

Explorations biochimiques du stress oxydant

Introduction :

L'oxygène, molécule indispensable à la vie, est susceptible d'entraîner des effets dommageables dans l'organisme via la formation de radicaux libres et d'espèces oxygénées activées.

Le stress oxydant résulte d'un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et les capacités de défense anti oxydantes de l'organisme. L'oxygène moléculaire peut se transformer dans l'organisme en anions superoxydes, pour générer d'autres espèces réactives oxygénées (ERO).

Ce déséquilibre peut être dû à un déficit nutritionnel en antioxydants, à une surproduction endogène ou à une exposition à des facteurs

Pro-oxydants conduisant à des dommages des macromolécules, des cellules, des tissus, des organes et l'organisme.

Systèmes pro oxydants :

1/ Espèces réactives de l'oxygène (ERO) Les espèces réactives de l'oxygène sont des composés chimiques possédant des propriétés d'oxydoréduction leur conférant une grande réactivité vis-à-vis des molécules organiques glucides, lipides, protéines, acides nucléiques, leur production au niveau de notre organisme est inévitable du fait du métabolisme aérobie sous la dépendance de nombreux systèmes enzymatiques (NADPH oxydase, les myeloperoxydases, mais aussi de notre environnement (médicaments, polluants, radiations ionisantes, etc.) et de notre alimentation.

Ils ne possèdent pas d'électrons non appariés mais sont des précurseurs des radicaux libres et sont aussi réactifs que ceux-ci on cite : l'anion peroxyde (O_2^{2-}), peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), l'acide hypochloreux $HOCl$: anion peroxydite ($ONOO^-$).

Les dérivés non radicalaires (ne possédant pas d'électron célibataire) :

Le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 : c'est un oxydant très puissant, potentiellement toxique pour la cellule, c'est une ERO stable en l'absence de métaux de transition, cependant, il peut générer des radicaux hydroxyle $HO\bullet$ en présence de cations métalliques tels que Fe^{2+} (réaction de Fenton), ou de Cu^+ .



Il se forme par dismutation de l'anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$ sous l'action d'une enzyme : la superoxyde dismutase (SOD).



2/ L'acide hypochloreux $HOCl$:

L'acide hypochloreux est un oxydant puissant, capable de réagir avec de nombreuses molécules biologiques notamment celles contenant des groupements thiols ($-SH$).

Il est essentiellement produit par les myeloperoxydases (MPO) leucocytaires à partir de peroxyde d'hydrogène et d'ion chlorure.



Les radicaux libres oxygènes (espèces chimiques possédant un électron célibataire non apparié) :

Possèdent un électron libre non apparié et sont extrêmement réactifs. On cite : L'anion superoxyde (O_2^-), radical hydroxyle ($HO\bullet$), monoxyde d'azote ($NO\bullet$)

1/ Le radical hydroxyle $\text{HO}\bullet$: (le plus réactif des radicaux libres oxygénés). Le radical hydroxyle est particulièrement délétère vis-à-vis des matériaux biologiques. Il peut se former :

Par réaction du peroxyde d'hydrogène avec un ion ferreux (réaction de Fenton).

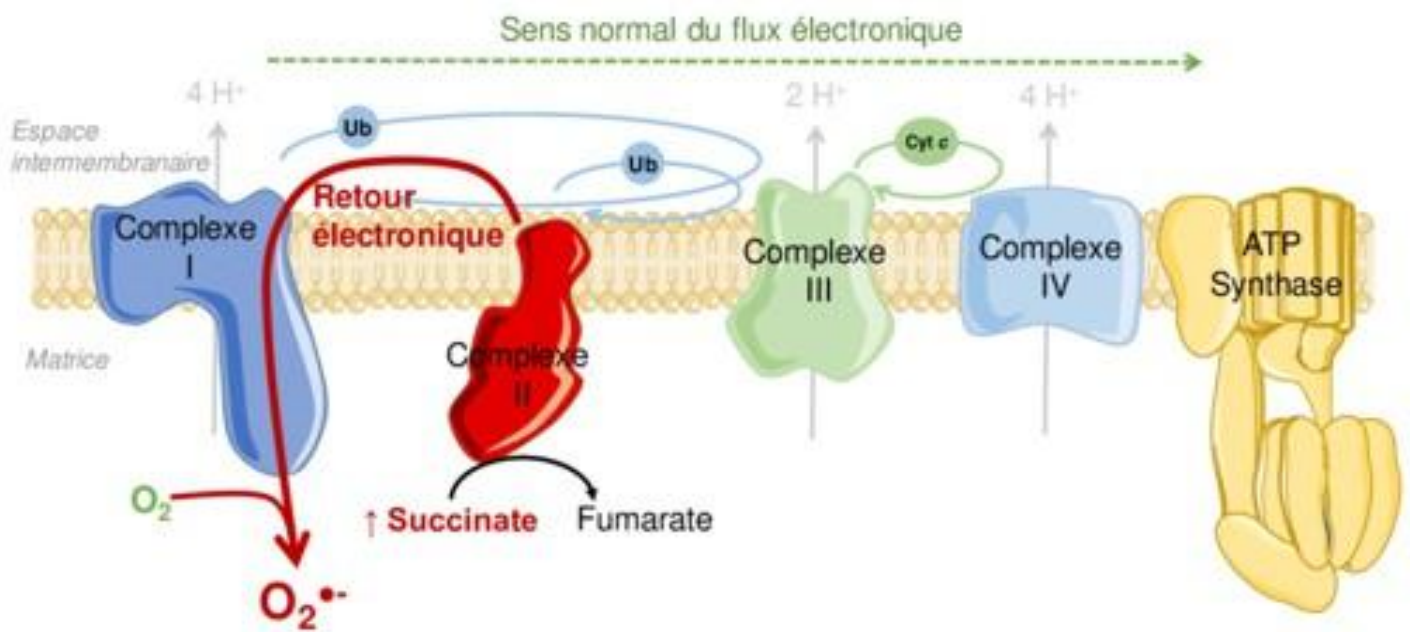
par réaction du peroxyde d'hydrogène avec l'anion superoxyde (réaction de Haber-Weiss)



