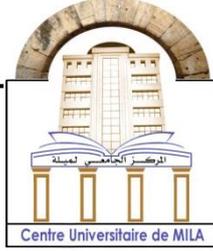


الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



N° Ref :

Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF- Mila

Institut des Sciences et de la Technologie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire préparé en vue de l'obtention du diplôme de

Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Thème :

Effet protecteur du curcuma contre le stress oxydatif

Présenté par :

- Lahmar Aya
- Moussaoui Rima
- Tifraten Saada

DEVANT LE JURY

Président :

W. AYAD

M.C. Centre Universitaire de Mila.

Encadreur :

L. KADECHE

M.C. Centre Universitaire de Mila.

Examineur :

B. BENMIRA

M.C. Centre Universitaire de Mila.

Année universitaire : 2021/2022

REMERCIEMENT

Nous exprimons d'abord nos profonds remerciements et nos vives reconnaissances à Mademoiselle Kadeche Lilia. Maître de conférences à l'Université Abdelhafid Boussouf de Mila pour avoir accepté de diriger et de réaliser ce travail. Nous vous remercions pour votre confiance, votre soutien et votre disponibilité. Vos qualités morales, intellectuelles et surtout votre intérêt pour la science forcent le respect et l'admiration.

Nous exprimons également nos vifs remerciements à Madame AYAD WISSAME. Maître de conférences à l'Université Abdelhafid Boussouf de Mila d'avoir accepté d'assurer la présidence du jury de notre mémoire. Votre simplicité et votre modestie sont à la dimension de votre envergure scientifique.

Nous tenons à exprimer notre vive reconnaissance à Madame BENMIRA SELMA BATOUL. Maître de conférences à l'Université Abdelhafid Boussouf de Mila pour avoir accepté de juger ce travail et nous honorer de sa présence.

Nous tenons également à exprimer notre reconnaissance à ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Aux êtres les plus chers de ma vie, mes parents pour leurs encouragements, leur soutien inconditionnel et leurs sacrifices consentis tout au long de ma scolarité afin de faire moi ce que je suis aujourd'hui.

Quoi que je dise je ne saurai point les remercier comme il se doit.

Je dédie ce travail aussi à mes belles sœurs Nesrine, Rania, Lina et mes très chers frères Anis et particulièrement mon petit frère Mohammed.

À toutes mes amies et à toutes les personnes que j'aime et qui m'aiment.

Saada

Dédicace

*Avant toutes choses, je remercie ALLAH, le tout puissant, pour m'avoir donné
la force et la patience pour réaliser ce travail.*

*Je dédie ce mémoire à : mes chers parents, qui tiennent une place immense dans
mon cœur. Papa, Maman vous resterez toujours une vraie école de la vie, je ne
cesse d'apprendre tous les jours avec vous.*

*Vous avez toujours été là pour moi, et à aucun moment vous n'avez cessé de me
couvrir de votre tendresse.*

*Pour votre patience dans les moments difficiles et votre amour constant, recevez ce
mémoire en guise de remerciement et témoignage de ma plus profonde
gratitude.*

À ma chère soeur Douaa

À mes chers frères Aymen, Rabah et Seif Elislam

À toute la famille

À tous ceux qui me sont chers

À tous ceux qui m'aiment

À tous ceux que j'aime.

Dédicace

Avant toutes choses, je remercie ALLAH, le tout puissant, pour m'avoir donné la force et la patience pour réaliser ce travail.

Je dédie ce mémoire à : mes chers parents qui tiennent une place immense dans mon cœur. Mama qu'ALLAH lui fasse miséricorde. Papa, vous resterez toujours une vraie école de la vie, je ne cesse d'apprendre tous les jours avec vous.

Vous avez toujours été là pour moi, et à aucun moment vous n'avez cessé de me couvrir de votre tendresse.

Pour votre patience dans les moments difficiles et votre amour constant, recevez ce mémoire en guise de remerciement et témoignage de ma plus profonde gratitude.

À mes chères sœurs Sabrina ; Hadjer et Maram

À mes chers frères Mohammed ; Nouari ; Rda et Amir

À toute la famille surtout ma chère grand-mère

À toutes mes amies qui m'ont toujours encouragée et à qui je souhaite plus de succès

À tous ceux qui me sont chers

À tous ceux qui m'aiment

À tous ceux que j'aime.

RÉSUMÉ

Le stress oxydant, la principale cause initiale de plusieurs maladies, correspond à un déséquilibre entre les défenses antioxydantes endogènes et la production de molécules pro-oxydantes (espèces réactives de l'oxygène, notamment). Ces espèces réactives de l'oxygène produites par la respiration cellulaire, sont également générées lors des réactions immunitaires et sous l'effet d'oxydants environnementaux, comme le tabac ou la pollution.

Les antioxydants sont des agents qui réagissent facilement avec les espèces réactives de l'oxygène pour les inactiver et les éliminer, ou diminuer leur production. Ils sont fonction des apports alimentaires (vitamines, sels minéraux, polyphénols,...) qui fournissent des antioxydants exogènes et de la production par l'organisme d'antioxydants endogène (enzymes, bilirubine, acide urique,...).

La compréhension du stress oxydant passe par une bonne connaissance de la réactivité des diverses espèces réactives de l'oxygène (ERO) et des mécanismes d'action des systèmes antioxydants.

Dans ce travail, nous détaillerons les systèmes oxydants et antioxydants cellulaires et présenterons un exemple d'antioxydant naturel (curcuma). Nous discuterons aussi des études qui semblent mettre en évidence cette vitamine comme un moyen pour lutter contre le stress oxydant.

Mots clé : Radicaux libres, Espèces réactives de l'oxygène, Stress oxydant, Antioxydants, Antioxydants naturels, Polyphénols, Plantes médicinales, *Curcuma*.

ABSTRACT

Oxidative stress, the main initial cause of several diseases, corresponds to an imbalance between endogenous antioxidant defenses and the production of pro-oxidant molecules (reactive oxygen species, in particular). These reactive oxygen species produced by cellular respiration, are also generated during immune reactions and under the effect of environmental oxidants, such as tobacco or pollution.

Antioxidants are agents that react readily with reactive oxygen species to inactivate and eliminate them, or decrease their production. They are based on dietary intake (vitamins, minerals, polyphenols,...) that provide exogenous antioxidants and the body's production of endogenous antioxidants (enzymes, bilirubin, uric acid,...).

The understanding of oxidative stress requires a good knowledge of the reactivity of the various reactive oxygen species (ROS) and the mechanisms of action of the antioxidant systems.

In this work, we will detail the cellular oxidant and antioxidant systems and will present an example of natural antioxidant (turmeric). We will also discuss studies that seem to highlight this vitamin as a way to combat oxidative stress.

Key words: Free radicals, Reactive oxygen species, Oxidative stress, Antioxidants, Natural antioxidants, Polyphenols, Medicinal Plants, Turmeric.

المخلص

الإجهاد التأكسدي، السبب الرئيسي للعديد من الأمراض، يتوافق مع عدم التوازن بين الدفاعات المضادة للأكسدة الذاتية وإنتاج الجزيئات المؤيدة للأكسدة (أنواع الأكسجين التفاعلية على وجه الخصوص). تتولد هاته الأنواع التفاعلية للأكسجين بالتنفس الخلوي وكذلك أثناء التفاعلات المناعية وتحت تأثير المؤكسدات البيئية، مثل التدخين أو التلوث.

مضادات الأكسدة هي عوامل تتفاعل بسهولة مع أنواع الأكسجين التفاعلية لتثبيطها والقضاء عليها، أو تقليل إنتاجها. تستند مضادات الأكسدة إلى المدخول الغذائي (الفيتامينات، المعادن، البوليفينول، ...) التي توفر مضادات الأكسدة الخارجية وإنتاج العضوية لمضادات الأكسدة الداخلية (مثل الإنزيمات، البيروكسين، حمض اليوريك ، ...).

يتطلب فهم الإجهاد التأكسدي معرفة جيدة لتفاعلية أنواع الأكسجين التفاعلية المختلفة وآليات عمل أنظمة مضادات الأكسدة.

في هذا العمل، سنقوم بتفصيل أنظمة الأكسدة ومضادات الأكسدة الخلوية وتقديم مثال على مضادات الأكسدة الطبيعية (الكرام). سنناقش أيضاً الدراسات التي تبرز دور هذا الفيتامين المضاد للأكسدة كوسيلة لمكافحة الإجهاد التأكسدي.

الكلمات المفتاحية: الجذور الحرة، أنواع الأكسجين التفاعلية، الإجهاد التأكسدي، مضادات الأكسدة، مضادات الأكسدة الطبيعية، البوليفينول، النباتات الطبية، كركم.

Liste des abréviations

Liste des abréviations

Enzymes/ions/substances :

ADN	: Acide désoxyribonucléique
AGPI	: Acide gras polyinsaturés
ATP	: Adénosine Tri-Phosphate
AU	: l'acide urique
BSA	: Albumine sérique bovine
CAT	: Catalase
Cd	: cadmium
Coq10	: Coenzyme Q10
CO₂⁻	: dioxyde de carbone
CAT	: Catalase
Cu	: Cuivre
Cyt C	: Cytochrome C
DO	: Densité optique
DTNB	: Acide 5,5'-dithiobis (2-nitrobenzoïque) ou réactif d'Ellman
ERO	: Espèces réactives oxygénées
FADH₂	: Flavine adénosine dinucléotide
Fd	: Facteur de dilution
Fe	: Fer
Fe²⁺	: Ion ferreux
Fe³⁺	: Ion ferrique
Gpx	: Glutathion peroxydase
GSH	: Glutathion réduit
GSHPX	: Glutathion peroxydase
GSSG	: Glutathion oxide
GST	: Glutathion-S-transférase

H₂O	: Eau
H₂O₂	: Peroxyde d'hydrogène
HClO	: Acide hypchloreux
HO°	: Radical hydroxyl
HO₂°	: Hydroperoxyde
LPO	: peroxydation lipidique
MDA	: Malondialdehyde
Mn-SOD	: Superoxyde dismutase associée au manganèse
NAD⁺	: Nicotinamide Adénine Dinucléotide
NADH	: Nicotinamide Adénine Dinucléotide réduite
NADPH	: Nicotinamide Adénine Dinucleotide Phosphate
Ni	: Nickel
NO°	: Monoxyde d'azote
NO₂°	: Dioxyde d'azote
O₂	: Oxygène ou Dioxygène
O₂°	: Anion superoxyde
1O₂	: Oxygène singulier
O₃	: Ozone
ONOO°	: Peroxynitrite
ONOOH	: Nitroperoxyde
OMS	: l'Organisation Mondiale de la Santé
RL	: Radical libre
RLO	: Radiaux libre oxygénés
RO°	: Alkoxye
RO₂°	: Peroxyle
ROO°	: Radicaux peroxye
ROOH	: Hydroperoxyde

ROS	: Reactive Oxygen Speaces
Se	: Sélénium
SO	: Stress oxydant ou stress oxydatif
SOD	: Superoxyde dismutase
-SOH	: Groupements sulféniques
-SOOH	: Sulfiniques
SOOOH	: Sulfoniques
TBA	: Thiobarbiturique
TBS	: Tris buffer salin
TCA	: Trichloroacétique
UQ	: Ubiquinone
UV	: Ultra-Violet
XD	: Xanthine déshydrogénase
XO	: Xanthine oxydase
XOR	: Xanthine oxydoréductase
Zn	: Zinc
α-TOH	: α -tocophérol
ΔDO	: Variation de la densité optique par minutes
ϵ	: Coefficient d'extinction du H ₂ O ₂

Unités

%	: Pourcentage
°C	: Degré Celsius
L	: Litre
M	: Molaire
mg	: Milligramme
Min	: Minute
ml	: Millilitre

mM	:	Millimole
Mol	:	Mole
nm	:	Nanomètre
nmol	:	Nanomole
μl	:	Microlitre
μM	:	Micromolaire

Table des illustrations

Liste des figures

Figure	Titre	Page
1	Représentation d'un radical libre	3
2	Stress oxydant	6
3	Régulation de l'homéostasie Redox	6
4	Voie métabolique de l'oxygène et des espèces réactives de l'oxygène (ERO)	8
5	Fuite d'électrons source de ROS au sein de la chaîne de transport d'électrons après	10
6	Les différentes cibles des Espèces Réactives de l'Oxygène	13
7	Réactions de la peroxydation lipidique en chaîne	14
8	Nature de quelques modifications des chaînes d'acides aminés des protéines après attaque radicalaire	15
9	Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules	17
10	Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants	19
11	Structure tridimensionnelle de la glutathion peroxydase	21
12	Cycle de détoxification par la glutathion peroxydase.	22
13	État d'oxydation du glutathion	24
14	Structure chimique des ubiquinones	25
15	Structure des différents vitamères de la vitamine E	26
16	Piégeage des radicaux libres par L' α -TocH.	27
17	Différentes structures chimiques de la vitamine C et réaction avec les radicaux	28
18	Structure chimique de β carotène	28
19	Quenching physique de l'oxygène singulet par les caroténoïdes	29
20	Différentes pathologies associées au stress oxydant	30
21	Structure du noyau phénol	31
22	Structure générale du noyau des flavonoïdes	32
23	Quelques flavonoïdes	32

Table des illustrations

24	Acides phénoliques, squelette benzoïque (I) et squelette cinnamique (II)	33
25	Structure d'un stilbène, le resvératrol	34
26	Structure et numérotation des atomes de carbone du phénylpropane (1) et des lignanes (2) (liaison β - β' ou 8,8')	35
27	Flavonoïdes et leurs sites proposés pour la chélation des ions métalliques	37
28	Les sources de curcumine	39
29	Aspect général de curcuma longa	40
30	Principe de dosage du glutathion.	45
31	la gamme d'étalonnage utilisée (BSA 1 mg/ml) pour le dosage des protéines	47
32	Principe de dosage du malondialdéhyde	47

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
1	Principales ERO radicalaires et non-radicalaires	4
2	Les grandes familles de polyphénols	33
3	Différentes appellations de curcuma	38

Table des matières

Table des matières

Résumé
Abstract
الملخص
Liste Des Abréviations
Liste Des Figures
Liste Des Tableaux
Table Des Matières
Introduction : 1

Etude Bibliographique

Chapitre I Stress Oxydant

I. Stress Oxydant 3

1. Radicaux Libres 3

1.1. Généralité Sur Les Radicaux Libres 3

1.2. Les Radicaux Libres Biologiques 4

2. Définition Du Stress Oxydant..... 5

3. Mécanismes De Production Des Principales Ero 7

3.1. L'anion Superoxyde $O_2^{\cdot -}$ 7

3.2. Le Peroxyde D'hydrogène H_2O_2 7

3.3. Le Radical Hydroxyle HO^{\cdot} 8

3.4. L'oxygène Singulet 1O_2 9

4. Sources Des Ero Ou Ros 9

4.1. Sources Endogènes 9

4.2. Sources Exogènes 13

5. Cibles Biologiques Des Ros 13

5.1. Peroxydation Lipidique..... 14

5.2. Oxydation Des Protéines..... 15

5.3. Oxydation De L'adn 17

6. Antioxydants.....	18
6.1. Définition	18
6.2. Mode D'action Des Antioxydants	19
6.3. Les Systèmes De Défense Antioxydants	19
6.3.1. Les Systèmes Antioxydants Enzymatiques.....	19
6.3.2. Les Systèmes Antioxydants Non-Enzymatiques.....	22
6.3.2.1. Antioxydants Non Enzymatiques Endogènes.....	23
6.3.2.2. Antioxydants Non Enzymatiques Exogènes.....	26
7. Les Maladies Liées Au Stress Oxydant.....	29

Chapitre Ii Polyphénols

Ii. Polyphénols En Tant Qu'antioxydants	31
1. Présentation Générale Sur Les Polyphénols	31
1.1. Diversité Structurale, Sources Alimentaires Et Classification Des Polyphénols	31
1.2. Propriétés Biologiques Des Polyphénols	35
1.2.1. Activité Antioxydant Des Polyphénols	35
1.2.1.1. Piégeage Direct De Radicaux Libres.....	35
1.2.1.2. Chélation Des Ions Métalliques.....	36
1.2.1.3. Inhibition Enzymatique	37
2. Etude De Polyphénol Modèle Du Curcuma (Curcuma Longa).....	37
2.1. Historique.....	37
2.2. Étymologie.....	38
2.3. Classification Botanique Du Curcuma.....	38
2.4. Description De La Plante	39
2.5. Phytochimie	40
2.5.1. Fraction Volatile.....	41
2.5.2. Fraction Non Volatile.....	41
2.5.2.1. Polyphénols	41
2.5.2.2. Autres Composants.....	41

3. Domaines D'utilisation.....	41
3.1. Utilisation Alimentaire.....	41
3.2. Utilisation Médicinale.....	42
3.3. Utilisation Cosmétique.....	43

Chapitre Iii Méthodes De Dosage

I. Méthodes De Dosage Des Biomarqueurs Du Stress Oxydatif.....	44
1. Le Choix Des Biomarqueures Du Stress Oxydant.....	44
2. Méthodes De Dosage Des Principaux Biomarqueurs Du Stress Oxydatif.....	45
2.1. Dosage Du Glutathion Réduit (Gsh).....	45
2.1.1. Dosage Des Protéines.....	46
2.2. Dosage De Malondialdéhyde (Mda).....	47
2.3. Dosage De L'activité De La Gpx.....	48
2.4. Dosage De La Catalase (Cat).....	49
2.4.1. Mode Opératoire	50
2.4.2. Calcul De L'activité De Cat :	50

Chapitre Iv Discussion D'études

Ii. Discussion.....	52
Conclusion Et Perspectives	55
Références Bibliographiques.....	57

Introduction

Introduction :

Gaz indispensable à la vie, l'oxygène est nécessaire pour produire de l'énergie sous forme d'adénosine triphosphate (ATP) par l'intermédiaire des chaînes mitochondriales de transport d'électrons. Ce gain d'électrons aboutit à la formation d'espèces réactives de l'oxygène (ERO), appelées également formes réactives de l'oxygène par certains auteurs, au potentiel oxydant très élevé dont font partie les radicaux libres.

Ces ERO, utiles à l'organisme à faibles doses, sont également produits par divers mécanismes physiologiques. Elles jouent, en effet, un rôle de messagers secondaires capables, notamment, de réguler le phénomène de l'apoptose ou d'activer des facteurs de transcription (**Haleng et al., 2007**). Cependant, cette production peut être amplifiée de façon excessive par différents mécanismes physiopathologiques (inflammation, réactions enzymatiques,...) ou facteurs environnementaux (tabac, alcool, pollution atmosphérique, rayonnement UV ...) provoquant ainsi des dégâts cellulaires (Favier., 2006).

Du fait de leur très grande réactivité, ces dérivés de l'oxygène (ERO) peuvent réagir avec la plupart des composés cellulaires, entrainer ainsi des dommages cellulaires et tissulaires (**Valavanidis et al., 2005**). Toutefois, une régulation très fine de la production et de la dégradation des ERO est réalisée dans les cellules (**Lushchak., 2011 ; Islas-Flores et al., 2013**). En fait, pour se protéger des effets toxiques d'ERO, l'organisme a développé des systèmes de défense contre ces toxiques ou acquiert les antioxydants de l'alimentation. Ces systèmes comprennent des enzymes qui catalysent la réduction des ERO (e.g. catalase, superoxyde dismutase ou glutathion peroxydases), et des molécules non enzymatiques qui les neutralisent (e.g. glutathion réduit, acide ascorbique, vitamine E et polyphénols) (**Bouayed., 2010 ; Lushchak., 2011 ; Regoli et Giuliani., 2014**). Un déficit ou un dysfonctionnement de ces systèmes engendre une augmentation des dommages tissulaires, c'est le stress oxydant (**Dröge., 2002**).

Le stress oxydatif (ou stress oxydant) est donc un type d'agression des constituants de la cellule dû aux espèces réactives oxygénées qui vont s'attaquer aux membranes cellulaire, aux protéines et à l'ADN. Le stress oxydant ainsi généré a été au cours des dernières années de plus en plus impliqué dans des pathologies diverses telles que les cancers, l'hypertension et le diabète de type 2. La plupart de ces pathologies apparaissent avec l'âge, car le vieillissement diminue les défenses antioxydants et augmente la production mitochondriale de radicaux (**Favier., 2003**).

Pour prévenir ce type de situations, la recherche sur la supplémentation en antioxydants a été le sujet de plusieurs études (**Kim et al., 2103 ; Mehrpak et al., 2015 ; Ibrahim Elsayed et al., 2015**), qui ont montré qu'un apport exogène en antioxydants peut réduire les dommages induits par le stress oxydatif. Ces antioxydants sont apportés chez l'homme à travers la consommation de fruits et légumes ou d'autres boissons à base de plante et peuvent s'avérer utiles pour la santé humaine (**S is et al., 2013**). A ce titre, les polyphénols, particulièrement abondants dans une alimentation riche en produits végétaux, pourraient jouer un rôle protecteur important qui a été attribué, en partie, à leur potentiel antioxydant (**Ibrahim Elsayed et al., 2015 ; Olayinka et al., 2015 ; Al-Shaabi et al., 2016**).

Ces composés issus du métabolisme secondaire des plantes sont, en effet, connus pour leur capacité à piéger les espèces réactives d'oxygène. Parmi ceux-ci, les curcuminoïdes (composés phénoliques) du curcuma (plante), sont de puissants antioxydants naturels qui contribuent à éliminer l'excédent de radicaux libres présents dans l'organisme et à contrer les dommages cellulaires causés par le stress oxydatif.

À partir de ces connaissances, nous nous sommes intéressés dans ce mémoire de faire une recherche bibliographique sur le phénomène du stress oxydatif et les systèmes de défense antioxydants, d'une part, et de discuter les résultats de recherches précédentes, qui ont été menées dans le but de comprendre et de lutter contre ce phénomène, d'autre part.

Cette recherche est subdivisée en deux parties essentielles, dans la première partie, le premier chapitre est une revue de littérature introduisant le concept du stress oxydant. Les sources des ERO et leurs conséquences biologiques sont abordées dans un premier temps, les propriétés des molécules antioxydants et leur utilisation dans la lutte contre le stress oxydant, sont ensuite présentés. Le second chapitre est quant à lui dédié à la présentation générale des polyphénols et de leurs propriétés biologiques et antioxydants et à la connaissance de l'utilisation et des effets biologiques du curcuma.

Dans la deuxième partie, nous avons exposé les principales méthodes utilisées pour le dosage des marqueurs du stress oxydant suivi d'une discussion des résultats issus des précédentes études portant sur le stress oxydatif et l'action protectrice du curcuma. Enfin, les perspectives envisagées dans la continuité de cette recherche sont également présentées.

Etude bibliographique

Chapitre I
Stress oxydant

I. Stress oxydant

1. Radicaux libres

1.1. Généralité sur les radicaux libres

Les radicaux libres (fig.1) comprennent toute espèce moléculaire pouvant exister seule et contenant un ou plusieurs électrons non appariés sur sa couche externe, c'est à dire un électron célibataire (**Halliwell et Guterridge., 2008**). La tendance naturelle des électrons non appariés à interagir avec les électrons de molécules ou d'atomes voisins, pour reformer des liaisons chimiques covalentes, confère aux radicaux libres une très grande instabilité, une extrême réactivité et la capacité de déclencher la néoformation et la propagation en chaîne d'autres espèces radicalaires (**Guterridge et Halliwell., 1986 ; Halliwell et Guterridge., 1992**).

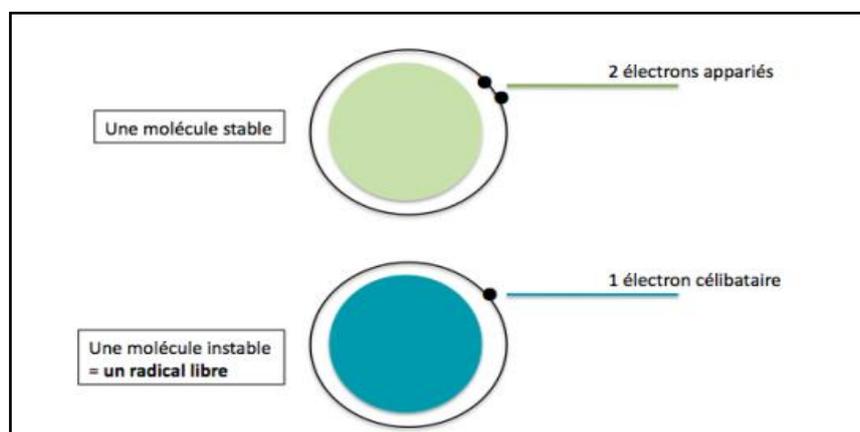


Figure 1 : Représentation d'un radical libre (**Durand., 2018**)

La durée de vie d'un radical libre est très courte de quelques millisecondes à quelques nanosecondes et il est symbolisé par un point (OH^\bullet) qui indique où l'électron libre se situera (**Sayer et al., 2005 ; Mac Lare., 2007 ; Gato et al., 2008**).

Les radicaux libres peuvent être formés par trois procédés (**rouaki., 2016**) :

- Scission homolytique d'une liaison covalente ($\text{A} : \text{B} \rightarrow \text{A}^\bullet + \text{B}^\bullet$) ;
- L'élimination ou la perte d'un électron par un non radical ($\text{NR} - e \rightarrow \text{R}^\bullet$) ;
- L'addition d'un électron libre à un non radical ($\text{NR} + e \rightarrow \text{R}^\bullet$).

