

## Chapitre I : Les Antioxydants

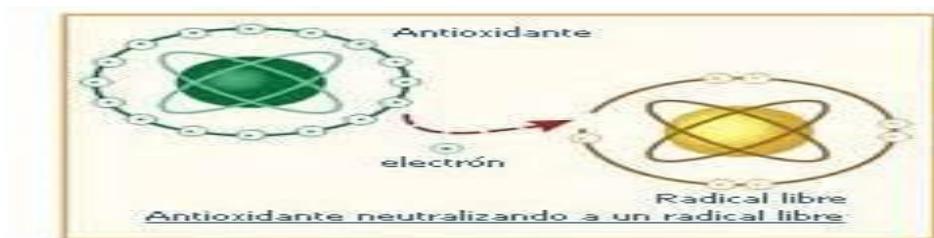
### I-1- Définition:

Les antioxydants sont des composés chimiques qui réduisent ou neutralisent l'oxydation des cellules. Certains des plus importants antioxydants sont des vitamines essentielles pour lesquelles on a établi un apport nutritionnel recommandé

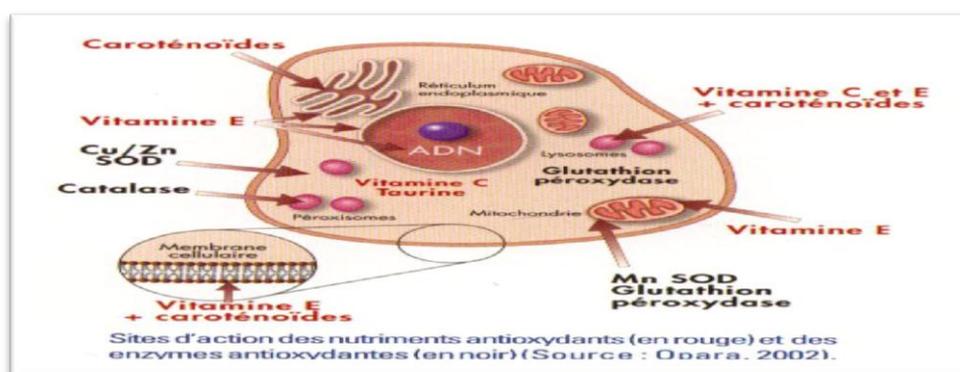
Un antioxydant est une molécule qui diminue ou empêche l'oxydation d'autres substances chimiques. Ils s'utilisent pour réduire l'oxydation du produit auquel ils sont mélangés Libres.[1]

Les antioxydants piègent les radicaux libres en inhibant les réactions à l'intérieur des cellules provoquées par les molécules de dioxygène et de peroxyde, aussi appelées espèces oxygénées radicalaires (EOR) et espèces azotées radicalaires

Les antioxydants sont naturellement présents dans presque toutes les plantes, tous les micro-organismes, les champignons et même dans les tissus animaux. Le groupe le plus important d'antioxydants naturels comprend les flavonoïdes et autres composés végétaux [2]



**Figure1:**Antioxydant neutralizando a un radical libre



**Figure. 2-** Sites d'action des nutriments antioxydants (en rouge) et des enzymes antioxydantes (en noir) (d'après OPARA, 2002)

## **I-2- Les sources des antioxydants:**

### ***I-2-1-Les antioxydants synthétisés:***

Dans l'industrie alimentaire, les antioxydants synthétiques sont utilisés pour empêcher les aliments gras de rancir et pour protéger les vitamines liposolubles (A, D, E et K) contre l'oxydation. Les esters d'acides galliques, le butylhydroxytoluène et le butylhydroxyanisole, appartiennent à cette catégorie. Les vitamines C et E ont également des propriétés antioxydants et ont l'avantage d'augmenter la valeur nutritive des aliments. [3]

Ils sont généralement préparés en laboratoire, et principalement a partir de composants chimiques. Dans l'industrie alimentaire, l'ajout d'antioxydants naturels dans les aliments est une technique complètement nouvelle. Depuis à peu près 1980. Toutefois, le fait de trouver communément une substance dans un aliment ne constitue pas une garantie de son absence totale de toxicité. Les antioxydants synthétiques ont été testés quant a leurs effets carcinogènes ou mutagènes, mais de nombreux constituants naturels des aliments n'ont pas encore été testés [4]

### ***I-2-2 Les antioxydants naturels:***

Les antioxydants naturels sont présents dans toutes les parties' des plantes supérieures.

Elles incluent le bêta carotène, l'albumine, les vitamines (E, C, P...), les composés phénoliques. Elles peuvent stabiliser les membranes en diminuant leur perméabilité et elles ont également une capacité de lier les acides gras libres. [6]

## ***I-3-Différents types d'antioxydants:***

Il est important de consommer un large éventail d'antioxydants pour favoriser une bonne santé.

Les compléments alimentaires à base d'antioxydants ressemblent aux antioxydants présents dans de nombreux fruits et légumes.

Al 'instar des sources de radicaux libres, il existe différents types d'antioxydants capables d'agir sur les radicaux libres.

Vous trouverez quelques exemples à ce sujet ci-dessous:

-  Les caroténoïdes constituent une des principales catégories de phytonutriments capables de procurer de nombreux bienfaits à la santé.

Les caroténoïdes renforcent la protection antioxydante des membranes cellulaires et protègent la peau contre les effets nocifs des rayons ultraviolets.

Les principaux caroténoïdes sont la bêta-carotène, la lycopène, la lutéine et l'alpha-carotène.

Vu que tous ces caroténoïdes se retrouvent dans l'alimentation, les sérums et comportent de multiples avantages, il est important de choisir des aliments et des compléments alimentaires riches en caroténoïde

✚ Les antioxydants liposolubles se concentrent dans les cellulaires (vitamine E, caroténoïdes), alors que les antioxydants environnements lipides de l'organisme, comme les membranes hydrosolubles (vitamine C) se retrouvent à d'autres endroits de l'organisme. L'acide alpha-lipidique est un antioxydant unique car il agit à la fois comme antioxydant liposoluble ET comme antioxydant hydrosoluble

✚ Les antioxydants régénérant (la vitamine C contribue au recyclage de la vitamine E)

✚ Les antioxydants internes sont synthétisés par l'organisme mais sont liés aux blocs nutritionnels présents dans l'alimentation (superoxyde dismutase, peroxydase de glutathionne).

✚ Les cofacteurs minéraux contribuent à développer des antioxydants internes (sélénium, cuivre, zinc).

