

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique  
Université Abderrahmane MIRA –Bejaia-  
Faculté des sciences de la nature et de la vie  
Département de Biologie Physico-Chimie

Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du Diplôme d'Etude Supérieur

Option :

**Biochimie**

Thème

**LES EFFETS VASODILATATEURS DES COMPOSES**  
**PHENOLIQUES DES VEGETAUX**

Présenté par Melle :

**Sofiana LOUNIS**

Devant le jury composé de:

**Présidente du jury : Melle Salima SEBAIHI**

**Examinatrice : Melle Nassima CHERAFT**

**Encadreur : Mme Nadjat DEBBACHE**

**Promotion 2011/2012**

## **Remerciements :**

**Avant tout, je remercie Dieu le tout puissant pour m'avoir donné santé et volonté pour l'élaboration de ce travail.**

**Je remercie les membres du jury pour l'honneur qu'ils me font d'évaluer ce travail.**

**Je remercie aussi Mme DEBACHE pour m'avoir encadrée et guidée pour la réalisation de ce travail.**

**Je remercie tous les enseignants pour tout ce qu'ils nous ont donnés de connaissances et de suivis.**

**Je dédie ce travail à toute ma famille, mes amis et à tous les étudiants de la promotion DES Biochimie de l'université Abderrahmane MIRA**

# Liste des Abréviations

**AA** : Acide Arachidonique.

**AC** : Adénylyl Cyclase.

**ADP** : Adénosine Diphosphate.

**AMPc**: Adénosine MonoPhosphate Cyclique.

**Ang II** : Angiotensine II.

**APA** : Apamine.

**ARN m**: Acide Ribonucléique messenger.

**ATP**: Adénosine Tri-Phosphate.

**BH4** : (6R)-5,6,7,8-tétrahydro-L-bioptérine.

**Bk** : Bradykinine.

**CaM** : Calmoduline.

**CAT** : Catalase.

**CML** : Cellule Musculaire Lisse.

**CMLV** : Cellule Musculaire Lisse Vasculaire.

**CMS** : Cellule Musculaire Squelettique.

**Cox 2** : Cyclooxygenase-2.

**CTX** : Charybdotoxine.

**EDHF**: Facteur Endothélial Hyperpolarisant.

**EDRF**: Endothelium Derived Relaxing Factor.

**eNOS** : endothelial Nitric Oxyde Synthase.

**ET1**: Endothéline1.

**FAD** : Flavine Adénine Dinucléotide.

**FMN** : Flavine Mononucléotide.

**GCs** : Guanylyl Cyclase soluble.

**GMPc**: Cyclic Guanosine Mono Phosphate.

**GPx**: Glutathione Peroxidase.

**GR**: Glutathione Reductase.

**IKca** : Canaux potassiques dépendants du calcium.

**iNOS** : Inductible Nitric Oxyde Synthase.

**LEE** : Limitante Elastique Externe.

**LEI** : Limitante Elastique Interne.

**LDL**: Low Density Lipoprotein

**Lox** : Liquide oxygène.

**MMP** : Métalloprotéinase Matricielle.

**Mn III** : 1-méthyl-4-pyridyl.

**NADPH** : Nicotinamide Dinucleotide Phosphate Hydrogen.

**NF- $\kappa$ B**: Nuclear factor-kappa B

**nNOS** : Neuronal nitric oxyde synthase.

**NO**: Monoxyde d'azote.

**NO<sub>2</sub>**: Nitrite.

**NO<sub>3</sub>**: Nitrate.

**NOS** : Nitric Oxyde Synthase.

**OONO<sup>-</sup>** : Peroxynitrite.

**PDK1** : Protéine kinase 1 dépendante des phosphoinositides.

**PGI<sub>2</sub>** : Prostacycline

**PGH<sub>2</sub>** : Prostaglandine H<sub>2</sub>.

**PI3K** : Phosphoinositide-3 kinase.

**PIP<sub>2</sub>**: Pipides membranaires phosphatidylinositol-4,5-biphosphates.

**PIP<sub>3</sub>** : Phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphates .

**PKA** : Protéine-kinase A.

**PKC**: Protéine-kinase C.

**PKG**: Protéine kinase G.

**ROS**: Reactive oxygene species.

**SOD**: Superoxyde dismutase

**TXA<sub>2</sub>** : Thromboxane A<sub>2</sub>.

## Sommaire:

### Liste des abréviations

Introduction.....	1
Chapitre I : Les composés phénoliques .....	3
I.1 Biosynthèse.....	3
I.2 Structure.....	3
I.3 Rôle chez la plante .....	6
I.4 Classification des composés phénoliques .....	6
I.4.1 Les acides phénols et les coumarines.....	7
I.4.2 Les flavonoïdes.....	9
I.4.3 Les tanins.....	11
I.5 Rôles biologiques .....	12
Chapitre II : Mécanisme de relaxation du système vasculaire.....	14
II.1 Les composantes du système vasculaire .....	15
II.1.1 Les vaisseaux sanguins.....	15
II.1.2 Structure des parois vasculaires.....	18
II.1.3 La cellule musculaire lisse vasculaire .....	19
II.1.4 L'endothélium.....	20
II.2 Mécanisme de relaxation.....	21
II.2.1 Les différents facteurs.....	22
II.2.1.1 Le monoxyde d'azote (NO).....	22
II.2.1.2 Le facteur endothélial hyperpolarisant (EDHF).....	28
II.2.1.3 La prostacycline (PGI <sub>2</sub> ).....	28
Chapitre III : Mécanismes vasodilatateurs des polyphénols.....	32

<b>III.1 La dysfonction endothélial.....</b>	<b>33</b>
<b>III.2 Les effets cardiovasculaires des polyphénols.....</b>	<b>34</b>
<b>III.3.Les polyphénols, des anti-thrombotiques .....</b>	<b>40</b>
<b>III.4Les polyphénols, des anti-athérosclérotiques .....</b>	<b>40</b>
<b>III.5 Les polyphénols, des anti-inflammatoires .....</b>	<b>41</b>
<b>Conclusion.....</b>	<b>46</b>
<b>Références bibliographiques</b>	



# Introduction

## **Introduction :**

L'endothélium constitue une interface cellulaire entre le sang circulant et la paroi vasculaire. Il est considéré comme une véritable glande endocrine capable de moduler la plupart des fonctions vasculaires pour maintenir l'homéostasie circulatoire. La régulation du tonus vasculaire, de l'adhésion cellulaire, de la prolifération des cellules musculaires lisses vasculaires et des processus inflammatoires en sont des exemples (Vanhoutte, 1982 ; Vanhoutte et Rimele, 1982 ; Moncada et *al.*, 1991 ; Schini-Kerth et *al.*, 1994 ; Busse et Fleming, 1996 ; Deanfield et *al.*, 2007). Sa position privilégiée, ainsi que les conditions physiologiques circulatoires, rendent l'ensemble des cellules endothéliales très sensibles aux modifications pathologiques. Depuis une vingtaine d'années, les données expérimentales et cliniques démontrent que l'endothélium vasculaire est une cible majeure des facteurs de risque cardiovasculaire.

Selon différentes données épidémiologiques, il existe une corrélation inverse entre le risque cardiovasculaire et la consommation de polyphénols d'origine naturelle (Ruff, 1999 ; Stoclet et *al.*, 2004). Les effets potentiellement bénéfiques des polyphénols sur le système cardiovasculaire pourraient être en partie dus à des effets directs sur la paroi vasculaire.

Après avoir introduit des généralités sur la relaxation vasculaire et les différents facteurs intervenant, l'objectif général de ce travail est de démontrer les principaux mécanismes d'action impliqués dans les effets vasodilatateurs des composés polyphénoliques.

# Chapitre I

## **I-Les composées phénoliques**

Les polyphénols (acides phénoliques, flavonoïdes simples et proanthocyanidines) sont des métabolites secondaires présents chez toutes les plantes vasculaires (Lebham, 2005). Ils constituent un des groupes des composés phytochimiques le plus importants et largement distribués, ce sont des substances d'origine végétale avec plus de 8000 structures phénoliques présentes dans tous les organes de la plante (Beta et *al.*, 2005).

### **I.1. Biosynthèse**

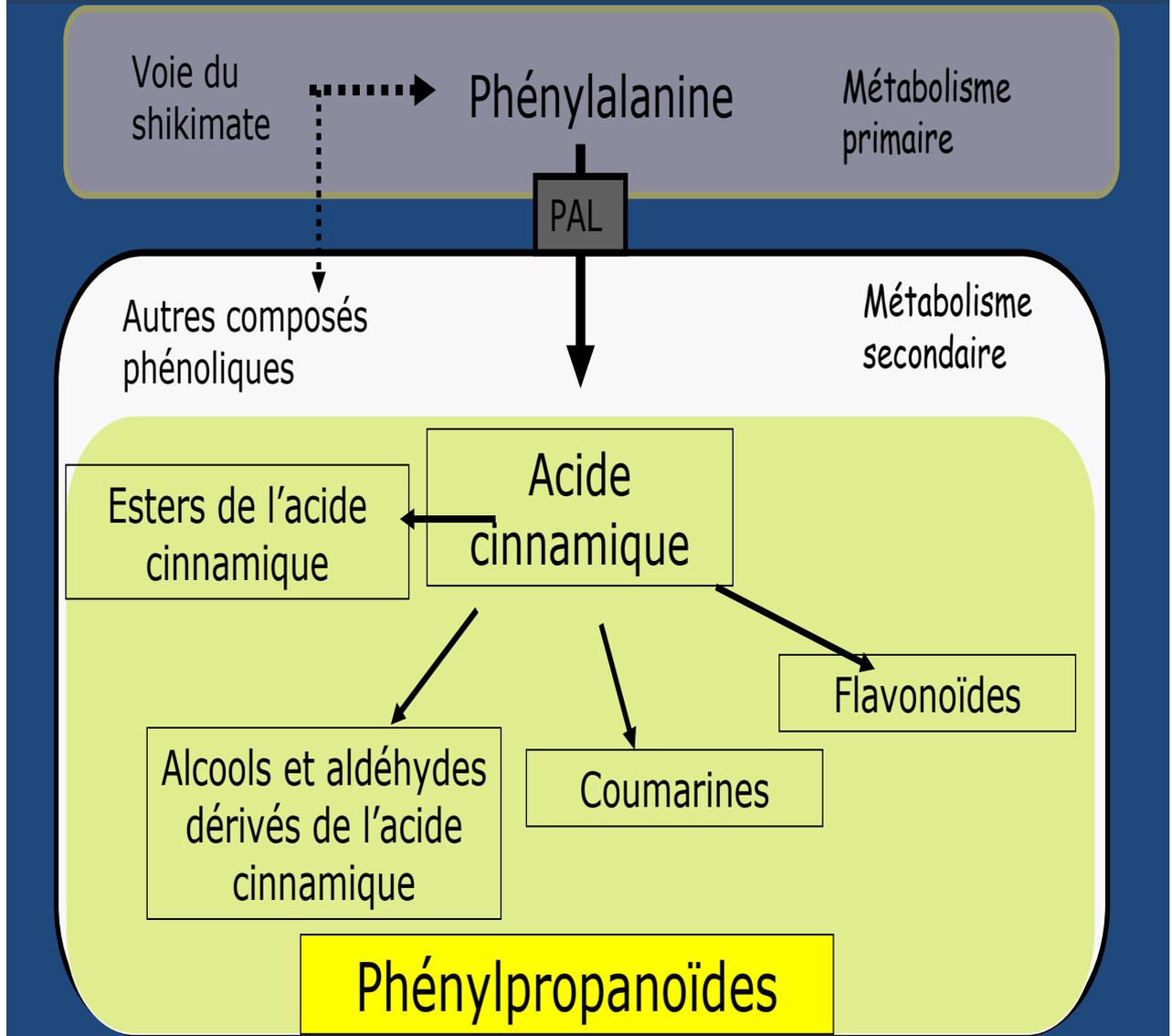
Ils résultent biogénétiquement de deux voies synthétiques principales:

- Voie des schikimates: conduit à la synthèse des acides aminés aromatiques puis par désamination donnent des acides cinnamiques et leurs dérivés (Lugasi et *al.* 2003) (Figure 1).
- Voie d'acétate: conduit à des polyacétates de longueurs variables menant par cyclisation à des composés phénoliques, tels que les anthraquinones (Lugasi et *al.*, 2003) (Figure 2).
- De plus, la diversité structurale des composés phénoliques est due à la participation simultanée des deux voies dans l'élaboration de composés d'origine mixte comme les flavonoïdes.

### **I.2. Structure**

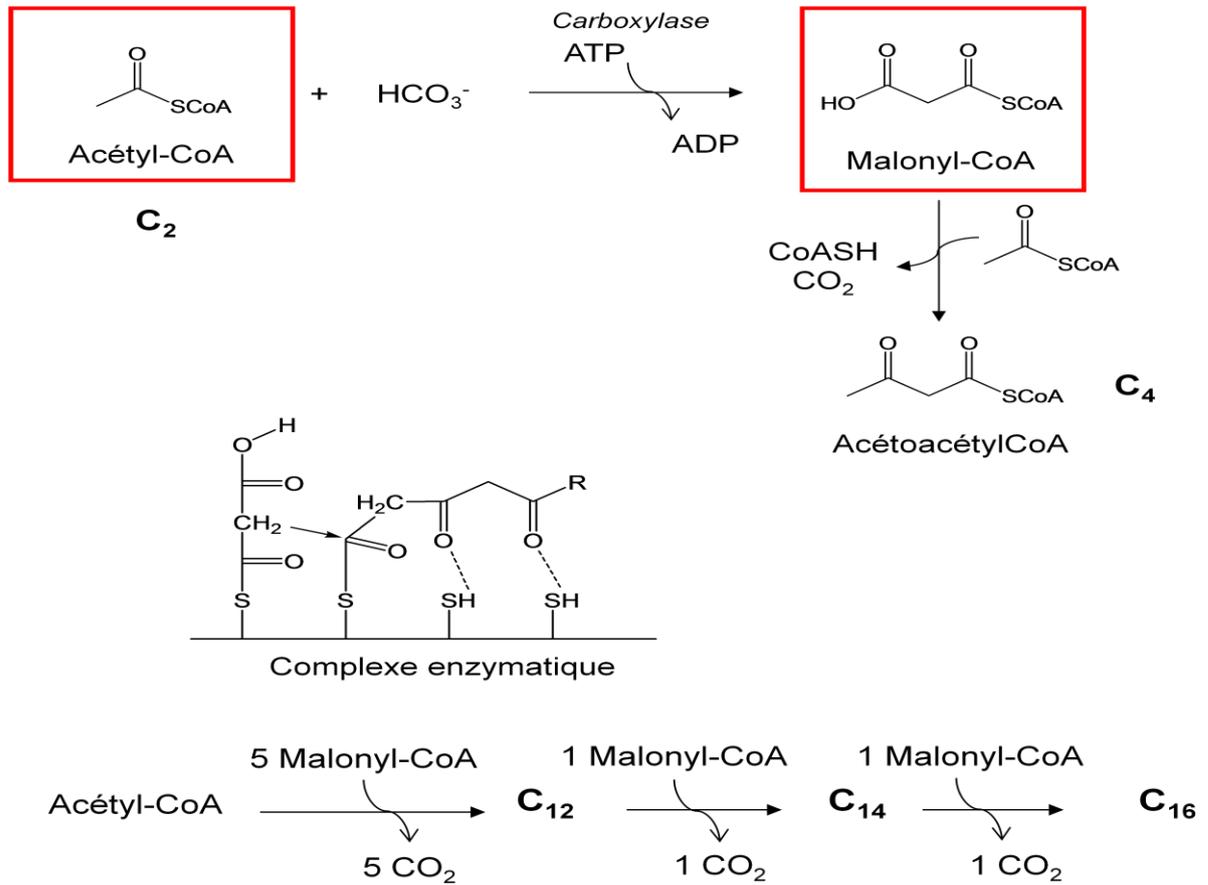
Les composés phénoliques regroupent un vaste ensemble de substances chimiques comprenant au moins un noyau aromatique, auquel sont directement liés un ou plusieurs groupes hydroxyles, libres ou engagés dans une autre fonction chimique (éther, méthylique, ester, sucre...) (Salunkhe, 1990; Bruneton, 1993). Les polyphénols naturels vont de molécules simples, comme les acides phénoliques, à des composés hautement polymérisés comme les tanins.

