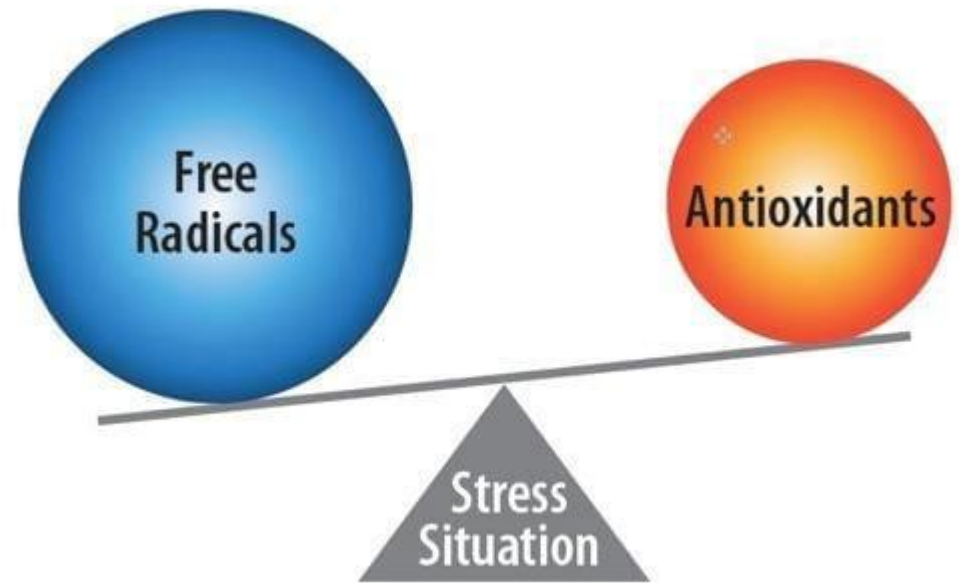
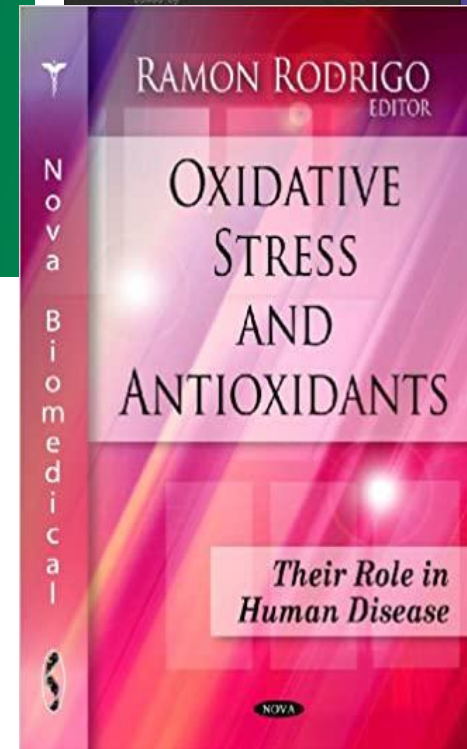
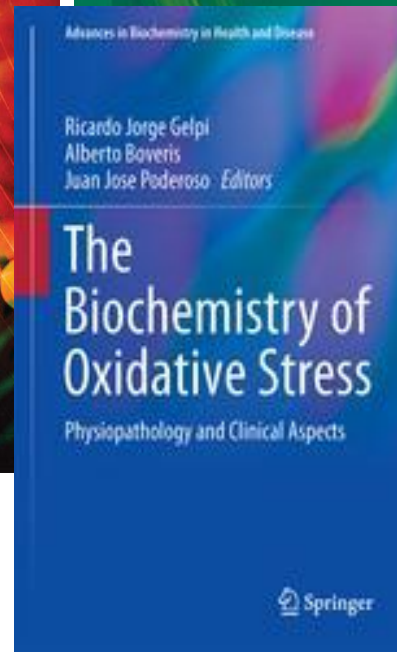
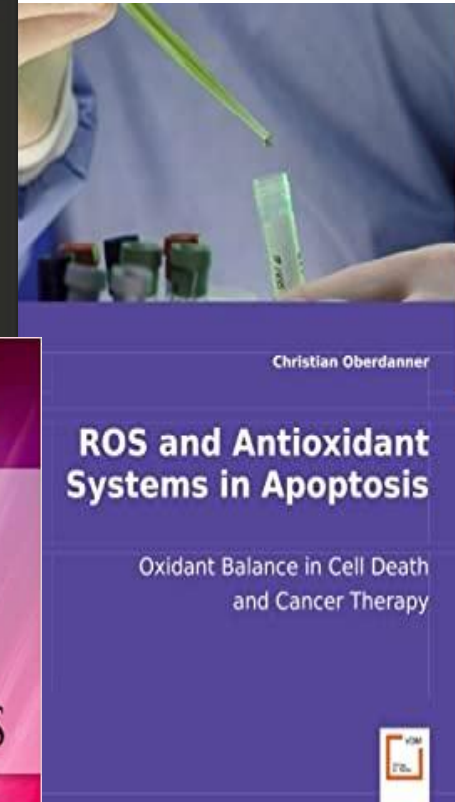
