

Le stress oxydant se définit comme l'incapacité de l'organisme de se défendre contre les espèces réactives de l'oxygène (ERO) en raison de la perturbation d'équilibre endogène entre ces derniers et les agents oxydants (AO). Ce déséquilibre conduit potentiellement à des dégâts structuraux et fonctionnels.

Les ERO sont des espèces chimiques oxygénées telles que les radicaux libres, ions oxygénés, peroxydes, rendues chimiquement très réactives par la présence d'électrons de valence non appariés dans l'orbitale la plus externe. L'équilibre est rétabli soit par oxydation (perte de cet électron libre) ou par réduction (gain d'un autre électron). Le caractère radicalaire de la molécule ne disparaît pas, l'électron libre peut passer sur d'autres molécules, c'est le phénomène d'oxydation en chaîne.

Plusieurs facteurs influencent le stress oxydatif, certains augmentant la production des ERO comme la consommation élevée d'O<sub>2</sub> au cours d'une activité sportive intense consommatrice d'énergie, d'autres réduisent les capacités antioxydantes tels que le déficit enzymatique congénital en G6PD.

## Sommaire

- [0.1 Article complet \(PDF\) : Le stress oxydatif](#)
- [1 Étude des espèces réactives produites lors du stress oxydatif](#)
  - [1.1 Propriétés](#)
  - [1.2 Mécanismes de génération des ERO](#)
  - [1.3 Formation de radicaux libres](#)
- [2 Principales réactions faisant intervenir des ERO](#)
- [3 Les facteurs intensifiant la production des ERO](#)
- [4 Les facteurs réduisant la production des ERO](#)
- [5 Mécanismes de formation des espèces réactives d'oxygène](#)
  - [5.1 L'oxygène singulet](#)
  - [5.2 Anion superoxyde •O<sub>2</sub><sup>-</sup>](#)
  - [5.3 Peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>](#)
  - [5.4 Radical hydroxyle OH<sup>°</sup>](#)
  - [5.5 L'ozone](#)
- [6 Mécanisme de formation des espèces réactives de l'azote](#)
  - [6.1 Le monoxyde d'azote NO• et ses dérivés](#)
  - [6.2 Sources des espèces réactives](#)

- 7 Action des ERO
  - 7.1 Action non délétère (rôle biologique)
  - 7.2 Actions délétères
- 8 Moyens de lutte contre le stress oxydatif
  - 8.1 Les antioxydants enzymatiques
  - 8.2 Les antioxydants non enzymatiques
  - 8.3 Autres mécanismes
- 9 Les agents toxiques et la production endogène des ERO
- 10 Pathologies liées au stress oxydatif
- 11 Évaluation du stress oxydatif
  - 11.1 Quantification des marqueurs d'oxydation
  - 11.2 Quantification des antioxydants

Article complet (PDF) : [Le stress oxydatif](#)

## Étude des espèces réactives produites lors du stress oxydatif

### Propriétés

Les ERO sont des espèces électrophiles de courte durée de vie (quelques nanosecondes), elles font partie des systèmes ubiquitaires ayant une réactivité chimique délétère à l'égard des biomolécules, cette réactivité est inversement proportionnelle au pouvoir oxydant ( $\text{OH}^\circ > \text{RO}^\circ > \text{HOO}^\circ > \text{ROO}^\circ$ ).

### Mécanismes de génération des ERO

Au niveau de la respiration mitochondriale, l'inhibition du transfert d'électron par découplage de la phosphorylation oxydative entraîne une modification du potentiel REDOX favorisant l'auto-oxydation des biomolécules et la génération des ERO.

L'exacerbation des phénomènes inflammatoires, et l'augmentation du taux du fer libre et d'autres métaux de transition est aussi responsable de la génération des ERO.

La bioactivation lors des processus de biotransformation produit des radicaux libres suite à l'induction des oxyde nitrique synthétases (NOS) I, II, III et la stimulation des oxydases (NOX, MAO, XO).

