

Stress oxydant

Stress oxydant et pathologies humaines

A. Favier

Résumé. Le stress oxydant est une circonstance anormale que traversent parfois nos cellules ou un de nos tissus lorsqu'ils sont soumis à une production, endogène ou exogène, de radicaux libres oxygénés qui dépasse leurs capacités antioxydantes. L'excès de radicaux libres non neutralisés par les défenses est très dommageable pour les macromolécules essentielles de nos cellules, entraînant anomalies d'expression des gènes et des récepteurs membranaires, prolifération ou mort cellulaire, troubles immunitaires, mutagenèse, dépôts de protéines ou de lipofuschine dans les tissus. De nombreuses affections humaines ou animales incluent donc un stress oxydant, local ou général, dans leur pathogenèse au même titre que l'inflammation à laquelle il est souvent associé. Dans plusieurs maladies graves, notamment celles liées au vieillissement, le stress oxydant est le facteur déclenchant originel. C'est le cas des cancers, des pathologies oculaires (cataracte et dégénérescence maculaire), des maladies neurodégénératives (ataxies, sclérose latérale, maladie d'Alzheimer). La sclérose latérale amyotrophique familiale est l'exemple le plus démonstratif, puisque cette maladie génétique est due à un défaut sur le gène de l'enzyme antioxydant superoxyde dismutase. Dans de nombreuses autres maladies, le stress oxydant est secondaire à l'établissement de la pathologie, mais participe à ses complications immunitaires ou vasculaires. C'est le cas de maladies infectieuses comme le sida ou le choc septique, le diabète, la maladie de Parkinson ou l'insuffisance rénale. Il semble donc important de tester l'effet thérapeutique des molécules antioxydantes naturelles ou de synthèse qui peuvent agir dans la prévention des maladies dégénératives à la condition d'être apportées très tôt avant l'apparition de mécanismes induits irréversibles, et à doses modérées car la production basale de radicaux libres est indispensable à de nombreuses fonctions et ne doit pas être supprimée.

Mots-clés : *Stress oxydant, Cancer, Maladies neurodégénératives, Vieillesse, Antioxydants.*

Summary. Oxidative stress is an abnormal phenomenon occurring inside our cells or tissues when production of oxygen radicals exceeds their antioxidant capacity. Excess of free radicals damage essential macromolecules of the cell, leading to abnormal gene expression, disturbance in receptor activity, proliferation or cell dye, immunity perturbation, mutagenesis, protein or lipofushin deposition. Numerous human diseases involve during the pathological process such a stress, localized or general (in the same way as inflammation). In many serious diseases such as cancer, ocular degeneration (age related macular degeneration or cataract), neurodegenerative diseases (ataxia, amyotrophic lateral sclerosis, Alzheimer's disease) stress is the factor original. In familial amyotrophic lateral sclerosis the genetic abnormality occurred an abnormal coding for an antioxidant enzyme, copper-zinc super oxide dismutase. In various other diseases oxidative stress occur secondary to the initial disease but plays an important in role immune or vascular complications. This is the case in infectious disease such as AIDS or septic shock, Parkinson's disease or renal failure. So antioxidant treatment seems logical to be tested in these pathologies. But they have to be applied early in the process, before irreversible mechanisms. They need also to be prescribed at low doses as baseline free radical production have to be preserved to maintain useful activity that cannot be suppressed.

Key-words: *Oxidative stress, Cancer, Neurodegenerative diseases, Aging, Antioxidant treatment.*

Oxidative stress in human diseases. A. Favier. *Ann Pharm Fr* 2006, 64: 390-396.

Département de biologie intégrée du Chu de Grenoble, F 38700 La Tronche, et SCIB-LAN Centre nucléaire de Grenoble, F 38054 Grenoble.

Correspondance : A. Favier, à l'adresse ci-dessus.

