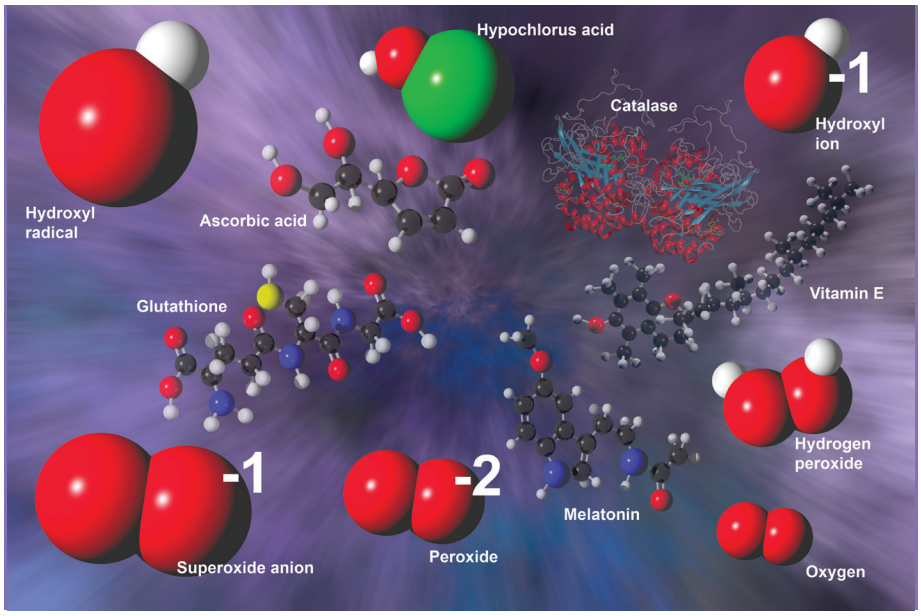
Stress oxydant et protections antioxydantes

Bruno Baudin[1,2,*]

1 Service de biochimie, Hôpital Armand-Trousseau, 26 avenue du Docteur-Arnold-Netter, 75012 Paris, France.
2 Inserm UMR 1193, UFR pharmacie, 5 rue Jean-Baptiste-Clément, 92296 Châtenay-Malabry cedex, France.
*Auteur correspondant : bruno.baudin@aphp.fr (B. Baudin).

Résumé

Le stress oxydant résulte d'un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et les capacités de défense antioxydante de l'organisme. Produits de façon continue et élevée, les ERO sont à l'origine d'un stress oxydant avec modifications irréversibles de lipides, de protéines et d'acides nucléiques. Le stress oxydant a été incriminé dans le vieillissement et la physiopathologie de nombreuses maladies, comme le cancer avec un défaut d'élimination de cellules cancéreuses, les maladies cardiovasculaires avec une atteinte de la paroi des vaisseaux sanguins, et les maladies inflammatoires car les ERO sont des acteurs essentiels dans la défense non liée aux anticorps. Pour se protéger du stress oxydant, les organismes ont développé un arsenal d'antioxydants, avec des enzymes (superoxyde-dismutase, catalase et glutathion-peroxydase), des vitamines (A, E et C) ainsi que certaines molécules dont ce n'est pas la fonction principale (acide urique, bilirubine et mélatonine).



©VISUALS UNLIMITED / BSIP

Mots clés

- enzyme antioxydante
- espèce réactive de l'oxygène
- radicaux libres
- stress oxydant
- vitamine antioxydante

Keywords

- antioxidant enzyme
- antioxidant vitamin
- free radicals
- oxidative stress
- reactive oxygen species

© 2020 – Elsevier Masson SAS
Tous droits réservés.

Abstract

Oxidative stress and antioxidant protections

Oxidative stress results from disequilibrium between the production of reactive oxygen species (ROS) and the capacity of antioxidant defenses of the organism. Produced in a continuous and elevated kind, ROS are the origin of oxidative stress with irreversible modifications of lipids, proteins and nucleic acids. Oxidative stress has been incriminated in ageing and pathophysiology of many diseases such as cancer with a defect in cancer cell elimination, cardiovascular diseases with alteration of blood vessel wall, and inflammatory diseases because ROS are essential actors of the defense not related to antibodies. For protection against oxidative stress, organisms have developed an arsenal of antioxidants, with enzymes (superoxide-dismutase, catalase and glutathione-peroxidase), vitamins (A, E and C) as well as molecules with other functions (uric acid, bilirubin and melatonin).

Introduction

Le stress oxydant résulte d'un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et les capacités de défense antioxydante de l'organisme. Les ERO sont toxiques pour les cellules mais aussi indispensables puisqu'elles interviennent dans la régulation d'un grand nombre de processus physiologiques dont la signalisation cellulaire. Produits localement et de façon transitoire, les ERO créent des modifications de protéines menant à des phosphorylations ou déphosphorylations qui sont activatrices ou inhibitrices de transducteurs du signal dans les voies de signalisation. Produits de façon continue et élevée, les ERO sont à l'origine d'un réel stress oxydant avec modifications irréversibles de lipides, de protéines et d'acides nucléiques. Le stress oxydant a été incriminé dans la physiopathologie de nombreuses maladies, en particulier le cancer avec un défaut d'élimination de cellules cancéreuses, les maladies vasculaires avec une atteinte de la paroi des vaisseaux sanguins, et les maladies inflammatoires car les ERO sont des acteurs essentiels dans la défense non liée aux anticorps. Par ailleurs, les dommages moléculaires et cellulaires causés par les ERO seraient responsables des phénomènes du vieillissement. De nombreux auteurs ont proposé de mesurer des marqueurs du stress oxydant, en fait les produits moléculaires modifiés par ces attaques oxydantes plutôt que directement les acteurs qui, eux, sont fugaces et très difficiles à doser. Il est ainsi paru intéressant d'estimer les capacités antioxydantes de l'organisme en déterminant l'activité des enzymes protectrices et en dosant des vitamines antioxydantes dans le sang [1,2].