De plus, la réactivité des radicaux libres dépendra de l'éléments en présence : si un radical rencontre un autre radical, le produit sera un non radicale ($\text{A}^\bullet + \text{B}^\bullet \rightarrow \text{AB}$) ; si le radicale rencontre un non radical, un nouveau radical sera formé ($\text{A}^\bullet + \text{B} \rightarrow \text{A} + \text{B}^\bullet$) et donnera

l'origine à une chaîne qui continuera jusqu'à que le radical rencontre un autre (Wolinsky et Thopson., 1998 ; Clarkson et al., 2000 ; Finaud et al., 2006b ; Mac Laren., 2007).

1.2. Les radicaux libres biologiques

En biologie, les radicaux libres sont formés le plus souvent par gain d'électron à partir de l'O₂ (Droge., 2002). Les radicaux dérivés d'oxygène représentent, en effet, la classe la plus importante d'espèces radicalaires générées dans les systèmes vivants à cause de l'importance de leur métabolisme aérobie (Valko et al., 2007). Cependant, d'autres espèces radicalaires sont encore à considérer, à savoir les espèces réactives de l'azote (Palmer et al., 1988).

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer (Favier., 2003) :

Des radicaux primaires : dérivent de l'oxygène par des réductions à un électron tel l'anion superoxyde O₂^{•-}, et le radical hydroxyle OH[•] ; ou de l'azote tel le monoxyde d'azote NO[•] ;

Des radicaux secondaires : se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule ;

D'autres espèces dérivées de l'oxygène dites :

Espèces actives de l'oxygène : comme l'oxygène singulet ¹O₂, le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) ou le nitroperoxyde (ONOOH), ne sont pas des radicaux libres, mais sont aussi réactives et peuvent être des précurseurs de radicaux.

L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé espèces réactives de l'oxygène (ERO), ou de l'anglais reactive oxygen species (ROS).

Tableau 1 : Principales ERO radicalaires et non-radicalaires (Favier., 2003).

Espèces réactives de l'oxygène (ERO)	
Radicalaire	Non radicalaire
- Anion superoxyde (O ₂ ^{•-})	- Peroxyde d'hydrogène (H ₂ O ₂)
- Hydroxyle (OH [•])	- Acide hypochlorique (HOCl)
- Hydroperoxyde (HO ₂ [•])	- Ozone (O ₃)
- Peroxyle (RO ₂ [•])	- Oxygène singulet (¹ O ₂)
- Alkoxyde (RO [•])	- Hydroperoxyde (ROOH)
- Dioxyde de carbone (CO ₂ ^{•-})	- Peroxynitrite (ONOO ⁻)

Le tableau 1 reprend la nomenclature des espèces réactives, incluant les principales espèces réactives de l'oxygène (radicalaires et non radicalaires), seront reprises par la suite que celles qui sont les plus représentatives lors de l'étude du stress oxydant et susceptibles d'être évoquées à de nombreuses reprises.

Toutes ces espèces oxygénées sont produites par divers mécanismes physiologiques car ils sont utiles pour l'organisme à dose raisonnable. En effet, elles participent (**Favier., 2003**) :

- ✓ au cycle cellulaire et au fonctionnement de certains neurones et notamment ceux de la mémoire ;
- ✓ au fonctionnement de certaines enzymes ;
- ✓ à la transduction de signaux cellulaires ;
- ✓ à l'apoptose des cellules tumorales ;
- ✓ à la régulation des gènes ;...

Cette production physiologique des ERO est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense, d'ailleurs adaptatifs par rapport au niveau de radicaux présents (**Favier., 2003**). Cependant, les ERO provoquent des dommages cellulaires si elles sont produites d'une manière incontrôlée (**Kim et al., 2009**).

En fait, l'hyperréactivité d'ERO les engage dans des réactions de dénaturation des constituants cellulaires de type peroxydation avec les glucides, les lipides, les protéines et l'ADN (**Curtay et Robin., 2000**). De ce fait, ces entités oxydantes sont physiologiquement maintenues en équilibre par de nombreux systèmes dits antioxydants (**Sies., 1991**).

2. Définition du stress oxydant

Le stress oxydant est un terme général qui a été d'abord employé dans un contexte biologique par l'endocrinologue Hans Selye en 1936, pour décrire la réponse physiologique inadéquate d'un organisme (**Schiavone et al., 2013**). La définition de ce type de stress se réfère à une rupture de l'équilibre homéostatique normalement maintenu entre la production des espèces réactives de l'oxygène et de l'azote et la défense antioxydant de l'organisme (**Anderson., 1997**).

Comme cité précédemment, il existe un équilibre entre d'une part les espèces réactives d'oxygène (ERO) qui sont présentes à l'état basal en faible concentration et d'autre part le système antioxydant. Dans ces conditions, on dit que la balance pro-oxydants/antioxydants est en équilibre. Lorsqu'un déséquilibre intervient (fig.2) par surproduction de composés pro-oxydants

ou par déficit en substances antioxydants, on parle alors de stress oxydatif ou stress oxydant (Favier., 2003).

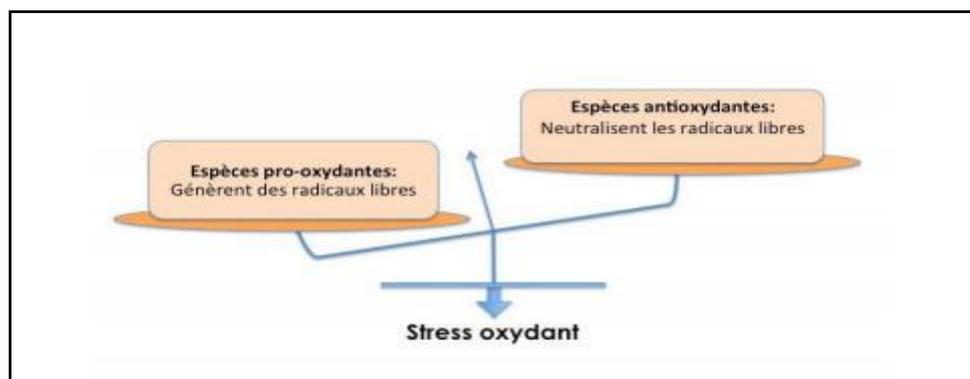


Figure 2 : Stress oxydant (Baraka-vidot., 2014)

Le stress oxydant est donc une perturbation dans l'équilibre pro-oxydant/antioxydant en faveur de la formation des espèces réactives, conduisant à des dommages potentiels sur les cellules, les tissus et l'ADN (Anderson., 1997). Si ce stress est prolongé ou permanent comme dans certaines pathologies chroniques, la concentration en ERO est augmentée de façon constante, et la réponse anti-oxydante n'est plus suffisante pour la contenir : une perte de l'homéostasie redox apparait conduisant à l'apparition d'un déséquilibre avec une production d'ERO forte. À l'inverse, dans le cas d'une faible concentration d'ERO, le système antioxydant la compense : le déséquilibre est de courte durée et l'équilibre redox est alors maintenu (Poisson., 2013). Cette régulation de l'équilibre homéostatique est illustrée dans la figure 3 :

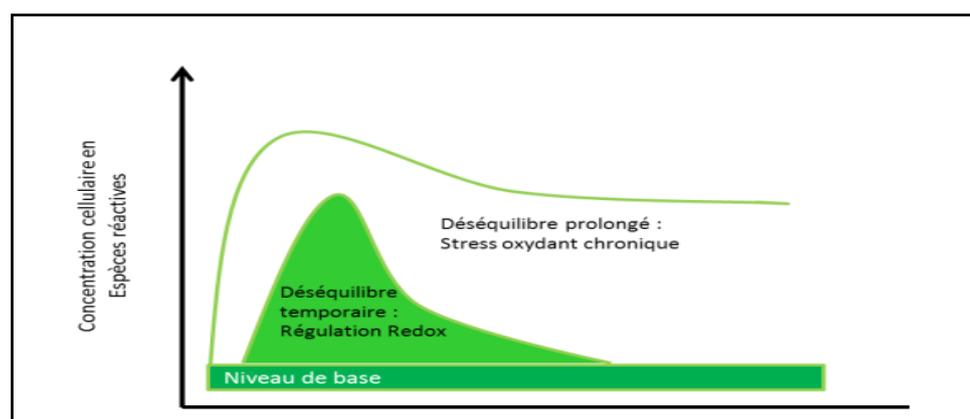


Figure 3 : Régulation de l'homéostasie Redox (D'après Dröge., 2002)

3. Mécanismes de production des principales ERO

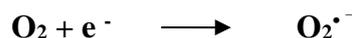
Parmi les EROs, on peut distinguer quatre espèces principales (fig.4) : l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), le radical hydroxyle (OH^{\cdot}) et l'oxygène singulet (1O_2) :

3.1. L'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$

Au cours du métabolisme cellulaire, l' O_2 peut être réduit en H_2O . Ce passage d'une molécule d'oxygène à deux molécules d'eau nécessite l'action de quatre électrons (**Ronald St-Louis., 2011**) :



Cependant, dans quelque cas (2 à 5%), l'oxygène fait l'objet d'une réduction incomplète. Chaque molécule d'oxygène sera réduite par un seul électron, aboutissant ainsi à la formation d'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) (**Dawson et al., 1993 ; Cadenas et al., 2000**) :



L'anion superoxyde est une ERO primaire, ayant la réactivité la plus faible parmi les radicaux libres du stress oxydant, il est généré à partir de différentes sources dans les conditions physiologiques et physiopathologiques (**Gardès-Albert et al., 2005**). Il est cependant hautement réactif avec certains métaux de transition comme le cuivre, le fer et le manganèse (**Abreu et al., 2010**).

La formation de l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) est un processus physiologique à la base de l'obtention des autres radicaux libres et par voie de conséquence à la formation en cascade de tous les autres oxydants (**Halliwell and Guterridge., 1986**).

3.2. Le peroxyde d'hydrogène H_2O_2

Le peroxyde d'hydrogène n'est pas un radical libre, puisqu'il ne possède pas d'électron libre. Cependant, il fait partie des dérivés actifs de l'oxygène (**Eurotext., 2007**). H_2O_2 est extrêmement réactif et possède un fort pouvoir oxydant. De plus, sa capacité à traverser les membranes biologiques fait qu'il peut se retrouver à une grande distance de son lieu de production (**Garait., 2011**).

À pH physiologique, tout ion peroxyde formé va se protoner pour donner immédiatement du peroxyde d'hydrogène. Au bilan, le peroxyde d'hydrogène est produit à partir du radical superoxyde en solution aqueuse. Cet ion provoque la dismutation de l'eau pour former du

peroxyde d'hydrogène et du dioxygène. Cette réaction est catalysée par la superoxyde dismutase (Delattre et al., 2005) :

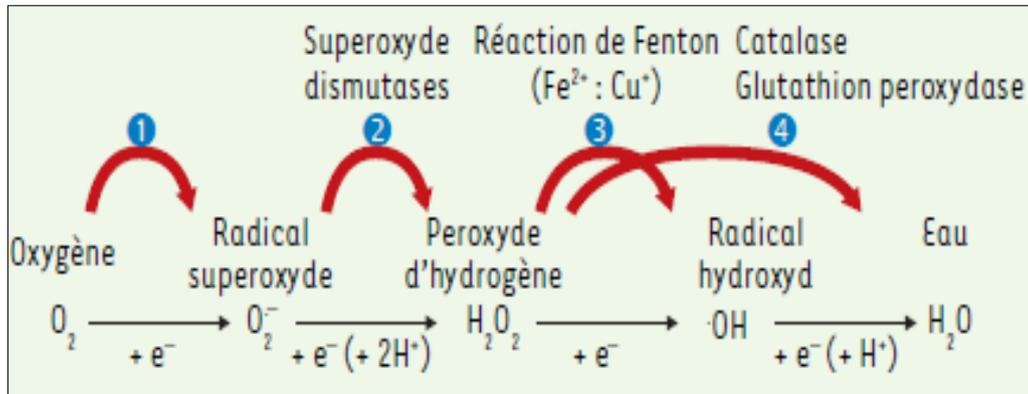
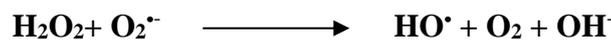


Figure 4 : Voie métabolique de l’oxygène et des espèces réactives de l’oxygène (ERO) (Camille et Mireille., 2011)

3.3. Le radical hydroxyle HO•

Le radical hydroxyle, est généré par la réaction du peroxyde d’hydrogène avec l’anion superoxyde (réaction d’Haber-Weiss), engendrant alors un ion OH⁻ inoffensif et un radical hydroxyle HO• (Comhair et Erzurum., 2002) :



Cette réaction est lente et probablement inopérante dans les tissus vivants. Mais, en revanche, en présence de métaux de transition (fer, cuivre), l’H₂O₂ donne naissance in vivo via la réaction de Fenton à un radical hydroxyle HO• hautement réactif (Goldstein et al., 1994) :



Le radical hydroxyle à une demi-vie extrêmement courte et une capacité à diffuser restreinte, il est capable de réagir très rapidement avec la plupart des molécules biologiques comme l’ADN, les protéines, les sucres et les lipides membranaires (Delattre et al., 2005), en transformant la molécule cible en radical libre très réactif. Ce radical nouvellement formé peut alors interagir avec d’autres molécules cibles déclenchant ainsi des réactions en chaîne.

Les réactions en chaîne représentent l’un des plus grands dangers du radical OH•. En revanche, l’H₂O₂ et l’O₂^{•-} ne sont pas suffisamment réactifs pour déclencher des réactions en

chaîne (Lau et al., 2008 ; Aprioku., 2013). Le radical hydroxyle apparaît donc comme l'espèce réactive ayant une responsabilité majeure dans la cytotoxicité des radicaux libres (Guetteridge., 1993).

3.4. L'oxygène singulet 1O_2

L'oxygène singulet (1O_2), est la forme « excitée » de l'oxygène moléculaire qui est très instable et extrêmement réactif et a une durée de vie très limitée. Au contact des molécules de son environnement, notamment les molécules d'eau, il se désactive en libérant de l'énergie. Il est formé en moindre quantité que les oxy-radicaux et est produit lors de la peroxydation lipidique, et suite à l'action des rayons ultraviolets sur le dioxygène (Favier., 2003).

L'oxygène singulet est très réactif et peut par exemple s'additionner rapidement sur des doubles liaisons carbone-carbone (Yoshikawa et al.,2000). Il a pour cible biologique les membranes, les acides nucléiques et les protéines (Halliwell., 2006).

Toutefois, il existe d'autres ERO tel que le monoxyde d'azote (NO^*), qui a un rôle dans de multiples fonctions physiologiques (De Backer, 2006). Mais, à forte concentration, le NO devient délétère pour les cellules notamment en réagissant avec $O_2^{\cdot-}$ pour former un puissant oxydant le peroxynitrite ($ONOO^*$), qui peut secondairement se décomposer en d'autres oxydants comme *NO_2 et le OH^* (Densiov et Afanas'ev., 2005).

4. Sources des ERO ou ROS

Selon certains auteurs (Dalton et al.,2002 ; Fulbert et Cals., 1992 ; Yoshikawa et al., 2000 ; Tillement., 2001), les radicaux libres peuvent avoir plusieurs origines. Ils sont issus du métabolisme physiologique mais ils peuvent aussi être, produits lors de « déviations » du métabolisme cellulaire.

Il existe de nombreuses sources de radicaux libres et d'espèces réactives de l'oxygène. Elles sont classées en deux catégories, les sources endogènes, et les sources exogènes :

4.1. Sources endogènes

Le principal processus endogène de production d'EROs in vivo est la respiration cellulaire (la chaîne respiratoire mitochondriale) (Yu., 1994). Ainsi, les peroxysomes, la membrane plasmique et le réticulum endoplasmique sont les sièges principaux de libération des ERO (Barouki et Morel., 2001) :

- **Mitochondrie**

La mitochondrie est considérée comme une des principales sources de ROS dans la cellule par l'intermédiaire de sa chaîne respiratoire (fig.5). Elle produirait, en effet, 90% des ROS cellulaires (**Balaban et al., 2005**). Cette production centralisée de ROS est due au fait que la mitochondrie est le lieu central de consommation de l'oxygène au cours de la phosphorylation oxydative (**Qutub et al., 2008**).

Cet organe produit la majeure partie de l'énergie cellulaire grâce aux processus de phosphorylation oxydative où l'oxydation de divers substrats métaboliques (tels les glucides et les acides gras en particulier) produit de l'eau et de l'adénosine triphosphate (ATP), avec l'oxygène (O₂) comme accepteur final d'électrons (**Nicholls et Ferguson., 2002**).

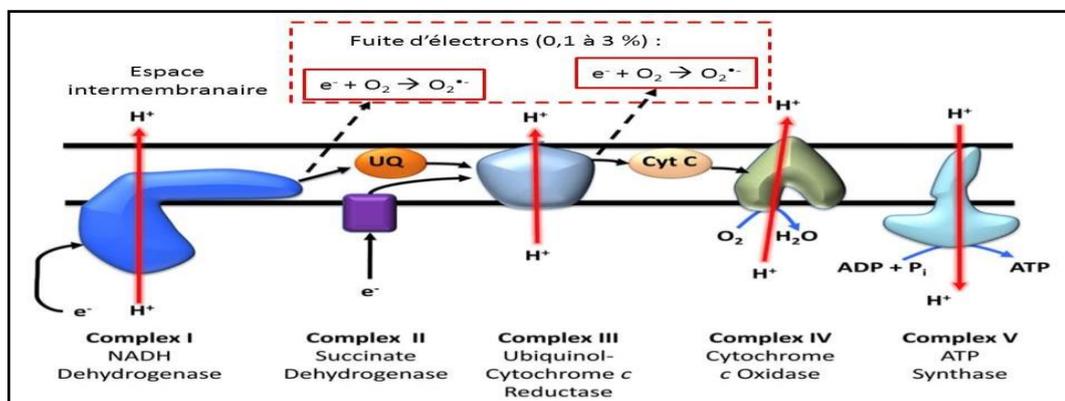


Figure 5 : Fuite d'électrons source de ROS au sein de la chaîne de transport d'électrons D'après (**Ghouleh et al., 2011**)

(UQ : Ubiquinone ; Cyt C : Cytochrome C)

La réduction de l'oxygène en eau nécessite l'apport de quatre électrons (**Beckman et Ames., 1998**). Or, des réductions à un seul électron, produisant des anions superoxydes, peuvent aussi survenir (**Abele et al., 2002**). Cette réduction partielle d'oxygène dans la mitochondrie est due à la fuite d'électrons dans la chaîne respiratoire qui a lieu dans la membrane interne mitochondriale

Cette fuite se produit principalement au niveau des complexes I (NADH déshydrogénase) et III (ubiquinone – cytochrome c réductase), et mène à la production du radical superoxyde (O₂^{•-}), le précurseur des ROS (**Turrens., 1997 ; McLennan et Degli Esposti., 2000**).

Selon les sources, cette fuite d'électrons représente entre 0,1 et 3% du flux total de la chaîne respiratoire (**Beckman et Ames., 1998**).

- *Peroxisomes*

Les peroxysomes sont des organites retrouvés dans pratiquement toutes les cellules de l'organisme à l'exception des hématies. Ils sont les seuls organites cellulaires avec les mitochondries et les réticulums endoplasmiques à consommer de l'oxygène lors du métabolisme (Delattre et al., 2005). Ils sont, en fait, le siège d'une forte activité métabolique très centrée sur le métabolisme oxydatif (Corpas et al., 2001 ; Nyathi and Baker., 2006).

Ils sont une importante source de production d' H_2O_2 cellulaire, en conditions physiologiques et en présence des enzymes peroxysomales (les oxydases). L'activité enzymatique de ces derniers et la β -oxydation des acides gras comptent parmi les principaux processus métaboliques impliqués dans la génération de H_2O_2 dans les peroxysomes. (Bennamara., 2017). Ce dernier est utilisé comme substrat de la catalase peroxysomale (enzyme antioxydant) afin de réaliser des réactions de peroxydation d'autres substrats. Ces réactions sont importantes dans le processus de détoxification présent dans le foie et le rein. Seule une faible quantité d' H_2O_2 produit au niveau du peroxysome pourrait échapper à la catalase (Nacri., 2013).

- *Réticulum endoplasmique*

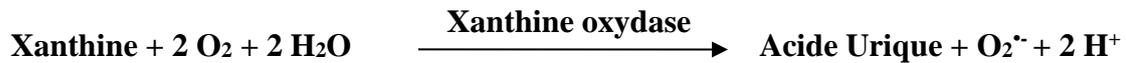
Dans ce compartiment cellulaire sont retrouvées des enzymes du métabolisme des lipides et des protéines, et notamment des complexes enzymatiques de détoxification de métabolites hautement réactifs, mais aussi de molécules pharmacologiques liposolubles. Les plus étudiées de ces enzymes appartiennent à la famille des cytochromes P450, qui assurent l'oxydation des acides gras insaturés (et certains xénobiotiques), et réduisent l'oxygène moléculaire pour former $O_2^{\cdot-}$ et/ou H_2O_2 . Les ERO ainsi produites semblent intervenir dans la régulation redox de certaines fonctions essentielles du réticulum endoplasmique telles que la sécrétion des protéines (Delattre et al., 2005).

- *Xanthine oxydase*

Il existe deux types de xanthine oxydase inter-convertibles également connus sous le nom de xanthine oxydoréductase (XOR) qui diffèrent par leur forme et par leur mode d'action. Elles peuvent être soit de type xanthine oxydase (XO), dépendantes de l' O_2 , soit de type xanthine déshydrogénase (XD), dépendantes du NAD^+ (Favier., 2003).

La xanthine oxydase est une enzyme cytosolique qui génère des ROS en réduisant l'hypoxanthine en xanthine ainsi que la xanthine en acide urique (Harrison., 2002). Au cours de

cette oxydation, elle utilise l'oxygène moléculaire comme un accepteur d'électrons tout en produisant l' $O_2^{\cdot-}$ (O'Mahony et al., 2013) :



La xanthine oxydase est surtout présente dans le foie mais peut se retrouver dans la circulation en cas d'atteinte hépatique. La production de ROS par la xanthine oxydase est faible en condition physiologique mais jouerait un rôle important lors de l'ischémie reperfusion. Dans le cas de l'ischémie, la grande consommation de l'ATP conduit à une accumulation d'hypoxanthine et de xanthine et donc une production de ROS plus importante.

L'activité de la xanthine oxydase a aussi été détectée dans le cytosol des cellules endothéliales bovines (Jarasch et al., 1981), sur la surface cellulaire de cellules endothéliales humaines (Rouquette et al., 1998), dans le plasma circulant (Tan et al., 1995) et dans les cardiomyocytes (Abadeh et al., 1992).

- *NADPH oxydase*

La nicotinamide adénine dinucléotide phosphate oxydase (ou NADPH-oxydase) est un complexe enzymatique membranaire. Les NADPH oxydases (Nox) ont d'abord été considérées comme des enzymes uniquement exprimées dans les cellules immunitaires (macrophages et monocytes). Il a ensuite été découvert qu'il existait 7 isoformes de NADPH oxydase exprimées dans divers tissus et impliquées dans divers processus biologiques (Paravicini et Touyz., 2008).

Les NADPH oxydases catalyse la réduction monoélectronique de l'oxygène en $O_2^{\cdot-}$, en utilisant le NADH et le NADPH comme donneur d'électrons selon la réaction (Bennamara., 2017) :



Après sa production, l'anion superoxyde se dismute hors la cellule en H_2O_2 (Hala., 2008). La NADPH oxydase a la particularité de présenter des domaines intra-, trans- et extra-membranaires, cette particularité va permettre la libération de l'anion superoxyde à l'intérieur ou à l'extérieur de la cellule (Souza et al., 2001) et joue un rôle fondamental dans la réponse immunitaire précisément dans la lutte contre les micro-organismes (Babior., 1999).

Il existe aussi les NOX dans des cellules non phagocytaires où elles ont une activité de 10 à 100 fois moins élevée que celle des cellules phagocytaires et les ERO qu'elles produisent jouent un rôle dans la signalisation intracellulaire (Favier., 2003).

4.2. Sources exogènes

Les ROS sont également générées sous l'effet de stress environnementaux (**Kalam et al., 2015**). Une large variété de xénobiotiques (toxines, pesticides, herbicides, métaux lourds etc...) et médicaments (antibiotiques, anticancéreux, etc...), peuvent contribuer à la production des ERO (**El-Demerdashet et al., 2018**).

Les rayonnements, qu'ils soient UV, X ou γ , peuvent par différents mécanismes induisent la synthèse de radicaux libres (**Tsai et al., 2017**). Les polluants de l'air, comme la fumée des cigarettes et les contaminants industriels, constituent une source importante d'ERO, ils attaquent et causent des endommagements dans l'organisme que ce soit par interaction directe avec la peau ou après inhalation dans les poumons (**Al-Gubory., 2014**).

5. Cibles biologiques des ROS

La surproduction des radicaux libres et des différentes espèces réactives produits à partir des sources endogènes et exogènes, peut conduire au dommage des composants cellulaires et à l'altération des fonctions cellulaires. (**Carocho et al., 2018**).

En fait, lors d'un stress oxydant, les RLs non détoxiquées par le système antioxydant attaquent et endommagent par oxydation les macromolécules contenues dans les cellules (fig.6), notamment les lipides, les protéines et l'acide désoxyribonucléique (ADN) (**Menon., 2014**). Ils provoquent aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides (**Favier., 2003**).