E-mail : alain.favier@ujf-grenoble.fr

Stress oxydant et pathologies humaines

Le stress oxydant est une circonstance anormale que traversent parfois nos cellules ou un de nos tissus lorsqu'ils sont soumis à une production, endogène ou exogène, de radicaux libres oxygénés qui outrepassent leurs capacités antioxydantes [1]. L'excès de radicaux libres non neutralisés par les moyens de défense est très dommageable pour les macromolécules essentielles, entraînant anomalies d'expression des gènes et des récepteurs membranaires, prolifération ou mort cellulaire, troubles immunitaires, mutagenèse, dépôts de protéines ou de lipofuschine dans les tissus [2].

Origine du stress oxydant

Normalement, la production des radicaux libres est permanente mais faible (sous la forme de médiateurs tissulaires ou de résidus des réactions énergétiques ou de défense). Une telle production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense, lesquels sont adaptatifs par rapport au niveau des radicaux présents. Dans ces circonstances normales, on dit que la balance antioxydants/prooxydants est en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction

énorme de radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé « stress oxydant » (fig. 1).

Le stress oxydant peut résulter d'une défaillance des systèmes antioxydants protégeant notre organisme d'un effet néfaste des radicaux libres. Ces antioxydants sont de nature diverse et agissent en synergie soit en se sacrifiant pour piéger l'électron célibataire d'un radical libre et le neutraliser en le délocalisant soit en réduisant enzymatiquement les espèces réactives de l'oxygène. Certains antioxydants piègeurs proviennent de l'alimentation comme les vitamines E (tocophérol), C (ascorbate), Q (ubiquinone), les caroténoïdes ou les polyphénols. Il existe aussi des piègeurs endogènes synthétisés par les cellules et jouant le même rôle : le plus important d'entre eux est le glutathion réduit qui protège non seulement contre les radicaux oxygénés, mais aussi contre les peroxydes ou le $^{\circ}\text{NO}$ (monoxyde d'azote). D'autres composés endogènes jouent un rôle sans doute important mais encore mal évalué : les thioredoxines, les glutaredoxines, les metallothionéines, l'acide lipoïque ou les polyamines [3]. L'organisme semble aussi réagir lors d'une agression radicalaire en rendant moins accessible le fer dangereux : en désaturant la transferrine par passage intracellulaire du fer, ce que l'on constate par exemple au cours d'un choc septique, en aug-

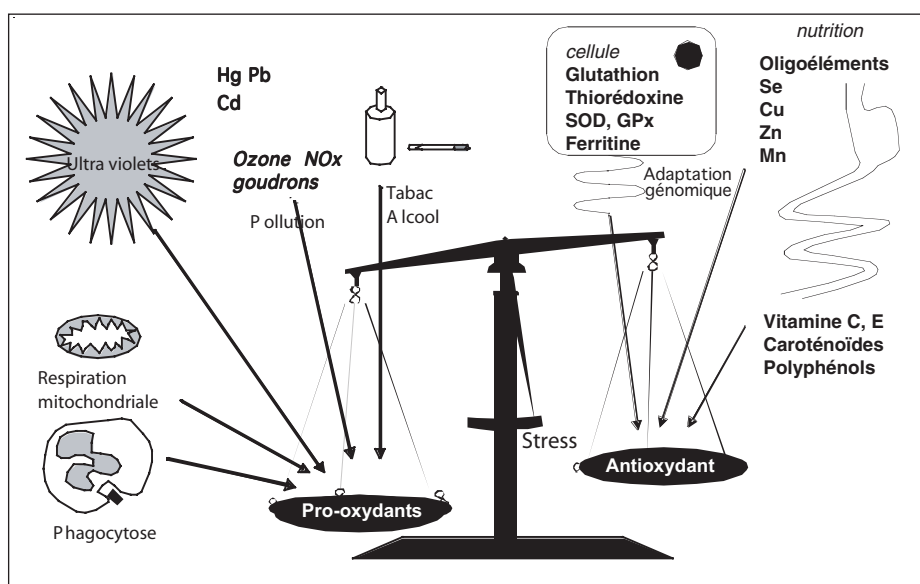


Figure 1. La balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants.

