

Le Stress oxydant

I.Hininger-Favier, Maître des Conférences des Universités

Laboratoire de Biologie du stress Oxydant. Faculté de Pharmacie. Grenoble

Qu'appelle t'on un radical libre ?

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules portant un électron non apparié. Cette propriété rend ces éléments très réactifs du fait de la tendance de cet électron à se réappairier, déstabilisant ainsi d'autres molécules. Les molécules ainsi transformées deviennent à leur tour d'autres radicaux libres et initient ainsi une réaction en chaîne.

L'oxydation des acides gras constitutifs des phospholipides membranaires est l'une des éventualités apparaissant au cours de telles réactions.

Principaux radicaux libres rencontrés en biologie

| | |
|-----------------------|----------------|
| Anion superoxyde | $O_2^{\circ-}$ |
| Radical hydroxyle | $^{\circ}OH$ |
| Oxygène singulet | 1O_2 |
| Monoxyde d'azote | NO° |
| Peroxyde d'hydrogène* | H_2O_2 |
| Nitroxyde | NOO° |
| Peroxynitrite | $ONOO^{\circ}$ |
| Radical peroxy | ROO° |

- N'est pas un radical libre au vrai sens du terme, mais espèce toxique en raison de leur pouvoir oxydant

2. Les sources de production des radicaux libres

Des radicaux libres sont produits par un grand nombre de mécanismes tant endogènes qu'exogènes. Sans vouloir faire du finalisme, nous pouvons considérer que certaines de ces productions sont volontairement programmées par l'organisme à des fins de défense ou d'envoi des signaux.

- a) La mitochondrie est la source de production majeure d' $O_2^{\circ-}$ dans la cellule intacte. Dans les conditions physiologiques, la formation de ce radical est liée à l'activité physique et par là même à l'intensité d'oxygénation. Cette production peut également s'intensifier lorsque interviennent des désordres mitochondriaux génétiques, inflammatoires (effet du TNF- α) ou nutritionnels (carence en ubiquinone).

- b) L'inflammation est par ailleurs une source importante de radicaux oxygénés produits directement par le complexe enzymatique NADPH oxydase des cellules phagocytaires activées. Ce mécanisme lorsqu'il est contrôlé est capital dans la lutte infectieuse car il permet la phagocytose des bactéries et corps étrangers. De plus les cellules inflammatoires et immunes peuvent produire des cytokines comme le TNF- α qui est capable de faire produire des radicaux libres par la mitochondries des cellules cibles.
- c) Plusieurs autres systèmes enzymatiques produisent des radicaux libres au cours de réaction biochimiques (xanthine oxydase, hème oxygénase, cytochrome P450...). Une autre espèce radicalaire le monoxyde d'azote (ou NO $^{\circ}$) est elle aussi produite par des systèmes enzymatiques que sont les différentes NO Synthases (ou NOS) à des fins de médiation cellulaires. Rappelons que la production concomitante dans un même site de NO et de superoxyde s'avère très dommageable en donnant naissance au radical peroxydinitrite.
- d) Une autre source importante de radicaux sont les mécanismes de cycles rédox que produit dans l'organisme l'oxydation de molécules comme les quinones. Ces différentes molécules endogènes ou exogènes (ascorbate, glutathion réduit, adrénaline, flavines) réagissent spontanément avec l'O $_2$ et sont ainsi oxydées conduisant à la formation de O $_2^{\circ-}$. Ce mécanisme est souvent mis en cause pour expliquer la toxicité de l'alcool, des résidus de la fumée de cigarette, ou de certains médicaments (chloroquine, adriamycine, acetaminophène), mais il existe aussi pour des composés endogènes comme le lévulinate et surtout les catécholamines. Ce dernier mécanisme amplifié par les métaux, fait l'objet de recherche actuelles sur l'origine de la maladie de Parkinson. Les O $_2^{\circ-}$ sont également produits lors de la formation de méthémoglobine à partir d'oxyhémoglobine.
- e) Les métaux toxiques (chrome, vanadium, cuivre) mais aussi le fer libres (existant lors de surcharges générales ou localisées) génèrent en présence de peroxyde d'hydrogène (H $_2$ O $_2$) des radicaux hydroxyles très réactifs par une réaction appelée réaction de Fenton. Les particules inhalées telles que l'amiante et ou la silice sont aussi des sources de radicaux par la phagocytose exacerbée qu'elles déclenchent et aussi car elles sont recouvertes de sels de fer en surface.
- f) Les rayonnements sont par différents mécanismes des sources de radicaux, qu'il s'agisse des rayons ionisants X ou gamma, ou des rayons ultraviolets capables de produire des anions superoxydes ou de l'oxygène singulet après activation de photosensibilisants.