✚ Les antioxydants externes ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent donc se retrouver dans l'alimentation

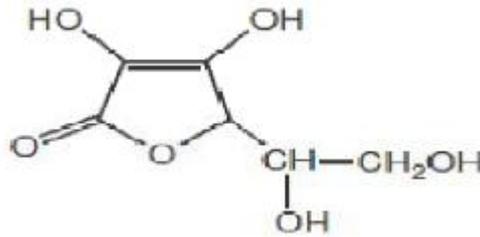
✚ Les cinq principales catégories d'antioxydants externes comprennent les vitamines, les cofacteurs minéraux, les caroténoïdes, les flavonoïdes et d'autres antioxydants uniques (acide alpha-lipoïque) [7] [8]

### **I-3-1-Les vitamines:**

#### **• La Vitamine C :**

La vitamine C ou acide ascorbique est le plus important antioxydant hydrosoluble :

Son rôle est essentiel dans les compartiments intra- et extracellulaires. Son mécanisme d'action est mal connu. Il fait intervenir des réactions d'oxydoréduction entre la forme réduite de la vitamine C (l'acide ascorbique) et sa forme oxydée (dehydroascorbate) [8]

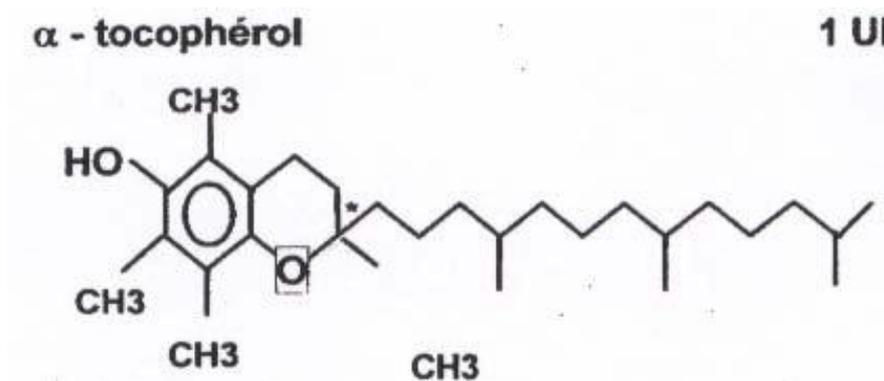


**Figure3:** Structure de la vitamine C

• **La vitamine E:**

La vitamine E est un antioxydant majeur liposoluble. C'est un composé amphiphile, capable de s'insérer dans les membranes cellulaires : globules rouges, cellules endothéliales, cellules musculaires, neurones (c'est le seul antioxydant du système nerveux central), gamètes.....

Il existe dans la nature plusieurs dérivés de la vitamine E à activités différentes ( $\alpha$ -,  $\alpha$ -,  $\gamma$ ,  $\delta$ -tocophérol, tocotriénols...). Ils sont différenciés par les substituants du noyau chromanol (noyau benzyle associé à un hétérocycle à 6 carbones substitué par un hydroxyle et par une chaîne latérale ramifiée saturée s'il s'agit de tocophérol ou insaturée s'il s'agit de tocotriénols). [9]



• **Le  $\beta$  carotène:**

Il est présent dans les légumes verts, la salade, les carottes, l'abricot, le melon, les épinards, la papaye.[6]

### I-3-2 Les composées phénoliques

#### ❖ *Les flavonoïdes:*

Le terme flavonoïde rassemble de nombreux composés naturels répartis en plusieurs familles dont les plus importantes sont les catéchines, la quercitrine, les isoflavones ou l'acide gallique. Ce sont des pigments naturels qui donnent leurs couleurs aux plantes. Les études chez l'homme ont permis de montrer que les flavonoïdes, et notamment les isoflavones contenus dans le soja, permettent de réduire le taux de mauvais cholestérol.

Les flavonoïdes agissent par deux mécanismes d'action :

- soit par chélation des métaux (quercitrine, catéchine)
- soit par capture des radicaux hydroxyles, superoxydes, alkoxydes et peroxydes

On les retrouve dans les fruits, les légumes, le thé ...etc. Elle contribue aussi à l'inhibition de l'oxydation des lipoprotéines de faible densité (LDL) qui sont impliquées dans l'athérogènes. [5]

#### ❖ *les xanthonnes:*

Ils possèdent des propriétés inhibitrices envers la peroxydation des lipides en plus du fait qu'ils captent les radicaux libres contre les anions superoxydes. [8]

#### ❖ *les coumarines:*

Ils ont la capacité de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes, et peroxydes. Ils préviennent également la peroxydation des lipides membranaires

Les conditions structurales requises pour l'activité antioxydant des coumarines sont similaires à celles signalées pour les flavonoïdes.[ 7]

#### ❖ *les dérivés d'acide phénolique:*

On les retrouve dans de nombreux fruits, légumes, le café, les prunes, les myrtilles, le raisin et les pommes. Les composés possédant les activités antioxydantes et antiradicalaires sont l'acide caféique, l'acide gallique et l'acide chorogénique.

Il inhibe aussi la peroxydation lipidique dépendante du fer dans les mitochondries et possède une forte capacité de capter le radical libre DPPH.[8]

#### ❖ *les tanins:*

Les tanins inhibent la peroxydation lipidique des mitochondries du foie et des microsomes mais aussi l'oxydation de l'acide ascorbique et du linoléate. Lors de la peroxydation les tannins donnent des protons face aux radicaux libres, et ainsi des radicaux tanniques stables sont formés. Ce qui permet de stopper la réaction en chaîne de l'auto-oxydation lipidique. [9]

**❖ Les lignanes:**

Les lignanes les plus étudiés du point de vue de leur activité antioxydant sont les dérivés bifuranyles des graines de sésame. [8]

**I-3-3- les minéraux :**

Parmi les minéraux, les deux principaux antioxydants sont le zinc et le sélénium, et dans une moindre mesure le manganèse. Il est essentiel d'assurer à son organisme des apports suffisants en ces composés pour préserver sa santé

**❖ Le sélénium :**

Le sélénium est un oligo-élément antioxydant qui intervient dans le métabolisme des radicaux libres et d'autres substances produites par l'oxydation des lipides au niveau des membranes cellulaires ; Ses propriétés antioxydantes sont impliquées dans la lutte contre le vieillissement cellulaire [7]

**❖ Le zinc :**

Le zinc est un oligo-élément qui intervient dans de nombreuses réactions enzymatiques et joue un rôle important dans le métabolisme des protéines, des glucides et des lipides ; C'est un antioxydant et il interviendrait dans la prévention des effets toxiques dus aux radicaux libres. Dans l'acné inflammatoire modérée, le zinc a même démontré une efficacité équivalente à la tétracycline, l'antibiotique de référence dans le traitement de l'acné [7]

**❖ *Le manganèse:***

Il s'agit du cofacteur exclusif du seul enzyme antioxydant des mitochondries. Bien que ses carences soient exceptionnelles en raison de son ubiquité, on veillera à ne pas négliger céréales, laitages et légumes secs.