Equilibrating the balance between pro and antioxidants.

mentant la teneur en céruloplasmine du plasma et du milieu extracellulaire. La céruloplasmine par son action ferroxidasique maintient le fer à l'état ferrique, interrompant le cycle d'Aber-Weiss, en sécrétant de la lactoferrine lors de la sécrétion d'espèces radicalaires par les phagocytes activés.

Nous disposons aussi de nombreuses enzymes, visant à détruire les superoxydes et peroxydes (fig. 2). Ainsi, les superoxydes dismutases (SOD) sont capables d'éliminer l'anion superoxyde par une réaction de dismutation, formant, avec deux superoxydes, une molécule d'oxygène et une molécule de peroxyde d'hydrogène. Les SOD existent sous plusieurs isoformes, dont la structure d'ensemble est très bien conservée lors de l'évolution, formant au centre de la protéine un

puits hydrophobe dans lequel se glisse l'anion superoxyde. Le mécanisme réactionnel est catalysé par un métal situé au cœur de l'enzyme dont la nature permettra de distinguer les SOD à manganèse (MnSOD) protégeant la mitochondrie, des SOD à cuivre-zinc protégeant le cytosol (cCu-ZnSOD), la face externe de la membrane des cellules endothéliales (ecCu-ZnSOD) ou le plasma sanguin (pCu-ZnSOD). Les principales enzymes capables de détruire le peroxyde d'hydrogène sont les catalases à cofacteur fer, présentes dans les hématies et les peroxysomes hépatiques, les peroxyredoxines (thioredoxine peroxydases) et les glutathion peroxydases à cofacteur sélénium. Des glutathion peroxydases à sélénium existent dans le cytosol (cGPX), dans le plasma