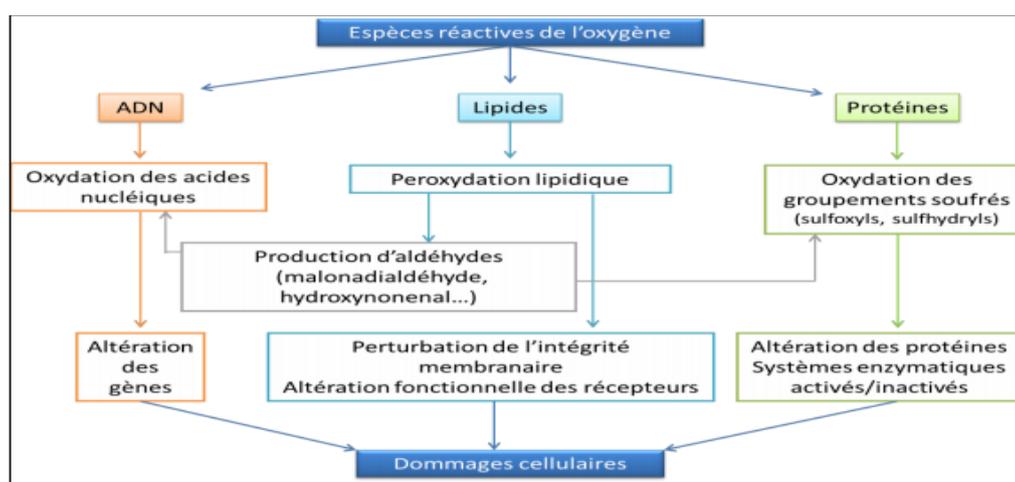


Figure 6 : Les différentes cibles des Espèces Réactives de l'Oxygène (**Monteil., 2004**)

5.1. Peroxydation lipidique

Les lipides et principalement leurs acides gras polyinsaturés (AGPI) représentent la première cible de l'attaque radicalaire par le radical OH^\bullet (Bennamara., 2017). En fait, les membranes riches en acides gras polyinsaturés (AGPI) sont très sensibles à l'oxydation en raison de leur degré élevé d'insaturation (Hulbertl., 2005 ; Pamplona *et al.*, 2000).

Le processus général de la peroxydation lipidique LPO (fig.7) consiste en une réaction radicalaire en chaîne qui se déroule en trois phases : initiation, propagation et terminaison (Frankel., 2005 ; Leopold et Loscalzo., 2009) :

❖ **L'initiation** : la réaction commence lorsqu'un acide gras insaturé rencontre une espèce capable d'arracher un atome d'hydrogène et ainsi créer un site radicalaire sur un atome de carbone (radical alkyle). Les espèces initiateurs de la peroxydation lipidique sont principalement des radicaux libres et essentiellement le radical hydroxyle OH^\bullet et hydroperoxyde HO_2^\bullet (Halliwell et Chirico., 1993).

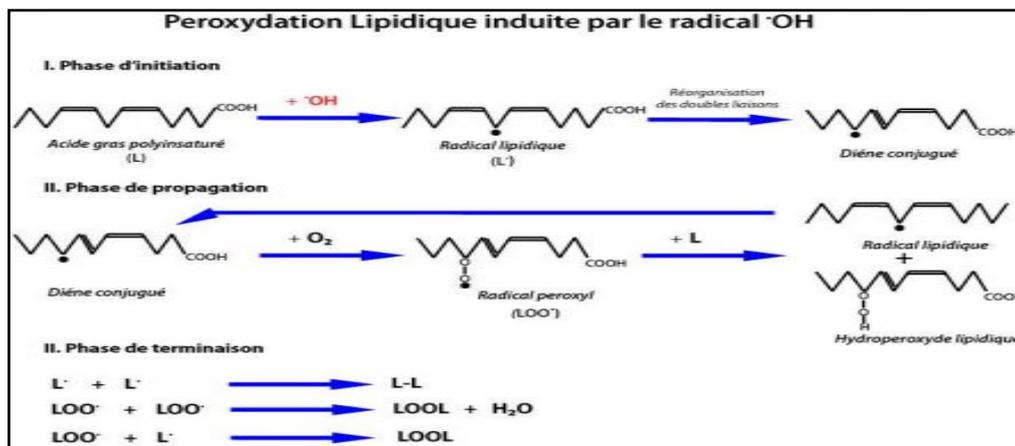


Figure 7 : Réactions de la peroxydation lipidique en chaîne (Halliwell et Gutteridge., 2007)

❖ **La propagation** : cette étape correspond à la fixation très rapide des radicaux libres alkyles (R^\bullet), issus lors de l'initiation, avec l'oxygène moléculaire à l'état normale. Il se forme des radicaux libres peroxydés (ROO^\bullet) instables pouvant réagir avec une nouvelle molécule d'acide gras insaturée pour former des lipides hydroperoxydes susceptibles d'être décomposés en d'autres espèces réactives (Davies., 2000 ; Fam et Morrow., 2003).

❖ **La terminaison** : les hydroperoxydes peuvent subir plusieurs modes d'évolution, être réduits et neutralisés par la glutathion peroxydase (enzyme antioxydant) et la vitamine E intercalée dans la bicouche lipidiques des membranes (Luc *et al.*, 1991 ; Halliwell., 1996 ;

Favier., 2003), ou continuer à s'oxyder et à se fragmenter en produits secondaires c'est-à-dire en aldéhydes très réactifs, pouvant être considérés comme des messages secondaires toxiques qui augmente les dommages initiaux dus aux radicaux libres (**Marnett., 1999**).

Parmi les aldéhydes formés : l'isoprostane, le malondialdéhyde (MDA) et le 4-hydroxynonéal (4-HNE), sont très étudiés comme marqueurs de la peroxydation lipidique (**Echtay et al., 2003**). Les deux derniers produits (MDA, 4HNE) réagissent avec les protéines et l'ADN, une fois fixé à la molécule d'ADN, le MDA semble être le produit le plus mutagène, alors que le 4-HNE est le plus toxique pour la cellule (**Marnett., 1999**).

La peroxydation lipidique est suivie d'un changement structural des membranes biologiques (**Pacifici et al., 1994**), ou d'autres éléments contenant des lipides (**Niki et al., 2005 ; Stark., 2005 ; Al-Mutairi et al., 2007**). Ces perturbations fonctionnelles peuvent aboutir à la mort des cellules (**Bonnefont-Rousselot., 1994**).

5.2. Oxydation des protéines

En présence d'EROs, les protéines peuvent se dénaturer (**Benyami., 2017**) et tous les acides aminés peuvent être oxydés par les ROS préférentiellement ceux portant des chaînes latérales aromatiques (histamine, tyrosine...), les acides aminés soufrés (cystéine, méthionine...) (**Wang et al., 2008**) et les acides aminés basiques.

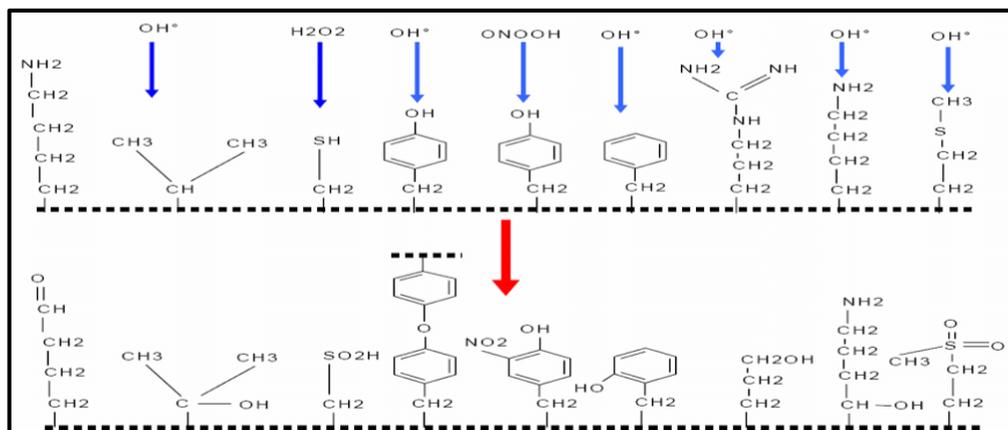


Figure 8 : Nature de quelques modifications des chaînes d'acides aminées des protéines après attaque radicalaire (**Favier., 2003**)

Comme le montre la figure 8, les ERO oxydent les résidus aminoacides responsables des activités des protéines, principalement au niveau des centres S-S de ces dernières, ce qui endommage les structures protéiques et provoque la perturbation de leurs fonctions (**Thannickal & Funburg., 2000**). L'action peut être directe sur les chaînes peptidiques et latérales et produit

des métabolites primaires comme elle peut être indirecte par glycation et formation des groupements carbonyles, ou par lipo-oxydation (**Bensakhria., 2018**).

✓ **Oxydation des acides aminés aromatiques :**

L'oxydation des acides aminés aromatiques (phénylalanine, tryptophane et tyrosine) provoque l'ouverture du cycle aromatique ou son oxygénation (ajout de groupements hydroxyde -OH) (**Benjamin., 2015**). La tyrosine s'oxyde en O-hydroxytyrosine (**Athmani., 2016**) et elle peut être l'origine de ponts dityrosines qui vont modifier la structure tertiaire des protéines par formation du radical tyrosyle sous l'action des EROs. Ce radical va donner lieu à la formation d'un hydroperoxyde de tyrosine par sa réaction avec O_2^- (**Halliwell and Gutteridge., 2008**). L'altération oxydative des protéines forme des composés carbonylés (**Benjamin, 2015**). Le tryptophane et le phénylalanine sont également s'oxydés en cynurénine et 3,4-Dihydroxyphénylalanine respectivement (**Baudin., 2006**).

✓ **Oxydation des acides aminés soufrés :**

Les acides aminés soufrés sont particulièrement sensibles à l'oxydation, par exemple l'oxydation du groupement thiols -SH de la cystéine peut conduire à la formation de groupements sulféniques (-SOH), sulfoniques (-SOOH), sulfoniques (SOOOH), ou à la formation de ponts disulfures (-S—S-) entre deux cystéines. La méthionine peut également être oxydée en sulfoxyde de méthionine ou en sulfone de méthionine (**Raman and Berry., 2011**).

✓ **Oxydation des acides aminés basiques :**

Les acides aminés basiques (lysine, l'arginine et histidine) ont des fonctions amines (NH ou NH_2) sur leurs chaînes latérales. En présence de métaux, une désamination oxydative a lieu conduisant à la formation d'un groupement carbonyle (**Stadtman, 1990**). Ce dernier aboutit à la formation des liaisons imines (-HC=N-) entre les chaînes peptidiques, en réagissant avec des fonctions amines non oxydées de la lysine ce qui va provoquer l'agrégation des protéines (**Oueslati., 2017**).

Les dommages oxydatifs des protéines produisent des changements structuraux majeurs des structures protéiques par réticulation et fragmentation, ce qui va modifier des propriétés des protéines responsables de nombreuses altérations des fonctions cellulaires (**Bensakhria., 2018**). Les protéines oxydées perdent leurs propriétés biologiques, et sont beaucoup plus sensibles à l'action des protéases.

5.3. Oxydation de l'ADN

L'acide désoxyribonucléique est une molécule très sensible au stress oxydant. La plupart des ERO sont, en effet, capables de réagir avec l'ADN, aussi bien sur les bases azotées (puriques et pyrimidiques) que sur le ribose et le désoxyribose (**Benjamin., 2015**).

Ainsi, l'ADN mitochondrial est la cible privilégiée des oxydations par les ERO du fait de son potentiel de séparation plus faible que celui de l'ADN nucléaire et de sa proximité directe de l'une des principales sources d'ERO cellulaire : la chaîne respiratoire mitochondriale. Le taux de bases oxydées serait 2 à 3 fois supérieur dans l'ADNmt par rapport à l'ADNn et le génome mitochondrial présente une susceptibilité au stress oxydant qui est 10 fois supérieure à celle du génome nucléaire (**Richter et al., 1988**).

L'attaque radicalaire de la molécule d'ADN (fig.9) peut 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 (**Burton et Jauniaux., 2011 ; Charbon et al., 2014**).

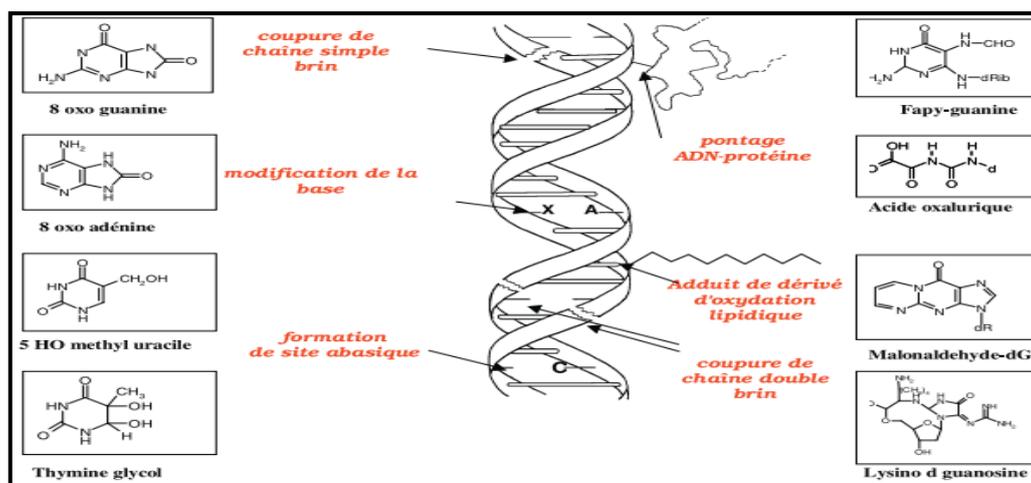


Figure 9 : Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules (**Favier., 2003**)

La sensibilité de l'ADN aux ERO s'explique également par la présence de nombreux métaux de transition (comme Fe, Cu, Zn, Mg...) fixés sur la molécule d'ADN en raison de son caractère polyanionique. (**Benjamin., 2015**).

Ces modifications et ces dégâts sur la molécule d'ADN peuvent avoir certaines conséquences : altération de la fonction mitochondriale, formation d'espèces mutagènes,

activation des systèmes de réparation (**Bensakhria., 2018**) et même elles peuvent avoir de graves conséquences sur la réplication du génome.

Il existe plusieurs systèmes de réparation de l'ADN. Certaines enzymes permettent la réparation directe de l'ADN. Cependant, l'efficacité de ces systèmes dépend de plusieurs facteurs comme l'âge ou le type de la cellule. Cette dernière peut entrer en apoptose en cas de division cellulaire non contrôlée aboutissant à la formation de tumeurs cancéreuses (**Florence., 2016**).

6. Antioxydants

Face à la production permanente de ROS, les organismes vivants ont développé des systèmes de défense qui les protègent des dommages liés aux formes radicalaires. Ces défenses permettent de maintenir la concentration en espèces radicalaires à un taux basal. En effet, elles possèdent une grande affinité pour les ROS, avec lesquelles elles réagissent très rapidement pour les neutraliser (**Delattre et al., 2005b**). Les molécules contrôlant cette production sont désignées par le terme "Antioxydant" :

6.1. Définition

Un antioxydant est une molécule capable d'inhiber l'oxydation d'autres molécules. En termes d'alimentation, un antioxydant a été défini comme "toute substance qui, lorsqu'elle est présente en faible concentration par rapport à celle d'un substrat oxydable, retarde ou inhibe de manière significative l'oxydation de ce substrat", mais il a ensuite été défini comme "toute substance qui retarde, empêche ou supprime les dommages oxydatifs d'une molécule cible". (**Göçer et al., 2013 ; Çakmakçi et al., 2015**).

Cette définition fonctionnelle s'applique à un grand nombre de substances, comprenant des enzymes aux propriétés catalytiques spécifiques, mais aussi aux petites molécules hydro- ou liposolubles. Cette grande variété physico-chimique autorise la présence d'antioxydants dans tous organismes, qu'ils soient intracellulaires, membranaires ou extracellulaires (**Cano et al., 2006**).

Les systèmes antioxydants présents dans l'organisme sont, soit d'origine endogène, soit exogène. On distingue également les antioxydants enzymatiques des antioxydants non enzymatiques (**Niki., 2010**). Les antioxydants peuvent donc être produits de façon endogène ou provenir de sources exogènes, comme l'alimentation ou les suppléments antioxydants (**Vertuani et al., 2004**).

6.2. Mode d'action des antioxydants

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. (Penna *et al.*, 2009). En fait, en fonction de leur mécanisme d'action on distingue des antioxydants inhibiteurs des radicaux libres, décomposeurs des peroxydes, désactivateurs des ions métalliques, ou des piègeurs d'oxygènes (Dziedzak., 1986 ; Yagi., 1970). En complément de ces mécanismes, l'organisme est en outre capable de réparer ou d'éliminer les molécules endommagées par l'attaque radicalaire (Penna *et al.*, 2009).

6.3. Les systèmes de défense antioxydants

6.3.1. Les systèmes antioxydants enzymatiques

Les principaux systèmes enzymatiques (fig.10) comprennent les superoxydes dismutases (SOD), la catalase (CAT) et plusieurs formes de glutathion peroxydases (GSH-PX) (Jacob *et al.*, 2006 ; Garrel *et al.*, 2007 ; Menon et Goswami., 2007).

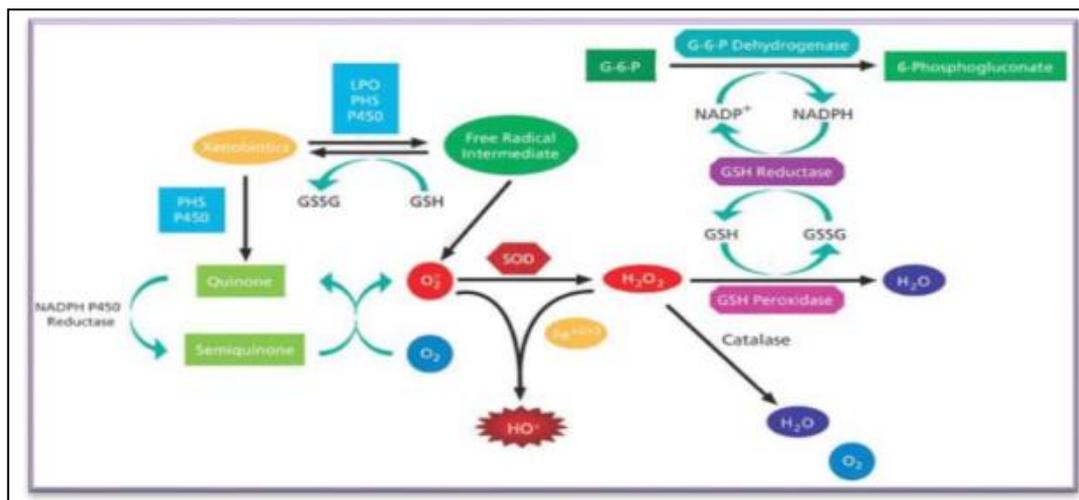


Figure 10 : Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants (Descamps., 2004)

- *La Superoxyde dismutase (SOD)*

La superoxyde dismutase (EC 1.15.1.1) est l'un des antioxydants enzymatiques intracellulaires les plus efficaces (Rahman., 2007). Les SODs sont des métallo-enzymes se retrouvant dans l'ensemble du monde du vivant à l'exception de quelques microorganismes (Alscher *et al.*, 2002).

Cette métalloprotéine catalyse la dismutation du superoxyde en oxygène et peroxyde d'hydrogène et représente de ce fait, une partie importante du système de défense contre les radicaux libres (**Afonso., 2007**). Cette réaction de dismutation nécessite un milieu acide et va permettre d'agir simultanément avec 2 anions superoxydes aboutissant à la formation de dioxygène et de peroxyde d'hydrogène (**Desmier., 2016**) :

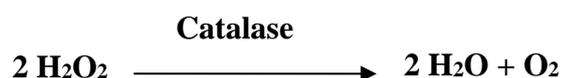


La SOD existe sous trois isoformes qui se différencient par leur localisation cellulaire et par leur cofacteur métallique : une forme cytosolique et nucléaire associée aux ions cuivre et zinc (Cu/Zn-SOD), une forme mitochondriale associée au manganèse (Mn-SOD) et une forme extracellulaire (EC-SOD). Il a été montré que la Cu/Zn-SOD était également présente dans l'espace intermembranaire (**Okado-Matsumoto et Fridovich., 2001 ; Sturtz et al., 2001**). Les différentes SODs catalysent la même réaction avec une efficacité comparable. Elles accélèrent la vitesse de dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène (**Desideri et Falconi., 2003 ; Rahman et al., 2006 ; Garrel et al., 2007**).

- *La Catalase (CAT)*

La catalase (EC 1.11.1.6) est parmi les antioxydants puissants les plus connus dans la nature (**Ratnam et al., 2006**). Cette enzyme est localisée principalement dans les peroxysomes et les mitochondries (**Deaton et Marlin., 2003**), elle se produit en abondance dans le corps, avec la plus grande activité dans le foie, suivie par les érythrocytes, puis les poumons (**Ratnam et al., 2006**).

C'est une enzyme hémique capable de transformer par dismutation le peroxyde d'hydrogène (généralement produit par les SOD) en eau et oxygène moléculaire (**Bonnefont-Rousselot et al., 2003**) :



De ce fait, la CAT a un rôle essentiel dans l'acquisition de la tolérance au stress oxydatif et dans la réponse adaptative des cellules (**Buschfort et al., 1997 ; Góth et al., 2004**). Elle joue, en effet, un rôle significatif en permettant d'éliminer l'excès de peroxyde d'hydrogène afin que la réaction de Fenton ne puisse s'amplifier (**Cantin., 1999**). Ainsi, divers états pathologiques et

anomalies sont associés à la carence ou à la mutation de cette enzyme (**Buschfort et al., 1997 ; Góth et al., 2004**).

- *La Glutathion peroxydase (GPx)*

La glutathion peroxydase (EC 1.11.10.19) est une enzyme dépendante du sélénium (**Akbas et al., 2005**). Elle contient un seul résidu séléno-cystéine (Se-Cys) dans chacune de ces quatre sous-unités identiques (fig 11), ce qui est essentiel pour l'activité enzymatique (**Marés et al., 1999**). Elle se retrouve dans les liquides extracellulaires ainsi que dans les cellules, au sein du cytosol et des mitochondries (**Richard et al., 1997**).

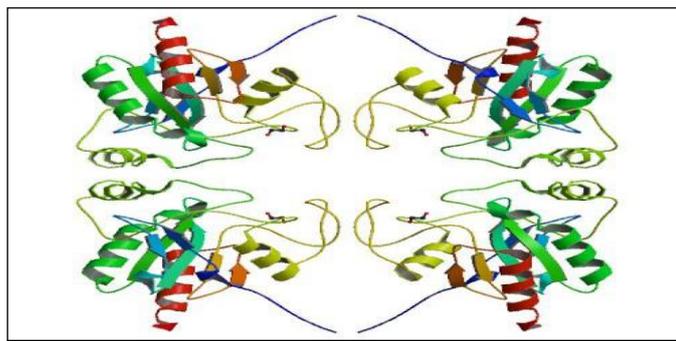
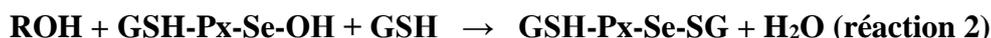


Figure 11 : Structure tridimensionnelle de la glutathion peroxydase (**Lyons et al., 1990**)

On distingue 5 isoenzymes de la GSH-Px contenant du sélénium chez les eucaryotes : la GSHPx1 ou cGSH-Px cytoplasmique et mitochondriale, la GSH-Px2 ou giGSH-Px gastro intestinale, la GSH-Px3 ou pGSH-Px plasmatique, la GSH-Px4 ou HP-GSH-Px localisée à l'interface de la membrane interne et du cytoplasme et la GSH-Px5 ou snGSH-Px épидидymaire. La plus abondante est la GSH-Px1, qui est exprimée dans la plupart des cellules (**Comhair et Erzurum., 2002**).

La GPx permet la décomposition des hydroperoxydes organiques et peroxyde d'hydrogène. Elle réduit un grand nombre de ces peroxydes avec des vitesses comparables. L'enzyme possède une grande spécificité pour le glutathion réduit (GSH) qui est utilisé comme donneur d'hydrogène au cours des réactions de décomposition ; il s'en suit la formation du glutathion oxydé (GSSG). La GPx est donc en compétition avec la catalase pour le substrat H et est la source majeure de protection contre les faibles niveaux de stress oxydant (**Valko et al., 2006 ; Valko et al., 2007**).



La première réaction est une oxydation du groupement séléniol de l'enzyme par un hydroperoxyde pour former un acide séléinique (réaction 1). La seconde réaction conduit à la formation d'une liaison covalente entre le soufre du GSH et le sélénium de l'enzyme (réaction 2) (**kehili., 2018**). La dernière réaction (réaction 3) traduit la réduction du glutathion-disulfure GSSG par la glutathion réductase (**Halliwell., 1989**).

La glutathion réductase permet donc de recycler le GSH en réduisant le GSSG et produisant deux molécules de GSH (**Raman and Berry., 2011**). C'est une flavoenzyme homodimérique dont le quelle chaque sous-unité contient du FAD au niveau de son site actif. Elle utilise le NADPH comme donneur d'électron, qui réduit d'abord le FAD en FADH₂. Ce dernier est ensuite une source d'électrons sur un pont disulfide –S–S– de l'enzyme qui réduit à son tour le GSSG en GSH (**Halliwell and Gutteridge., 2008**).

