3-Le stress oxydant :

3-1- Définition :

Le stress oxydant comme un déséquilibre entre pro-oxydants et antioxydants en faveur des premiers **(Coste *et al.*, 2007).** Ce déséquilibre peut se produire quand le système de défense antioxydant est surmené par l'augmentation des oxydants ou lorsque les défenses sont affaiblies par une carence d'apport et/ou de production d'antioxydants **(Kirschvink *et al.*, 2008).**

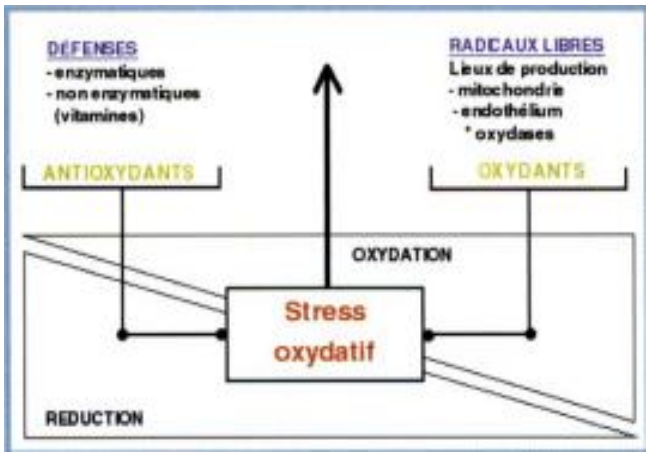


Figure 06 : régulation du stress **(Catherine *et al.*, 2005)**

3-2-Les radicaux libres :

Un radical libre est une molécule ou un fragment moléculaire qui contient un électron (ou plus) non apparié sur sa couche électronique externe. (**Justine *et al.*, 2005)**. Ce qui augmente considérablement sa réactivité par nécessité de se combiner avec un autre électron pour atteindre la stabilité selon un phénomène d'oxydation **(Bonnefont-Rousselot *et al.*, 2003).** Ces radicaux résultant soit d'un gain soit de la perte d'un électron. Par exemple, par gain d'un électron, la molécule d'O2 devient l'anion superoxyde :

$$O_2 + 1e^- \rightarrow O_2^{\circ -}$$

(Chabaud, 2007).

3-2-1- Origine des radicaux libres :

Les radicaux libres peuvent être d'origine endogène, sont produits par divers mécanismes physiologiques afin de détruire des bactéries au sein des cellules phagocytaires (macrophages, polynucléaires) ou pour réguler des fonctions cellulaires létales 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 qui produits dans l'organisme l'oxydation de molécules comme les quinones. (**Mohammedi, 2005).**

Les sources métaboliques produisant les RLO sont nombreuses : cytochromes P-450, activité de la NADPH oxydase, myéloperoxydase, NO synthase, xanthine oxydase (Fig. 7). **(Valéry *et al.*, 2007).**

Lorsqu'ils sont d'origine exogène, les radicaux libres sont produits en majorité dans les polluants de l'air (N, NO_2), produits des radiations (rayon X, lumière UV), solvants organiques, anesthésiques, pesticides, drogues, et xénobiotiques. **(Tessier *et al.*, 1994)**.