## Formation de radicaux libres

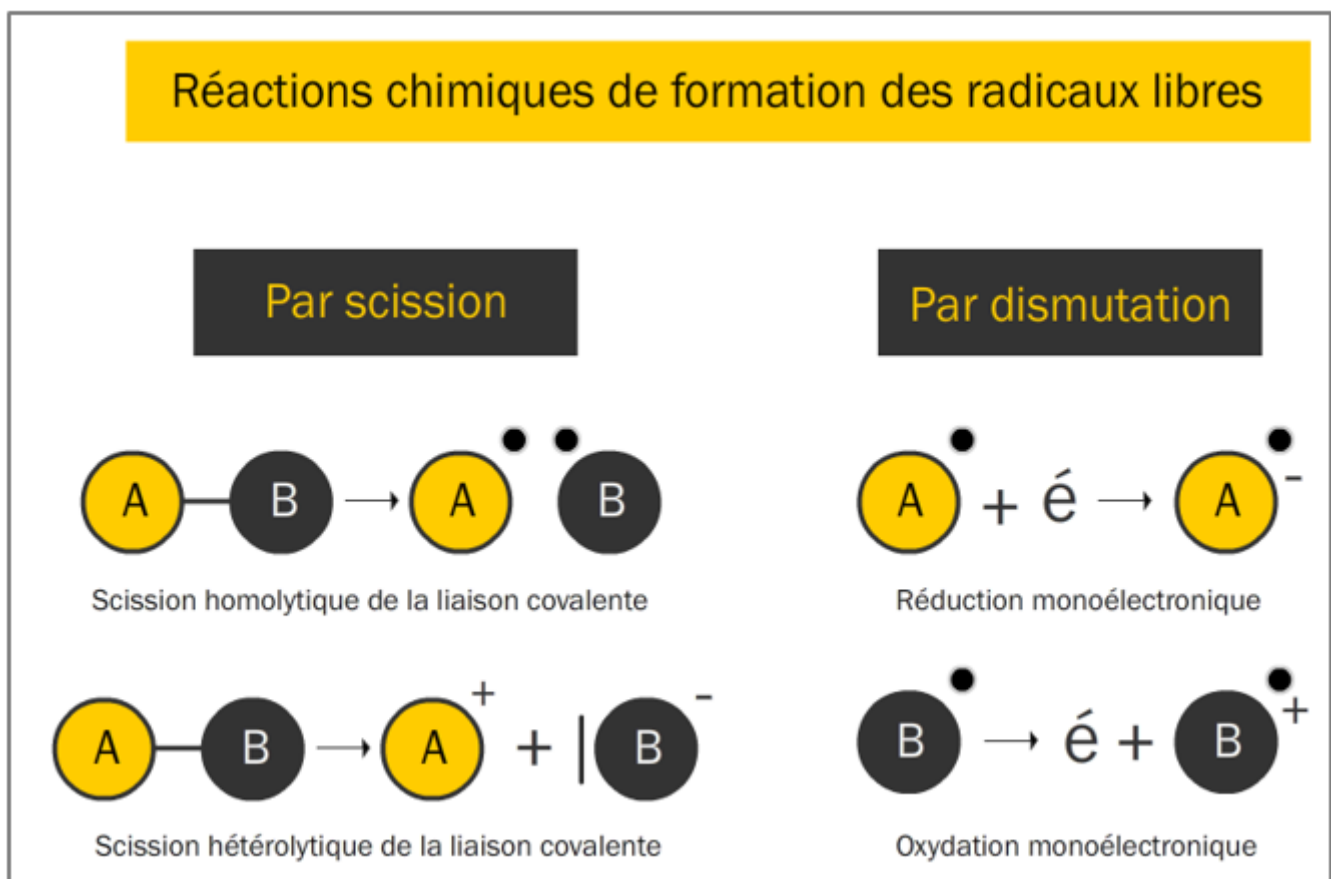


Figure 9.10. Réactions de formation de radicaux libres

Les principales espèces réactives d'O<sub>2</sub> (ROS) : l'oxygène singlet <sup>1</sup>O<sub>2</sub>, l'anion superoxyde O<sub>2</sub><sup>•-</sup>, le peroxyde d'hydrogène, le radical hydroxyle <sup>•</sup>OH, l'ozone O<sub>3</sub>.

## Principales réactions faisant intervenir des ERO

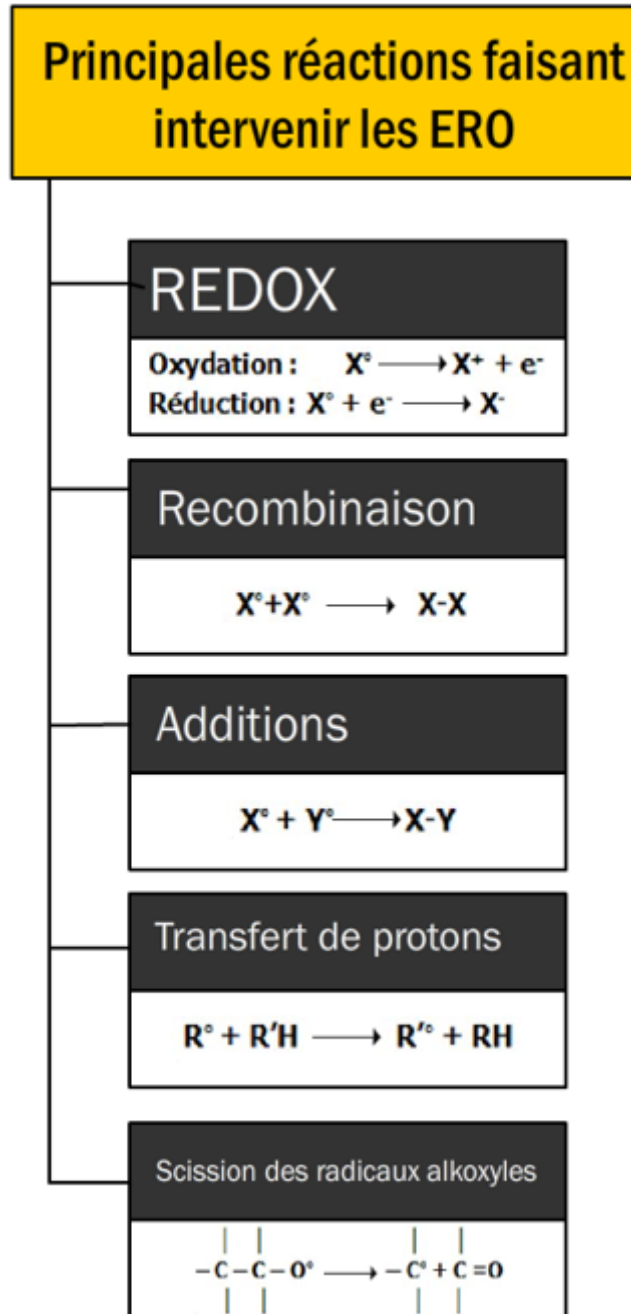


Figure 9.11. Principales réactions faisant intervenir des ERO

- Facteurs influençant le stress oxydatif

## Les facteurs intensifiant la production des ERO

- L'activité sportive intense augmente les dépenses énergétiques et la consommation d'oxygène.
- L'ischémie des tissus suite à une défaillance du fonctionnement des mitochondries entraîne une augmentation de la libération des ERO responsables de dommages oxydatifs par inflammation.
- Au cours de l'hypertension artérielle, un vasodilatateur, le monoxyde d'azote est libéré, responsable d'une hypoperfusion cérébrale et une génération d'ERO entraînant un œdème cérébral par mobilisation des polynucléaires neutrophiles.

