEC* 2005 ; pp : 1-31.

Ly JD, Grubb DR, and Lawen A. The mitochondrial membrane potential (deltapsi (m)) in apoptosis; an update. *Apoptosis*2003; 8:115-28.

**Malaya G, Upal KM, Thangaval SK, Periyasamy G, and Ramanathan SK.** Antioxidant and hepatoprotective effect of *Bauhinia racemosa* against paracetamol and carbon tetrachloride induced liver damage in rats. *Iranian Journal of Pharmacology & Therapeutics* 2004; 3: 12-20.

**Malissein E.** Physiologie mitochondriale et apoptose couplée à la signalisation du récepteur à l'antigène des lymphocytes B. Thèse de doctorat, *université de Limoges* 2005 ; pp : 16-47.

**Manach, C, Scalbert A, Morand C, Remesy C, and Jimenez L.** Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am. J. Clin Nutr* 2004 ; 79: 727-747.

**Marc M.** biologie cellulaire *c Masson Paris. 8<sup>ème</sup> édition* 2000; p279-311.

**Marfek A.** radiolyse gamma des flavonoïdes. Etude de leur réactive avec les radicaux issus des alcools : formation de depsides. Thèse de doctorat, *université de limoges* 2003; pp:1-35.

**Maria I, Nieva Moreno, Maria I Isla, Antonio R Sampietro, and Marta A.** Comparison of free radical scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. *Journal of Ethnopharmacology* 2000; 71: 109-114.

**May JM.** Is ascorbic acid an anti oxidants for the plasma membrane? *Fased J* 1999; 13:995-1006.

**Mc Cord JM, and Day ED.** Euperoxide dependant production of hydroxyl radical catalysed by iron EDTA complex. *FEBSLETT* 1987; 86: 139-142.

**Melov S, Ravebscroft J, and Malik S, .** Extension of life span with superoxide 2000.

**Mena P, Mynar M, and Gutierrez JM.** Erythrocyte free radical scavenger enzymes in bicycle profession racers. Adaptation to training. *INT J sports Med* 1991; 12: 563-566.

**Menzies FM, Cookson MR, Taylor RW, and Turnbull DM.** Chrzanowska-Lightowlers ZM, Dong L, et al. Mitochondrial dysfunction in a cell culture model of familial amyotrophic lateral sclerosis. *Brain* 2002; 125:1522-33.

**Metodieva D, Jaiswal AK, Cenas N, Dikancaite E, and Segura A.** Quercetin may act as cytotoxic prooxidant after its metabolic activation to semiquinone and quinoidal product. *Free Rad Biol Med* 1999; 26: 107-116.

**Mezzehi A, Pierdomenico S.D, and Costantini F.** Copper/zincratio and systemic oxidant load; effect of aging and aging-related degenerative diseases. *Free Red Boil med* 1998; 25: pp: 676-681.

**Middleton E Jr, Kandaswami C, and Theoharides TC.** The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacol. Rev* 2000; 52: 673-751.

**Middleton E, Jr, Kandaswami C. Theoharides, T.C.** The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacol. Rev* 2000; 52: 673-751.

mitochondrial electron transport chain. *J. Neuroche* 2002 ; 80: 780-787.

**Morin D, Thierry Hauet, Michael Spedding, and Tillement JP.** Mitochondria as target for antiischemic drugs. *Advances Drug Delivery Review* 2001.

**Morin LK, Gutteridge JM, and Quinlan GL.** Zhiols in cellular redoes signalling and control. *Curr Med Chem* 2001; 8:763-772.

**Muzio M, Stockwell BR, Stennicke HR, Salvesen GS, and Dixit VM.** Aninduced proximity model for caspase-8 activation. *J Biol Chem* 1998; 273: 30-2926.

**Néve J, Vertongen F, Petertz A, and Carpentier YA.** Valurs usuelles du selenium et de la glutathion peroxydase dans une population belge. *Ann biol clin* 1989; 47: 138-143. *Nutr.* 1995; 61: 549-54.

**Packer L. Tritschler HJ and Wessel K.** Neuroprotection by the metabolic antioxidant alpha-lipoic acid. *Free Radic Biol Med* 1997; 22,359-378.

**Packer L. Tritschler HJ, and Wessel K.** Neuroprotection by the metabolic antioxidant alpha-lipoic acid. *Free Radic Biol Med* 1997; 22,359-378.

**Pantke U, Volk T, and Schmutzler.** Métal oxidized proteins as a marker of oxidative stress during coronary heart surgery. *Free rad boil med* 1999; 27:1080-1086, 1151-1163.

