



HAL
open science

Étude bibliographique du stress oxydant et de son implication en pathologie des carnivores domestiques

Valérie Payet

► **To cite this version:**

Valérie Payet. Étude bibliographique du stress oxydant et de son implication en pathologie des carnivores domestiques. Médecine vétérinaire et santé animale. 2023. dumas-04335395

HAL Id: dumas-04335395

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04335395v1>

Submitted on 11 Dec 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE DU STRESS OXYDANT ET DE SON IMPLICATION EN PATHOLOGIE DES CARNIVORES DOMESTIQUES

THESE D'EXERCICE

pour obtenir le titre de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

PAYET Valérie, Marie, Suzanne

Directrice de thèse : Mme Annabelle MEYNADIER

JURY

PRESIDENTE :

Mme Armelle DIQUELOU

Professeure à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

ASSESEURS :

Mme Annabelle MEYNADIER

Professeure à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Mme Lydie BRET

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

MEMBRE INVITEE :

Mme Tiphaine BLANCHARD

Docteur vétérinaire à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE DU STRESS OXYDANT ET DE SON IMPLICATION EN PATHOLOGIE DES CARNIVORES DOMESTIQUES

THESE D'EXERCICE

pour obtenir le titre de
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

DIPLOME D'ÉTAT

*présentée et soutenue publiquement
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

PAYET Valérie, Marie, Suzanne

Née le 20/12/1997 à JUVISY-SUR-ORGE (91)

Directrice de thèse : Mme Annabelle MEYNADIER

JURY

PRESIDENTE :

Mme Armelle DIQUELOU

Professeure à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

ASSESEURS :

Mme Annabelle MEYNADIER

Professeure à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Mme Lydie BRET

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

MEMBRE INVITEE :

Mme Tiphaine BLANCHARD

Docteur vétérinaire à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

**Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation
ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE**

Liste des directeurs/assesseurs de thèse de doctorat vétérinaire

Directeur : Professeur Pierre SANS

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

- M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et industrie des aliments*
- M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
- M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Pharmacologie, thérapeutique*
- M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et industrie des aliments d'origine animale*
- M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, statistiques, modélisation*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie pathologique*
- M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la reproduction, endocrinologie*
- M. **GUERIN Jean-Luc**, *Aviculture et pathologie aviaire*
- Mme **HAGEN-PICARD Nicole**, *Pathologie de la reproduction*
- M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **SCHELCHER François**, *Pathologie médicale du bétail et des animaux de basse-cour*
- Mme **TRUMEL Catherine**, *Biologie médicale animale et comparée*

PROFESSEURS 1^{ère} CLASSE

- Mme **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
- Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, anatomie pathologique*
- Mme **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie vétérinaire*
- M. **DUCOS Alain**, *Zootecnie*
- M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et toxicologie*
- M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
- Mme **LACROUX Caroline**, *Anatomie pathologique, animaux d'élevage*
- Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*
- M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et thérapeutique*
- M. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des ruminants*
- Mme **MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation animale*

PROFESSEURS 2^{ème} CLASSE

- Mme **CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*
- M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
- Mme **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des équidés et des carnivores*
- M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
- M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, imagerie médicale*
- M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction*
- Mme **PAUL Mathilde**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles*
- M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et infectiologie*

MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE

- M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la reproduction*
Mme **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et industrie des denrées alimentaires d'origine animale*
A. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et toxicologie*
M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et mathématiques*
Mme **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*

MAITRES DE CONFERENCES CLASSE NORMALE

- M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*
Mme **BRET Lydie**, *Physique et chimie biologiques et médicales*
Mme **BOUHSIRA Emilie**, *Parasitologie, maladies parasitaires*
M. **CARTIAUX Benjamin**, *Anatomie, imagerie médicale*
M. **COMBARROS Daniel**, *Dermatologie vétérinaire*
M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*
Mme **DANIELS Hélène**, *Immunologie, bactériologie, pathologie infectieuse*
Mme **DAVID Laure**, *Hygiène et industrie des aliments*
M. **DIDIMO IMAZAKI Pedro**, *Hygiène et industrie des aliments*
M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophthalmologie vétérinaire et comparée*
Mme **FERRAN Aude**, *Physiologie*
M. **FUSADE-BOYER Maxime**, *Microbiologie et infectiologie*
M. **GAIDE Nicolas**, *Anatomie pathologique*
Mme **GRANAT Fanny**, *Biologie médicale animale*
Mme **JOURDAN Géraldine**, *Anesthésie, analgésie*
M. **JOUSSERAND Nicolas**, *Médecine interne des animaux de compagnie*
Mme **LALLEMAND Elodie**, *Chirurgie des équidés*
Mme **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*
M. **LE LOC'H Guillaume**, *Médecine zoologique et santé de la faune sauvage*
M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie chirurgicale*
Mme **MILA Hanna**, *Elevage des carnivores domestiques*
M. **VERGNE Timothée**, *Santé publique vétérinaire, maladies animales réglementées*
Mme **WARET-SZKUTA Agnès**, *Production et pathologie porcine*

INGENIEURS DE RECHERCHE

- M. **AUMANN Marcel**, *Urgences, soins intensifs*
M. **AUVRAY Frédéric**, *Santé digestive, pathogénie et commensalisme des entérobactéries*
M. **CASSARD Hervé**, *Pathologie des ruminants*
M. **CROVILLE Guillaume**, *Virologie et génomique cliniques*
Mme **DIDIER Caroline**, *Anesthésie, analgésie*
M. **DELPONT Mattias**, *Clinique Aviaire*
Mme **DUPOUY GUIRAUTE Véronique**, *Innovations thérapeutiques et résistances*
Mme **GAILLARD Elodie**, *Urgences, soins intensifs*
Mme **GEFFRE Anne**, *Biologie médicale animale et comparée*
Mme **GRIZEZ Christelle**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
Mme **JEUNESSE Elisabeth**, *Bonnes pratiques de laboratoire*
Mme **LAYSSOL-LAMOUR Catherine**, *Imagerie Médicale*
Mme **POUJADE Agnès**, *Anatomie pathologique Vétérinaire*
Mme **PRESSANTI Charline**, *Dermatologie vétérinaire*
M. **RAMON PORTUGAL Felipe**, *Innovations thérapeutiques et résistances*
M. **REYNOLDS Brice**, *Médecine interne des animaux de compagnie*
Mme **ROUCH BUCK Pétra**, *Médecine préventive*
Mme **SAADA Chloé**, *Gestion intégrée de la santé des ruminants*

Remerciements

A la présidente du jury : **Madame Armelle DIQUELOU,**

Professeur en pathologie médicale des équidés et des carnivores à l'ENVT

Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de ce jury,

Hommages respectueux.

A l'assesseure du jury : **Madame Lydie BRET,**

Maître de conférences en physique et chimie biologiques et médicales à l'ENVT

Pour avoir accepté cette invitation à juger mon travail, pour m'avoir accompagné et guidé le long de la rédaction de cette thèse

Veillez trouver ici l'expression de mon profond respect et toute ma gratitude.

A ma directrice de thèse : **Madame Annabelle MEYNADIER,**

Professeure en Alimentation animale à l'ENVT

Pour avoir accepté d'encadrer cette thèse,

Pour votre disponibilité, votre accompagnement,

vos patience tout au long de l'élaboration de cette thèse.

Veillez trouver ici l'expression de mon extrême reconnaissance pour la confiance que vous m'avez accordée.

A **Madame Tiphaine BLANCHARD,**

Docteur vétérinaire diplômée de l'ENVT

Pour avoir accepté d'être présente en tant que membre invité, pour m'avoir accompagnée et soutenue dans la rédaction de cette thèse,

Je vous présente toute ma sincère gratitude.

Table des matières

LISTE DES ABREVIATIONS :.....	11
LISTE DES TABLEAUX.....	13
LISTE DES FIGURES :	14
INTRODUCTION :.....	16
PARTIE 1 : LA FORMATION DES ESPECES REACTIVES DE L'OXYGENE AU SEIN DE LA CELLULE EUCARYOTE ET LEUR REGULATION	18
A. Les réactions biochimiques.....	18
a. Des réactions régies par un potentiel d'oxydo-réduction.....	18
b. Des réactions régies par des constantes de vitesse	20
B. La formation des différentes espèces réactives de l'oxygène au sein de la cellule eucaryote	23
a. Production non enzymatique des espèces réactives de l'oxygène primaires.23	
1) Les complexes enzymatiques membranaires NAD(P)H oxydases.....	26
i. La xanthine oxydoréductase	29
ii. Les cytochromes P450.....	30
2) Le noyau et sa chaîne de transport d'électrons	32
b. La radiolyse de l'eau	32
c. Formation des espèces réactives secondaires et conséquences moléculaires	33
1) Production de monoxyde d'azote et espèces secondaires	33
2) Interactions avec les lipides	34

i.	Les enzymes Lipo-oxygénases et cyclo-oxygénases :.....	34
ii.	L'auto-oxydation.....	37
iii.	Produits d'oxydation du cholestérol.....	39
3)	Interactions avec les protéines	41
i.	Oxydation de la chaîne polypeptidique.	42
ii.	Glyco-oxydation et lipo-oxydation	44
iii.	Le protéasome	44
4)	Interactions avec l'acide desoxyribonucléique	45
i.	Lésions des bases azotées	46
ii.	Lésion sur le squelette phosphoriboxyle de l'ADN	47
C.	Mécanismes de contrôle	50
a.	Systèmes enzymatiques	50
1)	La superoxyde dismutase	50
2)	La catalase	50
3)	La glutathion peroxydase.....	51
b.	Systèmes enzymatiques antioxydants accessoires.....	53
c.	Systèmes non enzymatiques	55
1)	Exemples de piègeurs de radicaux divers	55
2)	Vitamines et dérivés associés.....	56

PARTIE 2 : LE STRESS OXYDANT62

A.	Etiologie du stress oxydant.....	62
A.1	Excès de production des espèces réactives de l'oxygène	62
a.	L'intervention des espèces réactives de l'oxygène dans la signalisation intracellulaire	62

b.	Défense de l'organisme : une production excessive dans un contexte inflammatoire	69
1)	Rôle anti-infectieux	69
2)	Les espèces réactives de l'oxygène dans la régulation de l'inflammation.....	70
c.	Activité musculaire et hyperoxie	71
1)	Augmentation de la consommation en dioxygène	72
2)	Le phénomène d'ischémie reperfusion	73
d.	Senescence cellulaire	75
A.2	Déficit en antioxydants.....	77
a.	Carences primaires	77
b.	Carences secondaires.....	78
B.	Stress oxydant dans des maladies chez les carnivores domestiques.....	80
B.1	Maladies cancéreuses	80
B.2	Maladies neurodégénératives.....	82
B.3	Maladies cardiovasculaires.....	83
a.	L'insuffisance cardiaque	83
b.	L'hypertension	85
B.4	Troubles ostéo-articulaires.....	86
C.	Mesurer et lutter contre le stress oxydant chez les carnivores domestiques.....	88
C.1	Mise en évidence du stress oxydant.....	88
a.	Détermination des radicaux libres	88
b.	Les antioxydants :	89
c.	Produits de dégradations	89
i.	Marqueurs issus de l'oxydation des lipides.....	89

ii. Marqueurs issus de l'oxydation des protéines	91
iii. Marqueurs issus de l'oxydation de l'ADN	92
C.2 Prévenir le stress oxydant.....	92
C.3 Réduire le stress oxydant	94
C.4 Mesurer en pratique.....	95
CONCLUSION	97
BIBLIOGRAPHIE.....	99
ANNEXES	119
Annexe 1 : Schéma de la production d'ERO au sein de la cellule eucaryote	120
Annexe 2 : Tableau des principaux ligands responsables de la production d'ERO, leurs sources et leurs effets sur la cellule d'après Delattre et al. (1)	121

Liste des abréviations :

AGPI : Acides Gras PolyInsaturés

ATP : Adénosine tri-phosphate

CAT : Catalase

DUOX : Dual Oxydase

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

GPx : Glutathion Peroxydase

GR : Glutathion Reductase

GS• : radical thiolyles

GSH : Glutathion réduit

GSSG : Glutathion oxydé

GTPase : Guanosine Triphosphatase

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

IFN- γ : Interféron Gamma

LDL : Low Density Lipoprotein

LOO• : Radical peroxyde lipidique

LOX : Lipo-oxygénase

NO : Monoxyde d'azote

NOS : Monoxyde d'azote synthase

NOX : NAD(P)H oxydase

NADH : nicotinamide adénine dinucléotide réduit

NADPH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate

O₂^{•-} : anion superoxide

¹O₂ : oxygène singulet

•OH : radical hydroxyle

O₂ : dioxygène

e⁻ : électron

⁻OONO : peroxydinitrite

ONOOH : acide peroxydinitreux

PLA2 : Phospholipase A2

RO₂[•] : radical peroxyde

RO₂H : hydroperoxyde

RO[•] : radical alkoxyde

SOD : Superoxyde Dismutase

TNF-α : Tumor Necrosis Factor

XOR : Xanthine Oxydoreductase

Liste des tableaux

TABLEAU 1 : LES REACTIONS DE REDUCTION DU DIOXYGENE D'APRES MIGDAL, SERRES 2011 (11).....	22
TABLEAU 2 : TABLEAU RECAPITULATIF DES DIFFERENTS TYPES DE LESIONS OXYDANTES DE L'ADN.	49
TABLEAU 3 : ANTIOXYDANTS CELLULAIRES	60
TABLEAU 4 : EXTRAIT DES PRINCIPAUX LIGANDS RESPONSABLES DE LA PRODUCTION D'ERO, LEURS SOURCES ET LEURS EFFETS SUR LA CELLULE D'APRES DELATTRE ET AL. (4). ...	65
TABLEAU 5 : RECOMMANDATIONS NUTRITIONNELLES.....	77

Liste des figures :

FIGURE 1 : EXEMPLE DE DEUX REACTIONS DE REDUCTION D'ESPECES REACTIVES DE L'OXYGENE ET DE LEUR POTENTIEL STANDARD D'OXYDOREDUCTION (A), AINSI QUE LA REACTION DE DIMERISATION DES RADICAUX HYDROXYLES (B).	19
FIGURE 2 : LA REACTION DE FENTON	21
FIGURE 3 : REACTIONS DE REDUCTION DE L'OXYGENE D'APRES MIGDAL, SERRES 2011 (11).	21
FIGURE 4 : SCHEMA DES MOUVEMENTS D'ELECTRONS AU TRAVERS DES COMPLEXES DE LA MEMBRANE MITOCHONDRIALE.	25
FIGURE 5 : SCHEMA DE L'INTERACTION DU PEROXYDE D'HYDROGENE AVEC LE FER DES COMPLEXES DE LA MEMBRANE MITOCHONDRIALE.	25
FIGURE 6 : SCHEMA D'UNE NADPH OXYDASE INACTIVE (A) ET ACTIVE (B).	28
FIGURE 7 : SCHEMA DE LA XANTHINE OXYDOREDUCTASE SOUS SES DEUX FORMES INTERCONVERTIBLES.	30
FIGURE 8 : SCHEMA DU CYTOCHROME P450 AU NIVEAU DU RETICULUM ENDOPLASMIQUE..	31
FIGURE 9 : LOCALISATION DU MOTIF (Z,Z)-1,4-PENTADIENE AU SEIN DE LA MOLECULE D'ACIDE ARACHIDONIQUE.	36
FIGURE 10 : OXYDATION PAR UNE LIPOXYGENASE DE L'ACIDE LINOLEIQUE D'APRES DELATTRE ET AL. (4).	36
FIGURE 11 : EXEMPLE DE L'INTERVENTION DE LA 15-LIPOXYGENASE SUR L'ACIDE ARACHIDONIQUE D'APRES BEDARD ET AL. (25).	37
FIGURE 12 : OXYDATION NON ENZYMATIQUE DE L'ACIDE LINOLEIQUE D'APRES DELATTRE ET AL.(4).	38
FIGURE 13 : OXYDATIONS NON ENZYMATIQUES DU CHOLESTEROL D'APRES MA ET AL. (50).	40
FIGURE 14 : OXYDATION DE LA CHAINE POLYPEPTIDIQUE.	43
FIGURE 15 : SCHEMA DES DIFFERENTES ATTAQUES RADICALAIRES DU RADICAL HYDROXYLE SUR LA GUANINE.	46
FIGURE 16 : SCHEMA DE L'ATTAQUE RADICALE DU DESOXYRIBOSE PAR LE RADICAL HYDROXYLE.	48
FIGURE 17 : SCHEMA DE L'ATTAQUE RADICALE D'UNE BASE PURIQUE PAR LE RADICAL 2'-DESOXYRIBOSE CENTRE EN C5.	48

FIGURE 18 : INTERVENTION DES DIFFERENTES ENZYMES ANTIOXYDANTES DANS LA CELLULE D'APRES DEPONTE.....	52
FIGURE 19 : REACTIONS ENZYMATIQUE DE LA SUPEROXYDE DISMUTASE (A), LA CATALASE (B), LA GLUTATHION PEROXYDASE (C) ET LA GLUTATHION REDUCTASE (D).....	52
FIGURE 20 : SCHEMA DU FONCTIONNEMENT DU SYSTEME ANTIOXYDANT THIOREDOXINE....	54
FIGURE 21 : SCHEMA DU FONCTIONNEMENT DU SYSTEME ANTIOXYDANT GLUTAREDOXINE.	54
FIGURE 22 : FORMATION DU RADICAL TOCOPHERYL STABILISE PAR MESOMERIE.....	57
FIGURE 23 : PIGMENTS CAROTENOÏDES QUI SONT DES PROVITAMINES A.	58
FIGURE 24 : FORMATION D'UN RADICAL STABLE A PARTIR DE LA MELATONINE.	58
FIGURE 25 : SCHEMA DE LA REGENERATION DE L'ALPHA-TOCOPHEROL PAR L'ACIDE ASCORBIQUE.	59
FIGURE 26 : SCHEMA DE LA PRODUCTION D'ERO SUITE A LA STIMULATION PAR UN SIGNAL DE SON RECEPTEUR SPECIFIQUE, ET LE TRANSFERT DES ERO EN INTRACELLULAIRE PAR LES AQUAPORINES D'APRES MILLER ET AL. (111).	63
FIGURE 27 : CONSEQUENCES BIOCHIMIQUES DE L'OXYDATION DES FONCTIONS THIOLS DES RESIDUS DE CYSTEINES D'APRES RICHTER ET AL. (117).....	66
FIGURE 28 : SCHEMA DE LA SIGNALISATION INTRACELLULAIRE SUITE A LA FIXATION D'UN FACTEUR DE CROISSANCE (PDGF) SUR SON RECEPTEUR.	68
FIGURE 29 : SCHEMA DES PRINCIPAUX MECANISMES DE FORMATION DES ERO LORS D'UN PHENOMENE D'ISCHEMIE.	74
FIGURE 30 : NIVEAUX MOYENS DE MDA CHEZ LES CHIENS DE DIFFERENTS TYPES DE CANCER ET LES CHIENS CLINIQUEMENT NORMAUX D'APRES WINTER ET AL. (162).....	81
FIGURE 31 : ACTIVITE DE LA XANTHINE OXYDASE DANS LE MYOCARDE DE CHIENS SAINS (NORMAL) ET DANS CELUI DE CHIENS ATTEINTS D'UNE INSUFFISANCE CARDIAQUE (IC), D'APRES EKELUND ET AL. (173)	84
FIGURE 32 : FORMATION DU MALONDIALDEHYDE APRES L'ATTAQUE D'UN ACIDE GRAS POLYINSATURATION PAR UN RADICAL OXYGENE D'APRES LANKIN ET AL. (185).	90
FIGURE 33 : MECANISME DE FORMATION DES ISOPROSTANES A PARTIR DE L'ACIDE ARACHIDONIQUE D'APRES WEINBERGER ET AL. (188)	91

Introduction :

L'oxygène a été découvert sous sa forme gazeuse par Scheele et Priestley respectivement en 1772 et 1774. Néanmoins, c'est Lavoisier qui a établi ses propriétés principales et lui a donné son nom en 1777 à partir du grec « oxus » qui signifie acide.

L'oxygène est un gaz indispensable à la vie. Ce corps gazeux diatomique (O_2) représente un cinquième de l'atmosphère terrestre et est nécessaire à la respiration. Il permet de fournir de l'énergie aux organismes aérobies sous forme d'adénosine triphosphate (ATP) grâce à une chaîne de transport d'électrons dans la mitochondrie. Lors des différents transferts d'électrons, sont produites les espèces dérivées de l'oxygène, appelées également espèces réactives de l'oxygène (ERO), dont font parties des radicaux oxygénés libres (2).

Ces espèces dérivées de l'oxygène sont par définition réactives et notamment par leur fort potentiel oxydant. Les êtres vivants possèdent des mécanismes afin de les utiliser à leur avantage, mais la production doit être contrôlée afin de maintenir une homéostasie radicalaire (3). Lorsque cette homéostasie n'est plus maintenue, il se produit un phénomène de stress oxydant.

Le stress oxydant est défini par un phénomène causé par un déséquilibre entre la production et l'accumulation de produits réactifs d'oxygène et la capacité d'un système biologique à détoxifier ces produits réactifs (4). Le déséquilibre est dû, soit à une diminution des défenses antioxydantes et donc des capacités antioxydantes de l'organisme, soit à une augmentation de la production d'espèces oxygénées réactives : modification de l'apport en oxygène (excès ou déficit), lors de la présence de substances pro-oxydantes, lors de l'activation excessive des systèmes de production « naturelle » de radicaux libres. Un stress exogène peut survenir et produire des radicaux libres grâce à des sources pro-oxydantes exogènes comme des intoxications aux métaux lourds, des irradiations...

Ce stress oxydant est lié à de nombreuses maladies. Ce travail a pour but de mettre en avant les mécanismes de production et de destruction des ERO, d'étudier les implications de ces espèces dans les mécanismes physiologiques et pathologiques chez les carnivores domestiques, et de déterminer quels sont les moyens de les mesurer et de les maîtriser en pratique.

Partie 1 : La formation des espèces réactives de l'oxygène au sein de la cellule eucaryote et leur régulation

Les radicaux libres sont décrits comme des espèces chimiques possédant un électron célibataire sur la couche périphérique, c'est-à-dire que tous les électrons ne sont pas appariés. Dans le cas du stress oxydant cet électron célibataire se situe sur un atome d'oxygène (1).

L'atome d'oxygène possède 8 électrons sur ses couches périphériques. Le dioxygène a la structure d'un biradical libre car il possède deux électrons célibataires situés sur les orbitales de plus grande énergie à l'état fondamental, ce qui leur confère la capacité à accepter facilement des électrons célibataires (5).

Les ERO comprennent : les radicaux libres primaires et espèces actives de l'oxygène, dérivant directement de l'O₂; les radicaux libres secondaires formés par réaction des radicaux libres primaires sur des biomolécules (1).

A. Les réactions biochimiques

a. Des réactions régies par un potentiel d'oxydo-réduction

Les ERO possèdent un fort degré de réactivité. Les principales ERO sont l'anion superoxyde (O₂ •-), le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), le radical hydroxyle (•OH), et l'oxygène singulet (¹ O₂).

Chacune des réactions de réduction monoélectrique de l'oxygène est caractérisée par un couple d'oxydoréduction avec des valeurs de potentiel standard d'oxydoréduction exprimées en Volt. Par exemple, le potentiel standard du couple •OH/H₂O est très élevé et il est égal à 2.34 V, ce qui signifie que l'oxydant •OH est très avide d'électrons. Il est donc susceptible d'oxyder tout réducteur d'un autre couple qui possède un potentiel standard inférieur au sien, ce qui est le cas de la

plupart des substrats bio-organiques (6). Grâce aux potentiels standards, la réaction de dimérisation des radicaux hydroxyles est thermodynamiquement possible (Figure 1). Le radical $\bullet\text{OH}$ réagit à proximité de là où il est produit, alors que $\text{O}_2^{\bullet-}$, H_2O_2 et $^1\text{O}_2$, sont capable de diffuser dans la cellule avant de réagir avec des cibles potentielles.

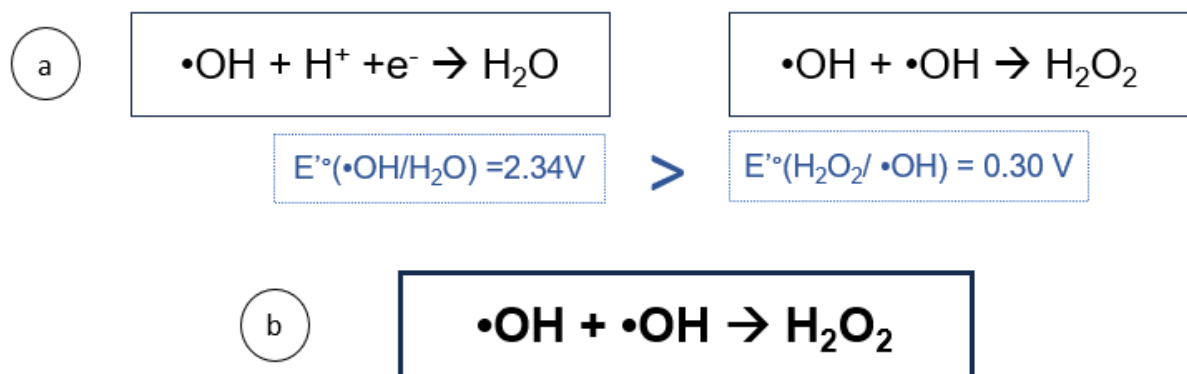


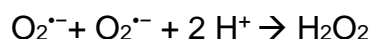
Figure 1 : Exemple de deux réactions de réduction d'espèces réactives de l'oxygène et de leur potentiel standard d'oxydoréduction (a), ainsi que la réaction de dimérisation des radicaux hydroxyles (b).

b. Des réactions régies par des constantes de vitesse

En plus du potentiel d'oxydoréduction, interviennent aussi les constantes de vitesses des réactions. Pour le radical hydroxyle $\cdot\text{OH}$, l'ordre de grandeur maximale des constantes de vitesses est de $10^{10} \text{ mol.L}^{-1}.\text{s}^{-1}$ (7), ce qui est la plus grande valeur que peut avoir une constante de vitesse d'une réaction bimoléculaire et qui caractérise une réaction limitée seulement par la présence des substrats. Lorsqu'un radical hydroxyle rencontre un substrat, il réagit lors de la première collision. Ce radical possède ainsi une extrême réactivité du fait de ses constantes de vitesses importantes. Un autre point, qui est la conséquence de cet aspect cinétique, est la durée de vie du radical hydroxyle qui ne dépasse pas quelques microsecondes.

A l'inverse, l'anion superoxyde $\text{O}_2^{\cdot -}$ possède la plus faible réactivité vis-à-vis des substrats bio-organiques. En effet, malgré un potentiel standard d'oxydo-réduction important ($E^\circ \text{O}_2^{\cdot -}/\text{H}_2\text{O}_2 = 0.93 \text{ V}$ et $E^\circ \text{O}_2/\text{O}_2^{\cdot -} = -0.33\text{V}$) (8), ses constantes de vitesses sont très faibles, inférieur à $10^2 \text{ mol.L}^{-1}.\text{s}^{-1}$, ce qui implique que ce radical n'est ni un bon réducteur, ni un bon oxydant. Cependant il est capable de produire d'autres radicaux plus réactifs et possède donc une toxicité indirecte importante (cf. *infra*).

L'anion superoxyde est considéré comme l'ERO primaire, puisque c'est le premier à être formé après réduction monoélectrique du dioxygène. A partir de cet anion superoxyde est formé le peroxyde d'hydrogène par dismutation :



La superoxyde dismutase (SOD) est l'enzyme qui catalyse cette réaction (cf. I-B)4a).

Le peroxyde d'hydrogène a un temps de demi vie plus long que l'ion superoxyde et peut passer au travers des bicouches lipidiques membranaires par diffusion ou transport par des aquaporines. (9). Il est vrai que le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 n'est pas un radical mais il est tout de même toxique et est capable de donner naissance à la plus délétère des espèces radicalaires du stress oxydant qui est le radical hydroxyle $\cdot\text{OH}$ et notamment lors de la réaction de Fenton (Figure 2). Le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 peut être décomposé en H_2O par la

glutathion peroxydase (GPx1), en présence de glutathion réduit (10) (voir paragraphe sur GPX).

Les réductions du dioxygène sont illustrées dans la figure 3, certaines nécessitent des enzymes, d'autres comme la formation de l'anion superoxyde n'en nécessite pas.

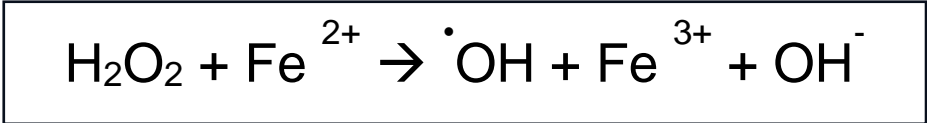


Figure 2 : La réaction de Fenton

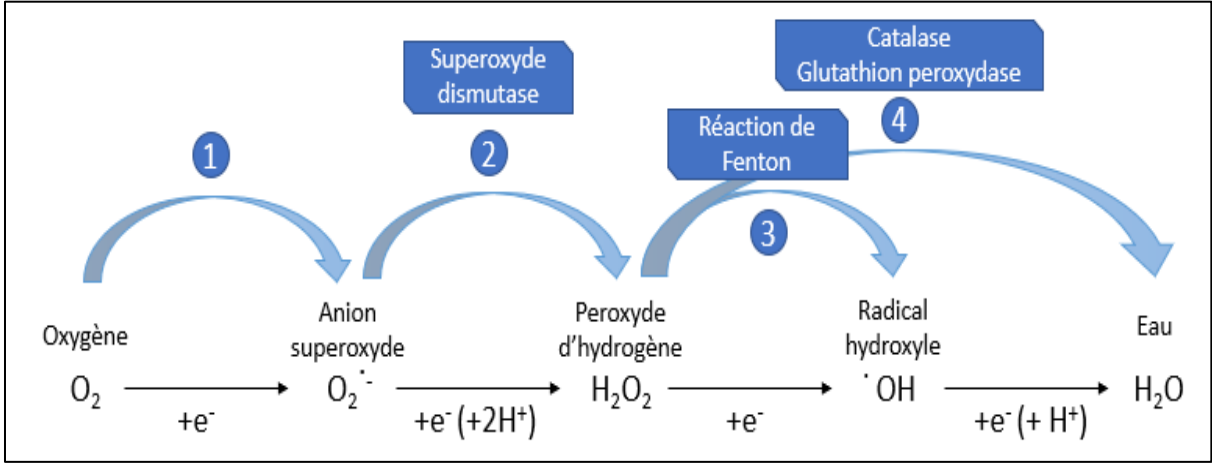


Figure 3 : Réactions de réduction de l'oxygène d'après Migdal, Serres 2011 (11).
e⁻ : électron ; H⁺ : proton

Tableau 1 : Les réactions de réduction du dioxygène d'après Migdal, Serres 2011 (11).

Réduction tétravalente de l'oxygène		$O_2 + 4 e^- + 4 H^+ \rightarrow 2 H_2O$
$O_2^{\cdot -}$	Anion superoxyde	① $O_2 + 1 e^- \rightarrow O_2^{\cdot -}$
H_2O_2	Peroxyde d'hydrogène	② $O_2^{\cdot -} + O_2^{\cdot -} + (2 H^+) \rightarrow H_2O_2 + O_2$
$\cdot OH$	Radical hydroxyle	③ $H_2O_2 + Fe^{2+} \rightarrow \cdot OH + Fe^{3+} + OH^-$ ④ $H_2O_2 + H_2O_2 \rightarrow 2 H_2O + O_2$

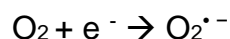
B. La formation des différentes espèces réactives de l'oxygène au sein de la cellule eucaryote

L'oxygène est indispensable à la vie de la cellule eucaryote et il permet notamment la production d'énergie chez des organismes aérobies. La mitochondrie est l'organe clé de la respiration cellulaire. Elle participe à la formation de l'ATP nécessaire aux cellules animales et ceci grâce à sa chaîne de phosphorylation oxydative qui fournit le gradient de concentration en protons nécessaire afin de faire tourner l'ATP synthase. C'est au niveau de cette chaîne que l'oxygène respiré est réduit et que les ERO sont produites (12, 13). Néanmoins, il existe d'autres sources d'ERO dans les cellules des eucaryotes, qu'elles soient au niveau du cytosol ou à l'intérieur d'autres organites (cf. annexe 1).

a. Production non enzymatique des espèces réactives de l'oxygène primaires

Dans la membrane interne mitochondriale, la production d'énergie sous forme d'ATP est également appelée phosphorylation oxydative, car elle se fait par l'intermédiaire d'une chaîne de transport d'électrons dont l'oxygène est l'accepteur final. Elle fait intervenir quatre complexes contenant plusieurs espèces moléculaires ioniques. Au cours du transfert d'électrons, des fuites d'électrons peuvent se produire et être à l'origine de la production de l'anion superoxyde.

L'anion superoxyde provient de la réduction monoélectrique d'une molécule de dioxygène :



L'anion superoxyde est une espèce réactive d'oxygène, formé à partir du complexe I et du coenzyme Q. Ce dernier est un élément mobile de la chaîne mitochondriale reliant les complexes I ou II avec le complexe III. En effet, la chaîne mitochondriale est formée de quatre complexes protéiques I II III IV, enchâssés dans la membrane qui permettent le transport des électrons. Le NADH (Nicotinamide Adénine Dinucléotide réduit), formé dans la matrice mitochondriale, donne ses

électrons à la NADH déshydrogénase (complexe I) au niveau de la face interne de la membrane mitochondriale. De façon similaire, le FADH_2 (Flavine Adénine Dinucléotide), donne ses électrons au succinate-coenzyme Q oxydoréductase (complexe II). Par la suite, les électrons sont pris en charge par le coenzyme Q et acheminés vers le coenzyme Q-cytochrome c oxydoréductase (complexe III). Le complexe III transfère ensuite les électrons au cytochrome c dans l'espace intermembranaire et la cytochrome c oxydase (complexe IV) transfère les électrons au dioxygène afin de permettre sa réduction en molécule d'eau (Papa et al. 1973 ; Mitchell, Moyle 1967) (Figure 4). Le cytochrome c est une protéine possédant une structure hémique avec la présence d'un atome de fer. La NADH déshydrogénase et la succinate déshydrogénase font intervenir des centres fer-souffre. L'exposition de ces structures à des entités chimiques comme le peroxyde d'hydrogène peut favoriser la production d'ions hydroxyles via la réaction de Fenton (16) (Figure 5).

La localisation de la formation de l'anion superoxyde a été mise en évidence par inhibition du complexe I par la roténone et inhibition du complexe III par l'antimycine A et par le myxothiazol (17, 18), qui a conduit à une diminution de la production de radicaux oxygénés. La chaîne mitochondriale représente la principale source d'anion superoxyde (19). Elle constitue la production non enzymatique de l'anion superoxyde.

Au niveau de la mitochondrie, la formation de l'anion superoxyde est non enzymatique, sa production augmente lorsque les porteurs d'électrons et l'oxygène sont présents en grande quantité (2). Ainsi une surproduction intervient lorsqu'il y a un excès de substrats énergétiques pour un besoin énergétique cellulaire augmenté.