# Voie des schikimates



**Figure01** : Synthèse des acides aminés par la voie du shikimate (Lugasi et *al.* 2003).

1) Formation des chaînes polycétoniques en C<sub>12</sub>, C<sub>14</sub> ou C<sub>16</sub>



2) Cyclisation des chaînes polycétoniques

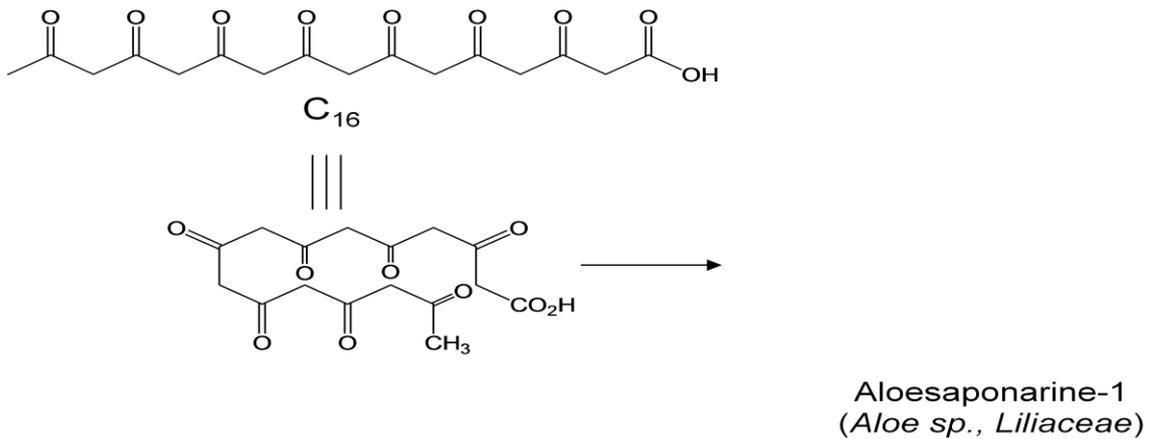


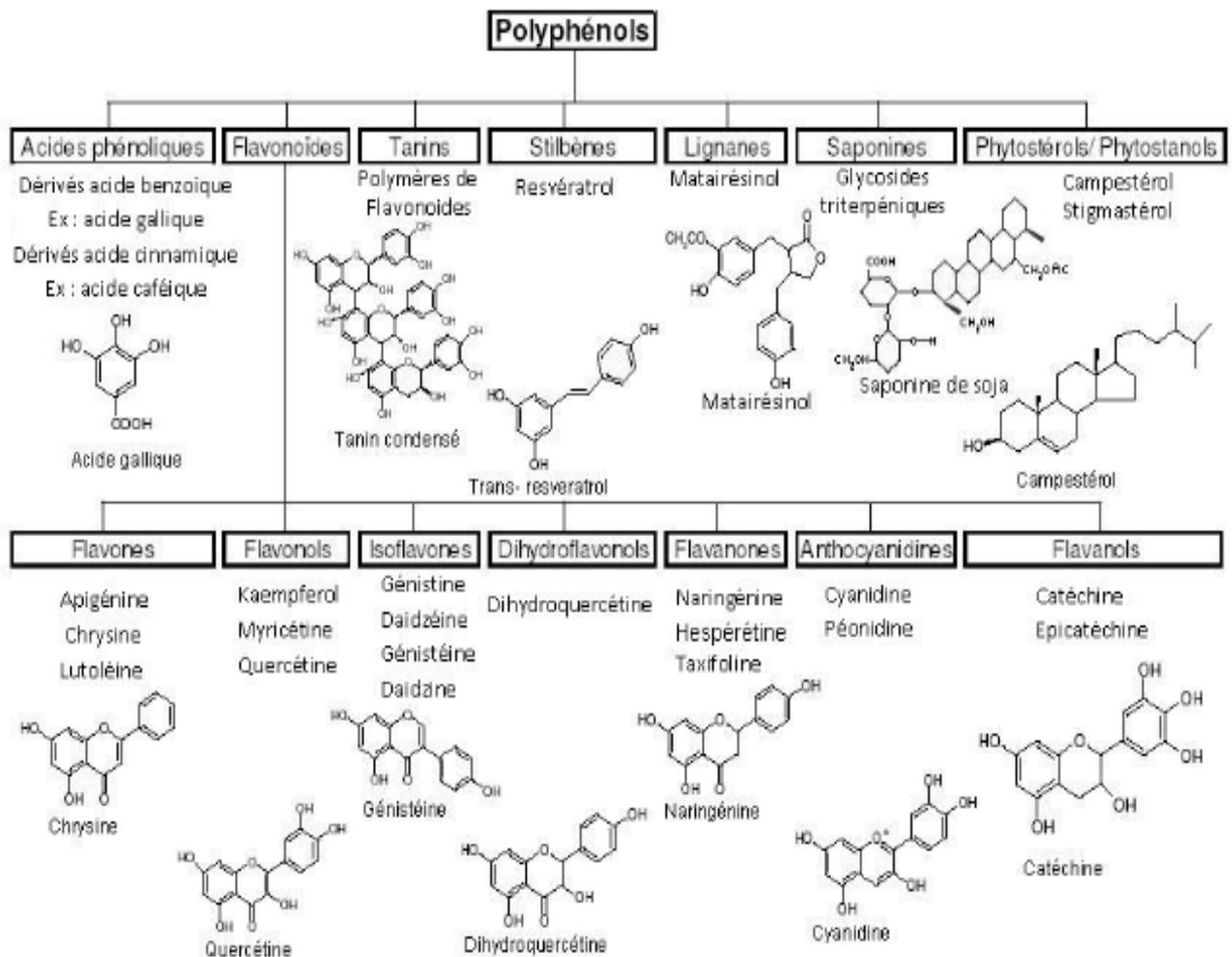
Figure02 : Biosynthèse des polyacétates (Lugasi et al. 2003).

### **I.3. Rôles chez la plante**

Les fonctions principales attribuées à ces composés chez les végétaux sont la protection contre les pathogènes, parasites et prédateurs ainsi que la limitation des dommages dus aux radiations UV. Dans ce cas, ils agissent par effet protecteur et par effet antioxydant (Lebham, 2005). Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieures (racine, tige, fleur, pollen, fruit, graine et bois) et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la reproduction, la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines ou la maturation des fruits (Boizot et Charpentier, 2006). Aussi ils donnent la couleur et l'odeur aux plantes (Liu, 2007).

### **I.4. Classification des composés phénoliques**

Il existe différentes classes de polyphénols (figure 3), notamment : les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, les stilbènes, les lignanes, les saponines, les phytostérols ou bien phytostanols. Les plus importants sont : les acides phénols, les flavonoïdes et les tanins.



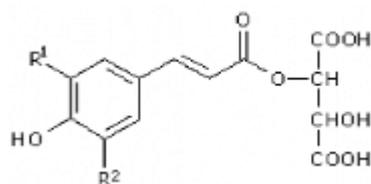
**Figure 03** : Les différentes classes des composés phénoliques [ @<sup>1</sup> ]

### I.4.1. Les acides phénols et les coumarines

Les acides phénoliques sont présents dans un certain nombre de plantes agricoles et médicinales (Psotová et al., 2005). Les acides phénoliques sont formés d'un squelette à sept atomes de carbone.

**I.4.1.1. Les acides benzoïques** : Ils sont principalement représentés par les acides p-hydroxy benzoïques, protocatéchiques, vanilliques, galliques, cyringiques, salicyliques, o-hydroxybenzoïques et gentsiques (Ribereau G, 1968).

**I.4.1.2. Les acides cinnamiques** : Ces acides possèdent une structure du type C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>. Les composés les plus fréquents sont l'acide p-coumarique, l'acide caféique, l'acide fertarique et l'acide sinapique (figure 4) (Ribereau G, 1968).

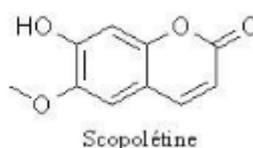
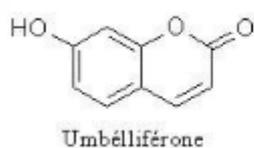


<b>Esters hydroxycinnamiques</b>	<b>R<sub>1</sub></b>	<b>R<sub>2</sub></b>
Acide t-caféique	OH	H
Acide p-coumarique	H	H
Acide t-fertarique	OCH <sub>3</sub>	H
Acide t-sinapique	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>

**Figure 04:** Structures chimiques de quelques dérivés de l'ester hydroxycinnamiques.

#### I.4.1.3. Les coumarines

On peut considérer que les différentes coumarines dérivent des acides cinnamiques ortho-hydroxylés, de même que la coumarine elle-même dérivée de l'acide o-coumarique. Les coumarines les plus fréquentes sont l'umbelliférone ou ombelliférone, l'aesculétine, la scopolétine, dont les substitutions correspondent, respectivement, aux acides : p-coumarique, caféique et férulique, également la fraxétine et la daphnéine.



**Figure 05 :** Structure chimique de quelques coumarines (Dean, 1963).

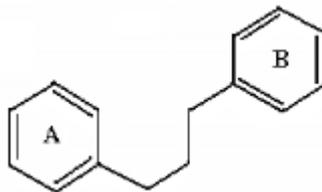
#### I.4.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des substances généralement colorées répandues chez les végétaux; on les trouve dissoutes dans la vacuole à l'état d'hétérosides ou comme constituants de plastes particuliers, les chromoplastes (Guignard, 1996).

Ils sont une très large gamme de composés naturels et sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs: racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines, bois. Leur fonction principale semble être la coloration des plantes (Gabor, 1988).

#### I.4.2.1. Structure

Les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et ils possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbone constitué de deux unités aromatiques, de cycle en C<sub>6</sub> (A et B), reliés par une chaîne en C<sub>3</sub> (figure 06) (Bruneton, 1999).



**Figure 06 : Squelette de base des flavonoïdes (Dean, 1963).**

#### I.4.2.2. Biosynthèse des flavonoïdes

Elle se fait à partir d'un précurseur commun, la 4, 2', 4', 6'-tétrahydroxychalcone. Cette chalcone métabolisée sous l'action d'enzyme, la chalcone isomérase, en naringénine (1). Sur cette dernière agit la flavonesynthase pour donner: l'apigénine (2) ou le dihydroflavonol (3). Le dihydroflavonol, en présence de la flavonolsynthase, se métabolise en kaempférol (4) ou en leucoanthocyanidol. Ce dernier est le précurseur des flavan-3,4-ols (6) et anthocyanidols (7), ce dernier sous l'action de la 3-O-glycosyltransférase, se transforme en anthocyanoside (8) (Marfek, 2003) (Figure07).

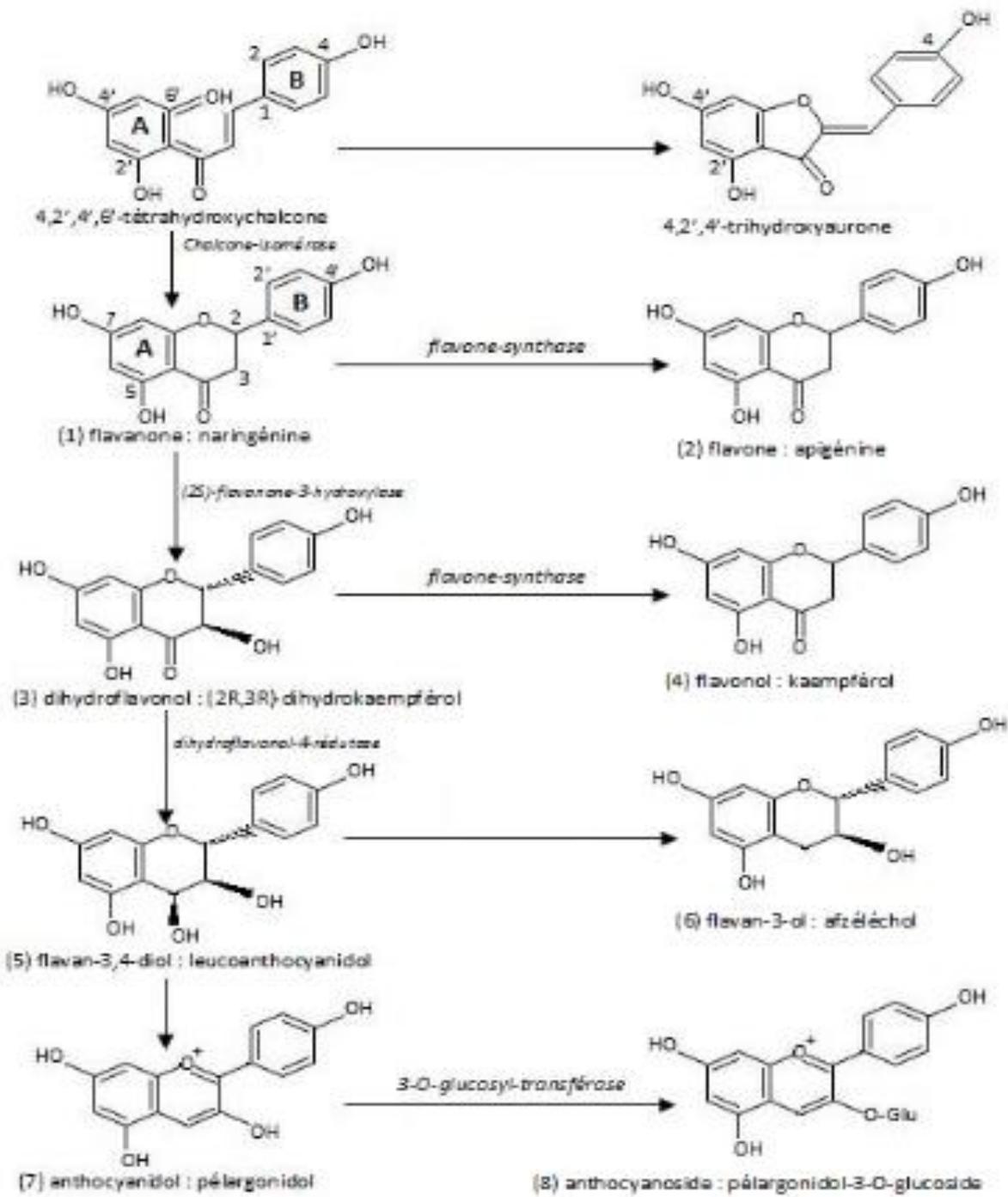


Figure 07: Biosynthèse des flavonoïdes (Bruneton, 1999).

### I.4.2.3.Principales classes de flavonoïdes

Ils peuvent être regroupés en différentes classes selon le degré d'oxydation du noyau pyranique central, le noyau B relié à l'hétérocycle C dans les positions 2, 3 (Tableau01).

**Tableau I** : Les différentes classes de flavonoïdes (Bouakaz, 2006)

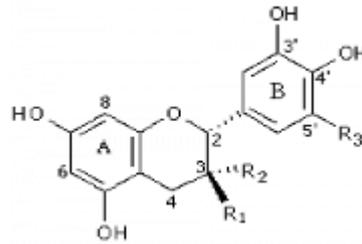
<b>Classes</b>	<b>Positions</b>
<b>Les Flavanes</b>	Dans la position 2 : le flavonoïde est appelé Flavane.
<b>Les Flavanones</b>	Si la position 4 de la flavane porte un groupement carbonyle, la flavane est appelé Flavanone.
<b>Les Flavones</b>	Si la liaison C2-C3 dans le squelette de la flavanone est insaturée le composé est nommé Flavone.
<b>Les Flavanols</b>	Si le squelette est substitué en position 3 par un groupement hydroxyle il est désigné par le nom de Flavonol.
<b>Les isoflavones</b>	Dans la position 3 : le flavonoïde est désigné par le terme Isoflavane

### I.4.3. Les tanins

Les tanins sont des polyphénols que l'on trouve dans de nombreux végétaux tels que les écorces d'arbre et les fruits (raisin, datte, café, cacao...). Leur structure complexe est formée d'unités répétitives monomériques qui varient par leurs centres asymétriques et leur degré d'oxydation (Hemingway, 1992). Ils sont divisés en deux groupes :

#### I.4.3.1. Les tanins condensés (flavan-3-ols)

Appelés aussi proanthocyanidine, sont largement répandus dans l'alimentation humaine (fruits, légume, thé, dattes, ...). La structure complexe des tanins condensés (Figure 08) est formée d'unités répétitives monomériques qui varient par leur centre asymétrique et leur degré d'oxydation (Hemingway, 1992). Les formes naturelles monomériques des flavan-3-ols se différencient par la stéréochimie des carbones asymétrique C<sub>2</sub> et C<sub>3</sub> et par le niveau d'hydroxylation du noyau B (figure 08). On distingue ainsi les catéchines (dihydroxylées) des gallocatéchines (trihydroxylées).



**Figure08: Structure chimique des tanins condensés (Guignard, 1996).**

#### **I.4.3.2. Les tanins hydrolysables**

Les tanins hydrolysables sont des esters de glucides ou d'acide phénols, ou de dérivés d'acides phénols ; la molécule glucidique est en général du glucose, mais dans certains cas des polysaccharides (Ribereau G, 1968). Ce groupe de tanins est caractéristique des Dicotylédones ; on le rencontre dans tous les organes : racines, tiges, feuilles ou fruits avant la maturité. Ces tanins en raison de leurs nombreux groupements OH se dissolvent plus ou moins (en fonction de leur poids moléculaire) dans l'eau, en formant des solutions colloïdales (Guignard, 1996).

Des liaisons carbone-carbone entre noyaux (liaisons biphényle réalisées par couplage oxydatif), conduisent à des molécules ramassées plus rigides de solubilité diminuée dites les tanins éllagiques. (Guignard, 1996).

#### **I.5. Rôles biologiques**

Les polyphénols contribuent à la quantité et la qualité des aliments, certains d'entre eux ont des propriétés vitaminiques utilisées par l'industrie pharmaceutique. Ils interviennent également dans la digestibilité des aliments, dans l'utilisation physiologique des protéines (les tanins) (Helmja et *al.*, 2009).

Les polyphénols attirent l'attention de plusieurs chercheurs due à leur potentiel antioxydant (Helmja et *al.*, 2009);les nutriments riches en polyphénols ont été souvent associés avec la diminution de risque de développer plusieurs maladies comme les maladies cardiovasculaires (Frankel et *al.*, 1995; Scalbert, 2005).Les polyphénols possèdent des propriétés antioxydantes et sont capables de piéger les radicaux libres (l'effet scavenger) générés en permanence par notre organisme ou formés en réponse à des agressions de notre environnement (Halliwell, 1990; Vinson et Dabbagh., 1995).

**Tableau II:** Activités biologiques des composés polyphénoliques (Frankel et *al.*, 1995).

<b>Polyphénols</b>	<b>Activités</b>	<b>Auteurs</b>
Acides phénols (cinnamique et benzoïque)	Antibactériens	Didry et <i>al.</i> , 1982
	Antifongiques	Ravn et <i>al.</i> , 1984
	Antioxydants	Hayase et Kato, 1984
Coumarines	Vasoprotectrices et antioedémateuses	Mabry et Ulubelen, 1980
Flavonoïdes	Antitumorales	Stavric et Matula, 1992
	Anticarcinogènes	Das et <i>al.</i> , 1994
	Anti-inflammatoires	Bidet et <i>al.</i> , 1987
	Hypotenseurs et diurétiques	Bruneton, 1993
	Antioxydants	Aruoma et <i>al.</i> , 1995
Anthocyanes	Protection des veines et capillaires	Bruneton, 1993
Proanthocyanidines	Effets stabilisants sur le collagène	Masquelier et <i>al.</i> , 1979
	Antioxydants	Bahorun et <i>al.</i> , 1996
	Antitumorales	De Oliveira et <i>al.</i> , 1972
	Antifongiques	Brownlee et <i>al.</i> , 1992
	Anti-inflammatoires	Kreofsky et <i>al.</i> , 1992
Tanins galliques et catéchiques	Antioxydants	Okuda et <i>al.</i> , 1983
		Okamura et <i>al.</i> , 1993

# Chapitre II

## **II- Mécanisme de la relaxation du système vasculaire**

Le système vasculaire permet de distribuer dans tous les tissus le sang qui transporte toutes les molécules nécessaires au bon fonctionnement des cellules (oxygène, glucose, etc.), et d'éliminer les déchets en les transportant au niveau des reins ou des poumons.