**Pastorino JG, Tafani M, Rothman J, Marcinkeviciute A, Hoed JB, Farber JL, and Marcineviciute A.** Functional consequences of the sustained ortransient activation by Bax of the mitochondrial permeability transition pore. *J Biol Chem* 1999; 274:31734-9.

**Pastorino JG, Tafani M, Rothman RJ, Marcinkeviciute A, HoekJB, Faber JL and Marcineviciute A.** Functional consequences of the sustained ortransient activation by Bax of the mitochondrial permeability transition pore. *J Biol Chem* 1999; 274:31734-9.

**Pelletier M, and Vallette FM.** Apoptose et maladies neurodégénératives. *La Lettre du Pharmacologue* 2001 ; 15 : 159-167.

**Peter N, campbell, Anthony D, Smith.** Biochimie illustrée. Édition Maloine 2002 ; pp 24, 213-273.

**Peterson J, Dwyer J.** Flavonoïds: dietary occurrence and biochemical activity. *Nutr. Res.* 1998; 18: 201-1995.

**Pincemail J, Lecomte J, and Castian JP.** Evaluation of auto antibodies against oxidized LDL and antioxidant status in top soccer and basket ball players after 4 months o composition. *Free Rad Biol Med* 2000; 28:559-595.

**Pincemail J, Meurisse M, limet R, and Defraigne J.** Evaluation du stress oxydant : une réalité pour le médecin généraliste. *Vaisseaux, cœur, poumon* 1999; 4:148-154.

**Pincemail J, Siquet J, and Chapelle J-P.** Evaluation des concentrations plasmatiques en antioxydants, anticorps contre les LDL oxydées et homocystéine dans un échantillon de la population liégeoise. *Ann Biol Clin* 2000; 58:178-185.

- Powers SK, and Lennon SL.** Analysis of cellular responses to free radicals: focus on exercise and skeletal muscle. *Proc Nutr Soc* **1999**; 58, 1025-1033.  
Recherche Medicale U330, Bordeaux, Fr. *Eur. J. Epidemiol.* **2000**. 16(4) : 357-363,
- Reilly M, Delanty N, Lawson JA, and FitzGerald GA.** Modulation of oxidative stress in vivo in chronic cigarette smokers. *Circulation* **1996**; 94:19-25.
- Richter C, Park JW, and Ames BN.** Normal oxydative damage to mitochondrial and nuclear DNA is extensive. *Proc Natl Acad Sci U S A* **1988**; 85, 6465-6467.
- Robak J, and Gryblowski RJ.** Flavonoïds are scavengers of superoxyde anions. *Biochem pharmacology* **1988**; 837-841.
- Rovogman L, Rounier T, and Kroemer G.** Mitochondria . The Killer organelles and their weapons . *J Cell physiol* **2002**; 192:131-7.
- Rowland LP, and Shneider NA.** Amyotrophic lateral sclerosis. *N Engl J Med* **2001**; 344: 700-1688.
- Rusznayk I, and Szent-Györgyi A.** Vitamin P: flavanols as vitamins. *Nature* **1936** ; 138 : p : 27.
- Ryter SF, and Tyrrell RM.** The heme synthesis and degradation pathways: role in oxidant sensitivities. Heme oxygenase has both pro-and antioxidant properties. *Free Rad Boil Med* **2000**; 28:289-309.
- Salvioli S, Bonafe M, Capri M, Monti D, and Franceschi C.** Mitochondria, aging and longevity, a new perspective. *FEBS Lett* **2001**; 492: 9 –13.
- Samejima K, Tone S, and Earnttaw WC .** CAD/ DFF40 nucleare is dispensable for high molecular weight DNA cleavage and stage I chromatin condensation in apoptosis. *J Biol Chem* **2001**;276:45427-32.
- Scarmeas N, Shih T, Stern Y, Ottman R, and Rowland LP.** Premorbid weight, body mass, and varsity athletics in ALS. *Neurology* **2002**; 59:773-5.
- Schoedel C, McClintock DS, Budinger, and Chandel NS.** Hypoxic but not anoxic stabilization of HIF-1 alpha requires mitochondrial reactive oxygen species. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* **2002**; 283:1922-31. **Semenza GL.** Perspective on oxygen sensing. *Cell* **1999**; 98:281-4
- Servais S.** Altérations mitochondriales et stress oxydant pulmonaire en réponse à l'ozone: Effet de l'age et d'une supplémentation en oméga. Thèse de doctorat, *Université Claud -Bernard Lyon* 2004 ; pp: 19-35.
- Shimazu J, Eguch Y, Kamike W, Eumahashi A, Lacraique V, Matsuda H, and Tsujimoto.** Bcl-2 prevents apoptotic mitochondrial dysfunction by regulation of proton flux...*Proc Natl Sci* **1998**; 95: 1455-1459.
- Si Eun L, Eun MJ, Jeong HK.** Antioxidant activity of extracts from *Euryale ferox* seed. *Experimental and molecular medicine* **2002**; 34: 100-106.