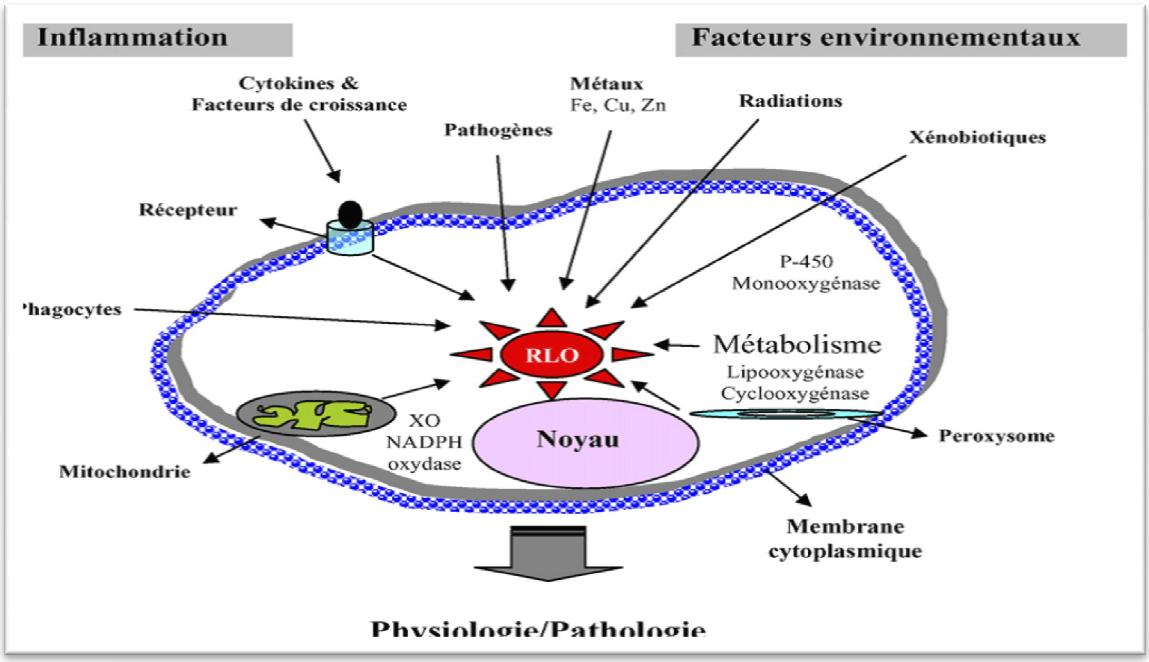


Figure 07 : Origine extra- et intracellulaire des radicaux libres dérivés de l'oxygène. XO : xanthine oxydase ; P-450 : cytochrome P-450. **(Valéry *et al.*, 2007).**

3-2-2-Nature des radicaux libres :

3-2-2-1- Espèces réactives dérivées de l'oxygène (ERO) :

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont des dérivés de l'oxygène, hautement réactifs et instables, participant au vieillissement des protéines, à la peroxydation lipidique, et à l'altération de l'ADN **(Dhalla *et al.*, 2000)**

Ces espèces possèdent deux électrons célibataires non appariés sur sa couche orbitale externe. Cette molécule est essentielle au bon fonctionnement de l'organisme. (**Mohammedi, 2005)**

- **Ion superoxyde ($O_2^{\bullet -}$) :**

L'ion super oxyde $O_2^{\bullet -}$ est un dérivé très réactif de l'oxygène, relativement stable, il n'est pas très toxique pour l'organisme, mais il est à l'origine de cascades de réactions conduisant à la production de molécules très nocives. **(Kahina, 2011)**

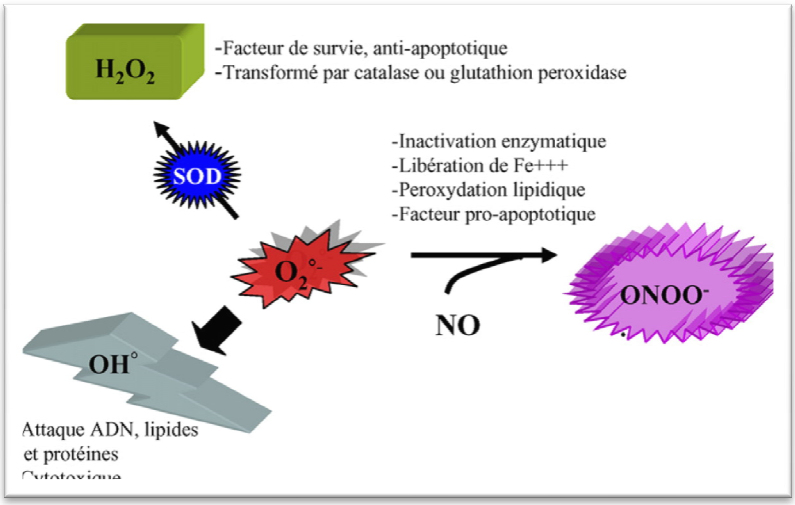


Figure 08: Anion superoxyde et ses dérivés. **(Valéry *et al.*, 2007)**.