> Le stress oxydant résulte d'un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène et les capacités de défense antioxydante de l'organisme

Le stress oxydant

L'oxygène (O_2 ou dioxygène) est indispensable à la vie, comme étant nécessaire à la respiration cellulaire chez les organismes aérobies (plantes, champignons, animaux et bactéries aérobies) par l'intermédiaire de la chaîne de transport d'électrons, comme celle des mitochondries des cellules eucaryotes. O_2 est toxique plus par la production d'ERO que par lui-même. À l'état physiologique, on peut considérer qu'il existe un équilibre entre la production d'ERO et les défenses antioxydantes. Dans certaines circonstances, un déséquilibre en faveur de la production d'ERO va être la cause d'un stress oxydant. La majeure partie de la toxicité de l'O_2 provient de la formation de radicaux libres, qui sont des espèces contenant un ou plusieurs électrons non appariés, dits électrons célibataires, et qui peuvent exister suffisamment longtemps pour qu'on puisse les identifier. Les radicaux libres proviennent d'une scission homolytique d'une liaison covalente dans une molécule :

$$A{:}B \longrightarrow A^{\cdot} + B^{\cdot}$$

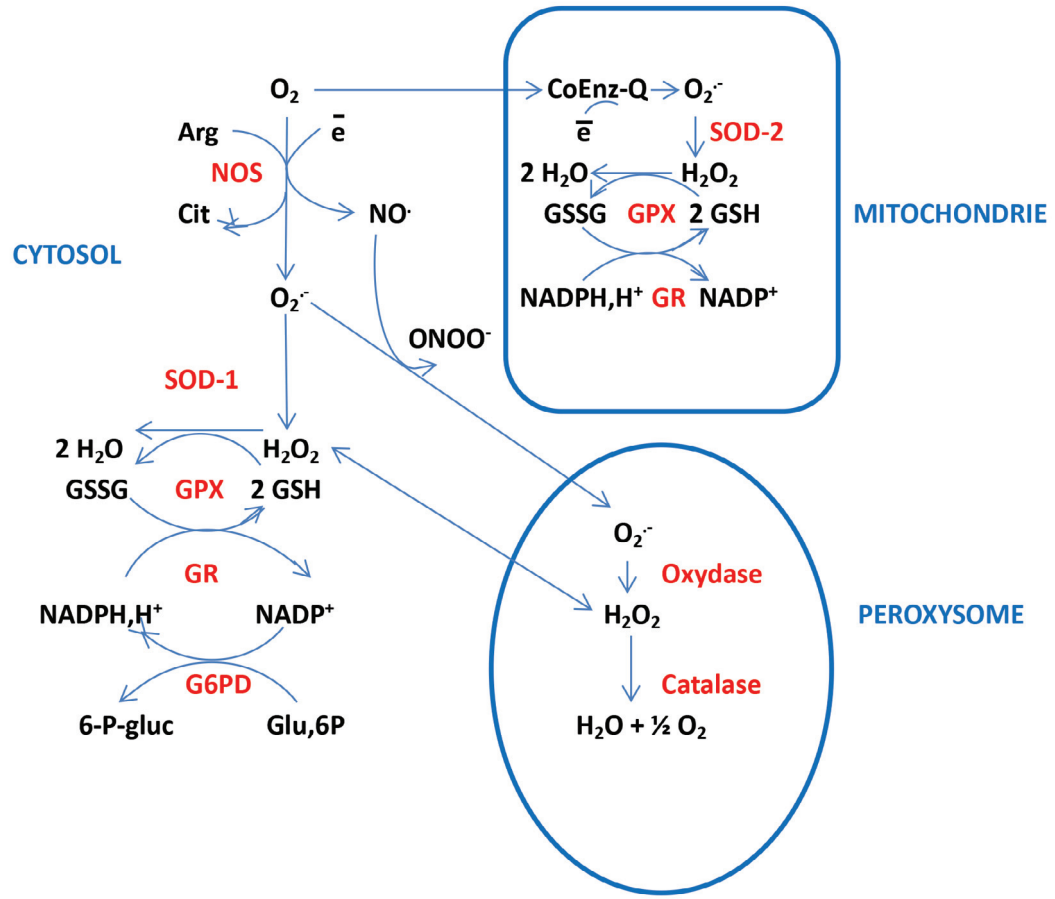
La présence de cet électron célibataire va conférer au radical libre une grande réactivité chimique, par là même diminuant fortement sa durée d'existence, rendant difficile sa mise en évidence et encore plus son dosage. Les principales espèces réactives de l'oxygène sont des radicaux libres extrêmement réactifs ; elles proviennent d'une chaîne de réduction de la molécule de dioxygène par des électrons jusqu'à produire une molécule d'eau :

$$O_2 \xrightarrow{+\,e^-} O_2^{\cdot -} \xrightarrow{+\,e^- + 2H^+} H_2O_2 \xrightarrow{+\,e^- + H^+ - H_2O} OH^{\cdot} \xrightarrow{+\,e^- + H^+} H_2O$$

Sont radicalaires l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot -}$) et le radical hydroxyle ($OH^{\cdot}$), auxquels on peut ajouter le monoxyde d'azote ($NO^{\cdot}$) formé à partir de l'arginine ***(figure 1)***. D'autres espèces oxygénées ne sont pas radicalaires, comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), le peroxynitrite ($ONOO^-$), l'acide hypochloreux (HClO) et l'oxygène singulet (O).