Les systèmes antioxydants de protection

Dans le cas d'une production physiologique de radicaux libres l'organisme dispose de système efficace de protection qui lui permette de lutter contre ces espèces radicalaires. Ces systèmes de défenses sont constitués d'un dispositif endogène de nature enzymatique représenté par :

- les superoxydes dismutases (SOD) , capables d'éliminer l'anion superoxyde. Le mécanisme réactionnel est catalysé par un métal situé au cœur de l'enzyme dont la nature distinguera les superoxydes dismutases à manganèse (mitochondriale), les superoxydes dismutases à cuivre et zinc (cytosolique), face externe de la membrane des cellules endothéliales, plasma sanguin).
- Les principaux enzymes capables de détruire le peroxyde d'hydrogène sont les catalases à cofacteur fer et les glutathion peroxydases à cofacteur sélénium (GPx). De nombreux autre systèmes enzymatiques existent comme les glutathion transférases ; les thioredoxine réductase ou la thyroïde peroxydase.

Ce système de défense se compose également d'un dispositif d'antioxydant exogènes apporté par l'alimentation. Les piègeurs de radicaux libres lipophiles incluent la vitamine E, les caroténoïdes tel le b-carotène, alors que la vitamine C est une molécule hydrophile. Ces molécules agissent en piégeant les radicaux libres et en captant l'électron célibataire les transformant en molécules ou ions stables. Par contre la vitamine devient un radical et sera soit détruite soit régénérée par un autre système. De très nombreux autres composés alimentaires peuvent avoir ce comportement : polyphénols, phytates, alcaloïdes. Des composés endogènes jouent le même rôle, dont le plus important est le glutathion.

Balance antioxydante et stress oxydant

Dans l'ensemble de nos tissus sains, les défenses antioxydantes sont capables de faire face et détruire les radicaux produits en excès. On dit que la balance antioxydants/proxydants est en équilibre. Mais dans certaines situations, en raison d'une surproduction radicalaire (tabac, alcool, pollution) ou d'une diminution des capacités antioxydantes (insuffisance d'apports des micronutriments antioxydants, inactivation enzymatiques) un déséquilibre entre production de radicaux libres et système de défense est à l'origine d'un état rédox altéré de la cellule appelé stress oxydatif.

Les cibles des radicaux libres de l'oxygène :

En cas de stress oxydatif une partie des radicaux échappent au système de contrôle et vont donc pouvoir attaquer des cibles cellulaires. Les radicaux libres provoquent la peroxydation des lipides membranaires, altérant la perméabilité des membranes, et la structure des lipoprotéines. Les radicaux libres entraînent également une rigidité de la membrane augmentant a perméabilité. Ils provoquent la dénaturation et l'inactivation des protéines (oxydation des acides aminés, désamination en dérivés carbonylés, fragmentation des chaînes polypeptidiques). Certaines protéines peuvent au contraire être activées après modifications, comme pour certains facteurs de transcription. Au niveau de l'ADN, de nombreuses lésions sont induites par les RLO. Les bases de l'ADN sont en effet très sensibles aux RLO, qui induisent la formation de nombreux dérivés, par addition, oxydation ou fragmentation.

L'équilibre de la balance pro-antioxydante est important pour l'homéostasie de la cellule. En effet, lorsque sa toxicité est maximale, le stress oxydant peut conduire à la mort cellulaire.

Le stress oxydant est impliqué dans de très nombreuses maladies. La multiplicité des conséquences médicales de ce stress ne doit pas nous surprendre car il sera, selon les maladies, localisé à un tissu (cataracte) et des types cellulaires particuliers, mettra en jeu des espèces radicalaires différentes et sera associé à d'autres facteurs variables et à des anomalies génétiques spécifiques d'un individu.