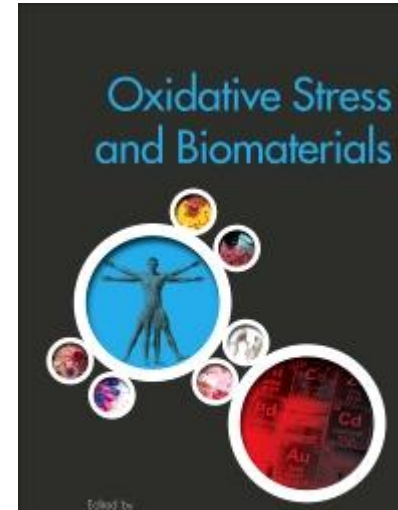
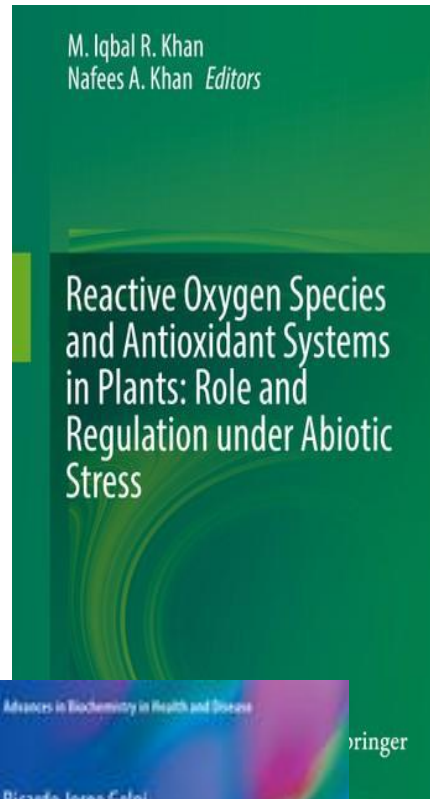
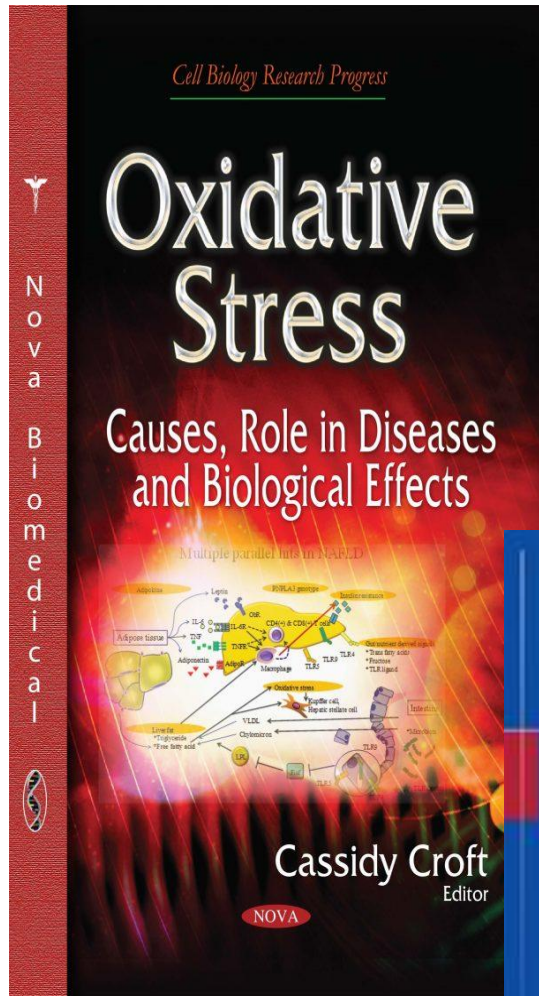