**❖ *Le cuivre:***

Son rôle est controversé ; d'une part il intervient comme coenzyme d'un système épurateur (la superoxyde dismutase) ; d'autre part, il favorise fortement la formation de RLO (comme le fer). On ne fait actuellement aucune recommandation particulière à son sujet en rapport avec la lutte contre les radicaux, car les données sont trop parcellaires pour pouvoir adopter une position tranchée à son sujet.[6]

**I-4-Classification des antioxydants par rapport à leur mécanisme d'action:**

Indépendamment de leur localisation, les antioxydants peuvent agir à deux niveaux : en prévenant la formation de radicaux libres oxygénés ou en épurant les radicaux

---

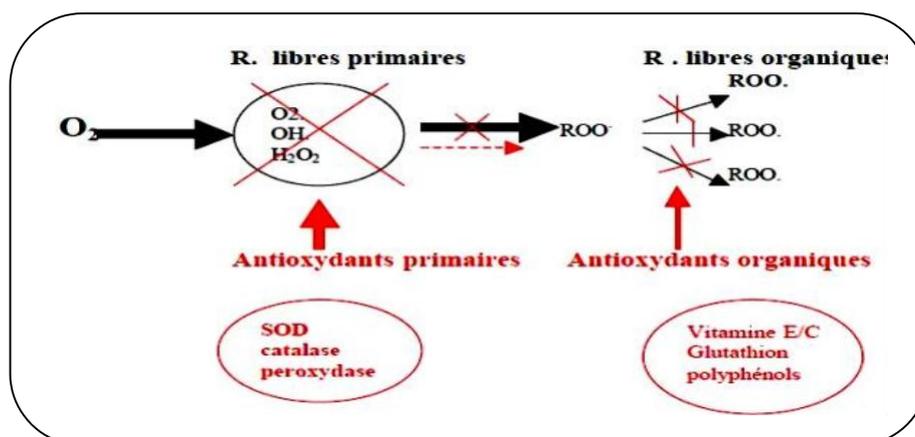
libres oxygénés. En complément de cette double ligne de défense, l'organisme est en outre capable de réparer ou d'éliminer les molécules endommagées par l'attaque radicalaire [11].

#### **I-4-1-Les antioxydants primaires**

Plusieurs noms ont été attribués à ce groupe par exemple, antioxydants primaires, Chain breaking, piègeur des radicaux libres. Ce genre d'antioxydants peut inhiber la réaction d'initiation et la propagation de l'oxydation en participant au processus d'oxydation et en convertissant les radicaux libres vers leurs formes inactives. Les antioxydants primaires sont généralement des composés phénoliques (AH) capables de donner un atome d'hydrogène au radical libre et le convertir en un composé stable non radicalaire. Les antioxydants de ce groupe réagissent de façon prédominante avec les radicaux peroxydés, pour deux raisons : la concentration élevée de ces radicaux et la faible énergie du groupement (ROO<sup>·</sup>), en comparaison avec les autres radicaux comme le (RO<sup>·</sup>) et la faible concentration du piègeur du radical libre dans l'aliment. Un piègeur du radical libre, même à des concentrations faibles, entre en compétition avec les lipides pour rendre le radical libre inactif par l'intermédiaire d'une réaction de libération d'un électron, suivie d'une déportation [12].

#### **I-4-2 Les antioxydants secondaires:**

Les composés de ce groupe sont catalogués comme préventifs ou antioxydants secondaires. Ils englobent une large gamme de différentes substances chimiques qui inhibent l'oxydation des lipides par différents mécanismes et ne transfèrent pas le radical libre sous sa forme non-radicalaire. Avec quelques exceptions, les antioxydants secondaires sont généralement reliés à l'inhibition de facteurs initiant l'oxydation. Ce groupe inclut : des chélateurs de métaux pro-oxydatifs, des piègeurs de la molécule d'oxygène, inhibiteurs des enzymes pro-oxydative, enzymes antioxydants et destructeurs des hydroperoxydes (Figure 7). Parfois, quelques antioxydants peuvent exercer plusieurs fonctions anti-oxydatives, par exemple, l'acide ascorbique peut être un piègeur du radical libre, désactivateur des oxygènes singlets dans une solution aqueuse et effectivement régénérer du tocophérol. Plusieurs flavonoïdes sont des piègeurs de radicaux libres et chélateurs de métaux. [13] [14]



**Figure. 4-** les systèmes de défense contre les radicaux libres (Kohen et Nyska, 2002).

### ***I-5-Classification des antioxydants suivant la nature chimique:***

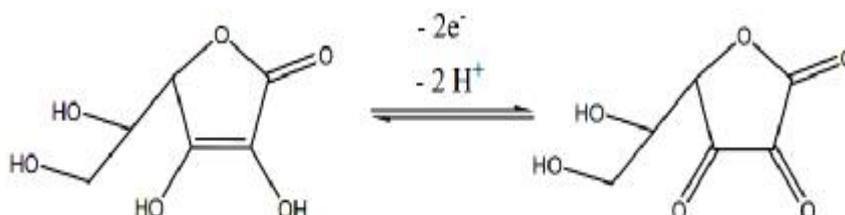
Plusieurs antioxydants synthétiques et quelques composés naturels (tocophérol, acide ascorbique, Béta-carotène) sont officiellement autorisés pour l'utilisation dans l'alimentation. Leur présence s'avère également nécessaire au sein des produits pharmaceutiques et de cosmétiques afin d'éviter leur dégradation. Cependant, des études toxicologiques ont jugé certains antioxydants synthétiques comme sources de danger.

La recherche de nouveaux antioxydants naturels est l'objectif de nombreux industriels et scientifiques. Dans la littérature, des milliers de publications ayant pour sujet les antioxydants naturels ainsi que leur effet sur l'organisme humain peuvent être consultées [13].