Le schéma ci-dessous présente les réactions mises en jeu pour la décomposition du peroxyde d'hydrogène par la glutathion peroxydase (GPx) :

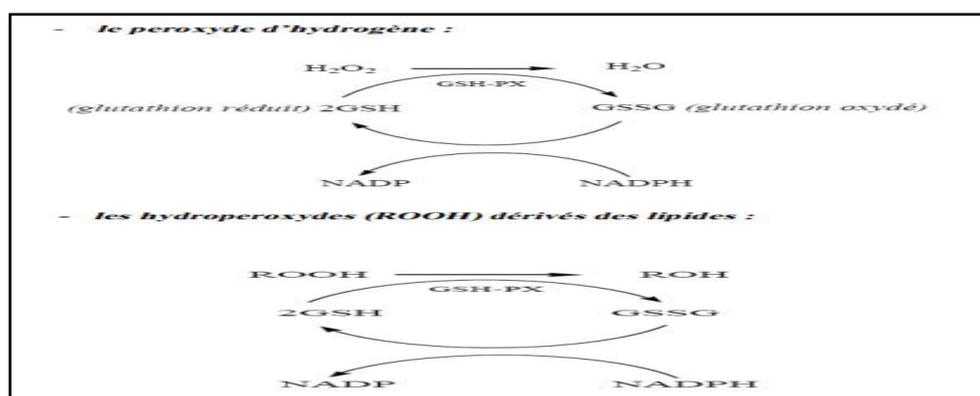


Figure 12 : Cycle de détoxification par la glutathion peroxydase.

6.3.2. Les systèmes antioxydants non-enzymatiques

Dans ce groupe d'antioxydants on peut distinguer deux types : les antioxydants endogènes et les antioxydants exogènes (**Ribeiro et al., 2001**) :

6.3.2.1. Antioxydants non enzymatiques endogènes

Ce groupe d'antioxydants renferme de nombreuses molécules endogènes synthétisées par les cellules :

- **Le Glutathion (GSH)**

Le glutathion est un tripeptide (acide γ -glutamique-cystéine-glycine) connu par son puissant pouvoir antioxydant (**Menon et Goswani., 2007**). Le foie est la principale source de la synthèse du glutathion (**Sies., 1999**), il est également abondant dans le cytosol, les noyaux et les mitochondries. Il est le principal antioxydant soluble dans ces compartiments cellulaires (**Rahman, 2007**). Le groupement actif de glutathion est le sulfhydryle (-SH) de la cystéine (**Sies., 1999 ; Deaton et Marlin., 2003**), qui peut aisément accommoder la perte de l'électron unique (**Rahman., 2007**).

Le glutathion (GSH) est impliqué dans de nombreux processus métaboliques, parmi lesquels le maintien des communications intercellulaires (**Barhoumi et al., 1993**) et la prévention de l'oxydation des groupements thiols grâce à son pouvoir réducteur. Il piège les espèces réactives de l'oxygène car il réagit notamment avec le radical hydroxyle (**Bump and Brown., 1990**). Il est intéressant de noter que le GSH peut chélater les ions Cu^+ et ainsi limiter leur participation à la génération de radicaux libres par la réaction de Fenton (**Hanna and Mason., 1992**). Dans certaines conditions physiologiques, le GSH protège l'ADN contre $^1\text{O}_2$ (**Lafleur et al., 1994**).

Comme citée précédemment, le glutathion réduit (GSH) est aussi le substrat indispensable aux réactions qui éliminent les peroxydes à partir de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx), de la glutathion transférase (GST) et de la glutathion réductase (GR). Au cours de l'oxydation du glutathion (fig.13), deux molécules de GSH se lient en formant un pont disulfure (S-S) par l'oxydation du groupement -SH de chaque cystéine. De cette réaction résulte la formation de glutathion oxydé ou disulfide (GSSG) (**Dwassy., 2014**).

Le rapport glutathion réduit/glutathion oxydé (GSH/GSSG) est souvent utilisé comme un marqueur du stress oxydant car, plus le flux d' H_2O_2 est important, plus le glutathion réduit est consommé et le glutathion oxydé augmenté (**Ji et Fu., 1985**).

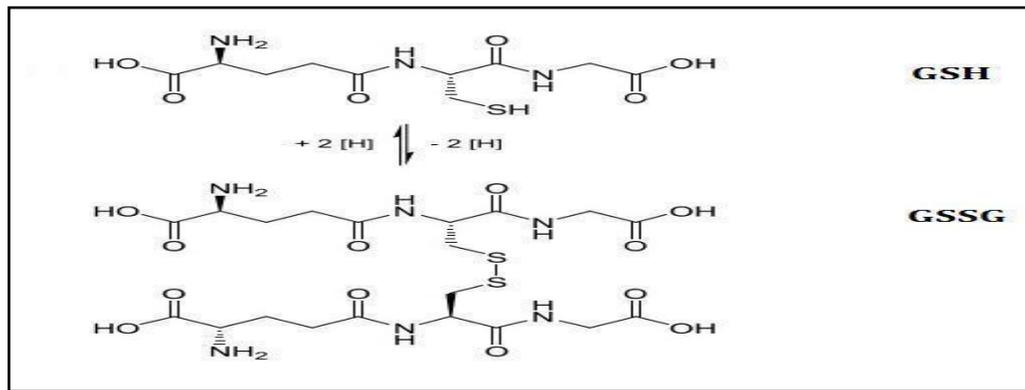


Figure 13 : État d'oxydation du glutathion (Raman et Berry., 2011)

- **L'Acide urique**

Issu du catabolisme des purines, l'acide urique (AU) joue un rôle important dans le système antioxydant. Il apparaît comme étant l'antioxydant plasmatique le plus réactif avec les ROS, contribuant à lui seul à 60 % de la capacité antioxydant du plasma grâce à sa concentration élevée (Zhao et al., 2009).

Au début des années 80, Ames et al ont proposé que l'AU puisse avoir une signification biologique en tant qu'antioxydant et ont montré, par des expériences in vitro, qu'il est un puissant capteur de radicaux peroxyde (RO_2^{\cdot}), de radicaux hydroxyle (OH^{\cdot}) et d'oxygène singulet (1O_2). Il est également un neutralisant puissant de l'ozone, de l'acide hypochloreux et du radical superoxyde (Sekli-belaidi., 2011 ; Mimouni., 2020).

Après réaction avec les ERO et d'autres agents oxydants, l'acide urique peut être oxydé en différents produits dont le prédominant est l'allantoïne qui augmente également dans les muscles en cas d'effort (Hellsten et al., 2001), puis est régénéré par la vitamine C (Vasconcelos et al., 2007). Il subsiste certains doutes quant à une réelle fonctionnalité antioxydant de l'acide urique, dont l'augmentation peut aussi bien avoir des conséquences pro que antioxydants (Patterson et al., 2003 ; Baillie et al., 2007 ; Sautin et al., 2007 ; Gersch et al., 2009 ; Johnson et al., 2009).

- **La Coenzyme Q10**

Découvert en Angleterre par Morton, le coenzyme Q, aussi appelé ubiquinone en raison de son ubiquité dans les cellules, est une molécule antioxydant qui se singularise par un comportement particulier (Pincemail et Defraigne., 2003). Il s'agit d'un dérivé benzoquinonique avec une longue chaîne latérale isoprénique (fig.14). Dans la majorité des tissus des mammifères, cette chaîne possède dix unités isoprénoïdes (d'où le nom de CoQ10) mais, dans d'autres organismes, elle n'est formée que de six (COQ6) ou huit (CoQ8) unités.

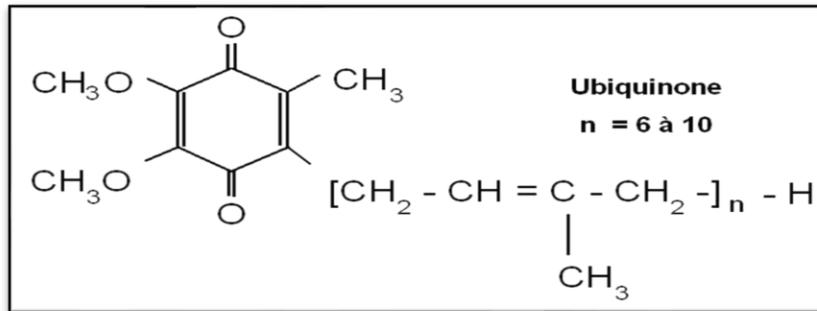


Figure 14 : Structure chimique des ubiquinones (**Haleng et al., 2007**) (n peut varier de 6 à 10)

Cette chaîne latérale confère à la molécule un caractère lipophile important qui lui permet de s'insérer dans toutes les membranes cellulaires, subcellulaires et les lipoprotéines sériques (**Pincemail et Defraigne., 2003**).

La coenzyme Q10 exerce à la fois un rôle de transporteur d'électrons et un rôle d'antioxydant. Sous sa forme réduite, elle limite la peroxydation lipidique en réagissant directement avec les hydroperoxydes ou indirectement en régénérant la vitamine E (**Beyer., 1994**). Son effet anti-oxydant s'exerce aussi au niveau de l'ADN et des protéines, étant donné que le coenzyme Q est le seul anti-oxydant liposoluble endogène (**Bentinger et al., 2010**).

- **La bilirubine**

La bilirubine est le produit terminal de la dégradation de l'hème de plusieurs protéines hémiques d'intérêt biologique comme l'hémoglobine des hématies et la myoglobine des muscles (**Halliwell et Gutteridge., 2008 ; Paredi et al., 2002**).

Elle est fortement liée aux protéines et lipoprotéines plasmatiques et potentialise la défense antioxydant sanguine (notamment avec l'albumine) (**Halliwell et Gutteridge., 2008**). La bilirubine est capable de piéger les radicaux peroxy, l'oxygène singulet et le radical hydroxyle, protégeant ainsi l'albumine et les acides gras liés à l'albumine des attaques radicalaires (**Algeciras-schimmich et al., 2007**).

Elle trouve donc toute son expression dans la protection des membranes cellulaires contre la peroxydation lipidique (notamment des cellules sanguines) et des protéines plasmatiques ; certains auteurs pensent que la bilirubine serait un antioxydant efficace de l'oxydation protéique médiée par le peroxynitrite et pourrait être plus efficace encore que la vitamine E dans la prévention de la peroxydation lipidique (**Paredi et al., 2002**). La bilirubine est reconvertie en biliverdine par certains ERO, qui est à nouveau réduite par la biliverdine réductase (**Halliwell and Gutteridge., 2008**).

6.3.2.2. Antioxydants non enzymatiques exogènes

Ce système fait appel à des molécules non enzymatiques telles que les vitamines antioxydants (vitamine C et vitamine E), les caroténoïdes et les composés phénoliques. Contrairement aux enzymes antioxydants, ces composés ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation (Gardès-Albert *et al.*, 2003).

- **La Vitamine E**

La vitamine E est un terme générique pour tous les tocophérols et les tocotriénols (fig.15), desquels existent 8 dérivatifs et dont l'alpha-tocophérol est le plus abondant (Shils *et al.*, 2006). La forme naturelle de la vitamine E inclut quatre tocophérols isomères α , β , γ et δ , avec une activité antioxydant variable (Singh *et al.*, 2005).

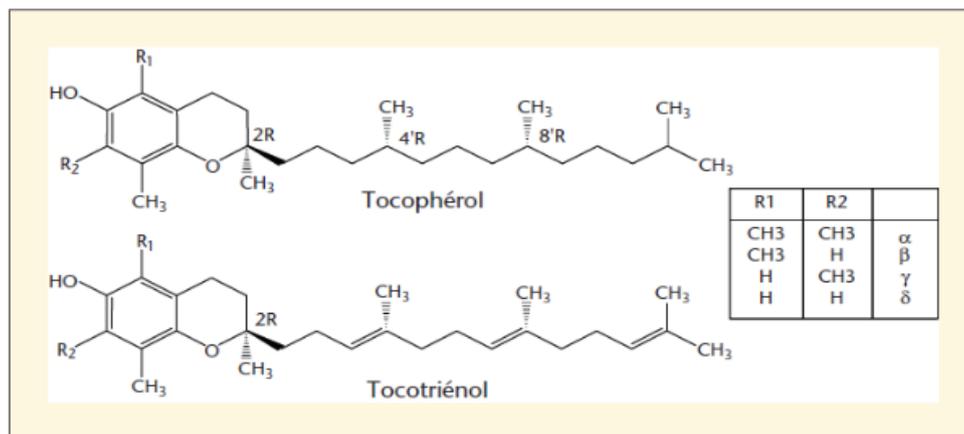


Figure 15 : Structure des différents vitamères de la vitamine E (landrier.,2011)

La vitamine E est uniquement apportée par l'alimentation, se retrouve dans les huiles végétales (olive, colza, arachide) mais aussi dans le beurre, les céréales et les légumes verts (SuzukiK *et al.*, 2011).

L' α -tocophérol (α -Toch) est la forme la plus active de la classe des tocophérols (Gulcin., 2012). Il piège les radicaux peroxydes produits durant la peroxydation lipidique, ce qui conduit à un radical tocophéryl (Van stijn *et al.*, 2008), plus spécifiquement lors de l'initiation de la peroxydation lipidique, suite à une attaque radicalaire (fig.16). L' α -Toch, qui est un inhibiteur de la propagation radicalaire, cède son hydrogène situé dans le noyau phénolique, réduisant ainsi le radical RO_2^* , et constitue par ce biais le seul antioxydant liposoluble assurant cette protection. L' α -tocophérol, en cédant son hydrogène, se transforme lui-même en produit radicalaire mais de faible réactivité (Bouguerne., 2012).

L' α -TocH peut aussi réagir avec les radicaux $\cdot\text{OH}$ et $\text{O}_2\cdot^-$ même si ces réactions, en théorie réalisables, ils restent peu probables au vu de leur lenteur.

La régénération de l' α -tocophérol se fait selon 2 voies : soit via la vitamine C, soit en mettant en jeu la tocophéryle réductase qui en présence de GSH redonne de l' α -tocophérol (Brigelius-Flohe et al., 1999).

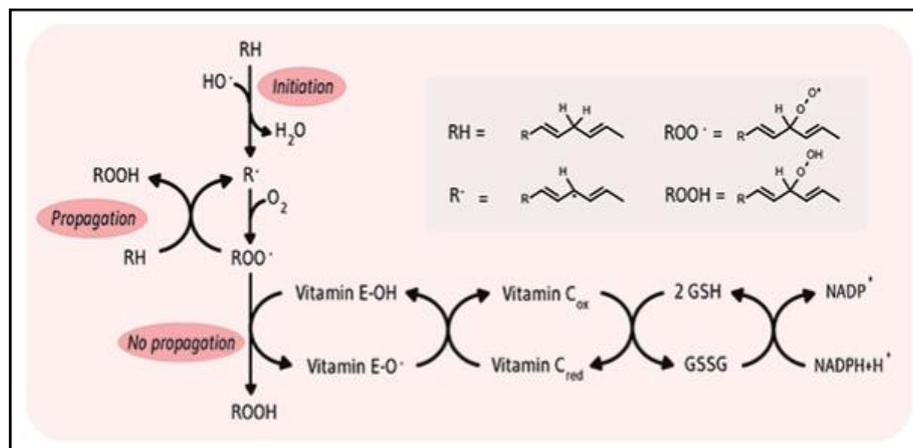


Figure 16 : Piégeage des radicaux libres par L' α -Toch.

Enfin, il est important de montré que la vitamine E peut réguler à la hausse les enzymes antioxydants (SOD, GPx et CAT du foie, GST et NADPH réductase) (Lopez et al.,2005). Il est aussi capable de réduire l'ion ferrique en ion ferreux, mais il peut également agir comme un pro-oxydant (Sharma et al., 2018).

- **La Vitamine C**

La vitamine C, ou acide ascorbique, est une molécule hydrophile que l'on retrouve dans de nombreux fruits comme les oranges, les citrons et les fraises. Son caractère hydrophile ne lui permet pas d'avoir une activité intracellulaire (Fabre et al., 2015).

Elle est connue pour son action protectrice contre l'oxydation membranaire (Retsky et al., 1999). Son caractère antioxydant provient de sa forme ionisée abondante (AscH^-) qui peut aisément réagir avec des radicaux et produire le radical ascorbate tricarbonyle (AscH^\cdot), stabilisé par résonance (fig.17). Du fait de son très faible pK, la forme non protonée radicalaire faiblement réactive est privilégiée (Asc^\cdot) (Valko et al., 2006).

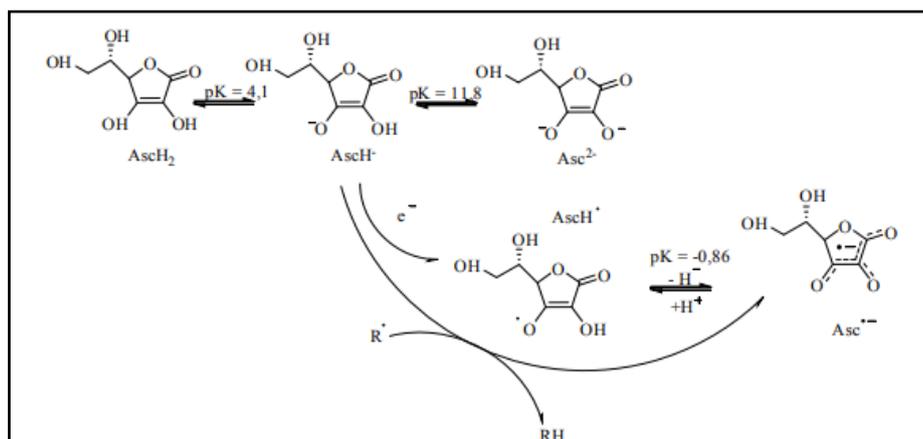


Figure 17 : Différentes structures chimiques de la vitamine C et réaction avec les radicaux (Rezaire., 2012)

- **La Vitamine A**

La vitamine A est un nom générique pour les rétinoïdes et les provitamines A ou les caroténoïdes dont plusieurs centaines sont répertoriés (Wolinsky., 1998). Les rétinoïdes (rétinol, rétinal et acide rétinoïque) sont présents dans les aliments d'origine animale (lait, foie, jaune d'œuf), alors que les provitamines A (bêta-carotène, lutéïnes, lycopènes,...) se rencontrent dans de nombreux fruits et légumes. Le bêta-carotène (fig.18) est le principal précurseur de la vitamine A (Shils et al., 2006).

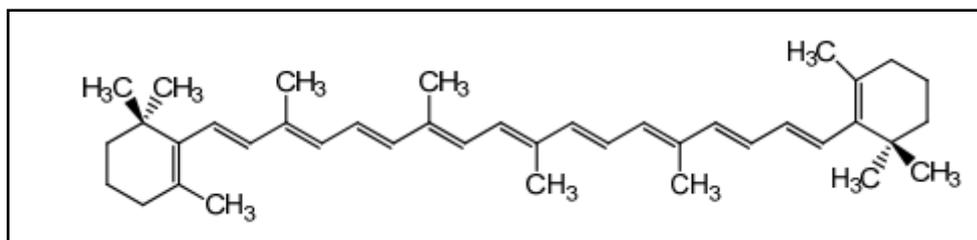


Figure 18 : Structure chimique de β carotène (Laguerre et al., 2007)

L'activité antioxydant des caroténoïdes repose essentiellement sur le piégeage de l'anion superoxyde ou de radicaux peroxydes. Cependant, le mécanisme principal n'est pas chimique, mais plutôt d'ordre physique. Il s'agit d'un phénomène de quenching physique dans la phase lipidique entre un caroténoïde et un O₂⁻ ou un ¹O₂ entraînant un transfert d'énergie à partir de ce dernier vers le caroténoïde (fig.19). Il en résulte du dioxygène triplet et un caroténoïde triplet excité, qui sera capable de dissiper cette énergie et ainsi retrouver son état initial (Sies et Stahl., 1995 ; Stahl et Sies., 2003).

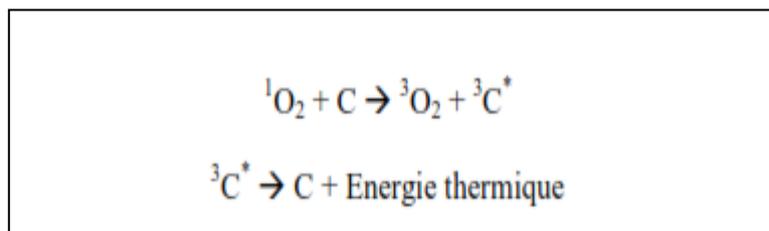


Figure 19 : Quenching physique de l'oxygène singulet par les caroténoïdes

(D'après Stahl et Sies., 1993)

(C : caroténoïde ; ${}^3\text{C}^*$: caroténoïde triplet excité)

- **Les oligo-éléments**

Les oligo-éléments se définissent comme une classe de nutriments nécessaires, en quantité très faible, à la vie d'un organisme. L'apport par l'alimentation, en quantité raisonnable, est crucial.

Les oligoéléments servent de cofacteurs aux enzymes antioxydants, ont aussi des propriétés antioxydants. Des métaux tels que le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le manganèse (Mn) et dans certains micro-organismes le nickel (Ni) et le fer (Fe), jouent un rôle important en tant que catalyseur de la SOD. De la même façon le sélénium (Se) et le fer (Fe) sont les éléments catalyseurs de la GPx et la catalase, respectivement (De moffarts et al., 2005).

Ils existent également toute une série de composés naturellement apportés par l'alimentation, comme par exemple les polyphénols et les différents thiols (Vamecq et al., 2004). Les polyphénols sont retrouvés sous forme de dérivés glucosidiques dans de nombreux fruits et légumes ; ils se répartissent en flavonoïdes, acides phénoliques, lignanes et stilbènes qui ont un pouvoir antioxydant important (Urquiaga et Leighton., 2000).

7. Les maladies liées au stress oxydant

Le stress oxydant est impliqué dans de très nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associé à des complications de l'évolution (Favier., 2003). La multiplicité des conséquences médicales de ce stress oxydant vient du fait que de nombreux organes ou tissus peuvent devenir la cible d'un stress oxydant (Bonfont-Rousselot et al., 2001 ; sohal et al., 2002 ; Delattre et al., 2005).

De nombreuses pathologies (fig.20), à savoir les maladies neurologiques, les cancers, les processus inflammatoires ou encore le vieillissement accéléré, sont associées au stress oxydant. Ce dernier est aussi un des facteurs potentialisant l'apparition de maladies plurifactorielles tels le

diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaire (**Zhang et Jope., 1999 ; Favier., 2003**).

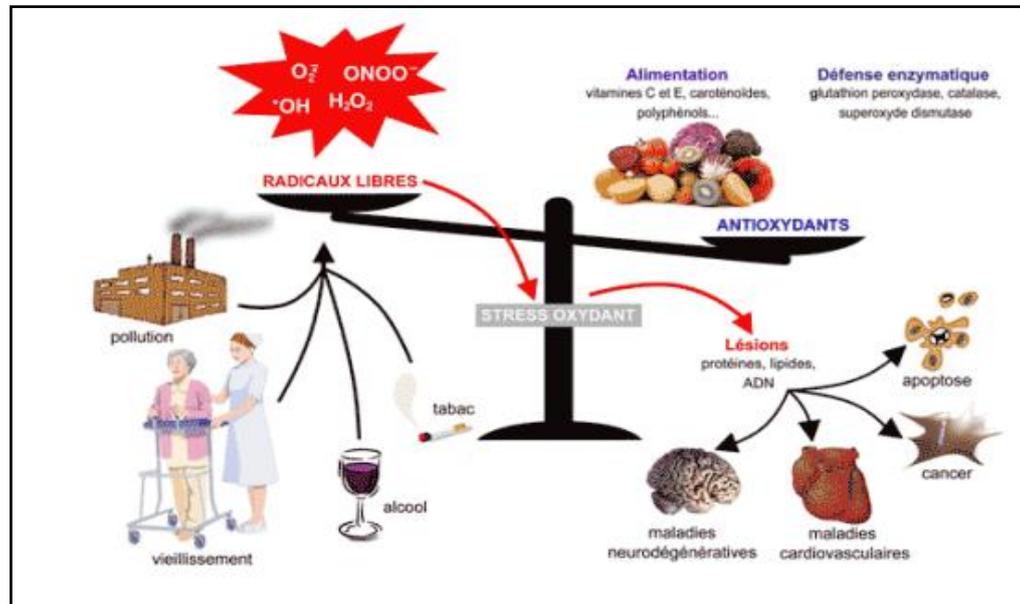


Figure 20 : Différents pathologies associées au stress oxydant (**Morandat et al., 2013**)

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. L'augmentation de l'apport nutritionnel en antioxydant visera donc essentiellement à prévenir ces maladies, de même, une consommation régulière en antioxydant pourrait avoir un effet bénéfique, mais essentiellement préventif (**Favier., 2003**).

Chapitre II
Polyphénols

II. Polyphénols en tant qu'antioxydants

Comme nous l'avons décrit, le stress oxydant peut être induit par un dysfonctionnement des défenses antioxydants et/ou une surproduction d'EROs. L'apport d'antioxydants dans notre alimentation est susceptible d'améliorer le niveau des défenses antioxydants et par conséquent de prévenir l'apparition des pathologies associées au stress oxydant. A ce titre, l'utilisation des plantes riches en polyphénols a été particulièrement étudiée.

1. Présentation générale sur les polyphénols

1.1. Diversité structurale, sources alimentaires et classification des polyphénols

Les polyphénols, dénommés aussi composés phénoliques, sont des molécules spécifiques du règne végétal et qui appartiennent à leur métabolisme secondaire (Mompon *et al.*, 1996 ; He *et al.*, 2008). On les trouve dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits. Leurs fonctions ne sont pas strictement indispensables à la vie du végétal, cependant ces substances jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement (Richter., 1993).

Le terme « phénol » englobe approximativement 10000 composés naturels identifiés (Martin et Andriantsitohaina., 2002 ; Druzyńska *et al.*, 2007). L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau phénolique à 6 carbones (fig.21), auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle (OH) libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester ou hétéroside. (Bruneton., 1999 ; Balasundram *et al.*, 2006).