Néanmoins, la formation d'ERO est faite de manière importante par des réactions enzymatiques, ce que nous allons voir par la suite.

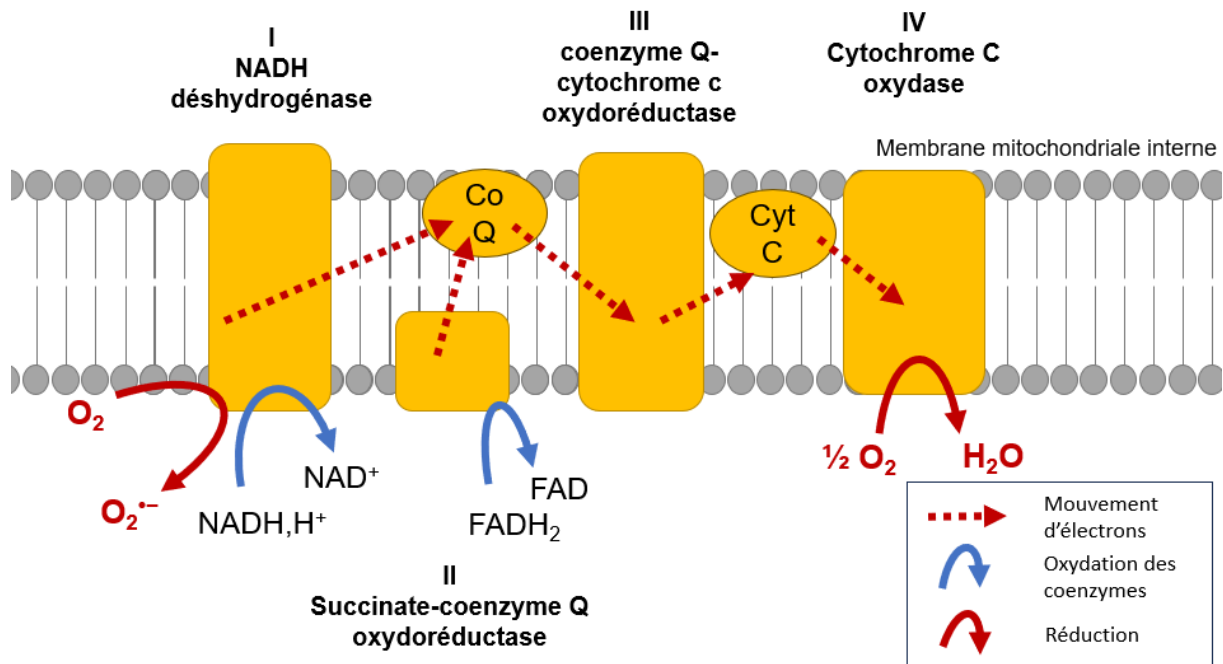


Figure 4 : Schéma des mouvements d'électrons au travers des complexes de la membrane mitochondriale.

O_2 : Dioxygène ; $O_2^{\cdot -}$: anion superoxyde ; H_2O : eau ; $NADH,H^+$: Nicotinamide Adénine Dinucléotide réduit ; NAD^+ : Nicotinamide Adénine Dinucléotide oxydé ; $FADH_2$: Flavine Adénine Dinucléotide réduite ; FAD : Flavine Adénine Dinucléotide oxydée ; Co Q : Coenzyme Q ; Cyt C : Cytochrome C.

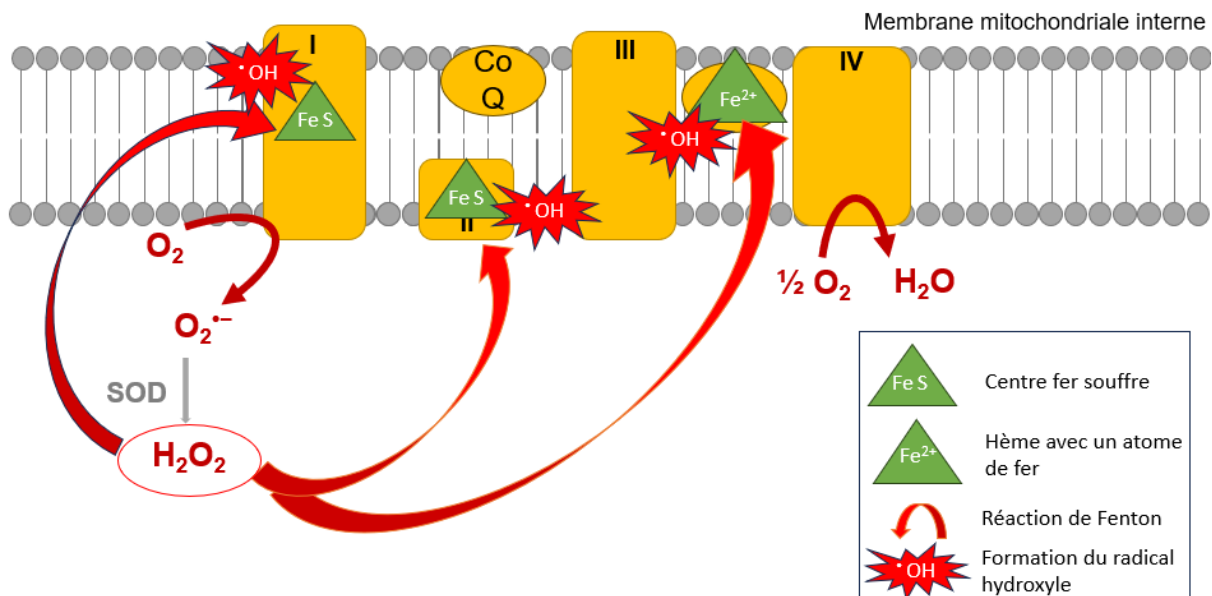


Figure 5 : Schéma de l'interaction du peroxyde d'hydrogène avec le fer des complexes de la membrane mitochondriale.

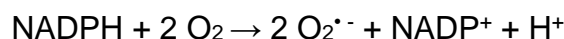
O_2 : Dioxygène ; $O_2^{\cdot -}$: anion superoxyde ; H_2O : eau ; H_2O_2 : Peroxyde d'hydrogène ; SOD : Superoxyde Dismutase ; Co Q : Coenzyme Q.

b. La production enzymatique des espèces réactives de l'oxygène primaires

La production enzymatique de toutes ERO est possible par les enzymes que l'on appelle les oxydases. Elles catalysent les réactions d'oxydo-réduction avec le dioxygène comme oxydant. Elles possèdent la caractéristique de posséder un groupement prosthétique constitué d'un hème avec un ion fer sous forme ferreuse Fe^{2+} .

1) Les complexes enzymatiques membranaires NAD(P)H oxydases

L'activité du complexe enzymatique membranaire NAD(P)H oxydase (NOX) est une source majeure d'ERO. Chez l'Homme, il existe sept isoenzymes de la famille des NADPH oxydases : cinq NOX (pour NAD(P)H oxydases) et deux DUOX (pour Dual oxydases) (20). Les DUOX sont des oxydases retrouvées dans la glande thyroïde avec un rôle dans la biosynthèse hormonale (21). Elles sont également présentes dans les cellules épithéliales des glandes exocrines et des surfaces des muqueuses (22). Ces oxydases catalysent la réduction mono-électrique de l'oxygène en utilisant le NADPH ou le NADH comme donneur d'électron. Toutes sont capables de produire l'anion superoxyde par la même réaction :



Ces enzymes jouent un rôle crucial dans des processus comme la défense de l'hôte, la transduction de signaux, et la synthèse d'hormones (21, 23, 24). Leur localisation tissulaire diffère. Ce sont des complexes exprimés de façon constitutionnelle dans la majorité des types cellulaires tels que les phagocytes, les cellules endothéliales et épithéliales. En effet, elles sont présentes dans la membrane cytoplasmique de nombreuses cellules telles que les cellules de la lignée myéloïde (cellules phagocytaires) et également les cellules non phagocytaires (25).... Elles ont une structure semblable au cytochrome b du complexe bc1 de la mitochondrie. Les deux sous unités de l'enzyme étant dans des localisations différentes, une signalisation est nécessaire afin qu'elles s'associent. Cette association est faite grâce à la protéine G Rac1 (Rac2 pour certaines cellules) qui devient active grâce à un signal extracellulaire (26) (Figure 6). Le cytochrome b558

est la grande sous-unité de l'enzyme qui possède le site catalytique et est située dans la membrane cytoplasmique. Les sous-unités cytosoliques sont 3 protéines : p47phox, p40phox et p67phox (27). L'enzyme est alors ancrée dans toute l'épaisseur de la membrane mais son orientation dépend de la nature de la cellule : si elle est phagocytaire, l'enzyme libère l'anion superoxyde préférentiellement à l'intérieur de celle-ci, si elle ne l'est pas, à l'extérieur (28).

Les NOX sont donc des complexes enzymatiques majeurs dans la formation d'ERO, mais ce ne sont pas les seuls. D'autres enzymes ont des localisations différentes et des rôles moins connus dans la formation des ERO.

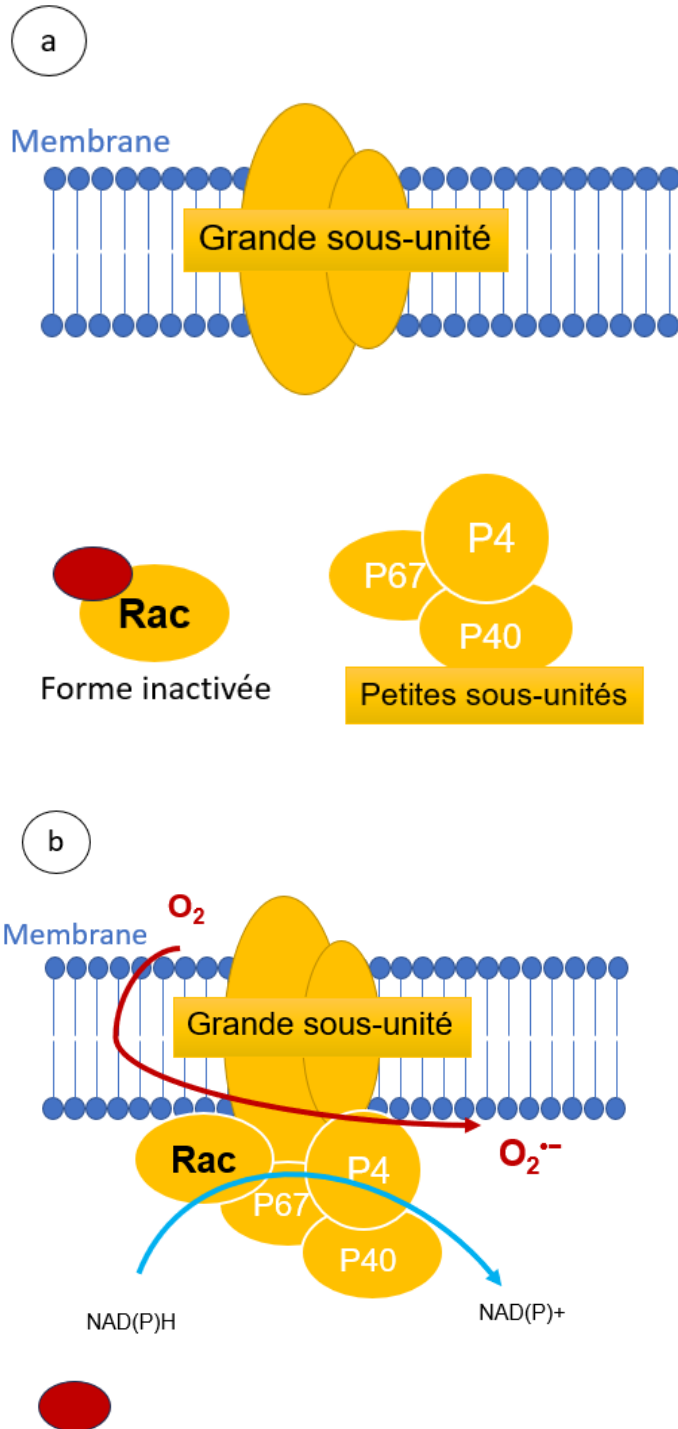


Figure 6 : Schéma d'une NADPH oxydase inactive (a) et active (b).
 NADPH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate réduit ; NAD(P)⁺ : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate oxydé ; RAC : petite protéine G (appartenant à la superfamille des GTPases) ; O_2 : Dioxygène ; $O_2^{\bullet -}$: anion superoxyde ; P4, P67 et P40 : protéines cytosoliques régulatrices de NOX.

2) Les enzymes intracellulaires

i. La xanthine oxydoréductase

La xanthine oxydoréductase (XOR) participe également à la formation d'anion superoxyde. Elle existe sous deux formes, la xanthine déshydrogénase ou la xanthine oxydase. La xanthine déshydrogénase catalyse l'oxydation de la xanthine en acide urique, cette enzyme utilise NAD comme accepteur d'électrons. Tant dis que, la xanthine oxydase catalyse l'oxydation de l'hypoxanthine en xanthine et génère l'anion superoxyde (29, 30). Les deux formes enzymatiques sont interconvertibles, c'est-à-dire que l'enzyme existe sous deux formes réversibles bien définies, produites par des modifications covalentes des chaînes latérales des acides aminés (31). Dans le cas de la xanthine oxydoréductase, les modifications sont l'oxydation de fonctions thiols ou la protéolyse mais c'est la xanthine déshydrogénase qui prédomine *in vivo*. La XOR est indispensable au métabolisme des purines, elle catalyse l'oxydation de l'hypoxanthine en xanthine, et de la xanthine en acide urique et entraîne la formation d'O₂⁻ (30) (Figure 7).

Elle est présente dans tous les tissus chez les mammifères, mais essentiellement dans les cellules hépatiques et les cellules endothéliales des capillaires sanguins. Dans ces cellules, presque la totalité de l'enzyme se situe dans le cytoplasme dans la zone périnucléaire, le reste étant situé à la surface de la membrane cellulaire (32).

Ces enzymes sont présentes dans le cytosol et permettent donc la formation d'ERO au sein de la cellule. D'autres enzymes permettent la formations d'ERO au niveau des organites intracellulaires.

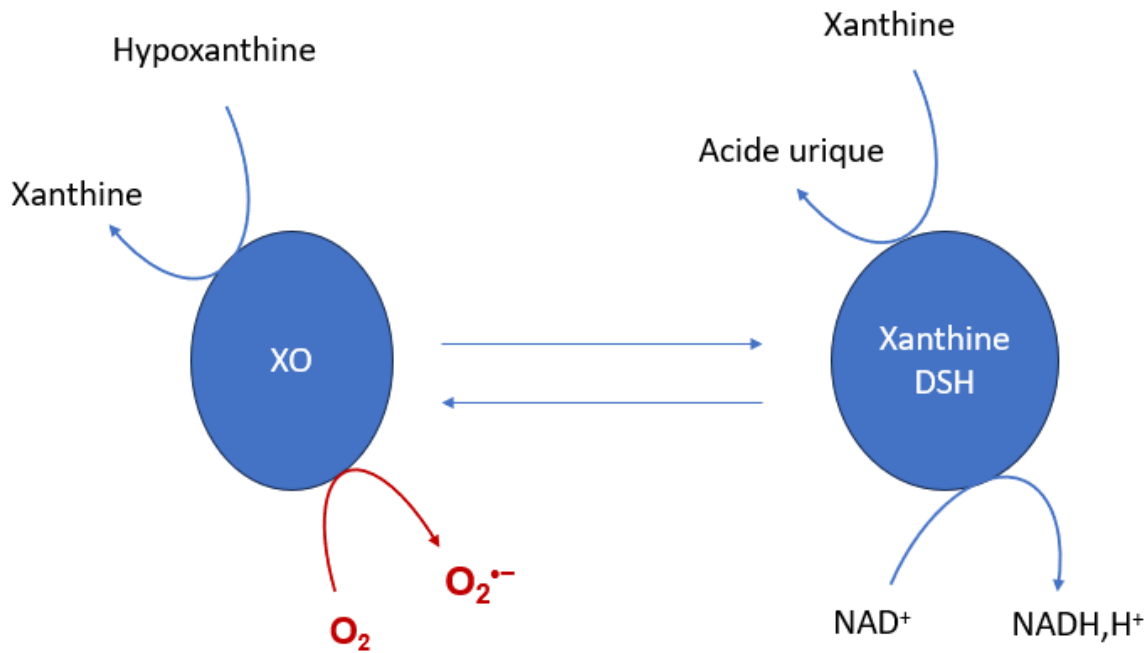
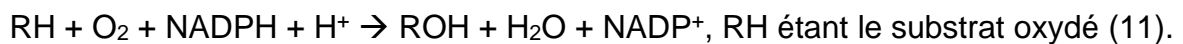


Figure 7 : Schéma de la Xanthine oxydoréductase sous ses deux formes interconvertibles.
 XO : Xanthine Oxydase ; Xanthine DSH : Xanthine Déshydrogénase ; O₂ : Dioxygène ; O₂^{•-} : anion superoxyde ; NADH,H⁺ : Nicotinamide Adénine Dinucléotide réduit ; NAD⁺ : Nicotinamide Adénine Dinucléotide oxydé.

ii. Les cytochromes P450

Dans la membrane du réticulum endoplasmique lisse, on retrouve des complexes enzymatiques comme ceux de la famille des cytochromes P450. Ils sont présents essentiellement dans le foie. Ils assurent l'oxydation de nombreux substrats comme les acides gras, les xénobiotiques, le cholestérol, la vitamine D3 (33)... Ces complexes assurent l'oxydation de ces substrats par le dioxygène selon la réaction bilan suivante :



Les substrats sont transformés en des produits plus hydrophiles afin de faciliter leur élimination urinaire qui sont également moins toxiques. La réaction se fait grâce à la structure hémique des cytochromes avec un fer en son centre qui peut fixer une molécule de dioxygène de la même façon que les structures hémique de l'hémoglobine. Ainsi, grâce aux échanges d'électrons, il se produit la réduction de O₂ en O₂^{•-} (34) (Figure 8).

Comme dans le secteur mitochondrial étudié précédemment, les membranes des organites sont souvent les supports des transports d'électrons. Cette observation est également le cas à l'échelle nucléaire et conduit à considérer le noyau comme étant une source possible d'ERO.

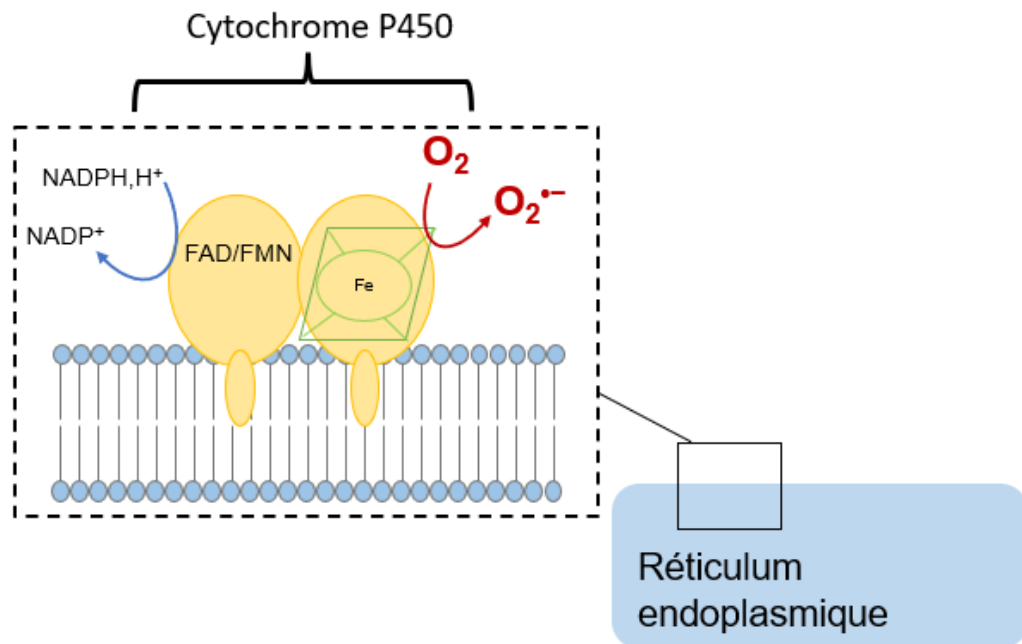


Figure 8 : Schéma du cytochrome P450 au niveau du réticulum endoplasmique.
FAD : Flavine Adénine Dinucléotide ; *FMN* : Flavine Mononucléotide ; O_2 : Dioxygène ; $\text{O}_2^{\cdot -}$: anion superoxyde ; *NADPH, H+* : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate réduit ; *NADP+* : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate oxydé ; *Fe* : Fe^{2+} au sein de la structure hémique.

2) Le noyau et sa chaîne de transport d'électrons

En effet, le noyau possède dans sa membrane des cytochromes oxydases et une chaîne de transport d'électrons de fonction physiologique inconnue (35). Une fuite d'électron peut ainsi se faire, générant des anions superoxydes. En raison de leur proximité avec l'ADN nucléaire, ceux-ci pourront être à l'origine de lésions oxydatives de l'ADN.

b. La radiolyse de l'eau

Divers agents exogènes sont également responsables de l'induction de processus oxydatifs, comme des cancérogènes environnementaux, les radiations ionisantes et la composante UVA du rayonnement solaire.

Les rayonnements ionisants sont à l'origine de la formation de radicaux libres tels que $\cdot\text{OH}$, $\text{H}\cdot$ et $\text{e}^{-\text{aq}}$ (électron hydraté) et à des espèces non radicalaires tels que H_2O_2 , H_2 et H^+ (36). Le peroxyde d'hydrogène ainsi que l'hydroxyle sont donc des produits primaires de la radiolyse de l'eau. Néanmoins, la réaction de $\text{H}\cdot$ et $\text{e}^{-\text{aq}}$ avec l'oxygène conduit à la formation de l'anion superoxyde, ces derniers sont donc des produits secondaires de la radiolyse de l'eau. L'eau étant le constituant majeur des matériaux biologiques, son implication dans la production d'ERO peut être non négligeable (36).

L'anion superoxyde est l'une des premières espèces réactives de l'oxygène formée par réduction monoélectrique de cette dernière. Il est capable de réagir avec d'autres espèces pour former des espèces réactives secondaires susceptibles d'interagir avec diverses biomolécules et d'affecter de cette manière leurs fonctions biologiques (cf. *infra*).

c. Formation des espèces réactives secondaires et conséquences moléculaires

1) Production de monoxyde d'azote et espèces secondaires

Le monoxyde d'azote $\cdot\text{NO}$ est une espèce radicalaire, produite par l'organisme à partir de la L-arginine grâce à la NO-synthase :

$\text{L-arginine} + \text{NADPH} + \text{O}_2 \rightarrow \text{Citrulline} + \cdot\text{NO}$; Réaction catalysée par la NO synthase (37).

Il possède un temps de demi-vie long pour un radical et une grande diffusibilité à travers les membranes. Cette molécule participe à de nombreuses fonctions dans l'organisme et notamment participe au maintien du tonus vasculaire, mais aussi dans la transmission nerveuse par voie chimique, au fonctionnement rénal et à l'intégrité de l'immunité non spécifique. C'est une molécule qui, à dose raisonnable, possède des effets bénéfiques pour l'organisme mais qui peut s'avérer délétère à des doses importantes.

Plusieurs situations de stress oxydant peuvent être associées à une production importante de monoxyde d'azote qui, étant donné sa réactivité, peut conduire à la formation secondaire d'autres ERO.

En effet, le monoxyde d'azote peut réagir avec l'anion superoxyde lors d'une réaction spontanée, afin de former un oxydant puissant qui est le peroxynitrite $\cdot\text{OONO}$. Ce dernier peut causer de nombreux dommages à la cellule et notamment à l'ADN mais aussi aux lipides et aux protéines, car il possède une très grande réactivité(38). Il existe en équilibre avec sa forme protonée (ONOOH , $\text{pK} = 6.8$). Ainsi, dans des conditions physiologiques les deux formes coexistent. La présence du couple bicarbonate/dioxyde de carbone joue un rôle essentiel dans l'instabilité du peroxynitrite (39). En effet en présence de ce couple, le peroxynitrite forme l'anion nitrosoperoxycarbonate ($\text{O}=\text{NOO}\cdot\text{CO}_2^-$) à partir du CO_2 . Le nitrosoperoxycarbonate subit un réarrangement pour donner nitroperoxycarbonate (ONOOCO_2). Ce dernier qui sera un puissant agent oxydant et nitratant.

2) Interactions avec les lipides

Les lipides sont des composés biologiques abondamment présents dans l'organisme et principalement composés d'acides gras. L'évènement chimique le plus délétère impliquant les ERO sur les lipides est appelé peroxydation lipidique. Elle correspond à l'incorporation d'oxygène moléculaire sur les acides gras insaturés. La présence de doubles liaisons carbone-carbone dans les acides gras insaturés les rendent sensibles à l'oxydation et donc sensibles aux espèces réactives de l'oxygène. Il existe deux types d'oxydation des lipides soit par réactions enzymatiques catalysées par les lipo-oxygénases et/ou les cyclo-oxygénases, soit par auto-oxydation.

Les espèces réactives réagissant sur les acides gras polyinsaturés sont les radicaux hydroxyles et hydroperoxydes pouvant être formés lors de catalyse enzymatique (cf. *infra*) ou par auto-oxydation.

i. Les enzymes Lipo-oxygénases et cyclo-oxygénases :

Des enzymes telles que les lipo-oxygénases (LOX) et les cyclo-oxygénases (COX) participent à la peroxydation lipidique. Ce sont des oxydoréductases qui oxydent les acides gras eicosanoïques polyinsaturés. Les substrats des LOX sont : l'acide linoléique, l'acide linoléique, l'acide arachidonique et l'acide timnodonique (ou acide eicosapentaénoïque) (40). Le substrat majoritaire est l'acide arachidonique. Ce dernier est libéré dans la cellule à partir des glycérophospholipides membranaires après action d'une phospholipase membranaire, la phospholipase A₂ (PLA₂), consécutivement à l'activation d'un récepteur à la surface de la cellule (41). La COX est capable de convertir l'acide arachidonique en endoperoxyde cyclique (les prostaglandines, et thromboxanes) (42). La LOX catalyse la formation stéréospécifique de dérivés hydroperoxydes. Les hydroperoxydes formés par l'action des LOX sur l'acide arachidonique sont convertis en eicosanoïdes linéaires (leucotriènes, lipoxines, hepoxines...) qui interviennent dans des processus physiologiques tels que les réactions inflammatoires et immunitaires (43). Ces enzymes sont des cibles pour des inhibiteurs utilisés dans une thérapie anti-inflammatoire.

L'oxygénation de l'acide arachidonique est faite grâce aux LOX. La lipoxygénase contient du fer non hémique dans son site actif et catalyse l'oxygénation des acides gras poly-insaturé (AGPI) comportant un motif (Z,Z)-1,4-pentadiène au sein de la molécule en hydroperoxydes (Figure 9). L'enzyme est activée par des hydroperoxydes néoformés. Lors de l'activation de l'enzyme, le fer ferreux (Fe^{2+}) devient un fer ferrique (Fe^{3+}) qui réagit avec un AGPI afin de former un radical lipidique. Ce dernier réagit avec l'oxygène afin de former un radical peroxyde lipidique (LOO^{\cdot}). Grâce à la proximité avec le fer ferreux, contrairement au processus d'auto-oxydation (cf. *infra*), le radical peroxyde capte un électron du fer et devient un anion peroxyde. Cet anion réagit avec un proton afin d'aboutir à la formation d'un hydroperoxyde lipidique (Figure 10) (1).

Le processus enzymatique est stéréospécifique. L'addition de la molécule d'oxygène se fera sur le carbone dont le numéro est le même que celui spécifié dans le nom de la lipoxygénase (selon la nomenclature chimique de l'IUPAC) (Figure 11). Chez l'homme, il existe 3 lipoxygénases de diverses localisations cellulaires : la 5-LOX présente dans les leucocytes, les kératinocytes et les cellules dendritiques, la 12-LOX dans les leucocytes, les plaquettes, les kératinocytes, les cellules épithéliales de l'estomac et la 15-LOX dans les leucocytes, les réticulocytes et les cellules de l'épithélium pulmonaire (1). La 8-LOX est retrouvé dans les cellules des couches suprabasales de l'épiderme chez la souris (44).

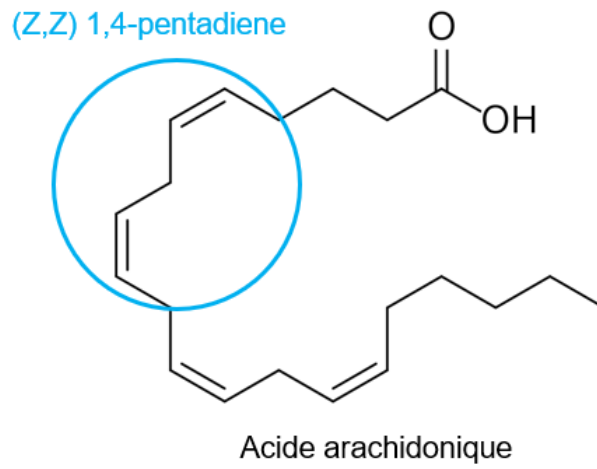


Figure 9 : Localisation du motif (Z,Z)-1,4-pentadiene au sein de la molécule d'acide arachidonique.

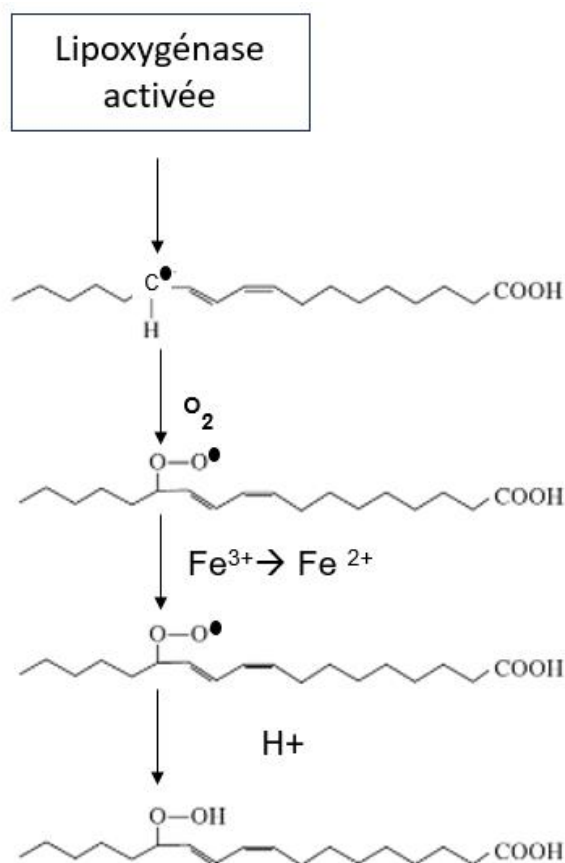


Figure 10 : Oxydation par une lipoxygénase de l'acide linoléique d'après Delattre et al. (1).
 Fe^{3+} : ion ferrique ; Fe^{2+} : ion ferreux ; H^+ : proton.

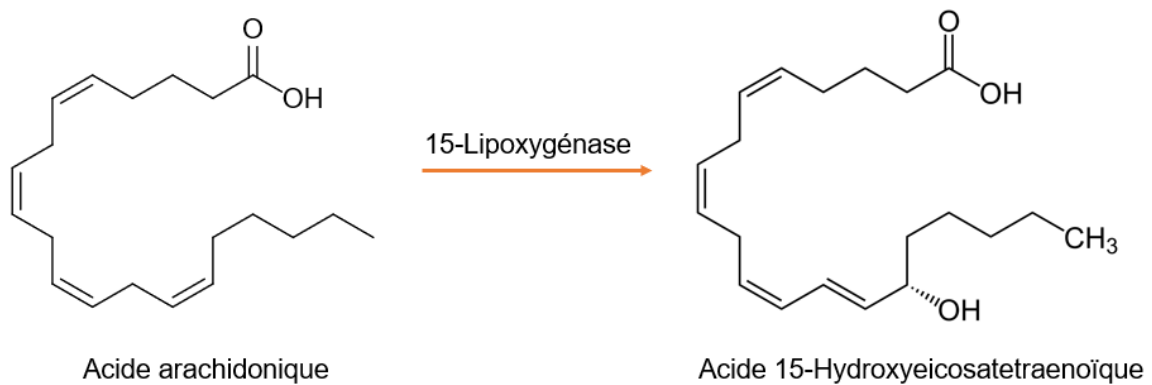


Figure 11 : Exemple de l'intervention de la 15-Lipoxygénase sur l'acide arachidonique d'après Bedard et al. (25).

ii. L'auto-oxydation

L'auto-oxydation des acides gras est un processus radicalaire en chaîne comportant trois étapes : l'initiation, la propagation et la terminaison. L'initiation de la peroxydation lipidique débute avec une attaque radicalaire par les radicaux hydroxyles ($\cdot\text{OH}$), alcoxyles ($\text{RO}\cdot$), peroxydes ($\text{ROO}\cdot$), l'oxygène singulet ou le peroxydinitrite ($\text{ONOO}\cdot$) qui arrachent un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons des acides gras insaturés. Le radical lipidique restant réagit avec une molécule de dioxygène (O_2) pour former un radical peroxyde $\text{ROO}\cdot$, lui-même suffisamment réactif pour arracher un $\text{H}\cdot$ à un acide gras insaturé voisin, les ions ferriques n'étant pas présents à proximité du radical, propageant ainsi la réaction (Figure 12) (1). Ce radical peroxyde peut être décomposé par scission ou se cycliser. Cependant, seuls les radicaux peroxydes ayant plus de deux doubles liaisons peuvent se cycliser (ce qui n'est pas le cas de l'acide linoléique qui n'en a que deux). En ce qui concerne le cholestérol non estérifié c'est l'hydrogène du carbone 7 qui est le plus réactif. Plus le nombre de doubles liaisons au sein de la molécule d'acide gras insaturé est grand plus le nombre d'isomères possibles d'hydroperoxydes est important.

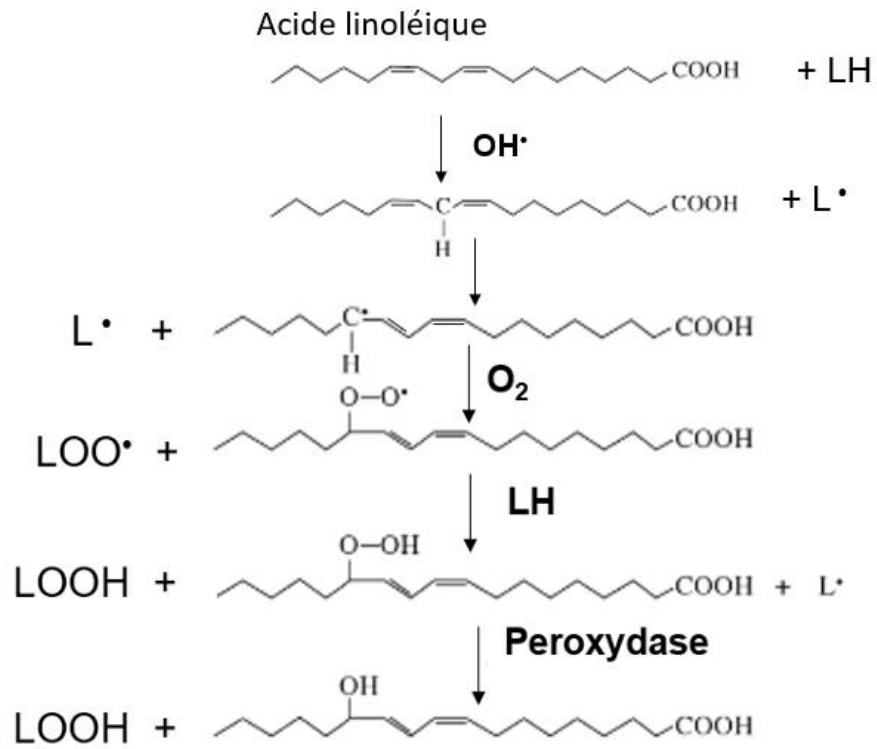


Figure 12 : Oxydation non enzymatique de l'acide linoléique d'après Delattre et al. (1).
 OH \cdot : radical hydroxyle ; LOO \cdot : radical peroxyde lipidique ; LOOH : hydroxyde lipidique ; LH : Lipide ;
 L \cdot : radical lipidique ; O $_2$: dioxygène.

