

## La prise en charge du stress oxydant en pratique courante

### Mystification ou réalité ?

Il est désormais acquis qu'une alimentation saine, équilibrée et particulièrement riche en fruits et légumes prévient le risque cardiovasculaire, les maladies neurodégénératives et, plus globalement, le vieillissement. Il est tout aussi prouvé que 60 à 80 % des maladies chroniques pourraient être évitées par des mesures hygiéno-diététiques et comportementales simples. Le stress oxydant résultant de la production excessive de radicaux oxygénés en regard de défenses antioxydantes dépassées est pointé du doigt pour expliquer ces constats. Le médecin est ainsi amené à évaluer l'état de stress oxydant de ses patients pour le corriger si nécessaire. Pas si simple...

**Mots clés :**  
Stress oxydant,  
Statut antioxydant,  
Biomarqueurs,  
Prise en charge

**Dr Michel Brack, INSERM UPMC 939, "Dyslipidémies, Inflammation et Athérosclérose dans les Maladies Métaboliques", hôpital de la Pitié, Paris.**

#### Quand l'excès de calories génère l'oxydation...

L'augmentation de la longévité et le fait que la ration calorique ne soit plus un problème depuis longtemps dans les pays développés font naître des préoccupations nouvelles et privilégiées, au sein desquelles émerge paradoxalement la restriction calorique. Cette restriction concerne essentiellement les calories vides qui apportent, contrairement aux calories denses, une énergie de "gaspillage" sans micronutriments. La sollicitation inappropriée du métabolisme énergétique mito-

chondrial génère une production excessive et délétère de radicaux oxygénés toxiques, eux-mêmes source d'initiation de chaînes d'oxydation à distance. D'autres phénomènes (tabagisme, pollution, stress psychosocial et maladies en particulier inflammatoires) concourent à la création, au maintien ou à l'amplification de ces chaînes d'oxydation.

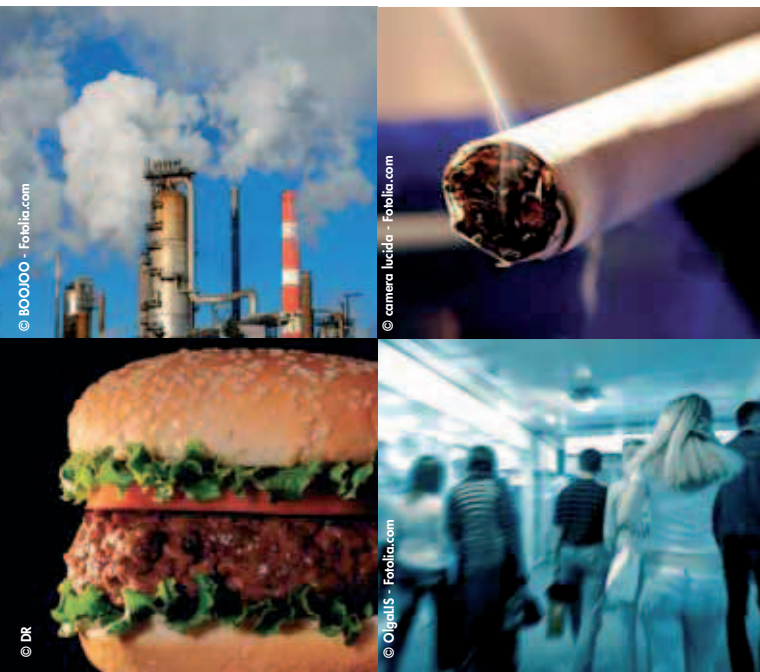
L'itération dans le temps de ces agressions oxydatives consomme les antioxydants exogènes, épuise à terme les systèmes antioxydants endogènes et, lorsque les systèmes d'élimination et de réparation sont dépassés, cumule dans l'organisme des substrats oxydés (lipides, sucres, protéines et ADN) potentiellement toxiques. Une meilleure compréhension de ces phénomènes, leur complexité et le foisonnement de publications sur le sujet attisent l'envie légitime de prendre en charge ces états "pathologiques" d'oxydation que l'on regroupe sous le terme de "stress oxydatif" ou "oxydant".

Cela impose cependant, face à une lacune cruelle de preuves cliniques et à une certaine déception des essais disponibles, un double changement de paradigmes :

- quitter, pour le moment du moins, l'Evidence Based Medicine pour une démarche fondée sur les faisceaux d'arguments ;
- abandonner les essais cliniques d'intervention avec des antioxydants ou cocktails empiriques pour des études cliniques dont l'argument central est la correction d'un état dûment objectivé de stress oxydant.

#### De la nécessité d'une évaluation et d'une supplémentation de qualité

L'ensemble de ces constatations, associées aux risques liés aux autosupplémentations anarchiques, amène certains spécialistes de la question à proposer une démarche sérieuse et la plus validée possible de prise en charge du stress oxydant. Toutefois, celle-ci ne fait pas



Excès de calories, tabac, pollution, stress... participent à la création, au maintien ou à l'amplification des chaînes d'oxydation



L'unanimité dans les milieux scientifiques et médicaux. Le débat concerne tout aussi bien l'évaluation du stress oxydant que la supplémentation antioxydante. Pour ce qui concerne l'évaluation, et principalement la prescription de bilans dits de "stress oxydant" (ou oxydatif), l'argumentation porte essentiellement sur l'absence de standardisation des méthodes de dosage et des valeurs de référence, et l'hétérogénéité des biomarqueurs utilisés. La supplémentation antioxydante trouve ses détracteurs parmi les sceptiques quant à son éventuelle efficacité et surtout, depuis peu, ses dangers potentiels. Globalement, les uns et les autres s'affrontent autour d'une question fondamentale et légitime : "Est-il pertinent de prendre en charge le stress oxydant des individus dans la population générale ?"

Les travaux que nous menons depuis 7 années, que ce soit au Centre pilote de consultations centrées sur l'évaluation du stress oxydant que nous avons créé, ou dans le cadre d'une collaboration entre l'unité INSERM 939- Dyslipidémies, Inflammation et Athérosclérose dans les Maladies Métaboliques-hôpital de la Pitié-Paris et l'École supérieure de physique chimie de Paris, n'ont pour autre objectif que de répondre à cette question. Des avancées ont été faites, mais de larges zones d'ombre persistent. Les études cliniques manquent ou sont contradictoires. Seule une analyse conjointe et sereine des acquis et des inconnues peut permettre à chacun de se faire une opinion.

Il faut avant tout intégrer que la supplémentation antioxydante est du domaine libre et public et que de ce fait, encouragée par la pression médiatique, elle apparaît pour certains comme un problème de santé publique potentiel. Si les arguments et contre-arguments sont souvent justifiés et portent une partie de la vérité, il y a au bout de la chaîne des consommateurs (sans parler des malades...) auprès desquels il est critique de divulguer les bonnes pratiques de la gestion de leur propre santé.

## SÉMANTIQUE

**Sur le plan purement sémantique, stress oxydant signifie "stress qui oxyde" et stress oxydatif : "oxydation qui stresse".**

Si cette seconde proposition semble plus proche de la réalité (on entendrait par "stress oxydatif" une oxydation anormale "stressant" l'organisme), la traduction du terme anglo-saxon "oxidative stress" oriente plutôt vers "stress oxydant".

**Le stress oxydant peut être compris comme la faillite d'un système de protection et d'élimination de produits toxiques, système très sophistiqué, indispensable à la vie aérobie.**

Dans cette optique, cet article essaiera, avec modestie, de répondre point par point à certaines questions concrètes :

- de quoi parle-t-on lorsqu'on évoque le "stress oxydant" d'un individu ?
- doit-on prendre en charge le stress oxydant de nos patients ?
- les bilans de stress oxydant sont-ils fiables ?
- quelles informations apportent un bilan de stress oxydant ?
- faut-il prescrire des bilans de stress oxydant et à qui ?

## Stress oxydant : de quoi parle-t-on ?

### Une balance en équilibre instable

La représentation la plus classique, mais aussi la plus triviale, du stress oxydant est le déséquilibre d'une balance entre un plateau insuffisant des défenses antioxydantes et/ou un plateau trop lourd des agresseurs oxydants.

Cette image plus ludique que scientifique a pourtant de nombreux avantages. Elle sensibilise au fait :

- qu'il existe des facteurs pro-oxydants et des défenses antioxydantes et que leur équilibre est important ;
- que le déséquilibre peut résulter d'anomalies de l'un ou l'autre, voire des deux plateaux, ce qui signifie que l'on ne peut résumer simplement le stress oxydant à de mauvais apports alimentaires en fruits et légumes ;
- que le différentiel entre un plateau trop lourd en agresseurs et un plateau trop léger en antioxydants est la quantité de stress oxydant que présente le sujet. Plus précisément, elle objective l'agression oxydative plus ou moins intense, plus ou moins prolongée et/ou itérative, de l'organisme par des molécules radicalaires toxiques non maîtrisées par des défenses antioxydantes dépassées. Cette situation se traduira inexorablement en termes de morbi-mortalité, au mieux par l'accélération momentanée des phénomènes du vieillissement.
- qu'il existe un concept d'équilibre, qui mérite une attention toute particulière sur laquelle nous reviendrons plus tard.