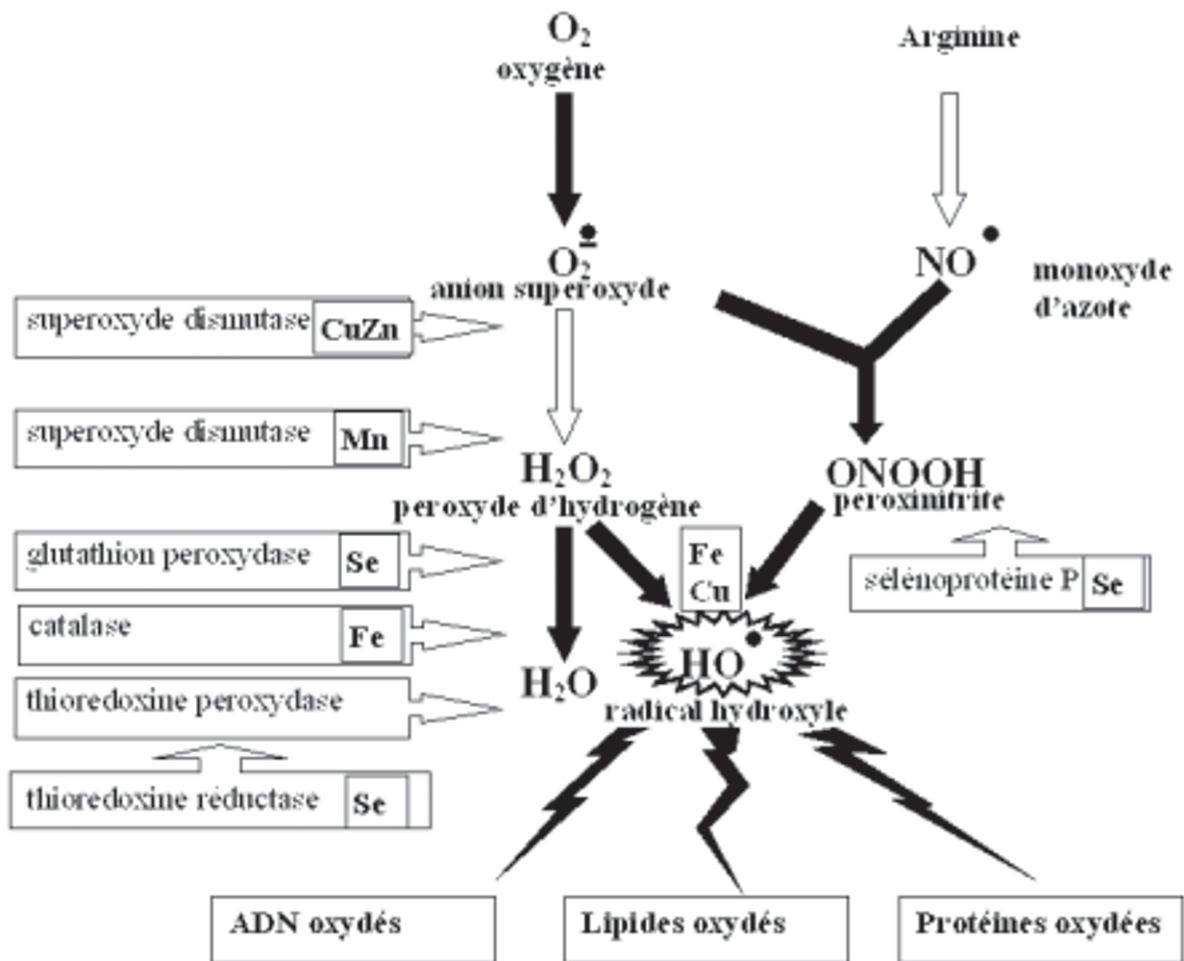


Figure 2. **Systèmes antioxydants enzymatiques.**
Enzymatic antioxidant systems.

(pGPx), au niveau de la membrane cellulaire (HPGPx), et une isoenzyme est spécifique des cellules digestives (GIGPx). Dans le cas des défenses enzymatiques, elles pourront être affaiblies par une carence en cofacteur oligoélément, par une anomalie génétique ou acquise lors du vieillissement de l'expression des gènes codant pour ces enzymes. En effet, les protéines antioxydantes sont codées par des gènes dont normalement l'expression s'adapte au niveau d'espèces radicalaires de la cellule par une transduction du signal redox [4].

Le stress oxydant pourra aussi émaner d'une production endogène massive de radicaux par activation de macrophages de polynucléaires, des cellules endothéliales ou de la mitochondrie, une exposition à des générateurs environnementaux (soleil, radioactivité, pollution atmosphérique, tabac, alcool...) ou de l'ensemble de plusieurs de ces facteurs. De nombreuses maladies humaines ou animales incluent donc un stress oxydant local ou général dans leur pathogenèse, au même titre que l'inflammation à laquelle il est souvent associé. Dans tous les cas le stress sera généralement localisé à un type cellulaire ou tissulaire.

Le vieillissement augmente la sensibilité au stress oxydant

Dés 1956, un visionnaire, Harman [5], émet l'hypothèse de la théorie radicalaire pour expliquer le caractère inéluctable de la mort des êtres vivants et les anomalies du vieillissement. En effet, les capacités des défenses antioxydantes diminuent au cours du vieillissement pour des raisons nutritionnelles (réduction des apports en vitamines et oligoéléments), mais aussi physiologiques (vieillesse intestinale, difficulté d'expression des gènes antioxydants [6]), alors même que la production de radicaux libres augmente par un dérèglement progressif du fonctionnement mitochondrial et une augmentation du processus inflammatoire. Cet effet de l'âge peut être mis en évidence par une augmentation de la peroxydation lipidique des protéines ou de l'ADN qui a été mesurée dans les liquides biologiques chez l'animal comme chez l'Homme [7].