Ces modifications peuvent conduire à une altération de la fluidité membranaire si les lipides membranaires sont touchés. Cette augmentation de la perméabilité des membranes peut conduire à la mort cellulaire par nécrose (45) et particulièrement au niveau des cellules neuronales dont les membranes sont riches en AGPI comme au sein de la myéline(46).

La peroxydation lipidique génère des dérivés toxiques comme le MDA (malondialdéhyde) qui est mutagène. C'est le produit terminal de la peroxydation lipidique. L'accumulation de ce dernier peut altérer les propriétés de la membrane. C'est un marqueur de l'oxydation lipidique (cf. *infra*).

Il existe une autre classe de phospholipides appartenant aux membranes et comportant un groupement éno-éther, appelés plasmalogènes. Ils possèdent un AGPI qui est donc sensible à l'attaque des radicaux libres mais ils semblent participer à la protection de la cellule contre les dommages induits par les radicaux libres en favorisant des réactions de terminaisons et ils possèdent donc une activité anti-oxydante au niveaux des membranes (47).

Néanmoins la peroxydation lipidique est une étape importante dans des processus de défenses et de signalisations notamment lors des processus d'inflammation (cf *infra*).

iii. Produits d'oxydation du cholestérol

Les « oxystérols » peuvent provenir de l'alimentation mais également de l'oxydation *in vivo* du cholestérol. Ils sont formés par attaque des radicaux libres oxygénés de façon non enzymatique et également de façon enzymatique. Les attaques se font préférentiellement au niveau du carbone numéro 7 du cholestérol et il y a formation d'un radical péroxyle en 7. Par la suite, l'arrachement d'un hydrogène à un AGPI donne un 7-hydroperoxycholestérol. Ce dernier se décomposera en 7-cétocholestérol, 7-hydroxycholestérol ou 5,6-époxycholestérol (48). En ce qui concerne les esters de cholestérol, les radicaux libres oxygénés attaquent la double liaison de l'AGPI estérifié sur le cholestérol, le radical obtenu étant proche de la double liaison en 5,6 du cholestérol. Cet intermédiaire peut être transformé en radical alkoxy et conduire au 5,6-époxycholestérol (Figure 13). Ces oxystérols peuvent

être générés dans les aliments notamment par auto-oxydation impliquant des processus physiques comme le chauffage, les radiations et par des processus non enzymatiques avec l'attaque des radicaux libres de l'oxygène. De nombreuses enzymes qui génèrent des oxystérols se sont associées aux cytochromes P450. Ces enzymes interviennent dans la synthèse des acides biliaires. En effet, le catabolisme du cholestérol a lieu dans le foie et constitue en la synthèse des acides biliaires (49). Elle est initiée par l'hydroxylation du cholestérol en position 7 par des processus enzymatiques réticulaires cytochromes P450-dépendant. D'autres enzymes participant à la formation d'oxystérols, interviennent dans le métabolisme des hormones stéroïdiennes (49).

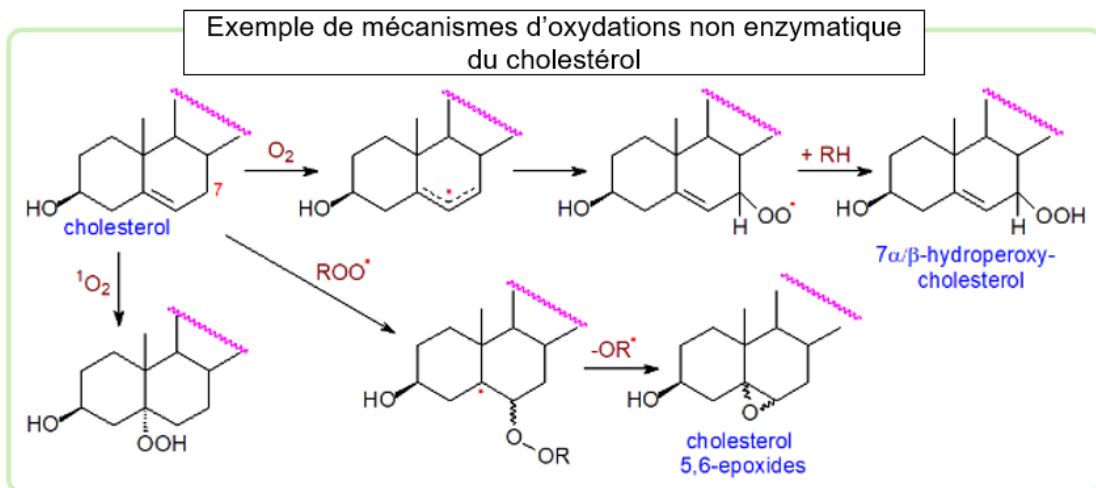


Figure 13 : Oxydations non enzymatiques du cholestérol d'après Ma et al. (50).

3) Interactions avec les protéines

Une autre classe de biomolécules qui joue un rôle important dans l'organisme et qui est sensible aux attaques des radicaux libres sont les protéines. En effet, les acides aminés et les protéines sont les premières cibles des attaques radicalaires, par oxydations des chaînes latérales des acides aminés et par oxydation de la chaîne polypeptidique.

Les protéines sont des macromolécules, constituées d'un assemblage d'acides aminés liés entre eux par des liaisons peptidiques. Cet assemblage ordonné permet à la protéine d'avoir une conformation particulière, essentielle à ses fonctions. Des modifications post-traductionnelles y participent également.

Les attaques des espèces réactives de l'oxygène induisent une modification des structures secondaires et tertiaires ce qui entraîne un dysfonctionnement de certaines enzymes lié à leur structure tridimensionnelle. On obtient le plus souvent une fragmentation ou la formation de liaisons croisées intra ou inter chaînes. Cela entraîne le plus souvent des pertes de fonctions, une diminution de l'hydrophilie, voire une dénaturation de la protéine.

Il a été démontré que le 20S protéasome est impliqué dans la dégradation des protéines oxydées dans le noyau et dans le cytosol des cellules des mammifères (51, 52). Les protéines oxydées sont principalement situées dans le cytosol (53) mais une quantité importante de protéasome est observée à l'intérieur du noyau de la cellule afin probablement d'assurer une dégradation rapide des protéines oxydées localement, dès leur formation (54).

Néanmoins, les susceptibilités sont différentes en fonction des acides aminés : il existe des modifications réversibles et d'autres irréversibles. Les cibles majeures de l'oxydation sont les acides aminés soufrés (cystéine, méthionine), basiques (histidine, lysine, arginine) et aromatiques (phénylalanine, tyrosine, tryptophane). Les plus réactifs sont : l'histidine, la proline, le tryptophane, la cystéine et la tyrosine (1). On observe l'apparition de groupements carbonylés, de clivage de chaînes peptidiques et des ponts bi-tyrosine intra- et inter-chaînes sont formés. La plupart des dommages sont irréparables et peuvent entraîner des modifications fonctionnelles importantes (55). Pour certains acides aminés il existe des systèmes

de réparations qui leur sont spécifiques, comme la methionine-sulfoxyde réductase pour la méthionine oxydée qui donne de la méthionine à partir du sulfoxyde de méthionine (56). S'il n'y a pas de système spécifique de réparation des protéines oxydées, elles sont dégradées par le 20 S protéasome (52).

Les acides aminés et les protéines ayant un résidu tyrosine sont des cibles majeures du peroxydant vu précédemment. Les résidus cystéines sont particulièrement réactifs vis-à-vis des ERO par leur groupement thiol. Ils subissent le plus souvent une glutathionylation qui est la formation réversible d'un disulfide mixte entre les thiols de la cystéine et du glutathion. Ce modèle d'oxydation du thiol apparaît le plus important quantitativement et le plus fréquent (57).

i. Oxydation de la chaîne polypeptidique.

Les métaux de transitions semblent catalyser l'oxydation de la chaîne polypeptidique. Tout d'abord, une liaison de coordinence entre Fe^{2+} ou Cu^{2+} et la chaîne latérale d'un acide aminé de la chaîne polypeptidique peut se former (58). Le radical hydroxyle OH^\bullet entraîne le départ d'un atome d'hydrogène sur le carbone en alpha d'une liaison peptidique, ce qui permet la formation d'un radical centré sur le carbone. En l'absence d'oxygène, deux radicaux centrés sur le carbone peuvent donner naissance à des liaisons croisées intra ou inter chaînes (59). Si l'oxydation se situe au niveau de deux fonctions thiols, elle peut conduire à la formation de ponts disulfures. En revanche en présence de dioxygène, une réaction d'addition se fait sur le radical centré sur le carbone et on obtient un radical peroxy. Puis, une série de réactions complexes mène à la formation d'un radical alkoxy qui ensuite mène à la fragmentation de la chaîne polypeptidique (60) (Figure 14).

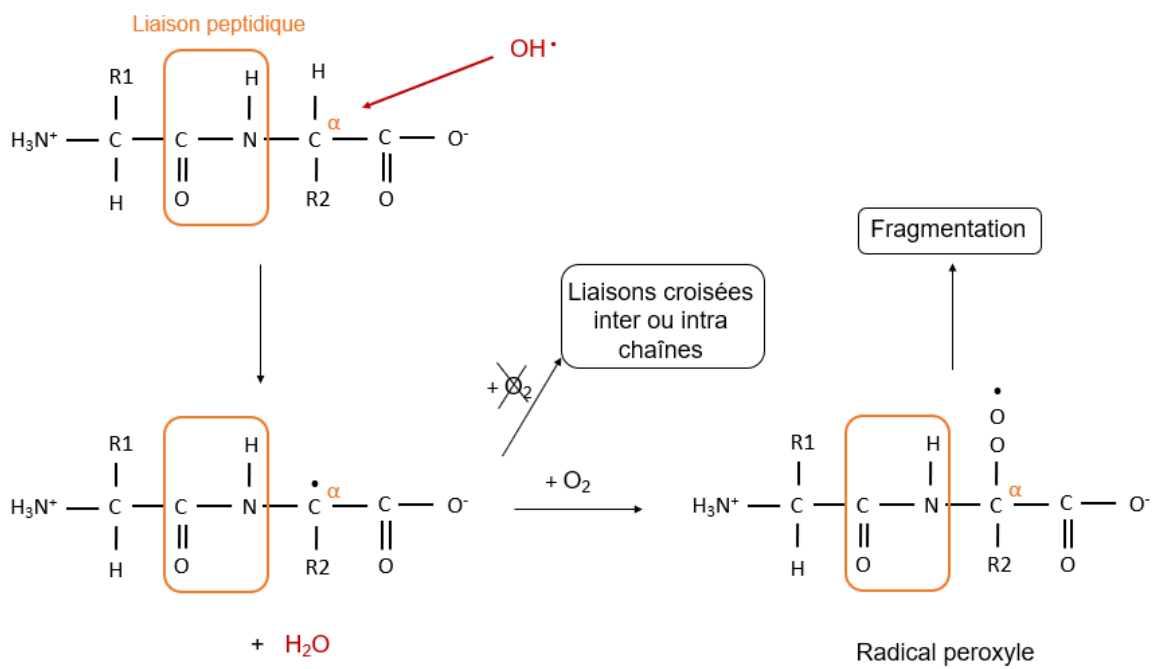


Figure 14 : Oxydation de la chaîne polypeptidique.
 R1 : radical 1 ; R2 : radical 2 ; OH[•] : radical hydroxyle ; O₂ : dioxygène ; H₂O : molécule d'eau.

ii. Glyco-oxydation et lipo-oxydation

Les protéines peuvent également subir des attaques indirectes par l'action de glyco-oxydation et de lipo-oxydation qui peuvent se produire dans les membranes et dans des lipoprotéines où la proximité entre les protéines et les lipides favorise les attaques de radicaux organiques (peroxyde lipidique). De plus, contrairement aux lipides, les protéines peuvent subir des attaques radicalaires en dépit de la présence d'anti-oxydants en grande concentration dans leur environnement (61). Ces modifications chimiques changent la conformation globale des protéines. Dans le cas des lipoprotéines, ces dernières ainsi altérées sont appelées « LDL oxydées ». En humaine, de nombreuses études ont mis en évidence l'implication de ces LDL oxydées dans l'altération de nombreuses fonctions cellulaires des cellules endothéliales et dans le déclenchement d'évènements cellulaires conduisant au processus d'athérosclérose (62–64).

D'autre part, les protéines peuvent créer une liaison par leurs groupements amines libres avec un ose tel que le glucose dans une réaction non enzymatique et ainsi donner des produits de glycations. Ces produits peuvent être des marqueurs de surveillance comme l'hémoglobine glyquée dans le cadre de la surveillance du diabète sucré (65).

iii. Le protéasome

Il existe dans les cellules eucaryotes deux voies de dégradations des protéines que sont les lysosomes et les protéasomes. Les lysosomes participent faiblement à la dégradation des protéines intracellulaires mais davantage à la dégradation des protéines des milieux extracellulaires. Le protéasome 26S est formé de deux éléments : l'unité catalytique le protéasome 20 S et l'unité régulatrice 19 S. Ils sont présents dans le cytosol et le noyau de toutes les cellules mais à des concentrations différentes selon le type cellulaire (66, 67). L'oxydation des protéines a pour conséquence une protéolyse mais cette susceptibilité à être dégradée dépend des dommages créés à la protéine. Quand les dommages sont des liaisons croisées intra et inter- chaînes, il y a agrégation des protéines oxydées, et cela rend plus difficile la prise en charge par le protéasome (68).

En ce qui concerne la réparation des acides aminés, il n'existe pas de système de réparation spécifique, mis à part deux systèmes que sont la thiorédoxine réductase et la méthionine-sulfoxide réductase. La première régénère les fonctions thiols des cystéines associées dans les ponts disulfures et la seconde régénère la méthionine (56, 69, 70).

4) Interactions avec l'acide desoxyribonucléique

L'Acide Desoxyribonucléique (ADN) est une macromolécule, support de l'information génétique. Elle est formée d'une double hélice stabilisée par des liaisons hydrogènes. Chaque hélice est un assemblage ordonné de 4 bases azotées : la guanine (G), la cytosine (C), la thymine (T) et l'adénine (A). Les deux hélices s'assemblent selon une complémentarité de bases : A avec T et G avec C. L'ADN est également sensible aux attaques des espèces réactives, et étant le support de l'information génétique, les modifications peuvent avoir de grandes conséquences sur l'ensemble du fonctionnement cellulaire (71, 72).

Les radicaux libres agissent sur les acides nucléiques en entraînant des mutations qui entraînent des modifications de l'information génétique et qui génèrent des erreurs de lecture du génome, des perturbations des systèmes de réplication, de transcription et de traduction (73). Lorsque les systèmes de réparations n'ont pas le temps d'agir, l'ADN cellulaire est transcrit avec ses erreurs. L'ADN mitochondrial est plus sensible que l'ADN nucléaire car contrairement à ce dernier il n'est pas complexé par des histones. Les histones sont des protéines qui permettent la compaction de l'ADN en chromatine et également sa stabilité. Néanmoins, il a été démontré qu'il existe des protéines de liaison à l'ADN mitochondrial qui seraient capables de le protéger du rayonnement X et du peroxyde d'hydrogène (74).

Les lésions peuvent survenir à différents endroits au sein de l'hélice de l'ADN, sur les bases azotées nucléotidiques ou sur le squelette phosphoribosyle de l'ADN. Ainsi, les modifications obtenues sont des modifications des bases de l'ADN et des pentoses, des cassures simple et double brin ; des sites abasiques, des lésions en tandem, des sites regroupés et des liaisons croisées ADN-protéine (73, 75, 76). L'hydroxyle $\bullet\text{OH}$ est très réactif vis-à-vis de l'ADN (75). Il peut arracher un hydrogène du 2 désoxyribose ou des groupements méthyles des bases nucléiques, ou il peut

réaliser une addition nucléophile sur les doubles liaisons des bases puriques ou pyrimidiques.

i. Lésions des bases azotées

La guanine est la cible préférentielle parmi les constituants de l'ADN, car elle a le potentiel d'ionisation le plus faible parmi les autres (1,29 V). De plus, elle est la seule à être susceptible à l'attaque de l'oxygène singulet en solution aqueuse à pH neutre (77). L'attaque du radical hydroxyle peut s'effectuer sur les positions C4, C5 et C8 et C2 de la Guanine (figure 15) (78). La réaction principale du radical hydroxyle avec la guanine serait un arrachage de H[•] du groupe en NH₂ du C2 (79, 80).

Les bases pyrimidiques subissent aussi l'attaque des radicaux libres. L'addition du radical OH[•] sur la double liaison pyrimidique en C5,C6 permet la formation de la 5,6-dihydroxy-5,6-dihydrothymidine (thymidine glycol) pour la thymine (81). Par des mécanismes similaires sur la cytosine, il y a formation du 5-méthyl-2'-desoxycytidine glycol qui peut lui-même subir une désamination et devenir la thymidine glycol (82).

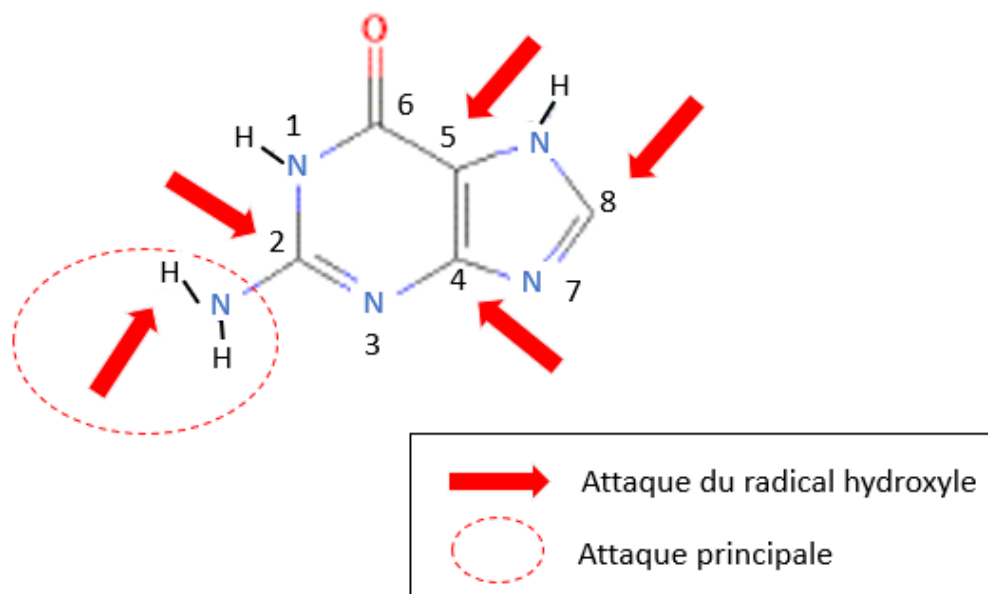


Figure 15 : Schéma des différentes attaques radicalaires du radical hydroxyle sur la guanine.

ii. Lésion sur le squelette phosphoriboxyle de l'ADN

D'autres modifications ont été évoquées précédemment et notamment des cassures au niveau de la chaîne. La réaction de OH^\bullet avec le désoxyribose entraîne l'arrachement d'un H en 2', 3', 4', ou en 5' et entraîne une cassure simple brin de l'ADN. Par contre l'arrachement d'un H en 1' entraîne la formation d'un site abasique (Figure 16).

On peut observer également une liaison covalente entre la base et le pentose, à l'origine de lésions « tandem », par attaque du radical hydroxyle (83). Dans le même nucléoside le radical 2'-desoxyribose centré en C5 attaque en C8 le cycle purique, donnant lieu à une cyclisation intramoléculaire (figure 17). Il existe également des pontages interbrins suite à l'oxydation du désoxyribose, qui réagit avec un radical sur le brin opposé (83).

On peut également retrouver des pontages covalents entre ADN et protéines, notamment les protéines de la chromatine (76). La guanine possédant le potentiel d'ionisation le plus bas, elle est un site d'oxydation préférentiel et peut être attaquée par un résidu protéique possédant un groupement nucléophile. De même, la situation inverse peut se produire, l'oxydation initiale a lieu sur la protéine et cette dernière réagit par la suite avec un groupement nucléophile de l'ADN. Plus rarement on peut avoir le couplage de deux espèces radicalaires protéique et lipidique (76) .

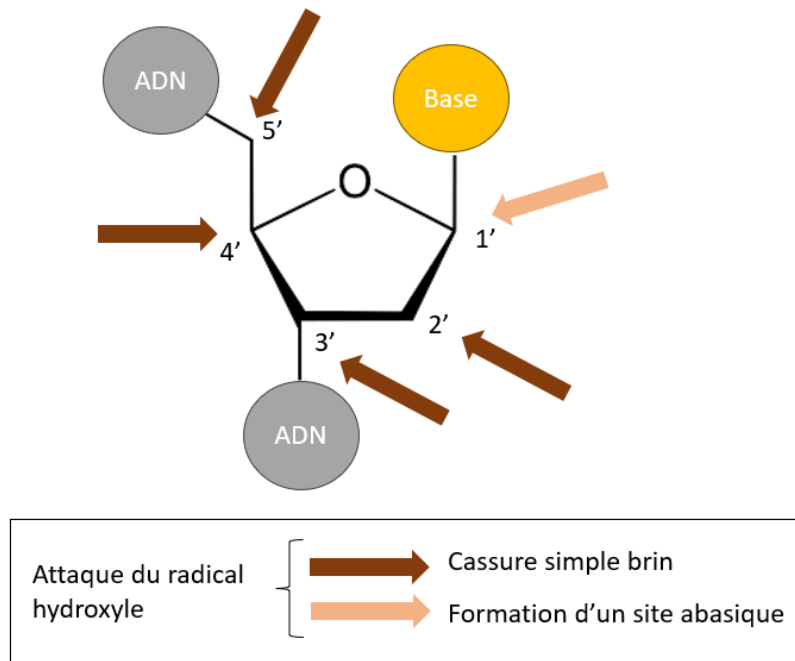


Figure 16 : Schéma de l'attaque radicalaire du désoxyribose par le radical hydroxyle.

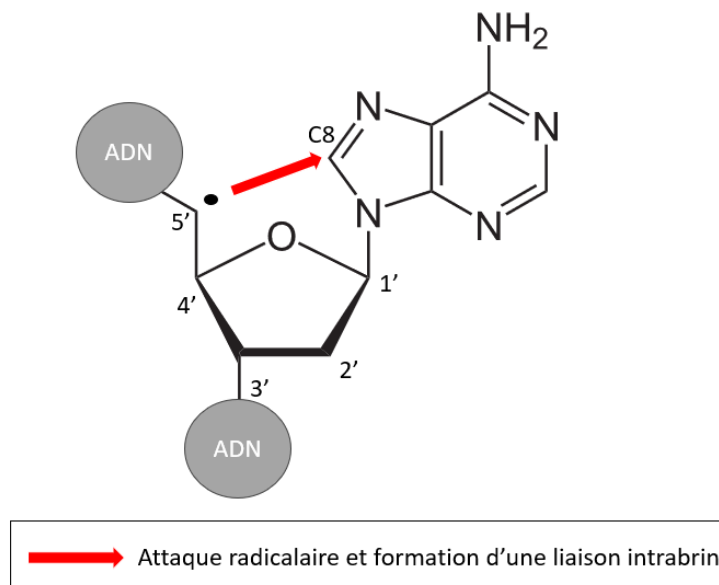


Figure 17 : Schéma de l'attaque radicalaire d'une base purique par le radical 2'-desoxyribose centré en C5.

Tableau 2 : Tableau récapitulatif des différents types de lésions oxydantes de l'ADN.
Sources : (75, 84–86)

Lésions oxydatives de l'ADN	Mécanisme	Fréquence	conséquences
Oxydation des bases azotées : la guanine	Attaque d'un radical en C4,C5,C8, C2	Fréquents	<ul style="list-style-type: none"> • Mutation
Cassure de la chaîne	Attaque d'un radical sur le désoxyribose		<ul style="list-style-type: none"> • Perte d'une portion de chromosome
Pontage intramoléculaire	Attaque d'un radical 2'-desoxyribose néoformé centré en C5 sur C8 du cycle purique	Moins fréquents	<ul style="list-style-type: none"> • Arrêt polymérase • Mutation
Pontage intermoléculaire	Attaque du radical 2'-desoxyribose néoformé centré en C5 sur un brin opposé		<ul style="list-style-type: none"> • Arrêt polymérase

C. Mécanismes de contrôle

a. Systèmes enzymatiques

Afin d'éviter l'accumulation des ERO, la cellule possède des systèmes de défense anti-oxydants basés sur l'action d'enzymes telles que la superoxyde dismutase (SOD), les catalases (CAT) et la glutathion peroxydase (GPx) (87) (Figure 18).

1) La superoxyde dismutase

La superoxyde dismutase (SOD) réduit l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène H_2O_2 (Figure 19.a). Cette enzyme est un élément important contre les ERO, car elle diminue le temps de vie de l'anion superoxyde et ainsi les possibilités de formations d'espèces réactives beaucoup plus dangereuses.

On retrouve cette métalloenzyme chez les eucaryotes. Il existe une SOD2 à manganèse dans les mitochondries et une SOD1 à cuivre et zinc dans le cytosol des cellules et dans l'espace intermembranaire de la mitochondrie (1, 35). Il a été montré chez la souris, que l'invalidation génique de la SOD mitochondriale entraîne en effet une létalité néonatale, contrairement à l'invalidation de la SOD cytosolique ou extracellulaire (88). Dans le cas de la SOD cuivre-zinc dépendante, de masse moléculaire 32 kDa, l'ion cuivre dans le site catalytique lié à quatre résidus d'histidine participe à l'acte catalytique. Dans cette enzyme, le cation Zn^{2+} assure le rôle d'ion métallique stabilisateur global de la SOD1 (89). La Mn-SOD de masse moléculaire 40kDa, est formée de quatre sous-unités chez les animaux et l'ion Mn^{2+} permet l'acte catalytique (90).

2) La catalase

La catalase catalyse la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire (Figure 19.b). Elle possède quatre sous-unités, chacune étant composée d'une molécule d'hème liant du fer sous forme Fe III, liée au site actif comme groupement prosthétique. On trouve cette protéine dans les peroxysomes et

les hématies, son action est complémentaire de l'action des SOD qui produisent H_2O_2 (11, 91).

3) La glutathion peroxydase

La glutathion peroxydase (GPX) catalyse la dismutation du peroxyde d'hydrogène et l'oxydation du glutathion réduit (GSH) en glutathion oxydé (GSSG). Cette enzyme n'est pas spécifique du peroxyde d'hydrogène, les hydroperoxydes sont également des substrats possibles (Figure 19.c) (92). Le glutathion est un tripeptide (glutamyl-cystéinyl-glycine), présent dans les cellules, majoritairement sous forme réduite (GSH). Il est le thiol majoritaire dans la cellule avec une concentration de l'ordre de 10^{-4} à 10^{-3} mol.L⁻¹ (93).

La GPX possède quatre sous-unités avec chacune un sélénium dans le site actif sous forme de séléncystéine où l'atome de soufre a été remplacé par un sélénium. Un déficit en sélénium conduit à une baisse d'activité de cette enzyme. L'activité de la GPX est couplée avec la réaction qui permet de régénérer le glutathion GSH. Cette dernière est catalysée par l'enzyme glutathion réductase (GR) (Figure 19.d) (91). La réaction qui permet de régénérer le glutathion nécessite du NADPH, H⁺ fourni par la voie des pentoses-phosphates, grâce à l'activité de l'enzyme glucose-6-phosphate déshydrogénase.

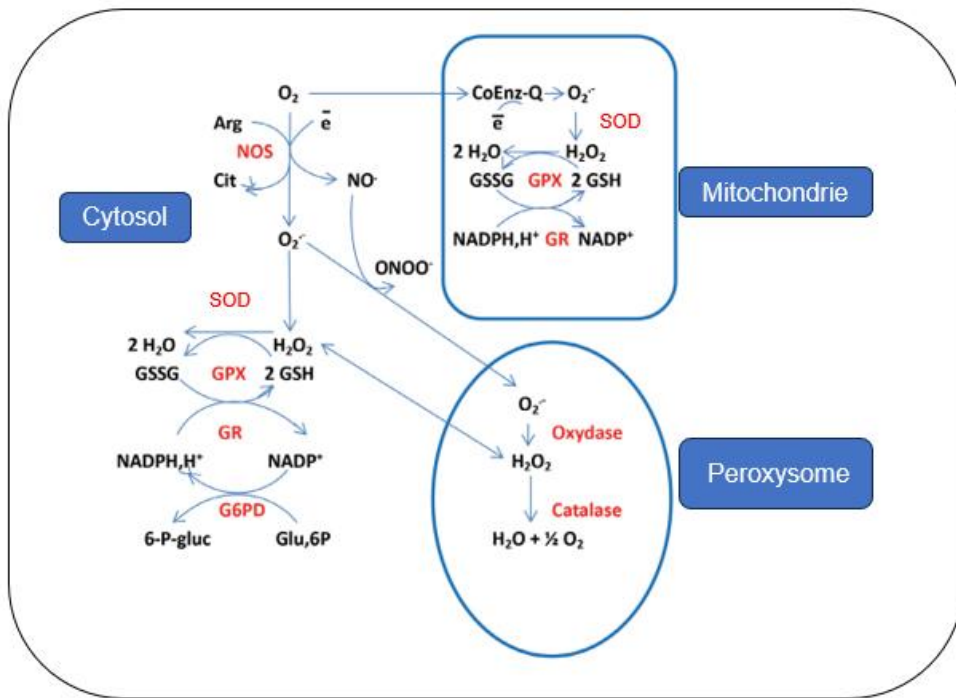


Figure 18 : Intervention des différentes enzymes antioxydantes dans la cellule d'après Deponte.
 Arg : L-Arginine ; Cit : L-Citrulline ; CoEnz-Q : Coenzyme Q ; GSSG : glutathion oxydé ; GSH : glutathion : glutathion réduit ; O₂ : Dioxygène ; O₂^{•-} : anion superoxyde ; NADPH,H⁺ : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate réduit ; NADP⁺ : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate oxydé ; H₂O : eau ; H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène ; SOD : Superoxyde Dismutase ; G6PD : glucose-6-phosphate déshydrogénase ; 6-P-gluc : 6-phospho-gluconate ; Glu,6P : glucose, 6-phosphate ; GR : glutathion reductase ; GPX : Glutathion peroxydase ; NOS : NO synthase.

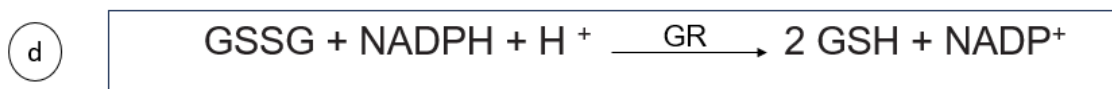
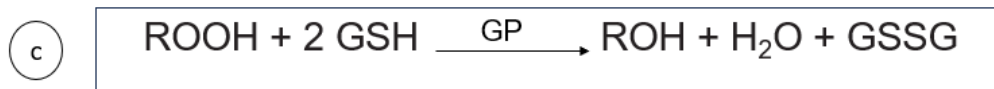
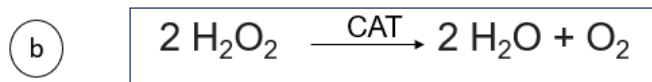
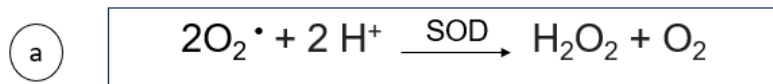


Figure 19 : Réactions enzymatique de la superoxyde dismutase (a), la catalase (b), la glutathion peroxydase (c) et la glutathion reductase (d)
 SOD : superoxyde dismutase ; CAT : catalase ; GP : Glutathion peroxydase ; GR : Glutathion reductase ; ROOH : hydroperoxyde ; NADPH,H⁺ : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate réduit ; NADP⁺ : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate oxydé ; H⁺ : proton ; H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène ; H₂O : eau ; O₂^{•-} : anion superoxyde ; GSSG : glutathion oxydé ; GSH : glutathion : glutathion réduit.

b. Systèmes enzymatiques antioxydants accessoires

En plus de celles précédemment citées, les cellules possèdent d'autres enzymes intervenant dans le maintien de l'équilibre redox, c'est-à-dire le maintien d'un équilibre entre les formes prooxydantes et les formes antioxydantes. Parmi elles, se trouvent les systèmes de thioredoxine, de glutaredoxine. Le système thioredoxine contient la thioredoxine et l'enzyme thioredoxine réductase, il se situe dans le cytosol et dans la mitochondrie. Il fait intervenir NADPH comme donneur d'électrons (Figure 20). Il possède de nombreuses fonctions, dont la principale est de maintenir l'état réduit des protéines, et de participer ainsi à la lutte contre le stress oxydant, la croissance ou l'apoptose cellulaire (94).

De manière similaire, la glutaredoxine est une thiodisulfure oxydoreductase. Elle intervient dans la protection et la réparation des protéines et des thiols non protéiques lors de stress oxydant (70). Cette enzyme diffère de la précédente car requiert l'implication des glutathions liés par une liaison disulfide mixte aux fonctions thiols des protéines (Figure 21).