#### ***I-5-1-Exemples d'antioxydants d'origine naturelle:***

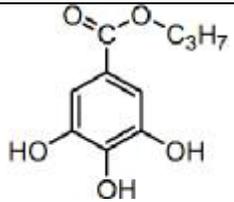
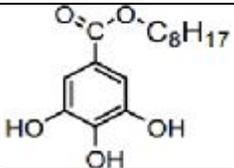
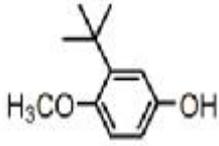
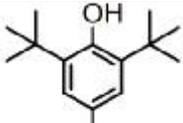
##### ***a- L'acide ascorbique et ses dérivés (E300)***

Il possède un caractère acide et intervient dans les échanges d'oxydoréduction grâce à sa fonction ène-diol. L'acide ascorbique s'oxyde en acide déshydroascorbique, prévenant ainsi l'oxydation d'autres substances moins réactives [14] :



**Figure5:** Oxydation de l'acide ascorbique



Noms	Structures
le gallate de propyle (E310)	
le gallate d'octyle (E311)	
le gallate de dodécyle (E312)	
le butylhydroxyanisole ou BHA (E320) 2 isomères	
le butylhydroxytoluène ou BHT (E321)	

## I-6- Mécanisme d'action:

### I-6-1- Mécanisme d'action des polyphénols contre les ROS:

Le processus d'oxydation est de type radicalaire : les antioxydants vont intervenir comme "capteurs" de radicaux libres. Les antioxydants de type phénolique réagissent selon un mécanisme proposé dès 1976 par Sherwin : l'antioxydant cède formellement un radical hydrogène, qui peut être un transfert d'électrons suivi, plus ou moins rapidement, par un transfert de proton [15].

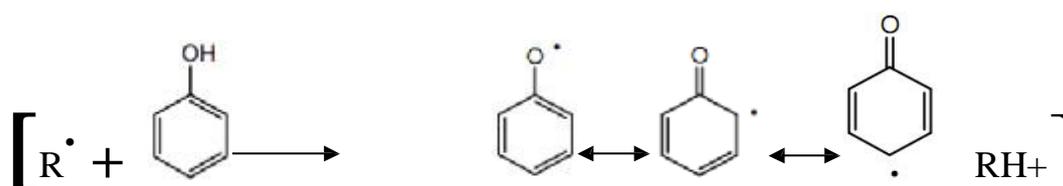


Figure 6- Mécanisme d'action des antioxydants phénoliques

### ***I-6-2- Mécanisme d'action des flavonoïdes contre les ROS:***

L'activité antioxydante des flavonoïdes peut prendre plusieurs formes dans la régulation du stress oxydatif, vis-à-vis les effets délétères des radicaux libres. Ces composants peuvent intervenir en captant directement les radicaux libres, ou inhibant les enzymes responsables de la génération des ROS, ou en captant les cations métalliques. [17]

#### ***a- Capture directe des radicaux libres :***

La structure chimique des flavonoïdes leur confère la capacité de fixer directement les radicaux libres « effet antiradicalaire ». Les flavonoïdes peuvent piéger le radical superoxyde, hydroxyle, alkoxy et peroxyde, par transfert d'hydrogène



FL: représente le flavonoïde.

R : représente le radical libre.

Le radical flavonoxy (FL-O<sup>•</sup>) peut réagir avec un autre radical pour former une structure quinone stable. La capacité anti radicalaire des flavonoïdes dépend principalement de leurs structures. [22]

#### ***b- Capture des cations métalliques :***

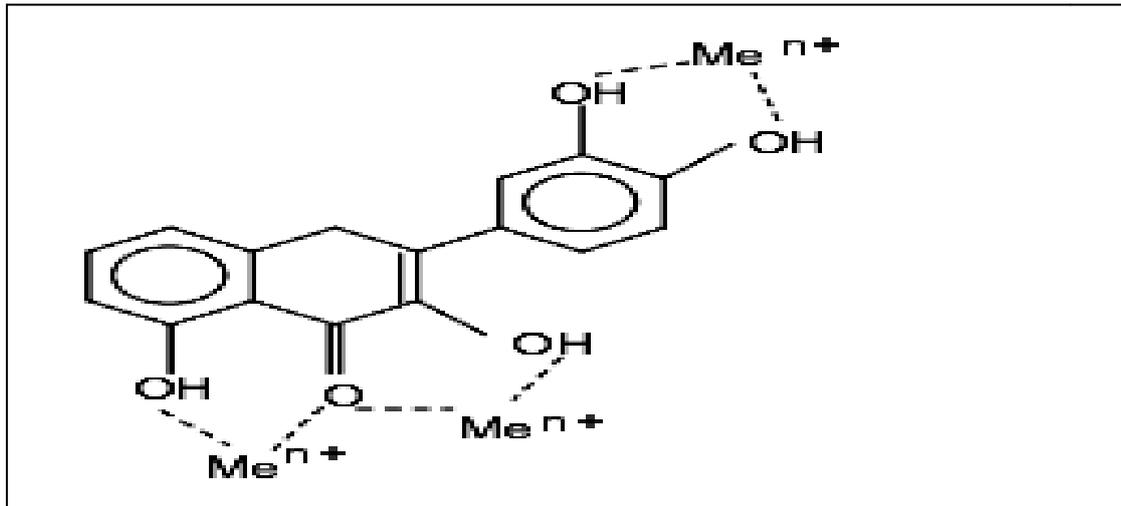
Les ions métalliques présents dans notre organisme, comme le fer ou le cuivre, peuvent donner naissance à des radicaux hydroxyles très réactifs.

Les flavonoïdes sont connus par leur capacité à former des complexes stables avec les ions métalliques et sont alors capables d'inhiber la réaction de Fenton et ainsi empêcher la production des ROS, pour cette raison sont considérés comme de bons chélateurs.

On peut résumer les sites essentiels pour la chélation des ions métalliques :

- Un noyau catéchol sur le cycle B, Les groupes 3-hydroxyle et 4-oxo du cycle
- Les groupes 4-oxo et 5-hydroxyl entre les cycles A et C.

La quercétine est la plus active des flavonoïdes [23]



*Figure.7- sites de chélation des flavonoïdes (quercitrine)*

### I-7- Les utilisations des antioxydants :

D'un point de vue biologique les composés antioxydants peuvent protéger les systèmes cellulaires des effets des processus potentiellement nocifs qui causent l'oxydation excessive. Voilà pourquoi nous trouvons que les antioxydants sont utilisés dans de nombreuses industries et dans de nombreux domaines.

#### Exemple:

- ❖ L'activité éventuelle de molécules médicamenteuses déjà connues, qui présentent les avantages d'une biodisponibilité et de paramètres pharmacocinétiques et toxicologiques déjà bien connus.
- ❖ Sont concernées par l'utilisation dans l'industrie alimentaire.
- ❖ L'industrie de lubrifiants : elle produit notamment les huiles pour moteurs et transmissions automobiles.
- ❖ L'industrie des matières plastiques : des additifs sont utilisés pour protéger les polymères de l'oxygène de l'air.
- ❖ L'industrie cosmétique : les molécules utilisées sont plus ou moins les mêmes que dans l'industrie alimentaire.[24]

### **I-8-Role des antioxydants:**

Pour illustrer le rôle des antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques, Nous allons détailler successivement plusieurs exemples. Ceux-ci ont été choisis car ils correspondent soit, à des situations où les animaux sont confrontés au stress oxydatif, soit, à des maladies où un stress oxydatif serait incriminé dans la pathogénie.