L'anion superoxyde ($O_2^{\cdot -}$) est peu réactif par lui-même mais en donnant d'autres composés plus réactifs. En particulier, sous l'effet de la superoxyde-dismutase (SOD), il donne du peroxyde d'hydrogène, qui en présence d'ions métalliques génère des radicaux hydroxyles très réactifs (réaction d'Haber-Weiss). De nombreux systèmes génèrent l'anion $O_2^{\cdot -}$, dont des enzymes comme la xanthine-oxydase, activée au cours du processus d'ischémie-reperfusion, et les NAD(P)-oxydases (NOX) de la membrane des cellules phagocytaires et des cellules endothéliales vasculaires (NOX-2) ou des cellules musculaires lisses, des fibroblastes et des cellules épithéliales du colon (NOX-1), pour les principales iso-formes de NOX. Plusieurs composés, comme le glycéraldéhyde, l'adrénaline, la noradrénaline, la L-Dopa, la cystéine, le glucose, les $FADH_2$ et $FMNH_2$, peuvent facilement s'oxyder en présence d'oxygène en formant l'anion $O_2^{\cdot -}$, pour certains en présence de traces de métaux comme Fe^{2+} et Cu^+. Les protéines héminiques (hémoglobine et myoglobine), capables de fixer l'O_2 au niveau de l'atome de Fe^{2+} dans l'hème, produisent l'anion $O_2^{\cdot -}$ et s'oxydent (Fe^{3+}) sous forme de methémoglobine et metmyoglobine, respectivement. On peut encore citer la NAD-déshydrogénase de la membrane interne de la mitochondrie et le cytochrome P450 du réticulum endoplasmique comme pourvoyeurs d'anion $O_2^{\cdot -}$ dans certaines circonstances, ainsi pour le dernier dans le processus de détoxification des xénobiotiques.

Figure 1. Principales sources cellulaires d'ERO et enzymes de protection contre le stress oxydant.



© B. Baudin

NOS (NO-synthase) ; SOD (superoxyde-dismutase) ; GPX (glutathion-peroxydase) ; GR (glutathion-réductase) ; G6PD (glucose-6-phosphate-déshydrogénase) ; Arg (L-arginine) ; Cit (L-citrulline) ; GSH (glutathion réduit) ; GSSG (glutathion oxydé) ; Glu,6P (glucose,6-phosphate) ; 6-P-gluc (6-phospho-gluconate).

Le radical hydroxyle ($OH^{\cdot}$) est le plus réactif des radicaux libres dérivés de l'oxygène ; il ne diffuse pas et agit sur le lieu même de sa production avec une constante de vitesse très élevée, ainsi sont oxydés des acides aminés, des cassures sont créées dans l'ADN avec des modifications des bases puriques et pyrimidiques ; il s'attaque aux lipides tant au niveau membranaire que des lipoprotéines, initiant une chaîne de transformation connue sous le nom de peroxydation lipidique. Le radical $OH^{\cdot}$ se forme surtout en présence de métaux de transition avec formation de complexes intermédiaires (réaction de Fenton) selon :

$$Fe^{2+} + H_2O_2 \longrightarrow \text{complexes intermédiaires} \longrightarrow Fe^{3+} + OH^{\cdot} + OH^{-}$$

Ces complexes intermédiaires se font surtout avec le citrate et l'ATP ; la réduction du Fe^{2+} en Fe^{3+} peut aussi être liée au pouvoir réducteur de l'ascorbate d'où le rôle antioxydant de la vitamine C (acide ascorbique). Le radical $OH^{\cdot}$ peut aussi provenir des effets des radiations ionisantes, du rayonnement ultraviolet et des ultrasons ; ainsi il est responsable des dommages à l'ADN cellulaire induits par les radiations ionisantes, comme sur les protéines et les lipides.

Le troisième composé radicalaire est le monoxyde d'azote ($NO^{\cdot}$) produit à partir de l'arginine dans une suite de réactions catalysées par une NO-synthase dont il existe trois espèces principales, d'une part la NO-synthase endothéliale (NOS-III) dite constitutive, responsable de la production de $NO^{\cdot}$ dans la paroi vasculaire venant y exercer une action vasodilatatrice, d'autre part une NO-synthase constitutive neuronale (NOS-I) et enfin une NO-synthase inductible (NOS-II), en particulier celle des macrophages induites par des stimuli inflammatoires. $NO^{\cdot}$ peut réagir avec d'autres radicaux libres, comme l'$O_2^{\cdot-}$ pour former du peroxynitrite ($ONOO^{-}$), qui est un oxydant puissant vis-à-vis des lipides (peroxydation lipidique) et induisant la nitration d'acides aminés aromatiques.

L'acide hypochloreux (HClO) est aussi un oxydant puissant ; il est généré au cours de la phagocytose, sous

l'action de la myéloperoxydase, participant à des effets bactéricides en attaquant des groupements thiols réducteurs (-SH) :

$$H_2O_2 + Cl^- \xrightarrow{\text{Myéloperoxydase}} HClO + OH^-$$

Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) est relativement peu actif ; par contre, il diffuse rapidement à travers les membranes cellulaires et peut se localiser dans les peroxysomes. Il agit comme vu précédemment dans la réaction de Fenton ou avec l'ion chlorure. Il est formé par dismutation du $O_2^{\cdot-}$ (réaction catalysée par la SOD), ou sous l'action d'oxydases, comme les acides aminés-oxydases, l'urate-oxydase…

Les protections antioxydantes

Les enzymes antioxydantes

Les superoxyde-dismutases

Les superoxyde-dismutases (SOD) catalysent toutes la dismutation de l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) selon la réaction :

$$2\,O_2^{\cdot-} + 2\,H^+ \xrightarrow{\text{SOD}} H_2O_2 + O_2$$

Il existe trois grandes espèces de SOD ; elles sont toutes des métallo-enzymes : chez les procaryotes, une SOD à fer (Fe-SOD) et une SOD à manganèse (Mn-SOD) ; chez les eucaryotes, une Mn-SOD (ou SOD-2) dans les mitochondries et une SOD à cuivre et zinc (Cu/Zn-SOD ou SOD-1) dans le cytosol des cellules. Une Cu/Zn-SOD extracellulaire a aussi été décrite, immunologiquement distincte de la Cu/Zn-SOD cytologique ; elles sont en fait structurellement différentes, la Cu/Zn-SOD cytologique étant une protéine oligomérique de 32 kDa avec deux sous-unités identiques portant chacune les deux atomes métalliques, et la Cu/Zn-SOD extracellulaire étant une glycoprotéine tétramérique de 135 kDa, dont il existe plusieurs formes plus ou moins associées à l'héparine. Seul l'ion Cu^{2+} participe à l'acte catalytique, en deux temps, en utilisant ses deux valences. Dans le site actif, l'ion cuivrique est lié à quatre résidus d'histidine, dont l'un participe à l'acte catalytique en donnant les protons par l'intermédiaire du zinc. L'activité de la Cu/Zn-SOD est inhibée par l'ion cyanure (CN^-), alors que celle de la Mn-SOD ne l'est pas. Cette dernière est totalement différente, avec une masse moléculaire de 40 kDa. Chez les bactéries, elle serait formée de deux sous-unités, alors que chez les organismes supérieurs (plantes, animaux), elle en serait formée de quatre, avec des séquences différentes de celle de la Cu/Zn-SOD et une localisation essentiellement mitochondriale. L'ion Mn^{2+} est indispensable à l'acte catalytique ***(figure 1)***.