On peut distinguer : *le réseau artériel* qui part du cœur vers les organes et *le réseau veineux* qui ramène le sang au cœur (Clark et Glagov 1985).

### **II.1 les composantes du système vasculaire**

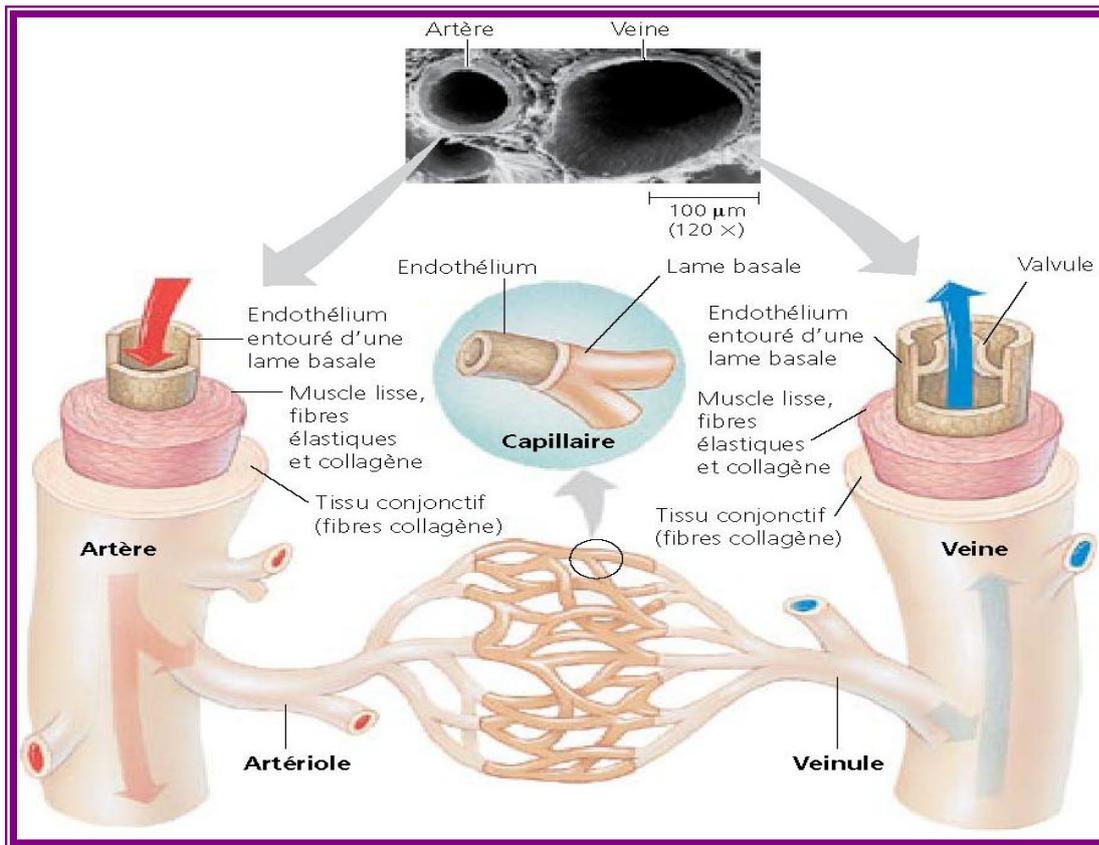
Toute variation est perçue au niveau des cellules vasculaires et se traduit, à long terme, par des modifications fonctionnelles et structurales du vaisseau. L'augmentation chronique de débit stimule la production et l'activation de métalloprotéinases matricielles (MMP) qui dégradent alors les fibres élastiques et contribuent directement à la distension du vaisseau.

Cette augmentation du calibre vasculaire étire les cellules musculaires lisses ce qui entraîne à long terme une hypertrophie de la média et par conséquent un remodelage de l'artère (Wolinsky et Glagov 1967).

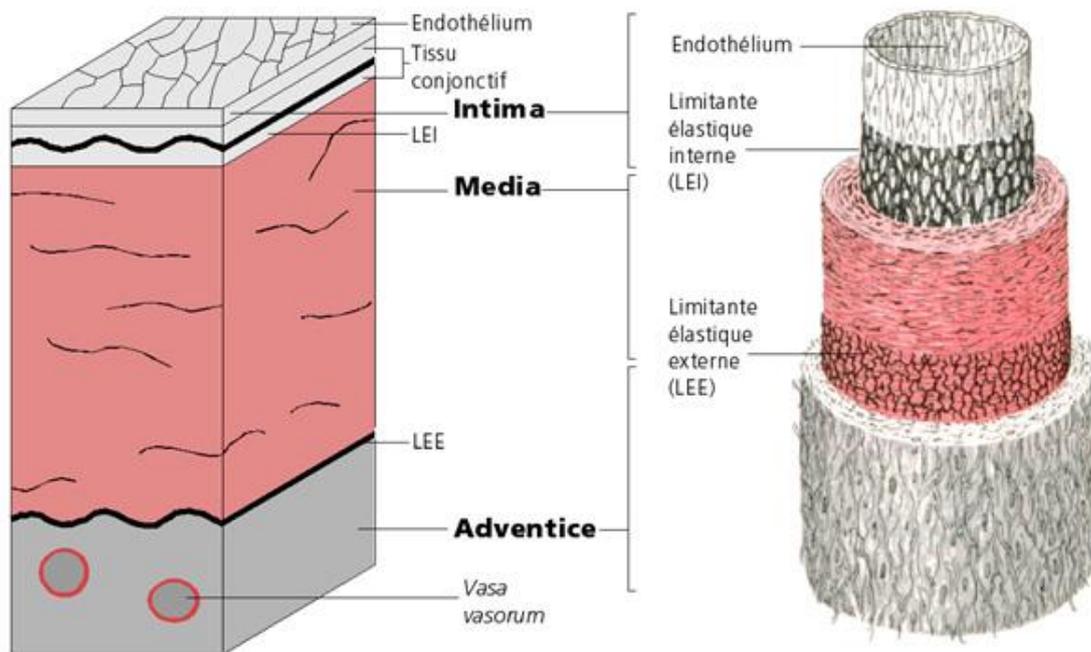
#### **II.1.1 Le vaisseau sanguin**

Les vaisseaux sanguins sont constitués de tuniques morphologiquement distinctes, de l'intérieur vers l'extérieur du vaisseau: l'intima avec la limitante élastique interne (LEI), la média, la limitante élastique externe (LEE) et l'adventice (Figure 10). L'importance et la complexité de ces tuniques dépendent du vaisseau sanguin et peuvent être très grandes ou réduites à une simple monocouche cellulaire (Fernando et Movat 1974).

**II.1.1.1 L'intima:** L'intima est principalement constituée d'une monocouche de cellules endothéliales et d'une fine couche de tissu conjonctif. Ces cellules endothéliales sont directement en contact avec le sang circulant.



**Figure09:** Les composants du système vasculaire (Wolinsky et Glagov 1967).



**Figure10:** Schéma de la structure pariétale d'une artère (Fernando et Movat, 1964).

**II.1.1.2 La média:** Elle est constituée de cellules musculaires lisses artérielles disposées au sein d'une matrice extracellulaire dense (fibres élastiques, fibrilles d'élastine, faisceaux et fibrilles de collagène, protéoglycanes) (Wolinsky et Glagov 1967).

Les artères musculaires possèdent une lame élastique interne et externe qui séparent la média respectivement de l'intima et de l'adventice, et quelques lamelles élastiques entre les différentes couches de CML (Fernando et Movat 1964).

**II.1.1.3 L'adventice:** Dans les artères élastiques, l'adventice est peu développée et constituée de fibres de collagène. Dans les artères musculaires de résistance, l'adventice est au contraire très développée et se continue en dehors avec le tissu conjonctif environnant. Elle contient également quelques fibres élastiques épaisses et des fibroblastes, des mastocytes, des macrophages, et parfois des cellules de Schwann associées à des terminaisons nerveuses (Wolinsky et Glagov 1967).

**II.1.1.4 L'endothélium :** Les cellules endothéliales, du fait de leur situation, assurent trois fonctions principales:

- Le maintien de la fluidité du sang au contact de la paroi.

- Une barrière de perméabilité des composants sanguins

- Un régulateur des vasomotricités artérielles par la sécrétion de substances contractantes (endothéline ou le thromboxane A<sub>2</sub>) et relaxantes (la prostacycline ou le monoxyde d'azote ou NO) qui agissent sur le muscle de la média sous-jacente (Wolinsky et Glagov 1967).

**II.1.1.5 Vasovasorum :** Pour les vaisseaux de gros diamètre, la nutrition des cellules constituant la paroi vasculaire est assurée à la fois par le sang circulant dans le vaisseau mais aussi à partir d'un système capillaire: **le vasovasorum**.

Ce réseau capillaire va apporter des nutriments aux cellules les plus éloignées de la lumière du vaisseau (Wolinsky et Glagov 1967).

**II.1.1.6 Innervation :** Les vaisseaux sont innervés par des fibres nerveuses dont les afférences aboutissent à la limite de la média et de l'adventice. Ces fibres nerveuses agissent directement sur les CML de la couche la plus externe de la média puis la transmission de l'excitation se fera de proche en proche par couplage électrique entre les

cellules. La densité de l'innervation est inversement corrélée à la taille et à la résistance du vaisseau (Wolinsky et Glagov 1967).

## II.1.2 Structure des parois vasculaires

La paroi des vaisseaux sanguins présente une structure stratifiée, complexe, où l'on distingue trois constituants fondamentaux:

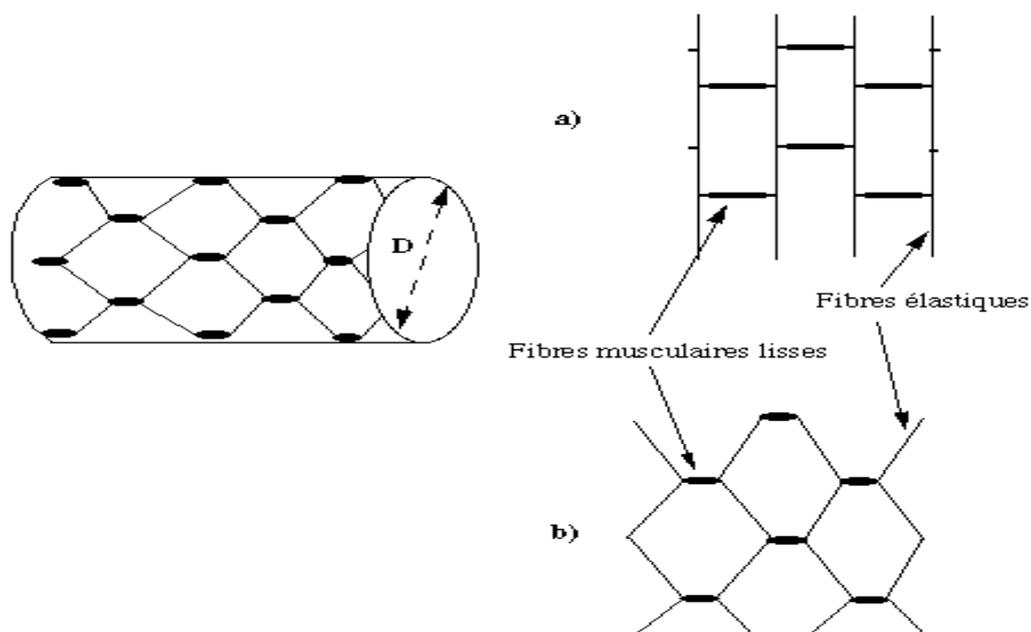
-1) Les fibres d'élastine: elles apparaissent sous la forme de lames élastiques concentriques (interne ou externe), et sous la forme de fibres disposées en couches superposées et parallèles au sein de la média,

- 2) Les fibres de collagène: forment des boucles lâches, quand la paroi n'est pas étirée. Quand la pression intra-vasculaire augmente, ces boucles se défont en limitant la dilatation du vaisseau.

-3) Les fibres musculaires lisses: il en existe deux catégories:

-les *cellules musculaires de tension*, fixées à des fibres élastiques, elles peuvent, en se contractant, augmenter la tension du tissu élastique et modifier ainsi le module d'élasticité de la paroi artérielle sans en modifier le diamètre (Figure 11).

-les *cellules musculaires en anneau*, reliées les unes aux autres, forment un cordon hélicoïdal. Cet arrangement se retrouve principalement dans les artères de type muscle, les artérioles et les sphincters pré-capillaires (Fernando et Movat 1964).



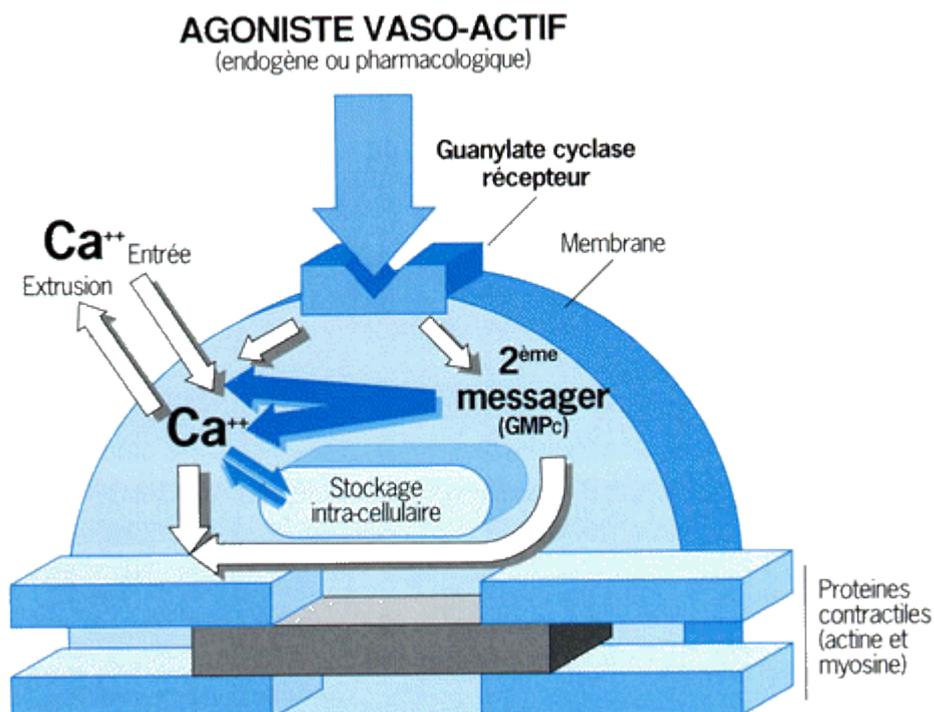
**Figure 11 :** Structure fonctionnelle de la paroi artérielle. a) fibres musculaires et élastiques au repos, b) Contraction des fibres musculaires (Fernando et Movat 1964).

### II.1.3 La cellule musculaire lisse vasculaire

Les cellules musculaires ont une seule et même fonction dans l'organisme: la contraction qui aboutit à son raccourcissement (Engerman, Pfaffenbach et Davis 1967).

Dans des conditions physiologiques, les CML sont toujours soumises à une multitude de stimuli, ce qui fait que les cellules sont toujours dans un état semi-contracté.

L'état contractile des CML est en effet directement lié au taux du  $\text{Ca}^{2+}$  intracellulaire libre dans le cytoplasme de ces cellules mais aussi à la sensibilité de l'appareil contractile à ce  $\text{Ca}^{2+}$ . Ce taux est très finement régulé dans la CMLV et est fait à la fois fonction des entrées/sorties de  $\text{Ca}^{2+}$  de la cellule mais aussi de sa libération et de son recaptage par le réticulum sarco-endoplasmique. Les entrées de  $\text{Ca}^{2+}$  d'origine extracellulaire sont essentiellement modulées par le potentiel de membrane alors que les libérations de calcium des réserves endoplasmiques dépendent plus de messagers intra cellulaires comme la  $\text{GMPc}$  (Engerman et al., 1967) (Figure 12).



**Figure 12:** Expression d'un stimulus vaso-dilatateur au niveau de la fibre lisse vasculaire. (Bolton., 1979)

#### **II.1.4 L'endothélium**

L'endothélium représente une barrière de  $5000\text{m}^2$  de surface entre le sang et les tissus.

La cellule endothéliale est une cellule polarisée.

- Le côté basal est ancré sur la matrice thrombogène car le sous-endothélium est composé de macromolécules pro-coagulantes, synthétisées par la cellule endothéliale: le collagène et le facteur vonWillebrand.
- La face apicale est en contact avec le sang circulant et représente la surface non thrombogène du fait de son organisation et de sa production de substances anti coagulantes et anti agrégantes.

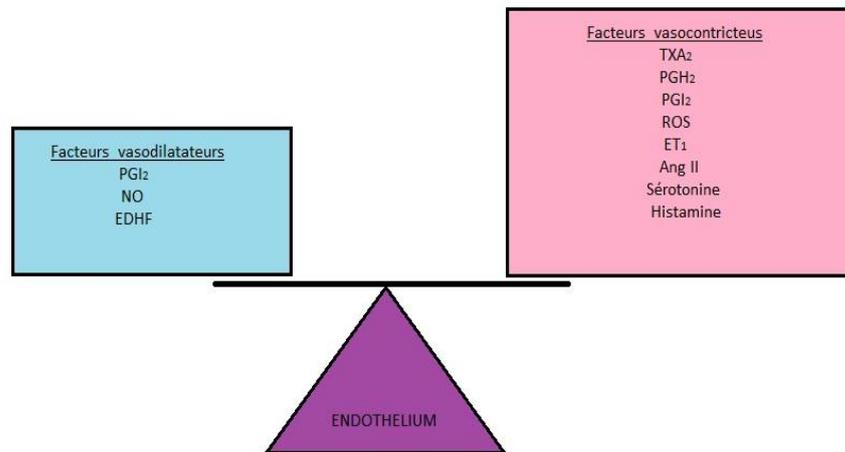
L'étude des cultures de cellules endothéliales *in vitro* a permis de mettre en évidence la fonction endothéliale :

- la promotion et l'inhibition de la croissance
- la vasoconstriction et la vasodilatation
- l'adhésion et la non-adhésion des cellules sanguines
- l'anti-coagulation et la pro-coagulation, « l'hémostase »

De cette façon, l'endothélium contrôle le tonus vasomoteur, régule la structure vasculaire, maintient les fluides du sang, et régule la réponse inflammatoire et immunologique (Florey, 1966).