Le vieillissement s'accompagne d'une augmentation exponentielle du risque d'une multitude

d'affections. Connaissant la place privilégiée jouée par les radicaux oxygénés comme espèces capables de créer des lésions biochimiques pathogènes et la baisse des capacités antioxydantes liée au vieillissement, ils sont suspectés d'être les principaux responsables d'un grand nombre de ces anomalies.

Conséquences cellulaires du stress oxydant

Les conséquences du stress oxydant seront extrêmement variables selon la dose et le type cellulaire (*fig. 3*). De légers stress augmenteront la prolifération cellulaire et l'expression de protéines d'adhésion, des stress moyens faciliteront l'apoptose, alors que de forts stress provoqueront une nécrose et des stress violents désorganiseront la membrane entraînant des lyses immédiates. D'autres perturbations biologiques sont observées à la suite d'un stress oxydant : baisse de la fluidité des membranes, anomalies de récepteurs, diminution de la sensibilité à l'insuline, perturbation de l'immunité cellulaire, fibrose, dépôts de lipides, affaiblissement musculaire, voire mort neuronale ou apparition de mutations. De nombreuses anomalies pathologiques sont également induites par le stress oxydant : mutations, carcinogenèse, malformations des fœtus, dépôts de protéines anormales, fibrose, formation d'auto-anticorps, dépôts de lipides oxydés, immunosuppression... [8]

Maladies humaines liées à un stress oxydant

Comme l'inflammation, le stress oxydant est un phénomène impliqué dans maintes maladies. La variété des conséquences médicales ne doit pas surprendre, car ce stress sera, selon les cas, localisé à un tissu et à un type cellulaire particuliers, mettra en jeu des espèces radicalaires différentes et s'associera avec d'autres facteurs pathogènes ou des anomalies génétiques spécifiques et individuelles.

Par la création de molécules biologiques chimiquement et irréversiblement anormales et la surexpression de certains gènes, le stress oxydant sera