La glutathion-peroxydase et les autres peroxydases

La glutathion-peroxydase (GPX) catalyse la réduction d'hydroperoxydes en alcools avec oxydation du glutathion réduit (GSH) en glutathion oxydé (GSSG) selon la réaction :

$$ROOH + 2\,GSH \xrightarrow{\text{GPX}} ROH + H_2O + GSSG$$

ROOH peut être un hydroperoxyde d'acides gras ou de cholestérol. Cette réaction est couplée à celle régénérant le GSH, catalysée par la glutathion-réductase :

$$GSSG + NADPH + H^+ \xrightarrow{\text{Glutathion-réductase}} 2\,GSH + NADP^+$$

Le NADPH,H^+ est fourni par la voie des pentoses-phosphates, nécessitant l'activité de la glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PD). La GPX est une protéine constituée de quatre sous-unités comportant chacune un atome de sélénium, intégré dans le site actif sous forme de séléno-cystéine où l'atome de soufre a été remplacé par un atome de sélénium (isostérie chimique ne changeant pas les propriétés de l'atome de façon importante, dont une déprotonation facile). Un déficit en sélénium conduit à une baisse de l'activité de la GPX. Il existe deux formes de la GPX très proches : une GPX cellulaire, dite classique essentiellement cytologique (90 %) et accessoirement mitochondriale (10 %), et une GPX plasmatique qui présente une plus faible activité à cause d'une très faible concentration du GSH dans le plasma, bien inférieure au Km de l'enzyme pour ce substrat. Des formes monomériques (19 kDa) spécialisées existeraient dans la membrane plasmique : une phospholipide-hydroperoxyde-GPX et une GPX intestinale métabolisant les hydroperoxydes des lipides alimentaires ou produits au cours de la lipoperoxydation intestinale. Il existe d'autres peroxydases qui n'utilisent pas le GSH comme agent réducteur, ainsi pour les cytochrome-c-peroxydases et la NADP-peroxydase ***(figure 1)***.

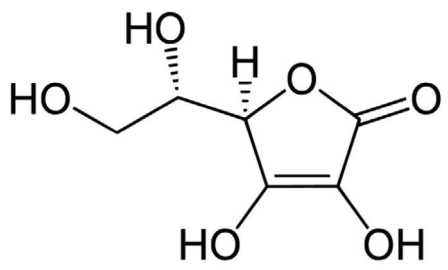
La catalase

La catalase est une enzyme catalysant la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire, selon la réaction :

$$2\,H_2O_2 \xrightarrow{\text{Catalase}} 2\,H_2O + O_2$$

Elle est formée de quatre sous-unités, chacune comportant une molécule d'hème liant du fer sous forme Fe^{3+}, liée au site actif comme groupement prosthétique. La dissociation de cette structure quaternaire lui fait perdre son activité. On la trouve essentiellement dans les peroxysomes et les hématies, lieux de production de H_2O_2, ainsi immédiatement détoxiqué. Par ailleurs, l'action de la catalase est complémentaire de celle des SOD qui produisent du H_2O_2 ***(figure 1)*** [1-6].

Figure 2. L'acide ascorbique ou vitamine C.



© B. Baudin

Tableau 1. Sources naturelles en vitamine C et vitamines liposolubles A et E donnant lieu à des carences alimentaires (en mg/100 g).

Sources	A	E	C
Huiles de foie de poisson	150-200	-	-
Foies d'animaux	5-30	-	-
Poissons	0,02-1	2-7	-
Beurre	0,6	1,5	-
Œuf de poule	0,3	1	-
Fromages	0,06-0,1	1	-
Huiles végétales	-	5-100	-
Germes de soja	-	1	80
Fruits et légumes	1-10*	1-4	10-5 000
Baies exotiques			1000-5000
Cynorrhodon			750-1 500
Goyave			250
Cassis			200
Poivron			120
Chou			75
Citron			65
Fraise, orange			60
Épinard			50
Cerise			10

* Précurseurs de vitamine A.

Les vitamines antioxydantes

La vitamine C

La vitamine C est l'acide L-ascorbique, un dérivé du furanne, ressemblant fort à un sucre ce qui lui confère des propriétés hydrosolubles ***(figure 2)***. La vitamine C est un réducteur et un antioxydant, comme la vitamine E en piégeant les radicaux libres, en régénérant la vitamine E, en préservant le glutathion, et en manifestant un pouvoir réducteur sur le collagène, la DOPA et de nombreuses autres molécules oxydées. Elle est régénérée par le glutathion, la SOD et la catalase. La vitamine C est nécessaire à la formation des globules rouges et à la maturation du système immunitaire. Cette vitamine est très fragile en solution, détruite par la chaleur, le contact à l'air et l'exposition à la lumière ; la cuisson des aliments la détruit ; elle ne peut donc être apportée que par des aliments frais. On la trouve en quantités importantes dans les légumes verts et les fruits frais, surtout les agrumes (citron, orange, pamplemousse…) ; elle se présente essentiellement sous forme de sels, les ascorbates de sodium et de calcium, comme on les retrouve dans les urines en cas de surconsommation de vitamine C. Les apports conseillés par l'AFSSA sont de 110 mg par jour, très faciles à obtenir avec une alimentation équilibrée, par exemple une orange peut en fournir la moitié ! Les besoins augmentent au cours de la grossesse et de l'allaitement, et seraient plus importants chez le fumeur ***(tableau I)***.