Le Stress oxydant

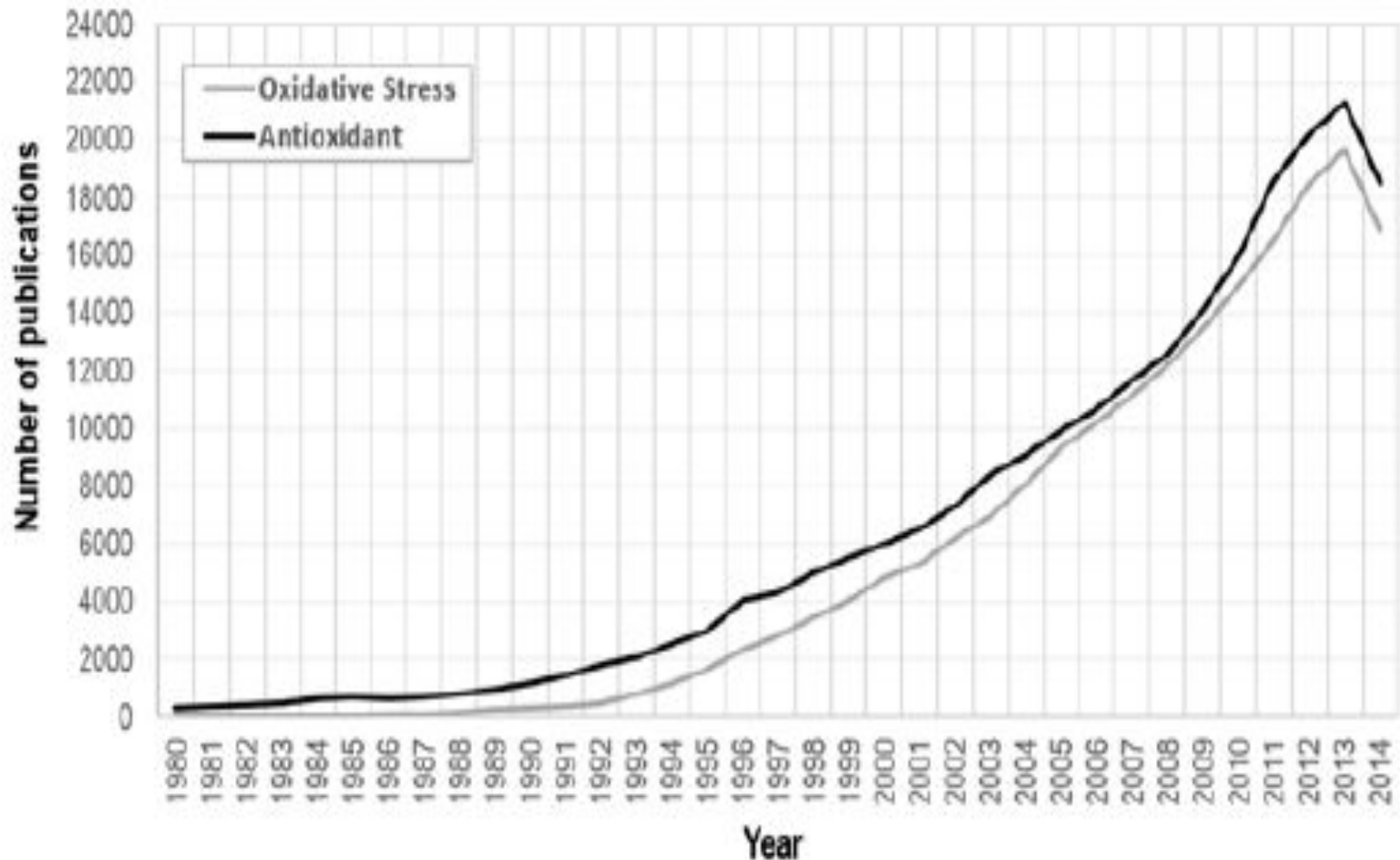


Dr. Mohamed el hadi Cherifi
mcherifi@ymail.com
Année janvier 2021

Importance du sujet à travers les publications



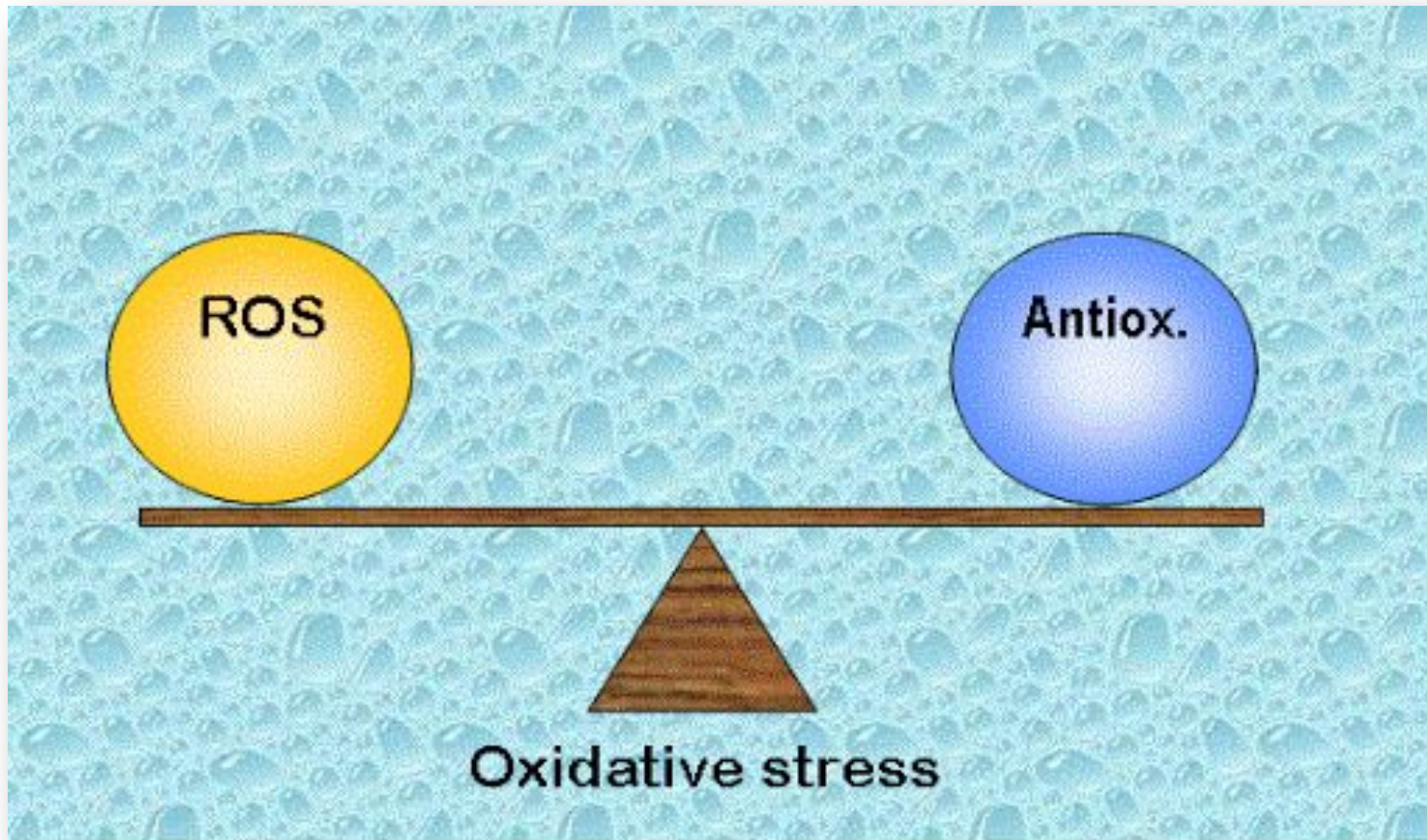
Nombre de publications en rapport avec le stress oxydant et antioxydants



Number of publications with oxidative stress or antioxidant appearing as article title , abstract or keywords according to Scopus database (consulted August 25 th, 2015)

INTRODUCTION

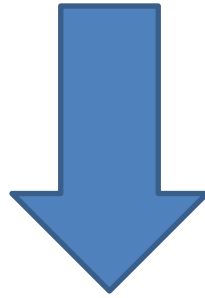