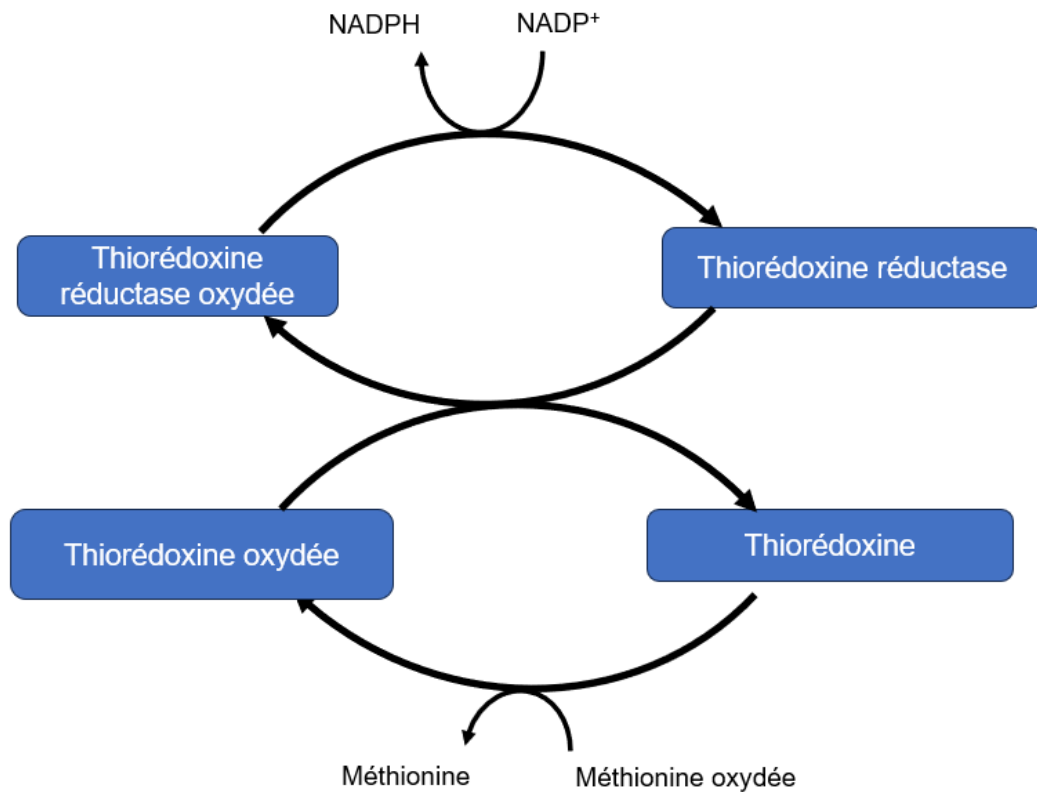


Figure 20 : Schéma du fonctionnement du système antioxydant thioredoxine.
 NADPH,H⁺ : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate réduit ; NADP⁺ : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate oxydé

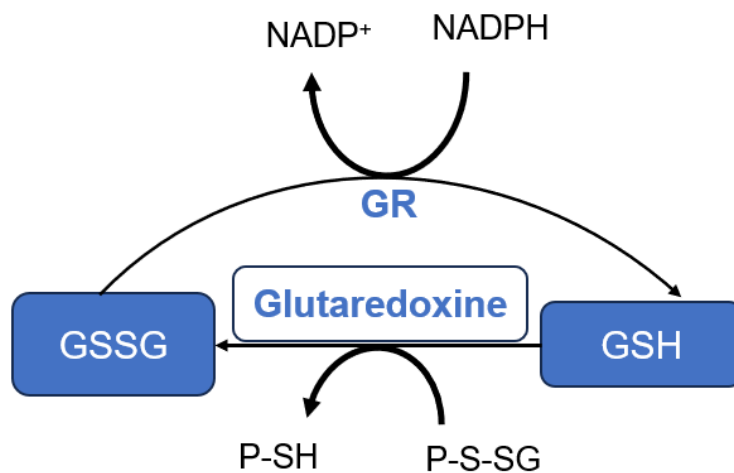


Figure 21 : Schéma du fonctionnement du système antioxydant glutaredoxine.
 NADPH,H⁺ : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate réduit ; NADP⁺ : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate oxydé ; GR : Glutathion reductase ; GSSG : glutathion oxydé ; GSH : glutathion : glutathion réduit ; P-SH : protéine avec un groupement thiol réduit sur sa chaîne latérale ; P-S-SG : protéine avec un groupement thiol lié par une liaison disulfide mixte au glutathion.

c. Systèmes non enzymatiques

Il existe également des molécules antioxydantes non enzymatiques comme : l'albumine, le glutathion, les vitamines A, C, E, l'ubiquinone...

Ces systèmes sont des piègeurs de radicaux, ce sont des composés qui réagissent avec un radical libre afin de former un nouveau radical plus stable que l'espèce radicalaire de départ et sensible à une réduction ultérieure afin de régénérer les chélateurs. Ce sont des cibles privilégiées des ERO en raison de leurs fortes quantités localement.

1) Exemples de piègeurs de radicaux divers

Il existe des capteurs généraux de radicaux libres, c'est-à-dire des molécules qui vont se substituer aux cibles biologiques. Ce sont de bons réducteurs chimiques comme les alcools, les thiols, les phénols ou les polyphénols (35). Le radical hydroxyle possède une constante de vitesse très élevée et quasiment identique vis-à-vis des systèmes biologiques et des capteurs de radicaux si les concentrations de ces deux derniers sont voisines. Il faut alors que la concentration de capteur soit supérieure à celle de la cible d'au moins un facteur dix, afin que le capteur joue son rôle. Mais comme *in vivo* les macromolécules biologiques sont déjà en quantité importante, des concentrations dix fois plus importantes de capteurs ne peuvent être réalisées *in vivo* sans entraîner de toxicité secondaire (1).

Les polyphénols comme les flavonoïdes jouent aussi un rôle antioxydant par piégeage de radicaux libres mais également en chélatant des ions métalliques. Les polyphénols forment des anneaux stables avec les ions métalliques, ces derniers ne sont alors plus disponibles afin de réaliser les réactions de Fenton et Haber-Weiss (95).

Le glutathion, de même que d'autres thiols, participe à la capture d'espèces radicalaires, en formant des radicaux thiolyles GS[•]. Ces radicaux peuvent en présence d'oxygène, participer à la formation de nouveaux radicaux capables d'initier d'autres attaques moléculaires. Le glutathion peut également chélater les ions cuivreux et limiter la réaction de Fenton (96). Le glutathion seul peut aussi agir

comme un chélateur de métal qui préviendrait ainsi la formation de radicaux hydroxyles (97).

L'acide urique est produit à partir de l'oxydation de l'hypoxanthine et de la xanthine par la xanthine oxydase et la xanthine déshydrogénase. A pH physiologique, c'est l'urate qui est majoritaire et il réagit avec les radicaux $\text{OH}\cdot$ à concentration physiologique. Il réagit également avec les radicaux peroxydes $\text{RO}_2\cdot$. Le radical obtenu à partir de l'urate est une espèce radicalaire relativement stable, qui peut être secondairement réduit par la vitamine C, régénérant ainsi l'urate et limitant l'action du radical sur d'autres cibles (98, 99).

La bilirubine est issue de la dégradation de l'hémoglobine par les cellules du foie, de la rate et de la moelle osseuse. Elle est considérée comme un déchet de l'organisme qu'il faut éliminer mais il a été montré qu'à des concentrations micromolaires *in vitro*, elle est capable de piéger les radicaux peroxydes (100). Comme elle se lie à l'albumine dans un rapport stœchiométrique 1/1, elle peut protéger l'albumine et les acides gras liés à l'albumine des attaques radicalaires (101). L'albumine, grâce à ses groupements thiols, est la protéine antioxydante la plus importante car la plus abondante dans le plasma avec des concentrations de l'ordre de 0.5 mol.L^{-1} (102).

2) Vitamines et dérivés associés

Plusieurs vitamines sont considérées comme des antioxydants majeurs en raison d'un caractère réducteur propre et d'un fonctionnement synergique de ces dernières compartimentalisés au sein de la cellule.

Plusieurs vitamines liposolubles et les provitamines inhérentes admettent une localisation membranaire en raison de leurs propriétés hydrophobes. En captant l'électron célibataire des radicaux libres $\text{RO}\cdot$ et $\text{RO}_2\cdot$, elles interceptent les réactions radicalaires de propagation et protègent ainsi les membranes cellulaires de la peroxydation lipidique et de leur déstructuration (103). C'est notamment le cas des vitamines E, tocophérols, et des dérivés triènes associés, les tocotriénols, dont les plus efficaces sont les formes α (104). A l'issue de la réaction avec les ERO, se forme un radical Tocophéryl stabilisé par mésomérie (Figure 22), qui en raison de

son caractère hydrophile, se positionne à l'interface feuillet lipidique interne/cytosol alors que la chaîne terpénique assure l'encrage membranaire du composé vitaminique (105).

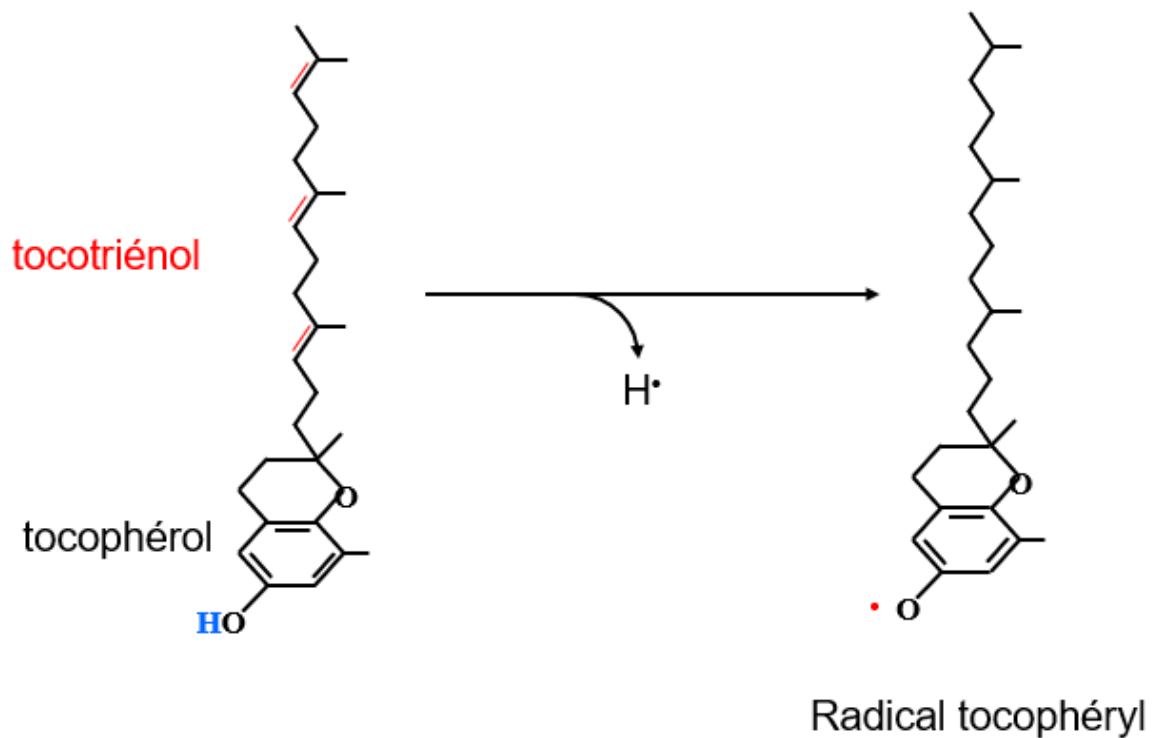


Figure 22 : Formation du radical tocophéryl stabilisé par mésomérie.

D'autres composés sont également qualifiés de chélateurs de la phase lipidique en raison d'un fonctionnement analogue aux vitamines E et tocotriénols d'une part, et d'une localisation membranaire similaire d'autre part. Il s'agit des pigments caroténoïdes possédant un noyau β ionone, éventuellement oxydé (cas des pigments xanthophylles), et qui constituent de ce fait des provitamines A (Figure 23) (106) mais on peut également adjoindre à cette liste, la mélatonine, qui en formant un radical stable indolyl, exerce également un rôle anti-oxydant direct (Figure 24) à l'échelle membranaire (107, 108).

Pro Vitamine A

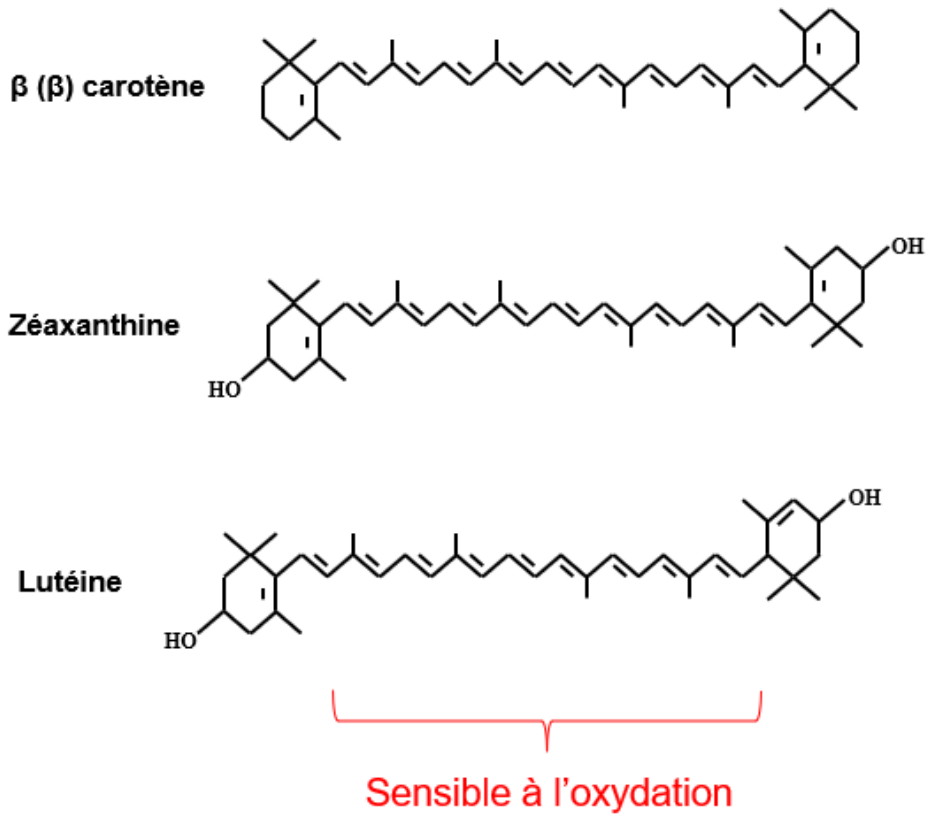


Figure 23 : Pigments caroténoïdes qui sont des provitamines A.

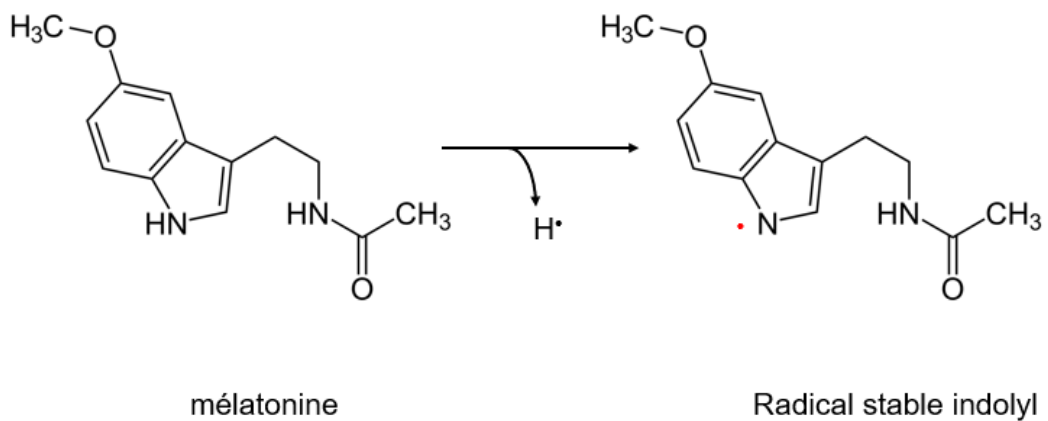


Figure 24 : Formation d'un radical stable à partir de la mélatonine.

Les chélateurs de la phase lipidique constituent des antioxydants majeurs d'autant plus sûrement et efficacement que leur forme réduite initiale sont régénérées grâce à une synergie avec les systèmes antioxydants du cytosol et donc de la phase aqueuse tels que la vitamine C ou acide ascorbique (1), ou des peptides thioles (glutathion) ou possédant un résidu histidyl (Anserine) (109). Très rapidement, les radicaux des chélateurs de la phase lipidique sont réduits par la vitamine C ainsi oxydée sous une forme stabilisée par mésomérie, déhydroascorbate, peut être ultérieurement réduite sous l'action d'une thiol transférase utilisant le glutathion réduit (GSH) (Figure 25) (110).

Enfin cette coopération ne reste opérationnelle qu'à condition que le glutathion oxydé (GSSG) obtenu ne soit à son tour régénéré sous forme réduite grâce à l'action des glutathions réductases (cf. *supra*).

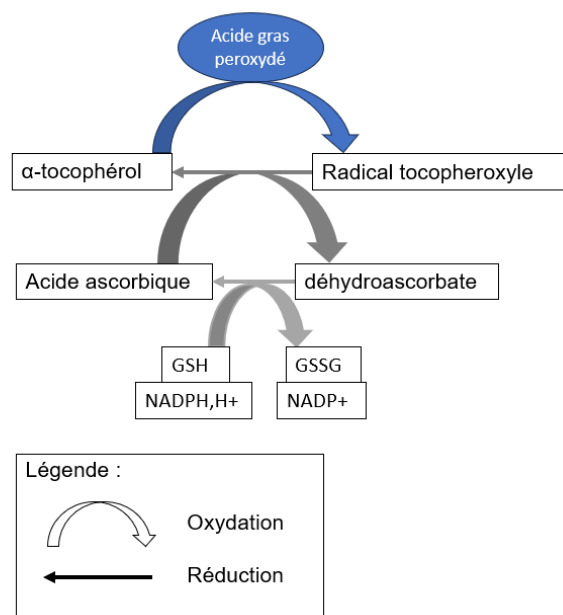


Figure 25 : Schéma de la régénération de l'alpha-tocophérol par l'acide ascorbique.
GSH : Glutathion réduit, GSSG : Glutathion oxydé.

Tableau 3 : Antioxydants cellulaires

Antioxydant	Nature	Localisation	Mécanisme
Superoxyde dismutase	Enzyme	Intracellulaire	Réduction de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène
Catalase	Enzyme	Intracellulaire	Catalyse de la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire
Glutathion peroxydase	Enzyme	Intracellulaire	Catalyse la dismutation du peroxyde d'hydrogène et la réduction des hydroperoxydes
Thioredoxine	Système enzymatique	Intracellulaire	Réduction des thiols protéiques
Glutaredoxine	Système enzymatique	Intracellulaire	Réduction des thiols protéiques en réalisant une liaison disulfide mixte
Tocophérols	Vitamines	Membrane lipidique	Chélateurs d'espèces radicalaires
Caroténoïdes	Pigments	Membrane lipidique	Chélateurs d'espèces radicalaires
Vitamine C	Vitamine	Intracellulaire	Reduction du radical tocophéryl de la Vitamine E
Autres chélateurs	Divers	Divers	Chélateurs d'espèces radicalaires

Bilan : Les sources des ERO au sein de la cellule et au sein de l'organisme sont variées. Leur formation induit des réactions avec les biomolécules de la cellule : les lipides, les protéines et l'ADN. Les produits ainsi formés vont à leur tour induire d'autres réactions qui peuvent participer à des fonctions physiologiques mais également engendrer des dégradations tissulaires. Les antioxydants sont présents afin de réguler les quantités présentes d'oxydants. Il en existe une multitude avec des mécanismes biochimiques différents (cf. Tableau 3). Ils maintiennent un équilibre au sein de la cellule, lorsque l'équilibre est rompu, il se produit le stress oxydant.

Partie 2 : Le stress oxydant

Le stress oxydant est défini comme un déséquilibre entre les capacités de défenses antioxydantes et la production des ERO. Ceci conduit à une accumulation de radicaux oxygénés susceptibles d'altérer les biomolécules et à terme de produire des lésions tissulaires. Ces dommages sont susceptibles d'induire un certain nombre d'affections dont nous allons étudier quelques exemples. Néanmoins, les ERO sont nécessaires à de nombreuses fonctions utiles dont certaines seront détaillées et de ce fait participent au fonctionnement de l'organisme, ce qui souligne le caractère incontournable de leur genèse. En effet, La production faible d'ERO participe à des fonctions cellulaires physiologiques comme la signalisation, l'inflammation, la contraction des myocytes...

A. Etiologie du stress oxydant

A.1 Excès de production des espèces réactives de l'oxygène

a. L'intervention des espèces réactives de l'oxygène dans la signalisation intracellulaire

Une production modérée et contrôlée d'ERO peut entraîner une oxydation réversible des molécules environnantes, ces molécules jouant alors le rôle de seconds messagers. En effet, les ERO sont de bons candidats pour être des molécules de signalisation, car elles sont petites et peuvent diffuser sur de courtes distances. Elles sont produites à différents endroits et leur production est rapide et contrôlable.

Les molécules messagères agissent sur une cellule grâce à des récepteurs situés à leur surface. Ces récepteurs sont de différentes classes. En effet, il existe des récepteurs de cytokines, des récepteurs tyrosine-kinases (RTK), des récepteurs sérine/thréonine-kinases (RSTK), des récepteurs couplés aux protéines G, des récepteurs couplés aux canaux ioniques... Les molécules en se fixant aux

récepteurs entraînent des cascades de signalisation dans le cytoplasme, soit directement soit par des intermédiaires (1). La fixation à ces récepteurs permet la production d'ERO, souvent grâce à l'intervention de la NAD(P)H oxydase de la membrane cellulaire.

Des études suggèrent que les ERO produits pénètrent préférentiellement dans la cellule par des canaux spécifiques d'aquaporines dans la membrane plasmique (111) et participent à l'oxydation des protéines (Figure 26).

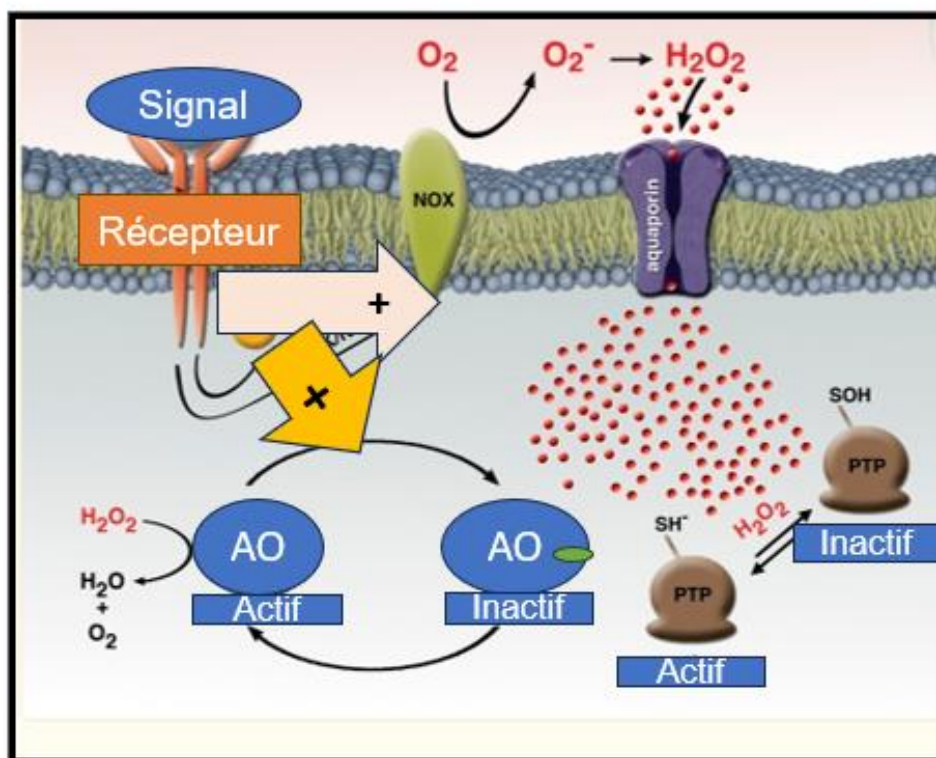


Figure 26 : Schéma de la production d'ERO suite à la stimulation par un signal de son récepteur spécifique, et le transfert des ERO en intracellulaire par les aquaporines d'après MILLER et al. (111).
 AO : antioxydant ; NOX : NADPH oxydase ; PTP : protéine phosphatase ; O_2 : Dioxygène ; $O_2^{\cdot -}$: anion superoxyde ; H_2O_2 : Peroxyde d'hydrogène.

Les ERO générées par ces mécanismes ligands/récepteurs fonctionnent comme des seconds messagers et sont les médiateurs de fonctions cellulaires importantes comme par exemple la prolifération et la mort cellulaire programmée (91). Par exemple, les récepteurs de l'inflammation, une fois activés par des signaux inflammatoires, activent la NOX et favorisent donc la production d'ERO. La conversion de l'acide arachidonique en médiateurs de l'inflammation par les cyclooxygénases et lipoxygénases libère également des ERO (cf. *supra*). Ces dernières activent l'expression des molécules d'adhérence, et sont impliquées dans le recrutement intense de polynucléaires neutrophiles par les tissus dans lesquels ils sont produits (111, 112).

Le tableau 4 montre la multitude de possibilités de formations d'ERO au sein de la cellule ainsi que leur fonction dépendante de leur ligand. Par exemple, les facteurs de croissance interviennent principalement dans la multiplication et la croissance cellulaire. De même, les protéines de l'inflammation comme l' IFN- γ , TNF- α interviennent surtout dans la défense microbienne et la croissance cellulaire.

Tableau 4 : Extrait des principaux ligands responsables de la production d'ERO, leurs sources et leurs effets sur la cellule d'après Delattre et al. (1).

Tableau complet annexe 2.

TNF- α = Tumor Necrosis Factor ; IL1 : Interleukine 1 ; IFN- γ : Interféron gamma; PDGF ; Platelet-Derived Growth Factor ; NF- $\kappa\beta$: Nuclear factor-kappa Beta ; MCP : Monocyte Chemoattractant Protein

Ligand	Type cellulaire	ERO	Source(s) enzymatique(s)	Effet
Récepteurs des cytokines				
TNF- α	Fibroblastes Cellules endothéliales et mésangiales Chondrocytes	O ₂ ⁻ , H ₂ O ₂	NADPH oxydase Flavoprotéine oxydase	Prolifération Expression MCP (Monocyte chemoattractant Protein),NF- $\kappa\beta$.
IL1	Fibroblastes Cellules endothéliales Myocyte	O ₂ ⁻ , H ₂ O ₂	Flavoprotéine oxydase	
IFN- γ	Cellules endothéliales Hépatocytes	O ₂ ⁻ , H ₂ O ₂	Cyclooxygénase	Antibactérien
Récepteurs Tyrosines-kinases				
PDGF	Cellules musculaires Cellules épithéliales	O ₂ ⁻ , H ₂ O ₂	Flavoprotéine oxydase	Multiplication cellulaire, Activation cascade de phosphorylation

La cystéine est un acide aminé largement impliqué dans la signalisation. En effet, sa fonction thiol (R-SH avec R le squelette de l'acide aminé) peut être oxydée par les ERO pour donner un acide sulfénique (cystéine – SOH), ou acide sulfinique (cystéine – SO₂H), ou acide sulfonique (Figure 27). Sa structure biochimique permet ainsi une signalisation redox-dépendante (114). Ainsi, les résidus cystéines sont la cible de l'oxydation par le peroxyde d'hydrogène H₂O₂. Par exemple, les protéines phosphatases possèdent dans leur site catalytique des résidus cystéines, dont les groupements thiols sont sensibles à l'oxydation par les ERO (115, 116).

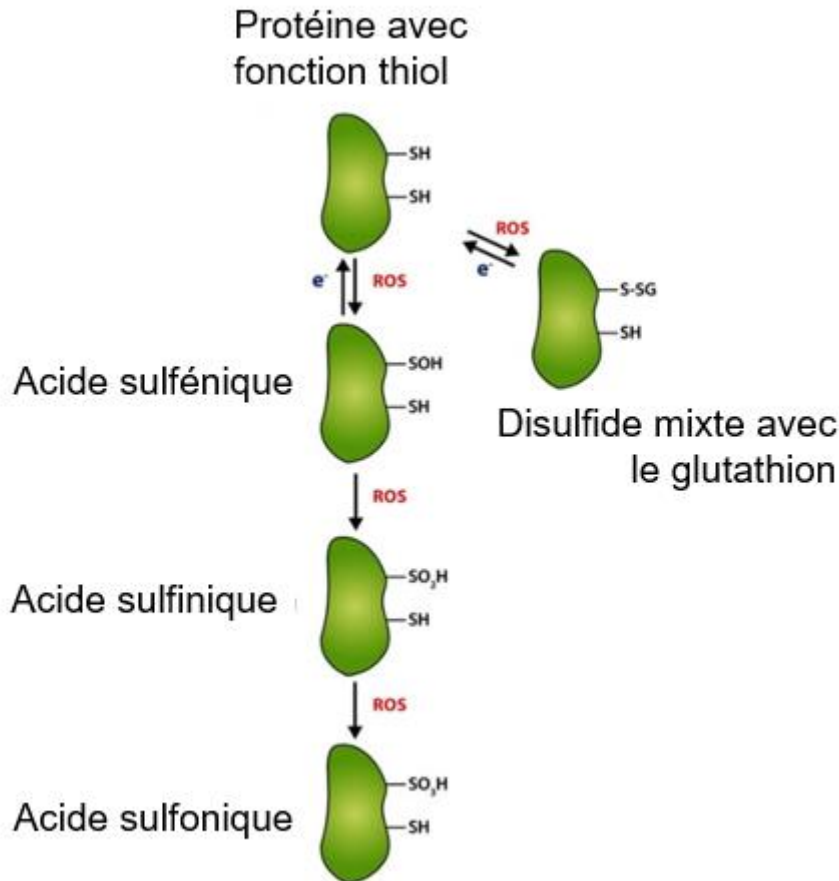


Figure 27 : Conséquences biochimiques de l'oxydation des fonctions thiols des résidus de cystéines d'après Richter et al. (117).

L'oxydation de ces résidus conduit à la formation de ponts disulfures (représenté en haut), inter ou intra molécule. Les cystéines peuvent être progressivement oxydées en acide sulfénique (cystéine – SOH), ou acide sulfinique (cystéine – SO₂H), ou acide sulfonique (cystéine – SO₃H). Il est possible d'obtenir des disulfures mixtes par l'interaction avec du glutathion (GS). La réduction (e⁻) des cystéines oxydées est effectuée par des enzymes antioxydantes.

Prenons l'exemple des facteurs de croissance tels que les PDGF (Platelet Derived Growth Factors) et EGF (Epidermic Growth Factor) qui vont se lier à leurs récepteurs et induire la production d'ERO (Tableau 1). L'inhibition de cette production bloque l'activation des tyrosine kinases induite par les facteurs de croissance (117), indispensable à l'amplification du signal reçu.

Les PTP (Protéines Tyrosine Phosphatases) et PTEN (Phosphatase and TENsin homolog) sont des phosphatases traduites par transcription de gènes suppresseurs de tumeur. Ils permettent la régulation négative des récepteurs ayant une activité kinase associée et entraînent un affaiblissement de la signalisation mitogène (115, 116). L'inactivation de ces phosphatases peut résulter de l'oxydation

de leurs groupements thiols par les ERO (cf. *supra*) (Figure 28). Les ERO sont produites en réponse aux facteurs de croissance et l'augmentation localisée de H₂O₂ est permise lorsque l'antioxydant peroxiredoxine associé aux membranes cellulaires est phosphorylé et inactivé lors de la stimulation par le facteur de croissance. Il y a alors une inhibition de la phosphatase par l'oxydation par H₂O₂ sans réactivation par la peroxiredoxine inactivée (118). Les phosphatases sont ultérieurement réactivées par le système antioxydant thioredoxine (119, 120).

L'augmentation des ERO et donc de la signalisation intracellulaire favorise la tumorigenèse (121). En effet, les cellules cancéreuses détournent la machinerie cellulaire à leur avantage, elles permettent à la cellule d'absorber des nutriments en continu, de survivre au stress et de proliférer. Il y a alors une « hyper génération » d'ERO au niveau des mitochondries, des NADPH oxydases et du réticulum endoplasmique (122, 123).

Néanmoins, les cellules cancéreuses doivent elles aussi maintenir une balance redox qui leur évitera notamment la mort cellulaire induite par un stress oxydant. C'est pourquoi on a une activité antioxydante aussi élevée que l'activité oxydante. Un des mécanismes qui intervient dans l'augmentation de la quantité des antioxydants est l'activation de facteurs de transcriptions comme le facteur nucléaire Erythroid 2-Related Factor 2 (NRF2) qui intervient dans la transcription de plusieurs gènes antioxydants (124). Le facteur p53 contrôle également une multitude de gènes antioxydants (125).

Ceci peut soulever de nombreuses questions en termes de traitement anticancéreux : faut-il jouer sur les antioxydants pour réduire le niveau des ERO ou faut-il augmenter le taux d'ERO afin de tuer sélectivement les cellules cancéreuses ?

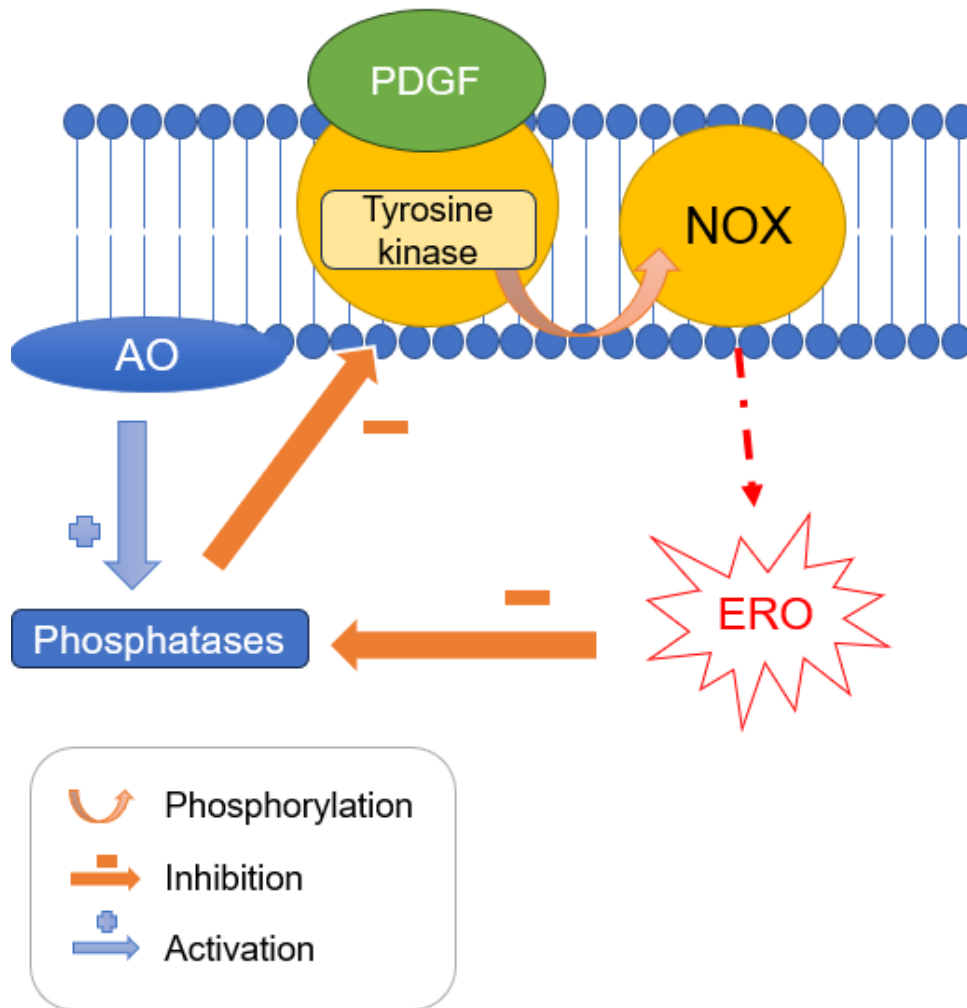


Figure 28 : Schéma de la signalisation intracellulaire suite à la fixation d'un facteur de croissance (PDGF) sur son récepteur.