**Sies H.** Oxidative stress: introduction in oxidative stress, oxidants and antioxidant. H. Sies ed. *London academic press* 1991; pp: 15-22.

**Skulachev VP.** Cytochrome C in the apo1995) aptotic and antioxidant cascades. *FEBS Lett* 1998; 423,275-280.

**Skulachev VP.** Cytochrome c in the apo1995) aptotic and antioxidant cascades. *FEBS Lett* 1998; 423,275-280.

**Slim RM, Toborek M, and Watkins BA.** Boisspneault GA and Hennig B. Susceptibility to hepatic oxidative stress in rabbits fed different animal and plant fats. *J Am Coll Nutr* 1996; 15,289-294.

**Soares AF.** Effet de stress sur le fonctionnement des Adipocytes : Adiponective et prostaglandines. Thèse de doctorat, *école doctorale interdisciplinaire science- santé* 2005 ; pp: 35-47.

**Srinivasula SM, Datta P, Fan XJ, Fernandes-Alnemri T, Huang Z, and Alnemri ES** Molecular determinants of the caspase promoting activity of Smac/Diablo and its role in the death receptor pathway. *J Biol Chem* 2000;275:36152-7.

**Srinivasula SM, Hegde R, Saleh A, Datta P, Shiozaki E, Chai J, Lee RA, Robbins PD, Fernandes-Alnemri T, Chi Y, and Alnemri ES.** A conserved x IAP-interaction motif in caspase-9 and Smac/Diablo regulates caspase activity and apoptosis. *Nature* 2001;410:112-6.

**Stege GJJ, and Bosman GJ.** The Biochemistry of Alzheimer's. *disease. Drugs and Aging* 1999; 14 :437-46

**St-Pierre J, Buckingham JA, Roebuck SJ, and Brand MD.** Topology of superoxide production from different sites in the mitochondrial electrontransport chain. *J Biol Chem* 2002; 277:44784-44790.

**Stryer L.** Biochimie. 4<sup>ème</sup> édition Paris 1997; pp: 551-554.

**Swain T.** The evolution of flavonoïds. In plan flavonoïds, in biology and Medicine: Biochemical, pharmacological, and structure activity relation ships. *Alan red, New York* 1986; p14.

**Tamguchi Y, Taniguchi-Meday Y, Mori K, and Yodjo JA.** Novel promotor sequence un involved in the oxidative stress-induced expression of the adult T-cell Leu kemia-derived factor (ADF)/himan thioredoxine (Trx) gene. *Nucleic Acids Res* 1996;24:2746-2752.

**Thomas D, Pollerd/ William C, Earnshaw.** Biologie cellulaire, *Elsevier science (USA)* 2004; pp : 809.

**Thornberry NA, and Lazebnik Y.** Caspases: enemies within. *Science.* 1998; 281: 1312-6.

**Turrens J, and Boveris A.** Generation of superoxide anion by the NADH dehydrogenase of bovine heart mitochondria. *Biochem J* 1980; 191, 421-427.

**Usatyu KPV, VPA, Watkins t, ped, Prinandi VL, and Natarajan V.** Redox regulation of reactive oxygen species induced, p38 mapkinax activation and barrier dysfunction in lung microvascular and othelial clls. *Antioxid redox signal* 2003; 5: 723-730.

**Vander MS.**Bcl-XL prevents cell death following growth factor with chawal by facilitaling mitochondrial ATP/ADP exchang. *Mol cell* 1999; 3: 159-167.

**Vanessa C, Christian M, Catherine B, Nicole C, Herve V, Christian D, and Christian R.** The splanchnic metabolism of flavonoids highly differed according to the native of the compound. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2003; 284: 980-988

**Vaux D.L., & Korsmeyer S.J.** (1999). Cell death in development. *Cell* 1999; 96, 245-54.

**Vila M, Jackon, Lewis VV, and Vukosovic S.** Bax ablation prevents dopaminergic neurodegeneration in the 1-methyl-4-phenyl 1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine mouse model of Parkinson's disease. *Porc Acard Sci USA* 2001; 98: 2837-42.