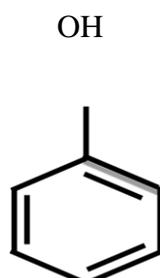


Figure 21 : Structure du noyau phénol (Sarni-Manchado et Cheynier., 2006)

Les polyphénols sont répartis de façon ubiquitaire dans les fruits et légumes qui en constituent les principales sources alimentaires, avec de fortes variations selon les espèces (Scalbert et Williamson, 2000). A ces aliments s'ajoutent d'autres végétaux, les plantes aromatiques ou les huiles ainsi que les boissons comme le thé, le café et le vin (Socynska-

Kordala et al.,2001). Les épices telles le gingembre, le curcuma, le poivre noir, la muscade et la vanille constituent également une source importante de polyphénols (**Balasundram et al., 2006**).

Il est possible de classer les polyphénols selon le nombre de cycles phénoliques qu'ils contiennent et selon les éléments structuraux qui lient différents cycles entre eux. Ainsi, on distingue quatre grands groupes de polyphénols : les flavonoïdes, les acides phénoliques, les stilbènes et les lignanes (**Manach et al., 2004^a**) (**tab.2**).

- **Les Flavonoïdes**

Les flavonoïdes constituent le plus grand groupe de composés phénoliques, avec plus de 6000 composés naturels qui sont quasiment universels chez les plantes vasculaires. Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux (**Knežević et al., 2012**). Ces composés (**fig.22**) possèdent tous un squelette de base de quinze atomes de carbone constitué de deux unités aromatiques ; deux cycles en C6 (A et B), reliés par un hétérocycle en C3 (**Pietta., 2000**).

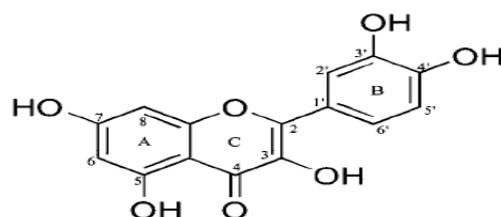


Figure 22 : Structure générale du noyau des flavonoïdes (**D'après Heim et al., 2002**)

Structuralement les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules selon le degré d'oxydation et la nature des substituants portés sur le cycle C (**Pietta., 2000**), 14 groupes différents ont été identifiés dont six groupes (**tab.2**) sont particulièrement les plus répandus et les mieux caractérisés ; flavones, isoflavones, flavanones, flavanols, flavonols, anthocyanidines (**Heim et al., 2002 ; Hendrich., 2006**). La figure 23 représente 3 exemples de flavonoïdes spécifiques.

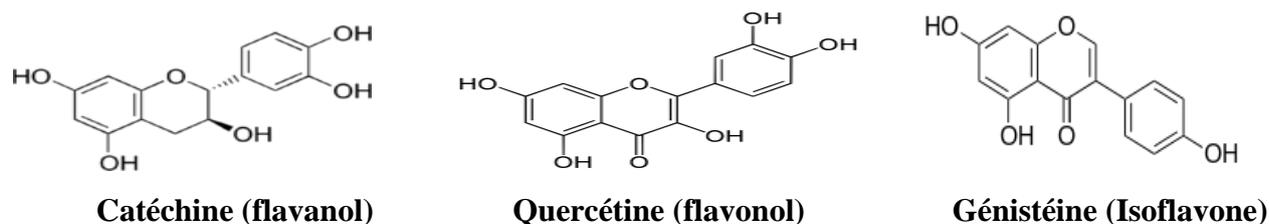


Figure 23 : Quelques flavonoïdes (**Tanwar et Modgil., 2012**)

Tableau 2 : Les grandes familles de polyphénols (Defraigne et Pincemil, 2008)

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

- *Les Acides phénoliques*

Le terme acide- phynol peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et hydroxyl phénolique (Bruneton., 1999). Les acides phénoliques (fig.24) sont divisés en deux catégories (Kochetova et al., 2007):

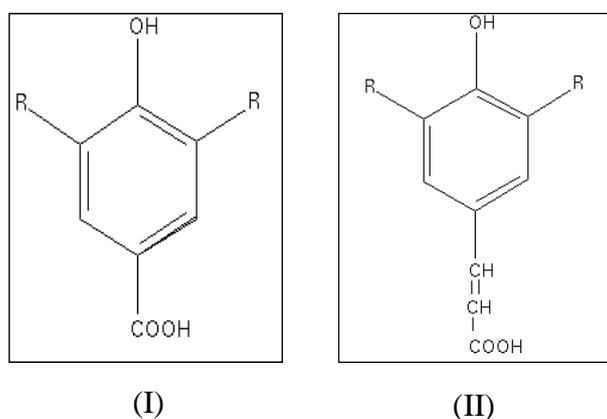


Figure 24 : Acides phénoliques, squelette benzoïque (I) et squelette cinnamique (II)

- ✓ Les dérivés de l'acide benzoïque comme l'acide gallique ou vanillique et ;
- ✓ Les dérivés de l'acide cinnamique comme l'acide caféique, coumarique, sinapique et férulique.

Les acides phénoliques participent directement aux réactions de stress environnementaux, comme les attaques par les ravageurs et contribuent au processus de guérison de la plante par la lignification des tissus endommagés (**Manach et al., 2004^a**).

- **Les Stilbènes**

Les stilbènes sont des composés phénoliques contenant au minimum deux noyaux aromatiques reliés par une double liaison, formant un système conjugué (fig.25). Ces composés sont en très petite quantité dans notre alimentation, le plus connu d'entre eux est le resvératrol (**Kundu et Surh.,2008**).

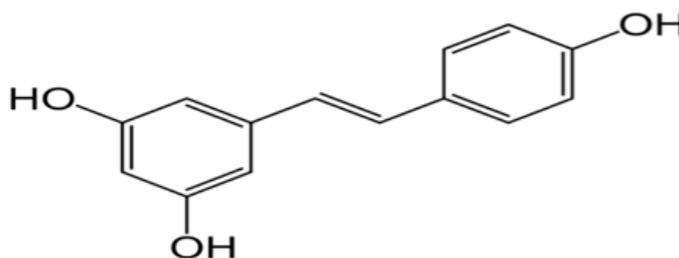


Figure 25 : Structure d'un stilbène, le resvératrol (**D'après Harmatha et al., 2011**)

Les stilbènes sont des phytoalexines, composés produits par les plantes en réponse à l'attaque par les microbes pathogènes fongiques, bactériens et viraux (**Irchhaiya et al., 2014**). Les sources principales des stilbènes sont les raisins, les vins, le soja et les arachides (**Ozcan et al., 2014**).

- **Les lignanes**

Les lignanes constituent une classe importante de métabolites secondaire dans le règne végétal. Ce sont des composés dont le squelette résulte de l'établissement d'une liaison entre les carbones β des chaînes latérales de deux unités dérivées du phénylpropane (fig.26). Bien qu'ils entrent dans la composition de certaines graines, céréales, fruits et autres légumes, ils sont environ 1000 fois plus concentrés dans les graines de lins (**El Gharras., 2009**).

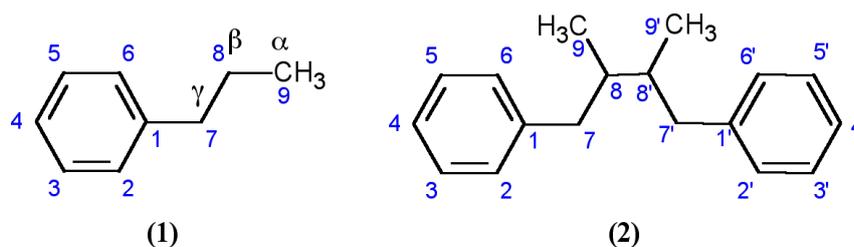


Figure 26 : Structure et numérotation des atomes de carbone du phénylpropane (1) et des lignanes (2) (liaison β - β' ou 8,8') (**Sainvitu et al., 2011**)

Les lignanes sont retrouvés dans presque toutes les parties de la plante à différentes concentrations où ils jouent un rôle déterminant dans le système de défense contre les herbivores et les pathogènes (**Gang et al., 1999**).

1.2. Propriétés biologiques des polyphénols

Les activités biologiques relatives à ce type de composés sont relativement diversifiées. Chaque classe chimique de polyphénols semble être utilisée pour ses vertus spécifiques (**Martin et Andriantsitohaina., 2002**). Les composés phénoliques sont principalement reconnus pour leur activité antimicrobienne (**Karakaya.,2004**). Certains d'entre eux, tel que les flavonoïdes, possèdent des propriétés anti-inflammatoires (**Middleton et al., 2000**). D'autres, tel que les lignanes, possèdent des propriétés cytostatiques (**Habtemariam., 2003**). Certains possèdent également des propriétés antiallergiques, hépato protecteurs, hypocholestérolémiant, diurétiques, antibactériens, antiviraux et parfois antispasmodiques (**Bruneton., 1993**). Toutefois, l'activité antioxydant, au sens large, est considérée comme responsable des propriétés « préventives » des polyphénols (**Gordon., 1996 ; Rohdewald., 2002**).

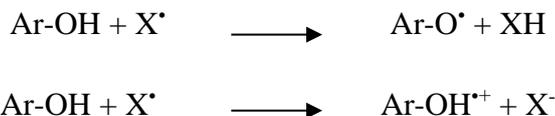
1.2.1. Activité antioxydant des polyphénols

Les propriétés antioxydants sont attribuées en partie, à la capacité de ces composés naturels à piéger directement les radicaux libres, d'inhiber les ions métalliques et les enzymes impliqués dans la production des EOR et de protéger les systèmes de défense antioxydants (**Halliwell., 1994**).

1.2.1.1. Piégeage direct de radicaux libres

La réduction de divers radicaux par les polyphénols a été beaucoup étudiée afin de déterminer les éléments majeurs de l'activité antioxydant. A cause de leur faible potentiel redox, les polyphénols (Ar-OH) sont capables de réduire rapidement les radicaux libres oxydants

comme le superoxyde, les peroxydes (ROO[•]), les alkoxydes (RO[•]) et l'hydroxyle par transfert d'hydrogène ou d'électron :



Où

X[•] : Représente l'une des ERO mentionnées ci-dessus ;

Le radical aryloxyde (Ar-O[•]) peut réagir avec un autre radical pour former une structure o-quinone plus stable (**Jovanovic et al., 1994**).

Dans le mécanisme de transfert d'électron, l'antioxydant phénolique (ArOH) réagit avec le radical libre (X[•]) et devient un cation radical stable ArOH^{•+} (**Dugas et al., 2000 ; Pietta., 2000**).

La capacité antiradicalaire des polyphénols dépend généralement de leurs structures à laquelle s'ajoutent les groupements hydroxyles ce qui induit la présence d'atomes d'hydrogène labiles (**Tsao, 2010**). Les positions et degrés d'hydroxylation jouent une part importante, dans l'activité antioxydant des polyphénols. Les polyphénols porteurs d'un groupement catéchol (un noyau aromatique porteur de deux fonctions hydroxyles adjacentes) ont un potentiel antioxydant élevé (**Dziedzic et Hudson., 1983**).

1.2.1.2. Chélation des ions métalliques

Les polyphénols contribuent à l'inhibition de la formation des radicaux libres par la chélation de métaux de transition tels que le fer (Fe²⁺) et le cuivre (Cu⁺), qui sont essentiels pour de nombreuses fonctions physiologiques. Ils entrent notamment dans la composition des hémoprotéines et sont de cofacteurs d'enzymes du système de défense antioxydant (Fe²⁺ pour la catalase et Cu⁺ pour la superoxyde dismutase). Cependant, ils peuvent aussi être responsables de la production des radicaux hydroxyles très réactifs (**Pietta., 2000 ; Heim et al., 2002**). Les polyphénols abondants dans l'alimentation, notamment les flavonoïdes, séquestrent ces ions métalliques au niveau de différents sites (fig.27).

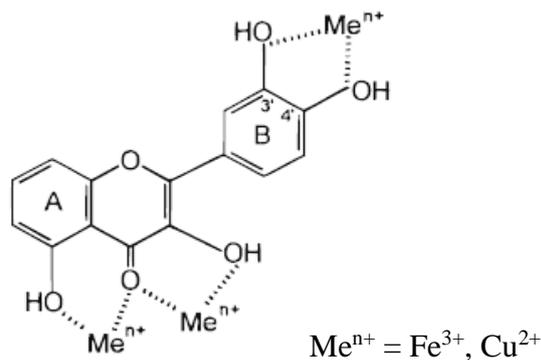


Figure 27 : Flavonoïdes et leurs sites proposés pour la chélation des ions métalliques (**D'après Pietta., 2000**)

1.2.1.3. Inhibition enzymatique

Les polyphénols possèdent une affinité pour une grande variété de protéines (**Havsteen., 2002 ; Dangles et Dufour., 2008**), via des interactions de van der Waals (cycles aromatiques) et des liaisons hydrogènes (groupements OH phénoliques). Par exemple, les aglycones des flavonoïdes, essentiellement les flavones et les flavonols (noyaux tricycliques plans et polarisables), ont une capacité de se lier avec beaucoup de protéines globulaires, notamment des enzymes, des récepteurs et transporteurs (**Dangles., 2012**).

L'inhibition des enzymes génératrices des radicaux libres dans les systèmes biologiques est un mécanisme important d'effet antioxydant pour les polyphénols. Plusieurs travaux ont rapporté que les flavonoïdes sont les molécules les plus susceptibles d'être impliquées dans cet effet (**Lin et al., 2002**), par formation de complexe inhibiteur-enzyme et/ou par piégeage direct des ERO (**Dangles et Dufour., 2008**).

2. Etude de polyphénol modèle du curcuma (*curcuma longa*)

2.1. Historique

Le curcuma est une épice qui fait l'objet d'échanges commerciaux depuis tellement longtemps qu'on ne peut déterminer avec certitude son origine. On pense cependant qu'il vient du Sud ou du Sud-Est de l'Asie, peut-être plus spécifiquement de l'Inde, d'où il se serait répandu dans toute l'Asie, de même qu'au Proche et au Moyen-Orient, il y a des milliers d'années (**Penso., 1986**). Son emploi, en Asie, en Afrique et au Proche et Moyen-Orient, remonte à plus de 4000 ans. Dès cette époque, le curcuma est utilisé en tant qu'épice, mais aussi comme agent de coloration de plusieurs aliments, tels que le cari et la moutarde, de même que dans la production de cosmétiques, de teintures et de médicaments (**Perry., 2008**).

En Europe, les moines font mention de la plante, introduite par les navigateurs, dans leurs écrits dès le 6^{ème} siècle. Elle est connue en Chine depuis le 7^{ème} siècle, en Afrique de l'Est depuis le 8^{ème} siècle, en Afrique de l'Ouest depuis le 13^{ème} siècle. C'est une plante ramenée en Europe en 1298 par Marco Polo qui le découvre en Chine et par les arabes au 13^{ème} siècle (Delaveau., 1987).

2.2. Étymologie

Le terme de curcuma est d'origine irano-indienne. Il dérive du sanscrit kartouma qui a donné kurkumen persan ancien, kourkoumen arabe et curcuma en latin. C'est sous cette dernière forme qu'il est passé dans les langues européennes, le « c » se transformant parfois en « k » dans les langues germaniques, à l'exception de l'anglais qui le désigne sous le nom de turmeric. C'est d'ailleurs la langue anglaise qui a conservé l'origine de son appellation en latin médiéval, terra merita (terre mérite) par le mot "turmeric". Notons que sa couleur jaune intense le fait parfois nommer, bien à tort, safran coolietsafran des Indes (Delaveau., 1987).

Tableau 3 : Différentes appellations de curcuma (Delaveau., 1987)

Langue	Appellations
Arabe	Kourkom, كركم
Latin	Curcuma
Anglais	Turmeric
Chine	Jianghuang

2.3. Classification botanique du curcuma

Selon Quezel et Santa (1963), l'espèce *Curcuma longa* appartient à :

Règne : Plantae

Sous embranchement : Magnoliophyta

Classe : Liliopsida

Ordre : Zingiberales

Famille : Zingiberaceae

Genre : *Curcuma*

Espèces : *Curcuma longa* L

Le genre *Curcuma* regroupe de nombreuses espèces (fig.28) ornementales, tandis que d'autres se sont démarquées par l'utilisation de leur rhizome, aux propriétés culinaires et médicinales. Parmi ces espèces, *Curcuma longa* Linné est de loin le plus utilisé et par conséquent le plus étudié, mais on retrouve également *Curcuma xanthorrhiza* Roxburgh dit temoelawak et la zédoaire, décrite sous le nom de *Curcuma zedoaria* Roscoe ou *Curcuma zerumbet* Roxburgh (Delaveau., 1987).

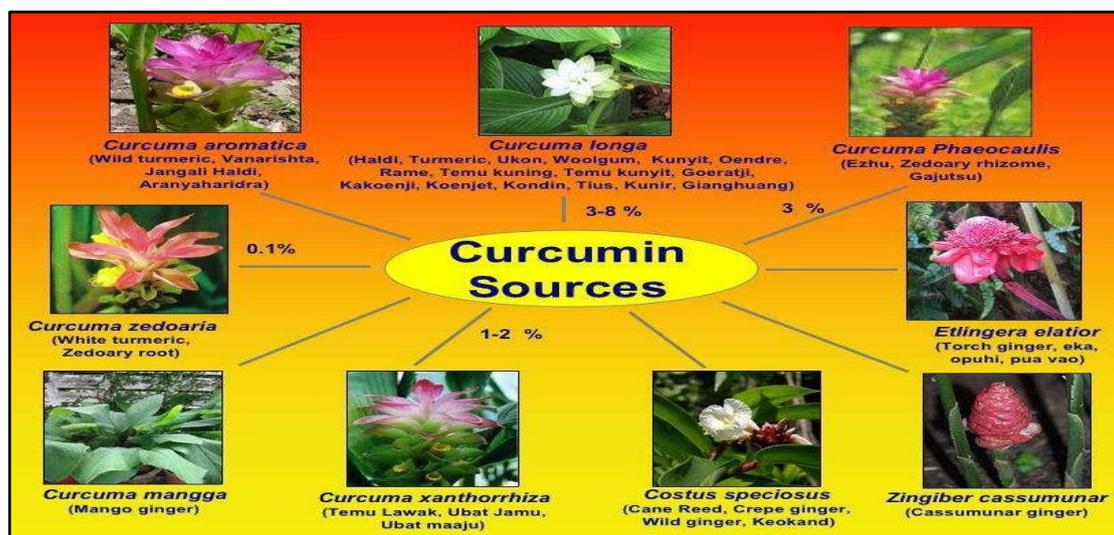


Figure 28 : Les sources de curcumine (Shishodia., 2005)

2.4. Description de la plante

Curcuma longa (fig.29) est une plante vivace atteignant un mètre, pérenne par son rhizome. Les rhizomes représentent la partie consommée comme épice. Une odeur aromatique se dégage après section du rhizome (Inglese., 1994). Ses feuilles, très longues, oblongues à elliptiques, engainantes, possèdent une puissante nervure axiale et des nervures secondaires parallèles. À l'aisselle des quelles, naissent les fleurs de couleur blanche ou jaunâtre (Karleskind., 1992).



Figure 29 : Aspect général de *curcuma longa* (**Rivera-Espinoza et al., 2009**)

Les fleurs possèdent :

- ✓ Un calice tubulaire, court, présentant 3 dents inégales.
- ✓ Une corolle tubulaire à sa base, puis divisée en 3 lobes jaunes inégaux.
- ✓ Des étamines dont une seule fertile, bifide, l'anthere présentant un large éperon courbé à la base.
- ✓ Un ovaire infère, triloculaire, surmonté d'un style terminé par un stigmate simple et en Crochet (**Inglese., 1994**).

Le fruit, rarement produit, est une capsule à trois loges, contenant de nombreuses graines arillées.

2.5. Phytochimie

Les plantes produisent un grand nombre de métabolites secondaires, ainsi l'action de la phytothérapie sur l'organisme dépendra de la composition chimique de ces plantes et de leur teneur en ces métabolites (**Daayf et Lattanzio., 2000**). *Curcuma longa* est une source riche en métabolites secondaires importants tels que des polyphénols, les huiles essentielles et bien d'autres substances. Le screening phytochimique de la poudre issue du rhizome séché de *Curcuma longa* a révélé la présence de deux fractions volatile et non volatile (**Bruneton., 2009**) :

2.5.1. Fraction volatile

Ce sont des substances organiques aromatiques liquides qu'on trouve naturellement dans diverses parties des plantes. Elles sont très concentrées, volatiles, généralement huileuses et sensibles à la décomposition sous l'effet de la chaleur (**Garnero., 1996**).

Elle est composée d'huiles essentielles volatiles, de couleur jaune, représente de 6 à 7 % de l'ensemble dont les principaux composés chimiques sont essentiellement des monoterpènes et des sesquiterpènes. Les concentrations varient en fonction des régions d'origine des plantes et du moment de la récolte par rapport au cycle végétal (**Vaquier., 2010**).

2.5.2. Fraction non volatile

2.5.2.1. Polyphénols

Parmi les polyphénols identifiés : Curcuminoïdes. Ce sont ces composés uniques qui donnent au curcuma sa couleur, et qui détiennent, d'après de nombreuses études, des propriétés santé et beauté indéniables. La curcumine est un pigment naturel utilisé par l'industrie agroalimentaire (c'est le colorant alimentaire jaune E100) (**Pinson., 2012**). Les Curcuminoïdes constituent la fraction active de l'extrait de curcuma. Ils sont insolubles dans l'eau et doivent être extraits à l'aide de solvants. La teneur en Curcuminoïdes varie selon le cultivar, elle peut atteindre 8%. Ils appartiennent à la famille des diarylheptanoïdes. Le composé majoritaire (50 à 60%) est la curcumine de formule chimique $C_{21}H_{20}O_6$ et de structure 1,7-bis (4-hydroxy-3 méthoxyphényl)1,6-heptadiène-3,5-dione (Curcumine 1), la monodéméthoxycurcumine (Curcumine2) et la bisdéméthoxycurcumine (Curcumine3), sont ses principaux dérivés (**Portes., 2008 ; Bruneton., 2009**).

2.5.2.2. Autres composants

Le rhizome de curcuma est riche en amidon (45 à 55%) et autres glucides (presque 70% en tout). Il contient aussi des protéines, 6.3% dont la turmerine, peptide hydrosoluble, des lipides à hauteur de 5% environ et 3.5% de minéraux (**Vaquier., 2010**).

3. Domaines d'utilisation

3.1. Utilisation alimentaire

Le rhizome est la partie utilisée de la plante. Le rhizome réduit en poudre est utilisé en tant qu'épice alimentaire pour renforcer la saveur des aliments et les conserver, et on utilise les épices comme aromates, essentiellement végétales, pour l'assaisonnement, la coloration et la

conservation des aliments ou des boissons, certaines épices sont aussi utilisées comme suppléments diététiques (Wichtl et Anton., 2003).

3.2. Utilisation médicinale

Le Curcuma longa L'a fait l'objet de préparations thérapeutiques en vertu de ces propriétés antioxydants, antimicrobiennes et anti-inflammatoires rapportées à travers les siècles dans différentes parties du monde. La curcumine est un traitement efficace pour diverses affections respiratoires, par exemple l'asthme, l'allergie, ainsi que les désordres hépatiques, l'anorexie, les rhumatismes, les rhumes, les sinusites (Araujo et Leon., 2001). En médecine chinoise, le curcuma est utilisé pour traiter les maladies associées aux douleurs abdominales, pour ses propriétés carminatives et anti infectieuses. Dans l'ancienne médecine hindoue, il était utilisé pour traiter les entorses et les enflures et à travers l'Orient comme anti-inflammatoire (Grubben., 2005).

✓ Effet antioxydant

Les curcuminoïdes sont des antioxydants, piègeurs de radicaux libres, inhibiteurs de la peroxydation lipidique et jouant un rôle important dans l'inflammation, les maladies cardiovasculaires et le cancer (Grubben., 2005). La principale action de la curcumine est sa capacité à inhiber la formation d'espèces oxygénées actives comme les radicaux hydroxyles et l'anion superoxyde (Portes., 2008).

✓ Effet anti-inflammatoire

La curcumine, caractérisée chimiquement pour la première fois en 1910 est identifiée comme responsable de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait de Curcuma, mais le mélange des trois curcuminoïdes révèle une meilleure activité, ce qui a été confirmé par Ramsewak et al., (2000). Les curcuminoïdes agissent en inhibant l'enzyme cyclogénase de type II, enzyme responsable de la synthèse des prostaglandines inflammatoires dans l'organisme (Mesa et al.,2000).

✓ Effet antibactérien, antifongique et antiviral

Le Curcuma inhibe la croissance de nombreuses bactéries (Gram positif et négatif) et plusieurs champignons pathogènes. Lors d'infections, il inhibe également la production de certaines toxines bactériennes qui peuvent causer de sérieux tords à l'organisme (Mesa et al., 2000). Le curcuma, en effet, exerce une activité antiprotéase inhibant l'action du HIV ainsi qu'une activité anticancéreuse (Portes., 2008).

3.3. Utilisation cosmétique

Le Curcuma a été utilisé comme un produit de beauté depuis des siècles. Il est un moyen peu coûteux et naturel de traiter plusieurs problèmes de peau, et de cheveux, il est aussi bien utilisé dans les recettes de grands-mères que dans le commerce sous forme de crèmes, masques, savons, huiles et shampooings (**Gupta et al., 2013**).

Chapitre III
Méthodes de dosage

I. Méthodes de dosage des biomarqueurs du stress oxydatif

1. Le choix des biomarqueurs du stress oxydatif

Les scientifiques se sont intéressés, dès le début, des recherches sur le stress oxydatif, à la découverte d'un marqueur biologique qui identifierait à coup sûr la présence d'un stress oxydatif dans diverses situations expérimentales ou cliniques.