La vitamine E

La vitamine E est l'α-tocophérol (α-TOH), le γ-tocophérol étant le plus courant dans le monde vivant ; ils sont tous deux des composés terpéniques à noyau chromanol peu solubles dans l'eau mais solubles dans les graisses et les solvants organiques (lipophiles) ***(figure 3)***. La vitamine E est un antiradicalaire puissant en captant l'électron célibataire, et le stabilisant par résonance, électron trouvé dans les radicaux oxygénés libres $RO^{\cdot}$ (alcoolate) et $ROO^{\cdot}$ (alcoxy), interrompant ainsi la chaîne de propagation radicalaire dans les membranes cellulaires. La vitamine E protège de la peroxydation lipidique et de ses effets délétères sur les membranes ; elle protège et répare, selon le mécanisme suivant :

Vitamine E

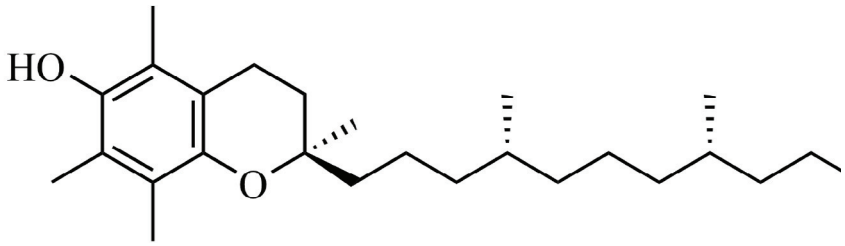
$$\alpha\text{-TOH} + ROO^{\cdot} \longrightarrow \alpha\text{-TO}^{\cdot} + ROOH$$

Pour rester active, elle doit être régénérée par la vitamine C :

Vitamine C

$$\alpha\text{-TO}^{\cdot} + \text{ascorbate réduit} \longrightarrow \alpha\text{-TOH} + \text{ascorbate oxydé}$$

Figure 3. Vitamine E ou α-tocophérol.



© B. Baudin

La vitamine C est à son tour régénérée par la NADP-réductase :

$$\text{ascorbate oxydé} + \text{NADPH} + \text{H}^+ \xrightarrow{\text{NADP-réductase}} \text{ascorbate réduit} + \text{NADP}^+$$

Mais, à forte concentration, la vitamine E présente plutôt des effets pro-oxydants :

Vitamine E

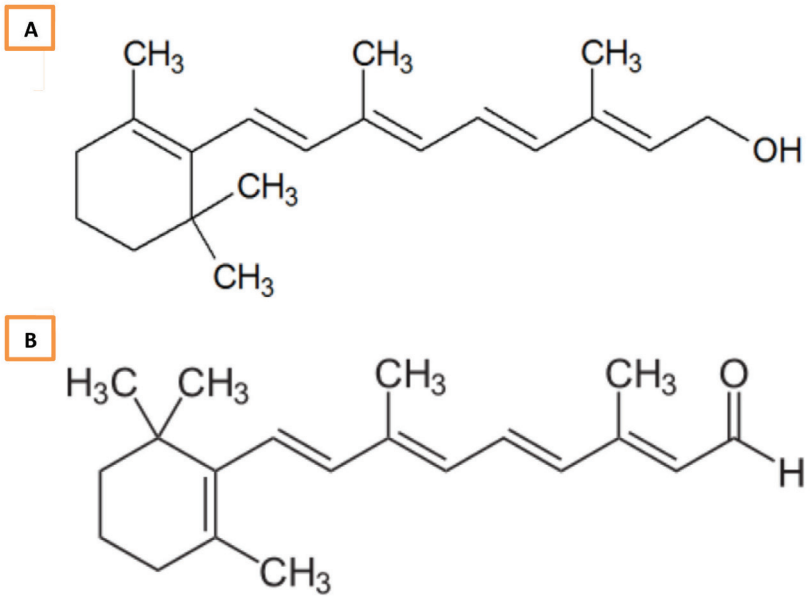
$$\alpha\text{-TO}^{\cdot} + \text{ROOH} \longrightarrow \alpha\text{-TOH} + \text{ROO}^{\cdot}$$
$$\text{ROO}^{\cdot} + \text{RH} \rightarrow \text{ROOH} + \text{R}^{\cdot}$$

Les vitamines E et C forment le couple antioxydant le plus puissant de notre organisme ; on peut leur associer le glutathion qui est dans le cycle de régénération de la vitamine C. La vitamine E est retrouvée dans les germes de céréales, les fruits secs, les légumes verts, les huiles végétales, les œufs, les poissons, le lait et les laitages ***(tableau I)***. Les carences en vitamine E sont rares ; on a documenté des déficits reliés aux maladies cardiovasculaires, la vitamine E protégeant de l'oxydation des acides gras, dont ceux portés par les particules LDL (LDL oxydées). L'alimentation couvre normalement nos besoins, de plus cette vitamine est stockée dans le foie et les graisses, et semble peu détruite au niveau tissulaire.

La vitamine A

La vitamine A est le rétinol, un terpène cyclique qui existe sous plusieurs formes dont le rétinol lui-même étant la forme la plus active (fonction alcool primaire), le rétinal (fonction aldéhyde) dont il existe plusieurs isomères, et l'acide rétinoïque (fonction acide carboxylique) issus des carotènes naturels (produits végétaux) ou trouvés dans les produits animaux sous forme active ou d'esters comme le rétinyl-phosphate ***(figure 4)***. Les carotènes précurseurs sont transformés en rétinol sous l'action d'une mono-oxygénase ; les caroténoïdes regroupent les carotènes (α, β et γ) et des molécules apparentées potentiellement productrices de rétinol ou de ses dérivés. Les caroténoïdes et la vitamine A possèdent des propriétés antiradicalaires en piégeant les lipoperoxydes et protègeraient ainsi les LDL. La vitamine A se trouve naturellement dans le foie, les viandes, la chair de poisson, les œufs et les produits laitiers. Par ailleurs, les carottes, les épinards et les fruits comme les abricots, les pêches jaunes, la mangue et le melon sont riches en carotènes (essentiellement les légumes et fruits orange ou jaunes !) ***(tableau I)***. L'absorption est intestinale nécessitant la présence de graisses et de sels biliaires, en effet la vitamine A est liposoluble par sa richesse en atomes de carbone (terpène). Elle est stockée presque exclusivement dans le foie, dans des vésicules lipophiles des cellules étoilées dites aussi cellules de Ito. Circulent dans le sang des fifrelins de rétinol très

Figure 4. A- Rétinol (vitamine A) ; B- Rétinal tout trans.