AO = Antioxydant ; NOX = NADPH oxydase ; PDGF = Platelet Derived Growth Factor ; ERO = Espèces Réactives de l'oxygène

Le rôle des ERO dans la signalisation leur permet d'intervenir dans des grand processus comme celui de l'inflammation.

b. Défense de l'organisme : une production excessive dans un contexte inflammatoire

L'inflammation est une défense naturelle de l'organisme. Elle est définie comme une réponse de l'organisme à une agression tissulaire et cellulaire d'origine exogène (blessure, infection...) ou endogène (tumeur, hypersensibilité...). Elle est associée à de nombreuses maladies comme les infections, l'exposition à des allergènes, l'obésité, ou encore des maladies chroniques et auto-immunes. L'inflammation est étroitement liée à la production d'ERO, qui est nécessaire et contrôlée afin de répondre à l'agression. Il est connu maintenant que les ERO ont un rôle à chaque étape du processus de défense lors du processus inflammatoire. Les ERO interviennent dans la destruction des agents pathogènes et en plus faible proportion dans la signalisation.

1) Rôle anti-infectieux

Les cellules phagocytaires, impliquées dans la destruction des agents pathogènes, produisent des quantités importantes d'ERO. Le « burst oxydatif », ou explosion respiratoire, est le résultat de la production massive d'ERO en réponse à un contexte inflammatoire au sein des cellules phagocytaires décrit par Baldrige et Gerard en 1932 (126). Les phagocytes synthétisent et gardent des radicaux libres, et ils les libèrent lorsque des agents pathogènes doivent être détruits (3, 127). D'autres microbiocides sont obtenus grâce à la myéloperoxydase au niveau des lysosomes dans les cellules et dans les polynucléaires nucléophiles (128), et grâce à d'autres enzymes telles que le NO-synthase inductible retrouvé dans les macrophages (129) et la xanthine oxydoréductase (29).

2) Les espèces réactives de l'oxygène dans la régulation de l'inflammation

Lors de l'inflammation, les ERO produits ont aussi une fonction de régulation de cette dernière. En effet, les ERO interviennent dans la synthèse des molécules d'adhésion cellulaire et dans la synthèse de médiateurs de l'inflammation. Les cellules retrouvées en périphérie des tissus endommagés, c'est-à-dire les cellules endothéliales, les fibroblastes et les chondrocytes, ont la capacité, sous l'influence des ERO ou de cytokines, d'activer des facteurs de transcription et la transcription de gènes afin de réguler l'inflammation (24, 29). Comme il a été vu auparavant (cf. *supra*), les ERO ont la capacité de moduler la transcription de différents gènes, tels que des gènes intervenant dans la production de cytokines inflammatoires ou de molécules d'adhésion cellulaire, comme les gènes ICAM-1 (Intercellular Adhesion Molecule) et TNF α (Tumor Necrosis Factor) (113, 130) et ainsi participer à l'inflammation.

Cependant, étant donné le lien étroit qu'il existe entre inflammation et production d'ERO, la survenue d'un stress oxydant par excès de production d'ERO n'est pas rare. Une production en quantité excessive et incontrôlée est potentiellement délétère pour les cellules phagocytaires et les tissus environnants, car une partie des ERO peut diffuser ou est relarguée avec les déchets des phagocytes. Ainsi, une production excessive induit un environnement plus riche en ERO et aussi plus délétère pour les cellules environnantes et à terme pour les tissus environnants. Ce phénomène peut se retrouver aussi bien dans des phénomènes inflammatoires aigus que chroniques. Dans le cas de ces derniers, les altérations dues aux ERO sont importantes, car la forte production d'ERO dure et les capacités antioxydantes diminuent.

En ce qui concerne les lymphocytes B et T, l'implication des ERO a été démontrée après traitement avec des antioxydants *in vitro* (131) et *in vivo*. En effet, il y a une inhibition de la prolifération lymphocytaire et une régulation de la production de la cytokine IL-2 par les lymphocytes T ainsi qu'une diminution de leur expansion suite au traitement avec des antioxydants (132). Les ERO formées dans les mitochondries (133) sont impliquées dans les réponses aux attaques des micro-organismes par interaction avec les récepteurs des PAMP (Pathogen Associated

Molecular Pattern) et DAMP (Damage Associated Molecular Pattern). Il en est de même pour les lymphocytes B, qui une fois stimulés au niveau de leurs récepteurs membranaires, nécessitent la production d'ERO afin d'être activés et de proliférer (134)..

Toujours en lien avec ce rôle de second messager, les ERO interviennent dans d'autres processus et notamment celui de la contraction musculaire où l'oxygène y est utilisé de manière importante.

c. Activité musculaire et hyperoxie

Les animaux ont une masse musculaire variable en fonction des individus. Les muscles regroupent les muscles striés squelettiques, les muscles lisses et le muscle cardiaque. Les muscles striés squelettiques sont des assemblages de fibres musculaires correspondant à des cellules allongées qui contiennent en leur cytoplasme des myofibrilles à l'origine de la contraction musculaire.

L'activité physique consiste en l'ensemble des mouvements du corps produits grâce aux contractions musculaires. Ces contractions musculaires sont le résultat de la conversion d'une énergie chimique, fournie par l'ATP, en une énergie mécanique. L'énergie utilisée sous forme d'ATP nécessite la régénération rapide de ce dernier afin de maintenir les cycles de contraction-relaxation, car les quantités d'ATP dans l'organisme sont très faibles par rapport au besoin énergétique.

Les voies qui permettent la régénération de l'ATP sont :

- La voie des phosphagènes (anaérobiose alactique) : elle utilise la créatine kinase musculaire permettant de régénérer l'ATP par phosphorylation de l'ADP musculaire à partir de la créatine phosphate. Cette voie n'est possible que pendant quelques secondes suivant le début de l'effort, car les réserves en phosphocréatine restent limitées (135).
- La voie anaérobie lactique : celle-ci consomme du glucose afin de régénérer l'ATP grâce à la glycolyse. Cette voie produit également du lactate et dure environ 30 secondes.
- La voie aérobie : l'ATP est régénéré par la phosphorylation oxydative mitochondriale, ici le facteur limitant de la réaction sera la consommation en

dioxygène. Cette voie est utilisée pour des activités de longue durée et des efforts musculaires de type endurance.

L'implication de chacune de ces voies dépend de la durée et de l'intensité de l'effort physique.

1) Augmentation de la consommation en dioxygène

Dans les conditions basales, les faibles niveaux d'ERO participent à la fonction de la cellule contractile grâce à la signalisation cellulaire (136). Lors de l'exercice physique, il se produit une augmentation de la consommation en dioxygène et donc de la production d'ERO grâce au métabolisme aérobie, par l'intermédiaire des mitochondries. Lors d'exercices brefs et intenses, le métabolisme anaérobie contribue également à la génération d'ERO par l'intermédiaire de la xanthine oxydase sur le modèle du phénomène d'ischémie reperfusion (cf. *infra*).

C'est en 1982 que Davies et son équipe ont mis en évidence une augmentation des radicaux libres lors de la contraction musculaire suite à un exercice allant jusqu'à l'épuisement. Ils ont en parallèle mis en évidence des dommages cellulaires ainsi qu'une augmentation des marqueurs de peroxydation lipidique (137).

En médecine vétérinaire, ce phénomène a été étudié chez les chiens de travail et les chiens de traîneau (138). Tandis que des niveaux modérés d'ERO participent à la fonction de la cellule contractile grâce à la signalisation cellulaire (136), des exercices intenses apportent une production excessive d'ERO, car le métabolisme cellulaire est exacerbé, responsables de dommages des protéines et des lipides dans les cellules musculaires, générant des faiblesses musculaires et de la fatigue par dysfonction contractile (139). De plus, les lésions induites par des réactions d'oxydation peuvent endommager le tissu musculaire et de surcroît induire une réponse inflammatoire. Il existe un réseau d'antioxydants qui protège les fibres musculaires contre les lésions oxydantes pendant les périodes d'exercices prolongés et intenses. Une étude a montré la réduction plasmatique de la concentration en antioxydants chez les chiens de traîneau peu entraînés, lors d'exercices physiques sur trois jours consécutifs, par rapport à des chiens qui n'ont pas été soumis aux exercices (138). Ainsi, chez des chiens peu entraînés, les mécanismes antioxydants peuvent être non suffisants et non adaptés à une pratique d'exercice d'endurance répétitif.

2) Le phénomène d'ischémie reperfusion

L'ischémie entraîne une réduction des apports en substrat énergétique et en dioxygène d'une zone. Cette hypoxie conduit à une diminution de la phosphorylation oxydative et en conséquence et à la mise en place un métabolisme anaérobie permettant la synthèse d'ATP.

A cause du déficit en ATP, les transporteurs actifs primaires d'ions ne sont plus fonctionnels. Les flux ioniques suivent alors les gradients de concentration par les canaux ioniques, et entraînent une dépolarisation des membranes. Les transporteurs actifs secondaires ne sont alors plus fonctionnels (140).

L'ischémie résulte en une acidose intracellulaire et extracellulaire et donc en la libération de Fe^{3+} de la transferrine, et une turgescence des cellules par augmentation de l'osmolalité à cause de l'influx des ions. En raison de l'inhibition des transporteurs actifs et l'absence d'extrusion des ions Ca^{2+} , l'accumulation intracellulaire de Ca^{2+} , conduit à l'activation de nombreuses enzymes protéases, phospholipases et endonucléases (140). Tout ce contexte favorise l'entrée de la cellule dans un état de souffrance et initie une réaction inflammatoire (Figure 29).

Lors de la reperfusion, les ERO sont massivement libérées à cause de la défaillance de la chaîne mitochondriale et du contexte cellulaire inflammatoire important, ce qui est à l'origine d'une extension des lésions oxydantes du territoire ischémié par les ERO (141)....

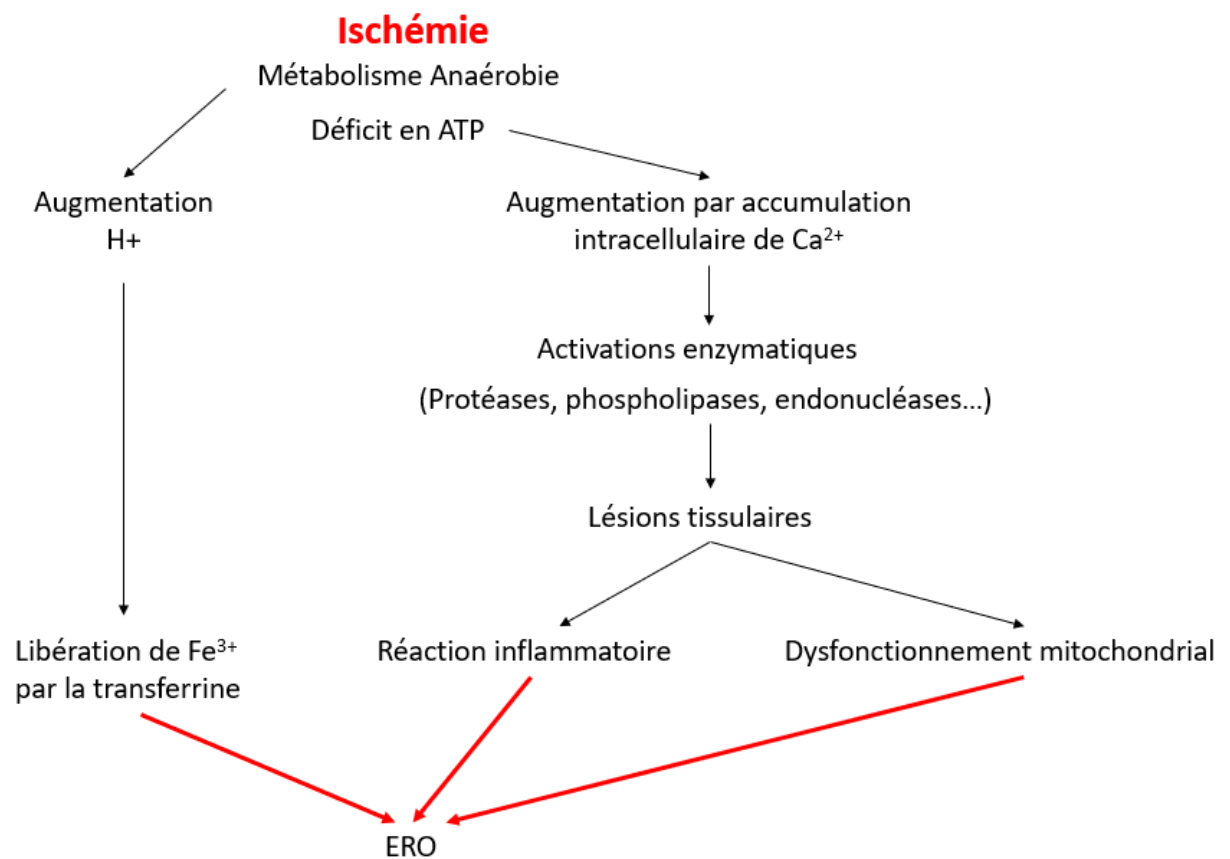


Figure 29 : Schéma des principaux mécanismes de formation des ERO lors d'un phénomène d'ischémie.

Au cours de la vie, la production d'ERO est continue car elle est impliquée dans de nombreux processus physiologiques. Ainsi les lésions peuvent s'accumuler et amener au processus naturel de vieillissement.

d. Senescence cellulaire

Le vieillissement est un processus continu et progressif d'altération naturelle. Il existe beaucoup de théorie sur le vieillissement classées en deux grandes catégories : les théories génétiques et les théories stochastiques. Les premières veulent que le vieillissement et la longévité soient génétiquement programmés et ainsi qu'il existe une longévité maximale (142). Ces premières théories sont exactes si l'on considère les espérances de vie différentes entre les différentes espèces animales ou encore au sein d'une même espèce en fonction du format de l'animal. Les secondes font intervenir les événements aléatoires et les effets néfastes de l'environnement qui accumulent des modifications cellulaires, puis tissulaires... Notamment la radiolyse de l'eau, qui sont les premières conséquences des facteurs environnementaux et qui conduisent à la formation des ERO. Ainsi, l'amélioration des facteurs environnementaux et des conditions de vie, permettrait de se rapprocher de la longévité maximale.

Depuis, les années 50, une autre théorie a été avancée. Elle soutient que le phénomène global de vieillissement serait associé à la dégradation des constituants cellulaires par les ERO à cause des dommages cumulatifs et notamment au niveau mitochondrial. En 1956, on parle de la théorie radicalaire du vieillissement (143, 144). Avec l'âge, les mitochondries subissent des dommages croissants par les ERO car ce sont les premières « cibles » du processus et leurs fonctions sont progressivement diminuées, tandis que la production d'ERO croît inexorablement à cause de l'altération du processus de transfert d'électrons. Ainsi, un cercle vicieux s'installe. Afin d'étayer cette hypothèse, des études ont été menées sur l'effet d'une restriction de l'ingéré calorique sur l'espérance de vie maximale, car cet ingéré joue sur la consommation d'oxygène. Bien que cela n'ait pas été vérifié dans toutes les espèces, notamment pas chez les oiseaux qui ont un métabolisme rapide (145, 146), mais il semblerait que la longévité soit prolongée par une diminution de l'ingéré calorique.

L'oxydation des protéines est impliquée dans leur vieillissement moléculaire. Les modifications dues à l'oxydation des protéines ont pour conséquence une modification de leur stabilité, des changements conformationnels avec, par exemple,

la formation d'agrégats (1). Les protéines intervenant dans la réparation de l'ADN, lorsqu'elles sont modifiées par l'oxydation, concourent au vieillissement accéléré (71). De plus, si ces protéines jouent un rôle dans l'architecture tissulaire, par exemple de la matrice extracellulaire, ces modifications vont être responsables d'une perte des propriétés mécaniques des tissus. Par exemple, l'actine impliquée dans de nombreux processus cellulaires architecturaux ou cinétique, est un assemblage protéique très sensible à l'oxydation (91), ce qui a pour conséquence d'endommager ses fonctions comme la contraction musculaire.

Les télomères sont très sensibles aux dommages oxydatifs, étant donné qu'il existe peu de capacités de réparation comparés à d'autres loci du chromosome (147). Ainsi, leur raccourcissement progressif concourt au vieillissement de l'ADN et à la sénescence cellulaire.

Le stress oxydant a de nombreux effets sur une multitude de cibles. Il est donc difficile de déterminer quel est l'effet le plus toxique ou le plus important et de suivre son évolution au cours d'un traitement médical d'une maladie où son implication serait majeure. Le vieillissement est associé à la fois à une production accrue d'ERO et de pro-oxydants, à une diminution des systèmes anti-oxydants, à une augmentation de la concentration en constituants cellulaires oxydés et à une efficacité diminuée des systèmes de réparation des dommages (72). Néanmoins, il est illusoire de considérer le stress oxydant comme la cause unique du vieillissement ou de maladies dégénératives liées à l'âge. Ils évolueraient en synergie.

A cause de ces dommages cellulaires, l'organisme se retrouve plus sensible aux affections. Le cerveau est un organe particulièrement sensible au stress oxydant en raison d'une forte consommation en dioxygène et de sa richesse en acides gras polyinsaturés. Dans le tissu nerveux, un déséquilibre dans la balance prooxydant et antioxydant peut entraîner des processus dégénératifs.

A.2 Déficit en antioxydants

Le stress oxydant peut être également une conséquence d'un déficit des systèmes antioxydants entraînant l'accumulation d'ERO. Ces déficits peuvent être des carences primaires caractérisées par des apports exogènes insuffisants ou des carences secondaires caractérisées par des défauts d'utilisation.

a. Carences primaires

Les apports recommandés pour les carnivores domestiques sont détaillés dans le tableau 5.

Tableau 5 : Recommandations nutritionnelles (148). MS = Matière sèche

Éléments	Apport recommandé	Aliments naturellement riches
Vitamine E	Chien adulte : 50 UI/kg MS Chat adulte : 30 UI/kg MS	Huiles végétales, graines et céréales
Vitamine A	Chien adulte : 5,050 IU/kg MS Chat adulte 6,667 IU/kg MS	Huile de poisson, foie, œuf
Sélénium	Chien adulte : 0.11mg/kg MS Chat adulte : 0.1mg/kg MS	Poissons
Cuivre	Chien adulte : 7.3 mg/kg MS Chat adulte : 5 mg/kg MS	Abats, foie de ruminant
Fer	Chien adulte : 30 mg/kg MS Chat adulte : 80 mg/kg MS	Foie, rate, poumon

Le tableau ci-dessus montre les apports de certains éléments ayant un rôle dans la balance redox des cellules et nécessaires à des carnivores domestiques adultes. Ce sont les recommandations en quantité de nutriments contenue dans la matière sèche de l'aliment. Elles permettent une couverture antioxydante chez l'animal adulte sain.

Les antioxydants comme la vitamine E, la vitamine C et les caroténoïdes (provitamine A) sont apportés par les aliments. Chez les carnivores domestiques,

plusieurs régimes alimentaires existent : croquettes, pâtées, BARF (Biologically Appropriate Raw Food), rations ménagères... Certains de ces régimes sont déjà équilibrés afin de répondre aux besoins nutritionnels de l'animal. D'autres régimes comme le BARF (Biologically Appropriate Raw Food), caractérisé par une alimentation basé sur l'apport d'os charnus, de viande crue, d'abats, de fruits et de légumes, sans l'ajout d'aucun additifs, représentent un apport plus faible en vitamines et minéraux (149, 150). Le chat comme le chien produisent eux-mêmes leur vitamine C en quantité suffisante, contrairement à la vitamine E qui doit être apportée par l'alimentation. La vitamine E se trouve dans les huiles végétales, les céréales, les légumes verts et les polyphénols dans certains fruits. Elle est détruite par la chaleur, le contact à l'air et l'exposition à la lumière.

Les principales carences en vitamines retrouvées avec le régime BARF sont les vitamines liposolubles et notamment la vitamine E. Le sélénium est un oligo-élément, qui, associé à la vitamine E, est un protecteur antioxydant, il subit un apport déséquilibré dans les régimes BARF (151).

b. Carences secondaires

Certains auteurs rapportent une carence en vitamines qui pouvant être en lien avec la présence de lésions intestinales et d'une diminution de l'absorption intestinale de ces anti-oxydants (152).

Les besoins en vitamines et minéraux sont normalement fournis par l'alimentation si elle est complète et équilibrée. Cependant, le besoin en vitamines diffère selon le stade physiologique d'un animal. Les recommandations nutritionnelles sont effectivement plus élevées chez les chiots et les chatons que chez les animaux adultes (148). Avec l'âge, comme la masse maigre (tissu métaboliquement actifs) diminue au profit de la masse grasse, il est logique d'envisager une diminution des dépenses énergétiques ainsi que des besoins. Néanmoins, dans les faits, les besoins en antioxydants restent élevés en raison d'une plus faible disponibilité des nutriments. En effet, une étude faite chez le chat (153), a montré que la digestibilité des nutriments diminue chez les chats âgés à cause des altérations de la fonction du tractus gastro-intestinal.

Les phénomènes chroniques participent également à la diminution des capacités antioxydantes. En effet, dans le cas de maladie intestinale chronique par exemple, la

chronicité de l'inflammation réduit l'efficacité de la défense antioxydante. De plus l'âge serait que la cause majeure de la diminution des capacités antioxydantes est (154) (cf II.A.4). Il faut également apporter un soin à l'appétence, particulièrement chez le chat qui peut être difficile dans l'acceptation de certains aliments selon leur texture et leur saveur (155).

Il est nécessaire d'avoir une bonne gestion nutritionnelle chez les carnivores domestiques afin de couvrir les besoins de l'organisme. La taille joue aussi un rôle, puisque les recommandations nutritionnelles en vitamines et autres sont calculées par kilogramme de masse corporelle (148). Il faut donc faire attention à l'augmentation des besoins lors de la croissance, la gestation, la lactation ou lors d'efforts physiques importants ou lors de maladies.

B. Stress oxydant dans des maladies chez les carnivores domestiques

L'atteinte oxydative des biomolécules peut amener au développement de divers affections. Il existe de nombreuses maladies liées au stress oxydant en médecine humaine comme en médecine vétérinaire.

Les maladies ayant un caractère radicalaire chez le chien sont : les dégénérescences neuronales, certaines maladies cardio-vasculaires, les maladies cancéreuses, les maladies inflammatoires.

B.1 Maladies cancéreuses

Les dommages les plus graves sont ceux qui affectent l'information génétique. Comme nous l'avons décrit précédemment, les lésions oxydantes de l'ADN par les ERO peuvent engendrer des modifications de l'information génétique conduisant à des mutations. A terme, ces mutations provoquent l'émergence de cancers. Les cancers sont des proliférations cellulaires, ayant une croissance et une multiplication excessives par rapport aux tissus normaux.

Le cancer est la principale cause de mortalité chez les chiens âgés parmi différentes affections (156, 157). Chez les chats, les affections tumorales les plus fréquemment rencontrées sont les lymphomes, les carcinomes épidermoïdes et les carcinomes mammaires (tumeurs des glandes mammaires) (158). Chez les chiens, les affections tumorales les plus fréquentes sont celles de la peau (adénomes), des glandes mammaires et les lipomes (158). Le taux de cas de cancers augmente avec l'âge de l'animal.

Une étude menée par Valko et al. montre l'implication directe du stress oxydant dans le processus de cancérogenèse (159). Il agit sur la survenue de mutations dans l'ADN, l'amplification de la signalisation et permet la croissance et la multiplication cellulaire, ainsi que sur l'inhibition de certains gènes suppresseurs de tumeurs.

Une étude menée par Winter et al., a permis d'évaluer le statut antioxydant et les biomarqueurs du stress oxydant chez des chiens atteints de lymphomes par rapport aux chiens témoins sains (160). Les résultats montrent une altération de la

concentration en antioxydant et une augmentation des marqueurs d'oxydation. Dans des études menées en 2013, il a été montré des taux de MDA significativement plus hauts chez 80 chiens atteints de différents cancers par rapport à des chiens sains (Figure 30) (161).

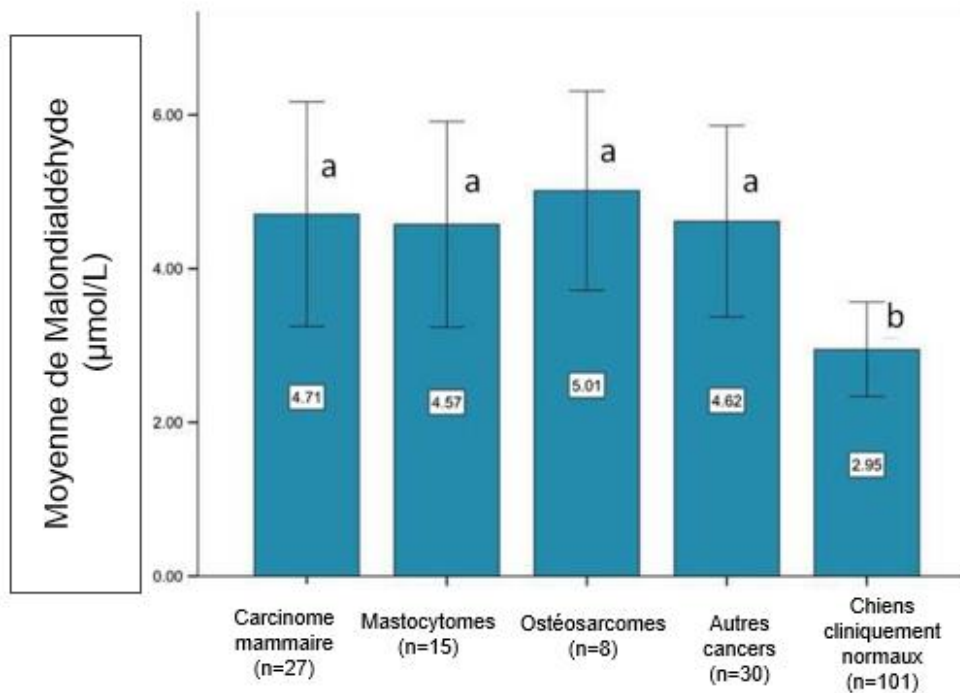


Figure 30 : Niveaux moyens de MDA chez les chiens de différents types de cancer et les chiens cliniquement normaux d'après Winter et al. (161).
Les moyennes avec la même lettre (a ou b) ne sont pas significativement différentes.

Néanmoins cette dernière étude ne permet pas de dire si le stress oxydant provoque les cancers ou si c'est le contraire.

La signalisation cellulaire nécessite une balance de stress oxydant équilibrée afin de ne pas conduire à l'apoptose des cellules cancéreuses. C'est pourquoi, certains médicaments de chimiothérapie sont des oxydants qui ont pour but d'induire des dommages aux cellules cancéreuses par des mécanismes cytotoxiques (162). Ces médicaments sont les agents alkylants, les anthracyclines, des dérivés de podophylline... Mais ces médicaments ont des effets secondaires cytotoxiques sur

les cellules et les tissus de l'organisme à cause de leur mécanisme d'action pro-oxydant.

B.2 Maladies neurodégénératives

Tout d'abord, le stress oxydant est impliqué dans des maladies dégénératives. Les maladies neurodégénératives sont celles qui vont être les plus facilement observées à cause de l'incapacité de régénération des neurones. L'activité catabolique et la réparation de l'ADN sont des activités réduites dans les cellules neuronales. Ainsi, l'accumulation de lésions oxydantes conduit à la mort cellulaire. Les lésions cellulaires et tissulaires sont irréversibles et ont pour conséquence l'apparition de maladies neurodégénératives.

Le syndrome de dysfonctionnement cognitif canin est une maladie neurodégénérative chez le chien. Il touche jusqu'à 23% des chiens âgés de 12 à 14 ans. Il se manifeste principalement par une désorientation, une réduction des interactions sociales, des cycles circadiens altérés, de la malpropreté, de l'anxiété et des altérations des activités normales. Il résulte de l'accumulation d'oligomères A β (Amyloïde B) dans le cortex cérébral. Le principal facteur de risque est le vieillissement avec l'augmentation du stress oxydant. Ce syndrome est considéré comme l'équivalent de la maladie d'Alzheimer chez l'Homme dont le point de départ est l'accumulation de peptides amyloïdes dans les neurones.

Aucun lien de causalité n'est clairement établi, mais les peptides amyloïdes seraient capables de générer des ERO (163, 164). Le laboratoire ayant mené ces études affirme que le stress oxydant concourt à la progression de la maladie, par la peroxydation lipidique et l'oxydation de protéines. Les dommages oxydants des protéines contribuent à la mort neuronale par quatre processus : une diminution du métabolisme du glucose, une activation mTOR (mammalian Target Of Rapamycin), une activation d'un réseau de protéases et des phosphorylations protéiques altérées. Le mTOR est un contrôleur central de la croissance cellulaire en réponse à des facteurs de croissance et de nutrition(165). Ce dernier, une fois activé, conduit à

l'inhibition de l'autophagie et ainsi à l'accumulation de débris cellulaires et d'organelles endommagées, cela conduit alors à la mort neuronale.

B.3 Maladies cardiovasculaires

a. L'insuffisance cardiaque

En ce qui concerne les maladies cardiaques, les plus fréquentes chez le chien sont la maladie dégénérative de la valve mitrale (MVD) (75 à 80% des cas) (166) et la cardiomyopathie dilatée (CMD) (167). La MVD est la conséquence d'une dégénérescence de la valvule avec l'âge et donc un défaut d'étanchéité conduisant à des reflux sanguins à l'intérieur du cœur. On retrouve cette maladie plus fréquemment chez les chiens de petite taille et âgés. La MVD est similaire au prolapsus de la valve mitrale chez l'humain (168). Lors d'aggravation de ces maladies, des complications apparaissent. Ces dernières se manifestent par des œdèmes pulmonaires, conséquence de l'insuffisance cardiaque gauche, une rupture des cordages tendineux, une rupture de l'atrium gauche... Si aucun traitement n'est mis en place, cela entraîne la mort de l'animal. Chez les chiens de grande taille, c'est la CMD qui est la plus fréquente.

Des études montrent qu'il n'y a pas de différence dans les biomarqueurs du stress oxydant entre les chiens atteints de MVD ou CMD. Cela supposerait que les dommages observés sont le résultat de l'insuffisance cardiaque et pas d'une des deux maladies en particulier (169). Mais ce résultat est à prendre avec précaution, car l'étude n'inclut que vingt chiens. Les travaux de Cesselli ont démontré que l'apoptose des cellules cardiaques résultant d'un stress oxydant précède la décompensation ventriculaire et détériore la fonction cardiaque. Ce stress oxydant provient des maladies précédemment citées et cause la mort cellulaire (170). Dans cette même étude, après l'induction d'une congestion cardiaque, les fragments de p53 augmentent, ce sont des fragments libérés lors de lésions oxydantes de l'ADN, et il y a également une augmentation de nitrotyrosine (provenant de la nitrotyrosylation donc de l'oxydation des protéines) qui conduisent eux aussi à la mort cellulaire. Il est mis en évidence une modification des fonctions mitochondriales

et de la distribution du calcium, ces modifications mènent aussi à une production de radicaux oxygénés à l'origine des morts cellulaires. De plus, la quantité en enzymes antioxydantes diminue dans le cœur décompensé (171). L'apoptose concerne les myocytes en majorité, mais également les fibroblastes et les cellules endothéliales. Les myocytes interviennent dans la contractibilité, les fibroblastes dans la dilatation du cœur. L'apoptose des cellules endothéliales a un impact dans l'oxygénation du cœur (170).

Nous avons vu précédemment que la xanthine oxydase avait un rôle important dans la production d'espèces réactives de l'oxygène. Or, d'après Ekelund et al., l'activité de cette enzyme dans le myocarde est quatre fois plus élevée chez les chiens atteints d'insuffisance cardiaque que chez les chiens sans insuffisance cardiaque (Figure 31) (172).

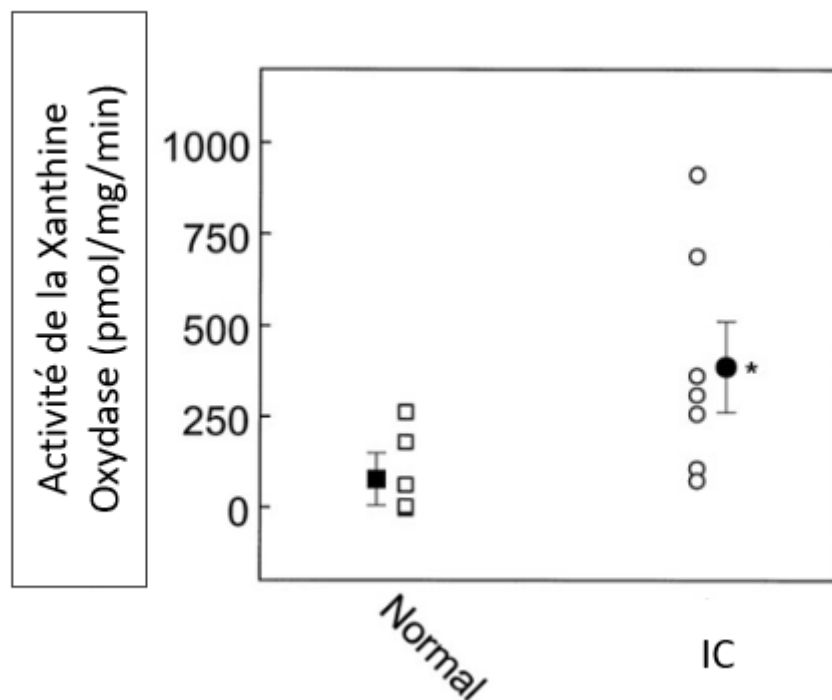


Figure 31 : Activité de la xanthine oxydase dans le myocarde de chiens sains (Normal) et dans celui de chiens atteints d'une insuffisance cardiaque (IC), d'après Ekelund et al. (172)
 Les échantillons de myocarde ont été obtenus immédiatement après l'euthanasie des chiens. Les extraits ont été incubés avec de la xanthine et un suivi spectrophotométrique a permis de quantifier la production d'acide urique.

Une autre étude réalisée par Zhang et al., a montré l'importance des antioxydants dans les maladies cardiaques. En effet, l'étude montre qu'un régime pauvre en

sélénium provoque des dommages mitochondriaux importants, et provoquent une augmentation significative en ERO qui à terme provoque un dysfonctionnement cardiaque (173). Par exemple, un chiot diagnostiqué avec une cardiomyopathie a montré des signes de carence en sélénium-vitamine E et avait une distension du ventricule gauche (174).

b. L'hypertension

L'hypertension est un trouble provenant de l'interaction entre différents facteurs : la génétique, l'environnement, l'anatomie, les systèmes neuronaux, endocrinien, humoral et hémodynamique. Récemment, le stress oxydant et l'inflammation sont cités comme les principaux moteurs dans les mécanismes d'hypertension.