## Les facteurs réduisant la production des ERO

- Malnutrition : régimes alimentaires déséquilibrés.
- Déficits enzymatiques : exemple : le déficit en G6PD.

Tableau 9.1. Exemples d'agents favorisant la production des ERO.

SOD : Superoxyde dismutase,

Agent	Actions
CS <sub>2</sub>	Chélation des cations Zn <sup>2+</sup> et diminution de l'activité des SOD1, SOD2
Pb <sup>2+</sup>	Compétition avec les cations Zn <sup>2+</sup> et diminution de l'activité des SOD1, SOD2. Action thioloprive responsable d'une inhibition de la synthèse de l'hème (par inhibition de la catalase et une enzyme héminique), et inhibition du glutathion (par inhibition de la Glutathion peroxydase et la Glutathion réductase).
As <sup>3+</sup>	Compétition avec les cations Se <sup>6+</sup> et inhibition de l'activité de la Glutathion peroxydase et la Thioridoxine peroxydase. Action thioloprive responsable d'une inhibition de la synthèse de l'hème (par inhibition de la catalase et une enzyme héminique), et inhibition du glutathion et l'acide dihydrolipoïque.
Hg <sup>2+</sup>	Inhibition des SOD, Catalases, Glutathion peroxydase.

## Mécanismes de formation des espèces réactives d'oxygène

### L'oxygène singulet

Il représente l'état excité de l'oxygène moléculaire par des électrons périphériques à spins antiparallèles. Il est très instable et extrêmement réactif face à des molécules riches en électrons. L'oxygène singulet est généré par transfert d'énergie entre un photosensibilisateur dans un état excité triplet et l'oxygène. Il se forme principalement lors des processus physico-chimiques (par exemple les réactions impliquant les rayonnements UVA).

### Anion superoxyde $\cdot\text{O}_2^-$

L' $\cdot\text{O}_2^-$  est le produit de la réduction mono électronique de  $\text{O}_2$  lors de la respiration mitochondriale. Il est relativement stable, et réagit très lentement avec les molécules biologiques. Il possède un caractère nucléophile, sa durée de vie est courte en milieu aqueux en raison de la compétition entre les réactions de réduction et de dismutation.

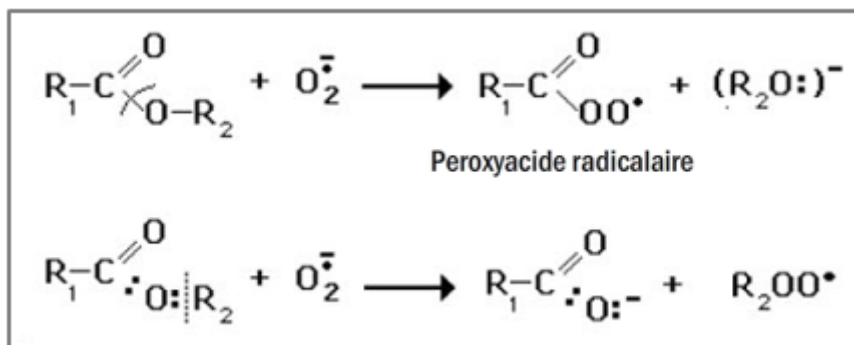
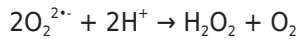


Figure 9.12. Réactivité de l'anion superoxyde

### Peroxyde d'hydrogène $\text{H}_2\text{O}_2$

Il possède des propriétés oxydantes et réductrices au même temps, peu réactif en l'absence de métaux de transition. La principale production de  $\text{H}_2\text{O}_2$  résulte de la dismutation de l' $\cdot\text{O}_2^-$  par la superoxyde dismutase selon la réaction suivante :



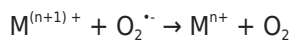
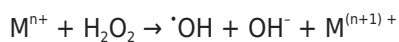
Le peroxyde d'hydrogène diffuse rapidement à travers les membranes cellulaires. Il est possible qu'il soit éliminé en  $\text{O}_2$  et  $\text{H}_2\text{O}$  par l'action de la catalase soit par action directe après interaction avec certaines biomolécules, soit par action indirecte en étant le précurseur des radicaux hydroxyles  $\text{OH}^\circ$ .

## Radical hydroxyle $\text{OH}^\circ$

Elle s'agit de l'espèce la plus réactive. Il peut être généré de plusieurs manières :

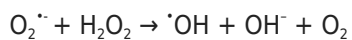
### a) La réaction de Fenton

Décomposition de  $\text{H}_2\text{O}_2$  en présence de métaux  $\text{M}^{n+}$  comme le Fe II ou le Cu I, le Co II, le Ti III ou le Cr V selon la réaction suivante :



### b) La réaction d'Haber-Weiss

Interaction de  $\text{H}_2\text{O}_2$  avec  $\text{O}_2^{\cdot-}$  selon la réaction suivante :



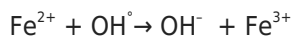
Les deux réactions se produisent facilement in vitro, mais leur participation in vivo est moins bien établie du fait de la séquestration du fer par de nombreuses protéines, à l'exception de quelques cas hémochromatoses par exemple.

Il existe d'autres réactions génératrices de radicaux hydroxyles :

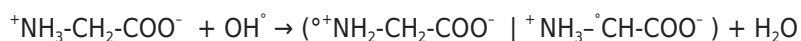
- c) Coupure homolytique de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sous l'influence de rayonnements UV,
- d) Réaction de l'acide hypochloreux avec l'O<sub>2</sub><sup>-</sup>.
- e) Décomposition des ions peroxyntrites (ONOO<sup>-</sup>).