Toutes les méthodes proposées, qu'elles que soient, présentent toujours leurs propres spécificités et limites, montrant qu'il serait utopique de croire en l'existence d'un marqueur idéal et unique de stress oxydatif (**Favier, 1997 ; Pincemail et al., 1999**). Donc, les critères d'un bon biomarqueur peuvent être définis comme suit (**Carine Badouard, 2006**) :

- ✓ Un produit majeur de modification oxydative qui peut être directement impliqué dans le développement de la maladie ;
- ✓ Un produit stable non susceptible d'induction artéfactuelle ou de perte durant la conservation des échantillons ;
- ✓ Représentatif de la balance entre la génération des dommages oxydatifs et leur élimination ;
- ✓ Déterminé par une analyse spécifique, sensible, reproductible et robuste ;
- ✓ Libre des facteurs confondants venant d'une prise alimentaire ;
- ✓ Accessible dans un tissu cible comme les lymphocytes et cellules mononuclées ;
- ✓ Mesurable dans les limites de détection d'une procédure analytique fiable.

Ainsi,

- ✓ Les dosages des biomarqueurs en fonction du matériel dont nous disposons au sein de notre établissement et les réactifs disponibles.

Selon ces critères, nous allons nous intéresser dans ce chapitre aux méthodes employées pour déterminer les principaux paramètres du stress oxydatif :

2. Méthodes de dosage des principaux biomarqueurs du stress oxydatif

2.1. Dosage du glutathion réduit (GSH)

La méthode de Wekbeker et Cory (1988) a été appliquée pour le dosage du glutathion dans les tissus. Le principe de ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance optique de l'acide 2-nitro-5-mercaptopurique. Ce dernier résulte de la réduction de l'acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par les groupements (-SH) du glutathion. Pour cela, une déprotéinisation de l'homogénat est indispensable afin de garder uniquement les groupements thiol spécifiques du glutathion.

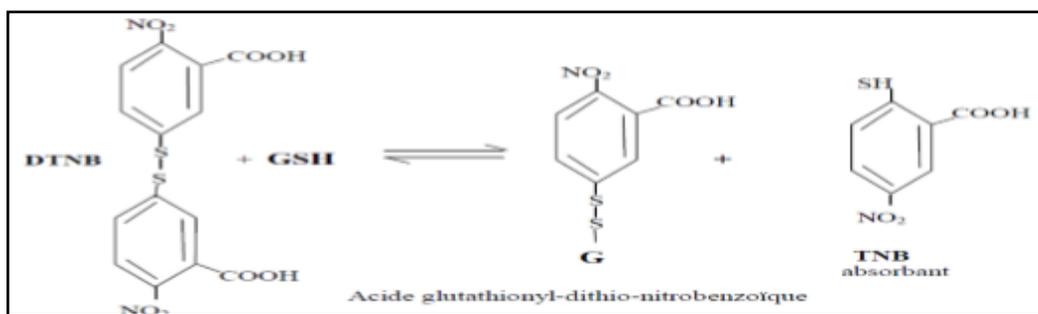


Figure 30 : Principe de dosage du glutathion.

Pour l'homogénat, une préparation obtenue après broyage et homogénéisation des tissus dans le TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7.4), la suspension est centrifugée à 9000 tours par minute pendant 15 minutes à 4°C. Le surnageant est alors récupéré pour le dosage.

La procédure expérimentale du dosage du glutathion est la suivante :

- ✓ Prélever 0.8 ml de l'homogénat.
- ✓ Ajouter 0.2 ml de la solution d'acide sulfosalicylique (0.25%).

Après agitation durant 15 mn dans un bain de glace :

- ✓ Centrifuger à 1000 tours/min pendant 5 min.
- ✓ Prélever 0.5 ml du surnageant. Ajouter 1 ml du tampon Tris, pH 9.6. Mélanger et ajouter 0.025 ml de l'acide 5,5 dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) à 0.01 M.

Après 5 min d'incubation, la lecture de l'absorbance s'effectue à $\lambda = 412$. La concentration en glutathion (GSH) est évaluée selon la formule :

$$\text{GSH (nmol GSH/ mg protéine)} = \frac{\text{DO} \times 1 \times 1,525}{13100 \times 0.8 \times 0.5 \times \text{mg protéine}}$$

- DO : Densité optique ;
- 1 : Volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation ;
- 1.525 : Volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH au niveau du surnageant ;
- 13100 : Coefficient d'absorbance du groupement –SH à 412 nm ;
- 0.8 : Volume de l'homogénat ;
- 0.5 : Volume du surnageant.

La concentration de la forme réduite du glutathion (GSH) est mesurée par apport à 1mg de protéines. Ce dosage doit donc être accompagné par le dosage des protéines.

2.1.1. Dosage des protéines

Le dosage des protéines a été effectué selon la méthode de Bradford (1976), qui utilise le Bleu Brillant de Coomassie et l'albumine de bœuf comme standard.

Le bleu de Coomassie réagit avec les groupements amines (-NH₂) des protéines pour former un complexe de couleur bleu. L'apparition de cette couleur reflète le degré d'ionisation du milieu acide et l'intensité correspond à la concentration des protéines dans l'échantillon.

Pour cela, nous avons procédé aux étapes suivantes :

- ✓ Prélever 0.1 ml de l'homogénat ;
- ✓ Ajouter 5 ml du bleu de Coomassie ;
- ✓ Agiter et laisser reposer 5 minutes ;
- ✓ Lire à 595 nm les densités optiques contre le blanc.

La densité optique obtenue est rapportée sur une courbe d'étalonnage préalablement tracée. La concentration des protéines est déterminée par comparaison à une gamme étalon d'albumine sérique bovine (BSA à 1 mg/ml), réalisée dans les mêmes conditions (fig.24) :

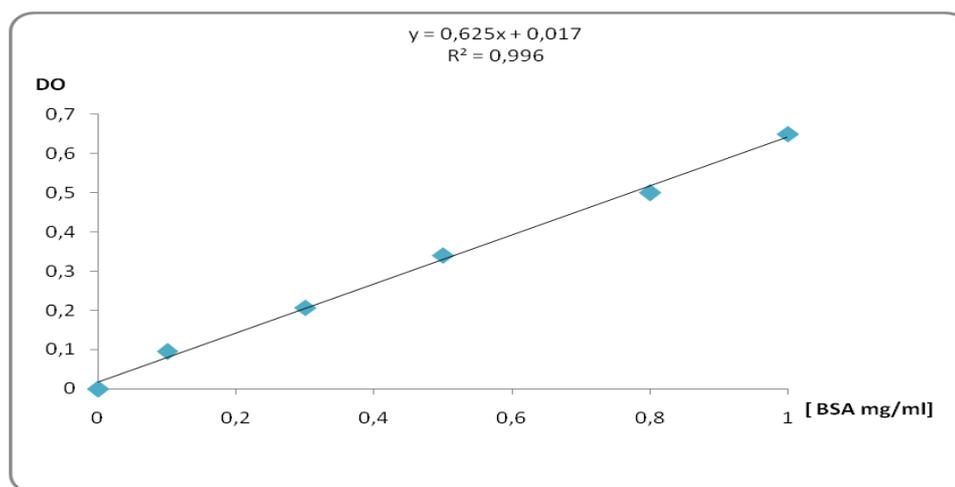


Figure 31 : la gamme d'étalonnage utilisée (BSA 1 mg/ml) pour le dosage des protéines

2.2. Dosage de malondialdéhyde (MDA)

Le MDA est l'un des produits terminaux formés lors de la décomposition des acides gras polyinsaturés (PUFA) médiés par les radicaux libres.

La peroxydation des lipides est estimée par mesure du malondialdéhyde (MDA) produit, capable de réagir avec l'acide thiobarbiturique (TBA). La réaction de dosage du malondialdéhyde, décrite par Esterbauer et al en 1992, repose sur la formation en milieu acide et à chaud entre le malondialdéhyde et deux molécules d'acide thiobarbiturique, d'un pigment absorbant malondialdéhyde.

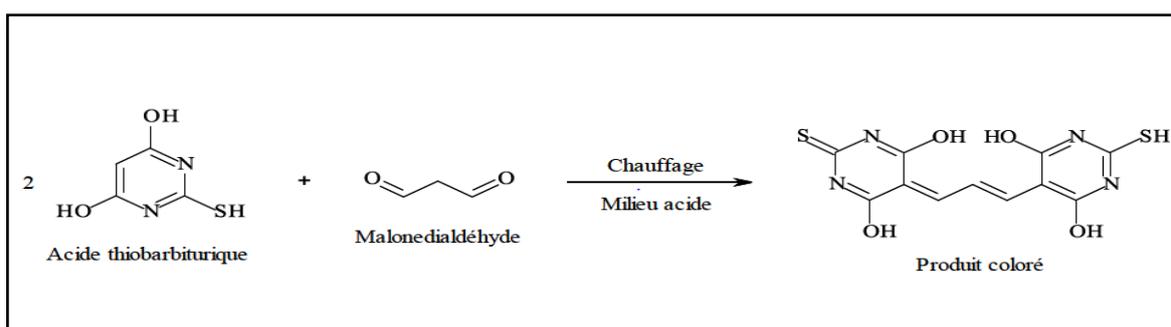


Figure 32 : Principe de dosage du malondialdéhyde

La procédure s'est déroulée de la façon suivante :

- ✓ Prélever 375 µl de l'homogénat (surnageant) ;

- ✓ Ajouter 150 µl de la solution tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM pH 7.4) ;
- ✓ Ajouter 375 µl de la solution TCA-BHT (TCA 20%, BHT 1%) ;
- ✓ Vortexer et Centrifuger à 1000 tours/min pendant 10 min ;
- ✓ Prélever 400 µl du surnageant. Ajouter 80 µl du HCl 0.6 M ;
- ✓ Ajouter 320 µl de la solution Tris-TBA (Tris 26 mM, TBA 120 mM) ;
- ✓ Mélanger et incuber au bain marie à une température de 80 °C pendant 10 minutes.

La lecture se fait par spectrophotométrie, l'absorbance est directement proportionnelle à la quantité de MDA formé, donnant ainsi une évaluation précise des lipides peroxydés.

La concentration du MDA est calculée selon la loi de Beer-Lambert (DO = E.C.L) :

$$C \text{ (nmol/mg protéine)} = \frac{DO \cdot 10^6}{\epsilon \cdot \chi \cdot L \cdot Fd}$$

- ✓ C : Concentration en nmoles/mg de protéines ;
- ✓ DO : Densité optique lue à 530 nm ;
- ✓ E : Coefficient d'extinction molaire du MDA = $1.56 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$;
- ✓ L : Longueur du trajet optique = 0.779 cm ;
- ✓ X : Concentration de l'extrait en protéines (mg/ml) ;
- ✓ Fd : Facteur de dilution : Fd = 0.2083.

2.3. Dosage de l'activité de la GPx

Le dosage de l'activité de la GPx tissulaire a été réalisé selon la méthode décrite par Flohe et Gunzler (1984), fondée sur l'oxydation du glutathion réduit (GSH) en glutathion oxydé (GSSG) par la GPx parallèlement à la réduction de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en eau :



Ce dosage a été fait selon les étapes suivantes :

- ✓ Prélever 0.2 ml de l'homogénat (surnageant);
- ✓ Ajouter 0.4 ml de GSH (0.1 mM);
- ✓ Ajouter 0.2 ml de la solution tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM pH 7.4);
- ✓ Incuber au bain Marie à 25 °C, pendant 5 min;
- ✓ Ajouter 0.2 ml de H₂O₂ (1.3 mM) pour initier la réaction, laisser agir pendant 10 minutes;
- ✓ Ajouter 1 ml de TCA (1%) pour arrêter la réaction.

Après incubation pendant 30 minutes dans la glace:

- ✓ Centrifuger durant 10 minutes à 3000 tours /minutes;
- ✓ Prélever 0.48 ml du surnageant. Ajouter 2.2 ml de la solution tampon TBS;
- ✓ Ajouter 0.32 ml de DTNB (1.0 mM), puis mélanger l'ensemble.

Après 5 minutes, l'activité de la GPx a ensuite été déterminée par spectrophotométrie à 412 nm selon la formule :

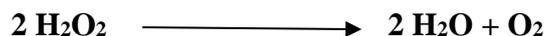
$$\text{GPx (nmol GSH/mg)} = \frac{\text{DO échantillon} \times \text{DO étalon} \times 0.04}{\text{DO étalon}}$$

- ✓ DO échantillon : Densité optique de l'échantillon ;
- ✓ DO étalon : Densité optique de l'étalon ;
- ✓ 0.04 : Concentration de substrat (GSH).

2.4. Dosage de la catalase (CAT)

Les catalases sont présentes dans un grand nombre de tissus. Ce sont des enzymes tétramériques, chaque unité portant une molécule d'hème et une molécule de NADPH. Ces enzymes interviennent dans la défense de la cellule contre le stress oxydant en éliminant les espèces réactives et en accélérant la réaction spontanée de l'hydrolyse du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) toxique pour la cellule en eau et en oxygène (Aebi, 1984).

La réaction se fait en deux étapes. La réaction bilan est :



L'activité de la CAT est mesurée à 240 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV/visible par la variation de la densité optique consécutive à la dismutation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2).

2.4.1. Mode opératoire

Réactifs	Blanc (ul)	Essai (ul)
Tampon phosphate (PBS) (0.1 M, pH 7.4)	800	780
H_2O_2 (0.5 M)	200	200
Homogénat	-	20

On note que :

- ✓ Le zéro de l'appareil est réalisé par le tampon phosphate ;
- ✓ La quantité du surnageant (S9) doit être déterminée en fonction de la quantité de protéines qui doit être comprise entre 1 et 1,5 mg/mL, soit une quantité de 10 à 20 μL de S9 dilué ;
- ✓ L'activité décroît rapidement, il est important de mettre toujours le même temps de pipetage et le moment où on place la cuve au spectrophotomètre ;
- ✓ La lecture de l'absorption se fait après 15 secondes de délai et durant 60 secondes de mesure.

2.4.2. Calcul de l'activité de CAT :

$$\text{L'activité de la CAT (uM H}_2\text{O}_2/\text{min/mg protéines (50 mg/dl))} = \frac{\Delta\text{DO} \times 10}{\varepsilon \times L \times X \times Fd}$$

- ΔDO : Variation de la densité optique par minutes ;
- ϵ : Coefficient d'extinction du H_2O_2 ($0,04 \text{ mM} \cdot 1 \cdot \text{cm}^{-1}$) ;
- L : Largeur de la cuve ou longueur du trajet optique (1 cm) ;
- X : Quantité des protéines en mg/ml ;
- Fd : Facteur de dilution du H_2O_2 dans le tampon (0,02).

Chapitre IV
Discussion d'études

II. Discussion

Dans les dernières décennies il y a eu un intérêt croissant pour l'étude des plantes médicinales et leur utilisation dans la prévention des dommages cellulaires et tissulaires liés au stress oxydant. En fait, les antioxydants existent dans les plantes médicinales et alimentaires tels que les composés phénoliques, appartenant à la classe des composés dits de métabolisme secondaire, manifestent un spectre de propriétés pharmacologiques telles que : antibactériennes, anti-inflammatoires, vasodilatoires, anticancerigènes, parmi tant d'autres. Ils exercent ces propriétés en tant qu'antioxydants. Parmi ces plantes ; le Curcuma (*Curcuma longa*) se trouve être l'objet de la plupart des études, grâce à ses composés actifs (curcuminoïdes, polyphénols).

Dans cette partie de notre travail, nous présenterons à travers des exemples des études, les résultats portant sur le lien entre la consommation du curcuma et le risque engendré par certains agents pro-oxydants. Plusieurs études ont utilisé des modèles animaux afin de déterminer les effets toxiques des agents environnementaux pro-oxydants comme les pesticides et les métaux lourds et d'étudier le pouvoir antioxydant du curcuma (**Ibrahim Ali et Abdelbasset Ibrahim., 2018 ; Otuechere et al., 2014 ; Abdel Rheim et al., 2015 ; Anu, 2018 ; Ibrahim Waly et al., 2018**).

L'étude de (**Ibrahim Ali et Abdelbasset Ibrahim., 2018**), a pour objet d'évaluer la toxicité testiculaire du malathion, un insecticide de la famille des organophosphorés chez les souris mâles Swiss albinos. Au travers de cette étude, les auteurs ont montré que l'exposition à une dose de 27 mg/kg p.c du malathion, administrées par gavage, a provoqué une augmentation de la peroxydation lipidique (augmentation du taux de MDA), indiquant que les effets délétères du malathion chez les souris sont associés à un stress oxydant au niveau des testicules. Ce résultat a permis aux auteurs de suggérer que le malathion agit au niveau des testicules via des phénomènes oxydatifs liés à la production d'espèces réactives de l'oxygène, conduisant à la libération de différents aldéhydes toxiques comme le malondialdéhyde (MDA), qui représente un bio marqueur de la peroxydation lipidique.

Ainsi, le pouvoir pro-oxydant du malathion, a été également confirmé par des modifications dans l'activité des enzymes antioxydants (SOD et CAT), qui sont souvent considérées comme les marqueurs les plus significatifs du stress oxydant cellulaire, chez les rats contaminés par le malathion.

Toutefois, ces mêmes auteurs ont montré le pouvoir protecteur du curcuma contre la toxicité testiculaire induite par le malathion. Grâce à ses propriétés antioxydants, le traitement de

souris par le curcuma a empêché l'augmentation des niveaux de MDA et a amélioré significativement le taux de SOD et CAT dans les testicules.

L'étude de **(Otuechere et al., 2014)** confirme également l'effet pro-oxydant des pesticides dans le foie des rats traités par le propanil (herbicide utilisé dans certaines cultures de graminées pour écarter et éradiquer les mauvaises herbes). Une augmentation de la peroxydation lipidique (augmentation du taux de MDA) et une diminution de l'activité de la catalase (CAT), ont été constatée dans le tissu hépatique des rats contaminés par le propanil.

Le propanil a ainsi provoqué une déplétion de la teneur tissulaire en glutathion (GSH) réduit, qui est considérée comme un mécanisme préventif à l'action du propanil. Cet effet de GSH résulte des processus de conjugaison ou de protection antioxydant, peut permettre d'abaisser la génération d'espèces réactives de l'oxygène induite par le propanil.

Afin de prévenir l'effet toxique du propanil, Otuechere et al ont abouti à une amélioration significative du taux de MDA, du GSH et d'enzyme antioxydant (CAT) chez les rats traités par le propanil, grâce à un traitement des rats avec le curcuma.

Une autre étude utilisant également le rat comme modèle expérimental, confirme également l'effet pro-oxydant des pesticides. Les paramètres du stress oxydant pris en considération sont : l'MDA, l'activité enzymatique de superoxyde dismutase (SOD) et le glutathion (GSH). En effet, l'étude d'Abdel Rheim et ses collaborateurs en 2015, a montré que le traitement des rats par l'esfenvalérate (un insecticide pyréthroïde qui est utilisé sur un large éventail de parasites tels que les mites, les mouches), a entraîné dans le foie des rats une augmentation du taux de MDA et une réduction des défenses antioxydants (SOD et GSH), après 28 jours de traitement.

Abdel Rheim et ses collaborateurs en 2015, ont aussi montré l'effet protecteur que le curcuma peut exercer vis-à-vis des dommages hépatiques causés par l'esfenvalérate.

D'autres travaux, ont été aussi réalisés pour évaluer l'effet pro-oxydant des métaux lourds. **(Anu, 2018)** a par exemple montré que après une exposition au cadmium (Cd) par voie orale, ce métal est capable d'induire des effets délétères chez un modèle animal, le rat Swiss albino. Le cadmium induit, en effet, un stress oxydatif dans le pancréas, se traduisant par une diminution de l'activité de la CAT, la SOD, GPx et une augmentation du taux de MDA.

D'après les résultats de cette étude, il apparaît que le traitement des rats par le cadmium entraîne des modifications importantes dans le pancréas. Par ailleurs, le curcuma de part ses

propriétés antioxydants aurait contribué à une amélioration significative du taux de MDA et d'enzymes antioxydants (CAT, SOD et GPx) dans le pancréas des rats traités par le cadmium.

D'autres substances chimiques peuvent être également responsables d'un stress oxydatif plus ou moins important. En fait, une récente étude publiée dans le journal (*Food Science and Nutrition*), dirigée par Ibrahim Waly et al en 2018 a constaté que la nitrosamine, administrée par voie intra-péritonéale, est à l'origine d'un stress oxydant chez des rats mâles de la souche Sprague-Dawley.

En fait, Les nitrosamines, ou plus exactement les N-nitrosamines, sont des molécules contenant le groupement fonctionnel N-nitroso. Ces substances sont classées comme substances probablement cancérigènes pour l'Homme » par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS). Elles sont présentes dans certaines denrées alimentaires et dans les ressources en eau potable mais elles ne devraient pas causer de dommages lorsqu'elles sont prises en très faibles quantités.

L'étude d'Ibrahim Waly et ses collaborateurs en 2018, montre que le traitement par la nitrosamine, à une dose de 100 mg/kg p.c, a entraîné une diminution des défenses antioxydants enzymatiques (superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, glutathion réductase et catalase), dans le tissu gastrique des rats.

Dans cette même étude, Ibrahim Waly et al montrent également une présence d'effet bénéfique du curcuma sur la toxicité de nitrosamine. Le traitement à une dose de 200 mg/kg du curcuma, a amélioré significativement le taux de SOD, GPx, GR et CAT dans le tissu gastrique.

Enfin, ces données expérimentales montrent dans leur ensemble que le curcuma était capable de protéger les structures cellulaires des altérations oxydatives et stimulait l'activité des défenses antioxydants enzymatiques et non enzymatiques face au stress oxydant induit par les agents pro-oxydant.

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Le stress oxydant est une circonstance anormale que traversent parfois nos cellules ou un de nos tissus lorsqu'ils sont soumis à une production, endogène ou exogène, de radicaux libres oxygénés qui dépasse leurs capacités antioxydants. L'excès de radicaux libres non neutralisés par les défenses est très dommageable pour les macromolécules essentielles de nos cellules, entraînant anomalies d'expression des gènes et des récepteurs membranaires, prolifération ou mort cellulaire dans les tissus.

Ce stress oxydant, pourrait occasionner des états d'épuisement susceptibles de compromettre la santé des individus, particulièrement lorsque les apports nutritionnels en antioxydants sont inappropriés. Une prise de conscience de l'importance de l'alimentation, surtout riche en produits végétaux, pour la santé est donc apparue. De multiples constituants et micronutriments de ces aliments tels que les polyphénols, jouent potentiellement un rôle dans cet effet protecteur.

À la suite d'une étude bibliographique sur le phénomène du stress oxydant, notre recherche apporte un éclairage sur les études faites précédemment, montrant qu'une exposition à des agents pro-oxydants pouvant provoquer des effets néfastes sur l'organisme. Ainsi, les résultats de ces études ont permis d'affirmer que le curcuma, est un puissant antioxydant naturel capable, grâce à ses composés phénoliques, de lutter contre les effets néfastes des radicaux libres.

Cette recherche documentaire que nous avons menée nous a permis également d'identifier plusieurs perspectives :

- 1) Intensifier les recherches sur les sources de stress oxydant qui sont l'un des éléments essentiels pour répondre à des questions relatives à la compréhension de ces mécanismes délétères ;
- 2) Étudier les effets toxiques des divers agents pro-oxydants (e.g métaux lourds et pesticides) chez le rat ou d'autres espèces de mammifères, par le dosage de marqueur enzymatique (GPx, SOD, CAT) ou non enzymatique (GSH, MDA) ;
- 3) Déterminer les effets d'une exposition (court et long termes) à des agents pro-oxydants, afin de mettre en évidence des relations dose-effet et les éventuels risques potentiels pour la santé de l'homme et de l'animal ;

- 4) Confirmer les actions anti-oxydantes des micronutriments comme les polyphénols et les possibilités de renforcer l'effet protecteur de l'organisme par la supplémentation de ces composés naturels.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

Abadeh S., Killacky J., Benboubetra M., Harrison R.(1992).Purification and partial characterization of xanthine oxidase from human milk.Biochim.Biophys.Acta. 17: 25-32

Abdel Rheim F., Ragab A.A., Hammam F.M., Hamdy H.E. (2015). Protective Effects of Curcumin for Oxidative Stress and Histological Alterations Induced by Pyrethroid Insecticide in Albino Rats.The Egyptian Journal of Hospital Medicine.58 : 63-73.

Abele D., Heise K., Pörtner H.O., Puntarelo S. (2002).Temperature-dependence of mitochondrial function and production of reactive oxygen species in the intertidal mud clam *Mya arenaria*. J Exp Biol. 205 : 1831-41.

Abreu I.A., Cabelli D.E. (2010). Superoxide dismutases-a review of the associated mechanistic variations.Biochimica et Biophysica Acta. 1804 : 263-274.

Aebi H. (1984). Catalase in vitro. Methods Enzymol. 105 : 121-126.

Afonso V., Champy R., Mitrovic D., Collin P., Lomri A. (2007).Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases : rôle dans les maladies rhumatismales. Revue du Rhumatisme. 74 : 636-643

Akbas S.H., Yegin A., Ozben T. (2005). Effect of pentylene tetrazol-induced epileptic seizure on the antioxidant enzyme activities, glutathione and lipid peroxidation levels in rat erythrocytes and liver tissues.Clin Biochem.38 (11) : 1009-14.

Al gubory K.H. (2014). Proteomics and biological systems : application in oxidative stress, nutrition and prenatal development. Biological Systems. 1 (3) : 1-2.

Algeciras-Schimnich A., Cook W.J., Milz T.C., Saenger A.K., Karon B.S.(2007).Evaluation of hemoglobin interference in capillary heel-Stick samples collected for determination of neonatal bilirubin. Clinical Biochemistry. 40: 1311-1316.

Al-Mutairi D.A., Craik J.D., Batinic-Haberle I., Benov L.T. (2007). Induction of oxidative cell damage by photo-treatment with zinc N-methylpyridylporphyrin.Free Radic Res. 41 (1) : 89-96.