Sous l'effet de radiations ionisantes (rayons X ou gamma).

2/ L'anion superoxyde O_2^- : Il peut se former par :

Réaction de l'oxygène avec un électron (généralement cet électron provient d'une fuite au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale, plus précisément l'accepteur terminal : le cytochrome oxydase du complexe IV de la chaîne de transport électronique de la membrane interne mitochondriale).



3/ Le monoxyde d'azote ou oxyde nitrique $\text{NO}\bullet$

Le monoxyde d'azote est un radical libre ubiquitaire de nature gazeuse et hautement diffusible. Il est synthétisé à partir de la L-arginine par les NO synthases (NOS), en présence de cofacteurs tels le NADPH, le FAD, selon la réaction :



Rôles biologiques des ERO :

Le rôle des ERO est très complexe car ils peuvent avoir un rôle physiologique ou un effet toxique en fonction de leur concentration. Dans des conditions normales, ils sont générés en faible quantité et jouent un rôle dans plusieurs processus biologiques, mais produits en grande quantité deviennent pathologique. :

- Messagers secondaires : capables, notamment, de réguler le phénomène de l'apoptose ou d'activer des facteurs de transcription.
- Processus de fécondation : au cours duquel les spermatozoïdes sécrètent de grandes quantités d'ERO pour percer la paroi membranaire de l'ovule.

- Fonctionnement de certaines enzymes.
- Régulation du tonus vasculaire.
- Relaxation du muscle lisse.
- Adhésion plaquettaire.

Principales altérations moléculaires des ERO :

La production excessive des ERO provoque des lésions directes de molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides, des glucides), mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides.

- L'ADN est une cible privilégiée pour les ERO. La guanine, par exemple, peut réagir avec $\text{OH}\cdot$ pour former la 8-hydroxy-2'-déoxyguanosine (8-OH-dG) qui, au lieu de s'apparier avec la cytosine, s'associera avec l'adénine, entraînant des mutations au sein de l'ADN et conduisant à des altérations du message génétique impliquées dans le déclenchement du cancer et le vieillissement.
- L'ARN est plus exposé aux dommages oxydatifs que l'ADN, en raison de sa nature simple brin, l'absence d'un mécanisme de réparation active pour l'ARN oxydé, et moins de protection par les protéines que l'ADN.
- Toute attaque radicalaire d'un acide aminé provoquera l'oxydation de certains résidus avec, pour conséquences, l'apparition de groupements carbonylés, des clivages de chaînes peptidiques.
- L'oxydation des lipides en particulier les acides gras polyinsaturés (AGPI), mais aussi du cholestérol, par les ERO est appelée « peroxydation lipidique » qui est à la base de la production de nombreux marqueurs du stress oxydant : (malondialdéhyde, 4-hydroxynonénal) dont les activités pro-athérogènes sont bien connues qui entraîne une altération de la fluidité membranaire
- L'attaque radicalaire des lipoprotéines circulantes aboutit à la formation de LDL oxydées, jouant un rôle important dans les premières étapes de l'athérosclérose).
- les ERO attaquent les mucopolysaccharides et notamment les protéo-glycanes du cartilage. Par ailleurs, le glucose peut s'oxyder dans des conditions physiologiques, Ce phénomène de glycosoxydation est très important chez les diabétiques et contribue à la fragilité de leurs parois vasculaires et de leur rétine.