Par la création de molécules biologiques anormales et la surexpression de certains gènes, le stress oxydant sera la cause initiale essentielle de plusieurs maladies : cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aigu, œdème pulmonaire, vieillissement accéléré. Ainsi les relations entre stress oxydant et cancer s'avère très étroites, les radicaux libres intervenant dans l'activation des procarcinogènes en carcinogènes, créant des lésions de l'ADN, amplifiant les signaux prolifération et inhibant les antioncogènes comme P53.

Le stress oxydant sera aussi un des facteurs potentialisant la genèse de maladies plurifactorielles telles le diabète, la maladie d'Alzheimer les rhumatismes et les maladies cardio-vasculaires.

Les micronutriments antioxydants

Nous n'évoquerons dans cette partie uniquement les propriétés antioxydantes de certains micronutriments cependant nous devons garder à l'esprit que ces micronutriments ont d'autres rôles biochimiques qui s'étendent bien au-delà de leur propriétés antioxydantes.

Le sélénium

La quantité de sélénium présente dans l'organisme est faible, environ 10 à 20mg. Son rôle essentiel a été établi en 1957 en raison de sa capacité à prévenir chez l'animal diverses maladies d'origine nutritionnelle : dystrophie musculaire, atrophie du pancréas, nécrose du foie, troubles de la reproduction et déficits immunitaires. Chez l'homme la carence en sélénium est impliquée dans la maladie de Keshan (cardiomyopathie sévère), dans des dystrophies musculaires.

Le sélénium est nécessaire à l'activité de nombreuses enzymes telles que les glutathion peroxydases (Gpx). Ces enzymes permettent de détoxifier les hydroperoxydes et les peroxydes organiques. Les autres sélénoenzymes connues sont : la thiorédoxine réductase qui contrôle la réduction des thiols cellulaires, en maintenant à l'état réduit la thiorédoxine, et contrôle de ce fait les fonctions métaboliques de nombreuses protéines, La sélénoprotéine P, la deidoase. Le sélénium est capable d'interagir dans l'organisme avec de nombreux métaux (As, Cd, Pb Hg) et est de ce fait susceptible de moduler leur toxicité. Le sélénium agit à plusieurs niveaux dans le métabolisme de l'acide arachidonique notamment en contrôlant la concentration intracellulaire des hydroperoxydes, ce qui explique son action anti-aggrégante. Les apports estimés dans la population française varie entre 40 et 60µg/jour, mais seraient seulement de 23µg/j chez des sujets âgés hospitalisés. Les études de suppléments en Se montrent un effet sur les indicateurs du statut biologiques en Se (taux sanguins, activité des Gpx). Plusieurs études épidémiologiques ont pu montrer une association entre certains cancers et des maladies cardiovasculaires (Keshan disease) et de carence en Se. Deux études de supplémentation montrent que associé à la vitamine A,E,C, le sélénium pourrait diminuer de façon très significative l'incidence générale des cancers. Un rôle bénéfique du sélénium est également décrit en dermatologie et dans la prévention de maladies rhumatologiques. Les A.NC. sont de 60µg/J.

Le zinc

Le zinc joue un rôle structural ou régulateur pour plus de 200 enzymes. Les progrès les plus récents et spectaculaire concernent la découverte du rôle du zinc dans le fonctionnement du noyau, les protéines à doigts de zinc constituant une des principales structures de liaison à l'ADN. L'importance du Zinc dans la prévention des effets toxiques dus aux radicaux libres est primordiale : le zinc joue un rôle dans l'activité et le maintien de la SOD qui est un piègeur capital des ions superoxydes, précurseurs de la chaîne des RL. Mais son action essentielle semble plutôt se situer au niveau de la génération du radical hydroxyl en tant que antagoniste du fer. Les implications du zinc dans la biosynthèse des acides gras et des prostaglandines soulignent également son importance dans la réaction inflammatoire. En raison d'un apport alimentaire usuel situé souvent à la limite des besoins nutritionnels et de l'intervention de nombreux facteurs physiologiques, ou pathologiques susceptibles d'influencer la résorption ou l'élimination du zinc, les déficits marginaux en cet élément ne sont pas rares dans les pays industrialisés. Les A.N.C sont estimés à 12mg/j

La vitamine E

La vitamine E est un puissant antioxydant liposoluble, fonction qui peut expliquer un effet antinéoplasique et préventif des maladies cardiovasculaires. Plusieurs études épidémiologiques ont également trouvé une corrélation entre un statut élevé en vitamine E et un moindre risque cardio-vasculaire et de cataracte. Les ANC chez l'adulte sont de 12mg/j.