L'expression et l'activation des NOX sont augmentées en cas d'hypertension ce qui peut être la cause des lésions des organes cibles de l'hypertension à savoir les cellules cardiovasculaires et rénales (175). Les ERO sont produits en réponse à la signalisation cellulaire par l'activation de système comme le système rénine-angiotensine, aldostérone, ou suite à l'activation du système nerveux sympathique. Ce système détecte une baisse de la pression artérielle au niveau du rein. Ce dernier libère la rénine dans le sang, il convertit l'angiotensine en angiotensine I. Puis l'angiotensine I est catalysé en angiotensine II grâce à une enzyme de conversion. Ce système permet la libération de l'aldostérone et de la vasopressine afin de permettre la rétention d'eau dans le secteur vasculaire (176). Tout ceci entraîne une production accrue d'ERO entraînant des dommages, un remodelage vasculaire et une inflammation. Les lésions vasculaires vont provoquer une résistance périphérique accrue et donc une augmentation de la pression artérielle (175), intensifiées avec l'âge. En effet, avec l'âge il y a une augmentation du stress oxydant, des signaux anormaux et une capacité antioxydante décroissante (177).

B.4 Troubles ostéo-articulaires

L'arthrose est un processus qui se développe au sein des articulations de manière progressive et irréversible. Elle est la résultante d'un déséquilibre de l'homéostasie du cartilage, avec une prédominance du catabolisme. Les symptômes sont principalement la douleur. Chez le chat, l'expression de la douleur diffère de celle du chien (178). Tandis que le chien présentera de la boiterie, de la raideur, des anomalies de la démarche, c'est la diminution d'activité qui prédominera chez le chat, avec un « chat qui dort beaucoup » selon les propriétaires (179, 180).

L'arthrose peut être primaire à cause d'une modification des propriétés de la matrice cartilagineuse, qui influence secondairement les propriétés mécaniques du cartilage. Les origines peuvent être auto-immunes, inflammatoires, métaboliques et génétiques... L'arthrose peut être secondaire lorsque les forces mécaniques appliquées sur le cartilage sont anormales. Cette dernière est la plus fréquemment retrouvée chez le chien adulte que chez le chat. Elle est le plus souvent due à des affections articulaires (dysplasie, luxation rotulienne...), des traumatismes répétés ou une surcharge pondérale (181).

Les chondrocytes sont les cellules constituantes du cartilage. Ils vivent dans un environnement avasculaire et avec un faible apport en dioxygène. Leur métabolisme est donc adapté à ces conditions. Leur fonctionnement métabolique est permis par le liquide synovial et son apport en énergie et dioxygène.

Une étude réalisée *in vitro* a mis en évidence le phénomène et le rôle de la production d'ERO par les chondrocytes (179) dans la dégradation de la matrice cartilagineuse. En effet, les chondrocytes sont activés par les stimulations mécaniques et par des médiateurs de l'inflammation synoviale et synthétisent à leur tour des médiateurs de l'inflammation et des métalloprotéases. L'utilisation d'enzymes antioxydante comme la catalase et la superoxyde dismutase n'a pas eu d'impact sur les dommages de la matrice cartilagineuse. A l'inverse, l'utilisation de la vitamine E, à des concentrations physiologiques, a permis de diminuer les dommages engendrés à la matrice. Ces résultats montrent l'implication d'un processus de peroxydation lipidique dans le mécanisme de dégradation de la matrice (179). Au cours du processus inflammatoire, des ERO sont formées. Les ERO sont

largement impliqués dans la pathogénie de ce processus dégénératif. Une autre étude a démontré que l'injection intra-articulaire d'un inhibiteur de NOS (Oxyde Nitrique Synthase) a réduit l'érosion du cartilage, prouvant son implication dans cette dernière (182).

La matrice cartilagineuse est composée de protéoglycanes et de collagènes qui sont des protéines pouvant subir des modifications par oxydation (changements structuraux, des activités biologiques altérées) pouvant provoquer la mort cellulaire. La libération de contenu cellulaire dans l'articulation contribue à l'entretien de l'inflammation synoviale et à la formation d'un cercle vicieux (183).

Bilan : Ces maladies montrent l'importance du stress oxydant dans la survenue et l'entretien des mécanismes nocifs pour l'organisme. La vie de l'animal est altérée et ces maladies peuvent conduire à la mort prématurée de l'animal. Le stress oxydant peut intervenir avant la maladie mais aussi pendant, entraînant un véritable cercle vicieux. Ainsi, il est important de diagnostiquer l'apparition de ce stress oxydant et de fournir à l'animal des moyens de prévention et de défense antioxydante.

C. Mesurer et lutter contre le stress oxydant chez les carnivores domestiques

Il serait intéressant de pouvoir mesurer et évaluer le stress oxydant afin d'évaluer son implication et de prévenir les maladies. Les mesures permettent également d'évaluer l'efficacité des schémas thérapeutiques ou préventifs mis en place.

L'évaluation du stress oxydant inclut la mesure des produits des réactions d'oxydations, la mesure des ERO et la quantification d'antioxydants endogènes. Ces marqueurs sont aujourd'hui considérés comme des marqueurs de stress oxydant.

C.1 Mise en évidence du stress oxydant

Le stress oxydant peut être mis en évidence par détermination dans différents fluides biologiques, le sang et les urines :

- des radicaux libres ;
- des systèmes antioxydants (enzymatiques et non enzymatiques) ;
- indirectement, par les lésions cellulaires induites par les radicaux libres.

a. Détermination des radicaux libres

L'instabilité et la durée de vie très brève des radicaux libres rendent leur dosage quantitatif direct quasiment impossible. Néanmoins, il existe des techniques de spectroscopie de résonance paramagnétique électronique qui détectent les électrons non-appariés (RPE). Comme la durée de vie des ERO est extrêmement courte pour les radicaux $\cdot\text{OH}$ et les anions superoxyde $\text{O}_2^{\cdot-}$, une réaction de « spin trapping » peut être mise en place afin d'augmenter leur durée de vie (91). C'est une réaction d'addition entre un radical et un autre élément afin de produire un radical libre plus stable, mais ces techniques ne se font que dans des laboratoires hautement spécialisés.

b. Les antioxydants :

Le mesure des antioxydants dans le sang ou dans les tissus peut être utilisée comme un indicateur de stress oxydant mais il est important d'avoir une valeur seuil et de s'assurer de l'apport de l'alimentation en parallèle. Les méthodes les plus utilisées sont des méthodes spectrophotométriques et chromatographiques pour la mesure des activités enzymatiques (91).

Il est possible de mesurer l'activité de plusieurs enzymes dans le plasma ou le sérum : SOD, Glutathion peroxydase, Glutathion reductase et Catalase. En ce qui concerne les antioxydants non enzymatiques, il est possible de mesurer certains antioxydants lipophiles (α -tocopherol, β -carotène, ubiquinol) et hydrophiles (acide ascorbique, glutathion) (102). Il est possible de mesurer le glutathion ainsi que le ratio glutathion oxydé sur glutathion réduit, bien que cette dernière technique soit moins fiable car il est possible que le glutathion soit spontanément oxydé *ex-vivo*.

Cependant beaucoup de substances jouent un rôle antioxydant et interagissent les uns envers les autres et la mesure d'un unique anti-oxydant serait une erreur. Il serait nécessaire d'évaluer plusieurs anti-oxydants afin d'être fiable, ce qui implique un coût plus élevé.

c. Produits de dégradations

Les autres marqueurs proposés sont le résultat des dommages des attaques radicalaires tels que les peroxydes lipidiques ; on peut citer le malondialdéhyde, les isoprostanes, la 8-oxo-guanine et le thymine glycol pour l'ADN, et des produits variés pour l'oxydation des protéines incluant les composés carbonylés, l'hydroxyleucine, l'hydroxyvaline, et la nitrotyrosine (160, 184, 185).

i. Marqueurs issus de l'oxydation des lipides

Les lipides sont les substrats les plus attaqués par les ERO. Ainsi la peroxydation lipidique est un bon marqueur de stress oxydant. Les marqueurs qui peuvent être mesurés sont le malondialdéhyde (Figure 32), les diènes conjugués, les alcanes à chaîne courte, ce sont les produits de terminaisons. L'évaluation du malondialdéhyde est le test le plus utilisé et est fondé sur la réactivité avec l'acide thiobarbiturique. Le

problème est que le malondialdéhyde n'est pas un produit spécifique de la peroxydation lipidique.

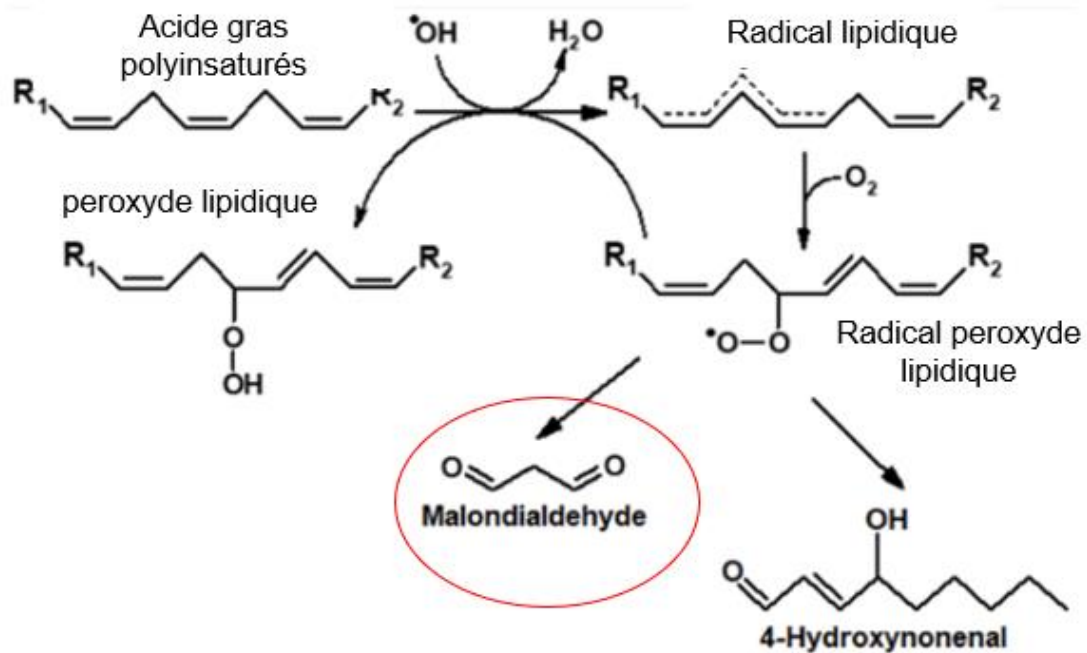


Figure 32 : Formation du malondialdéhyde après l'attaque d'un acide gras polyinsaturé par un radical oxygéné d'après Lankin et al. (184).

Les isoprostanes (Figure 33) sont définis comme les marqueurs les plus accessibles du stress oxydant et de la peroxydation lipidique *in vivo*. Ils sont formés lors de l'attaque de l'acide arachidonique des membranes cellulaires par les ERO et sont donc de bons marqueurs de peroxydation lipidique (185). Ce sont des molécules chimiquement stables et produits en quantité abondante lors de stress oxydant. Des études ont montré une corrélation entre la concentration en F₂-isoprostane et les dommages tissulaires chez les animaux. La mesure F₂-isoprostane présente de nombreux avantages : ce composé est chimiquement stable, résulte spécifiquement de la peroxydation lipidique et il est détectable dans une variété de tissus et fluides biologiques(186). Une corrélation significative entre sa concentration et les dommages tissulaires a été observé. De plus, ce marqueur n'est pas influencé par l'alimentation (185).

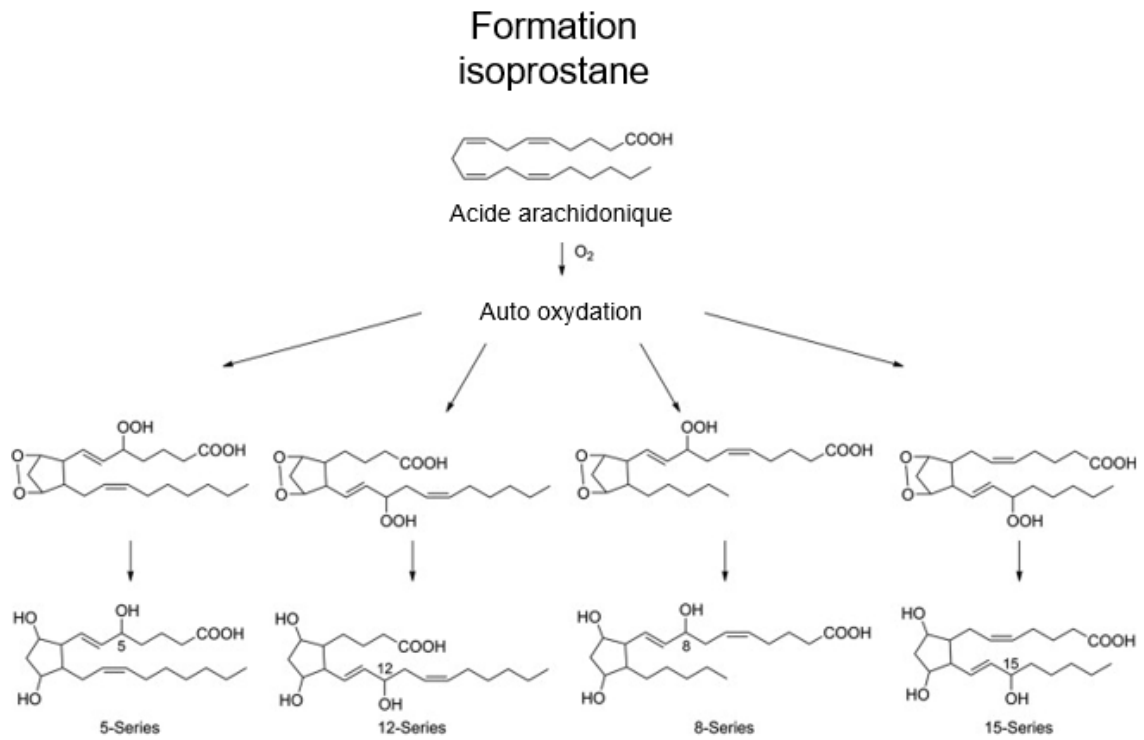


Figure 33 : Mécanisme de formation des isoprostanes à partir de l'acide arachidonique d'après Weinberger et al. (187)

ii. Marqueurs issus de l'oxydation des protéines

En ce qui concerne les marqueurs de l'oxydation des protéines et des acides aminés, les méthodes de mesures sont des méthodes spectrophotométriques à 370 nm. Elles permettent de mesurer l'ensemble des composés carbonylés et dicarbonylés provenant de l'oxydation des protéines et des chaînes latérales de certains acides aminés. Pour la mesure sur plasma ou sérum, il est nécessaire d'avoir des quantités importantes de protéines pour être fiable (supérieure à 10 mg de protéines). La méthode ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay) a été ensuite proposée et nécessite de plus faibles quantités de protéines (60µg de protéines).

iii. Marqueurs issus de l'oxydation de l'ADN

La mesure de l'action des ERO sur l'ADN est faite grâce à leur action sur la guanine et consiste en la mesure du produit 8-OH-2'-deoxyguanosine. Ce dernier est utilisé en médecine humaine comme biomarqueur afin de mesurer les dommages endogènes à l'ADN et comme facteur de risque pour de nombreuses maladies. Les méthodes d'analyses quantitatives utilisées sont la chromatographie liquide haute performance avec détection électrochimique, la chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse.

Bilan : Il est intéressant de mesurer ces marqueurs dans des cadres préventifs afin d'évaluer le statut pro-oxydant et antioxydant de l'animal, dans des cadres curatifs afin d'évaluer l'efficacité des traitements, ou au cours du suivi de maladies où le stress oxydant aurait une implication.

C.2 Prévenir le stress oxydant

Afin de prévenir la survenue d'un stress oxydant et ses dommages, les possibilités seraient de diminuer la production d'ERO, d'augmenter la quantité d'antioxydants, ou piéger ces derniers.

Tout d'abord, il est nécessaire d'avoir un contrôle de l'ingéré calorique car cela diminuerait la consommation du corps en dioxygène et donc diminuerait les risques de formation de radicaux libres (146).

Par ailleurs, l'organisme a besoin d'antioxydants qui soient aussi bien hydrosolubles afin de pouvoir atteindre les fluides extracellulaires et les milieux intracellulaires, que des antioxydants liposolubles qui agissent dans les membranes et des organites intracellulaires.

Des études ont permis de retenir un complexe antioxydant optimal chez le chien qui serait la vitamine E, la vitamine C, le bêta carotène, la superoxyde dismutase et les polyphénols (188). Dans l'alimentation du chien, les légumes tels que la carotte et le potiron peuvent être des sources de bêta-carotène. La vitamine E se trouve dans

les huiles végétales, les céréales, les légumes verts et les polyphénols dans certains fruits. Elle est détruite par la chaleur, le contact à l'air et l'exposition à la lumière. On la trouve en quantité importante dans les légumes verts et les fruits frais, surtout les agrumes (citron, orange, pamplemousse...), mais il est nécessaire d'ajouter des additifs nutritionnels afin de couvrir les besoins en vitamines et oligoéléments.

Des études récentes (189), menées sur des chiens policiers, exposés à des exercices intenses, ont montré les effets bénéfiques d'une supplémentation en aliments riches en lipides comme l'acide docosahexaénoïque et l'acide eicosapentaénoïque. Dans ces études, une réduction significative des marqueurs de peroxydations lipidiques a été obtenue.

Comme nous l'avons vu précédemment, la vitamine E est un important chélateur de radicaux libres membranaires. Sa supplémentation amène à de nombreux bénéfices sur la santé des carnivores domestiques (190, 191). Elle est régénérée grâce à la vitamine C, qui est l'antioxydant hydrosoluble le plus abondant et qui est capable de détruire de nombreux radicaux libres (peroxydes, thiols, hydroxyles etc...). Néanmoins cette vitamine peut se transformer en substance pro-oxydante en présence de métaux de transitions sous forme libre (fer, cuivre) (192). Le chien et le chat sont capables de synthétiser eux-mêmes la vitamine C (148), mais il est possible également de supplémenter les carnivores domestiques en faisant attention aux risques de réduction de pH urinaire et ainsi de formation d'urolithe, notamment chez le chat (193).

En ce qui concerne les enzymes, elles sont difficiles à valoriser nutritionnellement chez le chien. En effet, ce dernier ayant un pH gastrique bas, l'enzyme peut être détruite. Néanmoins, il a été mis en place une SOD protégée par des gliadines dans le melon qui peut survivre à l'acidité gastrique du chien (188, 194), qui serait donc très intéressante à utiliser en pratique. De plus, lors d'entraînements réguliers, les activités physiques favorisent l'activité des enzymes antioxydantes dans les muscles exercés (195, 196).

Toutes ces complémentations, en synergie, permettent à l'animal d'avoir un meilleur statut antioxydant de l'organisme.

C.3 Réduire le stress oxydant

Le stress oxydant est complexe, il n'y a pas d'agent unique qui pourrait améliorer le stress oxydant. Après l'avoir identifié, le stress oxydant peut être réduit, pour cela trois points peuvent être ciblés. Ils sont les mêmes que ceux ciblés par le préventif.

Comme dans le cadre des mesures préventives, la vitamine C peut être proposée. Néanmoins comme cela a été dit son apport doit rester limité (cf. *supra*). Elle se révèle bénéfique pour les maladies des artères coronaires, et les maladies endothéliales (197). Il faut néanmoins faire attention à son action pro-oxydante dans les moments où il y a un taux élevé de métaux libres.

Certaines molécules ont le potentiel de bloquer la formation d'ERO. Ces molécules sont Le N-acetylcysteine, le S-Adenosylmethionine et l'allopurinol. Le N-acetylcysteine (NAC) permet d'apporter les cystéines nécessaires afin que la production de glutathion ne soit pas limitée. Il est aussi un bon capteur de radicaux hydroxyles et d'acide hypochlorique. Un traitement à base d'N-acetylcysteine protège des dégâts provoqués par des endotoxines (198), des radiations (199), et des dégâts de gaz toxiques sur les poumons (200). Cette molécule possède aussi un rôle cardioprotecteur dans le syndrome d'ischémie-reperfusion. Le S-Adenosylmethionine (SAM) est un donneur essentiel de méthyle dans les réactions de méthylation, d'amino-propylation et de transsulfuration. Il aide ainsi à la génération de cystéine. Ainsi SAM et NAC peuvent être utiles pour le traitement d'animaux avec des maladies inflammatoires aussi bien que ceux avec un stress oxydant (201). L'allopurinol est un inhibiteur de la xanthine oxydase. C'est également un piègeur d'ion fer mais ce dernier étant central dans beaucoup de processus biologiques, l'allopurinol aurait des effets potentiellement toxiques. Il agit également comme piègeur de radicaux hydroxyles, il inhibe l'agrégation plaquettaire et augmente la vasodilatation. Chez le chat, lors d'ischémie reperfusion expérimentalement induite, il intervient dans l'atténuation de l'infiltration neutrophilique et dans la diminution de la perméabilité microvasculaire (202).

Des études faites sur des chiens castrés ont montré qu'un traitement à base de mélatonine augmenterait l'activité antioxydante par son rôle de capteurs des radicaux (cf. paragraphe sur les mécanismes de contrôles) et diminuerait la quantités

de produits d'oxydation sans effets indésirables sur les enzymes hépatiques et sur la fonction rénale (203). L'effet protecteur d'autres substances antioxydantes, capteurs de radicaux, a été évalué dans des cultures de cellules endothéliales aortiques de chiens, soumises à l'action de peroxyde d'hydrogène. Ces études ont montré les effets de la taurine et de L-carnitine ainsi que des isoflavones comme piègeurs de radicaux libres (204).

C.4 Mesurer en pratique

Des laboratoires vétérinaires mettent aujourd'hui à disposition des analyses afin de mesurer le stress oxydant. Mais ces laboratoires et ces techniques sont rares et très peu développées dans le milieu vétérinaire. L'étude et l'exploration du stress oxydant chez les carnivores domestiques sont encore négligées. Néanmoins, certains laboratoires proposent des mesures de ce stress oxydant par différents moyens. Ils séparent la mesure des pro-oxydants des anti-oxydants. Ces mesures sont basées sur des tests validés pour l'espèce canine (205). Ces tests sont des mesures spectrophotométriques sur plasma hépariné, qui utilisent la réaction de Fenton et sur le pouvoir oxydant des dérivés mesurés. Les différentes analyses proposées en laboratoire sont :

- Le test d-ROM (Métabolites Réactifs de l'Oxygène) qui permet la mesure dans le sérum ou le plasma des métabolites de l'oxygènes générés par l'oxydation des biomolécules. Ce test permet d'identifier les risques chez les sujets exposés à des facteurs de risques, des maladies ou des traitements.
- Le test OXY-Adsorbent mesure la capacité antioxydante du plasma lors de son exposition à un excès d'acide hypochlorique. Il permet d'évaluer l'état des défenses antioxydantes et/ou l'efficacité de traitements antioxydants spécifiques.
- Le test BAP (Biological Antioxydant Potential) mesure la capacité du sang à réduire Fe III en Fe II, il fournit une mesure du pouvoir réducteur antioxydant du fer. Il a le même rôle que le test précède.

La conservation des échantillons destinés au test d-ROM doit se faire à -20°C au minimum. Cependant, le test BAP n'a pas montré de différence entre les échantillons frais, refroidis ou congelés (205).

D'autres tests mis sur le marché par d'autres laboratoires permettent d'évaluer le pouvoir anti-oxydant du sang. Ils sont également basés sur des analyses photométriques réalisé sur du plasma ou du sérum hépariné afin de déterminer la concentration en marqueurs du stress oxydant (206).

Néanmoins le problème majeur de ces techniques reste la connaissance et le coût des analyses pour les propriétaires des animaux en pratique clinique. Les autres problèmes sont la conservation des échantillons ainsi que leur transport, les analyses doivent être réalisées le plus vite possible afin d'être fiables. Ceci, ainsi que le manque de connaissance sur le sujet du stress oxydant, rendent ces techniques actuellement peu utilisées et peu développées en médecine vétérinaire.

Conclusion

Le dioxygène est un gaz indispensable à la vie humaine et animale. Mais c'est également un puissant oxydant. Lors de son utilisation par l'organisme, les espèces réactives de l'oxygène sont formées et sont, elles aussi, de puissants oxydants. Elles ont la capacité d'induire l'oxydation des biomolécules et d'en modifier leurs fonctions. Un contrôle de la production de ces espèces est nécessaire au maintien de l'homéostasie de la cellule. C'est pourquoi il existe des systèmes antioxydants enzymatiques et non enzymatiques, endogènes et exogènes, qui sont capables de lutter contre un excès de radicaux.

Le stress oxydant se produit lors de la rupture de l'équilibre entre les capacités antioxydantes et la formation des prooxydants. Le stress oxydant a longtemps été considéré comme nocif et associés à de nombreuses maladies. Néanmoins ce stress oxydant participe et est nécessaire à de nombreuses fonctions physiologiques. En effet, le stress oxydant est nécessaire dans la transmission de signaux cellulaires, lors de processus inflammatoires... La vieillesse est un processus où le stress oxydant possède une place majeure car la senescence est à la fois le résultat de l'accumulation d'ERO et de la diminution des capacités antioxydantes de l'organisme.

Néanmoins, un stress oxydant qui perdure contribue à l'émergence de maladies. A l'heure actuelle, tous les mécanismes précis ne sont pas connus précisément. Cependant, il est clairement établi que les ERO sont associées à la perte de fonction des protéines, à une dégradation des constituants cellulaires, à l'induction de l'apoptose cellulaire et à l'émergence de mutations génétiques. A l'échelle de l'organisme, le stress oxydant favorise la dégradation et la perte de fonction des tissus.

Il est compliqué d'intégrer la mesure du stress oxydant en routine en médecine vétérinaire. D'une part, le manque majeur de formation à ce sujet est un problème. Le stress oxydant est négligé dans la formation vétérinaire dès l'école et par la suite, dans la pratique clinique. De plus, il n'est pas toujours facile d'avoir accès au stress oxydant. Les produits oxydés et les antioxydants sont nombreux, et pas tous facilement accessibles. D'autre part, cela nécessite des équipements de mesures spécifiques et un coût élevé.

Néanmoins avoir accès au stress oxydant pourrait permettre une bonne approche préventive et thérapeutique afin de réduire l'impact des ERO et des radicaux dans des affections rencontrées chez nos carnivores domestiques comme les inflammations chroniques ou les cancers. Il existe des méthodes de supplémentations nutritionnelles qui sont peu onéreuses et qui permettraient dans un premier temps d'avoir une approche préventive des maladies chez nos carnivores domestiques.

BIBLIOGRAPHIE

1. DELATTRE, Jacques, BEAUDEUX, Jean-Louis et BONNEFONT-ROUSSELOT, Dominique. *Radicaux libres et stress oxydant: Aspects biologiques et pathologiques (broché)*. . Lavoisier, 2007. ISBN 978-2-7430-1955-6. Google-Books-ID: kNzDAgAAQBAJ
2. BOVERIS, Alberto et CHANCE, Britton. The mitochondrial generation of hydrogen peroxide. General properties and effect of hyperbaric oxygen. *Biochemical Journal*. juillet 1973. Vol. 134, n° 3, pp. 707-716.
3. DRÖGE, Wulf. Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. *Physiological Reviews*. janvier 2002. Vol. 82, n° 1, pp. 47-95. DOI 10.1152/physrev.00018.2001.
4. PIZZINO, Gabriele, IRRERA, Natasha, CUCINOTTA, Mariapaola, PALLIO, Giovanni, MANNINO, Federica, ARCORACI, Vincenzo, SQUADRITO, Francesco, ALTAVILLA, Domenica et BITTO, Alessandra. Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2017. Vol. 2017, pp. 1-13. DOI 10.1155/2017/8416763.
5. FOOTE, Christopher S., VALENTINE, Joan, GREENBERG, A. et LIEBMAN, Joel F. *Active Oxygen in Chemistry*. . Springer Netherlands, 2014. ISBN 978-94-007-0875-4. Google-Books-ID: U8oUswEACAAJ
6. GIORGIO, Marco, MIGLIACCIO, Enrica, ORSINI, Francesca, PAOLUCCI, Demis, MORONI, Maurizio, CONTURSI, Cristina, PELLICCIA, Giovanni, LUZI, Lucilla, MINUCCI, Saverio, MARCACCIO, Massimo, PINTON, Paolo, RIZZUTO, Rosario, BERNARDI, Paolo, PAOLUCCI, Francesco et PELICCI, Pier Giuseppe. Electron transfer between cytochrome c and p66Shc generates reactive oxygen species that trigger mitochondrial apoptosis. *Cell*. 29 juillet 2005. Vol. 122, n° 2, pp. 221-233. DOI 10.1016/j.cell.2005.05.011.
7. FARHATAZIZ et ROSS, A. B. NSRDS-NBS-59 : *Selected specific rates of reactions of transients from water in aqueous solution. III. Hydroxyl radical and perhydroxyl radical and their radical ions* [en ligne]. Notre Dame Univ., IN (USA). Radiation Lab., 1977. [Consulté le 29 novembre 2022].
8. BIELSKI, Benon H. J., CABELLI, Diane E., ARUDI, Ravindra L. et ROSS, Alberta B. Reactivity of HO₂/O₂^{•-} radicals in Aqueous Solution. *Journal of Physical and Chemical Reference Data*. octobre 1985. Vol. 14, n° 4, pp. 1041-1100. DOI 10.1063/1.555739.
9. LUBOS, Edith, LOSCALZO, Joseph et HANDY, Diane E. Glutathione Peroxidase-1 in Health and Disease: From Molecular Mechanisms to Therapeutic Opportunities. *Antioxidants & Redox Signaling*. octobre 2011. Vol. 15, n° 7, pp. 1957-1997. DOI 10.1089/ars.2010.3586.

10. AUDREY, Carrière, ANNE, Galinier, YVETTE, Fernandez, MARIA-CARMEN, Carmona, LUC, Pénicaud et LOUIS, Casteilla. Les espèces actives de l'oxygène : le yin et le yang de la mitochondrie. . 2006. Vol. 22, pp. 7.
11. MIGDAL, Camille et SERRES, Mireille. Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *médecine/sciences*. 1 avril 2011. Vol. 27, n° 4, pp. 405-412. DOI 10.1051/medsci/2011274017.
12. CHANCE, B, SIES, H et BOVERIS, A. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiological Reviews*. juillet 1979. Vol. 59, n° 3, pp. 527-605. DOI 10.1152/physrev.1979.59.3.527.
13. HALLIWELL, B. Biochemistry of oxidative stress. *Biochemical Society Transactions*. 2007. Vol. 35, pp. 4.
14. PAPA, S., GUERRIERI, F., LORUSSO, M. et SIMONE, S. Proton translocation and energy transduction in mitochondria. *Biochimie*. 1973. Vol. 55, n° 6, pp. 703-716. DOI 10.1016/S0300-9084(73)80024-0.
15. MITCHELL, Peter et MOYLE, Jennifer. Chemiosmotic Hypothesis of Oxidative Phosphorylation. *Nature*. janvier 1967. Vol. 213, n° 5072, pp. 137-139. DOI 10.1038/213137a0.
16. PY, Béatrice et BARRAS, Frédéric. Du fer et du soufre dans les protéines - Comment la cellule construit-elle les cofacteurs fer-soufre essentiels à son fonctionnement ? *médecine/sciences*. 1 décembre 2014. Vol. 30, n° 12, pp. 1110-1122. DOI 10.1051/medsci/20143012014.
17. TURRENS, J. F., ALEXANDRE, A. et LEHNINGER, A. L. Ubisemiquinone is the electron donor for superoxide formation by complex III of heart mitochondria. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. mars 1985. Vol. 237, n° 2, pp. 408-414. DOI 10.1016/0003-9861(85)90293-0.
18. BRAND, Martin D. The sites and topology of mitochondrial superoxide production. *Experimental Gerontology*. août 2010. Vol. 45, n° 7-8, pp. 466-472. DOI 10.1016/j.exger.2010.01.003.
19. TURRENS, Julio F. Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *The Journal of Physiology*. 2003. Vol. 552, n° 2, pp. 335-344. DOI 10.1111/j.1469-7793.2003.00335.x.
20. CHUONG NGUYEN, Minh Vu, LARDY, Bernard, PACLET, Marie-Hélène, ROUSSET, Francis, BERTHIER, Sylvie, BAILLET, Athan, GRANGE, Laurent, GAUDIN, Philippe et MOREL, Françoise. Les NADPH oxydases, Nox: Une nouvelle famille d'isoenzymes. *médecine/sciences*. janvier 2015. Vol. 31, n° 1, pp. 43-52. DOI 10.1051/medsci/20153101012.
21. MORENO, José C., BIKKER, Hennie, KEMPERS, Marlies J.E., VAN TROTSBURG, A.S. Paul, BAAS, Frank, DE VIJLDER, Jan J.M., VULSMA, Thomas et RIS-STALPERS, C. Inactivating Mutations in the Gene for Thyroid

- Oxidase 2 (THOX2) and Congenital Hypothyroidism. *New England Journal of Medicine*. 11 juillet 2002. Vol. 347, n° 2, pp. 95-102. DOI 10.1056/NEJMoa012752.
22. FORTEZA, Radia, SALATHE, Matthias, MIOT, Françoise, FORTEZA, Rosanna et CONNER, Gregory E. Regulated Hydrogen Peroxide Production by Duox in Human Airway Epithelial Cells. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*. mai 2005. Vol. 32, n° 5, pp. 462-469. DOI 10.1165/rcmb.2004-0302OC.
23. BABIOR, Bernard M. NADPH Oxidase: An Update. *Blood*. 1 mars 1999. Vol. 93, n° 5, pp. 1464-1476. DOI 10.1182/blood.V93.5.1464.
24. BABIOR, Bernard M. The NADPH Oxidase of Endothelial Cells. *IUBMB Life*. 2000. Vol. 50, n° 4-5, pp. 267-269. DOI 10.1080/713803730.
25. BEDARD, Karen et KRAUSE, Karl-Heinz. The NOX family of ROS-generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology. *Physiological Reviews*. janvier 2007. Vol. 87, n° 1, pp. 245-313. DOI 10.1152/physrev.00044.2005.
26. BOSCO, E. E., MULLOY, J. C. et ZHENG, Y. Rac1 GTPase: A "Rac" of All Trades. *Cellular and molecular life sciences : CMLS*. février 2009. Vol. 66, n° 3, pp. 370-374. DOI 10.1007/s00018-008-8552-x.
27. SUMIMOTO, Hideki. Structure, regulation and evolution of Nox-family NADPH oxidases that produce reactive oxygen species. *The FEBS Journal*. 2008. Vol. 275, n° 13, pp. 3249-3277. DOI 10.1111/j.1742-4658.2008.06488.x.
28. SOUZA, Verónica, ESCOBAR, Ma del Carmen, BUCIO, Leticia, HERNÁNDEZ, Elizabeth, GÓMEZ-QUIROZ, Luis Enrique et GUTIÉRREZ RUIZ, Ma Concepción. NADPH oxidase and ERK1/2 are involved in cadmium induced-STAT3 activation in HepG2 cells. *Toxicology letters*. 2009. Vol. 187, n° 3, pp. 180-186. DOI 10.1016/j.toxlet.2009.02.021.
29. VORBACH, Claudia, HARRISON, Roger et CAPECCHI, Mario R. Xanthine oxidoreductase is central to the evolution and function of the innate immune system. *Trends in Immunology*. septembre 2003. Vol. 24, n° 9, pp. 512-517. DOI 10.1016/s1471-4906(03)00237-0.
30. WANG, Cheng-Hua, ZHANG, Chong et XING, Xin-Hui. Xanthine dehydrogenase: An old enzyme with new knowledge and prospects. *Bioengineered*. 18 août 2016. Vol. 7, n° 6, pp. 395-405. DOI 10.1080/21655979.2016.1206168.
31. CAMMACK, Richard, ATWOOD, Teresa, CAMPBELL, Peter, PARISH, Howard, SMITH, Anthony, VELLA, Frank et STIRLING, John (éd.). *Oxford Dictionary of Biochemistry and Molecular Biology*. [en ligne]. 2. Oxford University Press, 2006. [Consulté le 4 octobre 2023]. ISBN 978-0-19-852917-0.
32. PARKS, D. A. et GRANGER, D. N. Xanthine oxidase: biochemistry, distribution and physiology. *Acta Physiologica Scandinavica. Supplementum*. 1986. Vol. 548, pp. 87-99.
33. GUEGUEN, Yann, MOUZAT, K, FERRARI, Luc, TISSANDIE, E, LOBACCARO, Jean-Marc, BATT, A-M, PAQUET, François, VOISIN, P,

AIGUEPERSE, Jocelyne, GOURMELON, P et SOUIDI, M. Les cytochromes P450 : métabolisme des xénobiotiques, régulation et rôle en clinique. *Annales de biologie clinique*. 1 novembre 2006. Vol. 64. DOI 10.1684/abc.2006.0015.