### Bon et mauvais stress oxydant ?

Il est classique de lire çà et là que le stress oxydant peut être utile, voire bénéfique. Cette notion est juste, mais mérite peut-être d'être repensée. Sur le plan de la sémantique, le stress oxydant peut être compris comme la faillite d'un système de protection et d'élimination de produits toxiques, système très sophistiqué, indispensable à la vie aérobie. En revanche, les réactions d'oxydoréduction font partie de la chimie naturelle de tout organisme vivant, et en ce sens l'oxydation d'un grand nombre de substrats est incontournable et participe à la synthèse de nombreuses molécules indispensables. De plus, les radicaux libres sont une arme utilisée par nos cellules de défense dans la lutte antibactérienne, ils



© Oleksandr - Fotolia.com

**La représentation classique du stress oxydant est le déséquilibre d'une balance entre un plateau insuffisant en défenses antioxydantes et/ou un plateau trop lourd en agresseurs oxydants.**

sculptent les organes du fœtus au cours des premières semaines de l'embryogenèse et régulent l'expression de nombreux gènes, initiant par là, entre autres, une voie de l'apoptose.

Si la chimie radicalaire est un phénomène naturel, voire salvateur, pour plus de clarté, nous considérerons le stress oxydant comme un état anormal et péjoratif en terme de santé. Les sujets en parfaite santé ne présentent pas de stress oxydant. Les patients souffrant de maladies plus ou moins graves présentent un stress oxydant corrélé à l'agressivité de leur pathologie.

## Doit-on prendre en charge le stress oxydant de nos patients ?

### Ce que disent les études d'intervention [1]

De nombreuses enquêtes alimentaires réalisées à partir des années 1990 ayant montré, d'une part, que la consommation régulière de fruits et légumes riches en antioxydants protégeait des cancers tous types confondus et, d'autre part, que les taux plasmatiques bas en différents antioxydants étaient corrélés avec un risque très augmenté de présenter un cancer ou une maladie cardiovascu-

Entre les dérapages médiatiques et les choix plus ou moins empiriques des supplémentations, les études d'intervention sèment le trouble dans la communauté scientifique, tandis que les preuves cliniques manquent cruellement

laire, ont conduit aux lancements d'études d'intervention avec des antioxydants.

Onze études majeures ont été réalisées entre 1993 et 2001 dont la première, la "Linxian Intervention Trials", avait montré un gain de près de 10 % sur la mortalité globale (notamment liée au cancer de l'estomac), dans une population vivant en Chine dans la région de Linxian, où l'incidence des cancers de l'estomac était particulièrement élevée. Dans cette étude, 30 000 sujets avaient reçu quotidiennement pendant 5 ans, 15 mg de bêta-carotène, 30 mg de vitamine E et 50 microgrammes de sélénium. Les études ATBC et CARET qui ont suivi n'ont pas confirmé ces résultats. Celles-ci ont au contraire abouti à une augmentation respective de 16 et 28 % de l'incidence du cancer du poumon chez les grands fumeurs. Dans ces deux études, les doses de bêta-carotène administrées étaient de l'ordre de 20 à 30 mg (avec ou sans vitamine A (25 000 UI)), multipliant par un facteur 18 la concentration plasmatique de bêta-carotène. De façon étonnante, la communauté scientifique fut ébranlée par ces résultats qui ne faisaient qu'entrevoir l'idée nouvelle que l'administration empirique de certains antioxydants, à certaines doses, dans certaines situations, chez certains sujets, pouvait être plus néfaste que bénéfique.

Plus récemment, en 2006, la méta-analyse de Bjelakovic et coll. allait de nouveau alimenter des dérapages médiatiques des plus spectaculaires. Publiée dans *The Lancet*, puis dans le *JAMA*, largement reprise dans une presse grand public peu soucieuse de la vérité scientifique, les auteurs de cette étude concluaient que la prise de compléments antioxydants, notamment de vitamines C et E ainsi que de bêta-carotène et de sélénium, semblait augmenter la mortalité. Ce travail et ses conclusions ont été largement contestés. Sur 815 essais disponibles dans la littérature, seuls 68 ont été retenus selon des critères propres aux auteurs, parmi lesquels 47 seulement ont été jugés par eux comme "bien conduits".

De ce tri drastique, et pour des raisons incompréhensibles, des études aussi sérieuses que celle de Linxian ou l'étude GISSI menée en Italie, concluant à une baisse de la mortalité, ont été écartées. De plus, les auteurs oublient de préciser dans leurs conclusions que cette hausse de la mortalité n'était observée que pour des fortes doses d'antioxydants.

### L'absence cruelle de preuves cliniques...

La prise en charge du stress oxydant au cours des pathologies chroniques reste à ce jour du domaine de la recherche clinique. En dehors de quelques exceptions, en particulier dans le domaine de l'ophtalmologie (études AREDS et LAST), aucune étude clinique n'a montré que l'évolution d'une pathologie, quelle qu'elle soit, puisse être améliorée par la prise d'antioxydants [2, 3]. Ce point est important, car toutes les études en



question se sont limitées à tester un éventuel intérêt de suppléments antioxydants divers et variés choisis de façon plus ou moins empirique. Les échecs relatifs de ces études liés à la diversité, pour ne pas dire à l'absence de standardisation, voire de cohérence, de leur design, ne devraient conduire qu'à une seule et unique conclusion : les suppléments "empiriques" en antioxydants n'ont pas d'intérêt au cours des maladies chroniques.

### •... dans le domaine thérapeutique...

Ce constat incite à un changement radical de paradigme, où il ne serait plus question de rechercher l'impact de suppléments antioxydants plus ou moins aléatoires sur l'évolution des pathologies chroniques, mais de vérifier si le "traitement" ou la résolution d'un stress oxydant au cours d'une maladie pour laquelle son implication est largement documentée, modifie le cours de cette pathologie. *De facto*, cela impose de pouvoir évaluer avec un maximum de fiabilité l'état de stress oxydant de tout individu avant toute démarche "antioxydante". Cela est d'autant plus crucial que, la plupart du temps, il est assez facile de corriger un état de stress oxydant dûment objectivé par une prise en charge relativement simple. Pour ne citer qu'un exemple, si nous avons pu vérifier que les patients parkinsoniens présentaient bien, conformément à la littérature publiée, un niveau élevé de stress oxydant, la correction de leur bilan est accessible, dans la grande majorité des cas, à une supplémentation antioxydante simple, dirigée par les résultats biologiques.

Mais la question fondamentale reste : "Le fait de corriger le stress oxydant d'un patient Parkinsonien améliore-t-il son état ?" Autrement dit, existe-t-il une valeur médicale ajoutée à la prise en charge du stress oxydant des patients parkinsoniens, et de la même façon des patients cardiovasculaires, arthritiques ou cancéreux ?

Seules des études cliniques, inexistantes aujourd'hui, pourront répondre à cette question. Pour ce qui concerne la maladie de Parkinson, ce bénéfice attendu pourrait s'exprimer sur des registres variés : amélioration clinique, épargne de dopamine, retard à l'échappement thérapeutique... À ce jour, une seule étude publiée dans *Archive of Neurology* 2002 [4], a montré que le CoQ10 administré à des doses relativement importantes (600 et 1 200 mg/jour) ralentissait la progression de la détérioration (score UPDRS).

### •... et préventif

En ce qui concerne la prévention, de nombreuses études épidémiologiques montrent clairement que les déficits en antioxydants sont globalement corrélés à des risques plus élevés de développer une maladie chronique et/ou dégénérative (maladies cardiovas-

culaires, maladies neurodégénératives, cancers...). Cela rejoint et prolonge les acquis des études fondamentales qui montrent les mêmes corrélations avec les niveaux élevés de certains marqueurs de l'oxydation. L'étude SUVIMAX reste cependant l'argument clinique le plus tangible qu'une supplémentation antioxydante au long cours protège des cancers et de la mort toutes causes confondues. L'absence de résultats de cette étude chez les femmes a fait l'objet de plusieurs tentatives d'explication. Le fait que la supplémentation antioxydante de SUVIMAX, générique pour tous, ne fut pas optimale ou adaptée pour l'ensemble de la population est une hypothèse crédible, renforcée par la publication d'une étude de sous-groupe de femmes chez qui la supplémentation par rapport au placebo a augmenté la prévalence de mélanomes [5, 6].

Au total, on peut penser que, là aussi, si l'objectif avait été de corriger un état de stress oxydant "biologiquement objectivé" et non de tester une supplémentation antioxydante aléatoire et identique pour tous, les résultats eussent été différents. Mais ce que SUVIMAX confirme, conclusion à laquelle les auteurs des études et méta-analyses qui ont injustement semé le trouble auraient dû aboutir, est que l'efficacité des suppléments antioxydants, voire leur légitimité, est très dépendante des taux plasmatiques de départ. Ce point essentiel, confirmé depuis dans d'autres études, impose à lui seul, avant toute supplémentation au long cours, le diagnostic biologique du stress oxydant.

### La démarche médicale

L'académisme en matière de pratique médicale basée sur un rationnel biologique, impose une démarche par étapes :

- l'étape diagnostique : mise en évidence d'écarts significatifs d'un ou plusieurs biomarqueurs par rapport aux normes de références ;
- l'étape corrective : retour des valeurs à la norme ;
- l'étape thérapeutique : amélioration d'un état pathologique corrélé aux perturbations des biomarqueurs.