La vitamine C

Si les formes majeures de carence en vitamine C entraînant des manifestations cliniques de scorbut ont disparu des pays industrialisés, différents travaux suggèrent que des déficits en vitamine C ou des apports faibles en cette vitamine, pourraient jouer un rôle de facteur de risque dans le déterminisme de diverses pathologies (vitamine C et cancers, vitamine C et maladies cardio-vasculaires, vitamine C et cataracte, vitamine C et immunité). La vitamine C est un antioxydant soluble capable de régénérer la vitamine E oxydée. Différents auteurs ont suggéré que la vitamine C, bloquerait la formation des nitrosamines et nitrosamides. Dans les premiers travaux épidémiologiques, l'étude des relations entre vitamine C et cancer de l'estomac a été mise en évidence de façon indirecte puisque basée sur la consommation d'aliments connus pour avoir une teneur élevée ou basse en vitamine C. Les A.N.C ont été réévalués et augmentés à 110mg/j. *Les caroténoïdes*

Les caroténoïdes sont des pigments naturels que l'on trouve en abondance dans les plantes et notamment les fruits et les légumes. Malgré l'identification de plus de 600 caroténoïdes spécifiques, seul un nombre limité d'entre eux sont présents en quantité sensible dans le sang humain. Les principaux sont l' α - et le β -carotène, la lutéine, la zéaxanthine, la cryptoxanthine et le lycopène. Certains caroténoïdes préviennent ou contrôlent efficacement la génération de radicaux libres notamment en captant l'oxygène singulet (O_2^1). De nombreuses études épidémiologiques ont montré que les sujets qui consommaient le plus de fruits et légumes riches en caroténoïdes et/ou avaient des taux sanguins élevés en caroténoïdes étaient des sujets à moindre risque de développer certains cancers et plus particulièrement les cancers pulmonaire et de la bouche. Cependant les résultats des études d'intervention visant à évaluer le rôle d'une supplémentation en caroténoïdes dans la prévention du cancer apportent des résultats très controversés.

Caroténoïdes et maladies cardiovasculaires : Plusieurs études ont montré une corrélation entre l'augmentation des taux de caroténoïdes et la diminution du risque de cardiopathie coronarienne.

Quels biomarqueurs ?

La plupart des études mettant en évidence le stress oxydatif comme l'un des facteurs étiologique de certaines pathologies ou d'exposition à un facteur environnemental (alcool, tabac, ...) ou évaluant l'efficacité de micronutriments dans la prévention de ce stress oxydatif ont utilisé les marqueurs biologiques suivants :

- Les Marqueurs du statut : L'évaluation d'un état nutritionnel peut être faite par l'analyse du statut plasmatique, érythrocytaire, leucocytaire (plus délicat) pour les micronutriments antioxydants (vitE, C, caroténoïdes, Zn, Se). Étant donné que certains micronutriments sont des facteurs co-enzymatique des enzymes appartenant aux systèmes de défense, l'activité enzymatique de la GPx, de la SODCu-Zn, peuvent renseigner sur le statut antioxydant. La mesure du rapport GSH/GSSG est un bon reflet de l'état rédox. La mesure du pouvoir anti-oxydant total du plasma (TRAP : « total radical trapping parameter) peut se révéler un marqueur du stress oxydant. Cependant cet essai doit être interprété avec précaution car des augmentations des concentrations plasmatiques de l'albumine, de l'acide urique et de la bilirubine pourraient masquer le déficit en d'autres antioxydants.

Les lésions dues au stress oxydatif peuvent être évaluées : tant au niveau des protéines par le dosage des groupements thiols (SH : marqueur d'une non oxydation) ou des groupements carbonyles (C=O ; marqueurs d'une oxydation) ; qu'au niveau des lipides par le dosage des produits de dégradation des lipides oxydés (HNE ; MDA ; TBARS, isoprostanes) ; qu'au niveau de l'ADN par le dosage des bases oxydées ou des cassures de brins.