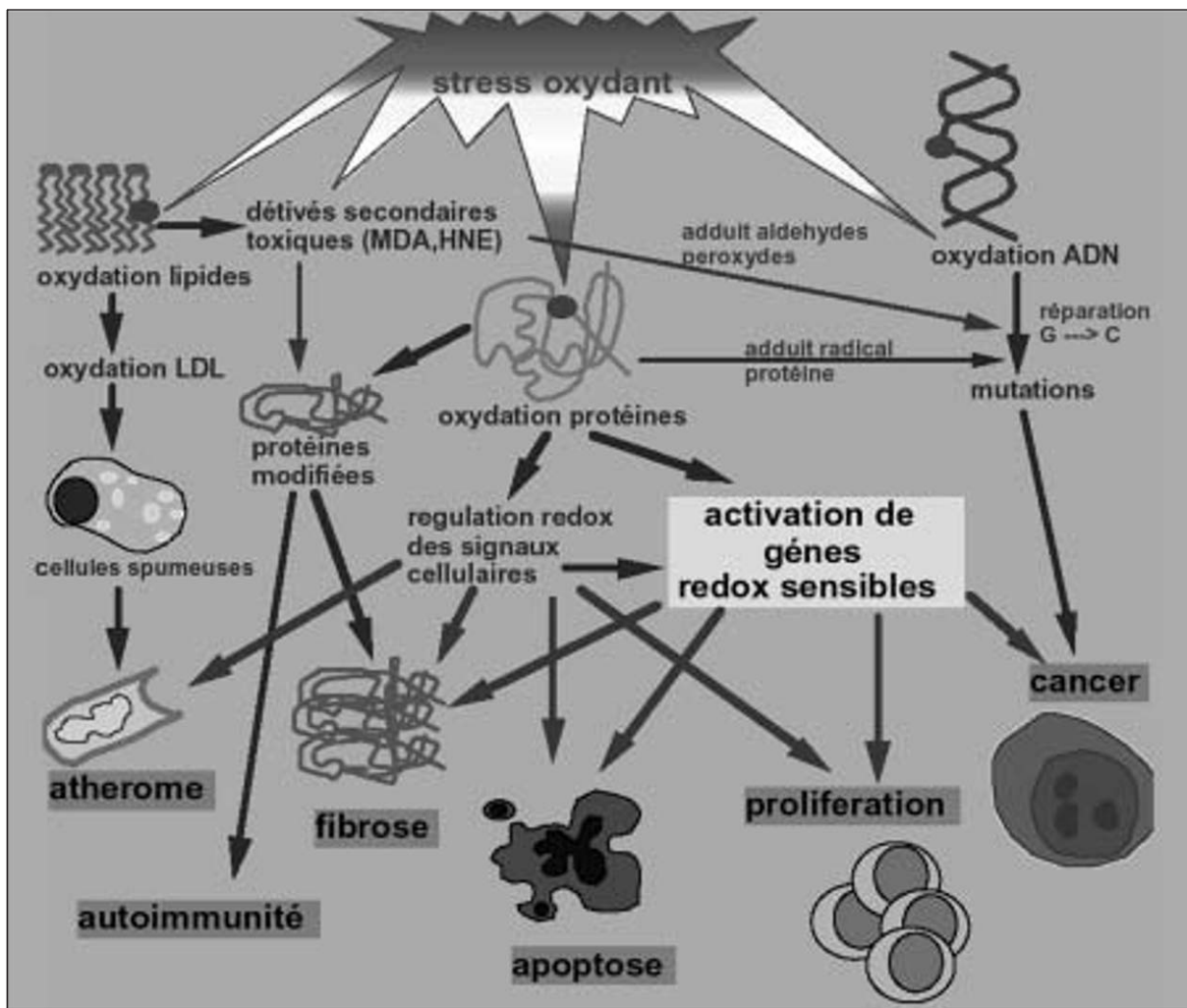


Figure 3. **Conséquences pathogènes du stress oxydant.**
Pathogenic consequences of oxidative stress.

la cause initiale essentielle de plusieurs maladies : cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse pulmonaire aigu, œdème pulmonaire, vieillissement accéléré (tableau I). Ainsi, les relations entre stress oxydant et cancer s'avèrent très étroites ; les radicaux libres intervenant dans l'activation des pro-carcinogènes en carcinogènes, créant les lésions de l'ADN, amplifiant les signaux de prolifération et inhibant les antioncogènes comme la protéine p53 [9]. Par contre, à un stade plus avancé d'évolution de la carcinogenèse, les radicaux libres serviront inversement pour les NK (*Natural Killer*) lymphocytes à tuer les cellules tumorales.

Le stress oxydant sera aussi un des facteurs potentialisant la genèse de maladies plurifactoriel-

les telles que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires. Dans la genèse de la plaque d'athérome, l'oxydation des LDL est un des phénomènes clefs transformant les monocytes en cellules spumeuses, mais le rôle du stress oxydant dans la mise en route d'autres facteurs de risque est loin d'être négligeable : augmentation de la résistance à l'insuline, activation des cellules endothéliales libérant des médiateurs pro-oxydants (prostacycline, cytokines, facteurs de fibrinolyse, superoxydes, NO), augmentation de la prolifération des fibres lisses. Un facteur de risque découvert récemment, l'homocystéine, voit son action liée en partie à la production de radicaux libres lors de son métabolisme [10].

Stress oxydant et pathologies humaines

Tableau I. — Relations entre les maladies et le stress oxydant.
Relationships between diseases and oxidative stress.