Alscher G.N., Erturk L.S.(2002). Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. J Exp Bot.53(372) : 1331-1341.

Al-Shaabi S.N., Waly M.I., Al-Subhi L., Tageldin M.H., Al-Balushi N.M., Rahman M.S.(2016). Ameliorative Effects of Pomegranate Peel Extract against Dietary-Induced Nonalcoholic Fatty Liver in Rats. *Prev Nutr Food Sci.* 21 (1) : 14-23.

Anderson D., Dobrzynska M.M., Yu T.W. et al. (1997). DNA integrity in humansperm. *Teratogenesis Carcinogenesis and Mutagenesis.* 17 (3) : 97-102.

Anu S.S. (2018). Curcumin protection against cadmium-induced oxidative stress in pancreas of swiss albino mice. *Asian J Pharm Clin Res.* 11 (11) : 393-397.

Aprioku J.S. (2013). Pharmacology of free radicals and the impact of reactive oxygenspecies on the testis. *J Reprod Infertil.* 14 (4) : 158-172.

Araujo C., Leon L.(2001). Biological activities of *Curcuma longa* L. *Mern Inst Oswaldo Cruz.* 723-728.

Athmani N. (2016). Etude de l'effet hypocholestérolémiant et du potentiel antioxydant de deux hydrolysats de protéines de poisson (Sardine et sardinelle) chez le rat adulte soumis à un régime enrichi en cholestérol. Thèse de Doctorat de l'Université Ahmed Ben Bella d'Oran, Faculté de Nutrition clinique et Métabolique. p : 17.

Babior B.M. (1999). NADPH oxidase : an update. *Blood* 93 : 1464-1476.

Baillie J.K., Bates M.G.D., Thompson A.A.R., Waring W.S, Partridge R.W, Schnopp M.F., Simpson A., Gulliver-Sloan F., Maxwell S.R.J., Webb D.J. (2007). Lowland Subjects Exposed to High Altitude Plasma Antioxidant Capacity in Healthy Endogenous Urate Production Augments. *Chest.* 131:1473-78.

Balaban R.S, Nemoto S., Finkel T. (2005). Mitochondria, oxidants, and aging. *Cell.* 120 (4):483-95.

Balasundram N., Sundram K., Samman S. (2006). Phenolic compounds in plants and agricultural by-products : Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry.* 99: 191-203.

Baraka-vidot J. (2014). Stress oxydant et pathologie diabétique à l'île de La Réunion - Identification et caractérisation des propriétés structurales et fonctionnelles de l'albumine glyquée. Thèse de Doctorat de l'Université de la Réunion, Faculté de Biochimie. p : 35.

- Barhoumi R., Bowen J.A., Stein L.S., Echols J., Burghardt R.C.** (1993).Concurrenalysis of intracellular glutathione content and gap junctional intercellularcommunication.Cytometry.14: 747-56.
- Barouki R., Morel Y.** (2001).Repression of cytochrome P450 1A1gene expression byoxidativestress : mechanisms and biological implications. BiochemPharmacol. 61 : 511-516.
- Baudin B.** (2006). Stress oxydant et pathologies cardiovasculaires. Mt cardio. 2 (1) : 43-52.
- Beckman K.B., Ames B.N.** (1998). The free radical theory of aging matures. PhysiolRev. 78 :547-581.
- Benaissa L., Tabet A.**(2010). Evaluation de l'activité antioxydant des extraits aqueux deCurcuma longa L. commercialisé dans la wilaya de Biskra. Mémoire de Master de l'Université Mohamed Khider de BISKRA, Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie.
- Bennamara F.Z.** (2017). Stress oxydant Et pathologies humaines. Thèse de Doctorat del'Université Mohammed V-Rabat, Faculté de Médecine et de Pharmacie-Rabat. p : 172.
- Bensakhria A.** (2018).Le stress oxydatif. Toxicologie générale. 9 : 79-82.
- Bentinger M., Tekle M., DallnerG.** (2010). Coenzyme Q-Biosynthesis andfunctions. Biochem.Biophys.Res.Commun. 396-7479.
- Benyamina A.** (2017). Etude des effets de l'extrait d'Artemisiaabsintium L. chez les ratsintoxiqués au plomb. Etude neurocomportementale, Biochimique et in Silico de composésd'artemisiaabsinthium L. à potentiel thérapeutique ciblant les recepteurs du système nerveuxcentral. Thèse de Doctorat de l'Université Ahmed Ben Bella d'Oran,Faculté de Biochimieappliqué. p : 23.
- Beyer R.E.** (1994). The role of ascorbate in antioxidant protection of biomembranes: interaction with vitamin E and coenzyme Q. J Bioenerg Biomembr. 26(4):349-58.
- Bonnefont-Rousselot D.** (1994). Irradiation des membranes cellulaires. J Chim Phys. 91 :968-983.
- Bonnefont-Rousselot D., Théron P., Beaudoux J.L., Peynet J., Legrand A., Delattre J.**(2001). Vieillessement et stress oxydant. Quels marqueurs potentiels ? Ann. Biol. Clin. 59 (4) : 453-459.

Bonnefont-Rousselot D., Therond P., Delattre J. (2003). Radicaux libres et antioxydants. In: delattre J, Durand G, Jardillier JC. Ed. Biochimie pathologique : aspects moléculaires et cellulaires. Paris : Médecine-sciences Flammarion. 59-81.

Bouayed J. (2010). Polyphenols : a potential new strategy for the prevention and treatment of anxiety and depression. *Curr Nutr Food Sci.* 6 : 13-18.

Bouguerne B. (2012). Conception et synthèse de dérivés phénoliques hautement fonctionnalisés et étude de leurs propriétés biologiques vis-à-vis des maladies cardiovasculaires (athérosclérose). Thèse de Doctorat de l'Université Toulouse III – Paul Sabatier. p : 18.

Brigelius-Flohe R., Traber M.G. (1999). Vitamin E : function and metabolism. *FASEBJ*13(10): 1145-1155.

Bruneton J. (1993). Pharmacognosie. Technique et documentation-Lavoisier, Paris. 278.

Bruneton J. (1999). Phytochimie. Plantes médicinales. Pharmacognosie 3^{ème} édition, Paris.

Bruneton J. (2009). Composés phénoliques shikimates et acétates In Pharmacognosie Phytochimie des plantes médicinales. 3^{ème} Edition. Lavoisier Tec & Doc, Paris. p : 135- 142.

Bump E., Brown J. (1990). Role of glutathione in the radiation response of mammalian cells in vitro and in vivo. *Pharm. Ther.* 47 : 117-136.

Burton G., Jauniaux E. (2011). Oxidative stress. Best practice and research clinical obstetrics and gynaecology. 25: 287-299.

Buschfort C., Muller M.R., Seeber S. et al. (1997). DNA excision repair profiles of normal and leukemic human lymphocytes : Functional analysis at the single cell level. *Cancer Research.* 57 : 651-658.

Cadenas E., Davie K.J. (2000). Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. *Free Radic Biol Med.* 29:222-230.

Çakmakçi S et al. (2015). Antioxidant capacity and functionality of oleaster (*Elaeagnus angustifolia* L.) flour and crust in a new kind of fruity ice cream. *Int. J. Food Sci. Technol.* 472-481.

Camille M., Mireille. S. (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *MedSci(Paris)*. 27 (4) : 405-412.

Cano N., Barnoud D., Schneider S.M., Vasson M.P., Hasselmann M., Lerverve X.(2006). *Traité de nutrition artificielle de l'adulte*. Edition Springer. 255.

Cantin P.A. (1999). Oxidant and antioxidants in lung injury. *Lam and other Diseases characterized by smooth muscle proliferation*. 519-531.

Carine Badouard. (2006). Les lésions des acides nucléiques : détection par CLHP-SM/SM dans les milieux biologiques humains et intérêt comme biomarqueurs du stress oxydant et de l'inflammation. Thèse de Doctorat de l'Université Joseph-Fourier - Grenoble I, France. p : 51.

Carocho M., Ferreira I., Morales P., Sković M.(2018). Antioxidants and Prooxidants : Effect on Health and Aging *Hindawi Oxidative. Medicine and Cellular Longevity*. 1-2.

Charbon G., Bjørn L., Mendoza-Chamizo B., Frimodt-Møller J., Løbner-Olesen A.(2014). Oxidative DNA damage is instrumental in hyperreplication stress-induced inviability of *Escherichia coli*. *Nucleic acids research*. 42(21) : 13228-13241.

Clarkson P.M., Thompson H.S. (2000). Antioxidants : what role do they play in physical activity and health?. *American Journal of Clinical Nutrition*. 72(2) : 637.

Comhair S.A.A., Erzurum S.C. (2002). Antioxidant responses to oxidant-mediated lung diseases. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 283 (2) : 246-55.

Corpas F.J., Barroso J.B., Del Río L.A. (2001). Peroxisomes as a source of reactive oxygen species and nitric oxide signal molecules in plant cells. *Trends in Plant Science*. 6 (4) : 145-150.

Curtay J.P., Robin J.M. (2000). Intérêt des complexes antioxydants. *Nutri-thérapie Info*. 1-4.

Daayf F., Lattanzio, V. 2000. *Recent advances in polyphenol research*. Blackwell publishing, Singapore. 1.

Dalton T.P., Scertzer H.G., Puga A. (2002). Regulation of gene expression by reactive oxygen. *Signalling*. 879.

Dangles O.(2012). Antioxidant activity of plant phenols : chemical mechanisms and biological significance. *Current Organic Chemistry*. 16 : 692-714.

- Dangles O., Dufour C.** (2008). Flavonoid-proteinbindingprocesses and theirpotential impacton humanhealth. In : RecentAdvances in PolyphenolResearch. BlackwellPublishing : Oxford.01: 67-87.
- Davies K.J.** (2000). Oxidative stress, antioxidant defenses, and damage removal, repair, andreplacement systems.IUBMB Life. 50:279-289.
- Dawson T.L., Gores G.J., Nieminen A.L., Herman B., Lemasters J.J.**(1993).Mitochondria asa source of reactive oxygen species during reductive stress in rathepatocytes.Am J Physiol. 264: 961-967.
- De Backer D.** (2006). Inhibition du monoxyde d'azote dans le choc septique Nitric oxideinhibition in septic shock.Réanimation. 15 (2) : 145-149.
- De Moffarts B., Kirschvink N., Art T., Pincemail J., Lekeux P.** (2005). Effect of oralantioxidant supplementation on blood antioxidant status in trained thoroughbred horses.The Veterinary Journal. 169: 65-74.
- Deaton C.H.M., Marlin D.J.** (2003). Exercise-associated oxidative stress.Clin Tech EquinePract.2 (3) : 278-91.
- Defraigne J.O., Pincemail J.** (2008). Stress oxydant et antioxydants : mythes et réalités. RevMed Liège. 63: 10-19.
- Delattre J., Beaudoux J.L., Bonnefont-Rousselot D.** (2005). Radicaux libres et stressoxydant : aspects biologiques et pathologiques. Lavoisier édition TEC & DOC éditionsmédicales internationales Paris. p : 1- 405.
- Delaveau P.** (1987). Les épices. Histoire, description et usage des différents épices, aromateset condiments. Paris : Albin Michel. 130 -136.
- Densiov E.T., Afanas'ev I.B.** (2005). IN: Oxidation and antioxidants in organic chemistry and biology. Eds: Taylor & Francis Group (U.S.A). 703-861.
- Descamps O.** (2004).Stress oxydant et vieillissement : aspects mitochondriaux et stratégiesnutritionnelles anti-cancer et anti-vieillessement chez la souris OHI. Thèse de Doctorat del'Université René-Descartes Paris 5.
- Desideri A., Falconi M.** (2003).Prokaryotic Cu, Zn superoxide dismutases.BiochemicalSociety transactions. 31: 1322-1325.

Desideri A., Falconi M.(2003). Prokaryotic Cu, Zn superoxidies dismutases. *Biochem Soc Trans.* 31:1322-1325.

Desmier T. (2016). Les antioxydants de nos jours : définition et applications. Thèse de Doctorat de l'Université de Limoges, faculté de pharmacie. p : 32.

Droge W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev.* 82(1) : 47-95.

Druzyńska B., Stepnińska A., Wołosiak R. (2007). The influence of time and type of solvent on efficiency of the extraction of polyphenols from green tea and antioxidant properties obtained extracts. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.* 6 (1) : 27-36.

Dugas A.J.J.R., Castañeda-Acosta J., Bonin G.C., Price K.L., Fischer N.H., Winston G.W. (2000). Evaluation of the total peroxyl radical-scavenging capacity of flavonoids : Structure-activity relationships. *J Nat Prod.* 63 (3) : 327-31.

Durand K. (2018). Diabetes et stress oxydant. Thèse de Doctorat de l'Université d'Aix-Marseille, Faculté de Pharmacie. p : 8.

Dwassy A. (2014). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant : aspects biologiques et pathologiques. Thèse de Doctorat de l'Université Mohammed V-souissi-faculté de médecine et de pharmacie - Rabat. p : 7.

Dziedzic S.Z., Hudson B.J.F. (1983). Polyhydroxychalcones and flavanones as antioxidants for edible oils. *Food Chemistry.* 12: 205-212.

Dziezak J.D. (1986). Preservatives : Antioxidants. *Food Technol.* 40 : 94-102.

Echtay K.S., Esteves T.C., Pakay J.L., Jekabsons M.B., Lambert A.J., Portero-Otin M., Pamplona R., Vidal-Puig A.J., Wang S., Roebuck S.J., Brand M.D. (2003). A signalling role for 4-hydroxy-2-nonenal in regulation of mitochondrial uncoupling. *Embo J.* 22:4103-4110.

El Gharras H. (2009). Polyphenols : Food sources, properties and applications - A review. *International Journal of Food Science and Technology.* 44 (12) : 2512-2518.

El-Demerdash F.M., Nasr H.M. (2014). Antioxidant effect of selenium on lipid peroxidation, hyperlipidemia and biochemical parameters in rats exposed to diazinon. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology.* 28: 89-93.

Eurotext J.L. (2007). Biologie et pathologie du coeur et des vaisseaux. 1396.

Fabre G., Bayach I., Berka K., Paloncýová M., Starok M., Rossi C., et al. (2015). Synergism of antioxidant action of vitamins E, C and quercetin is related to formation of molecular associations in biomembranes. *Chem Commun.* 51(36) : 77-136.

Fam S.S., Morrow J.D. (2003). The isoprostanes : unique products of arachidonic acid oxidation - a review. *Curr. Med. Chem.* 10: 1723-1740.

Favier A. (1997). Le stress oxydant : intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur. *Annales de Biologie Clinique.* 55 (1) : 9-16.

Favier A. (2003). Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Mécanismes biochimiques. L'actualité Chimique.* 108-115.

Favier A. (2006). Stress oxydant et pathologies humaines. *Ann Biol Clin.* 64 (6) : 390-6.

Finaud J., Lac G., Filaire E. (2006b). Oxidative Stress. Relationship with Exercise and training. *Sports med.* 36 (4) : 327-58.

Florence B. (2016). Stress oxydant et pathologie diabétique. Thèse de Doctorat de l'Université de La Réunion, Faculté de Biochimie. p : 28.

Frankel E.N. (2005). Lipid oxidation. 2nd Edition, The Oily Press, Bridgwater, England.

Fulbert J.C., Cals M.J. (1992). Les radicaux libres en biologie clinique. *Pathologie et Biologie.* p : 66-77.

Gang D.R., Kasahara H., Xia Z.Q., Vander Mijnsbrugge K., Bauw G., Boerjan W., Van Montagu M., Davin L.B., Lewis N.G. (1999). Evolution of plant defense mechanisms. Relationships of phenylcoumaran benzylic ether reductases to pinore sinol-laric resinol and isoflavone reductases. *J Biol Chem.* 274 (11) : 7516-27.

Garait B. (2011). Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la GliSODin. Thèse de Doctorat de l'Université Joseph Fourier, Faculté de Biologie Cellulaire. p : 9.

García-Medina S. (2013). Diclofenac-induced oxidative stress in brain, liver, gill and blood of common carp (*Cyprinus carpio*). *Ecotoxicol Environ.* 92 : 32-38

Gardès-Albert M., Bonnefont-Rousselot D., Abedinzadeh Z., Jore D. (2003). Espèces réactives de l'oxygène. J : Mécanisme biochimiques. p : 91-95.

Gardès-Albert M., Jore D. (2005). Aspects physicochimiques des radicaux libres centrés sur l'oxygène. Radicaux libres et stress oxydant. Paris, Lavoisier. p : 1-23.

Garnero J. (1996). Huiles essentielles. Techniques de l'ingénieur K345. 1-45.

Garrel C., Ceballos-Picot I., Germain G., Al-Gubory K.H. (2007). Oxidative stress inducible antioxidant adaptive response during prostaglandin F₂α-induced luteal cell death in vivo. Free radical research. 41 : 251-259.

Gersch C., Pali S.P., Imaram W., Kim K.M., Karumanchi S.A., Angerhofer A., Johnson R.J., Henderson G.N. (2009). Reactions of peroxy nitrite with uric acid : Formation of reactive intermediates, alkylated products and triuret, and in vivo production of triuret under conditions of oxidative stress. Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids. 28 : 118-149.

Ghouleh I.A., Khoo N.K.H., Knaus U.G., Griendling K.K., Touyz R.M., Thannickal V.J., Barchowsky A., Nauseef W.M., Kelley E.E., Bauer P.M., Darley-Usmar V., Shiva S., Cifuentes-Pagano E., Freeman B.A., Gladwin M.T., Pagano P.J. (2011). Oxidases and Peroxidases in Cardiovascular and Lung Disease : New Concepts in Reactive Oxygen Species Signaling. Free Radic Biol Med. 51 (7) : 1271-88.

Göçer H., Akincioglu A., Öztas N., Göksu S., Gülçin I. (2013). Synthesis, antioxidant, and antiacetylcholinesterase activities of sulfonamide derivatives of dopamine-related compounds". Arch. Pharm (Weinheim). 783-792.

Goldstein S., Meyerstein D., Czapski G. (1993). The Fenton reagents. Free Rad Biol Med. 15 : 435-45.

Gordon M.H. (1996). Dietary antioxidants in disease prevention. Natural Product Reports. 13(4) : 265-273.

Góth L., Rass P., Páy A. (2004). Catalase enzyme mutations and their association with diseases. Molecular Diagnostics. 8 : 141-149.

Goto M., Ueda K., Hashimoto T., Fujiwara S., Matsuyama K., Kometani T., Kanazawa K. (2008). A formation mechanism for 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine mediated by peroxidized 2'-deoxythymidine. Free Radic Biol Med. 45 (9) : 1318-1325.

Grubben G.J.H.(2005). Curcuma longa In ressources végétales de l'Afrique tropicale3 Colorants et tanins. Prota, Backhuys publishers/CTA Wageningen, Pays bas. 76-83.

Gutteridge J.M. (1993). Free radicals in disease processes : à complication of causeandconsequence. Free Radic Res Commun. 19 (3) : 141-58.

Gülçin I. (2012). Antioxidant activity of food constituents : an overview, Arch. Toxicol.86 (3): 345-391.

Gupta C., Gorkem K., Bharat B.(2013). Curcumin, a Component of Turmeric : From Farm toPharmacy .1 : 2-13.

Habtemariam S. (2003). Cytotoxic and cytostatic activity of erlangerins fromCommiphoraerlangeriana.Toxicon.41 (6) : 723-7.

Hala Y. (2008).L'obésité de l'adolescent Libanais : étude épidémiologique et effets d'unexercice aigu et chronique sur le stress oxydantd'adolescentes en surpoids. Thèse de Doctoratde l'Université Européenne de Bretagne. p : 83.

Haleng J., Pincemail J., Defraigne J.O., Charlier C., Chapelle J.P. (2007).Le stressoxydant.Rev Med Liege.62 (10): 628-638

Halliwell B. (2006). Phagocyte-derived reactive species : salvation or suicide. TrendsBiochem Sci. 31 (9) : 509-15.

Halliwell B., Chirico S. (1993).Lipid peroxidation : its mechanism, measurement, andsignificance. Am. J. Clin. Nutr.57 : 715S-724S.

Halliwell B., Cross C.E. (1994). Oxygen-derived species : their relation to human disease andenvironmental stress. Environ Health Perspect. 102 (10) : 5-12.

Halliwell B., Gutteridge J. (1992). Biologically relevant metal ion-dependent hydroxyl, radical generation An update. FEBS Letters.307 (1) : 108-112.

Halliwell B., Gutteridge J.M. (1986) .Oxygen free radicals and iron in relation to biologyand medicine : some problems and concepts. Arch Biochem Biophys. 246: 501-514.

Halliwell B., Gutteridge J.M.C. (1996). Mechanisms involved in the generation of freeradicals. PathologieBiologie.44: 6-13.

Halliwell B., Gutteridge J.M.C. (2007). Free Radicals in Biology and Medicine. 4th ed. Oxford University Press. 20-31.

Halliwell B., Gutteridge J.M. (2008). Free Radicals in Biology and Medicine. Fourth Edition. Oxford University Press.

Halliwell B., Gutteridge J.M.C. (2008). Free Radicals in Biology and Medicine. 4th edition. Oxford : Oxford University Press. 160-166.

Hanna P.M., Mason R.P. (1992). Direct evidence for inhibition of free radical formation from Cu(I) and hydrogen peroxide by glutathione and other potential ligands using the EPR spin-trapping technique. Archives of biochemistry and biophysics. 295:205- 13.

Harmatha J., Zídek Z., Kmoníčková E., Šmidrkal J. (2011). Immunobiological properties of selected natural and chemically modified phenylpropanoids. Interdisc Toxicol. 4 (1) : 5-10.

Harrison R. (2002). Structure and function of xanthine oxidoreductase : where are we now ?. Free Radic. Biol. Med. 33:774-797.

Hashimoto T., Fujiwara S., Matsuyama K., Kometani T., Kanazaw K. (2008). A formation mechanism for 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine mediated by peroxidized 2'-deoxythymidine. Free Radic Biol Med. 45 (9) :1318-25.

Havsteen B.H. (2002). The biochemistry and medical significance of flavonoids. Pharmacol Ther. 96 (2-3): 67-202.

He Z., Xia W., Chen J. (2008). Isolation and structure elucidation of phenolic compounds in Chinese olive (*Cnarium album* L.) fruit. Eur Food Res Technol. 226 (5) : 1191-1196.

Heim E.K., Tagliaferro A.R., Bobilya D.J. (2002). Flavonoid antioxidants : chemistry, metabolism and structure-activity relationships. J Nutr Biochem. 13 (10) : 572-584.

Hellsten Y., Svensson M., Sjödin B., Smith S., Christensen A., Richter E.A., Bangsbo J. (2001). Allantoin formation, urate, and glutathione exchange in human muscle during submaximal exercise. Free Radic Biol Med. 31(11) : 1313-1322.

Hendrich A.B. (2006). Flavonoid-membrane interactions : possible consequence for biological effects of some polyphenolic compounds. Acta Pharmacologica Sinica. 27: 27-40.

Hulbert A.J. (2005). On the importance of fatty acid composition of membranes for aging. J Theor Biol. 234:277-288.

Ibrahim Ali R., Abdelbasset Ibrahim M. (2018). Malathion induced testicular toxicity and oxidative damage in male mice : the protective effect of curcumin. Egyptian Journal of Forensic Sciences. 8 (70) : 2-13.

Ibrahim Elsayed A.S., Hegazi M.A., Mostafa H.A.E., Hegazi M.M. (2015). The protective and ameliorative effect of green tea extract on antioxidant status of brain tissue exposed to oxidative stress. Pyrex Journal of Biomedical Research. 1 (5) : 059-067.

Ibrahim Waly M., Al-Bulushi I.M., Al-Hinai S., Guizani N., Al-Malki R.N., Rahman M.S. (2018). The Protective Effect of Curcumin against Nitrosamine-Induced Gastric Oxidative Stress in Rats. Prev. Nutr. Food Sci. 23(4) :288-293.

Inglese P. (1994). L'influence de la variété sur les caractéristiques qualitatives de l'huile d'olive. Olivae. 54 : 42-44.

Irchhaiya R., Kumar A., yadav A., Gupta N., Kumar S., Gupta N., Kumar S., Yadav V., Prakash A., Gurjar H. (2014). Metabolites in plants and its classification. World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences. 4 (1) : 287-305.

Islas-Flores H., Gómez-Oliván L.M., Galar-Martínez M., Colín-Cruz A., Neri Cruz N., Jacob C., Knight I., Winyard P.G. (2006). Aspects of the biological redox chemistry of cysteine : from simple redox responses to sophisticated signalling pathways. Biol Chem. 387:1385-1397.

Jarasch E.D., Grund C., Bruder G., Heid H.W., Keenan T.W., Franke W.W. (1981). Localization of xanthine oxidase in mammary gland epithelium and capillary endothelium. Cell 25. 67-82.

Ji L.L., Fu R., Mitchell E.W. (1992). Glutathione and antioxidant enzymes in skeletal muscle : effects of fiber type and exercise intensity. J Appl Physiol. 73: 1854-1859.

Johnson R.J., Sautin Y.Y., Oliver W.J., Roncal C., Mu W., Gabriela Sanchez-Lozada L., Rodriguez-Iturbe B., Nakagawa T., Benner S.A. (2009). Lessons from comparative physiology : could uric acid represent a physiologic alarm signal gone awry in western society. J Comp Physiol B. 179(1) : 67-76.

Jovanovic S.V., Steenken S., Tosic M., Marjanovic B., Simic M.G. (1994). Flavonoids as antioxidants. J. Am. Chem. Soc. 116 (11) : 4846-4851.