Il s'agit de :

- l'effort physique intense,
- la fonction immunitaire,
- le vieillissement,
- les maladies neurodégénératives : le syndrome de dysfonctionnement cognitif canin,
- les maladies oculaires : la cataracte et la dégénérescence maculaire,
- les maladies ostéo-articulaires : l'arthrose et la polyarthrite rhumatoïde,
- les maladies cardio-vasculaires : les cardiopathies induites expérimentalement ou non,
- le cancer,
- le diabète de type I et la formation de corps de Heinz chez le chat.

Nous nous plaçons dans le cadre d'une supplémentation apportée à un animal en bonne santé.

Notre but est. De savoir si l'enrichissement au quotidien de son alimentation permettrait de réduire l'occurrence des dommages oxydatifs et leur accumulation. Les antioxydants n'interviennent pas ici comme médicaments, mais comme moyen de prévenir l'apparition le développement de lésions oxydatives pouvant déboucher ensuite sur des états pathologiques.

Dans chaque cas, nous insisterons sur l'implication du stress oxydatif dans l'apparition et l'entretien de ces phénomènes afin de justifier l'utilisation des antioxydants. Nous discuterons ensuite, de leur intérêt à partir des résultats des expériences de supplémentation réalisées.

Finalement, nous tâcherons de mieux comprendre leurs mécanismes d'action afin de Préciser leurs conditions d'utilisation [25]

### **I-9 Teneur en antioxydants dans les aliments :**

L'alimentation contient un grand nombre d'antioxydants, non seulement les vitamines (E, C, Q,  $\beta$  carotène) et les oligo-éléments (sélénium, cuivre, zinc, manganèse), mais aussi 600 sortes de caroténoïdes, 4 000 polyphénols et flavonoïdes (trouvés dans les choux, le thé, le vin, les céréales, les fruits), des alcaloïdes, des acides organiques, des phytates, des dérivés soufrés de l'ail et de l'oignon, des dérivés in doliques du chou[29].

Les antioxydants sont naturellement présents dans presque toutes les plantes, tous les micro-organismes, les champignons et même dans les tissus animaux [30]

Les polyphénols antioxydants sont présents dans les plantes à des concentrations pouvant atteindre plusieurs grammes par kilogramme. En général, la teneur est plus élevée dans le zeste et la peau des fruits et des légumes que dans la chair [31].

Les flavonoïdes sont des métabolites végétaux avec des propriétés antioxydants efficaces. Les flavonoïdes ont été démontré que des anti inflammatoires, antiallergiques, antivirales, antiviellissement et anti-cancérigènes [32]. Les flavonoïdes puissent avoir un rôle protecteur contre les dommages causés par le cholestérol dans les vaisseaux sanguins, mais des recherches supplémentaires sont encore nécessaires

## Chapitre II : Les radicaux libre

### II.1. Généralités:

Les radicaux libres sont des particules très réactives, de dangereux produits du métabolisme. Qui favorisent, notamment, le processus de vieillissement

Ils attaquent les membranes cellulaires, agressent des protéines essentielles à la vie et détruisent le patrimoine génétique.

Le potentiel pathogène des dérivés réactifs de l'oxygène(DRO) est connu depuis longtemps. Ainsi, les radicaux libres seraient notamment (Co) responsables de la survenue de maladies telles que l'athérosclérose le cancer ou les rhumatismes [22].

### II.2.Définition:

Un radical libre est une espèce chimique, atome ou molécule, contenant un électron non apparié. Ce déséquilibre n'est que transitoire et il est comblé soit par l'acceptation d'un autre électron soit par le transfert de cet électron libre sur une autre molécule. Ces espèces radicalaires très instables et très réactives sont produites d'une manière continue au sein de notre organisme, dans le cadre de nombreux phénomènes biologiques. Par exemple, lors de la respiration cellulaire, l'oxygène moléculaire se transforme en diverses substances oxygénées, communément appelées radicaux libres de l'oxygène ou espèces réactives oxygénées (Réactive Oxygène Spécifs : ROS) [23].

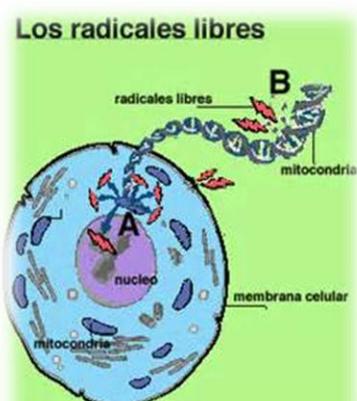


Figure.8- Radicaux libre

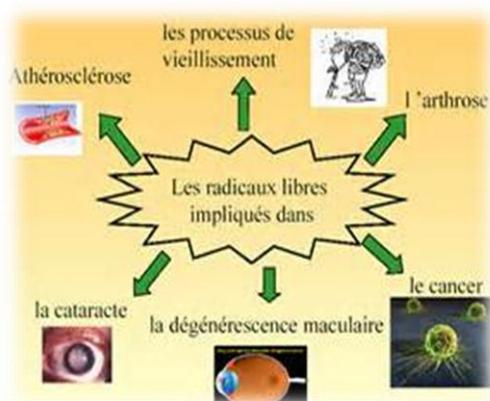


Figure.9- Implication de Radicaux

### II-3- Origine des radicaux libres:

Ils sont produits par divers mécanismes physiologiques afin de détruire des bactéries au sein des cellules phagocytaires (macrophages, polynucléaires) ou pour réguler des fonctions cellulaires vitales telle la mort cellulaire programmée ou apoptose. Toutefois, au contact entre l'oxygène et certaines protéines du système de la respiration, une production d'anions superoxydes se produit lors du fonctionnement de la chaîne respiratoire mitochondriale. Des sources importantes de radicaux libres sont les mécanismes de cycles redox que produit dans l'organisme l'oxydation de molécules comme les quinones. Ce cycle redox a lieu soit spontanément, soit surtout lors de l'oxydation de ces composés au niveau du cytochrome.

Les rayonnements UV sont capables de générer des radicaux libres et les particules inhalées (amiante, silice) sont aussi des sources de radicaux libres.