- **Radical libre hydroxyle ($OH^{\bullet}$) :**

Les radicaux hydroxyles ($OH^{\bullet}$) sont les radicaux libres plus réactifs. Capable de réagir avec un très grand nombre de cible moléculaire, **(Jaques *et al.*, 2003)** comme l'ADN, les glucides,

les nucléotides, les protéines et être à l'origine de lésions de nécrose. C'est un dérivé de l'ion super oxyde **(Kahina, 2011).**

- **Oxygène singulet ($^1O_2$) :**

Forme excitée de l'oxygène moléculaire, est souvent assimilée à un radical libre en raison de sa forte réactivité **(Delattre *et al.*, 2005).**

Lorsque de l'énergie est apportée à l'oxygène, celui-ci passe à l'état singulet qui représente la forme activée. C'est une forme très énergétique de grande réactivité qui peut oxyder de nombreuses molécules. **(Kahina, 2011)**

Il est formé à partir de l'ion superoxyde selon la réaction suivante :

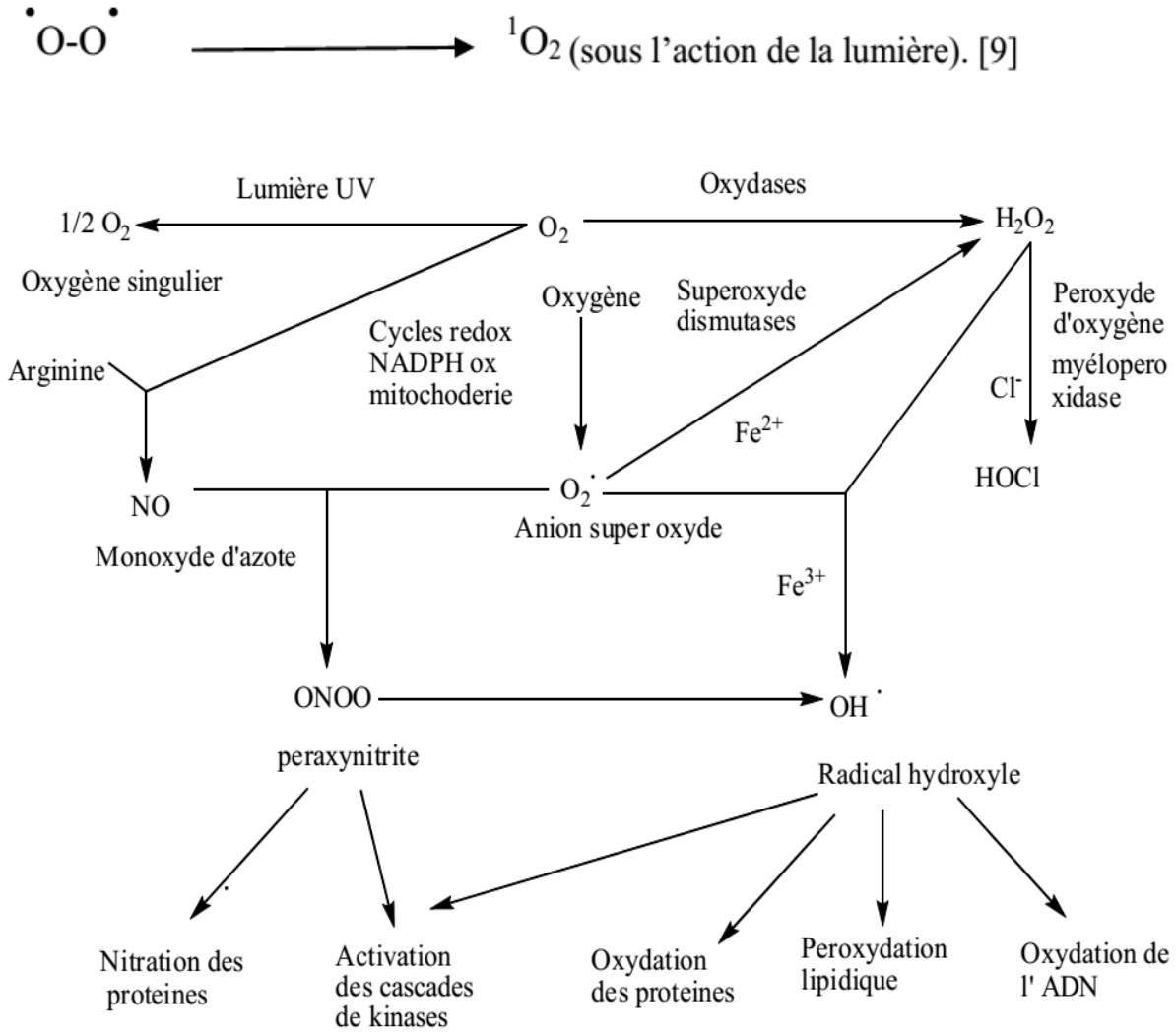


Figure 09 : Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie. **(Kahina, 2011)**

3-2-2-2- 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. **(Kahina, 2011)**

3-3-Système anti oxydant :