Les systèmes anti oxydants de l'organisme :

- Les antioxydants sont des substances qui peuvent protéger les cellules des dégâts causés par des radicaux libres.

1/ Les antioxydants enzymatiques

- Les superoxydes dismutases (SOD) : Elles sont l'un des antioxydants les plus puissants et catalysent la conversion d'anions superoxydes en dioxygène et en peroxyde d'hydrogène :



La catalase : est une enzyme qui catalyse la dismutation d'eau oxygénée en eau et oxygène. L'action de la catalase est complémentaire de celle des SOD qui produisent du H_2O_2 .



2/ Les antioxydants non enzymatiques

- Le glutathion un tripeptide, qui peut réagir chimiquement avec $O_2^{\bullet-}$, $\bullet OH$, H_2O_2 et fonctionner comme un boueur de radical libre - L'acide urique.

3/ Les vitamines anti oxydantes

- La vitamine C :est un réducteur et un antioxydant, en piégeant les radicaux libres, en régénérant la vitamine E, et en préservant le glutathion.
- La vitamine E : est un anti radicalaire puissant, elle protège de la peroxydation lipidique et de ses effets délétères sur les membranes.. Les vitamines E et C forment le couple antioxydant le plus puissant de notre organisme.
- La vitamine A : La vitamine A avec Les caroténoïdes possèdent des propriétés anti radicalaires en piégeant les lipoperoxydes et protégeraient ainsi les LDL

4/ Les oligo-éléments Les oligo-éléments sont des cofacteurs enzymatiques impliqués dans toutes les grandes voies métaboliques, notamment dans la protection contre les espèces radicalaires.

- Le sélénium est un oligoélément essentiel, son importance chez l'homme est bien établie, et son déficit cause de graves effets sur la santé.
- Le zinc : cofacteur pour les SOD. Ce minéral protège les cellules contre des dégâts oxydatifs.
- Le cuivre : cofacteur d'enzymes comme la SOD. Cependant, en tant que métal de transition, il joue un rôle important dans le déclenchement des réactions de production des ERO (réactions de Fenton), et peut lorsque sa concentration est élevée devenir pro-oxydant.

Marqueurs biochimiques du stress oxydant :

A) Les enzymes :

La détermination de l'activité des enzymes du stress oxydant est complexe à cause de la difficulté d'interprétation des résultats. Une diminution peut signifier un défaut des défenses antioxydantes ou un épuisement ; une élévation peut signaler une réponse à un stress ou une libération par lyse cellulaire.

B) Biomarqueurs des dommages oxydatives :

1/ Biomarqueurs de la peroxydation lipidique

Malondialdéhyde (MDA) : produits finaux de la peroxydation des lipides dans les membranes cellulaires ou dans les LDL.

Les isoprostanes : sont un groupe de prostaglandines bioactives générées par peroxydation, in vivo, de l'acide arachidonique par des radicaux libres.

2/ Biomarqueurs de l'oxydation des protéines :

Protéines carbonylées : Les carbonyles sont des molécules de l'oxydation de la chaîne latérale des acides aminés ou des produits de fragmentation des protéines après attaque radicalaire. Nitrotyrosine : le NO^{\bullet} produit par l'oxyde nitrique synthase inducible (iNOS) réagit avec un radical $O_2^{\bullet-}$ – pour former $ONOO^-$. Ce dernier, ou ses métabolites secondaires, provoque une nitration de la tyrosine, créant la 3-nitrotyrosine, une empreinte d'oxydation/nitration des protéines.

3/ Biomarqueurs de l'oxydation des acides nucléiques

La 8-hydroxydésoxyguanosine (8-OH-dG) : La 8-OH-dG est une forme oxydée de la guanine, résultant des dommages de l'ADN provoquant des mutations. Ce composé provoque des transversions de type A/T à C/G ou G/C à T/A en raison de son appariement de base avec l'adénine ainsi que cytosine.

4/ Biomarqueurs de l'oxydation des glucides

Les produits glyqués sont considérés comme des biomarqueurs pour le contrôle de la glycémie, du risque de complications associées au diabète, de la mortalité par les maladies cardiovasculaires et les maladies cardiaques coronariennes et aussi un index pour mesurer l'effet du traitement des patients diabétiques atteints de rétinopathie, néphropathie, et neuropathie.

Stress oxydant et pathologies :

Dans la pathogénie de la plupart des maladies chroniques on retrouve la composante du stress oxydant, affectant des processus cellulaires différents, comme la prolifération, le métabolisme, la différenciation et la survie des organes spécialisés ou les systèmes, notamment les poumons, le foie et les reins, le système nerveux et le système cardio-vasculaire. (Cancer, maladie d'Alzheimer, Diabète,..)