© B. Baudin

dépendants des apports alimentaires journaliers, et liés à une protéine de liaison, la *Retinol Binding Protein* (RBP). La vitamine A n'est pratiquement pas éliminée, sinon au cours d'atteintes rénales avec la RBP urinaire. Elle est indispensable à l'œil et à la peau. Le rétinal 11-cis forme la rhodopsine en s'associant à l'opsine, la rhodopsine étant la protéine membranaire des cellules nerveuses de l'œil (les bâtonnets) responsables du transfert de l'influx nerveux des photorécepteurs vers le nerf optique ; la rhodopsine constitue une véritable photopile, siège du cycle du rétinal 11-cis faisant intervenir deux enzymes. Par ailleurs, la vitamine A stimulerait la synthèse de la mélanine, le principal pigment cutané foncé (melanos = noir) et est impliquée dans la croissance de l'os. Les besoins sont de l'ordre du milligramme par jour et varient avec l'âge [1-5].

Les autres composés antioxydants

Le glutathion

Le glutathion est un tripeptide (glutamyl-cystéinyl-glycine) présent dans les cellules majoritairement sous forme réduite (GSH). Il est ainsi la principale source cellulaire d'agents réducteurs ; il agit essentiellement par l'action des GPX. Par ailleurs, des glutathion-S-transférases (GST) catalysent son transfert sur de nombreux substrats. Sa forme oxydée (GSSG) régénère la forme réduite sous l'effet de la glutathion-réductase.

Les autres composés antioxydants hydrosolubles

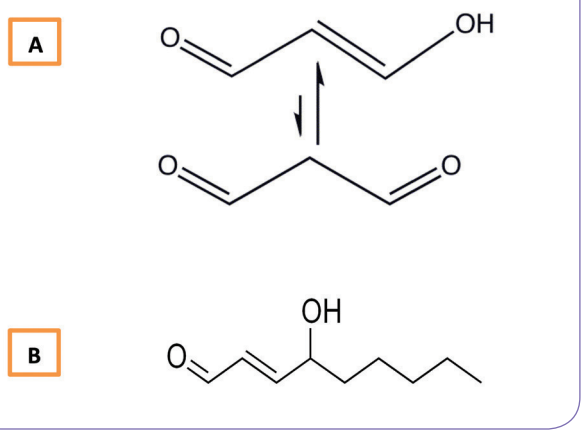
Les polyphénols sont des piégeurs de radicaux libres et des chélateurs d'ions métalliques, d'où des propriétés antioxydantes attribués aux composés les contenant comme les thés et les vins, qui par leur richesse en polyphénols, dont les flavonoïdes, présenteraient des effets protecteurs vis-à-vis des maladies cardiovasculaires. L'acide urique présente, à concentration physiologique, des propriétés antioxydantes en piégeant le radical $OH^{\cdot}$; à moindre titre, la bilirubine et la mélatonine présenteraient aussi des propriétés antioxydantes, mais peut-être pas à leurs concentrations physiologiques.

Stress oxydant et pathologies

Stress oxydant et maladies cardiovasculaires

Le stress oxydant prend une place importante dans la physiopathologie des maladies cardiovasculaires liées à l'athérosclérose, en particulier dans la formation et l'évolution de la plaque athéromateuse. Les acides gras polyinsaturés libres ou estérifiés (triglycérides, phospholipides, esters de cholestérol) sont des cibles privilégiées des radicaux libres tout comme le cholestérol non estérifié. Ces lipides sont constitutifs des membranes

Figure 5.
A- Les isomères du malondialdéhyde ; B- Le 4-hydroxynonénal.



© B. Baudin

cellulaires, des lipoprotéines circulantes ainsi que des complexes de l'albumine avec les acides gras non estérifiés. Le mécanisme central d'oxydation des acides gras polyinsaturés passe par la peroxydation lipidique, une attaque radicalaire initiée par des ERO de type $RO^{\cdot}$, $ROO^{\cdot}$, $OH^{\cdot}$, $HOO^{\cdot}$. Il va se former des peroxydes qui vont se décomposer en alcanes, comme l'éthane, en aldéhydes comme le malondialdéhyde (ou dialdéhyde malonique) et le 4-hydroxynonénal ***(figure 5)***, ainsi que des isoprostanes, isomères de prostaglandines, issus de l'attaque oxydante de l'acide arachidonique par $OH^{\cdot}$. Le malondialdéhyde et le 4-hydroxynonénal sont responsables de nombreux effets délétères, le premier par modification de l'apoB100 des LDL, le second en inhibant la croissance cellulaire et par des propriétés chimiotactiques. Le cholestérol (estérifié ou non) est lui oxydé sous forme d'oxystérols, qui seraient des modulateurs de la biosynthèse du cholestérol et de son efflux, ainsi que des régulateurs de l'expression du récepteur LDL. Tous ces composés oxydés ou provenant de la peroxydation lipidique sont retrouvés dans la plaque d'athérosclérose et ont participé à l'élaboration de la théorie oxydative de l'athérosclérose [6-8].