#### **II.2. Mécanisme de relaxation**

L'endothélium module le tonus et la vasomotricité des cellules musculaires lisses sous jacentes en libérant de nombreux facteurs de relaxation et de contraction. Dans les conditions normales, la libération des facteurs de relaxation qui sont des radicaux libres, en particulier le monoxyde d'azote (NO), prédomine sur celle des facteurs de contraction (Figure 13).



**Figure 13** : Facteurs vasodilatateurs et vasoconstricteurs de l'endothélium (Palmer et *al.*, 2007).

## II.2.1 Les différents facteurs

### II.2.1.1 Le monoxyde d'azote (NO)

Le NO joue un rôle clé au niveau vasculaire puisqu'il régule le tonus vasculaire de par son action vaso-relaxante (Aliiev et *al.* 2000; Taddei et *al.* 2003; Walford et *al.* 2003). En fait, il est le principal agent de vaso-relaxation endothélium-dépendant à l'intérieur des artères (Wheatcroft et *al.*, 2003). Le NO est un excellent messenger intracellulaire de par sa facilité à diffuser à travers la plupart des cellules et tissus (Ignarro et *al.*, 1987; Palmer et *al.*, 1987 ; Beckman et *al.* 1996).

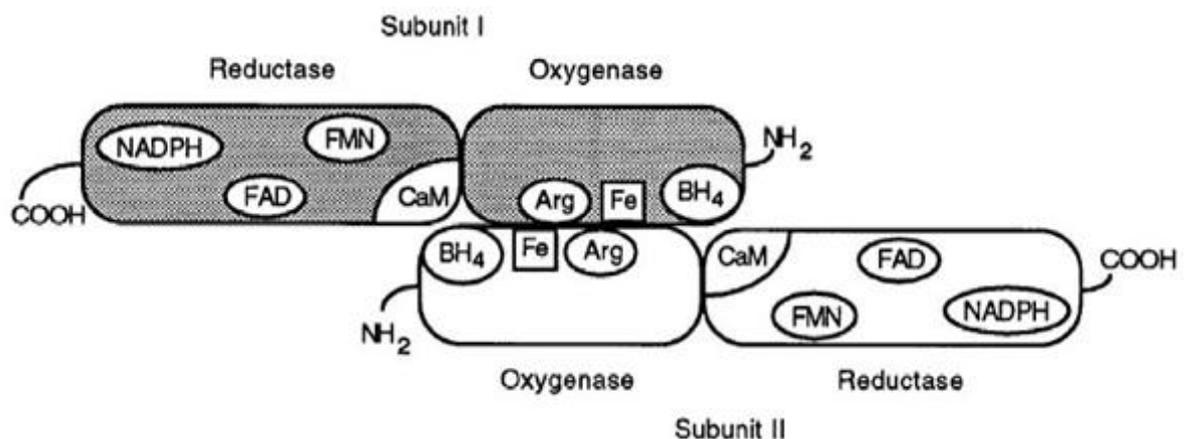
Les recherches réalisées au cours de ces dernières années, sur divers modèles animaux mais aussi chez l'Homme, ont permis d'établir que le dysfonctionnement de la voie du NO endothélial joue un rôle important dans l'initiation et la progression du processus

d'athérosclérose (Palmer et *al.*,2007). Elle est liée en grande partie à un 'stress oxydant' qui conduit à une diminution de l'effet protecteur du NO endothélial. Devant ces situations, différentes stratégies ont été envisagées pour restaurer l'effet protecteur du NO endothélial, par diminution du stress oxydant et/ou par supplémentation en NO.

### - Biosynthèse du NO

Le NO est synthétisé par une famille d'enzymes, les NOS (nitric oxyde synthase), laquelle comprend les isoformes eNOS (endothelial), nNOS (neuronal) et iNOS (inductible).

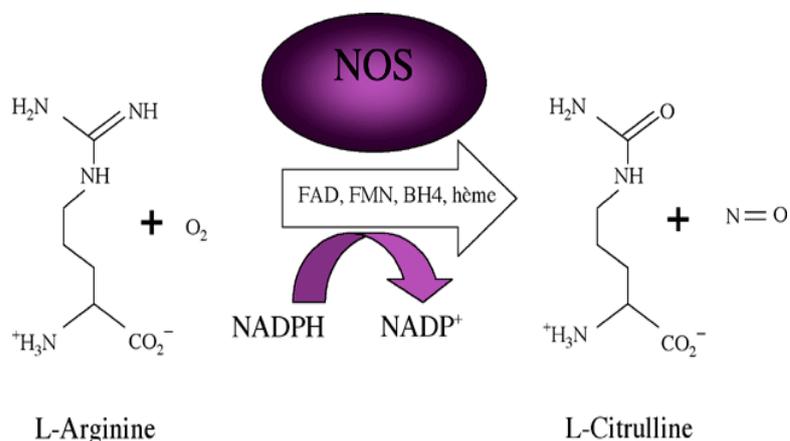
Ces trois isoformes catalysent la formation du NO par une réaction d'oxydation, laquelle s'effectue à partir de la L-arginine, de la NADPH (nicotinamide dinucleotide phosphate hydrogen) et de l'oxygène. Pour ce faire, la présence de nombreux co-facteurs comme la BH4 (6R)-5,6,7,8-tétrahydro-L-bioptérine), le NADPH, la FAD (flavine adénine dinucléotide) et la FMN (flavine mononucléotide) est essentielle. Les produits de cette oxydation sont la L-citrulline et le NO (Taddei et *al.* 2003; Vincent et *al.* 2003; Walford et *al.* 2003; Wheatcroft et *al.* 2003; Barbato et *al.* 2004) (Figure 14).



**Figure14** : Structure plane de l'enzyme eNOS (Taddei et *al.* 2003)

L'enzyme est constituée de deux monomères identiques, lesquelles fonctionnellement sont divisées en deux domaines majeurs, le domaine oxygénase en N-terminal et le domaine réductase en C-terminal.

Le premier domaine comprend les sites de liaison pour la L-arginine, la BH4 et résidus hème (Fe), tandis que le second domaine contient les sites de liaison pour le NADPH, la FAD et la FMN. Entre eux, on retrouve le site de liaison de la calmoduline (CaM) (Andrew et al., 2009) (Figure15).



**Figure 15:** Réaction catalysée par les NO-synthases (Andrew et al., 2009).

### -Isoformes de NOS :

Il existe trois Isoformes de NOS

**Tableau III :** L'expression des Isoformes de la NOS

NOS I neuronale	NO produit dans les terminaisons axonales non adrénérgiques et non cholinérgiques du système nerveux autonome
NOS II inductible	L'expression de NO est régulée par un grand nombre de cytokines pro-inflammatoires
NOS III Endothéliale	Exprimée dans l'endothélium

### - Régulation de l'expression et de l'activité de la NOS endothéliale

La protéine eNOS est exprimée de façon constitutive dans les cellules endothéliales, les plaquettes, les cellules du muscle lisse, les myocytes cardiaques et les neurones (Wheatcroft et al. 2003; Barbato et al. 2004). L'activité de l'enzyme eNOS et l'induction

de la vaso-relaxation endothélium-dépendante, peuvent être augmentées soit par des médiateurs comme l'acétylcholine et la bradykinine, soit par des hormones comme l'insuline, ou encore des stimuli mécaniques ou physiques tels que les forces de cisaillement et l'hypoxie (Naderali et *al.* 2001; Wheatcroft et *al.* 2003).

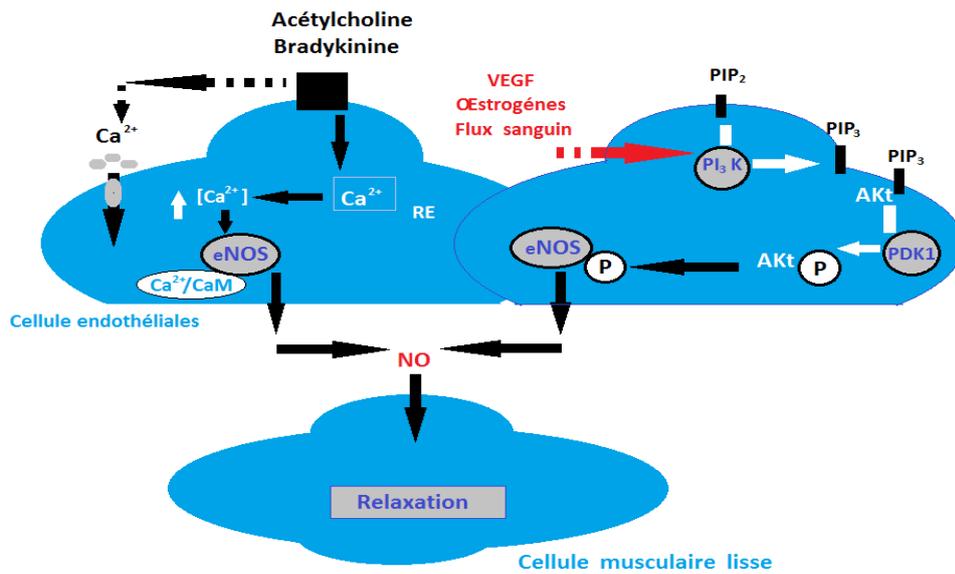
Deux voies régulent principalement l'activité de la NO synthase endothéliale : la voie du calcium et les phosphorylations possibles par les protéines kinases :

La première voie (calcium) est le principal effecteur de l'activation pharmacologique de la e-NOS par les peptides vaso-actifs (acétylcholine, bradykinine, angiotensine II) (Figure 17).

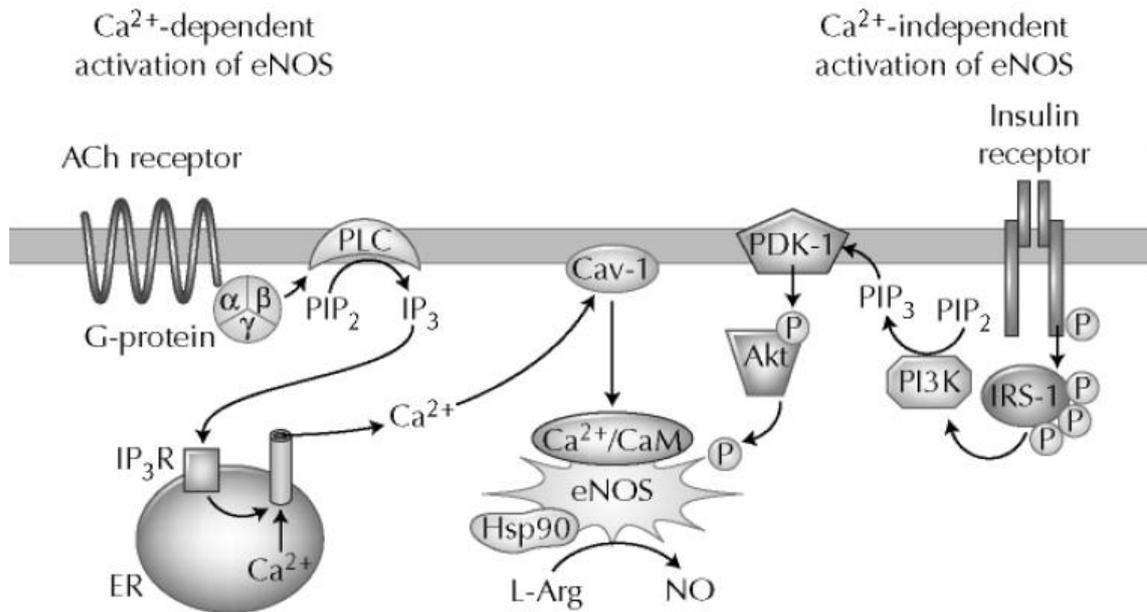
La seconde est le principal effecteur de l'activation par les forces de cisaillement. Cette répartition des rôles n'est pas univoque, le cisaillement mobilise également le calcium, certains agonistes de la NO synthase agissent via l'activation de protéines-kinases.

A l'état non-stimulé la e-NOS est associée à la membrane plasmique au niveau des cavéoles, où elle est réprimée par la cavéoline-1. Lorsqu'un ligand comme l'acétylcholine ou la bradykinine lie un récepteur à 7 domaines transmembranaires, l'interaction ligand-récepteur membranaire va activer la phospholipase-C, générer des inositols phosphates, et mobiliser le calcium dans la cellule endothéliale. Le calcium ainsi mobilisé va se fixer sur la calmoduline et l'ensemble, quatre molécules de  $Ca^{2+}$  et une molécule de calmoduline, va déplacer la cavéoline de son site de liaison répresseur sur la e-NOS et permettre ainsi l'activation de l'enzyme. C'est le mode d'activation aiguë (burst phase) de la NO synthase (Figure 16).

Le second système de régulation agit à plus long terme via la phosphorylation de l'enzyme par les protéines-kinases. Deux systèmes de protéines kinases semblent jouer un rôle prépondérant dans l'activation au long cours de la e-NOS, la voie PI-3 kinase/Akt et la protéine-kinase A (PKA) activée par l'AMP cyclique. Ces deux enzymes phosphorylent probablement les sérines en position 1179 et 635 de la e-NOS provoquant son activation et sa translocation. D'autres protéines kinases peuvent également moduler l'activité de la e-NOS : la PKC semble avoir un rôle répresseur, alors que la CaM-kinase et l'AMP-kinase sont activatrices (Boo et Jo., 2003).



**Figure 16 :** Régulation de la NOS endothéliale (Mount et al.,2007).



**Figure17 :** Voie d'activation d'eNOS dépendante ou indépendante du calcium (Vincent et al. 2003)

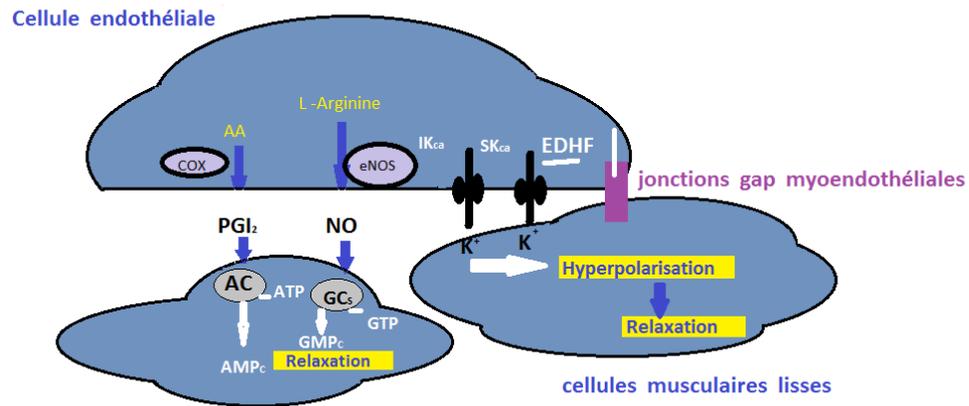
- Mécanisme d'action du NO d'origine endothéliale

Le monoxyde d'azote d'origine endothéliale est essentiellement impliqué dans la régulation des énergies cinétiques dans le système circulatoire :

- Le cisaillement endothélial lié au flux sanguin entretient une activité basale de sécrétion de NO par l'endothélium. Ce phénomène est diffus à tout l'organisme, générant un "tonus" vasodilatateur qui s'oppose au "tonus" vasoconstricteur et participe ainsi au maintien de la pression artérielle dans les limites physiologiques.

- L'endothélium-dépendance est le mécanisme majeur d'adaptation du système vasculaire de conductance aux besoins énergétiques périphériques. Ce mécanisme permet l'adaptation spécifique des vaisseaux de conductance concernés par le territoire périphérique métaboliquement actif. Par exemple, c'est le mécanisme par lequel les artères coronaires s'adaptent à l'augmentation de travail cardiaque, les artères des membres à l'exercice physique, l'artère mésentérique à la digestion, etc... (Palmer *et al.*, 1987) (Figure 18).

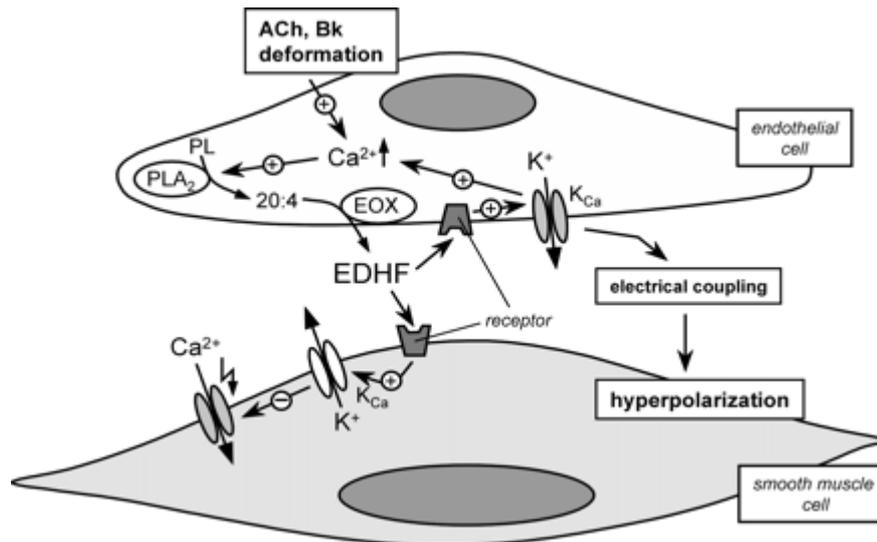
Une fois synthétisé, le NO étant un radical libre très lipophile et de très faible poids moléculaire, il est diffusé alors librement à travers les membranes cellulaires. Au niveau des cellules musculaires lisses, le NO se lie à la guanylate cyclase soluble intracytoplasmique qui produit alors de grandes quantités de cGMP (cyclic guanosine mono phosphate). La cGMP active la PKG (protéine kinase G) qui, à son tour, entraîne une diminution de la concentration intracellulaire en calcium. Cela a pour effet d'induire une vaso-relaxation. En circulation, la demi-vie du NO est très courte, soit environ 4 secondes. Il est rapidement dégradé par plusieurs sentiers métaboliques. Le NO peut réagir avec l'oxygène et former des nitrites/nitrates ( $\text{NO}_2/\text{NO}_3$ ), deux métabolites inactifs. De plus, le NO peut réagir avec l'anion superoxyde ( $\text{O}_2^-$ ) pour former du peroxy-nitrite ( $\text{OONO}^-$ ), un produit hautement réactif qui cause l'oxydation des lipides ainsi que la « nitrosylation » des acides aminés comme la tyrosine et la cystéine. Le NO peut également interagir avec la molécule de fer présente dans l'hème de l'hémoglobine et être ainsi dégradé. Ces différentes réactions ont pour effet d'abroger l'action vaso-relaxante du NO (Beckman *et al.* 1996).