Maladies dues à une production insuffisante de radicaux libres	Maladies où le stress oxydant est la cause primordiale	Maladies où le stress oxydant fait partie des facteurs déclencheurs	Maladies entraînant un stress oxydant secondaire
<ul style="list-style-type: none"> • Agranulomatose septique • Psoriasis 	<ul style="list-style-type: none"> • Cancers • Autoimmunité • Cataracte • Dégénérescence maculaire • Sclérose latérale amyotrophique • Photo-veillissement cutané • Photosensibilisation • Irradiation • Intoxications : CCl_4, Cd, Fe, alcool, • Hémochromatose 	<ul style="list-style-type: none"> • Maladie d'Alzheimer • Stérilités masculines • Maladies virales : EBV, HVB • Rhumatismes • Athérome • Asthme • Insuffisance respiratoire 	<ul style="list-style-type: none"> • Diabète • Insuffisance rénale • Mucoviscidose • Sida • Choc septique • Infarctus du myocarde • Ischémies/reperfusion • Parkinson • Brûlures • Thalassémie • Greffes d'organes <p>Traitements :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Anticancéreux • PUVA thérapie • Oxygène hyperbare

Dans certaines maladies la cause initiale ne met pas en jeu un processus radicalaire, mais la survenue secondaire du stress vient aggraver le processus initial. Un exemple caractéristique de cette situation est celui du sida où le processus initial est l'infection virale, mais où le virus induit un stress oxydant en réprimant le gène de la superoxyde dismutase et de la glutathion peroxydase facilitant la mort des lymphocytes T par apoptose. Dans bien d'autres situations aiguës ou infections, la diminution des capacités antioxydantes facilitant le stress oxydant va amoindrir les protections immunitaires. Ainsi, chez des malades de réanimation, la diminution des activités glutathion peroxydase et l'augmentation des peroxydes sont indicateurs d'une mauvaise évolution.

La responsabilité la plus nette des radicaux libres est mise en évidence dans les maladies génétiques qui sont directement induites par des anomalies héréditaires d'un gène antioxydant. Ainsi, plusieurs mutations de la CuZnSOD ont été observées dans les formes familiales d'une maladie neurologique très sévère, la Sclérose Latérale Amyotrophique (SLA) qui apparaît brutalement vers 40 ans et évolue rapidement vers une paralysie progressive et vers la mort [11]. Le transfert du gène d'un malade chez la Souris recrée d'ailleurs une maladie neurologique analogue à la maladie humaine. Récemment, les Souris ALS, bien que génétiquement anormales, ont été guéries par transfert d'un siRNA inhibant l'expression de

cette SOD humaine mutée, ce qui atteste que l'enzyme mutée est nuisible après acquisition d'une propriété nouvelle et non par perte de l'activité dismutasique. Une autre maladie sévère, la dégénérescence maculaire liée à l'âge, est fortement associée avec la forme valine/alanine du polymorphisme du gène de la SOD.

Prévenir par les antioxydants l'apparition de certaines de ces maladies, mais attention aux excès d'antioxydants !

Le stress oxydant étant à l'origine de nombreuses maladies, il semble logique de chercher à supprimer ce stress à des fins préventives ou curatives. Toutefois, le paradoxe des radicaux libres est qu'ils constituent des espèces dangereuses susceptibles d'engendrer des maladies tout en étant, également, des espèces indispensables à la vie. Ils jouent en effet divers rôles utiles dans le contrôle des gènes et dans des fonctions physiologiques qui, à part la phagocytose, ont été découvertes récemment. Les radicaux libres participent au fonctionnement de certaines enzymes, à la transduction de signaux cellulaires, à la défense immunitaire contre les agents pathogènes, à la destruction par apoptose des cellules tumorales, au cycle cellulaire, à la différenciation cellulaire, à la régulation de la dilatation capillaire, au fonctionnement de certains

neurones (notamment ceux de la mémoire), à la fécondation de l'ovule, à la régulation des gènes, (phénomène appelé contrôle redox des gènes [12]).