**virot S.** les petites protéines de stress et leur rôle dans la mort cellulaire. Etude de leur

**Vnessac, Christine M, Catherine B, and Nicole C.** The slanchnicmetabolism of flavonoïds highly differed according to the nature of compound. *Is J physiology*, 284:980-988.

**Widlaket, Li Ly, Wang X, and Garrard.**Action of recombinant human apoptotic endonuclease G on naked DNA and chromatin substrates: cooperation with exonuclease and Dnase I. *J Biol Chem* 2001;276:48404-9.

**Widmer F, Roland Beffa avec la collaboration de Lucien Bovet,** aide mémoire de biochimie et de biologie moléculaire *c Lavoisier* 2004.

**Williams RJ, Spencer JC, Rice-Evano C.** Flavonoids: antioxidant or prooxidant molecules? *Free Radical Biol Med* 2004; 36: 838-849.

**Winkel-Shirley, B.** Biosynthesis of flavonoids and effects of stress. *Curr. Opin. Plant Biol.* 2002 ; 5: 218-223.

**Winkel-Shirley, B.** Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology. *Plant Physiol* 2001; 126: 485-493.

**Ye H,Cande C,stephanou NC,Jiang S , Gurbuxani S ,and Larochette N.**The apoptogenic action of apoptosis inducing factor. *Nat Struct Biol* 2002; 9; 680-4.

**Young AB.**Impairment of energy metabolism and exitotoxic cell death in Huntington's disease. *Rev neurol*1997; 153: 8-9, 496-8.

**Yues M, and Clos.** Organisation fonctionnelle de la cellule (tome2) édition Nathanla 2<sup>ème</sup> édition. 1999; pp: 7-22.

**Zakeri Z, and Lockshin, RA.** Cell death during development. *J Immunol Methods* **2002**; 265:3-20.

**Zamzami N, and Kroemer G .** The mitochondria in apoptosis: how pandoras box opens . *Nat Rev Mol Cell Biol* **2001**; 2:7-67.

## Thème

La mitochondrie et Flavonoïdes, entre induction et prévention du stress et de l'apoptose.

## Résumé

Le monde de sciences biologiques et médicales est envahi par un nouveau concept, celui du stress oxydant, une situation où la cellule ne contrôle plus la présence excessive des espèces réactives de l'oxygène (ROS), résultant souvent d'un dysfonctionnement de la chaîne respiratoire mitochondriale induisant une mort cellulaire programmée "apoptose" impliquée dans de nombreuses pathologies telles que les affections neurodégénératives et le cancer. Plusieurs produits naturels tel que les flavonoïdes extraits à partir des plantes médicinales possèdent des activités antioxydantes capables de prévenir ou de réduire les conséquences du stress oxydatif particulièrement par la protection des fonctions mitochondriales.

**Mots clefs:** mitochondries, stress oxydant, prévention, apoptose, flavonoïdes, ROS.

## Summary

The biological and medical sciences world is invaded by a new concept which is the oxydative stress. When a cell doesn't control the excessive presence of reactive oxygen species, as a result of mitochondrial respiratory chain which leads to a programmed cell's death "Apoptosis" applied in many pathologies like neurodegeneratives affections and cancer. Lot of natural products as the flavonoids extracted from medicinal plants that have antioxydants activities, are able to prevent or to reduce the consequences of oxydative stress, particularly by protection of mitochondrial functions.

**Key words:** mitochondries, stress oxidative, prevention, apoptosis, flavonoïdes, ROS.

## المخلص

اجتاح حقل العلوم البيولوجية و الطبية عامل جديد يعرف بالقلق التاكسدي عندما تفقد الخلية قدرة المراقبة على التواجد الكثيف للجذور الأوكسجينية الحرة الناتجة عن خلل وظيفي في السلسلة التنفسية للميتوكوندرية مما يؤدي إلى موت خلوي مبرمج "أبوبتوز" المسبب للعديد من الأمراض مثل الالتهابات الناتجة عن تخريب الجهاز العصبي . الكثير من المنتجات الطبيعية كالفلافونويدات المستخلصة من الاعشاب ذات نشاط ضد التاكسد قادرة على منع أو تقليل نتائج القلق التاكسدي خاصة عن طريق حماية الوظائف الميتوكوندرية. الكلمات المفتاح: الميتوكوندرية, القلق التاكسدي, الحماية, الأبوبتوز, الفلافونويدات, ج أ ح.