Stress oxydant et cancer

Le cancer est associé à un potentiel de réplication illimité, à une interdépendance des signaux de croissance avec en parallèle une résistance à la signalisation inhibitrice de la croissance cellulaire, à un échappement à l'activation de la mort cellulaire, à une angiogenèse soutenue, ainsi qu'à une invasion tissulaire et des métastases. À toutes les étapes, de la tumeur primaire jusqu'à la colonisation d'un organe distant, les cellules métastatiques suivent un processus continu d'adaptation qui peut mener à la survie de clones de cellules malignes hautement résistantes. Dans cette séquence d'évènements, le stress oxydant joue des rôles clefs ; on peut

citer l'augmentation du taux de mutations de l'ADN à des niveaux comparables à ceux promus par des carcinogènes connus comme les aromatiques polycycliques. Il est maintenant évident que beaucoup de réponses cellulaires au stress oxydant sont régulées par des facteurs de transcription comme NF-κB, AP-1, p53, MAPK, Wnt et Nif2. Le rôle du stress oxydant est de mieux en mieux connu que ce soit dans la transformation d'une cellule normale en une cellule tumorale immortelle, dans la prolifération, la chimiorésistance, la radiorésistance, l'invasion, l'angiogenèse ou encore dans la survie des cellules souches. Par ailleurs, le stress oxydant est particulièrement important dans l'effet cytotoxique exercé par les chimiothérapies et radiothérapies sur les mécanismes de signalisation cellulaire qui régulent la progression vers les métastases. Ainsi, le stress oxydant présente des effets ambivalents, pro- et anticancer, et donc le niveau de production des ERO détermine le taux et l'étendue de la progression tumorale *in vivo*. Par exemple, on sait que les ERO sont responsables de l'oxydation de lipides qui peuvent induire à leur tour une oxydation de protéines liées à l'ADN promouvant la mutagenèse par l'altération de l'ADN-polymérase et l'inhibition d'enzymes de réparation de l'ADN [6].

Stress oxydant et maladies infectieuses

Les polynucléaires neutrophiles sont des cellules phagocytaires représentant la première ligne de défense contre les micro-organismes envahissant l'organisme. Ils participent à la réponse inflammatoire se regroupant dans les sites d'inflammation où ils agissent par leurs capacités phagocytaires et sécrétrices. Ainsi, ils facilitent le chimiotactisme, l'adhésion et la libération de granules cytoplasmiques contenant des enzymes lytiques, en synthétisant et sécrétant des leucotriènes et des ERO, ces derniers en conditions d'aérobiose. L'anion superoxyde ($O_2^{-\cdot}$) est produit par activation de la NADP-oxydase (NOX2), elle-même activée par la liaison de stimuli extracellulaires sur des récepteurs spécifiques, par exemple à l'interféron-γ, au TNF-α, à l'endotoxine, au *« granulocyte-macrophage colony-stimulating factor »* (GM-CSF) ou encore au *« platelet-activating factor »* (PAF). La réaction a lieu à la surface cellulaire, le NADPH,H$^+$ étant consommé intra-cellulairement, mais l'anion $O_2^{-\cdot}$ est libéré à l'extérieur :

$$\mathrm{NADPH,H^+ + 2\,O_2 \xrightarrow{\text{NADP-oxydase}} NADP^+ + 2\,H^+ + 2\,O_2^{-\cdot}}$$

L'enzyme est formée d'un cytochrome b, le dernier composant transférant un électron à l'O_2 d'une chaîne respiratoire, qui serait complète car on trouve aussi dans cette enzyme une flavoprotéine et une ubiquinone. Quant à la myéloperoxydase contenue dans les granules azurophiles, après libération, elle produit de l'HClO microbicide et cytotoxique, actif surtout sur les thiols, celui des groupements cystéinyl mais aussi le soufre de la méthionine, ainsi que les fonctions amines des acides aminés pour former des chloramines elles-mêmes pro-oxydantes. Néanmoins, la myéloperoxydase peut aussi dismuter $O_2^{-\cdot}$ et agir comme une catalase, donc produisant et détruisant H_2O_2. Tous les mécanismes mettant en jeu le stress oxydant sont encore loin d'être élucidés dans ce domaine de l'infectiologie [2,7].

Stress oxydant et hyperoxie

Le stress oxydant intervient dans toutes les circonstances où l'O_2 est en excès ou réapparaît brutalement comme dans l'ischémie-reperfusion. Le poumon peut subir une toxicité directe liée au stress oxydant comme dans l'hyperoxie et les traitements par des anticancéreux comme l'adriamycine et la bléomycine, aussi dans l'intoxication au paraquat. Le poumon est le seul organe en contact direct avec l'O_2 de l'atmosphère ; dans les autres organes, il est porté par l'hémoglobine. L'O_2 pur est toxique pour le poumon, tout comme des composés très oxydants comme l'ozone (O_3) et l'oxyde nitreux (NO_2). La toxicité touche d'abord les cellules endothéliales et épithéliales pulmonaires, puis les macrophages alvéolaires, induisant un afflux de neutrophiles et de monocytes, et un stress oxydant avec la production d'$O_2^{-\cdot}$ et d'H_2O_2. L'hyperoxie inhibe la chaîne respiratoire mitochondriale diminuant la production d'ATP ; les ions $O_2^{-\cdot}$ inversent le rapport NADPH,H$^+$/NADP$^+$ diminuant le taux de GSH avec une forte altération de l'état redox cellulaire. Les cellules pulmonaires vont répondre à cette agression en augmentant la production d'enzymes antioxydantes, surtout la GPX tant que la quantité de sélénium disponible ne fait pas défaut. Le paraquat est toxique pour le poumon et le rein, au niveau du poumon en altérant les pneumocytes (cellules épithéliales de type II), sécréteurs de surfactant et précurseurs des cellules épithéliales de type I ; en toxicité aiguë, il crée des œdèmes et une nécrose tissulaire, en toxicité chronique ou subléthale, une fibrose pulmonaire. Les $O_2^{-\cdot}$ et H_2O_2 initient une peroxydation lipidique avec formation d'isoprostanes à effets vasomoteurs et chimiotactiques. De plus, H_2O_2 inactive la SOD et $O_2^{-\cdot}$ la catalase, affaiblissant les défenses antioxydantes. Une autre situation est celle de l'ischémie-reperfusion, comme au niveau du myocarde et du cerveau après traitement thrombolytique, et au niveau du foie après transplantation. La production d'ERO a été trouvée dans toutes ces situations, sans toujours bien connaître les cellules responsables et les mécanismes mis en jeu ; les neutrophiles auraient un rôle important, mettant en jeu la NADP-oxydase, la production d'isoprostanes et l'afflux de plaquettes. Un mécanisme assez spécifique à la reperfusion repose sur la xanthine-oxydase, qui existerait sous deux formes. Durant l'ischémie, la xanthine-déshydrogénase à NAD serait rapidement convertie en xanthine-oxydase, qui catalyse la formation

d'ions $O_2^{\cdot-}$ par oxydation de la xanthine en acide urique, selon :

$$\text{Xanthine} + H_2O + 2\,O_2 \xrightarrow{\text{Xanthine-oxydase}} \text{acide urique} + 2\,H^+ + 2\,O_2^{\cdot-}$$