Si, en matière de stress oxydant, les deux premières étapes sont réglées (il est en effet possible de faire un diagnostic précis du stress oxydant et de corriger les anomalies objectivées par le bilan), la troisième étape

”  
En dehors de quelques exceptions, aucune étude clinique n'a montré que l'évolution d'une pathologie puisse être améliorée par la prise d'antioxydants

n'est pas résolue. En effet, si les perturbations des biomarqueurs du stress oxydant sont bien corrélées à des états pathologiques, il n'est pas prouvé à ce jour (hors quelques exceptions) que leur correction soit synonyme d'amélioration des patients.

La prise en charge du stress oxydant repose donc sur un faisceau d'arguments :

- le stress oxydant est bien impliqué dans de nombreuses pathologies ;
- il est, dans certains cas, lié à la gravité de la situation (certains phénotypes agressifs de cancers, comme celui de la prostate, sont liés à des niveaux élevés de stress oxydant) ;
- les déficits en antioxydants et les taux élevés de certains biomarqueurs de l'oxydation sont corrélés à un risque plus élevé de développer ces maladies ;
- le stress oxydant apparaît comme un facteur essentiel du vieillissement ;
- certaines études ont montré un bénéfice clinique de suppléments antioxydants, tant dans le domaine de la prévention qu'au cours de certaines pathologies (DMLA, SUVIMAX).

## Les bilans de stress oxydant sont-ils fiables ?

### On ne maîtrise que ce que l'on mesure...

L'évaluation du stress oxydant est apparue très vite comme une étape préliminaire indispensable à toute initiative de prise en charge. Les biomarqueurs explorant le stress oxydant n'appartiennent pas à la biologie de routine et seuls quelques laboratoires hospitalo-universitaires maîtrisent les techniques de ces dosages. Si

la précaution de confier les analyses du stress oxydant à ces structures dont la compétence et le sérieux ne peuvent être mis en doute est une première garantie de fiabilité (les résultats rendus sont signés par les biologistes responsables de ces laboratoires), certaines questions restent posées :

- quels marqueurs choisir ?
- sont-ils fiables, dans la mesure où les techniques utilisées et les normes de référence divergent d'un laboratoire à l'autre ?
- comment interpréter leurs résultats ?

Ces questions pointent un constat majeur : l'absence de standardisation des méthodes.

## Le choix délicat des biomarqueurs

### • Isoler les biomarqueurs utiles

Dans un premier temps, nous avons "testé" un grand nombre de biomarqueurs en les confrontant à des situations cliniques classiquement corrélées à un stress oxydant plus ou moins élevé. Des modèles statistiques sophistiqués nous ont permis d'attribuer à chaque biomarqueur et à ses variations, un taux de pertinence pour la réponse à la question : "Ce patient présente-t-il ou pas un stress oxydant ?"

Ces taux de pertinence sont très variables d'un marqueur à l'autre. Ainsi, si le taux de pertinence du ratio glutathion réduit sur glutathion oxydé est supérieur à 90 %, celui de la glutathion peroxydase ou de la superoxyde dismutase (SOD) est inférieur à 20 %. Autrement dit, la mesure du premier est plus utile à l'évaluation du niveau de stress oxydant d'un sujet que les autres.

**Tableau 1** Biomarqueurs du stress oxydant : sélection des variables pertinentes

Variable candidate	Variable estimée			
	Glutathion	Glutathion/ Glutathion oxydé	8-OH-dG/ créatinine	LDL oxydées
Cu/Zn	0,93	0,93	0,98	0,81
Thiol	0,89	0,89	0,57	0,99
Sélénium	0,89	0,89	0,84	0,89
Vitamine C	NS	NS	0,75	0,98
Vitamine E	0,82	0,82	0,90	NS
Vitamine E/vitamine C	0,63	0,63	NS	0,99
Glutathion/Glutathion oxydé	NS	NS	0,98	0,94
Glutathion	NS	NS	NS	0,81

Les nombres représentent la probabilité pour la variable candidate d'être plus pertinente qu'une variable témoin dans l'estimation des variables calculées. NS : non sélectionné



Ce premier travail a permis d'isoler une quinzaine de biomarqueurs utiles et nécessaires au diagnostic du stress oxydant [7] (Tab. 1).

- **Les marqueurs de l'oxydation des lipides**

Une autre difficulté provient du fait que les laboratoires, quand bien même hospitalo-universitaires, n'utilisent pas les mêmes marqueurs. Pour exemple, de nombreux marqueurs peuvent être proposés pour l'exploration de l'oxydation des lipides : LDL oxydés, anticorps anti-LDL oxydés, peroxydes lipidiques, malondialdéhyde plasmatique (MDA), substances réagissant à l'acide thio-barbiturique (TBARS), isoprostanes urinaires ou plasmatiques... pour ne citer que les plus connus. Cette variété est liée à l'expertise de l'équipe et du service, ainsi qu'à une maîtrise plus grande de certaines techniques telles que la chromatographie liquide à haute performance (CLHP) pour le dosage du MDA. De nombreux débats animent les spécialistes. Et si certains de ces dosages sont plus pertinents sur le plan de "l'académisme biologique", les corrélations que nous avons pu établir avec la clinique sont étonnamment identiques, au moins pour les LDL oxydés, les peroxydes lipidiques et le MDA. À noter qu'un consensus se fait autour des isoprostanes, qui apparaissent comme LE biomarqueur de l'oxydation des lipides, et que l'on peut considérer comme le produit terminal de l'oxydation radicalaire de l'acide arachidonique, mais dont le dosage en routine n'est pas encore d'actualité.

- **L'importance des valeurs de référence**

Il y a une grande différence conceptuelle entre "choisir le meilleur test d'évaluation du degré d'oxydation des lipides et qui plus est de certains lipides" et "choisir la meilleure constellation de biomarqueurs pour explorer le stress oxydant d'un sujet". La diversité des techniques employées explique aussi la divergence des normes de références d'un laboratoire à l'autre. Cet argument, largement utilisé par ceux qui contestent l'intérêt des bilans de stress oxydant, n'est pas sérieux. Chaque laboratoire proposant ces dosages se doit de définir, pour chaque marqueur, ses propres valeurs de référence (quand bien même, lorsqu'un kit est utilisé, le fabricant propose ses propres normes), ce que font à l'évidence et sérieusement les laboratoires universitaires avec lesquels nous travaillons. Le fait que, pour un laboratoire, les normes du glutathion oxydé soient de 5,34 à 19,3 micromoles par litre, alors que pour un autre laboratoire elles sont de 6,21 à 21,7 n'est pas un problème en soi. L'essentiel est que, pour un même patient, un taux à 5,34 dosé par le premier laboratoire corresponde bien à un taux de 6,21 pour le second. Autrement dit, il est nécessaire qu'il y ait une bonne corrélation entre les dosages des deux laboratoires pour un même patient, ce que nous avons vérifié pour nos laboratoires partenaires. Il est clair que tout laboratoire

(notamment privé) qui souhaiterait se hasarder dans le dosage des marqueurs du stress oxydant devrait valider ses techniques et ses résultats auprès de ces structures compétentes.

Enfin, il ne saurait être question de diagnostiquer un état de stress oxydant quel qu'il soit par le dosage d'un ou deux marqueurs biologiques et encore moins en piquant un patient au bout du doigt. À ce titre, toutes les techniques d'évaluation du statut antioxydant ont un intérêt très limité. Elles ne font en aucun cas le diagnostic du stress oxydant. La plupart du temps, elles mesurent le pouvoir antioxydant de substances qui, sans être des antioxydants (c'est-à-dire une molécule qui peut se présenter en alternance sous sa forme réduite et sa forme oxydée), ont un pouvoir antioxydant dans le plasma (leur chef de file étant l'acide urique).

Le diagnostic du stress oxydant passe inéluctablement par une constellation "réfléchie" de biomarqueurs et par le respect des procédures préanalytiques rigoureuses où malheureusement la centrifugation à 4 °C et la congélation à - 80 °C restent incontournables.

## Quelles informations apporte un bilan de stress oxydant ?

Un bilan de stress oxydant doit permettre, au minimum, d'objectiver un niveau de stress oxydant pour chaque sujet testé, de comparer des sujets entre eux et de suivre pour un sujet donné l'évolution de son état de stress oxydant. Les biomarqueurs ou groupes de biomarqueurs utilisés dans un bilan de stress oxydant sont remarquables par les intercorrélations qui existent entre eux [7] (Fig. 1, 2, 3).

Ces corrélations ont permis le développement d'algorithmes mathématiques complexes qui seuls permettent de renseigner de façon fiable sur l'existence ou non d'un stress oxydant et de situer son niveau sur une échelle graduée allant de l'absence à un niveau maximal de stress oxydant. La justification de ces algorithmes pour l'interprétation de ces bilans repose sur la démonstration de la valeur fondamentale de la modélisation mathématique, les différents marqueurs utilisés n'ayant qu'une faible valeur diagnostique lorsqu'ils sont interprétés isolément. Ainsi, le fait d'avoir un taux bas de zinc ou élevé de glutathion réduit et/ou oxydé (GSH et GSSG) n'implique pas à lui seul l'existence d'un

Le diagnostic du stress oxydant passe inéluctablement par une constellation "réfléchie" de biomarqueurs et par le respect des procédures préanalytiques rigoureuses

stress oxydant anormal. C'est la combinaison complexe des anomalies de ces différents biomarqueurs qui objective réellement l'état de stress oxydant d'une personne.

## Oxyscale, une échelle d'évaluation interprétée

L'échelle de stress oxydant Oxyscale, qui a fait l'objet d'un brevet européen publié, est un procédé d'évaluation quantitatif et qualitatif du stress oxydant. Mise à la disposition des médecins, elle leur permet une prise en charge simple et rationnelle de leurs patients dans le domaine du stress oxydant.