L'ingestion d'alcool est suivie de la formation de radicaux libres selon divers mécanismes, également des antibiotiques, des anticancéreux L'infection au VIH a pour effet d'accroître la production de radicaux libres dans l'organisme. [26]

### II.4 Espèces réactives dérivées de l'oxygène (ERO) :

L'oxygène doit sa grande réactivité à sa structure particulière. En effet, il possède un électron radicalaire non appariés sur sa couche externe Les mitochondries utilisent la plus grosse part de l'oxygène inspiré pour la production d'énergie.

Cependant 3 à 5% de cet oxygène. Utilisé par les mitochondries lors de l'activité métabolique normale est inévitablement à l'origine de radicaux libres oxygénés, hautement toxiques [24].

#### II.4.1 Le radical hydroxyle HO:

Le radical hydroxyle est particulièrement délétère vis-à-vis des matériaux biologiques. Son temps de demi-vie en milieu aqueux est de 10<sup>-6</sup>secondes.

Il peut se former par réaction du peroxyde d'hydrogène avec un ion ferreux (réaction de Fenton) ou par réaction du peroxyde d'hydrogène avec l'anion superoxyde (réaction de Haber-Weiss) ou sous l'effet de radiations ionisantes (rayons X ou gamma).

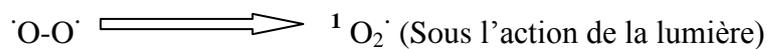
Il peut être produit à la suite de diverses réactions. Nous en citerons deux à titre d'exemple, comme :

- la réaction d'Haber-Weiss :  $O_2^{\cdot-} + H^+ + H_2O_2 + Fe^{3+} \xrightarrow{HO\cdot} H_2O + Fe^{2+}$

- la réaction de Fenton :  $H_2O_2 + Fe^{2+} + H^+ \rightleftharpoons Fe^{3+} + H_2O + HO\cdot$

### II.4.2 L'oxygène singlet $^1O_2$ :

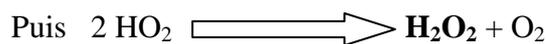
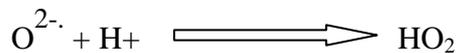
Lorsque de l'énergie est apportée à l'oxygène, celui-ci passe à l'état singlet qui représente la forme activée. C'est une forme très énergétique de grande réactivité qui peut oxyder de nombreuses molécules. Il est formé à partir de l'ion superoxyde selon la réaction suivante : [24]



### II.4.3 Le radical peroxyde $H_2O_2$ :

Le radical peroxyde est considéré comme une espèce réactive dérivée de l'oxygène (ROS) même s'il n'a pas une structure radicalaire car il est capable d'initier ou de propager des dommages oxydatifs.

Il peut être produit au cours des mécanismes illustrés par les équations suivants :



### II.4.4 Le monoxyde d'azote ou oxyde nitrique NO:

C'est un agent vasodilatateur **7,8**. Il est synthétisé par les nitrosé synthèses (NOS) selon la réaction: **L- Arginine + O<sub>2</sub> → L-Citrulline + NO**

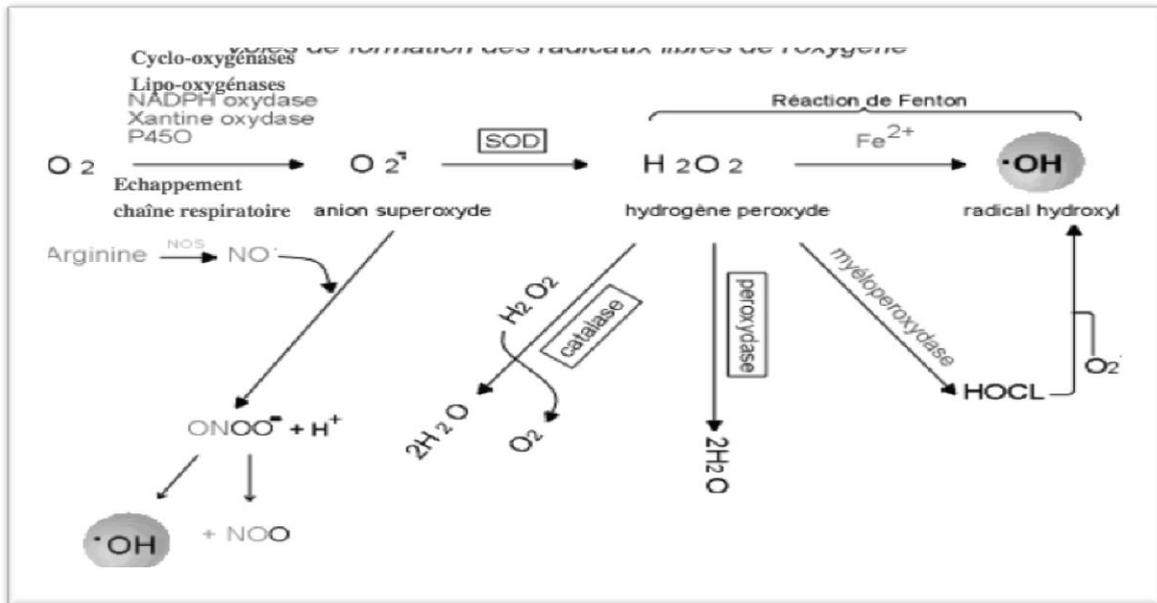
Le peroxyde nitrique est cytotoxique et oxydant pour les résidus méthionine, les thiols et les Thio éthers.

**II.4.5 le radical peroxyde RCOO:**

Les radicaux peroxydes (ROO<sup>•</sup>) sont formés par réaction directe de l’oxygène avec des radicaux alkyles (R<sup>•</sup>), mettant en jeu par exemple, la réaction entre les radicaux lipidiques et l’oxygène [24].

**Tableau3:** Demi-vie de quelque radicaux libre

Symbole	Nom	Concentration	Demi-vie (37°C)
• O2	Radical superoxyde	10-12 à 10-11 M	Enzymatique
• OH	Radical hydroxyle	-	10-9 s
• NO	Monoxyde d’azote	-	1 à 10 s
• H2O2	Peroxyde d’hydrogène	10-9 à 10-7 M	Enzymatique
• ONOO	Peroxynitrite	-	0,05 à 1 s



**Schéma Bilan:** Les 6 façons de créer l'anion super oxyde sont à retenir en + (1000 fois).

**II-5 Espèces libres non oxygénées:**

Les espèces libres non oxygénées sont les produits des réactions de certaines molécules avec les espèces réactives dérivées de l’oxygène.

Ils peuvent à leur tour réagir avec d’autres molécules et être à l’origine de la multiplication des réactions d’oxydation et de la propagation de dommages oxydatifs. Nous citerons,

**Exemple:**

Les acides gras peroxydés, résultats de l'action des espèces oxygénées sur les membranes biologiques.