Notre organisme est équipé de tout un système complexe de défenses antioxydants enzymatiques et non enzymatiques, localisé dans les compartiments intra- et extracellulaire. **(Mette, 2006)**

Les antioxydants sont des substances qui retardent ou inhibent l'oxydation d'un substrat quand ils sont présents à faible concentration comparée à celle du substrat. **(Mette, *et al*, 2001).** L'organisme dispose d'une large gamme d'antioxydants endogènes sous forme de systèmes enzymatiques, ou non enzymatiques **(Berger *et al.*, 2001)**

3-3-1- Les systèmes antioxydants enzymatiques :

Le système antioxydant enzymatique est constitué de l'interaction de 3 enzymes principales : le superoxyde dismutase (SOD), la glutathion peroxydase (GPx) et la catalase (CAT)

3-3-1-1- La superoxyde dismutase (SOD) :

C'est une métalloenzyme qui catalyse la dismutation de l'$O2^{\bullet}$- en H2O2 et O2. Son intervention en première ligne dans l'élimination des RLO lui confère un rôle décisif dans le contrôle du statut redox cellulaire et dans la survie en milieu aérobie. **(Charlotte, 2012)**

Il existe plusieurs types de SOD qui se différencient par leur structure et leur localisation cellulaire **(Jaques *et al.*, 2003)**:la SOD cuivre-zinc (CuZnSOD ou SOD1) présente au niveau du cytoplasme et de l'espace mitochondrial inter-membranaire ; la SOD manganèse (MnSOD ou SOD2) localisée au niveau de la matrice et de la membrane interne mitochondriales ; et la CuZnSOD extracytosolique (ou SOD3) que l'on retrouve surtout au niveau de la matrice extracellulaire. L'activité de la SOD donnant lieu à la formation d'H2O2, son action antioxydant n'est complète que si d'autres enzymes, la GPx et la CAT, permettent l'élimination de cette molécule. **(Charlotte, 2012)**

3-3-1-2- La glutathion peroxydase (GPx) *:*

La GPx permet d'éliminer l'H_2O_2 en couplant sa réduction avec l'oxydation d'un substrat réducteur, le glutathion.

Ainsi H_2O_2 est catalysé en H_2O tandis que le glutathion réduit (GSH) est transformé en glutathion oxydé (GSSG). (**Zhu *et al.*, 2008).**

Il est à noter que la GPx peut également catalyser d'autres hydroperoxydes d'origine lipidique et qu'il en existe 5 isoformes de localisations tissulaires différentes. La plus abondante est l'isoforme 1 (GPx1) présente au niveau cytoplasmique et mitochondriale, et exprimée dans la plupart des cellules. **(Charlotte, 2012).**

3-3-1-3- La catalase (CAT) :

La CAT est une enzyme héminique réduit le peroxyde d'hydrogène H_20_2 en libérant de l'oxygène et de l'eau. Elle localisée surtout dans les peroxysomes **(Lindau-Sehpard *et al.*, 1993)**. Il est à noter que la constante de Michaelis-Menten (Km) de la CAT pour l'H2O2 est supérieure à celle de la GPx, lui conférant un rôle prépondérant lorsque la concentration en H2O2 est supérieure au Km de la GPx. Néanmoins les différentes localisations subcellulaires de la CAT et de la GPx leurs confèrent un rôle complémentaire. **(Charlotte, 2012)**

3-3-2- Les systèmes antioxydants non enzymatiques :

Les antioxydants sont des agents redox qui réagissent (effet *scavenger*) avec les oxydants et soit stoppent, soit ralentissent les processus d'oxydation antioxydants s'oxydent en dérivés stables, ou persistent pendant un certain temps sous forme radicalaire. Ces formes radicalaires peuvent devenir des prooxydants. Comme évoqué précédemment, ces antioxydants se divisent en deux principales catégories, les endogènes (molécules issues de la biosynthèse), et les exogènes (vitamines, oligoélements, ou antioxydants de synthèse). **(Benaissa, 2012)**

3-3-2-1-Glutathion :

Le glutathion est un tripeptide (acide glutamique-cystéine-glycine). Il est le thiol (-SH) majoritaire au niveau intracellulaire (l'albumine étant son équivalent plasmatique) où il est présent sous forme essentiellement réduite (GSH). Dans des conditions physiologiques, sa forme oxydée (GSSG) est en concentration très faible. Le rapport GSH/GSSG est considéré

comme un excellent marqueur de la peroxydation des lipides et permet d'objectiver l'importance du stress. Au cours du vieillissement et lors d'un exercice intense, ce rapport tend à diminuer. Les autres propriétés antioxydants du GSH sont nombreuses : cofacteur de la GPx, chélateur des métaux de transition, régénérateur final des vitamines E et C, à partir de leur forme radicalaire. L'apport recommandé journalier est d'environ 300 mg (agrumes).