**Figure 18** : Mécanisme d'action de NO et d'EDHF d'origine endothéliale (Beckman *et al.* 1996).

### II.2.1.2 Le facteur endothélial hyperpolarisant (EDHF)

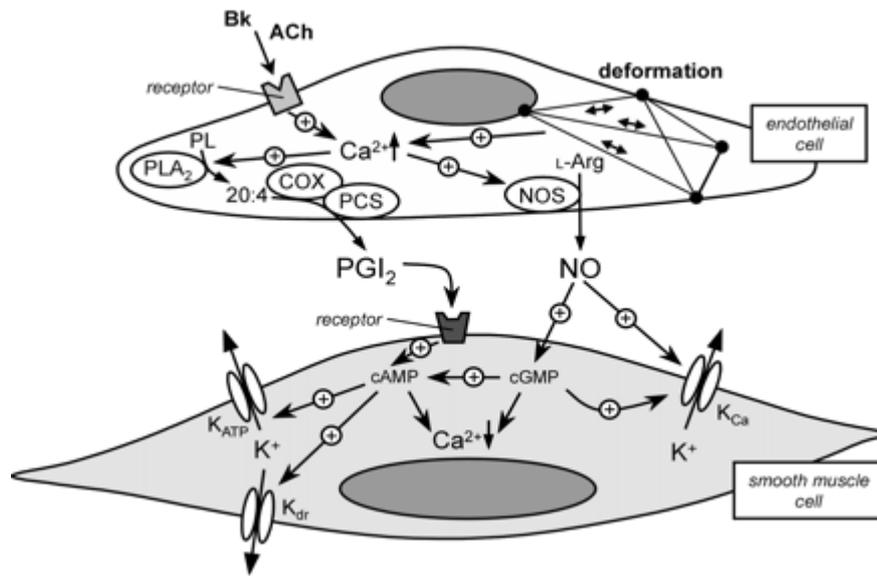
Dont la nature chimique n'est toujours pas connue, il stimule l'ouverture des canaux potassiques des cellules musculaires lisses entraînant ainsi leur hyperpolarisation et leur relaxation (Nagao et Vanhoutte, 1992). Il semble exister plusieurs EDHFs, qui pourraient correspondre dans certains vaisseaux aux acides époxyeicosatriénoïques, métabolites formés à partir de l'acide arachidonique par l'action du cytochrome P450 (Campbell *et al.* 1996 ; Miura et Gutterman, 1998). (Figure 19).



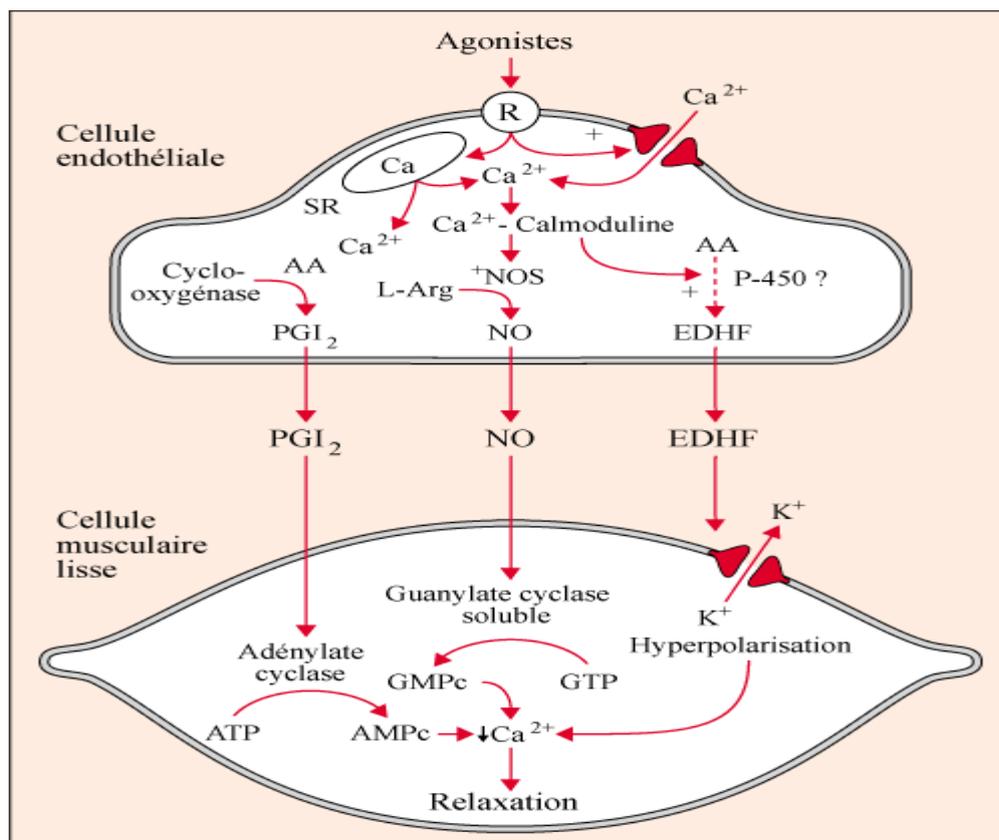
**Figure19** : Vue schématique de la voie conduisant à la formation EDHF dans les cellules endothéliales et de leurs effets sur le tonus des cellules musculaires lisse

### II.2.1.3 La prostacycline PGI<sub>2</sub>

L'action vasodilatatrice de la prostacycline (PGI<sub>2</sub>), dérivée de l'acide arachidonique, s'opère par une élévation du taux intracellulaire d'AMP cyclique (AMPc). Les effets de la PGI<sub>2</sub> sont intimement liés à ceux du NO. PGI<sub>2</sub> facilite la libération endothéliale de NO qui, en retour, potentialise l'action de la PGI<sub>2</sub> au niveau musculaire lisse par inhibition de la phosphodiesterase. Toutefois, la contribution de la PGI<sub>2</sub> à la relaxation endothélium-dépendante est beaucoup moins importante que celle du NO (Lüscher et Vanhoutte, 1990 ; Shimokawa et *al.* 1995 ; Shimokawa et Vanhoutte, 1996).

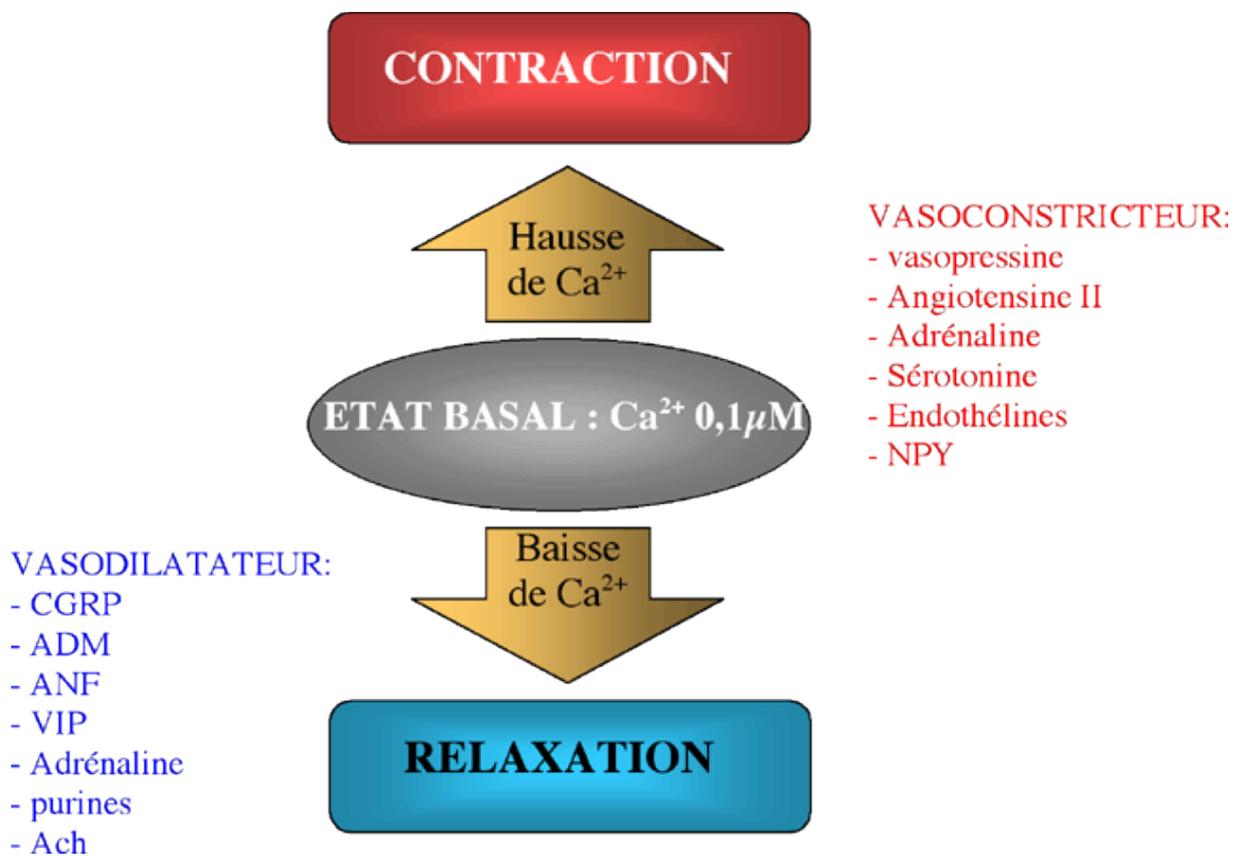


**Figure20** : Vue schématique des voies menant à l'oxyde nitrique (NO) et à la prostacycline (PGI<sub>2</sub>) la formation dans les cellules endothéliales et de leurs effets sur le tonus des cellules musculaires lisses.



**Figure21** : Libération de facteurs de relaxation d'origine endothéliale.

La vasoconstriction endothélium dépendante résulte de la libération de substances telles que la prostaglandine H2 (Auch-Schwelk et *al.* 1990 ; Kato et *al.* 1990 ; Tesfamariam et *al.* 1990), les radicaux libres dérivés de l'oxygène, l'angiotensine II, le thromboxane A2 (TXA2), et l'endothéline1 (Lüscher et *al.* 1996). L'endothéline-1 augmente l'action d'autres substances vaso-actives telles que l'angiotensine II, la norépinephrine, la sérotonine, et participe à l'activation des leucocytes et des plaquettes (Yanagisawa et *al.* 1988).



**Figure 22:** les facteurs de contraction dépendante de l'endothélium, vasoconstricteurs et vasodilatateurs.

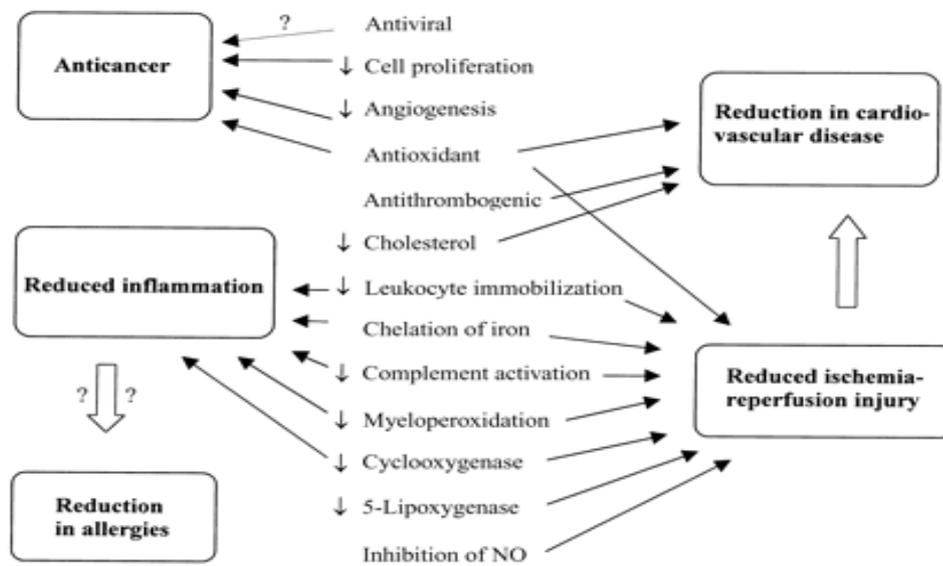
# Chapitre III

### III. Mécanisme vasodilatateur des polyphénols

Les maladies cardiovasculaires demeurent un problème important de santé publique. Au niveau international, les maladies cardiovasculaires constituent, la première cause de mortalité. Elles sont responsables chaque année du décès de plus de 17 millions de personnes, soit 30% de la mortalité dans le monde (source : Sanofi-Aventis).

Des études ont démontré qu'une consommation d'aliments riches en polyphénols réduit le développement de nombreuses pathologies, telles que le cancer, l'ischémie cardiaque, l'athérosclérose et l'hypertension (Bohm et al., 2004 ; de Gaetano et al., 2002 ; Duffy et al., 2003 ; Goldfinger, 2003 ; Hertog et al., 1993a,b ; Maron, 2004 ; Middleton et al., 2000 ; Nijveldt et al., 2001 ; Stocker et al., 2004 ; Tomera, 1999 ; Waddington et al., 2004).

Les polyphénols ont été décrits comme étant des anti-agrégants plaquettaires, des anti-allergènes et des anti-tumoraux (Middleton et al. 2000). Ils sont en effet capables d'empêcher l'oxydation des LDL (Osakabe et al. 2000), d'inhiber la prolifération des cellules musculaires lisses vasculaires (Iijima et al. 2000) d'empêcher l'agrégation plaquettaire (Wollny et al. 1999) et de promouvoir le relâchement des cellules musculaires lisses vasculaires (Andriambeloson et al. 1997 ; Zenebe et al. 2003). Des travaux ont montré les effets directs des polyphénols sur les vaisseaux et les cellules vasculaires (Stoclet et al. 2004) ainsi que leurs effets *in vivo* sur la prévention de développement de l'hypertension chez les animaux de laboratoires (Sarr et al. 2006) (Figure 23).

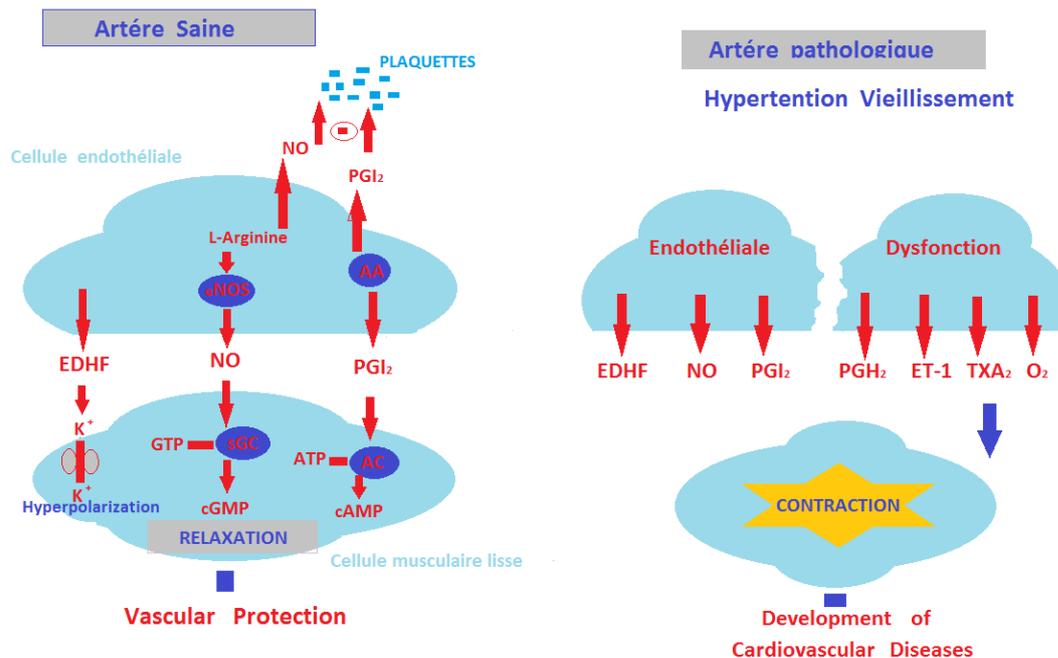


**Figure23** : Les activités biologiques des composés naturels (Sarr et *al.* 2006).

### III .1. La dysfonction endothéliale

L'endothélium joue un rôle primordial dans le maintien du tonus et de l'intégrité vasculaire et notamment par la sécrétion de médiateurs vasodilatateurs et vasoconstricteurs. Dans la plupart des pathologies vasculaires, cet équilibre va être rompu par atténuation de la fonction vasodilatatrice de l'endothélium (Vanhoutte, 1989; Vanhoutte, 1991; Vanhoutte et *al.*, 1995). . La dysfonction endothéliale peut se manifester suite à une diminution de sécrétion des facteurs vasodilatateurs et /ou par l'augmentation des facteurs vasoconstricteurs au sein de l'endothélium (Figure 24). Elle peut aussi être la conséquence d'une diminution de la sensibilité des cellules musculaires pour les facteurs vasodilatateurs comme le NO, la prostacycline ou l'EDHF.

L'augmentation des espèces réactives de l'oxygène au niveau des cellules endothéliales et musculaires lisses est une cause majeure de dysfonction endothéliale.