C'est la combinaison complexe des anomalies de mesure des différents biomarqueurs qui objective réellement l'état de stress oxydant

Dans un premier temps, le travail a consisté à identifier l'ensemble des biomarqueurs indispensables et nécessaires parmi une batterie de plus de 50 tests disponibles, qui puissent être analysés en routine afin de réaliser un diagnostic précis du stress oxydant. Une quinzaine de ces marqueurs ont été retenus comme particulièrement pertinents et incontournables. De facto, tous les biomarqueurs qui n'apportaient pas d'information utilisable ou significative ont été écartés.

### • Une sélection de biomarqueurs pertinents

Les biomarqueurs pertinents qui doivent apparaître dans un bilan de stress oxydant se répartissent en trois groupes. Chacun de ces groupes apporte des informations différentes :

- 1 - le premier groupe rassemble des marqueurs exprimant l'état du statut antioxydant, c'est-à-dire l'état des défenses antioxydantes lié en partie aux apports alimentaires : vitamines antioxydantes, oligoéléments, etc. On l'appelle "cluster" ou "groupe" des facteurs exogènes ;
- 2 - le second rassemble des marqueurs objectivant une agression cellulaire, témoin de phénomènes oxydants "actifs" : glutathion réduit, glutathion oxydé, protéines thiols... Il s'agit du "cluster" des anomalies endogènes ;
- 3 - le dernier exprime des dégâts oxydatifs : lipides oxydés, ADN oxydé, etc. C'est le "cluster" des marqueurs terminaux de l'oxydation.

### • Une évaluation quantitative et qualitative

Dans un deuxième temps, un score d'évaluation du niveau de stress oxydant a été conçu. Les résultats de ces travaux sont synthétisés dans une formule très complexe du calcul du score "Oxyscale" [7]. Une note exprime pour un patient donné son niveau de stress oxydant, de 0 (absence de stress) à 10 (stress maxi-

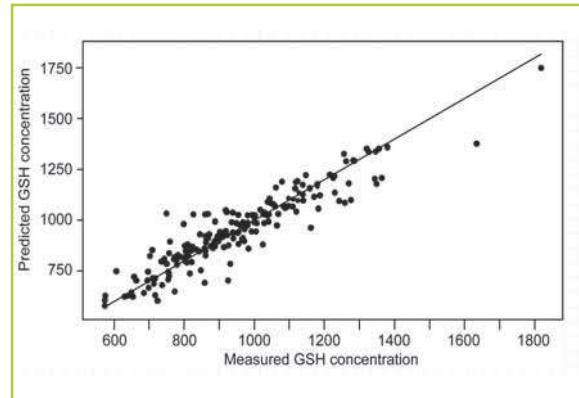


Figure 1 - Le taux de glutathion réduit (GSH) peut être prédit par les taux du sélénium (97 %), des thiols (97 %), du rapport Cu/Zn (92 %), de la vitamine E (83 %) et du ratio vitamine C sur vitamine E (72 %).

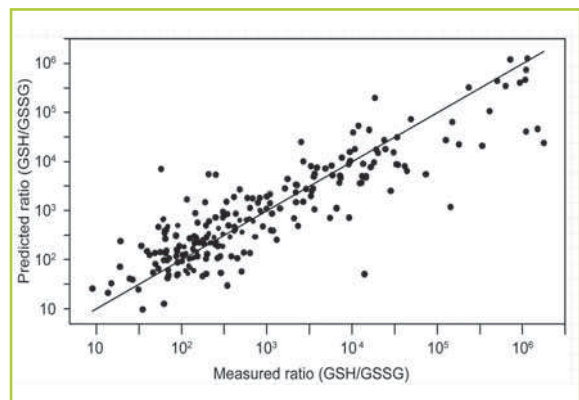


Figure 2 - Le ratio glutathion réduit/glutathion oxydé (GSH/GSSG) peut être prédit par le rapport Cu/Zn (93 %), les taux du sélénium (89 %), des thiols (89 %), de la vitamine E (82 %) et du rapport vitamine C sur vitamine E (63 %).

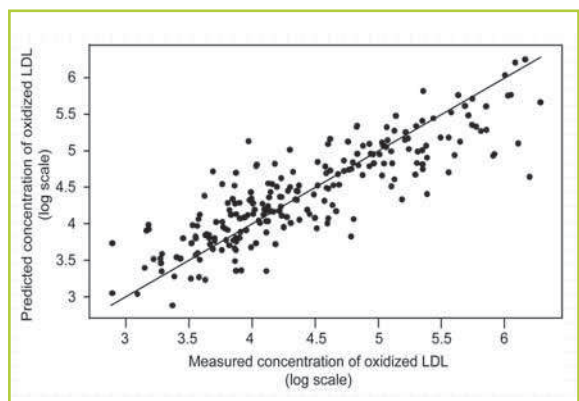


Figure 3 - Le taux des LDL oxydés peut être prédit par les taux des thiols (99 %), de la vitamine E (99 %), de la vitamine C (98 %), du glutathion oxydé (94 %), du sélénium (89 %) et du glutathion réduit (81 %).



mal). Ce score est associé à trois scores qualitatifs, exprimant la part que représente chacun des trois groupes (statut antioxydant, agression cellulaire, marqueurs de dégâts oxydatifs) dans le score global.

## Quelles sont les informations délivrées par l'échelle Oxyscale ?

La première information qu'il faut aller chercher sur un résultat Oxyscale est celle du score global. Ce score évalue le niveau quantitatif de stress oxydant (Tab. 2). La seconde information est celle des sous-scores, ou le poids relatif de chacun des trois groupes dans le score global. Ce poids relatif est exprimé en pourcentage. Ainsi, une répartition de 60, 30 et 10 % pour un score global de 5,27, par exemple, signifie que ce niveau de stress oxydant relativement important est pour 60 % lié à des déficits du statut antioxydant, pour 30 % à une agression cellulaire oxydative et pour 10 % à des marqueurs terminaux perturbés prédictifs d'un risque plus élevé de maladies. Autrement dit, la note globale de 5,27 se décompose en trois sous-notes : 3,162 pour les déficits en antioxydants ; 1,581 pour l'agression oxydative ; 0,527 pour les dégâts oxydatifs.

Lorsque, comme ici, les déficits en antioxydants ont une responsabilité majeure dans le score, on s'attachera à vérifier s'il s'agit de déficits d'apports ou de déficits liés à une surconsommation par l'organisme. Les déficits d'apport signent une alimentation inappropriée (notamment peu riche en fruits et légumes). Les déficits par surconsommation se rencontrent dans de nombreuses pathologies (déficit en vitamine C chez les fumeurs, déficit en vitamine C et zinc lors d'épisodes infectieux répétés ou chroniques...).

Ces déficits cumulés initient un stress oxydant débutant. L'anamnèse et une petite enquête alimentaire (nombre de portions de fruits et légumes par jour), ainsi que le

taux de bêta-carotène, permettent facilement de distinguer les déficits d'apports des déficits par surconsommation. De la même manière, un score à 4,78 dans lequel les déficits du statut antioxydant n'interviennent que pour 10 %, alors que l'agression cellulaire a une responsabilité de 70 %, évoque un stress oxydant lié à des facteurs pro-oxydants majeurs (tabagisme, stress psychosocial, sport intense mal géré, ou processus pathologique connu ou ignoré) et ne peut se résumer à de simples conseils nutritionnels.

Enfin, le poids relatif du troisième groupe (marqueurs terminaux de l'oxydation) dans le score global peut être associé à une augmentation du risque de développer une maladie : cardiovasculaire, dégénérative ou cancéreuse. Ainsi, un score de 5,87 pour lequel la répartition est de 10, 20 et 70 % indique un risque élevé de développer l'une de ces maladies. Il indique par ailleurs que le stress oxydant n'est pas lié à de simples déficits d'apport, mais à un contexte "pro-oxydant".

### • Oxyscale, une échelle sensible

En dehors des différences importantes observées lors de la comparaison de phénotypes extrêmes, nous avons voulu tester la sensibilité de l'échelle dans des situations moins tranchées. Pour cela, nous avons comparé deux groupes appariés pour l'âge et le sexe, dans une population genevoise.

Le premier groupe était constitué par des pharmaciens d'officine et le second par les patients les visitant pour des motifs variés (délivrance d'ordonnance, produits OTC, conseils...). On a considéré *a priori* que le groupe "patients" présentait un état de santé plus dégradé que le groupe "pharmaciens". Les résultats comparés de leurs bilans interprétés par l'échelle montrent des différences significatives de leur score global de stress oxydant, différences portant sur les marqueurs endogènes et les marqueurs terminaux, alors que leur statut antioxydant est identique (Fig. 4).

**Tableau 2** Interprétation des scores et sous-score de l'échelle Oxyscale

Score Oxyscale	Interprétation
0 - 2	Pas de stress oxydant, ou stress oxydant mineur
2 - 4	Stress oxydant modéré
4 - 6	Stress oxydant important
> 6	Stress oxydatif majeur
Sous-scores Oxyscale	Interprétation d'un sous-score élevé
Statut antioxydant	Déficit d'apport par l'alimentation ou excès de consommation lié à une pathologie
Agression cellulaire	Facteurs pro-oxydants majeurs (tabac, stress, sport intense, pathologie)
Dégâts oxydatifs	Risque élevé de développer une maladie cardio-vasculaire, dégénérative ou cancéreuse



En conclusion, l'échelle Oxyscale objective des différences significatives de niveau de stress oxydant entre des populations très malades, peu malades et bien portantes.