34. MOREL, Yannick, MERMOD, Nicolas et BAROUKI, Robert. An Autoregulatory Loop Controlling CYP1A1 Gene Expression: Role of H₂O₂ and NFI. *Molecular and Cellular Biology*. octobre 1999. Vol. 19, n° 10, pp. 6825. DOI 10.1128/mcb.19.10.6825.

35. HALLIWELL, Barry et GUTTERIDGE, John M. C. *Free Radicals in Biology and Medicine*. . Oxford University Press, 2015. ISBN 978-0-19-871748-5. Google-Books-ID: 3DIKCgAAQBAJ

36. WOODS, Robert J. et PIKAEV, Alexei K. *Applied Radiation Chemistry: Radiation Processing*. . John Wiley & Sons, 1993. ISBN 978-0-471-54452-4. Google-Books-ID: H8IXSP55D58C

37. VADON-LE GOFF, S et SENNEQUIER, N. Biosynthèse du monoxyde d'azote (NO) : mécanisme, régulation et contrôle. *médecine/sciences*. 1998. Vol. 14, n° 11, pp. 1185. DOI 10.4267/10608/936.

38. STASI, Di et C, Luiz. Coumarin Derivatives in Inflammatory Bowel Disease. *Molecules*. janvier 2021. Vol. 26, n° 2, pp. 422. DOI 10.3390/molecules26020422.

39. LYMAR, Sergei V., JIANG, Qing et HURST, James K. Mechanism of Carbon Dioxide-Catalyzed Oxidation of Tyrosine by Peroxynitrite. *Biochemistry*. 1 janvier 1996. Vol. 35, n° 24, pp. 7855-7861. DOI 10.1021/bi960331h.

40. NANDA, S. et YADAV, J.S. Lipoxygenase biocatalysis: a survey of asymmetric oxygenation. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*. novembre 2003. Vol. 26, n° 1-2, pp. 3-28. DOI 10.1016/S1381-1177(03)00146-2.

41. BÄCK, Magnus. *Studies of receptors and modulatory mechanisms in functional responses to cysteinyl-leukotrienes in smooth muscle*. [en ligne]. Institutet för miljömedicin (IMM) / Institute of Environmental Medicine, 2001. [Consulté le 4 octobre 2023]. ISBN 978-91-628-4846-0. Disponible à l'adresse: <http://openarchive.ki.se/xmlui/handle/10616/39453>Accepted: 2010-10-21T20:32:00Z

42. FUNK, C. D. Prostaglandins and leukotrienes: advances in eicosanoid biology. *Science (New York, N.Y.)*. 30 novembre 2001. Vol. 294, n° 5548, pp. 1871-1875. DOI 10.1126/science.294.5548.1871.

43. LAGARDE, M. Metabolism of fatty acids by platelets and the functions of various metabolites in mediating platelet function. *Progress in Lipid Research*. 1 janvier 1988. Vol. 27, n° 2, pp. 135-152. DOI 10.1016/0163-7827(88)90008-2.

44. FÜRSTENBERGER, G., HAGEDORN, H., JACOBI, T., BESEMFELDER, E., STEPHAN, M., LEHMANN, W.D. et MARKS, F. Characterization of an 8-lipoxygenase activity induced by the phorbol ester tumor promoter 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate in mouse skin in vivo. *Journal of Biological Chemistry*. août 1991. Vol. 266, n° 24, pp. 15738-15745. DOI 10.1016/S0021-9258(18)98471-1.

45. FAVIER, Alain. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. . 2003.
46. BOURRE, Jean-Marie. Acides gras ω -3 et troubles psychiatriques. *médecine/sciences*. 1 février 2005. Vol. 21, n° 2, pp. 216-221. DOI 10.1051/medsci/2005212216.
47. KHASELEV, Nona et MURPHY, Robert C. Structural characterization of oxidized phospholipid products derived from arachidonate-containing plasmemyl glycerophosphocholine. *Journal of Lipid Research*. 1 avril 2000. Vol. 41, n° 4, pp. 564-572.
48. SPITELLER, Gerhard. Are lipid peroxidation processes induced by changes in the cell wall structure and how are these processes connected with diseases? *Medical Hypotheses*. 1 janvier 2003. Vol. 60, n° 1, pp. 69-83. DOI 10.1016/S0306-9877(02)00333-X.
49. BROWN, Andrew J., SHARPE, Laura J. et ROGERS, Michael J. Oxysterols: From physiological tuners to pharmacological opportunities. *British Journal of Pharmacology*. août 2021. Vol. 178, n° 16, pp. 3089-3103. DOI 10.1111/bph.15073.
50. MA, Liqian et NELSON, Erik R. Oxysterols and nuclear receptors. *Molecular and Cellular Endocrinology*. mars 2019. Vol. 484, pp. 42-51. DOI 10.1016/j.mce.2019.01.016.
51. GRUNE, Tilman, REINHECKEL, Thomas, JOSHI, Minakshi et DAVIES, Kelvin J.A. Proteolysis in Cultured Liver Epithelial Cells during Oxidative Stress. *Journal of Biological Chemistry*. février 1995. Vol. 270, n° 5, pp. 2344-2351. DOI 10.1074/jbc.270.5.2344.
52. GRUNE, Tilman, REINHECKEL, Thomas et DAVIES, Kelvin J.A. Degradation of Oxidized Proteins in K562 Human Hematopoietic Cells by Proteasome. *Journal of Biological Chemistry*. juin 1996. Vol. 271, n° 26, pp. 15504-15509. DOI 10.1074/jbc.271.26.15504.
53. JUNG, Tobias, ENGELS, Martina, KAISER, Barbara, POPPEK, Diana et GRUNE, Tilman. Intracellular distribution of oxidized proteins and proteasome in HT22 cells during oxidative stress. *Free Radical Biology and Medicine*. 15 avril 2006. Vol. 40, n° 8, pp. 1303-1312. DOI 10.1016/j.freeradbiomed.2005.11.023.
54. LEHMANN, Andrea, JANEK, Katharina, BRAUN, Beate, KLOETZEL, Peter-Michael et ENENKEL, Cordula. 20 S proteasomes are imported as precursor complexes into the nucleus of yeast. *Journal of Molecular Biology*. 29 mars 2002. Vol. 317, n° 3, pp. 401-413. DOI 10.1006/jmbi.2002.5443.
55. HALENG, Jeanine, PINCEMAIL, Joël, DEFRAIGNE, Jean-Olivier, CHARLIER, Corinne et CHAPELLE, Jean-Paul. Le stress oxydant. *Revue Médicale de Liège*. [en ligne]. octobre 2007. Vol. 62, n° 10. [Consulté le 6 octobre 2022]. Disponible à l'adresse: <https://orbi.uliege.be/handle/2268/8914>

56. VOGT, W. Oxidation of methionyl residues in proteins: tools, targets, and reversal. *Free Radical Biology & Medicine*. janvier 1995. Vol. 18, n° 1, pp. 93-105. DOI 10.1016/0891-5849(94)00158-g.
57. XAVIER, Christy, LIU, Xiaobin, LIU, Yang et WU, Hongli. The Important Functions of GSH-Dependent Enzyme Glutaredoxin 2 (Grx2). In : . 2018. ISBN 978-1-78984-275-3.
58. GARRISON, Warren M. Reaction mechanisms in the radiolysis of peptides, polypeptides, and proteins. *Chemical Reviews*. 1 avril 1987. Vol. 87, n° 2, pp. 381-398. DOI 10.1021/cr00078a006.
59. STADTMAN, E. R. Oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins by radiolysis and by metal-catalyzed reactions. *Annual Review of Biochemistry*. 1993. Vol. 62, pp. 797-821. DOI 10.1146/annurev.bi.62.070193.004053.
60. STADTMAN, Earl R. et LEVINE, Rodney L. Protein Oxidation. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2000. Vol. 899, n° 1, pp. 191-208. DOI 10.1111/j.1749-6632.2000.tb06187.x.
61. DEAN, R. T., HUNT, J. V., GRANT, A. J., YAMAMOTO, Y. et NIKI, E. Free radical damage to proteins: the influence of the relative localization of radical generation, antioxidants, and target proteins. *Free Radical Biology & Medicine*. 1991. Vol. 11, n° 2, pp. 161-168. DOI 10.1016/0891-5849(91)90167-2.
62. BEAUDEUX, J. -L., DELATTRE, J., THEROND, P., BONNEFONT-ROUSSELOT, D., LEGRAND, A. et PEYNET, J. Le stress oxydant, composante physiopathologique de l'athérosclérose. *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée*. 1 juin 2006. Vol. 21, n° 3, pp. 144-150. DOI 10.1016/j.immbio.2006.02.001.
63. POLI, Giuseppe, SOTTERO, Barbara, GARGIULO, Simona et LEONARDUZZI, Gabriella. Cholesterol oxidation products in the vascular remodeling due to atherosclerosis. *Molecular Aspects of Medicine*. juin 2009. Vol. 30, n° 3, pp. 180-189. DOI 10.1016/j.mam.2009.02.003.
64. NAVAB, M., FOGELMAN, A. M., BERLINER, J. A., TERRITO, M. C., DEMER, L. L., FRANK, J. S., WATSON, A. D., EDWARDS, P. A. et LUSIS, A. J. Pathogenesis of atherosclerosis. *The American Journal of Cardiology*. 28 septembre 1995. Vol. 76, n° 9, pp. 18C-23C. DOI 10.1016/s0002-9149(99)80466-4.
65. FRIEDMAN, E. A. Advanced glycosylated end products and hyperglycemia in the pathogenesis of diabetic complications. *Diabetes Care*. mars 1999. Vol. 22 Suppl 2, pp. B65-71.
66. VOGES, D., ZWICKL, P. et BAUMEISTER, W. The 26S proteasome: a molecular machine designed for controlled proteolysis. *Annual Review of Biochemistry*. 1999. Vol. 68, pp. 1015-1068. DOI 10.1146/annurev.biochem.68.1.1015.
67. BARD, Jared A.M., GOODALL, Ellen A., GREENE, Eric R., JONSSON, Erik, DONG, Ken C. et MARTIN, Andreas. Structure and Function of the 26S Proteasome.

Annual review of biochemistry. 20 juin 2018. Vol. 87, pp. 697-724.
DOI 10.1146/annurev-biochem-062917-011931.

68. FRIGUET, Bertrand et SZWEDA, Luke I. Inhibition of the multicatalytic proteinase (proteasome) by 4-hydroxy-2-nonenal cross-linked protein. *FEBS Letters*. 1997. Vol. 405, n° 1, pp. 21-25. DOI 10.1016/S0014-5793(97)00148-8.

69. BROT, N., WEISSBACH, L., WERTH, J. et WEISSBACH, H. Enzymatic reduction of protein-bound methionine sulfoxide. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. avril 1981. Vol. 78, n° 4, pp. 2155-2158. DOI 10.1073/pnas.78.4.2155.

70. BERNDT, Carsten, LILLIG, Christopher Horst et HOLMGREN, Arne. Thiol-based mechanisms of the thioredoxin and glutaredoxin systems: implications for diseases in the cardiovascular system. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*. mars 2007. Vol. 292, n° 3, pp. H1227-1236.
DOI 10.1152/ajpheart.01162.2006.

71. LOMBARD, David B., CHUA, Katrin F., MOSTOSLAVSKY, Raul, FRANCO, Sonia, GOSTISSA, Monica et ALT, Frederick W. DNA Repair, Genome Stability, and Aging. *Cell*. 25 février 2005. Vol. 120, n° 4, pp. 497-512.
DOI 10.1016/j.cell.2005.01.028.

72. WEI, Y. H. Oxidative stress and mitochondrial DNA mutations in human aging. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. Society for Experimental Biology and Medicine (New York, N. Y.)*. janvier 1998. Vol. 217, n° 1, pp. 53-63. DOI 10.3181/00379727-217-44205.

73. CADET, J., BERGER, M., DOUKI, T. et RAVANAT, J. -L. Oxidative damage to DNA: Formation, measurement, and biological significance. In : *Reviews of Physiology Biochemistry and Pharmacology, Volume 131: Special Issue on Membrane-Mediated Cellular Responses: The Roles of Reactive Oxygens, NO, CO, II*. [en ligne]. Berlin, Heidelberg : Springer, 1997. pp. 1-87. *Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology*. [Consulté le 5 octobre 2023]. ISBN 978-3-540-49585-7.

74. GULIAEVA, N. A., KUZNETSOVA, E. A. et GAZIEV, A. I. [Proteins associated with mitochondrial DNA protect it against the action of X-rays and hydrogen peroxide]. *Biofizika*. 2006. Vol. 51, n° 4, pp. 692-697.

75. DIZDAROGLU, Miral et JARUGA, Pawel. Mechanisms of free radical-induced damage to DNA. *Free Radical Research*. avril 2012. Vol. 46, n° 4, pp. 382-419.
DOI 10.3109/10715762.2011.653969.

76. XU, Xiaoyun, MULLER, James G., YE, Yu et BURROWS, Cynthia J. DNA-Protein Cross-links between Guanine and Lysine Depend on the Mechanism of Oxidation for Formation of C5 Vs C8 Guanosine Adducts. *Journal of the American Chemical Society*. 1 janvier 2008. Vol. 130, n° 2, pp. 703-709.
DOI 10.1021/ja077102a.

77. STEENKEN, Steen et JOVANOVIC, Slobodan V. How Easily Oxidizable Is DNA? One-Electron Reduction Potentials of Adenosine and Guanosine Radicals in Aqueous Solution. *Journal of the American Chemical Society*. 1 janvier 1997. Vol. 119, n° 3, pp. 617-618. DOI 10.1021/ja962255b.
78. STEENKEN, Steen. Purine bases, nucleosides, and nucleotides: aqueous solution redox chemistry and transformation reactions of their radical cations and e- and OH adducts. *Chemical Reviews*. 1 mai 1989. Vol. 89, n° 3, pp. 503-520. DOI 10.1021/cr00093a003.
79. CHATGILIALOGLU, Chryssostomos, D'ANGELANTONIO, Mila, GUERRA, Maurizio, KALOUDIS, Panagiotis et MULAZZANI, Quinto G. A Reevaluation of the Ambident Reactivity of the Guanine Moiety Towards Hydroxyl Radicals. *Angewandte Chemie International Edition*. 2009. Vol. 48, n° 12, pp. 2214-2217. DOI 10.1002/anie.200805372.
80. CHATGILIALOGLU, Chryssostomos, D'ANGELANTONIO, Mila, KCIUK, Gabriel et BOBROWSKI, Krzysztof. New Insights into the Reaction Paths of Hydroxyl Radicals with 2'-Deoxyguanosine. *Chemical Research in Toxicology*. 19 décembre 2011. Vol. 24, n° 12, pp. 2200-2206. DOI 10.1021/tx2003245.
81. WAGNER, J. R., VAN LIER, J. E., BERGER, M. et CADET, J. Thymidine Hydroperoxides: Structural Assignment, Conformational Features, and Thermal Decomposition in Water. *Journal of the American Chemical Society*. mars 1994. Vol. 116, n° 6, pp. 2235-2242. DOI 10.1021/ja00085a001.
82. CASTRO, G.D., STAMATO, C.J. et CASTRO, J.A. 5-methylcytosine attack by free radicals arising from bromotrichloromethane in a model system: Structures of reaction products. *Free Radical Biology and Medicine*. novembre 1994. Vol. 17, n° 5, pp. 419-428. DOI 10.1016/0891-5849(94)90168-6.
83. JARUGA, Pawel et DIZDAROGLU, Miral. 8,5'-Cyclopurine-2'-deoxynucleosides in DNA: Mechanisms of formation, measurement, repair and biological effects. *DNA Repair*. septembre 2008. Vol. 7, n° 9, pp. 1413-1425. DOI 10.1016/j.dnarep.2008.06.005.
84. KUCHINO, Y., MORI, F., KASAI, H., INOUE, H., IWAI, S., MIURA, K., OHTSUKA, E. et NISHIMURA, S. Misreading of DNA templates containing 8-hydroxydeoxyguanosine at the modified base and at adjacent residues. *Nature*. 7 mai 1987. Vol. 327, n° 6117, pp. 77-79. DOI 10.1038/327077a0.
85. MULLER, Evelyne, GASPARUTTO, Didier et CADET, Jean. Chemical Synthesis and Biochemical Properties of Oligonucleotides that Contain the (5'S,5S,6S)-5',6-Cyclo-5-hydroxy-5,6-dihydro-2'-deoxyuridine DNA Lesion. *ChemBioChem*. 2002. Vol. 3, n° 6, pp. 534-542. DOI 10.1002/1439-7633(20020603)3:6<534::AID-CBIC534>3.0.CO;2-R.
86. GASPARUTTO, D., AIT-ABBAS, M., JAQUINOD, M., BOITEUX, S. et CADET, J. Repair and coding properties of 5-hydroxy-5-methylhydantoin nucleosides inserted into DNA oligomers. *Chemical Research in Toxicology*. juillet 2000. Vol. 13, n° 7, pp. 575-584. DOI 10.1021/tx000005+.

87. DEPONTE, Marcel. Glutathione catalysis and the reaction mechanisms of glutathione-dependent enzymes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*. 1 mai 2013. Vol. 1830, n° 5, pp. 3217-3266. DOI 10.1016/j.bbagen.2012.09.018.
88. LI, Yibing, HUANG, Ting-Ting, CARLSON, Elaine J., MELOV, Simon, URSELL, Philip C., OLSON, Jean L., NOBLE, Linda J., YOSHIMURA, Midori P., BERGER, Christoph, CHAN, Pak H., WALLACE, Douglas C. et EPSTEIN, Charles J. Dilated cardiomyopathy and neonatal lethality in mutant mice lacking manganese superoxide dismutase. *Nature Genetics*. décembre 1995. Vol. 11, n° 4, pp. 376-381. DOI 10.1038/ng1295-376.
89. RAE, Tracey D., TORRES, Andrew S., PUFAHL, Robert A. et O'HALLORAN, Thomas V. Mechanism of Cu,Zn-Superoxide Dismutase Activation by the Human Metallochaperone hCCS *. *Journal of Biological Chemistry*. 16 février 2001. Vol. 276, n° 7, pp. 5166-5176. DOI 10.1074/jbc.M008005200.
90. HSU, Jan-Ling, HSIEH, Yunsheng, TU, Chingkuang, O'CONNOR, Don, NICK, Harry S. et SILVERMAN, David N. Catalytic Properties of Human Manganese Superoxide Dismutase *. *Journal of Biological Chemistry*. 26 juillet 1996. Vol. 271, n° 30, pp. 17687-17691. DOI 10.1074/jbc.271.30.17687.
91. DELATTRE, Jacques, DURAND, Geneviève et JARDILLIER, Jean-Claude. *Biochimie pathologique: aspects moléculaires et cellulaires*. Paris : Médecine-Sciences Flammarion, 2003. Collection De la biologie à la clinique. ISBN 978-2-257-10946-0. 612.015 DEL, 2 173 250
92. MILLS, Gordon C. HEMOGLOBIN CATABOLISM: I. GLUTATHIONE PEROXIDASE, AN ERYTHROCYTE ENZYME WHICH PROTECTS HEMOGLOBIN FROM OXIDATIVE BREAKDOWN. *Journal of Biological Chemistry*. 1 novembre 1957. Vol. 229, n° 1, pp. 189-197. DOI 10.1016/S0021-9258(18)70608-X.
93. BARHOUMI, Rola, BOWEN, Jeffery A., STEIN, Lisa S., ECHOLS, Jana et BURGHARDT, Robert C. Concurrent analysis of intracellular glutathione content and gap junctional intercellular communication. *Cytometry*. 1993. Vol. 14, n° 7, pp. 747-756. DOI 10.1002/cyto.990140707.
94. ARNÉR, E. S. et HOLMGREN, A. Physiological functions of thioredoxin and thioredoxin reductase. *European Journal of Biochemistry*. octobre 2000. Vol. 267, n° 20, pp. 6102-6109. DOI 10.1046/j.1432-1327.2000.01701.x.
95. LAKEY-BEITIA, Johant, BURILLO, Andrea M., PENNA, Giovanni La, HEGDE, Muralidhar L. et RAO, K.S. Polyphenols as Potential Metal Chelation Compounds Against Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's disease : JAD*. 2021. Vol. 82, n° Suppl 1, pp. S335-S357. DOI 10.3233/JAD-200185.
96. HANNA, Phillip M. et MASON, Ronald P. Direct evidence for inhibition of free radical formation from Cu(I) and hydrogen peroxide by glutathione and other potential ligands using the EPR spin-trapping technique. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. mai 1992. Vol. 295, n° 1, pp. 205-213. DOI 10.1016/0003-9861(92)90507-S.

97. SCIUTO, Alfred M. Antioxidant Properties of Glutathione and its Role in Tissue Protection. In : *Oxidants, Antioxidants And Free Radicals*. CRC Press, 1997. ISBN 978-0-203-74467-3.
98. SIMIC, Michael G. et JOVANOVIC, Slobodan V. Antioxidation mechanisms of uric acid. *Journal of the American Chemical Society*. 1989. Vol. 111, n° 15, pp. 5778-5782. DOI 10.1021/ja00197a042.
99. MAPLES, K R et MASON, R P. Free radical metabolite of uric acid. *Journal of Biological Chemistry*. février 1988. Vol. 263, n° 4, pp. 1709-1712. DOI 10.1016/S0021-9258(19)77933-2.
100. STOCKER, R., YAMAMOTO, Y., MCDONAGH, AF, GLAZER, AN et AMES, BN. Bilirubin is an Antioxidant of Possible Physiological Importance. *Science (American Association for the Advancement of Science)*. 1987. Vol. 235, n° 4792, pp. 1043-1046. DOI 10.1126/science.3029864.
101. NEUŽIL, Jiří et STOCKER, Roland. Bilirubin attenuates radical-mediated damage to serum albumin. *FEBS Letters*. 4 octobre 1993. Vol. 331, n° 3, pp. 281-284. DOI 10.1016/0014-5793(93)80353-V.
102. HALLIWELL, Barry et GUTTERIDGE, John M. C. The antioxidants of human extracellular fluids. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 1 juillet 1990. Vol. 280, n° 1, pp. 1-8. DOI 10.1016/0003-9861(90)90510-6.
103. BRIGELIUS-FLOHÉ, R. et TRABER, M. G. Vitamin E: function and metabolism. *FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. juillet 1999. Vol. 13, n° 10, pp. 1145-1155.
104. KAMAL-ELDIN, Afaf et APPELQVIST, Lars-Åke. The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. *Lipids*. 1996. Vol. 31, n° 7, pp. 671-701. DOI 10.1007/BF02522884.
105. ATKINSON, Jeffrey, HARROUN, Thad, WASSALL, Stephen R., STILLWELL, William et KATSARAS, John. The location and behavior of alpha-tocopherol in membranes. *Molecular Nutrition & Food Research*. mai 2010. Vol. 54, n° 5, pp. 641-651. DOI 10.1002/mnfr.200900439.
106. KRINSKY, Norman I. Carotenoids as antioxidants. *Nutrition*. 1 octobre 2001. Vol. 17, n° 10, pp. 815-817. DOI 10.1016/S0899-9007(01)00651-7.
107. ABUJA, Peter M., LIEBMANN, Peter, HAYN, Marianne, SCHAUENSTEIN, Konrad et ESTERBAUER, Hermann. Antioxidant role of melatonin in lipid peroxidation of human LDL. *FEBS Letters*. 18 août 1997. Vol. 413, n° 2, pp. 289-293. DOI 10.1016/S0014-5793(97)00918-6.
108. FAVERO, Gaia, RODELLA, Luigi Fabrizio, REITER, Russel J. et REZZANI, Rita. Melatonin and its atheroprotective effects: A review. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 15 février 2014. Vol. 382, n° 2, pp. 926-937. DOI 10.1016/j.mce.2013.11.016.

109. KOHEN, R., YAMAMOTO, Y., CUNDY, K. C. et AMES, B. N. Antioxidant activity of carnosine, homocarnosine, and anserine present in muscle and brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. mai 1988. Vol. 85, n° 9, pp. 3175-3179. DOI 10.1073/pnas.85.9.3175.
110. MEHLHORN, R. J. Ascorbate- and dehydroascorbic acid-mediated reduction of free radicals in the human erythrocyte. *The Journal of Biological Chemistry*. 15 février 1991. Vol. 266, n° 5, pp. 2724-2731.
111. MILLER, Evan W., DICKINSON, Bryan C. et CHANG, Christopher J. Aquaporin-3 mediates hydrogen peroxide uptake to regulate downstream intracellular signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 7 septembre 2010. Vol. 107, n° 36, pp. 15681-15686. DOI 10.1073/pnas.1005776107.
112. PASQUIER, C. Stress oxydatif et inflammation. . 1995.
113. SELLAKE, H., FRANZINI, E., HAKIM, J. et PASQUIER, C. Reactive oxygen species rapidly increase endothelial ICAM-1 ability to bind neutrophils without detectable upregulation. *Blood*. 1 mai 1994. Vol. 83, n° 9, pp. 2669-2677.
114. FINKEL, Toren. From sulfenylation to sulfhydrylation: what a thiolate needs to tolerate. *Science Signaling*. 13 mars 2012. Vol. 5, n° 215, pp. pe10. DOI 10.1126/scisignal.2002943.
115. TONKS, Nicholas K. Protein tyrosine phosphatases: from genes, to function, to disease. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*. novembre 2006. Vol. 7, n° 11, pp. 833-846. DOI 10.1038/nrm2039.
116. WISHART, Matthew J. et DIXON, Jack E. PTEN and myotubularin phosphatases: from 3-phosphoinositide dephosphorylation to disease. *Trends in Cell Biology*. décembre 2002. Vol. 12, n° 12, pp. 579-585. DOI 10.1016/s0962-8924(02)02412-1.
117. SALMEEN, Annette, ANDERSEN, Jannik N., MYERS, Michael P., MENG, Tzu-Ching, HINKS, John A., TONKS, Nicholas K. et BARFORD, David. Redox regulation of protein tyrosine phosphatase 1B involves a sulphenyl-amide intermediate. *Nature*. 12 juin 2003. Vol. 423, n° 6941, pp. 769-773. DOI 10.1038/nature01680.
118. HYUN AE, Woo, SUN HEE, Yim, DONG HAE, Shin, DONGMIN, Kang, DAE-YEUL, Yu et SUE GOO, Rhee. Inactivation of peroxiredoxin I by phosphorylation allows localized H₂O₂ accumulation for cell signaling. *Cell*. [en ligne]. 19 février 2010. Vol. 140, n° 4. [Consulté le 12 décembre 2022]. DOI 10.1016/j.cell.2010.01.009.
119. LEE, Seung-Rock, KWON, Ki-Sun, KIM, Seung-Ryul et RHEE, Sue Goo. Reversible Inactivation of Protein-tyrosine Phosphatase 1B in A431 Cells Stimulated with Epidermal Growth Factor *. *Journal of Biological Chemistry*. 19 juin 1998. Vol. 273, n° 25, pp. 15366-15372. DOI 10.1074/jbc.273.25.15366.

120. MENG, Tzu-Ching, FUKADA, Toshiyuki et TONKS, Nicholas K. Reversible Oxidation and Inactivation of Protein Tyrosine Phosphatases In Vivo. *Molecular Cell*. 1 février 2002. Vol. 9, n° 2, pp. 387-399. DOI 10.1016/S1097-2765(02)00445-8.
121. GAO, Ping, ZHANG, Huafeng, DINAHAHI, Ramani, LI, Feng, XIANG, Yan, RAMAN, Venu, BHUJWALLA, Zaver M., FELSHER, Dean W., CHENG, Linzhao, PEVSNER, Jonathan, LEE, Linda A., SEMENZA, Gregg L. et DANG, Chi V. HIF-dependent antitumorigenic effect of antioxidants in vivo. *Cancer Cell*. septembre 2007. Vol. 12, n° 3, pp. 230-238. DOI 10.1016/j.ccr.2007.08.004.
122. CAIRNS, Rob A., HARRIS, Isaac S. et MAK, Tak W. Regulation of cancer cell metabolism. *Nature Reviews Cancer*. février 2011. Vol. 11, n° 2, pp. 85-95. DOI 10.1038/nrc2981.
123. SZATROWSKI, T. P. et NATHAN, C. F. Production of large amounts of hydrogen peroxide by human tumor cells. *Cancer Research*. 1 février 1991. Vol. 51, n° 3, pp. 794-798.
124. SPORN, Michael B. et LIBY, Karen T. NRF2 and cancer: the good, the bad and the importance of context. *Nature reviews. Cancer*. 19 juillet 2012. Vol. 12, n° 8, pp. 10.1038/nrc3278. DOI 10.1038/nrc3278.
125. SABLINA, Anna A., BUDANOV, Andrei V., ILYINSKAYA, Galina V., AGAPOVA, Larissa S., KRAVCHENKO, Julia E. et CHUMAKOV, Peter M. The antioxidant function of the p53 tumor suppressor. *Nature Medicine*. décembre 2005. Vol. 11, n° 12, pp. 1306-1313. DOI 10.1038/nm1320.
126. BALDRIDGE, C. W. et GERARD, R. W. THE EXTRA RESPIRATION OF PHAGOCYTOSIS. *American Journal of Physiology-Legacy Content*. 31 décembre 1932. Vol. 103, n° 1, pp. 235-236. DOI 10.1152/ajplegacy.1932.103.1.235.
127. YOUNG, I S. Antioxidants in health and disease. *Journal of Clinical Pathology*. 1 mars 2001. Vol. 54, n° 3, pp. 176-186. DOI 10.1136/jcp.54.3.176.
128. GAUT, Joseph P., YEH, George C., TRAN, Hung Duy, BYUN, Jaeman, HENDERSON, Jeffrey P., RICHTER, Grace M., BRENNAN, Marie-Luise, LUSIS, Aldons J., BELAAOUAJ, Abderrazzaq, HOTCHKISS, Richard S. et HEINECKE, Jay W. Neutrophils employ the myeloperoxidase system to generate antimicrobial brominating and chlorinating oxidants during sepsis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 9 octobre 2001. Vol. 98, n° 21, pp. 11961-11966. DOI 10.1073/pnas.211190298.
129. BENJAMIN, Nigel. Nitric oxide - a novel antimicrobial agent. In : . 2011. pp. 47-63. ISBN 978-3-0348-9586-6.
130. MOREL, Y et BAROUKI, R. Influence du stress oxydant sur la régulation des gènes. *médecine/sciences*. 1998. Vol. 14, n° 6-7, pp. 713. DOI 10.4267/10608/1126.
131. CHAUDHRI, G., CLARK, I. A., HUNT, N. H., COWDEN, W. B. et CEREDIG, R. Effect of antioxidants on primary alloantigen-induced T cell activation and

- proliferation. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*. 15 octobre 1986. Vol. 137, n° 8, pp. 2646-2652.
132. LANIEWSKI, Nathan G. et GRAYSON, Jason M. Antioxidant Treatment Reduces Expansion and Contraction of Antigen-Specific CD8+ T Cells during Primary but Not Secondary Viral Infection. *Journal of Virology*. 15 octobre 2004. Vol. 78, n° 20, pp. 11246-11257. DOI 10.1128/JVI.78.20.11246-11257.2004.
133. SENA, Laura A., LI, Sha, JAIRAMAN, Amit, PRAKRIYA, Murali, EZPONDA, Teresa, HILDEMAN, David A., WANG, Chyung-Ru, SCHUMACKER, Paul T., LICHT, Jonathan D., PERLMAN, Harris, BRYCE, Paul J. et CHANDEL, Navdeep S. Mitochondria are required for antigen-specific T cell activation through reactive oxygen species signaling. *Immunity*. 21 février 2013. Vol. 38, n° 2, pp. 225-236. DOI 10.1016/j.immuni.2012.10.020.
134. WHEELER, Matthew L. et DEFRANCO, Anthony L. Prolonged Production of Reactive Oxygen Species in Response to B Cell Receptor Stimulation Promotes B Cell Activation and Proliferation. *The Journal of Immunology*. 1 novembre 2012. Vol. 189, n° 9, pp. 4405-4416. DOI 10.4049/jimmunol.1201433.
135. GUIMARÃES-FERREIRA, Lucas. Role of the phosphocreatine system on energetic homeostasis in skeletal and cardiac muscles. *Einstein*. 2014. Vol. 12, n° 1, pp. 126-131. DOI 10.1590/S1679-45082014RB2741.
136. REID, M. B. Invited Review: redox modulation of skeletal muscle contraction: what we know and what we don't. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*. février 2001. Vol. 90, n° 2, pp. 724-731. DOI 10.1152/jappl.2001.90.2.724.
137. DAVIES, Kelvin J.A., QUINTANILHA, Alexandre T., BROOKS, George A. et PACKER, Lester. Free radicals and tissue damage produced by exercise. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. août 1982. Vol. 107, n° 4, pp. 1198-1205. DOI 10.1016/S0006-291X(82)80124-1.
138. HINCHCLIFF, K. W., REINHART, G. A., DISILVESTRO, R., REYNOLDS, A., BLOSTEIN-FUJII, A. et SWENSON, R. A. Oxidant stress in sled dogs subjected to repetitive endurance exercise. *American Journal of Veterinary Research*. mai 2000. Vol. 61, n° 5, pp. 512-517. DOI 10.2460/ajvr.2000.61.512.
139. POWERS, Scott K. et JACKSON, Malcom J. Exercise-Induced Oxidative Stress: Cellular Mechanisms and Impact on Muscle Force Production. *Physiological reviews*. octobre 2008. Vol. 88, n° 4, pp. 1243-1276. DOI 10.1152/physrev.00031.2007.
140. ESCURET, E. La cascade ischémique cérébrale. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation*. 1 janvier 1995. Vol. 14, n° 1, pp. 103-113. DOI 10.1016/S0750-7658(05)80158-3.
141. VERMEIREN, Guy L. J., CLAEYS, Marc J., VAN BOCKSTAELE, Dirk, GROBBEN, Bert, SLEGERS, Herman, BOSSAERT, Leo et JORENS, Philippe G. Reperfusion injury after focal myocardial ischaemia: polymorphonuclear leukocyte

- activation and its clinical implications. *Resuscitation*. 1 juin 2000. Vol. 45, n° 1, pp. 35-61. DOI 10.1016/S0300-9572(00)00168-4.
142. ROUGET, A. Théorie évolutionniste de la sénescence. *Revue Médicale Suisse*. 2009.
143. HARMAN, D. Aging: A Theory Based on Free Radical and Radiation Chemistry. *Journal of Gerontology*. 1 juillet 1956. Vol. 11, n° 3, pp. 298-300. DOI 10.1093/geronj/11.3.298.
144. BALABAN, Robert S., NEMOTO, Shino et FINKEL, Toren. Mitochondria, oxidants, and aging. *Cell*. 25 février 2005. Vol. 120, n° 4, pp. 483-495. DOI 10.1016/j.cell.2005.02.001.
145. BARJA, Gustavo. Mitochondrial Free Radical Production and Aging in Mammals and Birds. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1998. Vol. 854, n° 1, pp. 224-238. DOI 10.1111/j.1749-6632.1998.tb09905.x.
146. BORDONE, Laura et GUARENTE, Leonard. Calorie restriction, SIRT1 and metabolism: understanding longevity. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. avril 2005. Vol. 6, n° 4, pp. 298-305. DOI 10.1038/nrm1616.
147. VON ZGLINICKI, Thomas. Oxidative stress shortens telomeres. *Trends in Biochemical Sciences*. 1 juillet 2002. Vol. 27, n° 7, pp. 339-344. DOI 10.1016/S0968-0004(02)02110-2.
148. HAND, Michael S., THATCHER, Craig D., REMILLARD, Rebecca L. et ROUDEBUSH, Philip. *Small animal clinical nutrition*. . 4th ed. Topeka (Kan.) : Mark Morris Institute, 2000. ISBN 978-0-945837-05-3. N.04.04-HAN-N, N.04.04-HAN-N ter
149. NIZA, M.M.R.E, VILELA, C.L et FERREIRA, L.M.A. Feline pansteatitis revisited: Hazards of unbalanced home-made diets. *Journal of Feline Medicine and Surgery*. 1 octobre 2003. Vol. 5, n° 5, pp. 271-277. DOI 10.1016/S1098-612X(03)00051-2.
150. DILLITZER, Natalie, BECKER, Nicola et KIENZLE, Ellen. Intake of minerals, trace elements and vitamins in bone and raw food rations in adult dogs. *British Journal of Nutrition*. octobre 2011. Vol. 106, n° S1, pp. S53-S56. DOI 10.1017/S0007114511002765.
151. FREEMAN, Lisa M. et MICHEL, Kathryn E. Evaluation of raw food diets for dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1 mars 2001. Vol. 218, n° 5, pp. 705-709. DOI 10.2460/javma.2001.218.705.
152. LEVY, E., RIZWAN, Y., THIBAUT, L., LEPAGE, G., BRUNET, S., BOUTHILLIER, L. et SEIDMAN, E. Altered lipid profile, lipoprotein composition, and oxidant and antioxidant status in pediatric Crohn disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*. mars 2000. Vol. 71, n° 3, pp. 807-815. DOI 10.1093/ajcn/71.3.807.
153. TESHIMA, E., BRUNETTO, M. A., VASCONCELLOS, R. S., GONÇALVES, K. N. V., DE-OLIVEIRA, L. D., VALÉRIO, A. G. et CARCIOFI, A. C. Nutrient digestibility, but not mineral absorption, is age-dependent in cats. *Journal of Animal Physiology*

and Animal Nutrition. décembre 2010. Vol. 94, n° 6, pp. e251-258.
DOI 10.1111/j.1439-0396.2009.00964.x.