Les réactions d'oxydation produites par les radicaux OH° sont initiées selon trois voies :

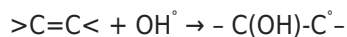
*Transfert de charge :*



*Arrachement d'un atome d'hydrogène :*



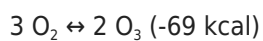
*Addition sur les doubles liaisons :*



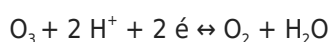
La durée de vie des radicaux hydroxyles est < 10<sup>-6</sup> sec, ils réagissent avec les molécules environnantes et non pas à distance.

## L'ozone

La formation d'une molécule d'ozone exige un apport important d'énergie, fourni par les ultra-violets ou les étincelles électriques, il s'agit de réactions endothermiques.



*C'est un puissant agent oxydant :*



L'Ozone réagit énergiquement avec un grand nombre de composés organiques et inorganiques (nitrites, amines, nitriles, alcanes, alcènes) à température ordinaire :



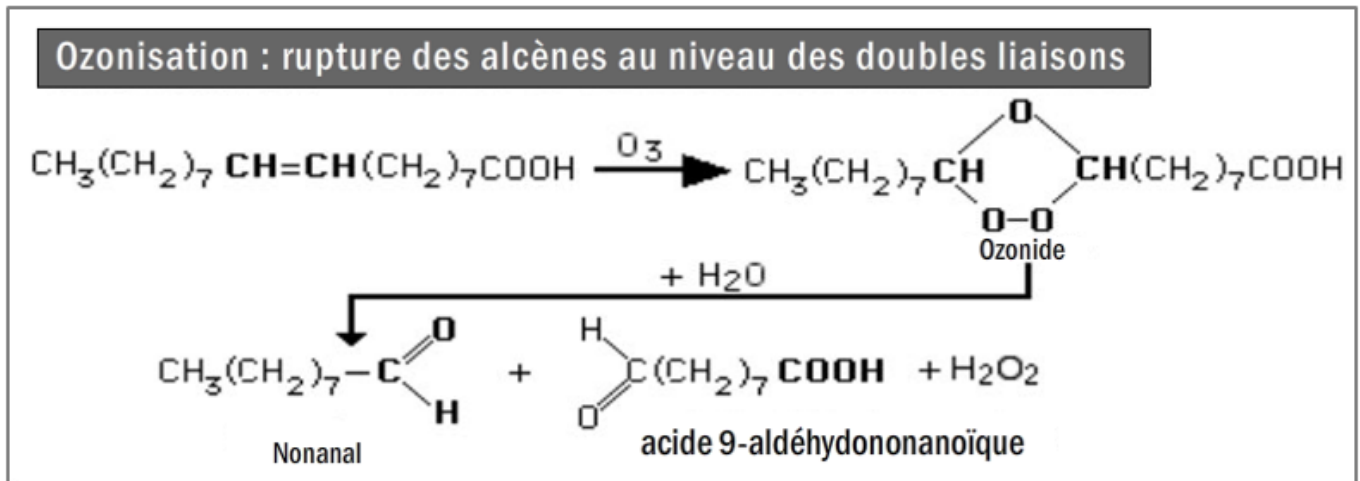
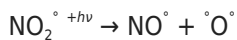


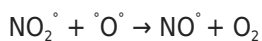
Figure 9.13. Ozonisation des alcènes

Mécanismes de formation de l'ozone :

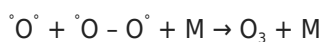
a) Irradiation de l'oxygène nitrique par l'UV proche produit par l'oxygène monoatomique :



En absence de molécules organiques,  $\text{O}^\circ$  redevient de l'oxygène :



b) Réaction de l'oxygène monoatomique avec une molécule  $\text{O}_2$  en présence d'une molécule organique M telle que les hydrocarbures non consommés :



L'ozone agit comme oxydant des chaînes lipidiques, générateur de peroxyde d'hydrogène et, par cette voie, d'espèces oxygénées activées et de radicaux libres, et aussi comme précurseur d'aldéhydes.

## Mécanisme de formation des espèces réactives de l'azote

## Le monoxyde d'azote NO<sup>•</sup> et ses dérivés

Les principales espèces réactives d'azotes sont : le monoxyde d'azote NO<sup>•</sup>, l'anhydride nitreux N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, et l'ion peroxydinitrite ONOO<sup>-</sup>.

Le monoxyde d'azote NO<sup>•</sup> est formé à l'issue d'une réaction catalysée par la NO synthase mitochondriale (mtNOS) entre l'atome d'azote appartenant à une L-Arginine (un acide aminé) et une molécule O<sub>2</sub>. Le NO<sup>•</sup> est *peu réactif* et diffusible dans les milieux biologiques, il est oxydable en ion nitrosonium NO<sup>+</sup> et peut être réduit en ion nitroxyle NO<sup>-</sup>.

Le monoxyde d'azote joue le rôle de vasodilatateur au niveau cardiovasculaire. Il joue aussi un rôle dans la signalisation extra et intercellulaire, l'apoptose, les mécanismes de défense, dans la relaxation des cellules musculaires lisses, la coagulation sanguine, la neurotransmission, le maintien de la plasticité neuronale, et dans l'intégrité muqueuse gastro-intestinale.

Néanmoins, le monoxyde d'azote génère des ions nitrites (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) ou fixe un groupement nitroxyle sur les acides aminés, comme la tyrosine, pour générer la nitrotyrosine.

La réaction de NO<sup>•</sup> avec l'O<sub>2</sub><sup>-•</sup> entraîne la formation de l'ion peroxydinitrite (ONOO<sup>-</sup>) selon la réaction : NO<sup>•</sup> + O<sub>2</sub><sup>-•</sup> → ONOO<sup>-</sup>. L'auto-oxydation du NO<sup>•</sup> par O<sub>2</sub> conduit à la formation d'anhydride nitreux N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.