- **Qu'apporte l'échelle par rapport aux résultats du laboratoire ?**

Un bilan restitué par le laboratoire où seul le taux plasmatique du zinc serait en dehors des limites des normes du laboratoire conclurait à l'absence de stress oxydant et à la simple nécessité d'enrichir l'alimentation en zinc. Comme le montre le **tableau 2**, le même bilan interprété par l'échelle Oxyscale objective en réalité, grâce à la prise en compte de ces corrélatifs, un stress oxydant relativement important. Cela tient au fait que l'échelle prend en compte des rapports (vitamine C/alpha-tocophérol, cuivre/zinc,

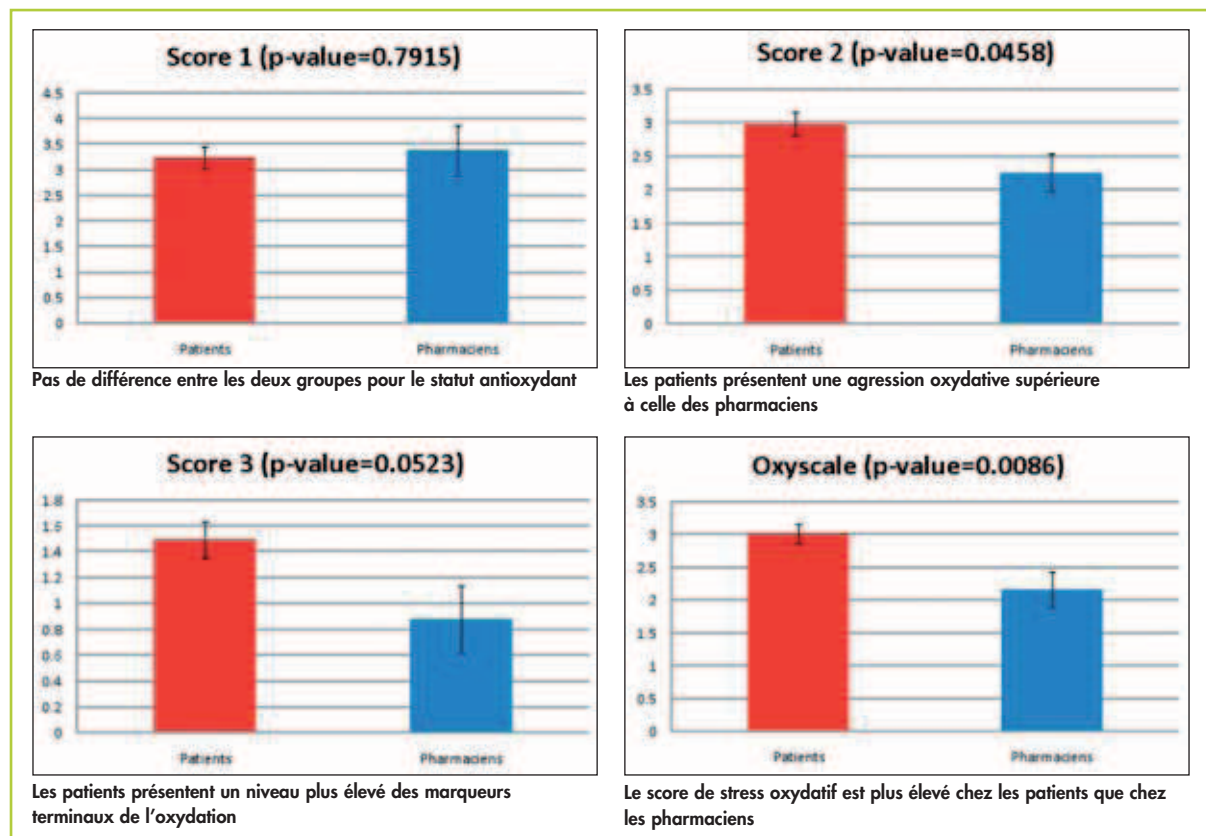
glutathion réduit/ glutathion oxydé) comme des marqueurs à part entière, ainsi que des pondérations complexes : une variation du taux de vitamine C n'a pas le même poids dans le score que la même variation du taux des thiols ou du MDA [7].

### L'échelle Oxyscale confrontée à la clinique

Le score obtenu par l'échelle est fortement corrélé à l'état de santé des sujets. Les patients atteints de maladies graves ou agressives présentent des scores beaucoup plus élevés, voire très élevés par rapport aux témoins sains (**Tab.3**).

Le score global de stress oxydant est en moyenne très élevé chez les malades : 5,75 vs 1,93 (sur une échelle de 0 à 10). Certains patients ont des scores supérieurs à 6, ce qui représente un stress oxydant majeur. Ces niveaux sont liés essentiellement à une agression oxydative (60 % du score), alors que les déficits éventuels du statut antioxydant ne comptent que pour 8 % du score global : les taux de vitamine C, par exemple, sont identiques dans les deux groupes et identiques à la norme (58 vs 56). C'est le même constat pour les taux de zinc qui, bien que relativement bas, sont également identiques dans les deux groupes (11,6 vs 11,7). Cela montre que l'existence d'un stress oxydant élevé au cours des pathologies agressives n'est pas liée à des

L'existence d'un stress oxydant élevé au cours des pathologies agressives n'est pas liée à des déficits d'apport en antioxydants et ne relève pas de simples conseils nutritionnels



**Figure 4 - Analyse des différents scores de l'Oxyscale dans l'étude Patients/Pharmaciens en région genevoise.**

**Tableau 3 Comparaison Oxyscale/Résultats bruts du laboratoire**

Statut antioxydant		Normes labo	Anomalies endogènes		Normes labo
Vitamine C	41	15-62	GSH	825,6	727,75-1203
Alpha-tocophérol	39	18-48,5	GSSG	18,8	5,34-19,3
Gamma-tocophérol	2,89	1,47-3,57	GSH/GSSG	43,91	Sup 100
Vit. C/vit. E	1,05	Sup 1,3	GPX	412	299,3-449,85
Se	1,02	0,8-1,2	Thiols	6	5,8-7,7
Cu	23,1	12,4-25,9	Acide urique	285	145-460
Zn	<b>10,4</b>	11,7-17,3	<b>Marqueurs oxydation</b>		
Cu/Zn	2,22	Inf 1	MDA	1,79	1,12-1,81
Bêta-carotène	1,35	0,122-1,44	T bars	2,76	2,126-2,86
Vitamine A	2,89	1,05-3,05	8OHDG		

Les résultats bruts du laboratoire concluent à l'absence de stress oxydatif, seul le taux de zinc est un peu bas.

SCORE OXYSCALE	4,18
Déficits du statut antioxydant	13 %
Agression oxydative	<b>65 %</b>
Marqueurs terminaux	22 %

L'échelle Oxyscale objective un stress oxydatif à 4,18, de modéré à important, lié pour 65 % du score à une agression oxydative.

déficits d'apport en antioxydants et ne relève pas de simples conseils nutritionnels.

Enfin, si la plupart des marqueurs du stress oxydant sont plus élevés dans le groupe "malades" (glutathion oxydé, MDA, TBARS) l'anomalie majeure est le taux très bas des thiols (5,4 vs 6,51). Chez certains patients, ce taux est effondré (< 5). L'altération des thiols apparaît de plus en plus comme un marqueur essentiel et fort de stress oxydant, notamment au cours des maladies chroniques agressives. À ce titre, il est impensable d'intituler "bilan de stress oxydatif" un bilan qui ne comporte pas le dosage des thiols totaux rapportés au taux des protéines.

#### • L'échelle Oxyscreen

Le bilan Oxyscreen a été conçu pour simplifier les procédures de prélèvement et de dosages et pour réduire les coûts, ces bilans ne faisant pas l'objet d'une prise en charge par la Sécurité sociale. Il s'agit d'une modélisation mathématique de prédiction du score de l'Oxyscale à partir d'un nombre restreint et minimal de marqueurs, directement inspirée des modèles de prédiction des valeurs des marqueurs de rang supérieur à partir des anomalies des marqueurs de rang inférieur.

Les biomarqueurs les plus prédictifs du score obtenu par l'échelle Oxyscale sont :

- le cuivre et le zinc et le rapport cuivre/zinc ;
- les glutathions réduit et oxydé et le rapport glutathion réduit/glutathion oxydé ;
- les thiols ;
- le MDA.

Oxyscreen peut être utilisée soit en première intention pour réaliser un "screening" de la situation et surtout comme bilan de suivi après un premier bilan Oxyscale.

#### Bilans de stress oxydant : faut-il prescrire, et à qui ?

La prescription d'un bilan de stress oxydant ne s'impose que dans les situations qui nécessitent l'appui d'un diagnostic le plus exact possible de l'état de stress oxydant. Sans préjuger de l'intérêt ou pas de corriger un état anormal de stress oxydant, deux grandes situations cliniques peuvent justifier un bilan de stress oxydant :

- la prise en charge du stress oxydant au cours des maladies et en particulier des maladies chroniques ;
- la prise en charge du stress oxydant dans le cadre de démarches de prévention.

On peut ajouter à ces deux grands chapitres l'exploration du stress oxydant chez les sportifs de haut niveau.