**Figure 24:** La dysfonction endothéliale (Vanhoutte et al, 1995).

(AA : acide arachidonique, AC : adénylyl cyclase, EDHF : facteur hyperpolarisant dérivé de l'endothélium, eNOS : NO synthase endothéliale, ET1 : endothéline 1, GCs : guanylyl cyclase soluble, K<sup>+</sup> : potassium, NO : monoxyde d'azote, O<sub>2</sub> : anions superoxyde, PGH<sub>2</sub> : prostaglandine H<sub>2</sub>, PGI<sub>2</sub> : prostacycline, TXA<sub>2</sub> : thromboxane A<sub>2</sub>)

### III .2. Les effets cardiovasculaires des polyphénols

Des chercheurs ont mis en évidence la capacité des composés polyphénoliques de plusieurs sources à induire la formation des facteurs vasodilatateurs NO et EDHF par l'endothélium de différentes espèces animales (Ndiaye et al. 2003,2005 ; Anselm et al. 2007,2009). Compte tenu du rôle du stress oxydant vasculaire dans le développement de diverses pathologies touchant le système cardiovasculaire, les effets bénéfiques des polyphénols pourraient aussi découler de leurs propriétés antioxydant et anti-inflammatoire (Stoclet et al., 2004). L'effet vasodilatateur des polyphénols peut être lié à un ou plusieurs mécanismes.

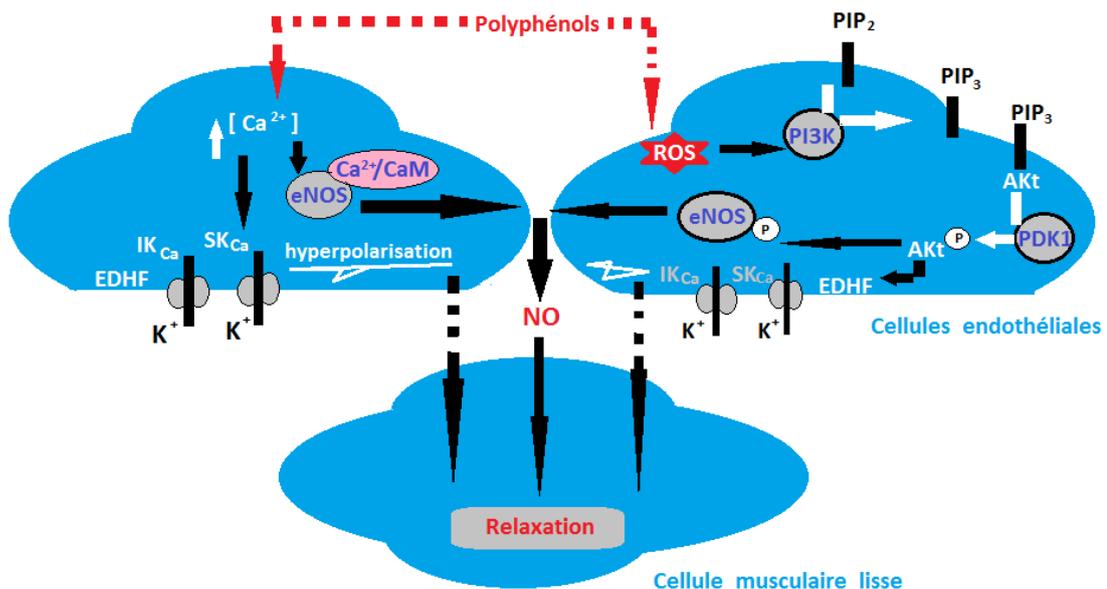
#### III.2.1. Stimulation de la formation du NO

Les composés polyphénoliques constituent une nouvelle classe de stimuli pour la formation endothéliale du NO. La capacité d'extrait de peau, de pulpe, de jus de raisin à induire des relaxations dépendantes de l'endothélium et médiées par NO a été étudiée sur des anneaux d'aorte isolés de rat (Fitzpatrick et *al.* 1993). En effet, ces composés sont capables d'induire l'activation de la eNOS par deux mécanismes (Figure 25).

La première est indépendante de la concentration du  $\text{Ca}^{2+}$  et fait intervenir la voie phosphoinositide-3 kinase (PI3-Kinase)/Akt, aboutissant à la phosphorylation de la eNOS sur le résidu sérine 1177.

La seconde est mineure et activée à forte concentration en polyphénols. Elle implique l'augmentation de la concentration du  $\text{Ca}^{2+}$  aboutissant à la formation du NO (Stoclet et *al.* 1999; Martin et *al.* 2003).

Il faut noter que ces effets aigus sont accompagnés par des effets à plus long terme, puisque les polyphénols sont capables de moduler l'expression de la eNOS (Wallerath et *al.*, 2002, 2003 ; Leikert et *al.*, 2002) par augmentation de l'activité du promoteur de la eNOS et une stabilisation de son ARN messager (Wallerath et *al.* 2002). L'ensemble de ces effets sur la eNOS aboutit ainsi à la synthèse endothéliale du NO.



**Figure 25:** Voies d'activation des facteurs vasorelaxants NO et EDHF par les polyphénols (Fitzpatrick et al. 1993).

### **III .2.1.1. Mécanisme d'activation de la eNOS dépendant de la [Ca<sup>2+</sup>] intracellulaire**

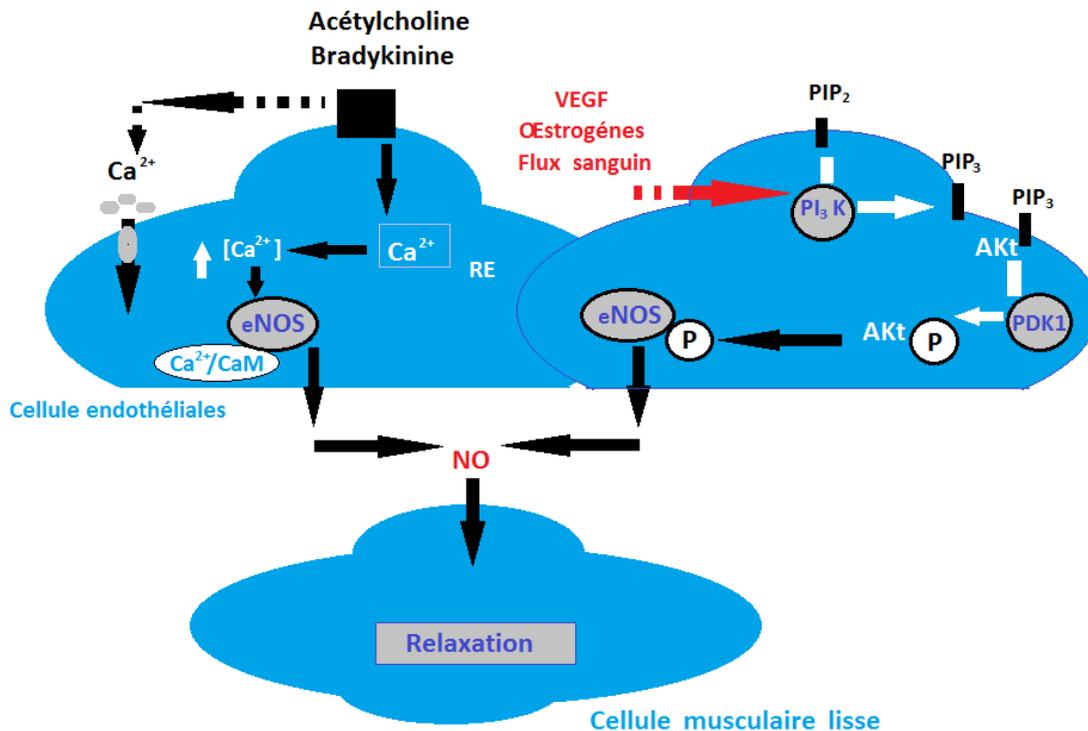
L'activité de la eNOS en réponse aux hormones est principalement régulée par la concentration cytosolique en calcium libre (Figure 25). Des études récentes indiquent que les composés polyphénoliques du vin rouge et la delphinidine, sont capables d'induire une augmentation de la concentration cytosolique en calcium libre entraînant la formation de NO dans les cellules endothéliales (Stoclet, et al. 1999, 2004). Le signal calcique implique à la fois un relargage d'ions calcium de stocks intracellulaires et un influx calcique. Néanmoins, l'amplitude du signal pour les composés polyphénoliques est très faible en comparaison à celles induites par les agonistes classiques tels que la bradykinine et la thrombine. L'ensemble de ces observations indique que le signal calcique est un mécanisme important de la régulation de l'activité de la eNOS par les composés polyphénoliques; cependant, il est possible que d'autres mécanismes puissent être impliqués.

### **III .2.1.2. Mécanisme d'activation de la eNOS indépendant de la [Ca<sup>2+</sup>] :**

Dans cette voie de signalisation, les lipides membranaires phosphatidylo-sitol-4,5-bisphosphates sont convertis en phosphatidylo-sitol-3,4,5-triphosphates par la PI3-kinase. Il s'ensuit le recrutement de Akt (ou protéine kinase B) au niveau des phosphoinositides (PDK1). Cette voie PI3-kinase /Akt est impliquée dans l'activation de la eNOS en réponse au forces de cisaillement qu'exerce le flux sanguin sur la surface luminale des cellules endothéliales (Dimmeler et Fleming,1999) et aussi en réponse aux estrogènes et à certains facteurs de croissance tels que le vascular endothelial growth factor (Figure 26).

Récemment, il a été rapporté que dans des cellules endothéliales d'artère coronaire du porc, les composés polyphénoliques du vin induisent une phosphorylation rapide d'Akt, maximale après 1 à 3 min, et de la eNOS (Ndiaye et chataignau. 2003). Un rôle majeur de la voie PI3-kinase/Akt dans la formation endothéliale de NO est suggéré par les études indiquant que les inhibiteurs de cette voie réduisent fortement les relaxations dépendantes de l'endothélium et médiées par la NO en réponse aux composés

polyphénoliques dans des anneaux isolés d'artère coronaire de porc (Ndiaye et chataignau. 2003).



**Figure26** : Voies de synthèse du NO (Dimmeler et Fleming,1999).

### III.2.2.Stimulation de la formation d'EDHF

Des études ont rapporté que les polyphénols sont capables d'induire la formation d'EDHF dans les artères coronaires de porc (Ndiaye et *al*, 2001). De plus ces relaxations sont associées à une hyperpolarisation des cellules musculaires lisses vasculaires sensibles à la combinaison de CTX et APA, donc attribuable à EDHF (Ndiaye et *al*, 2001). D'autres études ont permis de mettre en avant l'importance de la voie PI3-Kinase /Akt ainsi que de la formation des ROS, étape crucial dans la formation d'EDHF (et de NO) par les polyphénols, dans l'artère coronaire de porc (Ndiaye et *al*. 2003,2005 ; Anselm et *al*. 2007). Les canaux potassiques endothéliaux seraient une cible potentielle de cette voie de signalisation mais il manque encore des preuves dans la littérature. Une étude réalisée *in vitro* sur des lignées de cellules endothéliales a démonté une

augmentation de la probabilité d'ouverture des canaux IKca par action directe de resvératrol (Li et *al.* 2000) (Figure 25).

### **III .2.2.1. Rôle de l'anion superoxyde**

Les réponses médiées par EDHF stimulé par les composés polyphénoliques se sont révélées dépendantes de la production intracellulaire d'espèces réactives de l'oxygène, plus précisément d'anions superoxydes dans les cellules endothéliales.

En effet, ces réponses sont abolies par des antioxydants, des mimétiques de la superoxyde dismutase (SOD) tels que la Mn(III) tetrakis (1-méthyl-4-pyridyl) porphyrine (MnTMPyP) et la polyéthylène glycol-SOD, et peu ou pas affectées par la SOD extracellulaire, la catalase et la polyéthylène glycol-catalase. De plus, les composés polyphénoliques stimulent la formation d'anions superoxydes dans les cellules endothéliales isolées d'artère coronaire de porc ; cette production est abolie par le MnTMPyP. La source enzymatique d'anions superoxydes ne correspond, ni à la xanthine oxydase, ni aux cytochromes P450 monooxygénases et ni à la chaîne respiratoire mitochondriale comme le révèle l'absence d'effet des inhibiteurs respectifs de ces différentes voies sur les relaxations EDHF induites par les composés polyphénoliques (Ndiaye, Chataignau et Schini-kerth ; Ndiaye, Chataignau et Stoclet., 2001, 2003).

### **III.2.2 .2. Rôle de la voie PI3-kinase /Akt**

Les relaxations médiées par EDHF, et induites par les composés polyphénoliques, sont fortement réduites par des inhibiteurs de la voie PI3-Kinase/Akt, alors que celles induites par la bradykinine et la lévcromakalime, un activateur des canaux potassique sensibles à l'ATP, ne sont pas affectées (Ndiaye et Chataignau, 2003). Les composés polyphénoliques sont également capables d'induire, en présence d'inhibiteurs de la synthèse de NO et de prostaglandines, la phosphorylation de Akt dans les cellules endothéliales d'artère coronaire de porc et cet effet est aboli par la MnTMPyP. L'ensemble de ces résultats indique que la formation d'anions superoxydes et l'activation de la voie PI3-kinase/Akt sont des étapes cruciales dans les réponses médiées par EDHF et induites par les composés polyphénoliques dans les artères coronaires du porc (Ndiaye et Chataignau., 2003). Les cibles potentielles de cette voie de signalisation originale pourraient correspondre aux canaux potassiques endothéliaux de moyenne et

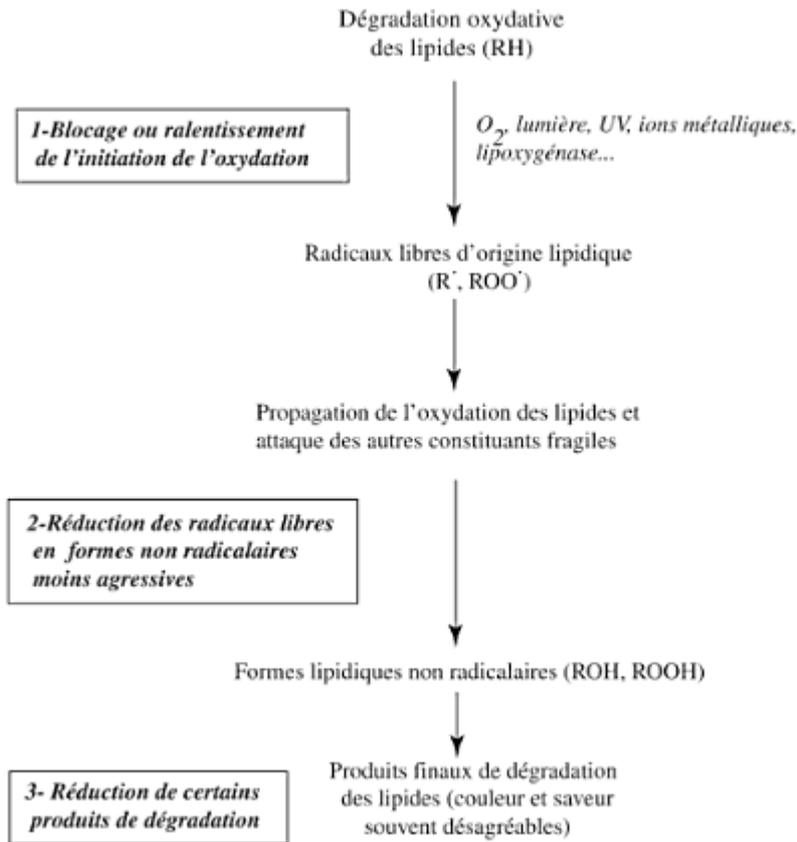
faible conductance, dépendants du calcium et sensibles à la charybdotoxine et l'apamine. Ces cibles restent toutefois à être identifiées.

### **III.3. Les polyphénols, des anti-thrombotiques**

L'agrégation plaquettaire constitue l'étape préalable à la coagulation sanguine lorsqu'un vaisseau est lésé. Elle peut aussi avoir des effets indésirables lorsqu'elle se produit sur une plaque d'athérome : elle favorise alors la constitution d'un thrombus (caillot), qui se détache et obstrue les petits vaisseaux. Il a été montré que les polyphénols du thé peuvent induire l'augmentation de la fibrinolyse, empêcher l'adhésion et l'agrégation plaquettaire et peuvent diminuer le taux de cholestérol au niveau de la paroi aortique (Lou et *al.*, 1989). Chez l'Homme, la quercétine, les catéchines et le resvératrol inhibent la synthèse du TXA<sub>2</sub> dans les plaquettes et les leukotriènes dans les neutrophiles (Pace-Asciak et *al.*, 1995). La consommation de vin rouge chez l'homme diminue l'induction par l'ADP de l'agrégation plaquettaire chez l'Homme (Demrow et *al.*, 1995). L'activité plaquettaire peut aussi être réduite par les polyphénols du vin en stimulant la synthèse du NO (Ruf et *al.*, 1999). Les polyphénols peuvent aussi induire l'expression de l'activateur tissulaire de plasminogène (t-PA) et de l'urokinase (u-PA), responsables de la fibrinolyse (Abou-Agag et *al.*, 2001 ; Zhao et *al.*, 1999).

### **III.4. Les polyphénols, des anti-athérosclérotiques**

De par leurs propriétés antioxydants, les polyphénols ont une influence majeure sur le système cardiovasculaire. Ils peuvent empêcher l'oxydation des LDL par les espèces réactives de l'oxygène (Figure 27). Les LDL oxydés peuvent modifier la perméabilité membranaire et promouvoir le développement d'un environnement pro-athérosclérotique.



**Figure27** : Les trois principaux points d'intervention des antioxydants phénoliques dans la protection des lipides contre la dégradation oxydative. (Marcheix et *al*, 2005).

### III .5. Les polyphénols, des anti-inflammatoires

L'inflammation joue un rôle crucial dans le développement de l'athérosclérose et de l'activation de la paroi vasculaire, aboutissant à une thrombose locale et à une vasoconstriction.