## Sources des espèces réactives

Sources cellulaires

*Sources cellulaires enzymatiques :*

*La chaîne respiratoire mitochondriale et formation de trois espèces radicalaires : O<sub>2</sub><sup>-•</sup>, <sup>•</sup>OH, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.*

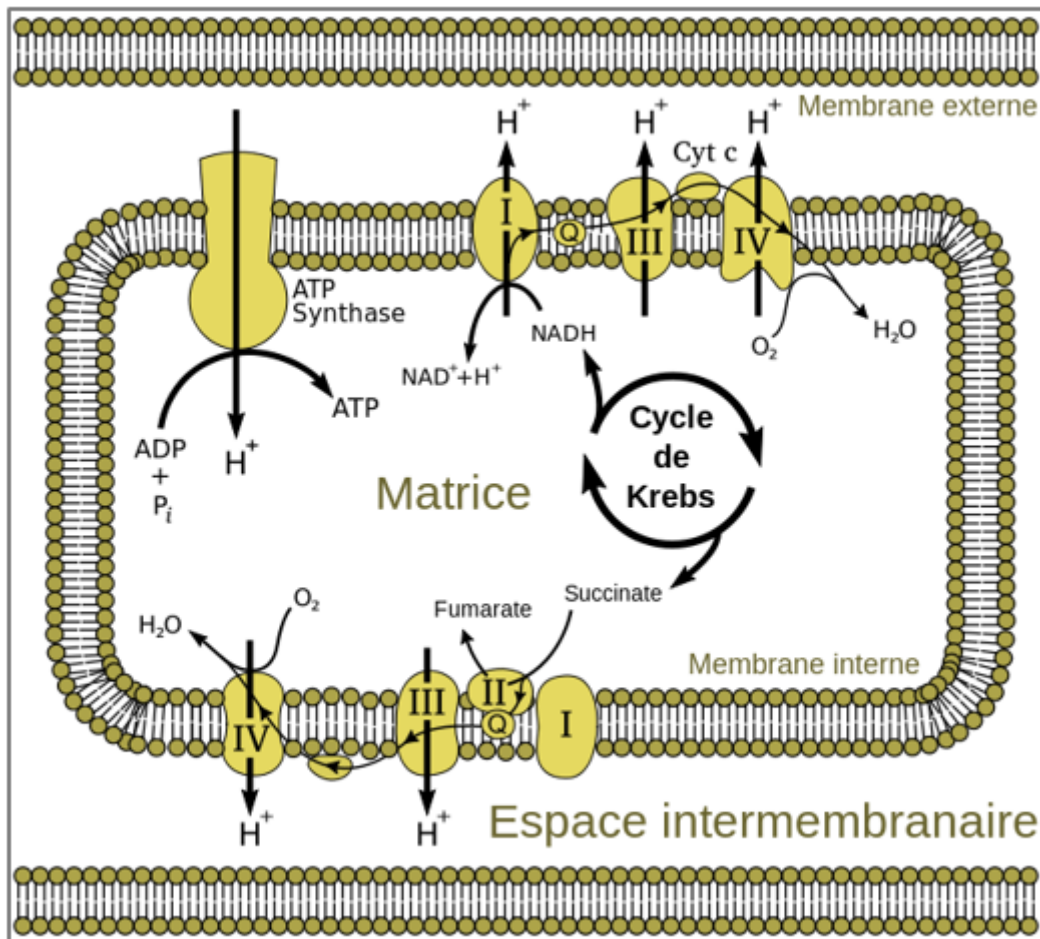


Figure 9.14. La chaîne respiratoire mitochondriale

Au niveau du Complexe I : la catalyse de l'oxydation du NADH en NAD<sup>+</sup> conduit à la libération de protons, la réduction du coenzyme Q et la libération d'énergie qui permet le transport de protons.

Au niveau du Complexe II : la catalyse de l'oxydation du succinate en fumarate. Les hydrogènes sont transférés au coenzyme Q et permettent la réduction de celui-ci en ubiquinol.

Au niveau du Complexe III : les protons sont apportés par le coenzyme Q à ce complexe enzymatique, ces derniers sont le substrat de l'ubiquinol cytochrome c oxydoreductase. Les électrons sont transportés par le cytochrome c qui se déplace dans l'espace intermembranaire.

Au niveau du Complexe IV : Les électrons apportés par le cytochrome c sont le substrat de ce complexe enzymatique. Les électrons sont transférés à l'oxygène et permettent de réduire ce dernier en H<sub>2</sub>O. La réaction est exergonique. L'énergie libérée est utilisée par l'enzyme pour transporter des protons.

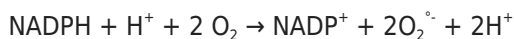
Au niveau du Complexe V : ATP synthase, protéine complexe qui récupère l'énergie fournie par les autres enzymes.

*Les complexes I et III sont les sources majeures d'ERO.*

Le pool de coenzyme Q (ubiquinone) va être régénéré par auto-oxydation. Au cours de cette régénération, l'anion superoxyde se forme d'une part, l'ubiquinol à l'aide du cytochrome c réductase va réduire le cytochrome c. Le cytochrome va permettre la réduction de l'oxygène en eau dans le cytoplasme de la cellule. L'ubiquinol perd un électron et est donc réduit en une espèce radicalaire qui est l'ubisemiquinone. L'ubisemiquinone va réduire l'oxygène en anion superoxyde dans la matrice de la mitochondrie. La superoxyde dismutase va transformer l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène. Le peroxyde d'hydrogène va être transformé en radical hydroxyle par la réaction d'Haber et Weiss à l'intérieur de la mitochondrie.