## Supplémentations au long cours : attention danger !

En dehors du fait qu'il apparaît difficile de corriger un état de stress oxydant sans le mesurer, le point commun entre toutes ces situations est qu'elles ont pour corollaire des supplémentations antioxydantes au long cours.

Ainsi, si la prise occasionnelle d'antioxydants, tout en respectant les grands principes, ne pose pas de problème, la plus grande prudence s'impose pour les supplémentations au long cours. La

”  
Si la prise occasionnelle d'antioxydants ne pose pas de problème, la plus grande prudence s'impose pour les supplémentations au long cours.

publication récente de certaines méta-analyses mettant en exergue un risque plus élevé de cancers et de mort lié aux supplémentations antioxydantes [8, 9], la référence systématique à la relation entre bêta-carotène et prévalence du cancer du poumon chez les fumeurs [10, 11] et plus récemment l'incidence des mélanomes chez les femmes de l'étude SUVIMAX [6] ont semé le doute non seulement sur l'efficacité, mais aussi sur l'innocuité des antioxydants. De nombreux débats et de nombreuses mises au point suivent régulièrement ces effets d'annonce. La contre-argumentation s'appuie essentiellement sur la diversité des protocoles (populations et supplémentations très différentes, doses parfois très élevées, jusqu'à dix fois les ANC) et la dérive des interprétations d'une presse non spécialiste.

### • De la nécessité d'un diagnostic et d'un suivi biologique sérieux

Cependant, un certain nombre d'arguments sérieux obligent à une certaine prudence. Outre les recommandations des auteurs de SUVIMAX qui, à la suite de la publication de la prévalence accrue des mélanomes chez les femmes, avertissent de la dangerosité potentielle des supplémentations au long cours, deux études récentes [12, 13] confirment pour l'une que l'effet bénéfique du sélénium n'est pas linéaire et, pour l'autre, qu'une supplémentation au long cours en sélénium augmente la prévalence de diabète de type 2. De plus, dans une étude publiée dans *Free Radical Biology and Medicine* 2008 [14], les auteurs concluent que les supplémentations sont d'autant plus efficaces que les taux plasmatiques avant la supplémentation sont bas.

Ces arguments sont largement suffisants pour se convaincre de la nécessité d'un diagnostic et d'un suivi biologique sérieux lors de toute stratégie de supplémentation prolongée. La question la plus critique concerne un éventuel effet promoteur des tumeurs par certains antioxydants, à certaines doses, dans certaines circons-

tances. Autrement dit, certaines supplémentations antioxydantes font-elles la promotion du développement tumoral des tumeurs infracliniques ? Le débat est loin d'être clos...

### • Le cas particulier du gène Bcl-2

Les radicaux libres jouent un rôle majeur dans le déclenchement du processus apoptotique et certains antioxydants pourraient s'opposer à l'apoptose. Plusieurs études suggèrent en effet que la production d'un excès de radicaux libres de l'oxygène pourrait être impliquée dans la mort cellulaire apoptotique [15, 16]. Le gène Bcl-2, ultime parade à l'apoptose, est oncogène et antioxydant... De nombreux travaux mettent en évidence un rôle antioxydant de la protéine Bcl-2 : les cellules surexprimant le gène Bcl-2 sont plus résistantes à l'apoptose induite par un stress oxydant comme l'exposition au peroxyde d'hydrogène ou à la ménadione [17]. La protéine Bcl-2 pourrait exercer cette fonction antioxydante en s'opposant à la production de radicaux libres oxygénés au niveau mitochondrial ou en s'opposant à la peroxydation des lipides [17, 18]. Cette fonction antioxydante du gène antiapoptotique Bcl-2 soutient l'hypothèse de l'implication des radicaux libres de l'oxygène dans l'apoptose.

En fait, la situation est plus complexe. Bcl-2 est une famille de gènes au sein de laquelle certains gènes sont antiapoptotiques et d'autres pro-apoptotiques, les gènes "antiapoptotiques" incluant Bcl-2, Bcl-x, Bcl-w, les gènes "pro-apoptotiques" incluant bax, bad, bak. Dans certaines circonstances (agression cellulaire, appauvrissement des facteurs de survie...), la régulation de l'expression de certains gènes favorisera ou s'opposera au déclenchement de l'apoptose, ces mêmes gènes étant alors, en fonction des conditions environnementales, promoteurs de la prolifération ou de la mort cellulaire.

### • Cancer : le principe de précaution s'impose

L'oncogène c-myc est un puissant activateur de la prolifération cellulaire. Mais lorsque les cellules sont soumises à des conditions de culture restreignant la prolifération, comme la privation de sérum, ce gène induit l'apoptose [19]. Ces mécanismes complexes de régulation de l'expression de certains gènes du couple prolifération/apoptose faisant intervenir radicaux libres et antioxydants expliquent la difficulté à proposer des supplémentations antioxydantes au cours des cancers. Si l'idée même de prendre en charge le stress oxydant des patients cancéreux est légitime, elle ne peut s'entendre que dans un rapport bénéfices/risques bien établi. Or là aussi les études sont discordantes, certaines montrent que les antioxydants diminuent l'efficacité de certaines chimiothérapies, d'autres évoquent la possibilité que ces mêmes supplémentations permettraient de réduire les facteurs limitant de la toxicité des chimiothérapies [20, 21].



En l'état actuel de nos connaissances, il semble préférable de ne pas prescrire d'antioxydants pendant les cures de chimio et radiothérapies et d'envisager une éventuelle prise en charge du stress oxydant "résiduel" à la fin des traitements sur la base de bilans biologiques validés. Il s'agit ici de suppléments ayant pour objectif de "traiter" un état de stress oxydant dûment diagnostiqué, les suppléments par des complexes nutritionnels ou substances (comme le curcuma, par exemple) ayant prouvé un impact sur la régression de la prolifération tumorale ouvrant d'autres débats.

## Rétablir la notion d'équilibre...

Être en bonne santé ne se résume pas à l'absence de maladies. Ce n'est pas non plus seulement un équilibre physique et psychique harmonieux. L'état de bonne santé se définit par la faculté préservée de l'organisme à gérer en permanence des états éloignés de l'équilibre et à revenir au plus près des équilibres antérieurs. Lorsqu'elle survient, la maladie provoque un état de crise (ne parle-t-on pas de crise cardiaque, crise d'appendicite, crise d'apoplexie, crise d'angoisse...). Chaque crise éloigne l'organisme de ses états d'équili-

bre. Elle n'est pas un épiphénomène sans conséquence, elle modifie brutalement et définitivement la trajectoire du sujet. La notion de guérison est à ce titre extrêmement floue, car il n'y a jamais de restitution *ad integrum*. La gestion des variations du rythme cardiaque et de la pression artérielle illustre de façon exemplaire ces concepts. L'essentiel n'est pas d'avoir un rythme cardiaque à l'équilibre, mais bien de gérer correctement en permanence des accélérations ou décélérations éloignées de l'équilibre. La perte de la faculté à faire varier son rythme cardiaque (ou perte de variabilité) est corrélée à la mort cardiaque [22]. Il est plus que probable que l'on puisse étendre ces notions aux grandes fonctions de l'organisme : faculté à gérer des états glycémiques ou d'autres fonctions métaboliques, hormonales, ou immunitaires.

## La gestion des crises oxydatives

Les perfusions de vitamine C, qui permettent d'atteindre des niveaux de 10 à 20 fois la concentration plasmatique normale, provoquent des "burst oxydatifs" violents par production de peroxyde d'hydrogène (avec effondrement des protéines thiols, augmentation des marqueurs de la lipoperoxydation), alors que le statut

**Tableau 4** Comparaison des niveaux de stress oxydant de patients atteints de maladies graves et de témoins sains

	Score Oxyscale				Biomarqueurs							
	Score total	% déficits	% agression	% dégâts	Vit. C	Zn	GSH	GSSG	Thiols	MDA	TBARS	
Pathologies neurodégénératives* n = 16	5,56	6,18	58,5	35,6	66,3	11,5	1016	17,8	5,6	1,8	3	
Cancers** n = 14	5,9	7,5	50,5	42	61	11,9	913	16,5	5,5	2,16	3,5	
Polyarthrite rhumatoïde n = 2	4,6	11	69	20	75,3	9,5	1168	13,2	5	1,3	2,7	
Divers*** n = 3	5,51	8,66	70	21,3	70,3	10,8	1051	22,2	5,2	1,4	2,7	
Pathologie cardio-vasculaire n = 4	5,72	6,75	70,25	23	64,6	10,8	1118	26,1	5,6	1,7	2,8	
Hépatite C n = 1	6,09	10	45	45	22,5	14,8	714	11,4	5,4	1,8	3,2	
<b>Moyenne malades n = 40</b>	<b>5,75</b>	<b>8,34</b>	<b>60,6</b>	<b>28</b>	<b>58</b>	<b>11,6</b>	<b>997</b>	<b>18</b>	<b>5,4</b>	<b>1,7</b>	<b>2,98</b>	
<b>Témoins sains n = 7</b>	<b>1,93</b>	<b>17,14</b>	<b>63,28</b>	<b>19,71</b>	<b>56</b>	<b>11,7</b>	<b>964</b>	<b>11,3</b>	<b>6,51</b>	<b>1,37</b>	<b>2,3</b>	

\*Trois parkinson, 1 sclérose en plaques, 1 sclérose latérale amyotrophique, 1 syndrome non étiqueté; \*\*2 pancréas, 8 seins, 1 côlon, 1 prostate, 1 rein, 1 leucémie; \*\*\*1 fibrose pulmonaire, 1 maladie périodique, 1 maladie de Besnier-Boëck-Schaumann.

antioxydant est remarquablement élevé. Ces crises oxydatives obligent l'organisme, notamment les systèmes endogènes antioxydants, à gérer un état très éloigné de l'équilibre redox. Dans d'autres modèles 'oxydants'

comme l'ozonothérapie, il a été démontré que la répétition des séances dans le temps (de l'ordre de sept à dix séances), provoquait l'effondrement des taux d'antioxydants endogènes.