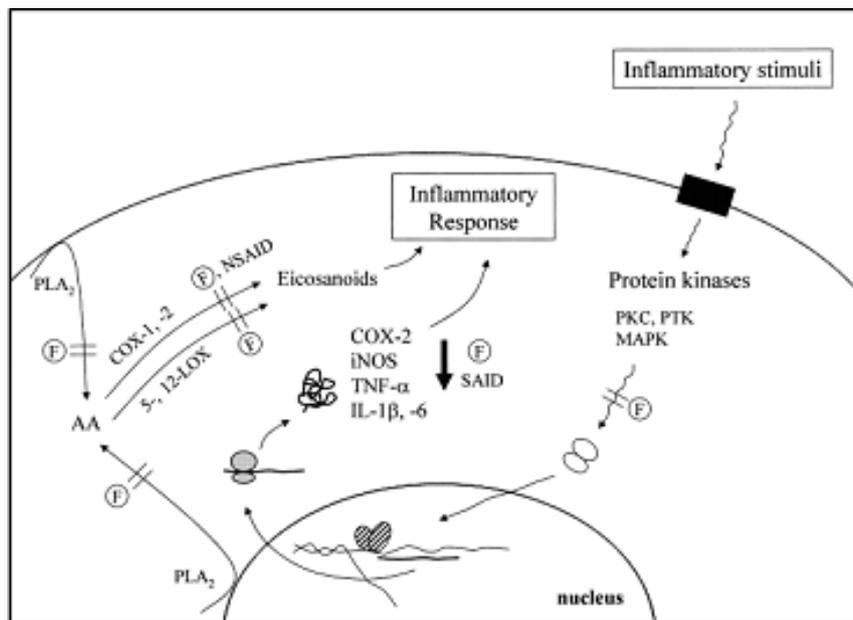
Les polyphénols agissent sur l'inflammation selon plusieurs mécanismes

a) Le piégeage direct des ERO (Helmja et *al*, 2009).

Vu le rôle des espèces réactives de l'oxygène (ERO) dans l'amplification des désordres secondaires à l'inflammation, alors les agents scavengers peuvent être utilisés dans le traitement de l'inflammation.

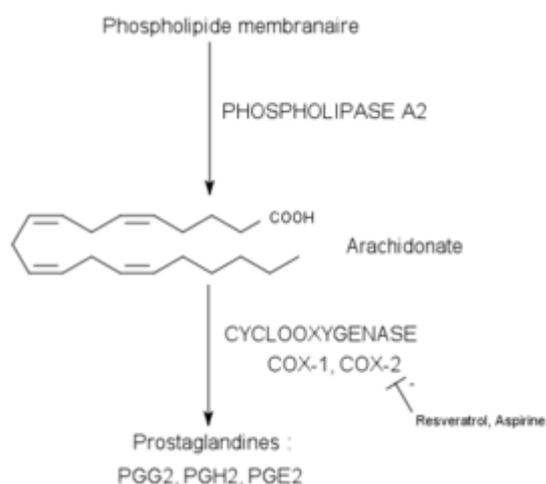
**b)** L'inhibition des enzymes pro-oxydants et pro-inflammatoire (Bruneton, 1999)

Les flavonoïdes exercent un effet inhibiteur sur le métabolisme de l'acide arachidonique (Ferrandiz et *al.*, 1990) en agissant sur la COX-2 (Landolfi et *al.*, 1984 ; Gabor, 1986 ; Han et *al.*, 2005 ; Girotti-Chanu,2006; Yang et *al.*, 2009). Le resveratrol inhibe la COX-2 avec la même efficacité que l'aspirine (figure29). La quercitine régulait négativement l'expression de la COX-2 dans les macrophage (Miyak et *al.*, 1997).



**Figure28:** Les mécanismes d'action proposés pour les flavonoïdes (González-Gallego et *al.*, 2007).

F : flavonoïdes ; NSAID : anti-inflammatoire non stéroïdiens, SAID : anti-inflammatoire stéroïdien ; = et ⊘ pour l'inhibition de l'enzyme et une régulation négative de l'expression respectivement



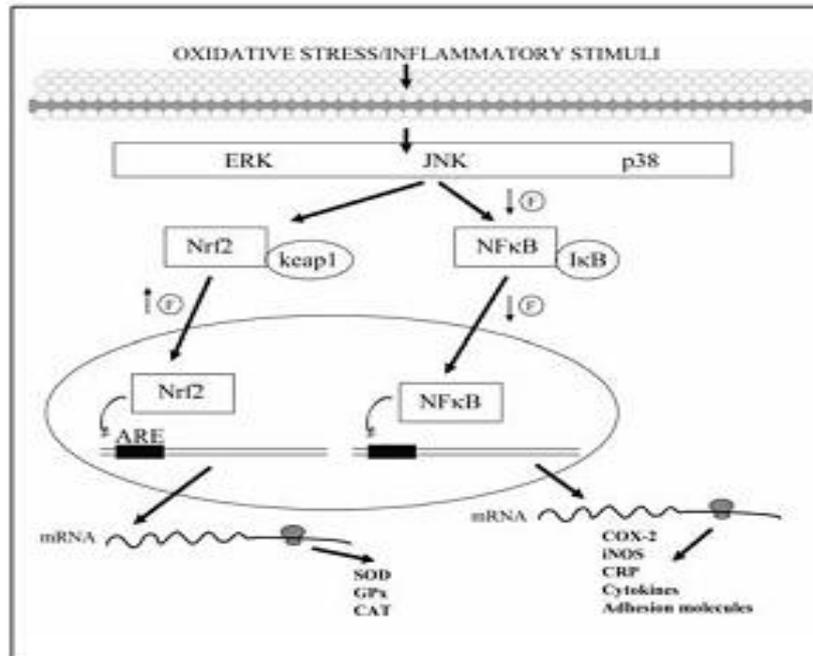
**Figure29:**l'activité anti-inflammatoire du resveratrol (Brunton, 1993; Ojewole, 2008).

L'activité anti inflammatoire des tanins est due au fait que les tanins se fixent aux protéines, en particulier la LOX (mais pas la COX), par des liaisons réversibles dont l'affinité est en fonction de la richesse de la protéine en proline (Brunton, 1993; Ojewole, 2008).

### c) Effets sur l'activation des facteurs de transcription

Le NF-kB est l'un des principaux facteurs transcriptionnel inductible dont la modulation déclenche une cascade d'événements moléculaires, quelques uns de ces événements peuvent constituer une cible potentiel pour le traitement de l'inflammation (Nakazato et Takeo,1998).

Lorsque les cellules sont stimulées, NF-kB activé par une phosphorylation et une dégradation des protéines IκB migre vers le noyau, stimulant l'expression des gènes cibles, il peut stimuler l'expression de iNOS, avec une augmentation de la formation du NO (figure 30) (González-Gallego et *al.*, 2007).



**Figure 30:** un model schématique de quelques effets anti-inflammatoire des flavonoïdes (González-Gallego et *al.*, 2007).

#### d) Effets sur les molécules d'adhésion

Les flavonoïdes exercent leur action bénéfique sur les maladies cardiovasculaires par modulation de l'adhésion des monocytes durant l'inflammation athérosclérotique. Les mécanismes impliqués dans cet effet ne sont pas connus avec certitude mais on pense qu'ils inhibent l'expression des médiateurs inflammatoires comme ICAM-1 par action sur NF-κB (Gerristen et *al.*, 1995).

#### e) Modulation de système antioxydant

Un autre mécanisme qui peut contribuer aux propriétés anti-inflammatoires des composés actifs est l'activation du potentiel de la défense antioxydant endogène représentée par le système enzymatique qui inclut le superoxide dismutase (SOD), la catalase (CAT), la glutathione peroxidase (GPx) et la glutathione reductase (GR).

Les polyphenols tel que le curcumin ou l'epigallocatechin-3-gallate sont des activateurs du facteur de transcription Nrf2 qui se lie à son élément de réponse localisé dans les régions promotrices active des enzymes antioxydantes. (González-Gallego et al, 2007).

# Conclusion

Nous avons vu que dans les conditions physiologiques, l'endothélium était capable de maintenir l'homéostasie vasculaire via la libération de facteurs relaxants et contractants qui contrôlent le tonus vasculaire (Vanhoutte, 2002).

Dans le cas de modifications de la balance contraction/relaxation, une dysfonction endothéliale se met en place et elle est facteur de cause dans la plupart des maladies cardiovasculaires telles que l'hypertension artérielle, l'hypercholestérolémie et le diabète, aussi bien chez l'homme que chez les animaux.

Des travaux ont permis de mettre en évidence la capacité des composés polyphénoliques de différentes sources à produire les facteurs vasodilatateurs NO et EDHF par l'endothélium chez différentes espèces animales (Ndiaye *et al.*, 2003,2005 ; Anselm *et al.*, 2007,2009).

Compte tenu du rôle du stress oxydant vasculaire dans le développement de diverses pathologies touchant le système cardiovasculaire, les effets bénéfiques des polyphénols pourraient aussi découler de leurs propriétés antioxydants.

Certes ces nombreuses données appuient le potentiel bénéfique d'une consommation de composés riches en polyphénols, mais il reste de nombreux points obscurs dans la compréhension de ces effets. En particulier, quelle est la cinétique d'induction de la protection ? Est ce que l'ingestion doit être quotidienne ? Quel(s) polyphénol(s) est (sont) à l'origine de cette protection ? Est-ce un mélange de molécules agissant en synergie, une classe (flavonols, flavanols) ou bien une molécule particulière (resvératrol, épicatechine) ? Est-ce que pour toutes les sources de polyphénols se sont les mêmes molécules qui leur procurent leur effet bénéfique ? Quels en sont les mécanismes ? Ou encore y a-t-il des récepteurs aux polyphénols ou bien pénètrent-ils directement dans la cellule ? Les réponses à toutes ces questions aideront à mieux comprendre le potentiel de ces produits pour maintenir un système cardiovasculaire fonctionnel.



# **Bibliographies**

## A

**Abou-agag LH, Aikens ML, Tabengwa EM, Benza RL, Shows SR, Grenett HE, Booyse FM 2001.** Polyphenolics increase t-PA and u-PA gene transcription in cultured human endothelial cells. *Alcohol Clin Exp Res*,25,155-62

**Agarwal DP 2002.** Cardioprotective effects of light-moderate consumption of alcohol: a review of putative mechanism. *Alcohol Alcohol.* 37 , 409-15

**Aliev, G., J. Shi, et al. 2000.** "Diminution de l'oxyde nitrique synthase constitutive, mais a augmenté oxyde nitrique synthase inductible et l'endothéline-1 immunoréactivité dans les cellules endothéliales aortiques de rats donryu sur un régime riche en cholestérol enrichi." *Anat Rec* 260 : 16-25.

**Andrew KL, Irvine JC, Tare M, J Apostolopoulos, Favaloro JL, Triggle CR, et al 2009.** Un rôle pour nitroxyde (HNO) comme un facteur dérivé de l'endothélium se détendre et hyperpolarisant dans les artères de résistance Br J Pharmacol.157. :540-550.

**Andriambeloson E, Kleschyov AL, Muller B, Beretz A, Stoclet JC, Andriatsitohaina R 1997.** Nitric oxide production and endothelium-dependent vasorelaxation induced by wine polyphenols in rat aorta. Br J Pharmacol.120:1053-1058.

**Anslem E, Chataigneau M, Ndiaye M, Chataigneau T, Schini-Kerth V.B 2007.** Grape juice causes endothelium-dependent relaxation via a redox-sensitive Src- and Akt-dependent activation of e NOS. *Cardiovascular Research.* 73:404-13.

**Anslem E, Socorro VF, Dal-Ros S, Schott C, Bronner C, Schini-Kerth V.B 2009.** Crataegus special extract activation of endothelial NO synthase but not via activation of estrogen receptors. *J Cardiovas Pharmacol.* 53:253-60.

**Aruoma OI, Spencer JPE, Butler J et Hilliwell B, 1995.** commùentary reaction of plant derived and syntitic antioxidants whith trichloromethylperopxyl radicals. *Free rad. Res.* 22,187-190 p.

**Auch-schwelk W, Katusic ZS, Vanhoutte PM 1990.** Thromboxane antagonistes des récepteurs A<sub>2</sub> inhibe les contractions dépendantes de l'endothélium. *Hypertension*.15 :699-703.

## **B**

**Bahorun T, 1997.** Substances naturelles actives: la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. AMAS.Food and agricultural rsearch council.

**Barbato, JE et E. Tzeng 2004.** "L'oxyde nitrique et la maladie artérielle." *J Vasc Surg* 40 : 187-93.

**Beckman, JS et WH Koppenol 1996.** "L'oxyde nitrique, le superoxyde, et le peroxyde nitrite: le bon, le mauvais et laid." *Am J Physiol* 271 : C1424-37.

**Beta T, Nam S, Dexter J E et Sapirstein H D, 2005.** Phenolic content and antioxidant activity of pearled wheat and roller-milled fractions. *Cereal chem.*..390-393 p.

**Bidet D, Gagnault J, Girard P et Trotin F, 1987.** Inflammation, allergie douleurs et acide arachidonique: du jardin des Hespérides à la cascade de l'acide arachidonique: les flavonoïdes. *L'actualité chimique*.89-97 p.

**Bhom M, Rosenkranz S, Laufs U 2004.** Alcohol and red wine: impact on cardiovascular risk. *Nephrol Dial Transplant*. 19:11-6.

**Boizot N et Charpentier J-P. 2006.** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés, phénoliques des organes d'un arbre foustier. *Le cahier des Techniques de l'Inra*.pp79-82.

**Bolton T.B 1979.** Mechanisms of action of transmitters and others substances on smooth muscle. - *Physio. Rev.* 59 ; n°3 : 3 : 606-718.

**Boo YC, Jo H 2003.** Flow-dependent regulation of endothelial nitric oxide synthase: role of protein kinases. *Am J Physiol Cell Physiol*. 285:C499-508.

**Bouakaz, I., 2006.** Etude phytochimique de la plante *Genista Microcephala*. Mémoire demagister. Batna.

**Brownlee H, Hedjer J et Scott I, 1992.** Effects of a range of procyanidins on the cocoa pathogen *Crinipallis perniciosa*. Phys. Mol. Plant pathol. 40, 227-232 p.

**Bruneton J, 1993.** Pharmacognosie et phytochimie plantes médicinales. Paris, France: Lavoisier. 278-279p.

**Bruneton J, 1999.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 3<sup>ème</sup> éd. Lavoisier, Paris. 1120p.

**Burnstock G, Doyle AE, Gannon BJ, Gerkens JF, Iwayama T, Mashford ML 1971.** Prolonged hypotension and ultrastructural changes in sympathetic neurones following guanacine treatment. Eur J Pharmacol. 13:175-87.

**Buss R, Fleming I.** Endothelial dysfunction in atherosclerosis. J Vasc Res. 1996. 33/181-194.

## C

**Cambell WB, Gebremedhin D., Pratt PF, Harder 1996.** Identification des acides DR epoxyeicosatrienoic que dérivés de l'endothélium facteurs hyperpolarisants. Circ. Res. 78:415-423.

**Cishek MB, Galloway MT, Karim M, German JB, Kappagoda CT 1997.** Effect of red wine on endothelium-dependent relaxation in rabbits. *Clin Sci (Lond)*. 93 : 507-11.

**Clark JM, Glagov S 1985.** Transmural organization of the arterial media. The lamellar unit revisited. Arteriosclerosis. 5:19-34.

## D

**Das H, Wong J et Lien E, 1994.** Carcinogenicity and cancer preventing activities of flavonoides: A structure-system-activity-relationship (SSAR) analysis.

**De Gaetano G, De Curtis A, Di Castelnuovo A, Donati MB, Lacoviello L, Rotondo S 2002.** Antithrombotic effect of polyphenols in experimental models: a mechanism of reduced vascular risk by moderate wine consumption. *Ann N Y Acad Sci*,957:174-188;

**De Oliveira M, Sampaio M, Simon F, Gibert B et Mors W, 1972.** Antitumor activity of condensed flavonols.*An.Acad. Brazil*.41-44 p.

**Dean F M, 1963.** Natural occurring Oxygen Ring Compounds, Butterworths.Londres.

**Deanfield JE, Halcox JP, Rabelink TJ.** Endothelial function and dysfunction: testing and clinical relevance. *Circulation*.2007; 115:1285-1295.

**Demrow HS, Slane PR, Folts JD 1995.** Administration of wine and grape juice inhibits in vivo platelet activity and thrombosis in stenosed canine coronary arteries. *Circulation*. 91:1182-1188.

**Didry N, Pinkas M et Torck M, 1982.** La composition chimique et l'activité antibactérienne des feuilles de diverses espèces *degaindelia*. *PI med. Phytother*. XVI. 7-15 p.

**Dimmeler, S., Fleming, I., Fisslthaler, B., Hermann, C., Busse, R., & Zeiher, A. M. 1999.** Activation of nitric oxide synthase in endothelial cells by Akt-dependent phosphorylation. *Nature*, 399(6736), 601-605.doi:10.1038/21224

**Duffy SJ, Via JA 2003.** Effects of paeonolic on vascular endothelial function. *Curr Opin Lipidol*.14, 21-27

## E

**Engerman RL, Pfaffenbach D, Davis MD 1967.** Cell turnover of capillaries. *Lab Invest*.17:738-43.

## F

**Fernando NV, Movat HZ1964.** The Fine Structure Of The Terminal Vascular Bed. li. The Smallest Arterial Vessels: Terminal Arterioles And Metarterioles. *Exp Mol Pathol* 33:1-9.

**Ferrándiz ML, Nair AG and Alcaraz MJ 1990.**Inhibition of sheep platelet arachidonate metabolism by flavonoids from Spanish and Indian medicinal herbs.*Pharmazie*, **45**: 206-208.

**Fitzpatrick DF, Hirschfield SL, Coffey RG 1993.** Endothelium-dependent vasorelaxing activity of wine and other grape products. *Am J Physiol*,265:H774-H778;

**Florey 1966.** The endothelial cell. *Br Med J*2:487-90

**Frankel E N. Water house A L, Teissedre P L, 1995.** *Agric. Food. Chem.*, 43,221-235 p.

**Furchgott RF, Zawadzki JV 1980.**ATP relaxes rabbit aortic smooth muscle by both an indirect action via endothelial cells and a direct action (absrr). *Pharmacologist* 2 i 271

## **G**

**Gabor M 1986.** The Pharmacology of Benzopyrone Derivatives and Related Compounds (Akademiai Kiad, Budapest).

**Gàbor M, Cody V, Middleton E J, Harborne J B, Beretz A, Liss A R, 1988.** Plants Flavonoids in biology and Medecine II; Biochemical, Cellular and Medecinal properties.New York, 1-15 p.

**Gerritsen, M. E.; Carley, W. W.; Ranges, G. E.; Shen, C. P.; Phan, S. A.; Ligon, G. F. and Perry, C. A. 1995.**Flavonoids inhibit cytokine-induced endothelial cell adhesion protein gene expression. *American Journal of Pathology*, 147,278-292.