Les fractions protéiques, les acides aminés et les acides nucléiques peuvent aussi réagir avec les ERO générant des molécules réactives et nocives. [24]

**II.6 .Production de radicaux libres:**

La production de ces espèces oxydantes est une conséquence inévitable du métabolisme aérobie. En effet, l'organisme a besoin d'O<sub>2</sub> pour produire de l'énergie au cours des réactions dites de respirations oxydatives.

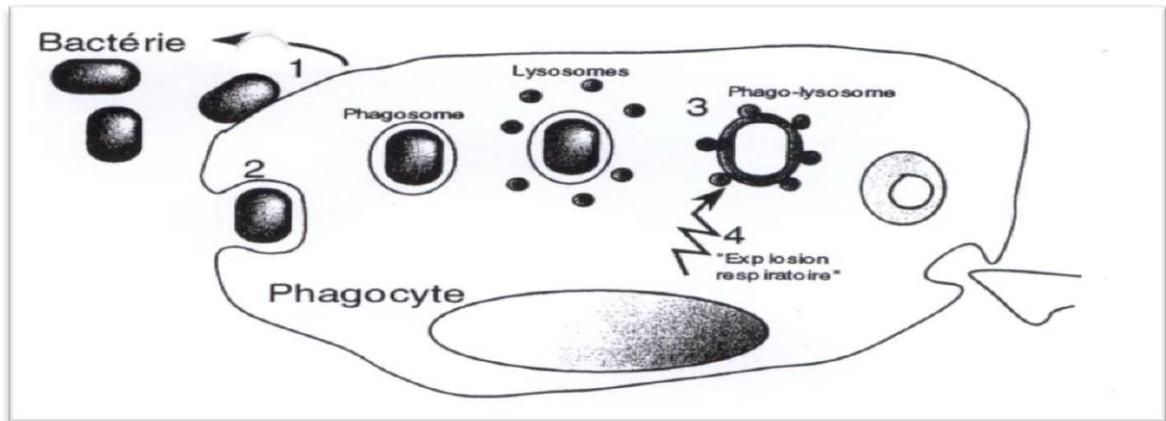
Cependant, une faible partie de l'oxygène échappe à sa réduction en eau, au niveau de la mitochondrie. Elle peut alors être à l'origine de la production de radicaux libres oxygénés.

Les autres sources de production de radicaux libres sont représentées dans le tableau 1. Elles sont classées en deux catégories :

- les sources endogènes : les radicaux libres sont des produits des réactions de l'organisme
- les sources exogènes : les êtres vivants sont exposés quotidiennement à des polluants (fumée de cigarette, rayons ultraviolets, radiations...) susceptibles d'être à l'origine de la production de radicaux libres, une fois dans l'organisme. [25]

**Tableau4:** Principales sources de production des radicaux libres.[25]

Sources endogènes	Production de radicaux libres lors des respirations oxydatives (mitochondries) Cellules phagocytaires Métabolisme de l'acide arachidonique Système xanthine/Xanthine oxydase
Sources exogènes	Rayonnement électromagnétique Métaux de transition Pesticides Médicaments...



**Figure .10-** Production de radicaux libres lors de la phagocytose d'un bactérie.[25]

### **II-7 Rôle des radicaux libre:**

Les radicaux libres sont principalement produits par des sources endogènes, telles que les chaînes de transport d'électron, peroxyosomes et le système de cytochrome. Ces radicaux sont responsables de l'altération de l'ADN, du vieillissement cellulaire qui est à la base de certaines maladies comme l'athérosclérose, le cancer, maladie d'Alzheimer ou la maladie de Parkinson (Favier, 2003).

### **II-8- les causes des radicaux libres:**

La formation radicale des processus métaboliques normaux, le stress, l'exercice et les facteurs externes qui contribuent à la formation de radicaux tels que

- l'aire
- la pollution de l'eau
- la lumière UV
- les rayons X
- additifs et autres produits chimique

### **II-9-Stress oxydatif :**

Le stress oxydatif désigne une situation métabolique durant laquelle il y a formation ou présence d'une quantité excessive de DRO. Les réactions en chaîne qui peuvent être provoquées par les DRO affaiblissent tout l'organisme. A tel point qu'à terme il est de moins en moins résistant. Cela ne fait que renforcer l'action du stress oxydatif et les radicaux libres poursuivent leur œuvre destructrice

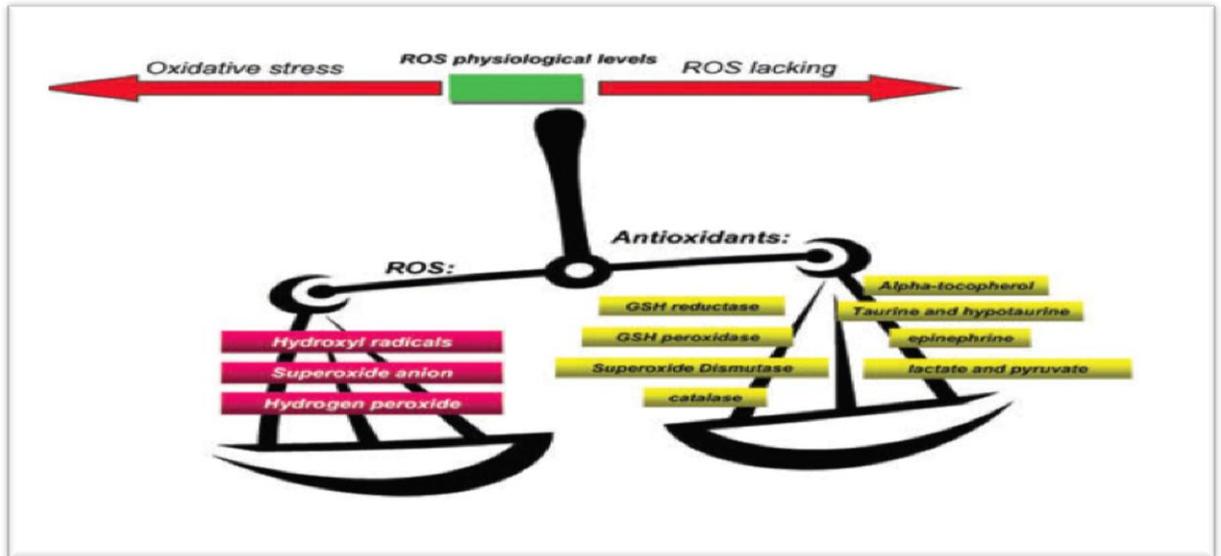


Figure.11- le stress oxydatif

Gerhard Oehlenschläger, biophysicien allemand, a mené des recherches dans ce domaine et conclut: «Les radicaux libres et le stress oxydatif sont les bases pathologiques, les responsables et les réactions d'accompagnement de peut-être toutes mais en tout cas de presque toutes les maladies, toutes les souffrances, tous les processus dégénératifs ainsi que du vieillissement prématuré.»L'illustration suivante montre le rôle du stress oxydatif dans le développement du diabète. En résumé: chez les personnes en santé, les processus oxydatifs et anti oxydatifs s'équilibrent. Mais lorsque la balance penche du côté des processus oxydatifs, on parle de stress oxydatif.[27]