*Enzymes de l'inflammation :*

NAD(P)H oxydase (ubiquitaire) : Au cours de la phagocytose : la NADPH oxydase est capable de réduire l'O<sub>2</sub> en O<sub>2</sub><sup>•-</sup> selon la réaction suivante :



*NO Synthase (I, II, III, m)*

*Myéloperoxydase MPO* : À l'intérieur de la vacuole phagocytaire, l'anion superoxyde est dismuté en peroxyde d'hydrogène qui à son tour va subir l'action de la Myéloperoxydase et former de l'acide hypochloreux.

*Systèmes des CYP450 tels que le CYP2E1* : La NADPH oxydase transforme le NADPH en NADP<sup>+</sup>, l'électron perdu réduit le CYP450 Fe II en CYP450 Fe III par La NADPH Cytochrome P450 réductase (CPR).

L'auto-oxydation du CYP450 Fe II en CYP450 Fe III permet la réduction d'O<sub>2</sub> en O<sub>2</sub><sup>•-</sup>.

*Autres sources :*

- Enzymes du métabolisme de l'acide arachidonique : exemple : les cyclooxygénases (COX).
- Xanthine oxydoréductase.
- Monoamines-oxydases (MAO).
- Enzymes peroxysomales.

## Sources cellulaires non enzymatiques

Les sources cellulaires non enzymatiques de production des ERO sont aussi à considérer, exemples : l'auto-oxydation de l'adrénaline, la dopamine, des flavines, de l'hydroquinone, et l'hémoglobine qui permet la production des  $O_2^{\cdot-}$ ,  $H_2O_2$ ,  $OH^{\cdot}$ .

# Action des ERO

## Action non délétère (rôle biologique)

Les ERO jouent le rôle de seconds messagers, régulant plusieurs processus physiologiques moléculaires cellulaires et tissulaires. Elles participent dans la défense antibactérienne au cours des réactions de cytotoxicité face aux agents pathogènes, la destruction par apoptose des cellules tumorales, la transduction de signaux cellulaires, la régulation des gènes par un phénomène appelé contrôle redox des gènes, la modulation du métabolisme cellulaire par interaction ligand - récepteur, le développement embryonnaire, la croissance, la prolifération, la différenciation et la survie cellulaire.

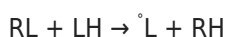
## Actions délétères

Dommages oxydatifs lipidiques :

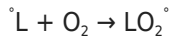
*Peroxydation lipidique* : c'est l'ensemble des phénomènes d'oxydation non enzymatique (dégradation) non spécifiques des lipides. Ce mécanisme cible les constituants membranaires, principalement les acides gras polyinsaturés (-CH=CH-CH<sub>2</sub>-CH=CH-), les lipides circulants (lipoprotéines), et le cholestérol non estérifié (libre).

La peroxydation lipidique se déroule en trois étapes : l'initiation, la propagation et la terminaison.

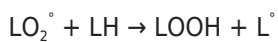
Le radical libre initiateur de la réaction, par transfert d'un atome d'hydrogène du groupement méthylène séparant deux doubles liaisons de l'acide gras polyinsaturé crée un site radicalaire selon la réaction suivante :



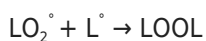
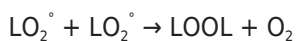
$\dot{L}$  subit une série de réactions, dont la première avec l'oxygène qui aboutit à la formation d'un radical peroxyde  $LO_2$  selon la réaction suivante :



$LO_2^{\circ}$  peut soit réagir sur une molécule lipidique formant un LOOH (hydroperoxyde) et nouveau site radicalaire selon la réaction suivante :



Ou bien former un endoxyde qui, par scission homolytique de la liaison dioxygène et par réarrangement électronique génère la malonaldéhyde et un nouveau site radicalaire. Il se peut aussi qu'il réagisse avec un autre RL assurant ainsi la terminaison de la chaîne selon les réactions suivantes :



L'hydroxyperoxyde donne par rupture spontanée  $LO^{\circ}$  et  $OH^{\circ}$ .

Métabolites réactifs issus de la peroxydation lipidique

*Métabolites primaires :*



*Métabolites secondaires :*

Aldéhydes : 4-hydroxynonéanal (4-HNE) considéré comme le plus génotoxique, Malonedialdéhyde (MDA) mutagène et atherogène.

Conséquences de la peroxydation lipidique

Les conséquences de la peroxydation lipidiques proviennent de l'action conjuguée des métabolites primaires et secondaires :

- Une atteinte de l'intégrité des structures membranaires.
- Dysfonctionnements cellulaires.
- Modification de la structure des lipoprotéines.
- Amplification des dommages cellulaires (surtout par les métabolites secondaires).

Dommages oxydatifs protéiques :

Les dommages oxydatifs protéiques ciblent potentiellement les acides aminés soufrés (cystéine, méthionine) et aromatiques (trypsine, histidine) à cause de leur sensibilité à ces attaques due à l'abondance de groupements sulfhydryles (SH) dans leurs structures.

L'action peut être directe sur les chaînes peptidiques et latérales et produit des métabolites primaires. Elle peut être indirecte par glycation et formation de groupements carbonyles, ou par lipo-oxydation et formation de bases de Schiff et des adduits de Michael (métabolites secondaires).

Conséquences

Les dommages oxydatifs des protéines produisent des changements structuraux majeurs par réticulation et fragmentation des structures protéiques à l'origine des modifications des propriétés des protéines (protéines oxydées + thermolabiles) responsables de nombreuses altérations des fonctions cellulaires suite à :

- Des inhibitions enzymatiques.
- Perte de spécificité ligand-récepteur.
- Dénaturation des épitopes antigéniques.
- Perturbations métaboliques.
- Formation de *produits de glycation avancée* PGA ou AGE (Advanced Glycation End-products).
- États pro-inflammatoires.
- Échappement à la dégradation et accumulation tissulaire.