**Girotti - Chanu Catherine, 2006,** Etude de la lipolyse et de la synthèse de composés d'un derme sous l'effet de la cirsimarine, flavone extraite de *Microtea debilis* , Ecole doctorale interdisciplinaire science - Santé, Formation doctorale : Biochimie, p 32, 33, 34, 35 . (Thèse de Doctorat).

**Goldfinger RTM 2003.** Beyond the french paradox: the impact of moderate beverage alcohol and wine consumption in the preventive of cardiovascular disease. *Cardio Clin.*21, 449-457.

**González-Gallego J, Sánchez-Campos S, Tuñón MJ 2007.**Antiinflammatory properties of dietary flavonoids.*Nutr. Hosp.* 22: 287-293.

**Guingard J, 1996.** *Biochimie végétale.* Lavoisier, Paris, 175-192 p.

## H

**Halliwell, B et Gutteridge JMC 1990 :** Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease. An overview.*Meth. Enzym* 186, 1-85.

**Hayase F et Kato M, 1984.** Antioxydant compounds of sweet potatoes. *J. Nutri. Sci. vitaminol.* 30, 37-46 p

**Hemingway R W, 1992.** Structural variation in proanthocyanidins and their derivatives. In : *Lpant polyphenols: synthesis, properties, significance.* Hemingway R W, Laks P. E. New York.

**Hertog MG, Feskens EJ, Hollman PC, Katan MB, Kromhout D 1993a.** Dietary antioxydant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. *Lancet*, 342-1007-11

**Hertog MG, Hollman PC, Katan MB, Kromhout D 1993b.** Intake of potentially anticarcinogenic flavonoids and their determinants in adults in The Netherlands. *Nutr Cancer*, 20:21-29.

## I

**Ignarro LJ, Lipton H, Edwards JC, Baricos WH, Hyman AL, Kadowitz PJ, and Gruetter, CA 1981** Mechanism of vascular smooth muscle relaxation organic nitrates, nitrites, nitroprusside and nitric oxide: evidence for the involvement of s-nitrosothiols as active intermediates. *J Pharmacol Exp Ther* **218**:739-749

**Ignarro, L. J., Byrns, R. E., Buga, G. M. and Wood, K. S. 1987.** Endothelium-derived relaxing factor from pulmonary artery and vein possesses pharmacological and chemical properties that are identical to those for nitric oxide radical. *Circ. Res.* **61**, 866-879.

## K

**Kato T, Y Iwama, Okumura K, H Hashimoto, Ito T, Satake 1990.** Prostaglandins H<sub>2</sub>, peut être le facteur traitant dérivé de l'endothélium par l'acétylcholine libérée dans l'aorte du rat. *Hypertension*.15. 475-481.

**Kreofsky T, Scalager G, Vuk-Pavlovic Z, Abraham R et Rohrabach M, 1992.** Condensed tannins promotes the release of arachidonic acid from rabbit residents alveolar macrophages. *Am J. Resir.Cell. Mol. Boil.* 7. 172-181 p

## L

**Landolfi R, Nower RL, Steiner M 1984:** Modification of platelet function and arachidonic acid metabolism by bioflavonoids. Structure-activity relationships. *Biochem Pharmacol* 33:1525–1530.

**Lebham, 2005.** Thèse au Laboratoire d'Ecophysiologie et de Biotechnologie des Halophytes et des Algues au sein de l'Institut Universitaire Européen de la Mer (IUEM)- Université de Bretagne Occidentale (UBO).

**Leikert JF, Rathel TR, Wohlfart P, Cheynier V, Vollmar AM and Dirsch VM 2002.** Red wine polyphenols enhance endothelial nitric oxide synthase expression subsequent nitric oxide release from endothelial cells. *Circulation*.106:1614-1617.

**Li HF, Chen SA, Wu SN 2000.** Evidence for the stimulatory effect of resveratrol on Ca<sup>2+</sup>-activated K<sup>+</sup> current in vascular endothelial cells. *Cardiovasc Res*; 45 : 1035-45.

**Li H, Wallerath T, Forstermann U 2002a.** Physiological mechanisms regulating the expression of endothelial-type NO synthase. *Nitric Oxide*. 7:132-147.

**Liu Y, You Y, Song T, Wu S et Liu L, 2007.** Impairment of endothelium-dependent relaxation of rat aortas by homocysteine thiolactone and attenuation by captopril J- *Cardiovascular Pharmacol* 50.155-161.

**Lou FQ, Zhang MF, Zhang XG, Liu JM, Yuan WL 1989.** A study on tea-pigment in prevention of atherosclerosis. *Chin Med J ( Engl)*. 102:579-83.

**Lugasi A, Hovari J, Sagi, K V et Biro L, 2003.** The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta Biologica Szegedientis*.1-4, 119-125 p.

**Lüscher TF & Vanhoutte PM 1990.** The Endothelium: Modulator of Cardiovascular Function. Boca Raton: CRC Press.

**Lüscher M, Erdin C, Sprenger N, Hochstrasser U, Boller T, Un Wiemken 1996** synthèse d'insuline par une combinaison de purifié à partir de tubercules de fructosyltransférases *Helianthus tuberosus* FEBS Lett 385: 39- 42..

## **M**

**Mabry T et Ulubelen A, 1980.** Chemistry and utilization of phenilpropanoïdes including flavonoïdes, coumarins and lignans. J. Agric. Food Chem. 28, 188-196 p.

**Macheix J.J., Fleuriet A., et Jay- Allemand C. 2005.** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Edpresses polytechnologiques et universitaires Romande. P67

**Marfak A, 2003.** Radiolyse gamma des flavonoïdes, Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools : formation de depsides. Thèse pour obtenir le grade de docteur de l'université de Limoges. Spécialité : biophysique. 187 p.

**Maron DJ 2004.** Flavonoids for reduction of atherosclerotic risk. Curr Atheroscler Rep., 6:73-8.

**Martin S, Andriambeloson E, Takeda K, Andriantsitohaina R 2003.** Red wine polyphenol induced endothelium-dependent NO-mediated relaxation in due to the PI3-Kinase/Akt-dependent phosphorylation of endothelial NO synthase in the isolated porcine coronary artery. Circulation, 108:IV-101.

**Masquelier J, Dumon M et Dumas J, 1979.** Stabilisation des collagènes par des oligomères procyanidoliques. Acta thérapeutique. 1, 101-104 p

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

**Miura H., DD 1988** Guttermann humaine dilatation coronaire artériolaire de l'acide arachidonique dépend cytochrome P450 monooxygénase et  $Ca^{2+}$  activés par  $K^{+}$  de canaux. Circ. Res. 83 :501-507.

**Miyake, H., K. Iwao and Y. Kakinuma 1997:** Life history and environment of *Aurelia aurita*. *South Pacific Study*, 17, 273–285.

**Mombouli JT. Vanhoutte PM 1999.** Endothelial dysfunction : from physiology to therapy. *J Mall Cell Cardiol.*31, 61-74.

**Moncada S, RM Palmer & Higgs EA 1991.**L'oxyde nitrique: la physiopathologie et la pharmacologie. *Pharmacol Rev* 43, 109-142.

**Mount PF, Kemp BE, Power DA 2007.**Regulation of endothelial and myocardial NO synthesis by multi-site eNOS phosphorylation. *J Mol Cell Cardiol.*42,271-9.

## **N**

**Naderali, EK, MJ Brown, et al. 2001.** «L'obésité alimentaire chez le rat induit une dysfonction endothéliale sans causer de résistance à l'insuline: un rôle possible pour les triacylglycérols." *Clin Sci (Lond)* 101 : 499-506.

**Nagaot., Vanhoutte PM 1992.** Hyperpolarisation comme un mécanisme pour l'endothélium des relaxations dépendantes de l'artère coronaire de porc. *J. Physiol. (Londres)*. 445 :355-367.

**Nakazato K, et Takeo T, 1998.** Anti-inflammatory effect of oolong tea polyphenols. *Nippon Nogeikagaku Kaishi*, 72: 51-54.

**Ndiaye M, Chataigneau T, Stoclet JC, Andriantsitohaina R, Schini-kerth VB 2001.** Involvement of reactive oxygen species in EDHF-mediated relaxation induced by wine polyphenols in the porcine coronary artery. *Circulation*,104:II-32.

**Ndiaye M, Chataigneau T,Andriantsitohaina R, Stoclet JC and Schini-kerth VB 2003.** Red wine polyphenols cause endothelium-dependent EDHF-mediated relaxations in porcine coronary arteries via a redox-sensitive mechanism. *Biochem Biophys Res Commun*,310:371-377.

**Ndiaye M ,Chataigneau M, Lobysheva I, Chataigneau T, Schini-kerth VB 2005.** Red wine polyphenol-induced, endothelium-dependent NO-mediated is due the redox-

sensitive PI3-kinase/Akt-dependent phosphorylation of endothelial NO-synthase in the isolated porcine coronary artery. FASEB J.19:455-7.

**Nijveldt RJ, Van Nood E, Van Hoorn DE, Boelens PG, Van Leeuwen PA 2001.** Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. Am J Clin Nutr,74:418-525.

## O

**Ojewole J.A., Awe E.O., Chiwororo W.D 2008.,** Antidiarrhoeal activity of *Psidium guajava* Linn. (Myrtaceae) leaf aqueous extract in rodents, J Smooth Muscle Res, 44(6): 195-207.

**Okamura H, Mimura A, Yakou Y, Niwano M et Takahara Y, 1993.** Antioxydant activity of tannins and flavonoids in eucaliptus rostarata. Phytochimie. 33, 557-561 p.

**Okuda T, Kimura Y, Yoshida T, Hatano T, Okuda H et Arichi S, 1983.** Studies on the activities of tannins and related compounds from medicinal and drugs. Inhibitory effects of lipid peroxydation in mitochondria and microsome of liver. Chem. Pharm. Bull. 31, 1625-1631 p.

**Osakabe N, Yasuda A, Natsume M, Takizawa T, Terao J, Kondo K 2002.** Catechins and their oligomers linked by C4 C8 bonds are major cacao polyphenols and protect low-density lipoprotein from oxidation in vitro. Exp Biol Med (Maywood), 227:51-56.

## P

**Palmer, R. M., Ferrige, A. G. and Moncada, S. 1987.** Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. Nature 327, 524-526.

**Pstova J, Lasovsky J et Vicar J, 2003.** Metal chelating properties, electrochemical behavior, scavenging and cytoprotective activities of six natural phenolic. Biomed. Papers 174-153 p.

## R

**Ravrn H, Andary C, Kovacs G et Molgaard P, 1984.** cafféic acid esters as in vitro inhibitors of plant pathogenic bacteria and fungi. *Biochimie.Syst. Ecol.* 17, 175-184 p.

**Renaud S, Gueguen R 1998.** The French paradox and wine drinking. *Novartis Found Symp* .216 : 208-17; discussion 217-22, 152-158.

**Ribereau G P, 1968.** Les composés phénoliques des végétaux. Dunod, Paris, 254 p.

**Ruf JC 1999.** Wine and polyphenols related to platelet aggregation and atherothrombosis. *Drugs Exp Clin Res*, 25, 125-31.

## **S**

**Salunkhe, DK, 1990.** Dietary tannins: consequences and remedies. Boca Raton, Florida: CRC press.

**Sarr M, Chataigneau M, Martins S, Schott C, El Bedoui J, Oak MH, Muller B, Chataigneau T, Schini-kerth VB 2006.** Red wine polyphenols prevent angiotention II-induced hypertension and endothelial dysfunction in rats : role of NADPH oxydase. *Cardiovasc Res.*71: 794-802.

**Scalbert A, Williamson G, 2000.** Dietary intake and bioavailability of polyphénols *J Nutr.*130, 2073-2085 p.

**Schini VB, Boulanger C, Regoli D, Vanhoutte PM 1990.** Bradykinin stimulates the production of cycle GMP via activation of B2 kinin receptors in cultured porcine aortic endothelial cells. *J Pharmacol Exp Ther.*

**Shimokawa H & Takeshita A 1995** Endothelium-dependent regulation of the cardiovascular system. *Internal Medicine* 34 939–946.

**Shimokawa Het Vanhoutte PM 1996.** *Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factor.* Amsterdam: Harwood Academic Publishers.

**Stavric B et Matula T, 1992.** Flavonoids in food.Their significance for nutrition and health.274-294 p.

**Stoclet JC, Kleschyov A, Andriambeloson E, Diebolt M, Andriantsitohaina R 1999.** Endothelial no release caused by red wine polyphenols. *J Physiol Pharmacol*, 50, 535-40.

**Stoclet JC, Chataigneau T, Ndiaye M, OakMH, El Bedoui J, Chataigneau M, Schinikerth VB 2004.** Vascular protection by dietary polyphenols. *Eur J Pharmacol*, 500 :299-313.

## T

**Taddei, S., L. Ghiadoni, et al. 2003.** «Les mécanismes de la dysfonction endothéliale: signification clinique et de prévention non pharmacologiques stratégies thérapeutiques». *Curr Pharm Des* 9 : 2385-402.

**Tesfamariam B, Brown ML, Deykin D, Cohen RA 1990.** Glycémie élevée favorise la production de prostanoïdes vasoconstricteurs dérivés de l'endothélium dans l'aorte de lapin. *J Clin Invest.*85. 929-932.

**Tomera JF 1999,** Current knowledge of the death benefits and disadvantages of wine consumption. *Trends in Foods Science and Technology*,10:129-138.

## V

**Vanhoutte PM, Rimele TJ 1982.** Role of the endothelium in the control of vascular smooth muscle function. *J Physiol (Paris)* 78:681-686.

**Vanhoutte PM 1989,** Endothelium and control of vascular function. State of the Art lecture. *Hypertension*,13,658-67.

**Vanhoutte PM 1991,** Hypercholesterolaemia, atherosclerosis and release of endothelium-derived relaxing factor by aggregating platelets. *Eur Heart J.*12 Suppl E,25-32.

**Vanhoutte PM, Boulanger CM 1995.** Endothelium-dependent responses in hypertension. *Hypertens Res*,18 :87-98.

**Vincent, MA, M. Montagnani, et al. 2003.** «Les actions moléculaires et physiologiques de l'insuline liées à la production d'oxyde nitrique dans l'endothélium vasculaire." *Curr Diab Rep* **3** : 279-88

**Vinson, J.A., Dabbagh, Y.A., Serry, M.M.et Jang, J., 1995.** Plant flavonoids, especially tea flavonols, are powerful antioxidants using an in vitro oxidation model for heart disease. *J. Agric. Food Chem.*43, 2800-2802.

## **W**

**Waddington E, Puddey IB, Croft KD 2004.** Red wine polyphenolic compounds inhibit atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice independently of effects on lipid peroxidation. *Am J Clin Nutr*,79:54-61.

**Walford, G. et J. Loscalzo 2003.** "L'oxyde nitrique en biologie vasculaire." *J Thromb Haemost* 1: 2112-8.

**Wallerath T, Deckert G, Ternes T, Anderson H, Li H, Witte K and Forstermann U 2002.** Resveratrol, a polyphenolic phytoalexin present in red wine, enhances expression and activity of endothelial nitric oxide synthase. *Circulation*,106:1652-1658.

**Wallerath T, Poleo D, Li H and Forstermann U 2003.** Red wine increases the expression of human endothelial nitric oxide synthase: a mechanism that may contribute to its beneficial cardiovascular effects. *J Am Coll Cardiol*,41: 471-478.

**Wheatcroft, SB, IL Williams, et al. 2003.** "Les implications physiopathologiques de résistance à l'insuline sur la fonction endothéliale vasculaire." *Diabet Med* **20** : 255-68. Blanc, MF (1997). "Le système de signalisation de l'insuline et les protéines IRS." *Diabetologia* 40 Suppl 2: S2-17

**Wolinsky H, Glagov S 1967.** Nature of species differences in the medial distribution of aortic vasa vasorum in mammals. *Circ Res* 20:409-21.

**Wollny T, Aiello L, Di tommaso D, Bellavia V, Rotilio D, Donati MB, de Gaetano G and Iacoviello L 1999.** Modulation of haemostatic function and prevention of experimental thrombosis by red wine in rats: a role for increased nitric oxide

production. Br J Pharmacol,127: 747-755.

## Y

**Yanagisawa M, Inoue A, Ischikawa T, et Al 1988.** La structure primaire, la synthèse et l'activité biologique de l'endothéline chez le rat, un peptide vasoconstricteur dérivé de l'endothélium. Proc Nath Acad Sci USA. 85 ;6964-6967.

**Yang Jun, Rui Hai Liu, Timothy E. Martinson 2009,** « *Phytochemical profiles and antioxidant activities of wine grapes* », dans Food Chemistry,

## Z

**Zenebe W, Pechanova O, Andriantsitohaina R 2003 .**Red wine polyphenols induce vasorelaxation by increased nitric oxide bioactivity. Physiol Res,52, 452-32.

**Zhao X, Gu Z, Attele AS, Yuan CS 1999.** Effects of quercetin on the release of endothelin, prostacyclin and tissue plasminogen activator from human endothelial cells in culture. J Ethnopharmacol. 67:279-285.

@<sup>1</sup>: [http://www.fr.sgs.com/fr/polyphenols\\_oct\\_04\\_y.gervaise.pdf](http://www.fr.sgs.com/fr/polyphenols_oct_04_y.gervaise.pdf)



## **Abstract**

This memorandum summarizes the current knowledge on the main mechanisms of action involved in the vasodilatory effects of polyphenolic compounds. These effects appear to be an important part of the protective properties of these compounds to the cardiovascular system. The *in vitro* studies show that polyphenolic compounds in wine and grape juice and other vegetable source induce endothelium-dependent relaxation involves nitric oxide (NO) in various isolated arteries. This increased formation of NO is mainly due to the increased activity of eNOS, a phenomenon involving two separate mechanisms, one dependent on cytosolic free calcium and the other of the PI3-kinase / Akt. In the long run, the polyphenolic compounds are also capable of increasing the expression of endothelial NO synthase.

Furthermore, these compounds have antioxidant properties that improve NO bioavailability by protecting it from degradation by superoxide anions. Polyphenolic compounds also induce dependent relaxations involving endothelium-derived hyperpolarizing factor to endothelium (EDHF) in coronary arteries.

This response is dependent on activation of the endothelial cells in PI3-kinase/Akt. This set of mechanisms could explain the hypotensive properties, anti-hypertensive and anti-atherosclerotic plant polyphenolic compounds *in vivo*.