Ayant besoin d'une certaine quantité d'espèces réactives de l'oxygène, l'organisme ne cherche donc pas à les détruire, mais à contrôler leur niveau pour éviter le stress oxydant. Ceci explique la régulation très fine du génome antioxydant et de ses mécanismes d'adaptation. C'est pourquoi la thérapie antioxydante ne doit pas ignorer ces activités utiles des radicaux libres sous peine d'échec ou même d'effets toxiques paradoxaux (l'effet procarcinogène observé dans certaines études de supplémentation par des doses très élevées). La prévention antioxydante s'est avérée efficace à des doses modérées pour prévenir l'incidence des cancers et la mortalité dans de grandes études épidémiologiques comme l'étude du Linxian, l'étude de Clark, l'étude Qixia, l'étude NPC ou, en France, l'étude SU.VI.MAX [13], mais à des doses modérées et appliquées à des sujets sains. Par contre, les antioxydants ont augmenté la fréquence des cancers chez les grands fumeurs et les travailleurs de l'amianté dans les études CARET ou ATBC [14]. Sous réserve de confirmation par de nouvelles investigations, les antioxydants ont freiné aussi l'évolution de la dégénérescence maculaire liée à l'âge (étude AREDS) ou de la maladie d'Alzheimer (*Cache Study*). Toutefois, dans le cas des maladies cardiovasculaires, bon nombre d'études n'ont pas montré de bénéfice suite à une supplémentation en antioxydants ;

Dans de nombreuses autres maladies, il semble important de tester avec rigueur l'effet thérapeutique des diverses molécules antioxydantes naturelles ou de synthèse qui peuvent agir dans la prévention des maladies dégénératives à la condition d'être apportées très tôt avant l'apparition de mécanismes induits irréversibles, et à doses modérées car la production basale de radicaux libres est indispensable à de nombreuses fonctions et ne doit pas être supprimée.

Références

1. Sies H. *In: Oxidative stress, oxidants and antioxidants*. Londres: Academic Press;1991.
2. Favier A. Le stress oxydant : intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'Actualité Chimique* décembre 2003 ; numéro spécial « La chimie dans les sciences médicales » : 103-9.
3. Sies H. Antioxidant in disease mechanisms and therapy. *Advances in Pharmacology* 1997; 38. New-York: Academic Press; 1997.
4. Wiese A, Pacifici R, Davies KJ. Transient adaptation to oxidative stress in mammalian cells. *Arch Biochem Biophys* 1995; 318: 231-40.
5. Harman D. Free radical theory of aging: effect of free radical inhibitors on the mortality rate of male LAF1 mice. *J Gerontol* 1968; 23: 476-82.
6. Lu T, Pan Y, Kao SY, Li C, Kohane I, Chan J, Yankner BA. Gene regulation and DNA damage in the ageing human brain. *Nature* 2004; 429: 884-91.
7. Sohal RS, Mockett RJ, Orr WC. Mechanisms of aging: an appraisal of the oxidative stress hypothesis. *Free Rad Biol Med* 2002; 33: 575-86.
8. Favier A, Cadet J, Kalaryanaman R, Fontecave M, Pierre JL. Analysis of Free Radicals in Biological Systems. New-York: Birkhauser; 1995.
9. Pryor WA. The involvement of free radicals in chemical carcinogenesis in: Anti carcinogenesis and radiation protection. New-York: Plenum Press; 1987: 71-80.
10. Montagnier L, Olivier R, Pasquier C. Oxidative stress in Cancer, AIDS and neurodegenerative diseases. New-York: Marcel Dekker; 1998.
11. Rosen DR, Siddique T, Patterson D *et al*. Mutations in Cu-Zn superoxide dismutase gene are associated with familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature* 1993; 362: 59-62.
12. Droge W. Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. *Cellular Physiol Rev* 2002; 82: 47-95.
13. Hercberg S, Galan P, Preziosi P, Sandrine Bertrais S, Mennen L *et al*. Beneficial effect of long term supplementation with nutritional doses of antioxidant vitamins and minerals on mortality and cancer: results of "the SU.VI.MAX study". *Arch Intern Med* 2004; 164: 2335-42.
14. The Alpha-tocopherol Beta carotene Cancer Prevention Group. The effect of vitamin E and beta carotene on the incidence of lung cancer and other cancer in male smokers. *New Engl J Med* 1994; 330: 1029-35.