Pendant la phase d'ischémie, les activités des enzymes antioxydantes sont diminuées, et comme la disponibilité en O_2 est réduite, la chaîne respiratoire travaille à bas débit et le rapport $NADH,H^+/NAD^+$ s'inverse diminuant le pouvoir réducteur dans les cellules comme la production d'ATP. Au cours de la reperfusion, l'arrivée brutale d'O_2 dépasse les capacités réductrices de la chaîne respiratoire, débordant vers la production d'ERO avec leur cortège de produits issus de la lipoperoxydation responsables de ce que l'on appelle « les dommages liés à la reperfusion ». Les activités des enzymes antioxydantes étant abaissées pendant l'ischémie, elles sont peu efficaces lors de reperfusion, donc rapidement débordées par la grande quantité d'ERO produite. Après un exercice physique intense, des ERO sont produites dans le muscle squelettique, cardiaque et non cardiaque, avec des dommages mitochondriaux et mort cellulaire. On peut retrouver certains de ces effets dans les maladies musculaires comme la dystrophie de Duchenne [7].

Théorie radicalaire du vieillissement

Le stress oxydant est largement impliqué dans le vieillissement, pour une part importante parce qu'il est induit par l'ischémie cérébrale et cardiaque, mais aussi dans le diabète et la maladie d'Alzheimer. Les défenses antioxydantes diminueraient avec l'âge ; elles deviendraient insuffisantes devant les sources d'ERO de plus en plus nombreuses. Les altérations moléculaires induites par les ERO sur les lipides, les glucides, les protéines et les acides nucléiques sont souvent irréversibles ; des produits toxiques s'accumulent dans les tissus annihilant des circuits d'information neuronaux, modifiant les régulations de la signalisation cellulaire et perturbant les équilibres physiologiques, souvent en induisant un phénomène d'apoptose. Le stress d'origine mitochondriale est décrit comme une cause majeure du vieillissement, en raison de l'accumulation de mutations somatiques de l'ADN mitochondrial, une cible privilégiée des ERO produites par la chaîne respiratoire ***(figure 1)***. Le mauvais fonctionnement des oxydations phosphorylantes entraîne une surproduction d'ERO créant un véritable cercle vicieux. Par ailleurs, la production mitochondriale d'ERO induite par l'hyperglycémie altère le fonctionnement des cellules endothéliales et pourrait être responsable des microangiopathies observées au cours du diabète et de ses complications. Les maladies neurodégénératives (Parkinson, Alzheimer) seraient aussi liées à une surproduction d'ERO par les mitochondries [5]. L'accumulation de stress cellulaires et moléculaires accélère les processus du vieillissement dont une part est d'origine génétique (mutations dans les gènes codant pour les enzymes antioxydantes, pour les protéines de la chaîne respiratoire, de la régulation de la glycémie…) et d'autre part environnementale accumulant des sources de stress (ischémie, exposition aux radiations, traitements anticancéreux, inflammation chronique, intoxications…).

Liens d'intérêts : l'auteur déclare ne pas avoir de liens d'intérêts.

Points à retenir

- Le stress oxydant est physiologique permettant une défense antimicrobienne non spécifique et anticancéreuse.
- Le stress oxydant est incriminé dans des processus pathologiques comme l'ischémie-reperfusion, la formation de la plaque athéromateuse avec l'oxydation des lipides, le diabète avec l'oxydation des protéines, le cancer avec l'oxydation de l'ADN, le vieillissement avec oxydation cellulaire et moléculaire et dans de nombreuses autres situations.
- Les espèces réactives de l'oxygène sont le yin et le yang de la mitochondrie, le monoxyde d'azote, le bon, la brute et le truand.
- Les vitamines A, E et C sont essentielles à la protection antiradicalaire et antioxydante.

Références

[1] Bonnefont-Rousselot D, Thérond P, Delattre J et al. Biochimie pathologique. Aspects moléculaires et cellulaires. Chapitre 4 : Radicaux libres et antioxydants. Médecine-Sciences, Flammarion, 2003.
[2] Bonnefont-Rousselot D, Borderie D, Beaudeux J. L et al. Exploration en biochimie médicale : interprétations et orientations diagnostiques. Chapitre 10 : Exploration biochimique du déséquilibre redox. Médecine-Sciences, Lavoisier, 2019.
[3] Carrière A, Galinier A, Fernandes Y et al. Les espèces actives de l'oxygène : le yin et le yang de la mitochondrie. Médecine/Sciences 2006 ; 22:47-53.
[4] Thorpe G. W, Fong C. S, Alic N et al. Cells have distinct mechanisms to maintain protection against different reactive oxygen species: oxidative-stress-response genes. Proc. Natl. Acad. Sci USA 2004 ;1:6564-9.
[5] Turrens J.F. Mitochondrial formation of reactive oxygen species. J. Physiol. 2003 ;552:335-44.
[6] Migdal C., Serres M. Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. Médecine/Sciences 2011 ;27:405-12.
[7] Oxygen radicals: systemic events and disease processes. Ed. D. K Das, W.B. Essman, Karger, 1990.
[8] Beaudeux J. L, Delattre J, Peynet J et al. Biochimie pathologique. Aspects moléculaires et cellulaires. Chapitre 6 : Lipoprotéines et athérosclérose : mécanismes moléculaires et cellulaires. Médecine/Sciences, Flammarion, 2003.