Figure12: les causes radicaux libres

## II-9-1-Implications pathologiques du stress oxydatif :

Le dysfonctionnement des systèmes de régulation de l'oxygène et de ses métabolites est à l'origine de phénomènes du stress oxydant dont l'importance dans de nombreuses pathologies comme facteur déclenchant ou associé à des complications lors de leur évolution est maintenant largement démontré. En fait, de nombreuses études, tant épidémiologiques que cliniques, indiquent que le stress oxydant est potentiellement impliqué dans le développement de plus d'une centaine de pathologies humaines différentes allant de l'athérosclérose au cancer tout en passant par les maladies inflammatoires, cardiovasculaires, neurodégénératives et le diabète (Tableau I-2). Le rôle du stress oxydant a été également évoqué même dans des processus physiologiques tel que le vieillissement. La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la production mitochondriale de radicaux avec une diminution de l'efficacité des systèmes de réparations et de dégradations des constituants oxydés [28]

**Tableau 5.** Les principales affections liées au stress oxydatif.

Pathologie	Références
Lésions de répercussion post-ischémique Maladies auto-immunes	(Zweier et Talukder, 2006) (Halliwell et gutteridge, 1999)
Arthrite rhumatoïde	(Ahsan et al., 2003)
Maladies inflammatoires	(Densiov et Afanas'ev, 2005) (Harrison et al, 2003)
Athérosclérose	(Sorg, 2004)
Maladies d'Alzheimer, de parkinson Emphysème	(Lechuer-Michel et al, 2001)
Diabète sucré	(Pal Yu, 1994) (Valko et al., 2007)
Certains cancers	(Martinez-Cayuela, 1995)
Anémie drépanocytaire	

## II-10- Conséquences biochimiques du stress oxydant:

### II-10-1- L'oxydation des lipides:

Les acides gras polyinsaturés sont les cibles privilégiées des ERO radicalaires en raison de leurs hydrogènes bis-allyliques facilement oxydables. Plus l'acide gras est insaturé et plus il est susceptible d'être peroxydé, c'est-à-dire dégradé par un processus oxydant non enzymatique.

Il s'agit d'un enchaînement de réactions radicalaires organisées en trois phases successives : l'initiation, la propagation et la terminaison (Halliwell & gutteridge, 1989). La phase d'initiation consiste en la création d'un radical d'acide gras (R·) à partir d'un acide gras

(RH) par soustraction d'un atome d'hydrogène provenant d'un groupement méthylène –CH<sub>2</sub>-bis allylique. Cette déshydrogénation peut être provoquée par un initiateur radicalaire tel que le •OH et le HOO•. Le radical lipidique R• subit ensuite un réarrangement moléculaire pour donner un radical avec une structure de diène conjugué, plus stable, qui peut réagir avec une molécule d'O<sub>2</sub> et former un radical peroxyde (ROO•) (Esterbauer et al 1997). Ce radical est suffisamment réactif pour arracher à nouveau, un hydrogène à un acide gras polyinsaturé voisin, propageant ainsi la réaction. Il est généralement admis que chaque radical R• peut être à l'origine d'une centaine de molécules d'hydro peroxyde avant que survienne la phase de terminaison. L'hydro peroxyde lipidique (ROOH) formé peut être oxydé en présence de métaux de transition divalents de Fe<sub>2+</sub> ou Cu<sub>2+</sub> et entraîner la formation d'alcalines et d'aldéhydes toxiques dont le malonyldialdéhyde (MDA) ou le 4-hydroxynonanal (4-HNE).

La réaction en chaîne peut être interrompue (phase de terminaison) par l'association de deux radicaux libres et la formation d'un composé stable ou le plus souvent par la réaction du radical avec une molécule antioxydant (Delattre et al., 2005).

La peroxydation de lipides fournit ainsi une grande variété de produits, dont certains peuvent réagir avec les protéines et l'ADN. Parmi les produits formés lors de la peroxydation lipidique, l'isoprostane, le malonyldialdéhyde (MDA) et le 4-hydroxynonanal (4-HNE) ont été étudiés comme marqueur de la peroxydation lipidique (Marnett, 1999).

## II- 10-2 L'oxydation de l'ADN:

Les ADN nucléaires et mitochondriales constituent une cible cellulaire importante.

Cinq classes principales de dommages oxydatifs de l'ADN médiés par OH• peuvent être générées. Parmi elles, les bases oxydées, les sites abasiques, des adduits intra-caténaux, des cassures de brins et des pontages ADN-protéines (Cadet et al., 2002). Les bases qui composent l'ADN, et particulièrement la guanine, sont sensibles à l'oxydation. L'attaque radicalaire peut être directe et entraîner l'oxydation des bases, engendrant un grand nombre de bases modifiées. 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 chaîne simple brin. Des dommages indirects peuvent résulter de l'attaque des lipides dont la peroxydation génère des aldéhydes mutagènes, formant des adduits sur les bases de l'ADN de type MDA-guanine ou éthénodérivés.

**II-10-3 L'oxydation des protéines:**

Les modifications oxydatives des protéines par les ERO provoquent l'introduction d'un groupement carbonyle dans la protéine (LEVINE, 2002). Ces réactions d'oxydation sont fréquemment influencées par les cations métalliques comme le  $Fe^{2+}$  ou le  $Cu^{2+}$ .

Les réactions d'oxydation de protéines peuvent être classées en deux catégories : d'une part, celles qui cassent les liaisons peptidiques et modifient la chaîne peptidique, et d'autre part, les modifications des peptides par addition de produits issus de la peroxydation lipidique comme le 4-HNE. De telles modifications conduisent généralement à une perte de fonction catalytique ou structurale des protéines affectées (LEVINE, 2002) et deviennent généralement plus sensibles à l'action des protéases et sont donc éliminées. L'oxydation de la cystéine est réversible mais peut également perturber les fonctions biologiques du GSH ou de certaines protéines. Le rôle des protéines dans la cellule est tel que leur dysfonctionnement peut bouleverser le fonctionnement cellulaire (enzymes, protéines structurales) (Delattre et al. 2005).