La plupart des protéines dont l'albumine contiennent des groupements « thiols » qui pocèdent des propriétés réductrices et piègent facilement les espèces oxygénées activées. **(Haleng, 2007)**

3-3-2-2-La vitamine C :

L'acide L-ascorbique ou vitamine C est considéré comme le plus important antioxydant dans les fluides extracellulaires. C'est un piégeur très efficace des ions superoxydes, du peroxyde d'hydrogène, de I'hypochlorite, des radicaux hydroxyles et pyroxyles, et de l'oxygène singulet. Le rôle antioxydant de la vitamine C est basé sur sa réaction avec les radicaux peroxyles aqueux. Le produit formé est le radical ascorbyle. En piégeant les radicaux peroxyles dans la phase aqueuse avant qu'ils initient la peroxydation lipidique, la vitamine C protège les biomembranes et les lipoprotéines (**Kabouche, 2010).** Ses principales sources alimentaires sont les fruits (agrumes, kiwi, cerises, melon) et les légumes (tomates, légumes verts, brocoli et choux) **(Jean, 2002)**

3-3-2-3-La vitamine E :

La vitamine E est un antioxydant lipophile appartenant à la famille des tocophérols (α, β, δ, γ). **(Dominique, 2012)**

Le caractère hydrophobe de la vitamine E lui permet de s'insérer au sein des acides gras de la membrane cellulaire et des lipoprotéines, où elle joue un rôle protecteur en empêchant la propagation de la peroxydation lipidique induite par un stress oxydant. Seuls **α** et **δ** tocophérols possèdent les propriétés antioxydantes les plus intéressantes. **(Vertuani *et al.*, 2004)**. Ses principales sources alimentaires sont les huiles végétales et produits dérivés, le germe de blé, les noix et certains légumes à feuilles vertes. **(Jean, 2002)**

3-4-Utilisation des antioxydants :

Les Antioxydants ont un grand choix d'utilisations dans l'industrie. Ils sont les plus utilisés généralement comme conservateurs et suppléments.

Antioxydants comme conservateurs : sont employés pour retarder l'oxydation d'une substance organique. Ceci augmente la vie utile ou la durée de conservation de ce matériau. Le but principal d'utiliser un antioxydant en tant qu'additif alimentaire est de mettre à jour la qualité de cette nourriture et de prolonger sa durée de conservation plutôt qu'améliorant la qualité de la nourriture**. (Ananya, 2012)**

Des Antioxydants sont ajoutés aux essences et aux lubrifiants pour éviter l'oxydation, et en essence pour éviter la polymérisation - cette polymérisation d'essence mène aux résidus qui peuvent endommager les engines.

Ces antioxydants peuvent être utilisés aussi dans l'industrie teinturerie pour éviter l'oxydation des colorants au soufre ou des colorants de cuve lors de la teinture et dans l'industrie chimique pour éviter le durcissement du caoutchouc ou en métallurgie pour protéger les métaux de l'oxydation. **(Kahina, 2011)**

3-5-Les maladies liées au stress oxydant :

En faisant apparaître des molécules biologiques anormales et en surexprimant certains gènes, le stress oxydant sera la principale cause initiale de plusieurs maladies : cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aigu, oedème pulmonaire, vieillissement accéléré. **(Alain, 2003)**

La production des ERO a été impliquée principalement dans l'athérosclérose comme moyen de nuisibles lipoprotéines de basse densité, qui lance à son tour l'accumulation de cholestérol dans les macrophages. La diversité des nouvelles modifications oxydatives aux lipides et protéines récemment identifiés dans les lésions athérosclérotiques a révélé surprenant de complexité dans les mécanismes des dommages oxydatifs et leur rôle potentiel dans l'athérosclérose**. (Rakesh *et al.*, 1999)**

Ainsi, les relations entre stress oxydant et cancer s'avèrent très étroites, les radicaux libres intervenant dans l'activation des pro-carcinogènes en carcinogènes, créant les lésions de l'ADN, amplifiant les signaux de prolifération et inhibant des gènes suppresseurs de tumeur.

Le stress oxydant est aussi un des facteurs potentialisant l'apparition de maladies plurifactorielles tel le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires. **(Alain, 2003).**