Dommages oxydatifs de l'ADN :

Ces dommages ciblent l'ADN mitochondrial et nucléaire.

$H_2O_2$  et  $O_2^{\cdot-}$  ne sont pas assez réactifs pour altérer directement l'ADN, mais ils peuvent tous les deux générer le radical  $\cdot OH$ . La réaction de  $\cdot OH$  avec l'ADN est susceptible de conduire à divers processus à savoir la formation d'adduits sur l'ADN, l'oxydation des bases et des résidus des sucres, des cassures de chaîne par arrachement d'un

atome d'hydrogène du 2-désoxyribose (simple et double brins), pontages ADN-protéines dans les nucléoprotéines, et formation de sites abasiques.

Conséquences

- Altération de la fonction mitochondriale.
- Formation d'espèces mutagènes.
- Activation des systèmes de réparation.

## Moyens de lutte contre le stress oxydatif

Les antioxydants sont définis comme toute substance qui, présente à faible concentration par rapport au substrat oxydable, est capable de ralentir ou inhiber l'oxydation de ce dernier.

### Les antioxydants enzymatiques

Les antioxydants enzymatiques sont considérés comme la 1<sup>ère</sup> ligne de défense principalement représentée par :

Superoxyde dismutase (SOD) : métalloenzyme ubiquitaire, elle élimine l'anion superoxyde par dismutation selon la réaction suivante :

Cette réaction a pour conséquences la réduction de la disponibilité  $O_2^{\cdot-}$ , limitation de la cascade radicalaire ( $OH^{\cdot}$ ,  $ONOO^{\cdot}$ ). Le  $H_2O_2$  est pris en charge par des enzymes de relai.

Catalase : Enzyme héminique ubiquitaire située à l'intérieur des globules rouges, elle élimine  $H_2O_2$  par dismutation qui se fait en deux étapes :

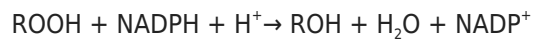
- Catalase (Fe III) +  $H_2O_2$  → Catalase (Fe V)  $H_2O_2$
- Catalase (Fe V)  $H_2O_2$  +  $H_2O_2$  → Catalase (Fe III) +  $H_2O$  +  $O_2$

Système Glutathion peroxydase / Glutathion réductase (GPx/GR) : sélénoprotéine ubiquitaire (7 isoformes) élimine 70% des peroxydes organique et 94% de  $H_2O_2$  par réduction selon les réactions suivantes :



- $2 \text{ GSH} + \text{ROOH} \rightarrow \text{G-S-S-G} + \text{ROH} + \text{H}_2\text{O}$
- $\text{G-S-S-G} + \text{NADPH} + \text{H}^+ \rightarrow 2 \text{ GSH} + \text{NADP}^+$

Thioridoxine peroxydases (Trx) : sélénocoenzymes NADPH dépendantes éliminent  $\text{H}_2\text{O}_2$ , ROOH,  $\text{ONOO}^-$ ) par réduction selon la réaction suivante :



## Les antioxydants non enzymatiques

Vitamine E: sous forme d' $\alpha$ -tocophérol (la plus active et la plus absorbée), antioxydant majeur des structures lipidiques, il possède aussi une autre action, la neutralisation de  $^1\text{O}_2$ .

Vitamine C : acide ascorbique, c'est un agent réducteur et chélateur sous forme d'acide déhydro-L-ascorbique (DHA), il réagit directement sur les radicaux libres et élimine  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

Provitamine A (caroténoïdes) :  $\beta$ -carotène : précurseur de la vitamine A, elle interrompt le processus de la peroxydation lipidique.

Autres vitamines : Vitamine P (flavonoïdes), Coenzyme  $\text{Q}_{10}$ .

Les oligoéléments : Se, Zn comme cofacteurs de la GPx, SOD1, SOD3 respectivement.

Protéines transporteuses : par séquestration des métaux impliqués dans la génération des ERO, par exemple : la transferrine et le Fer.

Glutathion : est un cofacteur de l'enzyme GPx. C'est un tripeptide naturel, la *L*- $\gamma$ -glutamyl-L-cystéinyglycine hydrosoluble (cytoplasme, noyau, mitochondries) dont le GSH constitue 90% de sa teneur totale. Le glutathion est le cofacteur de nombreuses enzymes antioxydantes (GPx) il permet la réduction protéines oxydées par conjugaison aux espèces électrophiles selon les réactions suivantes :

- $\text{GSH} + \text{R}^\circ \rightarrow \text{GS}^\circ + \text{RH}$
- $\text{GS}^\circ + \text{GS}^\circ \rightarrow \text{GSSG}$

Le glutathion permet l'élimination des espèces  $\text{OH}^\circ$ ,  $^1\text{O}_2$  par interaction directe. L'interaction GSH - 4-HNE conduit à

la formation d'adduits non toxiques.

## Autres mécanismes

### Réparation de l'ADN

Lorsque les antioxydants s'avèrent « insuffisants » ou défaillants, la cellule possède un autre moyen pour réparer les lésions causées et empêcher ainsi le risque de mutagenèse et éventuellement de cancer. La réparation de l'ADN fait intervenir plusieurs mécanismes, par exemple :

- Système de réparation des misappariements.
- Réparation par excision ou resynthèse.
- Réparation par excision des nucléotides.

## Les agents toxiques et la production endogène des ERO

Plusieurs agents toxiques peuvent être impliqués dans la production des espèces réactives d'oxygène :

Substances chimiques : Métaux (As), Solvants (CCl<sub>4</sub>), médicaments (Paracétamol).