154. STOWE, Howard D., LAWLER, Dennis F. et KEALY, Richard D. Antioxidant status of pair-fed labrador retrievers is affected by diet restriction and aging. *The Journal of Nutrition*. juillet 2006. Vol. 136, n° 7, pp. 1844-1848.
DOI 10.1093/jn/136.7.1844.

155. KANTOROSINSKI, S et MORRISON, W B. A Review of Feline Nutrition. .
Vol. 50, n° 2.

156. ADAMS, V. J., EVANS, K. M., SAMPSON, J. et WOOD, J. L. N. Methods and mortality results of a health survey of purebred dogs in the UK. *Journal of Small Animal Practice*. 2010. Vol. 51, n° 10, pp. 512-524. DOI 10.1111/j.1748-5827.2010.00974.x.

157. FLEMING, J. M., CREEVY, K. E. et PROMISLOW, D. E. L. Mortality in north american dogs from 1984 to 2004: an investigation into age-, size-, and breed-related causes of death. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2011. Vol. 25, n° 2, pp. 187-198. DOI 10.1111/j.1939-1676.2011.0695.x.

158. THEILEN, G. H. et MADEWELL, B. R. *Veterinary cancer medicine*. . 2° EDITION. Philadelphia [usa : Lea & Febiger, 1987. ISBN 978-0-8121-1049-4. H.05.00-THE-V

159. VALKO, Marian, LEIBFRITZ, Dieter, MONCOL, Jan, CRONIN, Mark T. D., MAZUR, Milan et TELSER, Joshua. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 1 janvier 2007. Vol. 39, n° 1, pp. 44-84.
DOI 10.1016/j.biocel.2006.07.001.

160. WINTER, J.I., BARBER, L.g., FREEMAN, L., GRIESSMAYR, P.c., MILBURY, P.e. et BLUMBERG, J.b. Antioxidant Status and Biomarkers of Oxidative Stress in Dogs with Lymphoma. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2009. Vol. 23, n° 2, pp. 311-316. DOI 10.1111/j.1939-1676.2009.0273.x.

161. MACOTPET, Arayaporn, SUKSAWAT, Fanan, SUKON, Peerapol, PIMPAKDEE, Komgrit, PATTARAPANWICHIE, Ekkachai, TANGRASSAMEEPRASERT, Roongpet et BOONSIRI, Patcharee. Oxidative stress in cancer-bearing dogs assessed by measuring serum malondialdehyde. *BMC veterinary research*. 11 mai 2013. Vol. 9, pp. 101. DOI 10.1186/1746-6148-9-101.

162. BLOCK, Keith I., KOCH, Amanda C., MEAD, Mark N., TOTHY, Peter K., NEWMAN, Robert A. et GYLLENHAAL, Charlotte. Impact of antioxidant supplementation on chemotherapeutic efficacy: A systematic review of the evidence from randomized controlled trials. *Cancer Treatment Reviews*. 1 août 2007. Vol. 33, n° 5, pp. 407-418. DOI 10.1016/j.ctrv.2007.01.005.

163. BUTTERFIELD, D. Allan et BOYD-KIMBALL, Debra. Amyloid β -Peptide(1-42) Contributes to the Oxidative Stress and Neurodegeneration Found in Alzheimer

Disease Brain. *Brain Pathology*. 5 avril 2006. Vol. 14, n° 4, pp. 426-432.
DOI 10.1111/j.1750-3639.2004.tb00087.x.

164. BUTTERFIELD, D. Allan et BOYD-KIMBALL, Debra. Oxidative Stress, Amyloid- β Peptide, and Altered Key Molecular Pathways in the Pathogenesis and Progression of Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease*. 1 janvier 2018. Vol. 62, n° 3, pp. 1345-1367. DOI 10.3233/JAD-170543.

165. PALLET, Nicolas, BEAUNE, Philippe, THERVET, Eric, LEGENDRE, Christophe et ANGLICHEAU, Dany. Inhibiteurs de mTOR : Des antiprolifératifs pléiotropiques. *médecine/sciences*. novembre 2006. Vol. 22, n° 11, pp. 947-952.
DOI 10.1051/medsci/20062211947.

166. ETTINGER, Stephen J., FELDMAN, Edward C. et COTE, Etienne. *Textbook of Veterinary Internal Medicine - eBook: Textbook of Veterinary Internal Medicine - eBook*. Elsevier Health Sciences, 2016. ISBN 978-0-323-31239-4. Google-Books-ID: 57XBDQAAQBAJ

167. BORGARELLI, Michele et BUCHANAN, James W. Historical review, epidemiology and natural history of degenerative mitral valve disease. *Journal of Veterinary Cardiology*. 1 mars 2012. Vol. 14, n° 1, pp. 93-101.
DOI 10.1016/j.jvc.2012.01.011.

168. PEDERSEN, Henrik D. et HÄGGSTRÖM, Jens. Mitral valve prolapse in the dog: a model of mitral valve prolapse in man. *Cardiovascular Research*. 1 août 2000. Vol. 47, n° 2, pp. 234-243. DOI 10.1016/S0008-6363(00)00113-9.

169. SCHIMKE, Ingolf, SCHIKORA, Martin, MEYER, Rudolf, DÜBEL, Hans-Peter, MODERSOHN, Diethelm, KLEBER, Franz et BAUMANN, Gert. Oxidative stress in the human heart is associated with changes in the antioxidative defense as shown after heart transplantation. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 1 janvier 2000. Vol. 204, n° 1, pp. 89-96. DOI 10.1023/A:1007030322514.

170. CESSSELLI, Daniela, JAKONIUK, Igor, BARLUCCHI, Laura, BELTRAMI, Antonio P., HINTZE, Thomas H., NADAL-GINARD, Bernardo, KAJSTURA, Jan, LERI, Annarosa et ANVERSA, Piero. Oxidative Stress-Mediated Cardiac Cell Death Is a Major Determinant of Ventricular Dysfunction and Failure in Dog Dilated Cardiomyopathy. *Circulation Research*. 3 août 2001. Vol. 89, n° 3, pp. 279-286.
DOI 10.1161/hh1501.094115.

171. MAILER, K., MACLEOD, I. et MORRIS, W. Age related changes in anti-oxidative enzymes in cardiomyopathic hamster hearts. *Mechanisms of Ageing and Development*. 14 juin 1991. Vol. 59, n° 1-2, pp. 37-45. DOI 10.1016/0047-6374(91)90072-8.

172. EKELUND, Ulf E. G., HARRISON, Robert W., SHOKEK, Ori, THAKKAR, Rajiv N., TUNIN, Richard S., SENZAKI, Hideaki, KASS, David A., MARBÁN, Eduardo et HARE, Joshua M. Intravenous Allopurinol Decreases Myocardial Oxygen Consumption and Increases Mechanical Efficiency in Dogs With Pacing-Induced Heart Failure. *Circulation Research*. 3 septembre 1999. Vol. 85, n° 5, pp. 437-445.
DOI 10.1161/01.RES.85.5.437.

173. ZHANG, Liwei, GAO, Yanhui, FENG, Hongqi, ZOU, Ning, WANG, Kewei et SUN, Dianjun. Effects of selenium deficiency and low protein intake on the apoptosis through a mitochondria-dependent pathway. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 1 décembre 2019. Vol. 56, pp. 21-30. DOI 10.1016/j.jtemb.2019.06.019.
174. VAN RENSBURG, I. B. et VENNING, W. J. Nutritional myopathy in a dog. *Journal of the South African Veterinary Association*. juin 1979. Vol. 50, n° 2, pp. 119-121.
175. TOUYZ, Rhian M., RIOS, Francisco J., ALVES-LOPES, Rhéure, NEVES, Karla B., CAMARGO, Livia L. et MONTEZANO, Augusto C. Oxidative Stress: A Unifying Paradigm in Hypertension. *Canadian Journal of Cardiology*. 1 mai 2020. Vol. 36, n° 5, pp. 659-670. DOI 10.1016/j.cjca.2020.02.081.
176. MICHEL, Jean-Baptiste. Système rénine-angiotensine et remodelage vasculaire. *médecine/sciences*. 1 avril 2004. Vol. 20, n° 4, pp. 409-413. DOI 10.1051/medsci/2004204409.
177. HARVEY, Adam, MONTEZANO, Augusto C. et TOUYZ, Rhian M. Vascular biology of ageing—Implications in hypertension. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 1 juin 2015. Vol. 83, pp. 112-121. DOI 10.1016/j.yjmcc.2015.04.011.
178. CLARKE, S. P. et BENNETT, D. Feline osteoarthritis: a prospective study of 28 cases. *Journal of Small Animal Practice*. 2006. Vol. 47, n° 8, pp. 439-445. DOI 10.1111/j.1748-5827.2006.00143.x.
179. TIKU, Moti L., SHAH, Rahul et ALLISON, Greg T. Evidence Linking Chondrocyte Lipid Peroxidation to Cartilage Matrix Protein Degradation. *Journal of Biological Chemistry*. juin 2000. Vol. 275, n° 26, pp. 20069-20076. DOI 10.1074/jbc.M907604199.
180. DECAMBRON, Adeline. Diagnostic de l'arthrose chez le chat. *Le Nouveau Praticien Vétérinaire canine & féline*. 1 décembre 2022. Vol. 19, pp. 24-31. DOI 10.1051/npvcafe/2023005.
181. BELLOCQ, L. *Arthrose du chien [et du chat]: aspect médical et suivi*. Paris [FRA : DEPECHE VETERINAIRE LA : Supplément technique, 2007. P311-107
182. PELLETIER, J P, LASCAU-COMAN, V, JOVANOVIC, D, FERNANDES, J C, MANNING, P, CONNOR, J R, CURRIE, M G et MARTEL-PELLETIER, J. Selective inhibition of inducible nitric oxide synthase in experimental osteoarthritis is associated with reduction in tissue levels of catabolic factors. *The Journal of rheumatology*. 1 septembre 1999. Vol. 26, n° 9, pp. 2002-2014.
183. HENROTIN, Y. E, BRUCKNER, P et PUJOL, J. -P. L. The role of reactive oxygen species in homeostasis and degradation of cartilage. *Osteoarthritis and Cartilage*. 1 octobre 2003. Vol. 11, n° 10, pp. 747-755. DOI 10.1016/S1063-4584(03)00150-X.
184. LANKIN, Vadim Z., TIKHAZE, Alla K. et MELKUMYANTS, Arthur M. Malondialdehyde as an Important Key Factor of Molecular Mechanisms of Vascular

Wall Damage under Heart Diseases Development. *International Journal of Molecular Sciences*. janvier 2023. Vol. 24, n° 1, pp. 128. DOI 10.3390/ijms24010128.

185. MONTUSCHI, Paolo, BARNES, Peter et ROBERTS, L. Jackson. Insights into oxidative stress: the isoprostanes. *Current Medicinal Chemistry*. 2007. Vol. 14, n° 6, pp. 703-717. DOI 10.2174/092986707780059607.

186. MILNE, Ginger L., YIN, Huiyong, BROOKS, Joshua D., SANCHEZ, Stephanie, JACKSON ROBERTS, L. et MORROW, Jason D. Quantification of F2-isoprostanes in biological fluids and tissues as a measure of oxidant stress. *Methods in Enzymology*. 2007. Vol. 433, pp. 113-126. DOI 10.1016/S0076-6879(07)33006-1.

187. WEINBERGER, Barry, HIRSCH, Daniel, YIN, Kingsley et SPUR, Bernd W. Lipid Mediators and Lung Function. In : *Comparative Biology of the Normal Lung*. [en ligne]. Elsevier, 2015. pp. 403-421. [Consulté le 28 septembre 2023]. ISBN 978-0-12-404577-4.

188. GRANDJEAN, Dominique. Le stress oxydatif cellulaire chez le chien : conséquences et prévention nutritionnelle. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*. 2001. Vol. 154, n° 3, pp. 49-61. DOI 10.4267/2042/62614.

189. RAVIĆ, Branko, DEBELJAK-MARTACIĆ, Jasmina, POKIMICA, Biljana, VIDOVIĆ, Nevena, RANKOVIĆ, Slavica, GLIBETIĆ, Marija, STEPANOVIĆ, Predrag et POPOVIĆ, Tamara. The Effect of Fish Oil-Based Foods on Lipid and Oxidative Status Parameters in Police Dogs. *Biomolecules*. août 2022. Vol. 12, n° 8, pp. 1092. DOI 10.3390/biom12081092.

190. JEWELL, Dennis E, YU, Shiguang et JOSHI, Dinesh K. Effects of Serum Vitamin E Levels on Skin Vitamin E Levels in Dogs and Cats. *Veterinary Therapeutics*. 2002. Vol. 3, n° 3.

191. HALL, Jean A., TOOLEY, Katie A., GRADIN, Joseph L., JEWELL, Dennis E. et WANDER, Rosemary C. Effects of dietary n-6 and n-3 fatty acids and vitamin E on the immune response of healthy geriatric dogs. *American Journal of Veterinary Research*. 1 juin 2003. Vol. 64, n° 6, pp. 762-772. DOI 10.2460/ajvr.2003.64.762.

192. AHKANG, Soon, JANG, Yeon Jin et PARK, Hyongsuf. In Vivo Dual Effects of Vitamin C on Paraquat-Induced Lung Damage: Dependence on Released Metals from the Damaged Tissue. *Free Radical Research*. 1 janvier 1998. Vol. 28, n° 1, pp. 93-107. DOI 10.3109/10715769809097880.

193. KIENZLE, E. et MAIWALD, E. Effect of vitamin C on urine pH in cats. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 12 septembre 1998. Vol. 80, n° 1-5, pp. 134-139. DOI 10.1111/j.1439-0396.1998.tb00515.x.

194. MENVIELLE-BOURG, F. Joanny. La superoxyde dismutase, puissant antioxydant naturel, désormais disponible par voie orale. *Phytothérapie*. juin 2005. Vol. 3, n° 3, pp. 118-121. DOI 10.1007/s10298-005-0087-9.

195. LEEUWENBURGH, C., HOLLANDER, J., LEICHTWEIS, S., GRIFFITHS, M., GORE, M. et JI, L. L. Adaptations of glutathione antioxidant system to endurance training are tissue and muscle fiber specific. *The American Journal of Physiology*.

janvier 1997. Vol. 272, n° 1 Pt 2, pp. R363-369.
DOI 10.1152/ajpregu.1997.272.1.R363.

196. OH-ISHI, S., KIZAKI, T., NAGASAWA, J., IZAWA, T., KOMABAYASHI, T., NAGATA, N., SUZUKI, K., TANIGUCHI, N. et OHNO, H. Effects of endurance training on superoxide dismutase activity, content and mRNA expression in rat muscle. *Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology*. mai 1997. Vol. 24, n° 5, pp. 326-332. DOI 10.1111/j.1440-1681.1997.tb01196.x.

197. HEITZER, T., JUST, H. et MÜNZEL, T. Antioxidant vitamin C improves endothelial dysfunction in chronic smokers. *Circulation*. 1 juillet 1996. Vol. 94, n° 1, pp. 6-9. DOI 10.1161/01.cir.94.1.6.

198. BERNARD, G. R., LUCHT, W. D., NIEDERMEYER, M. E., SNAPPER, J. R., OGLETREE, M. L. et BRIGHAM, K. L. Effect of N-acetylcysteine on the pulmonary response to endotoxin in the awake sheep and upon in vitro granulocyte function. *The Journal of Clinical Investigation*. juin 1984. Vol. 73, n° 6, pp. 1772-1784. DOI 10.1172/JCI111386.

199. MORSE, M. L. et DAHL, Rolf H. Cellular glutathione is a key to the oxygen effect in radiation damage. *Nature*. février 1978. Vol. 271, n° 5646, pp. 660-662. DOI 10.1038/271660a0.

200. SCIUTO, Alfred M., STRICKLAND, Paul T., KENNEDY, Thomas P. et GURTNER, Gail H. Protective Effects of N-acetylcysteine Treatment after Phosgene Exposure in Rabbits. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. mars 1995. Vol. 151, n° 3_pt_1, pp. 768-772. DOI 10.1164/ajrccm/151.3_Pt_1.768.

201. EATON, Simon. The biochemical basis of antioxidant therapy in critical illness. *The Proceedings of the Nutrition Society*. août 2006. Vol. 65, n° 3, pp. 242-249. DOI 10.1079/pns2006501.

202. GRANGER, D. N. Ischemia-reperfusion: mechanisms of microvascular dysfunction and the influence of risk factors for cardiovascular disease. *Microcirculation (New York, N.Y.: 1994)*. septembre 1999. Vol. 6, n° 3, pp. 167-178.

203. MOGHEISEH, Asghar, KOOHI, Farzaneh, NAZIFI, Saeed, SHOJAEE TABRIZI, Aidin, TAHERI, Pegah et SALAVATI, Sina. Oxidative-antioxidative status and hepatic and renal factors following melatonin administration in castrated and intact dogs. *Basic and Clinical Andrology*. décembre 2019. Vol. 29, n° 1, pp. 14. DOI 10.1186/s12610-019-0094-6.

204. RIPOLL, Christophe, COUSSAERT, Aurélie, WALDENBERGER, Ferdinand Rudolf, VISCHER, Claudia, GINOUVÈS, Amandine, MCGAHIE, David et GATTO, Hugues. Evaluation of Natural Substances' Protective Effects Against Oxidative Stress in a Newly Developed Canine Endothelial Cell-Based Assay and in Cell-Free Radical Scavenging Assays. . 2012. Vol. 10, n° 2.

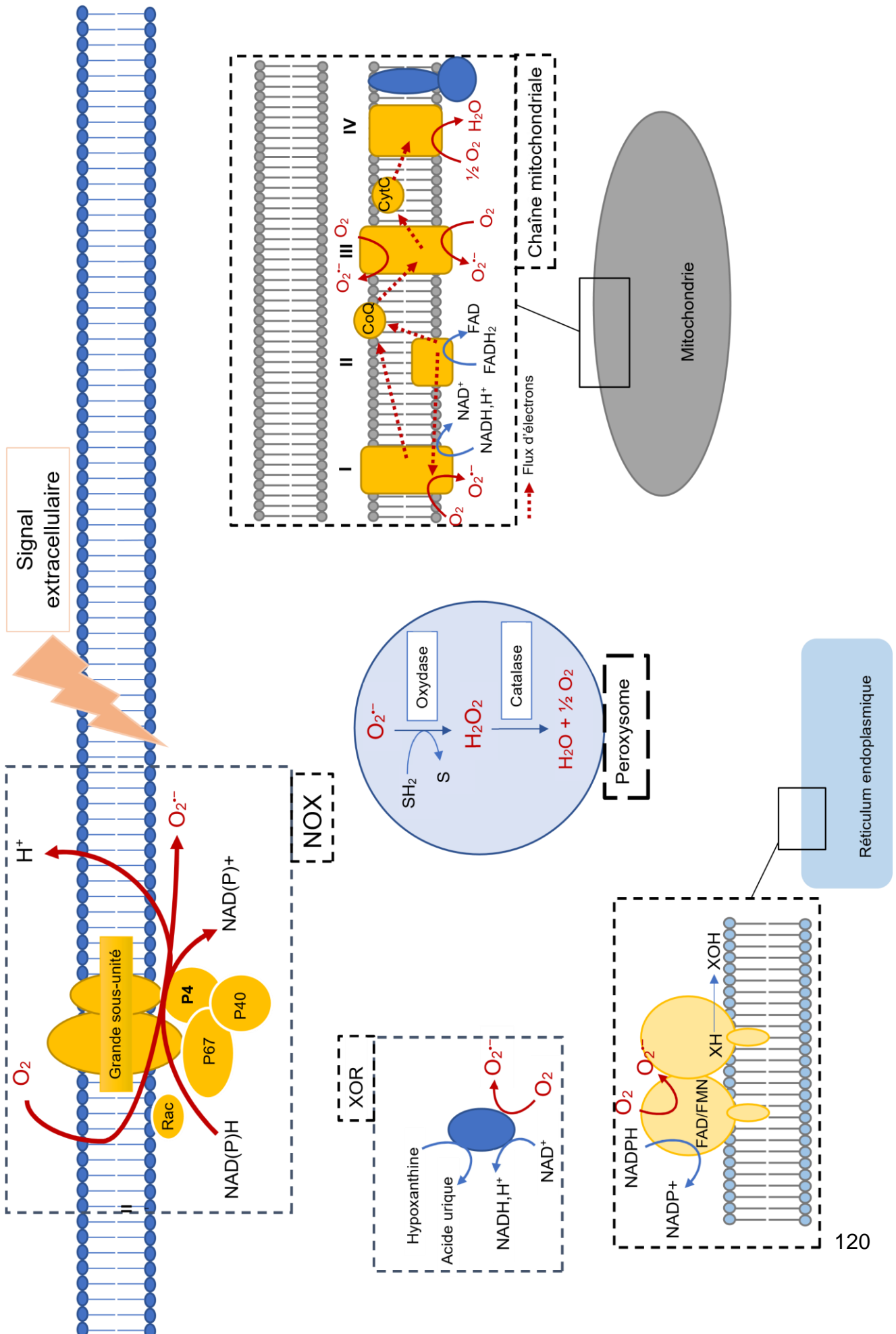
205. PASQUINI, A., LUCHETTI, E., MARCHETTI, V., CARDINI, G. et IORIO, E. L. Analytical performances of d-ROMs test and BAP test in canine plasma. Definition of

the normal range in healthy Labrador dogs. *Veterinary Research Communications*. 1 février 2008. Vol. 32, n° 2, pp. 137-143. DOI 10.1007/s11259-007-9014-x.

206. TAHARI, Z., MEDJDOUB, A., SAHRAOUI, T., TAHARI, F. Z., SOULIMANI, R., BOUSAHBA, A. et EL KEBIR, F. Z. Analyse de l'état du stress oxydatif dans le cancer du sein à l'Ouest algérien via les tests FORD et FORT et corrélation avec le grade histopronostique SBR. *Journal Africain du Cancer / African Journal of Cancer*. 1 février 2013. Vol. 5, n° 1, pp. 16-21. DOI 10.1007/s12558-012-0236-7.

ANNEXES

Annexe 1 : Schéma de la production d'ERO au sein de la cellule eucaryote.



Légende de l'annexe 1 :

NOX : NADPH Oxydase ; **NAD(P)H, H⁺** : Nicotinamide Adénine Dinucléotide (Phosphate) réduit ; **NAD(P)⁺** : Nicotinamide Adénine Dinucléotide (Phosphate) oxydé ; **RAC** : petite protéine G (appartenant à la superfamille des GTPases) ; **O₂** : Dioxygène ; **O₂^{•-}** : anion superoxyde ; **P4, P67 et P40** : protéines cytosoliques régulatrices de NOX ; **SH₂** = Substrat réduit ; **S** = substrat oxydé ; **XOR** : Xanthine oxydo-reductase ; **FAD** : Flavine Adénine Dinucléotide ; **FMN** : Flavine Mononucléotide ; **XH** = xénobiotique réduit ; **XOH** : xénobiotique oxydé ; **H₂O** : eau ; **FADH₂** : Flavine Adénine Dinucléotide réduite ; **FAD** : Flavine Adénine Dinucléotide oxydée ; **Co Q** : Coenzyme Q ; **Cyt C** : Cytochrome C ; **H₂O₂** : Peroxyde d'hydrogène

Annexe 2 : Tableau des principaux ligands responsables de la production d'ERO, leurs sources et leurs effets sur la cellule d'après Delattre et al. (1)

Ligand	ERO	Source(s) enzymatique(s)	Cellule ou lieu	Effets fonctionnels (ou pathologiques)
Récepteurs des cytokines				
TNF- α	O ₂ ⁻ , H ₂ O ₂	NADPH oxydase	Fibroblastes	Inconnu
	O ₂ ⁻	Inconnu	Cellules endothéliales	Inconnu
	O ₂ ⁻	NADPH oxydase	Cellules mésangiales	MCP-1, CFS-1 expression
	H ₂ O ₂	Flavoprotéine oxydase	Chondrocytes	Prolifération
	Non spécifié	Mitochondrie	Fibrosarcome	Activation NF-kB induction IL6 Cytotoxicité
	Non spécifié	Inconnu	Cellules de tumeur mammaire	HSP27 phosphorylation
IL1	O ₂ ⁻ , H ₂ O ₂	Flavoenzyme	Fibroblaste	Inconnu
	O ₂ ⁻	Inconnu	Cellules endothéliales	
	O ₂ ⁻	Inconnu	Myocyte de chien	
IFN- γ	O ₂ ⁻	Inconnu	Cellules endothéliales	Inconnu
	H ₂ O ₂	Cyclooxygénase	Hépatocytes	Action antibactérienne
Récepteurs tyrosines-kinases				
PDGF	H ₂ O ₂	Inconnu	Cellules BALB/3T3	Croissance cellulaire
	H ₂ O ₂	Flavoprotéine oxydase	Cellule muscle lisse	Mitogénèse, activation MAPK
	O ₂ ⁻	Inconnu	Cellule N1H/3T3	Expression NOS/Libération PGE ₂

	O ₂ ⁻	Flavoenzyme	Cellule muscle lisse	Induction NF-KB dépendant de MCP-1
EGF	H ₂ O ₂	Inconnu	Carcinome épidermoïde	Phosphorylation tyrosine, croissance cellulaire
	Non spécifié	Inconnu	Cellule de la lignée HaCaT	Activation JNK
	H ₂ O ₂	Inconnu	Hépatocyte	Carcinogenèse
	Non spécifié	Flavoprotéine oxydase	Kératinocyte humain	PLA ₂ , activation MAPK
	O ₂ ⁻	Lipooxygénase	PCI2	Croissance cellulaire
	H ₂ O ₂	Inconnu	Cellules mammaires de rat	Metastarisation
	H ₂ O ₂	Inconnu	Cellules de l'épiderme murin	Activation p70 ^{S6k}
	H ₂ O ₂	Inconnu	Cellules muscles lisses	Auto-induction HB-EGF
FGF-2	O ₂ ⁻	Inconnu	Fibroblaste du poumon	Mitogénèse
IGF-1	H ₂ O ₂	Suppression des EAO	3T3 L1-préadipocytes	Différentiation adipocyte
HGF	H ₂ O ₂	Inconnu	Cellules sarcomes	Apoptose
<u>Récepteur Serine/Thréonine kinases</u>				
TGF-β1	H ₂ O ₂	Inconnu	Ostéoblastes de souris	Augmentation de l'inhibition, induction erg-1
	H ₂ O ₂	Inconnu	Cellules endothéliales	Augmentation de l'inhibition
	H ₂ O ₂	Suppression des EAO	Hépatocytes du rat	Augmentation de l'inhibition
	H ₂ O ₂	NADH oxydase	Fibroblastes du poumon	Inconnu
	H ₂ O ₂	Inconnu	Hépatocytes	Apoptose
	H ₂ O ₂	Suppression des	Cellules	Apoptose

		EAO	pancréatique bêta	
	H ₂ O ₂	Inconnu	Cellules hépatiques	Procollagène α 1(I), induction TGF- β
<u>Récepteurs couplés aux protéines G</u>				
Angiotensine II	O ₂ ⁻ , H ₂ O ₂	NADPH oxydase p22 ^{phox}	Cellules muscle lisse	Hypertrophie cellulaire, Activation de p38
	O ₂ ⁻	Inconnu	Cellules tubulaires proximales	P27 ^{-kip1} , cellules hypertrophiées
	O ₂ ⁻	Flavoprotéine oxydase	Cellules mésangiales	Cellules hypertrophiées
	H ₂ O ₂	Oxydase- phospholipase D	Cellule muscle lisse	Prolifération/hypertrop hie
Serotonine	O ₂ ⁻	NADPH oxydase	Cellules muscle lisse	Activation ERK/prolifération
	OH [•]	5-HT transporteur dépendant	Tissu de rat	Depletion de 5-HT
Bradykinine	O ₂ ⁻ , H ₂ O ₂	Cyclo-oxygénase	Cellules endothéliales	Inconnu
	O ₂ ⁻	Inconnu, Ca ²⁺ dépendant	Kératinocytes humains	Inconnu
Thrombine	O ₂ ⁻ , H ₂ O ₂	Enzyme NADPH-like	Cellules endothéliales	Inconnu
	O ₂ ⁻ , H ₂ O ₂	NADPH oxydase, p47 ^{phox}	Cellule muscle lisse	Croissance cellulaire, activation p38
Endothéline	H ₂ O ₂	Inconnu	Cardiomyocytes	Induction de c-Fos
<u>Récepteurs couplés à des canaux ioniques</u>				
Glutamate	H ₂ O ₂	Inconnu		Inconnu
	O ₂ ⁻	Mitochondrie, Zn ²⁺ dépendant	Neurones	Inconnu
Acétylcholine	H ₂ O ₂	Mitochondrie	Cardiomyocytes	Inconnu

Etude bibliographique du stress oxydant et de son implication en pathologie des carnivores domestiques.

Valérie Payet, 26 octobre 2023

Résumé :

L'oxygène est un gaz indispensable à la vie des organismes aérobies. Néanmoins, son potentiel oxydant fait de lui une molécule qui peut être nocive pour les molécules organiques autour de lui. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont formées par de nombreux systèmes au sein de la cellule et interagissent par la suite avec les lipides, les protéines et l'ADN. Bien que ces ERO participent à de nombreuses fonctions physiologiques, elles sont également à l'origine de lésions tissulaires. Afin de lutter contre ces ERO, de nombreux systèmes antioxydants existent mais peuvent parfois être dépassés. L'apparition d'un stress oxydant se fait lorsqu'un déséquilibre a lieu entre ces systèmes de défense et la production de pro-oxydant. Les conséquences d'un stress oxydant sont multiples. Les études chez les carnivores domestiques ne sont pas nombreuses comparées à celles faites chez les humains. Néanmoins, il semblerait que le stress oxydant ait des implications dans des maladies dégénératives, inflammatoires et cancéreuses. Des progrès ont été effectués dans la mesure du stress oxydant mais, elle nécessite des méthodes onéreuses, non appliquées en routine en médecine vétérinaire. Ce travail de synthèse bibliographique met en lumière les mécanismes de formation du stress oxydant et son implication dans des maladies des carnivores domestiques.

Mots clés : Stress oxydant, radicaux, espèces réactives, antioxydant, affections, biomolécules, carnivores domestiques, oxygène, maladies, mesure.

Summary :

Oxygen is an essential gas for aerobic organisms. Nevertheless, its oxidizing potential makes it a molecule that can be harmful to the organic molecules around. Reactive oxygen species (ROS) are formed by many systems in cell and subsequently interact with lipids, proteins and DNA. Although these ROS are involved in many physiological functions, they are also responsible for tissue damage. To fight these ROS, numerous antioxidant systems exist, but can sometimes be overwhelmed. Oxidative stress occurs when there is an imbalance between these defense systems and the production of pro-oxidants. The consequences of oxidative stress are manifold. Studies on domestic carnivores are few compared with those on humans. Nevertheless, it would appear that oxidative stress has implications for degenerative, inflammatory and cancerous diseases. Progress has been made in measuring oxidative stress, but this requires expensive methods that are not routinely applied in veterinary medicine. This review of the literature sheds light on the mechanisms of oxidative stress formation and its involvement in diseases of domestic carnivores.

Keywords : Oxidative stress, radicals, reactive species, antioxidant, diseases, biomolecules, domestic carnivores, oxygen, diseases, measurement.