Autrement dit, la sollicitation répétée, donc violente, des systèmes de régulation qui gèrent en permanence des états loin des équilibres se traduit à

terme par la perte irrémédiable de cette faculté à la variabilité. La courbe gaussienne de distribution des fréquences cardiaques sur 24 heures se déplace petit à petit vers des fréquences plus élevées, alors que sa base se rétrécit (l'amplitude entre fréquences les plus basses et fréquences les plus élevées diminue), la moyenne des pressions artérielles augmente, la glycémie se régule à des niveaux plus élevés, les systèmes d'élimination et de réparation des produits terminaux de l'oxydation sont peu à peu dépassés et le niveau de régulation augmente.

Si la prise en charge du stress oxydant au cours des maladies chroniques apparaîtra bientôt comme une évidence, la gestion des "pics oxydatifs" ponctuant inéluctablement tout accident de santé doit également être envisagée. Lorsque l'on compare parmi les personnes âgées celles qui présentent des niveaux de stress oxydant élevés et celles qui, malgré leur âge, ont un bilan normal, on s'aperçoit curieusement que les premières ont un passé ponctué d'événements et d'accidents de santé de toutes sortes. Celles qui ont un bilan normal présentent non seulement un état de santé tout à fait satisfaisant, mais ont eu la chance toute leur vie et notamment les dernières années de n'avoir pas rencontré la maladie. Cela devrait nous faire revoir la notion établie que l'âge est un facteur « naturel » de stress oxydant.

## Repenser le diagnostic et la prise en charge

### Stress oxydant, cause ou conséquence ?

De nombreux arguments plaident en faveur d'une prise en charge du stress oxydant non seulement au cours des maladies pour lesquelles son implication est large-

ment documentée, mais aussi pour initier et conduire une médecine de prévention active. Concernant la prévention, les autosupplémentations au long cours doivent être considérées comme un problème de santé publique. Les supplémentations prolongées légitimes doivent être encadrées par un professionnel de santé averti. Il est par ailleurs du devoir de chaque médecin d'interroger ses patients sur une prise éventuelle de compléments nutritionnels qui pourrait s'avérer inopportune afin de la recadrer au sein de sa propre démarche thérapeutique.

Aux États-Unis, des centres d'investigation proposent d'intégrer systématiquement dans les bilans biologiques du risque cardiovasculaire des marqueurs explorant l'oxydation ou l'oxydabilité des lipides. En France, ces bilans sont proposés par des structures hospitalo-universitaires, au premier rang desquels le laboratoire de biologie du CHU de Liège, et le Centre de biologie intégré du CHU de Grenoble dirigé par le Dr Catherine Garrel, pour qui "tout bilan de santé devrait comporter un bilan de stress oxydant".

Les travaux les plus récents convergent vers un changement radical de la perception du stress oxydant par la communauté médicale et scientifique. Ainsi, à l'heure où certains remettent en cause la théorie radicalaire du vieillissement de Denham Harman, les travaux de l'équipe de Fatima Mechta-Grigoriou (laboratoire de génétique et biologie des cancers – Institut Curie/unité INSERM 830) [23, 27] ont montré sur un modèle murin déficient pour le gène *junD* un nouveau mécanisme pro-angiogénique, associant le stress oxydant, la sécrétion d'insuline et la durée de vie. Ces travaux établissent pour la première fois le lien entre les deux théories principales expliquant le vieillissement, l'angiogenèse étant le chaînon manquant entre la théorie des radicaux libres et la théorie endocrine. Et de conclure : "De façon intéressante, un traitement antioxydant à long terme réduit l'angiogenèse, restaure le taux d'insuline à un niveau normal et prévient le vieillissement. Les effets du traitement antioxydant sont donc la preuve du rôle des radicaux libres, de l'angiogenèse et de l'insuline dans la longévité."

D'autres travaux (UMR Inserm U870/INRA U1235/INSA de Lyon/Université Lyon 1/Hospices civils de Lyon) [28], montrent, chez les souris diabétiques, que les altérations mitochondriales des cellules musculaires lisses ne précèdent pas le développement de l'insulinorésistance, mais sont plutôt la conséquence d'un stress oxydant musculaire associé à l'hyperglycémie et l'hyperlipidémie. L'induction *in vitro* de radicaux libres par du glucose ou des lipides altère la densité et les fonctions mitochondriales dans des cellules musculaires en culture, ces effets étant restaurés par un traitement antioxydant. Et là aussi les auteurs de conclure : "Ces travaux permettent

*de cibler le stress oxydant musculaire comme un des éléments en cause dans les altérations mitochondriales en situation de diabète, suggérant que l'utilisation de stratégies basées sur les antioxydants pourrait constituer un traitement complémentaire aux thérapies conventionnelles, visant à normaliser les concentrations circulantes de glucose et lipides, afin d'améliorer les capacités oxydatives du muscle squelettique."*

Il est possible aujourd'hui de corriger dans la grande majorité des cas ces états de stress oxydant, dont le potentiel péjoratif ne peut plus être ignoré. En l'absence de preuves cliniques suffisantes, il est essentiel cependant d'inscrire cette prise en charge non seulement au sein de "bonnes pratiques" de prise en charge du stress oxydant, mais aussi avec un souci permanent de validation des méthodes.

### Légitimité de la prise en charge du stress oxydant...

Prenons un exemple. Un homme de 58 ans présente une légère obésité abdominale, une hypertriglycéridémie et une glycémie à jeun à la limite de la normale. Il ne présente pas de maladie, mais pour autant son état de santé n'est pas optimal. Un syndrome métabolique débutant (trois critères sur cinq) révèle un risque de diabète et surtout un risque cardiovasculaire patent.

La prise en charge médicale de ce patient consiste à tout mettre en œuvre pour diminuer ce risque. Or le lien entre obésité, syndrome métabolique, diabète de type 2 et stress oxydant est largement documenté [29-33]. Des travaux récents placent l'adipocyte de la ceinture abdominale au cœur de la physiopathologie du syndrome métabolique. Ces adipocytes produisent de nombreux facteurs de régulation dont les plus connus sont la leptine et l'adiponectine [34]. Ces protéines agissant sur des tissus cibles différents de leur site de production jouent un rôle hormonal et le tissu adipeux est de ce fait un tissu sécréteur. Or les adipocytes sont des cellules très réactives au stress oxydant. Ses effets ont été objectivés par la production de 4-HNE, produit très réactif de l'oxydation des acides gras de la série n-6. Le stress oxydant diminue la production d'adiponectine de manière dose-dépendante [35]. L'adiponectine est anti-inflammatoire et possède des propriétés athéroprotectives et insulino-sensibilisante, sa concentration plasmatique est diminuée chez les patients et les modèles animaux d'obésité [36], de diabète [37] et ceux atteints de maladies cardiovasculaires [38]. Une étroite corrélation a été observée entre adiponectinémie, obésité et résistance à l'insuline [39-41]. De plus, la concentration plasmatique en adiponectine est significativement plus basse chez les coronariens [42] et les sujets obèses [36]. Sachant que l'adiponectine exerce des effets protecteurs sur les vaisseaux [43-47], on peut penser que l'adiponectinémie basse, observée chez les



**Il est possible aujourd'hui de corriger, dans la grande majorité des cas, les états de stress oxydant, mais cette prise en charge doit s'inscrire au sein de bonnes pratiques, dans un souci de validation des méthodes.**

obèses et les diabétiques de type 2, participe aux complications vasculaires chez ces patients.

En résumé de cette longue démonstration largement documentée, le stress oxydant observé chez les obèses [48] et les diabétiques de type 2 [32] est responsable de la diminution de production d'adiponectine par les adipocytes et cette diminution participe aux complications vasculaires de ces patients.

Par ailleurs, des études de spectrométrie de masse ont suggéré que le 4-HNE réagit avec l'acide lipoïque, un puissant antioxydant ubiquitaire, pour former des adduits de Michael [49]. Des études récentes *in vivo* ont démontré qu'une supplémentation en acide lipoïque empêche le développement de l'hypertension et l'hyperglycémie [43, 50].

Le problème n'est pas de s'interroger sur la prescription ou pas d'acide lipoïque, mais bien de traiter ou pas le stress oxydant de ce patient. Autrement dit, la prise en charge classique de ce patient (la perte de poids entraînant une augmentation de la concentration plasmatique en adiponectine [30]) suffit-elle ou pas à traiter un état de stress oxydant dûment diagnostiqué ?