Agents physiques : radiations ionisantes, rayonnement UV.

Dans certaines pathologies le stress oxydatif peut être une cause primordiale (cancers), ou bien facteur déclenchant (Maladie d'Alzheimer) du stress oxydatif, d'autres peuvent en être la cause secondaire (Diabète).

## Pathologies liées au stress oxydatif

Tableau 9.2. Exemples de pathologies liées au stress oxydatif

Maladies où le stress oxydatif est la cause primordiale	Maladies où le stress oxydatif est le facteur déclencheur	Maladies entraînant un stress oxydatif secondaire
Cancers, Auto-immunité, Cataracte.	Maladie d'Alzheimer, Stérilité masculine, Rhumatismes, athéromes, asthmes.	Diabète, Insuffisance rénale, Maladie de Parkinson.

# Évaluation du stress oxydatif

La quantification des espèces réactives se fait soit par mesure directe (chimiluminescence, par résonance paramagnétique électronique) soit par mesure indirecte (marqueurs immunohistochimiques).

## Quantification des marqueurs d'oxydation

Marqueurs d'oxydation lipidique

- Malonedialdéhyde (MDA) est quantifié par le test des « TBA reactive substance » (TBARS), l'acide 2-thiobarbiturique (TBA) forme un adduit avec le MDA qui permet sa quantification.
- 4-hydroxynonéal (4-HNE) est un marqueur plus spécifique.
- Isopréstones.
- Anticorps anti-LDL oxydés.

Marqueurs d'oxydation protéique :

Les protéines carbonylées notamment *la bityrosine, la L-Dopamine et l'orthotyrosine* sont dosées par spectrophotométrie après réaction avec la dinitrophénylhydrazine (DNPH). Il se forme la dinitrophénylhydrazone qui absorbe à 380 nm. D'autres méthodes de dosages peuvent être aussi utilisées telles que les techniques immunoenzymatiques et la chromatographie liquide haute performance HPLC.

Le dosage des groupements thiols peut aussi s'avérer important, vu la concordance des résultats avec les réactions d'oxydation protéique. Une des méthodes de dosages utilisées est une méthode colorimétrique après réaction d'oxydoréduction, les groupements SH réduisent le DTNB (acide dithionitrobenzoïque) ou réactif d'Ellman en TNB (l'acide thionitrobenzoïque) jaune ayant une absorption maximale à 412-415 nm.

Marqueurs d'oxydation nucléique :

8-OHDG (8-Oxoguanosine) est le marqueur de choix. Sa présence dans l'ADN peut aboutir à des transversions de GC vers TA responsable de mutations voire une cancérogenèse. Ce marqueur est recherché dans les urines par HPLC-SM et ELISA, mais aussi dans les cellules circulantes (Test des « comètes »).

## Quantification des antioxydants

La quantification des antioxydants se déroule sur quatre volets principaux : le statut antioxydant total (SAT), la

quantification des vitamines, la quantification des enzymes, et la quantification des oligoéléments.

Statut antioxydant total (SAT)

*La méthode Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC)*

L'activité antioxydante totale d'une molécule est déduite de sa capacité à inhiber le radical ABTS<sup>•+</sup> (bleu-vert) obtenu à partir de l'ABTS (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)), cette inhibition se traduit par une décoloration mesurée par spectrophotométrie.

Quantification des enzymes

Superoxyde dismutase (SOD) : le principe du dosage est basé sur les réactions suivantes :

- Xanthine + O<sub>2</sub> + H<sub>2</sub>O ↔ Acide urique + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (catalysée par la Xanthine Oxydase)
- INT 2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-phenyl-2H-tetrazolium chloride (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) → Colorant Formazan.
- O<sub>2</sub><sup>•-</sup> + O<sub>2</sub><sup>•-</sup> → O<sub>2</sub> + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (catalysée par la superoxyde dismutase).

L'activité enzymatique de la SOD est mesurée indirectement par la mesure du colorant Formazan formé.

Glutathion peroxydase (GPx) : l'activité de la GPx est mesurée par la mesure de la vitesse de consommation du NADPH à 340 nm avec l'utilisation de la glutathion réductase comme enzyme auxiliaire.

Catalase : l'activité de la catalase est mesurée par mesure du pic d'absorption de l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dans l'UV qui se trouve diminuée après décomposition.

Quantification des vitamines

Les vitamines sont quantifiées par HPLC UV ou fluorimétrie, CPG.

Quantification des oligoéléments

La principale méthode de quantification est la spectrométrie d'absorption atomique SAA four (pour Se, Mn) et Flamme (pour Zn).

Le glutathion est quantifié par HPLC, spectrophotométrie.

#### Examens complémentaires

- Bilan martial (Fer libre, transferrine, ferritine).
- Bilan lipidique (Triglycérides, LDL, HDL).
- Bilan inflammatoire.

#### *Bibliographie*

- DELATTRE Jacques; BEAUDEUX Jean-Louis; BONNEFONT-ROUSSELOT Dominique (23 January 2007). Radicaux libres et stress oxydant: Aspects biologiques et pathologiques ( broché). Lavoisier. ISBN 978-2-7430-1955-6.
- A. Pryor (2 December 2012). Bio-Assays for Oxidative Stress Status. Elsevier. pp. 97-100. ISBN 978-0-08-092992-7.
- Helmut Sies (22 October 2013). Oxidative Stress. pp. 219-222. ISBN 978-1-4832-8911-3.
- Donald Armstrong (2002). Oxidative Stress Biomarkers and Antioxidant Protocols. Springer Science & Business Media. ISBN 978-1-59259-173-2.
- Marc et al. Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. Med Sci (Paris). 2004 April; 20(4): 458-463. doi: 10.1051/medsci/2004204458.