Kalam K., Marwick T.H.(2013). Role of cardioprotective therapy for prevention of cardiotoxicity with chemotherapy: a systematic review and meta-analysis. *European Journal of Cancer*. 49(13):2900-2909.

Karakaya S. (2004). Bioavailability of phenolic compounds. *Crit Rev Food Sci. Nutr.*44 (6) :453-64.

Karleskind A. (1992). Généralités. In : *Manuel des corps gras*. Ed : Lavoisier, Tec.et Doc, paris. p : 1-46.

Kehili N. (2018). L'effet protecteur d'un antioxydant naturel contre le stress oxydatif induit par le chlorure de cadmium. Thèse de Doctorat de l'Université Badji-Mokhtar-Annaba, faculté des sciences. p : 9-10.

Kim D.W., Jeong H.J., Kang H.W., Shin M.J., Sohn E.J., Kim M.J., Ahn E.H., An J.J., Jang S.H., Yoo K.Y., Won M.H., Kang T.C., Hwang I.K., Kwon O.S., Cho S.W., Park J., Eum W.S., Choi S.Y. (2009). Transduced human PEP-1–catalase fusion protein attenuates ischemic neuronal damage. *Free Radic Biol Med*. 47 (7) : 941-952.

Kim S.J., Cho A.R., Han J. (2013). Antioxidant and antimicrobial activities of leafy green vegetable extracts and their applications to meat product preservation. *Food Cont.* 29 (1) :112-120.

Knežević S.V., Blazekwic B., Stefan M.B., Babac M. (2012). Plant polyphenols as antioxidants influencing the human health. In : *Phytochemicals as nutraceuticals-global approaches to their role in nutrition and health*. Edition Venketeshwer Rao. 155-180

Kochetova M.V, E Semenistaya E.N, Larionov O.G, Revina A.A. (2007). Determination of biologically active phenols and polyphenols in various objects by chromatographic techniques. *Russian Chemical Reviews*. 76 (1) : 79-90.

Kundu J.K., Surh Y. (2008). Cancer chemopreventive and therapeutic potential of resveratrol : Mechanistic perspectives. *Cancer Letters*. 269 (2) : 243-261.

Lafleur M.V., Hoorweg J.J., Joenje H., Westmijze E.J., Retel J. (1994). The ambivalent role of glutathione in the protection of DNA against singlet oxygen. *Free radical research*. 21 :9-17.

- Laguerre M., Mestres C., Davrieux F., Ringuet J., Boulanger R.**(2007). Rapid discrimination of scented rice by solid-phase microextraction, mass spectrometry, and multivariate analysis used as a mass sensor. *J Agric Food Chem.* 55 : 1077-1083.
- Landrier J.F.**(2011). Vitamine E et physiologie du tissu adipeux. *Oleagineux corps gras lipides.* 1 : 83-87.
- Lau A.T., Wang Y., Chiu J.F.** (2008). Reactive oxygen species : current knowledge and applications in cancer research and therapeutic. *J Cell Biochem.* 104 (2) : 657-667.
- Leopold J.A., Loscalzo L.** (2009). Oxidative Risk for Atherothrombotic Cardiovascular Disease. *Free Radic Biol Med.* 47: 1673-1706.
- Lin C., Chen C., Liang Y., Lin J.** (2002). Molecular modeling of flavonoid that inhibits xanthine oxidase. *Biochem Biophys Res Commun.* 294 (1) : 167-72.
- Lopez G.V., Batthyany C., Blanco F., Botti H., Trostchansky A., Migliaro E., Radi R., Gonzalez M., Cerecetto H., Rubbo H.** (2005). Design, synthesis, and biological characterization of potential antiatherogenic nitric oxide releasing tocopherol analogs. *Bioorg. Med Chem.* 13: 5787-5796.
- Luc G., Lecerf J.M., Bard J.M., Hachulla E., Fruchart J.C., Devulder B.**(1991). Cholestérol et athérosclérose. Masson, collection Abrégés, Paris.
- Lushchak V.I.** (2011). Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. *Aquatic Toxicology.* 101: 13-30.
- Lyons M.E.G., Fay H.G., McCabe T., Corish J., Vos J.G., Kelly A.J.**(1990). Charge percolation in electroactive polymers. *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions.* 86-2905.
- Mac Laren D.** (2007). Advances in sports and exercise science series. Nutrition and Sport. 8. Antioxidants and free radicals by Close GL and Mc Ardle F. Elsevier.
- Manach C., Scalbert A., Morand C., Remesy C., Jimenez L.** (2004a). Polyphenols : food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr.* 79 (5) : 727-47.
- Marnett L.J.** (1999). Lipid peroxidation-DNA damage by Malondialdehyde. *Mutat Res.* 424:83-95.

Martin S., Andriantsitohaina R. (2002). Cellular mechanism of vasculo-protection induced by polyphenols on the endothelium. *Ann Cardiol Angeiol.* 51 (6) : 304-315.

Mate J.M., Perez-Gomez C., Numez de castro I. (1999). Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin Biochem.* 32 (8) :595-603.

Matés J.M., Pérez-Gómez C., Núñez de Castro I. (1999). Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin Biochem.* 32 (8) : 595-603.

McLennan H.R., Degli Esposti M. (2000). The contribution of mitochondrial respiratory complexes to the production of reactive oxygen species. *J Bioenerg Biomembr.* 32 (2): 153- 62.

McLennan H.R., Degli Esposti M. (2000). The contribution of mitochondrial respiratory complexes to the production of reactive oxygen species. *J Bioenerg Biomembr.* 32 (2) : 153-62.

Mehrpak M., Banaee M., Haghi B.N., Noori A. (2015). Protective effects of vitamin c and chitosan against cadmium-induced oxidative stress in the liver of common carp (*Cyprinus carpio*). *Iran J Toxicol.* 9 (30) : 1360-1367.

Menon S.G., Goswami P.C. (2007). A redox cycle within the cell cycle : ring in the old with the new. *Oncogene.* 26: 1101-1109.

Middleton E., Kandaswami C., Theoharides T.C. (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells : implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacological reviews.* 52: 673-751.

Mimouni I. (2020). Le processus oxydatif et les antioxydants en pathologie humaine. Thèse de Doctorat de l'Université Mohammed V de Rabat, faculté de médecine. p : 110-111.

Mompon B., Lemaire B., Mengal P., Surbel D. (1996). Extraction des polyphénols : du laboratoire à la production industrielle. IN « Polyphénols 96 ». Ed INRA. 31-35.

Monteil C., Mulder P., Thuillez C. (2004). Stress oxydant et insuffisance cardiaque : une cible thérapeutique utopique ? *Médecine thérapeutique Cardiologie.* 2: 75-85.

Morandat S., Durand G., Polidori A., Desigaux L., Bortolato M., Roux B., Pucci B. (2003). PBN derived amphiphilic spin-traps. I/Synthesis and study of the immiscibility with polyunsaturated phospholipids. *Langmuir.* 19 (23) : 9699-9705.

Nacri I. (2013). Apport des thérapeutiques antioxydantes dans le traitement du diabète. Mémoire de Master de l'Université Mentouri Constantine 1. p : 23.

Nicholls D.G., Ferguson S.J. (2002). Bioenergetics. 3rd edn, chs. Amsterdam: Academic Press. p: 297.

Niki E. (2010). Assessment of Antioxidant Capacity in vitro and in vivo. Free Radic Biol Med. 49 (4) : 503-15.

Niki E., Yoshida Y., Saito Y., Noguchi N. (2005). Lipid peroxidation : mechanisms, inhibition, and biological effects. Biochem Biophys Res Commun. 338 (1) : 668-76.

Nyathi Y., Baker A. (2006). Plant peroxisomes as a source of signalling molecules. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research. 1763 (12) : 1478- 1495.

O'Mahony, J.M., Donnelly, T.T., Bouchal R.S., Este D. (2013). Cultural background and socioeconomic influence of immigrant and refugee women coping with postpartum depression. Journal of Immigrant Minority Health. 15:300-314.

Okado-Matsumoto A., Fridovich I. (2001). Subcellular distribution of superoxide dismutases (SOD) in rat liver : Cu,Zn-SOD in mitochondria. J Biol Chem. 276:38388-38393.

Olayinka E.T., Ore A., Adeyemo O.A., Ola O.S., Olotu O.O., Echebiri R.C. (2015). Quercetin, a flavonoid antioxidant, ameliorated procarbazine-induced oxidative damage to murine tissues. Antioxidants. 4 : 304-321.

Otuechere C.A., Abarikwu S.O., Olateju V.I., Animashaun A.L., Kale O.E. (2014). Protective Effect of Curcumin against the Liver Toxicity Caused by Propanil in Rats. International Scholarly Research Notices. 8

Oueslati K. (2017). Caractérisation et modélisation de la production des radicaux libres oxygénés par la chimie de Fenton en milieu mimétique de la viande. Thèse de Doctorat en Sciences des aliments de l'Université Clermont Auvergne, France. p : 239.

Ozcan T., Akpınar-Bayazit A., Yılmaz-Ersan L., Delikanlı B. (2014). Phenolics in Human Health. International Journal of Chemical Engineering and Applications. 5 (5) : 393-396.

Pacifici E.H., McLeod L.L., Sevanian A. (1994). Lipid hydroperoxide-induced peroxidation and turnover of endothelial cell phospholipids. Free radical biology & medicine. 17 (4) : 297-309.

- Palmer R.M., Rees D.D., Ashton D.S., Moncada S.** (1988). L-arginine is the physiological precursor for the formation of nitric oxide in endothelium-dependent relaxation. *Biochem Biophys Res Commun.* 153 (3) : 1251-6.
- Pamplona R., Portero-Otin M., Ruiz C., Gredilla R., Herrero A., Barja G.** (2000). Double bond content of phospholipids and lipid peroxidation negatively correlate with maximum longevity in the heart of mammals. *Mech Ageing Dev.* 112:169-183.
- Paravicini T.M., Touyz R.M.** (2008). NADPH Oxidases, Reactive Oxygen Species, and Hypertension Clinical implications and therapeutic possibilities. *Diabetes Care.* 31 (2) : S170-80.
- Paredi P., Kharitonov S.A., Barnes P.J.** (2002). Analysis of expired air for oxidation products. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine.* 166 (1) : 31-37.
- Patterson R.A., Horsley E.T., Leake D.S.** (2003). Prooxidant and antioxidant properties of human serum ultrafiltrates toward LDL : Important role of uric acid. *J Lipid Res.* 44: 512-521.
- Penna C., Mancardi D., Rastaldo R., Pagliaro P.** (2009). Cardio protection : A radical view Free radicals in pre and post conditioning. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics.* 1787 (7) : 781-793.
- Penso G.** (1986). Les plantes médicinales dans l'art et l'histoire. Paris : Roger Da Costa ed.
- Perry M.C.** (2008). Evaluation de la curcumine comme agent anti-cancéreux dans le traitement des tumeurs cérébrales. Mémoire présenté comme exigence partielle de la maîtrise en chimie. Université du Québec, Montréal.
- Pietta P.G.** (2000). Flavonoids as antioxidants. *J Nat Prod.* 63 (7) : 1035-42.
- Pincemail J., Meurisse M., Limet R., Defraigne J.O.** (1999). L'évaluation du stress oxydatif d'un individu : une réalité pour le médecin. *Vaisseaux, Cœur, Poumon.* 4 (5).
- Pincemail J.O., Defraigne J.O.** (2003). Le coenzyme Q10 ou ubiquinone : un antioxydant particulier, *Vaisseaux, Cœur, Poumons.* 8 : (2) 6.
- Pinson C.** 2012. Curcuma et gingembre – un concentré de bienfaits pour votre santé et votre beauté. Ed. Eyrolles. Pp 31-59.

Poisson C.(2013). Rôle du stress oxydant au niveau hépatique et rénal dans la toxicité de l'uranium après exposition chronique. Thèse de Doctorat de l'Université de Paris-Sud11, Faculté de Pharmacologie et Toxicologie. p : 115.

Portes E.(2008). Synthèse et étude de tetrahydrocurcuminoides : propriétés photochimiques et antioxydantes, application à la préservation de matériaux d'origine naturelle. Thèse de Doctorat en chimie organique. Ecole doctorale des sciences chimiques, Bordeaux I. p : 244.

Quezel P., Santa S. (1963). Nouvelle Flore d'Algérie et des régions désertiques Méridionales. Ed. Centre national de la Recherche Scientifique.

Qutub A.A., Popel A.S. (2008). Reactive oxygen species regulate hypoxia-inducible factor 1 α differentially in cancer and ischemia. *Mol Cell Biol.* 28 (16) : 5106-19.

Rahman I., Biswas S.K., Kode A. (2006). Oxidant and antioxidant balance in the airways and airway diseases. *Eur j pharmacol.* 533: 222-239.

Rahman K. (2007). Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clin Interv Aging.* 2 (2) :219-36.

Raman Arjun V., Berry M.J. (2011). Selenoproteins in cellular redox regulation and signaling. *Oxidative Stress in Vertebrates and Invertebrates : Molecular Aspects of Cell Signaling.* 195-208.

Ramsewak R.S., DeWitt D.L., Nair M.G. (2000). Cytotoxicity, antioxidant and anti-inflammatory activities of curcumins I–III from *Curcuma longa*. *Phytomedicine.* 7(4): 303-308.

Ratnam V.D. Ankola D.D., Baradwaj V., Sahana D.K. (2006). Ravi Kumar, MNV. Role of antioxidants in Sciences. 81:95-905.

Regoli F., Giuliani M.E. (2014). Oxidative Pathways of Chemical Toxicity and Oxidative relation to metal content and redox reactivity. *Free Radic. Res.* 39 : 1071-1081.

Retsky K.L., Chen K., Zeind J., Frei B.(1999). Inhibition of copper-induced LDL oxidation by vitamin C is associated with decreased copper binding to LDL and 2-oxo-histidine formation. *Free Radical Biology and Medicine.* 26(1-2): 90-98.

Rezaire A.(2012). Activité anti-oxydante, et caractérisation phénolique du fruit de palmier amazonien *Oenocarpus bataua* (patawa). Thèse de Doctorat de l'Université Antilles et de la Guyane, Faculté de Santé, Environnement. p : 57.

- Ribeiro M.A., Bernardo-Gil M.G., Esquivel M.M.** (2001).Melissa officinalis, L: study of antioxidant activity in supercritical residues. *J Supercritical Fluids*.21:51-60.
- Richard M.J., Belleville F., Chalas J., Ceballos-Picot I., Vitoux D., Boyer M.J, et al.**(1997). Les glutathion peroxydases : intérêt de leur dosage en biologie clinique. *Ann Biol Clin(Paris)*. 55 (3) :195-208.
- Richter B.D., baumgartner J.V., WigingtonP., Braun D.P.**(1988). How much water does a river need ?. *FreshwaterBiology*. 37: 231-249.
- Richter G.** (1993). Composés phénoliques in *Métabolisme des végétaux : physiologie et biochimie*. Ed Presse polytechnique et universitaire romande. 317-339.
- Rivera-Espinoza Y., Muriel P.** (2009). Pharmacological actions of curcumin in liver diseases or damage. *Liver Int*. 29: 1457-1466.
- Rohdewald P.** (2002). A review of the French maritime pine bark extract (Pycnogenol (R)), a herbal medication with a diverse clinical pharmacology. *Int J Clin Pharmacol Ther*. 40 (4) :158-168.
- Ronald S.L.**(2011). Implication des espèces réactives de l'oxygène dans le contrôle central de l'osmorégulation. Thèse de Doctorat de l'Université d'Arles VI, Faculté de Neurosciences. p : 35.
- Rouaki F.**(2016). Effet de l'ingestion de l'huile de tournesol oxydée et de la supplémentation en alpha-tocophérol sur certains paramètres structuraux et fonctionnels du tissu cardiaque chez le rat en croissance. Thèse de Doctorat de l'Université El-harach/alger, Faculté de Science Alimentaire. p : 14.
- Sainvitu R., Nott K., Richard G., Blecker C., Jérôme C., Wathelet J.P., Paquot M., Deleu M.** (2012). Structure, properties and obtention routes of flaxseed lignan secoisolariciresinol : a review, *Biotechnol. Agron.Soc.Environ*. 16 (1) : 115-124.
- Sarni-Manchado P., Cheynier V.** (2006). Les polyphénols en agroalimentaire. Ed Tec et Doc Lavoisier. p : 02-11.
- Sautin Y.Y., Nakagawa T., Zharikov S., Johnson R.J.** (2007). Adverse effects of the classic antioxidant uric acid in adipocytes : NADPH oxidase-mediated oxidative/nitrosative stress. *Am J Physiol Cell Physiol*. 293(2) : C584-596.

Sayre L.M., Moreira P.I., Smith M.A., Perry G. (2005). Metal ions and oxidative protein modification in neurological disease. *Ann Ist Super Sanità.* 41(2) :143-164.

Scalbert A., Williamson G. (2000). Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *J Nutr.* 130 : 2073S-2085S.

Schiavone S., Jaquet V., Trabace L., Krause K.H. (2013). Severe Life Stress and Oxidative Stress in the Brain : From Animal Models to Human Pathology /Antioxid Redox Signal. 18(12) : 1475-1490.

Sekli-Belaidi F.(2011). Fonctionnalisation de surfaces d'électrodes par un film de poly (3,4-éthylènedioxythiophène) PEDOT pour l'élaboration de microcapteur spécifique des acides ascorbique et urique : application à l'étude des propriétés antioxydantes du sérum sanguin. Thèse de Doctorat de l'Université de Toulouse, France. 1-14.

Sharma D., Sangha G.K. (2018). Antioxidative effects of aqueous extract of broccoli sprouts against Triazophos induced hepatic and renal toxicity in female Wistar rats. *J Appl Biomed.* 16: 100-110.

Shebis Y., Iluz D., Kinel-Tahan Y., Dubinsky Z., Yehoshua Y. (2013). Natural antioxidants : function and sources. *Food and Nutrition Sciences.* 4: 643-649.

Shils M.E., Olson J.A., Shike M., Ross A.C., Caballero B., Cousins R.J. (2006). *Modern Nutrition in Health and Disease*, 10^{ème} édition. Philadelphia (PA): Lippincott Williams & Wilkins.

Shils M.E., Shike M., Ross A.C., Caballero B., Cousins R.J.(2006). *Modern Nutrition in Health and Disease*. Tenth Edition. Lippincott Williams & Wilkins.

Shishodia S., Sethi G. (2005). Aggarwal BB. Curcumin : getting back to the roots. *Ann NY Acad Sci.* 1056: 206-17.

Sies H. (1991). Oxidative stress : from basic research to clinical application. *Am J Med* Vol.91 (3) : 31-38.

Sies H. (1999). Glutathione and its role in cellular functions. *Free Radic Biol Med.* 27 (9-10) :916-21.

Sies H., Stahl W. (1995). Vitamins E and C, beta-carotene, and other carotenoids as antioxidants. *The American Journal of Clinical Nutrition.* 1315S-1321S.

Singh U., Devaraj S., Jialal I. (2005). Vitamin E, Oxidative Stress, and inflammation. *Annual Review of Nutrition*. 25 : 151-175.

Socynska-Kordala M., Bakowska A., Oszmiansky J., Gabrielska J. (2001). Metal-ion flavonoid associations in bilayer phospholipid membranes. *Cell Mol Biol Lett*. 6 : 277-81.

Sohal R.S., Mockett R.J., Orr W.C. (2002). Mechanisms of aging : an appraisal of the oxidative stress hypothesis. *Free Rad Biol Med*. 33 (5) : 575-86

Souza H.P., Laurindo F.R., Ziegelstein R.C., Berlowitz C.O., Zweier J.L. (2001). Vascular NAD(P)H oxidase is distinct from the phagocytic enzyme and modulates vascular reactivity control. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 280(2) : 658-67.

Stadtman E.R. (1999). Role of oxidant species in aging. *Curr. Med. Chem*. 11 (9) : 1105-1112.

Stahl W., Sies H. (2003). Antioxidant Activity of Carotenoids. *Molecular Aspects of Medicine*. 24: 345-351.

Stahl W., Sies H. (1993). Physical Quenching of Singlet Oxygen and cis-trans Isomerization of Carotenoids. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 691: 10-19.

Stark G. (2005). Functional consequences of oxidative membrane damage. *J Membr Biol*. 205(1) : 1-16.

Sturtz L.A., Diekert K., Jensen L.T., Lill R., Culotta V.C. (2001). A fraction of yeast Cu, Zn-superoxide dismutase and its metallochaperone, CCS, localize to the intermembrane space of mitochondria. A physiological role for SOD1 in guarding against mitochondrial oxidative damage. *J Biol Chem*. 276:38084-38089.

Suzuki K., Ito Y., Inoue T., Hamajima N. (2011). Inverse association of serum carotenoids with prevalence of metabolic syndrome among Japanese. *Clin Nutr*. 30: 369-75.

Tan M.C., Van der mark F., Hoojendijk K., Van marrewijk G.A.M., Kool A.J. (1995). Development of methods for somatic cybridization of Solanaceae and the analysis of cybrids. *Acta Botanica Neerlandica*. 35 -45.

Tanwar B., Modgil R. (2012). Flavonoids : Dietary occurrence and health benefits. *Spatula DD*. 2 (1) : 59-68.

Thannickal V.J., Fanburg B.L. (2000). Reactive oxygen species in cell signaling. *Am J Physiol Lung Cell Moll Physiol.* 279 : L1005-28.

Thompson R.A. (1998). Emotional competence and the development of self. *Psychological Inquiry.* 9 : 308-309.

Tillement J.H. (2001). Protection in vitro des fonctions mitochondriales cérébrales par l'eresveratrol dans les états d'anoxie suivie de réoxygénation. *Bull. Acad. Med.* 1429-1445.

Tsai C.R., Anderson A.E., Burra S., Jo J., Galko M.J. (2017). Yorkie regulates epidermal wound healing in *Drosophila* larvae independently of cell proliferation and apoptosis. *Dev. Biol.* 427(1) : 61-71.

Tsao R. (2010). Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. *Nutrients.* 2 (12) : 1231-1246.

Turrens J.F. (1997). Superoxide production by the mitochondrial respiratory chain. *Bioscience Rep.* 17: 3-8

Urquiaga I., Leighton F. (2000). Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress. *Biol Res.* 33 (2) : 55-64.

Valavanidis A., Vlahoyianni T., Fiotakis K. (2005). Comparative study of the formation of oxidative damage marker 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) adduct from the nucleoside 2'-deoxyguanosine by transition metals and suspensions of particulate matter in relation to metal content and redox reactivity. *Free Radic. Res.* 39 : 1071-1081.

Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T.D, Mazur M., Telser J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol.* 39 (1) : 44-84.

Valko M., Rhodes C.J., Moncol J., Izakovic M., Mazur M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem. Biol. Interact.* 160: 1-40.

Vamecq J., Vallée L., Storme L., Gelé P., Bordet R. (2004). Les acteurs immédiats du stress oxydatif. Key players in oxidative stress. *La lettre du pharmacologue.* 18 (1) : 16-23.

Van-Stijin M.F., Ligthart-Melis G.C., Boelens P.G., Scheffer P.G., Teerlink Y., Twisk J.W., Houdijk A.P., Van-Leeuwen P.A. (2008). Antioxidant enriched enteral nutrition and oxidative stress after major gastrointestinal resection. *World J Gastroenterol.* 14:9660-6969.

Vaquier A.R.L.(2010). Intérêt d'un nouveau nutriment à visée anti-inflammatoire dans la gestion des troubles locomoteurs chez le cheval : aspects bibliographiques et étude clinique. Thèse de Doctorat vétérinaire, Ecole nationale vétérinaire d'Alfort. p : 199.

Vasconcelos S.M.L., Goulart M.O.F., Moura J.B.F., Manfredini V., Benfato M.S., Kubota L.T. (2007). Espécies reactivas de oxigênio et de nitrogênio, antioxidantes emarcadores de dano oxidativo em sangue humano : principais métodos analíticos para sua determinação. Quim. Nova. 30 (5): 1323-1338.

Vertuani S., Angusti A., Manfredini S. (2004). The antioxidants and pro-antioxidants network: An overview. Curr. Pharm. Des. 10: 1677-1694.

Wang M., Xu X.Y., Yang F., Zhang S.Y., Yang X.J. (2008). Development of an amperometric sensor for simultaneous determination of uric acid and ascorbic acid using 2-[bis (2-aminoethyl) amino] ethanol, 4,4'-bipyridine bridged copper (II) complex. J. Appl. Electrochem. 38: 1269-1247.

Wekbeker G., Cory G. (1988). Role of nucleotide reductase activity and growth of glutathione depleted mouse leukemia 1210 cells in vitro. Cancer letters. 40 : 257-264.

Wichtl I.M., Anton R.(2003). Plantes thérapeutiques. 2^{ème} Edition, Paris, p 692.

Wolinsky I. (1998). Nutrition in Exercise and Sport. 3th edition. New York : CRC Press.

Yagi K. (1970). A rapid method for evaluation of autoxidation and antioxidants. Agric. Biol. Chem. 34 (1): 142-145.

Yoshikawa T., Toyokuni S., Yamamoto Y., Naito Y. (2000). Free Radicals in Chemistry, Biology and Medicine. Eds: OICA International, London.

Yu B.P. (1994). Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. Physiol Rev. 74: 139-162.

Zhang L., Jope R.S. (1999). Oxidative stress differentially modulates phosphorylation of ERK, p38 and CREB induced by NGF or EGF in PC12 cells. Neurobiol Aging. 20 (3): 271-8.

Zhao P., Wang J., Ma H., Xiao Y., He L., Tong C., Wang Z., Zheng Q., Dolence E.K., Nair S., Ren J., Li J.A. (2009). Newly synthetic chromium complex-chromium (D-phenylalanine) 3 activates AMP-activated protein kinase and stimulates glucose transport. Biochem Pharmacol. 77 (6): 1002-10.