Seul un bilan de stress oxydant avant et après la prise en charge peut apporter une réponse à cette question. Reste de la responsabilité et de la compétence du médecin de décider, en fonction des résultats, des

moyens à mettre en œuvre pour atteindre cet objectif. Certains discours divergents, alimentant dangereusement l'appétence malade et malsaine d'une certaine presse pour l'effet d'annonce et le sensationnel, sont aujourd'hui difficilement compréhensibles face à un des sujets les plus publiés au monde et aux enjeux si importants pour la santé de nos patients. Il est urgent pour les

spécialistes de la question de raisonner d'une même voix et d'unir leurs efforts. Il y a déjà fort longtemps le professeur Lucien Israël écrivait : "Il va bientôt être impossible de dresser des plans stratégiques destinés à contrôler, à stabiliser ou à faire régresser des affections chroniques sans y intégrer un traitement anti-radicalaire au long cours..." L'heure est probablement venue... ■

## Bibliographie

- Defraigne JO, Pincemail J. Stress oxydant et antioxydants : mythes et réalités. Rev Med Liège 2007 ; 62 (4) : 1-10.
- Age-Related Eye Disease Study Research Group. A randomized, placebo-controlled, clinical trial of high-dose supplementation with vitamins C and E, beta carotene, and zinc for age-related macular degeneration and vision loss: AREDS report no. 8. Arch Ophthalmol 2001; 119(10): 1417-36. Arch Ophthalmol 2001; 119(10): 1533-4. Arch Ophthalmol 2002; 120(1): 100-1. Arch Ophthalmol 2002; 120(7):997; discussion 997-9. Arch Ophthalmol 2002; 120(11):1602. J Fam Pract 2002; 51(2): 105.
- Richer S et al. Double-masked, placebo-controlled, randomized trial of lutein and antioxidant supplementation in the intervention of atrophic age-related macular degeneration: the Veterans LAST study (Lutein Antioxidant Supplementation Trial). Optometry 2004; 75 (4): 216-30.
- Shults CW et al. Parkinson Study Group. Effects of coenzyme Q10 in early Parkinson disease: evidence of slowing of the functional decline. Arch Neurol 2002; 59(10): 1541-50.
- Hercberg S et al. The SU.VI.MAX study: a randomized, placebo-controlled trial of the health effects of antioxidant vitamins and minerals [published erratum appears in: Arch Intern Med 2005; 165(3): 286]. Arch Intern Med 2004 ; 164(21): 2335-42..
- Hercberg S et al. Antioxidant supplementation increases the risk of skin cancers in women but not in men. J Nutr 2007; 137(9): 2098-105.
- A. Magon de la Villehuchet et al. A machine learning approach to the prediction of oxidative stress in chronic inflammatory disease. Redox Rep 2009; 14(1): 23-33.
- Bjelakovic G et al. Mortality in randomized trials of antioxidant supplements for primary and secondary prevention: systematic review and meta-analysis [review] [published erratum appears in: JAMA 2008. 20; 299(7): 765-6]. JAMA 2007. 28; 297(8): 842-57.
- Bjelakovic G et al. Antioxidant supplements for prevention of gastrointestinal cancers: a systematic review and meta-analysis [review]. Lancet 2004; 2-8; 364(9441): 1219-28.
- Heinonen O, Albanes D. The effect of vitamin E and beta-carotene on the incidence of lung cancer and other cancers in male smokers. N Engl J Med 1994; 330: 1029-35.
- Omenn G et al. Effects of a combination of beta-carotene and vitamin A on lung cancer and cardiovascular disease. N Engl J Med 1996; 334: 1150-5.
- Bleys J et al. Serum selenium levels and all-cause, cancer, and cardiovascular mortality among US adults. Arch Intern Med 2008; 168(4): 404-13.
- Stranges S et al. Effects of long-term selenium supplementation on the incidence of type 2 diabetes: a randomized trial. Ann Intern Med 2007; 147(4): 217-23.
- Block G et al. The effect of vitamins C and E on biomarkers of oxidative stress depends on baseline level. Free Radic Biol Med 2008; 45(4): 377-84.
- Buttkie TM, Sandstrom PA. Oxidative stress as a mediator of apoptosis. Immunol Today 1994; 15(10): 495-6.
- Slater AF et al. Signalling mechanisms and oxidative stress in apoptosis. Toxicol Lett 1995; 82-83: 149-53.
- Hockenbery DM et al. Bcl-2 functions in an antioxidant pathway to prevent apoptosis. Cell 1993; 75(2): 241-51.
- Kane DJ et al. Bcl-2 inhibition of neural death: decreased generation of reactive oxygen species. Science 1993; 262(5137): 1274-7.
- Evan GI et al. Induction of apoptosis in fibroblasts by c-myc protein. Cell 1992; 69(1): 119-28.
- Block KI et al. Impact of antioxidant supplementation on chemotherapeutic toxicity: a systematic review of the evidence from randomized controlled trials. Int J Cancer 2008; 123(6): 1227-39.
- Lawenda BD et al. Should supplemental antioxidant administration be avoided during chemotherapy and radiation therapy? J Natl Cancer Inst 2008; 100(11): 773-83.
- Kleiger RE et al. Decreased heart rate variability and its association with increased mortality after acute myocardial infarction. Am J Cardiol 1987; 59(4): 256-62.
- Caffarel MM et al. JunD is involved in the antiproliferative effect of delta 9-tetrahydrocannabinol on human breast cancer cells Oncogene, 2008; 27(37) : 5033-44
- Laurent G et al. Oxidative stress contributes by enhancing pancreatic angiogenesis and insulin-signaling. Cell Metabolism 2008; 7 : 113-24.
- Jacques Pousseguer et al. Redox regulation of the hypoxia-inducible factor. Biol. Chem 2006; 387: 1337-46.
- Gerald D. et al. Stress oxydatif et Angiogenèse : rôle majeur du facteur de transcription AP-1. Medecine/Sciences 2005; 21: 233-5.
- Gerald D. et al. JunD protects cells from oxydants and reduces tumour angiogenesis. Cell 2004; 118: 781-94.
- Bonnard C., Mitochondrial dysfunction results from oxidative stress in skeletal muscle of diet-induced insulin resistant mice. Journal of clinical investigation 2008.
- Van Gulder GP et al. Influence of metabolic syndrome on biomarkers of oxidative stress and inflammation in obese adults. Obesity (Silver Spring) 2006; 14(12): 2127-31.
- Keaney JF Jr et al. Framingham Study. Obesity and systemic oxidative stress: clinical correlates of oxidative stress in the Framingham Study. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2003; 23(3): 434-9.
- Hansel B et al. Metabolic Syndrome is associated with elevated oxidative stress and dysfunctional dense high-density lipoprotein particles displaying impaired antioxidant activity. J Clin Endocrinol Metab 2004; 89(10): 4963-71.
- Kern PA et al. Adipose tissue tumor necrosis factor and interleukin-6 expression in human obesity and insulin resistance. Am J Physiol Endocrinol Metab 2001; 280(5): E745-51.
- Dandona P et al. Metabolic syndrome: a comprehensive perspective based on interactions between obesity, diabetes, and inflammation [review]. Circulation 2005; 111(11): 1448-54.
- Piñero R et al. Adiponectin is synthesized and secreted by human and murine cardiomyocytes. FEBS Lett 2005; 579 (23): 5163-9.
- Hattori Y et al. Angiotensin-II-induced oxidative stress elicits hypo-adiponectinaemia in rats. Diabetologia 2005; 48(6): 1066-74.
- Arita Y et al. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. Biochem Biophys Res Commun 1999; 257(1): 79-83.
- Hotta K et al. Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2000; 20(6): 1595-9.
- Kumada M et al. CAD Study Group. Association of hypo-adiponectinemia with coronary artery disease in men. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2003; 23(1): 85-9.
- Hotta K et al. Circulating concentrations of the adipocyte protein adiponectin are decreased in parallel with reduced insulin sensitivity during the progression to type 2 diabetes in rhesus monkeys. Diabetes 2001; 20(5): 1126-33.
- Weyer C et al. Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. J Clin Endocrinol Metab 2001; 86(5): 1930-5.
- Yamauchi T et al. The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipodystrophy and obesity. Nat Med 2001; 7(8): 941-6.
- Ouchi N et al. Novel modulator for endothelial adhesion molecules: adipocyte-derived plasma protein adiponectin. Circulation 1999; 100(25): 2473-6.
- Ouchi N et al. Adipocyte-derived plasma protein, adiponectin, suppresses lipid accumulation and class A scavenger receptor expression in human monocyte-derived macrophages. Circulation 2001; 103(8): 1057-63.
- Arita Y et al. Adipocyte-derived plasma protein adiponectin acts as a platelet-derived growth factor-BB-binding protein and regulates growth factor-induced common postreceptor signal in vascular smooth muscle cell. Circulation 2002; 105(24): 2893-8.
- Matsuda M et al. Role of adiponectin in preventing vascular stenosis. The missing link of adipo-vascular axis. J Biol Chem 2002; 277(40): 37487-91.
- Okamoto Y et al. Adiponectin reduces atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. Circulation 2002; 106(22): 2767-70.
- Kubota N et al. Disruption of adiponectin causes insulin resistance and neointimal formation. J Biol Chem 2002; 19;277(29): 25863-6.
- Furukawa S et al. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. J Clin Invest 2004; 114(12): 1752-61.
- Humphries K.M, Szweda L. Selective inactivation of alpha-ketoglutarate dehydrogenase and pyruvate dehydrogenase: reaction of lipoic acid with 4-hydroxy-2-nonenal. Biochemistry 1998; 37(45): 15835-41.
- Midaoui AE et al. Lipoic acid prevents hypertension, hyperglycemia, and the increase in heart mitochondrial superoxide production. Am J Hypertens 2003; 16(3): 173-9.