Le stress oxydant est défini comme un état où la vitesse de production des radicaux libres est supérieure à leur clairance par les systèmes antioxydants



ROS : **R**eactive **O**xygen **S**pecies

RLO : **R**adicaux **L**ibres **O**xygénés

- 1) an increase in oxidant generation,
- 2) a decrease in antioxidant protection



OXIDATIVE STRESS

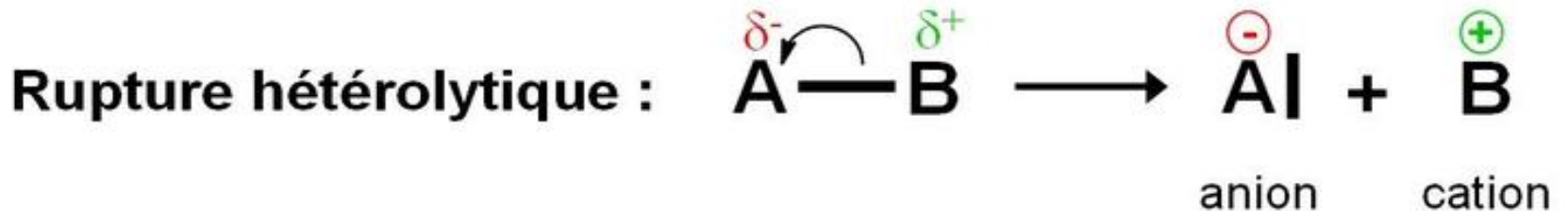
ORIGINE DES RADICAUX LIBRES OXYGENES

Définition d'un radical libre :

« Ce sont des espèces capables d'existence indépendante , contenant un ou plusieurs électrons non appariés », dits électrons célibataires. *Halliwell et Gutteridge.*

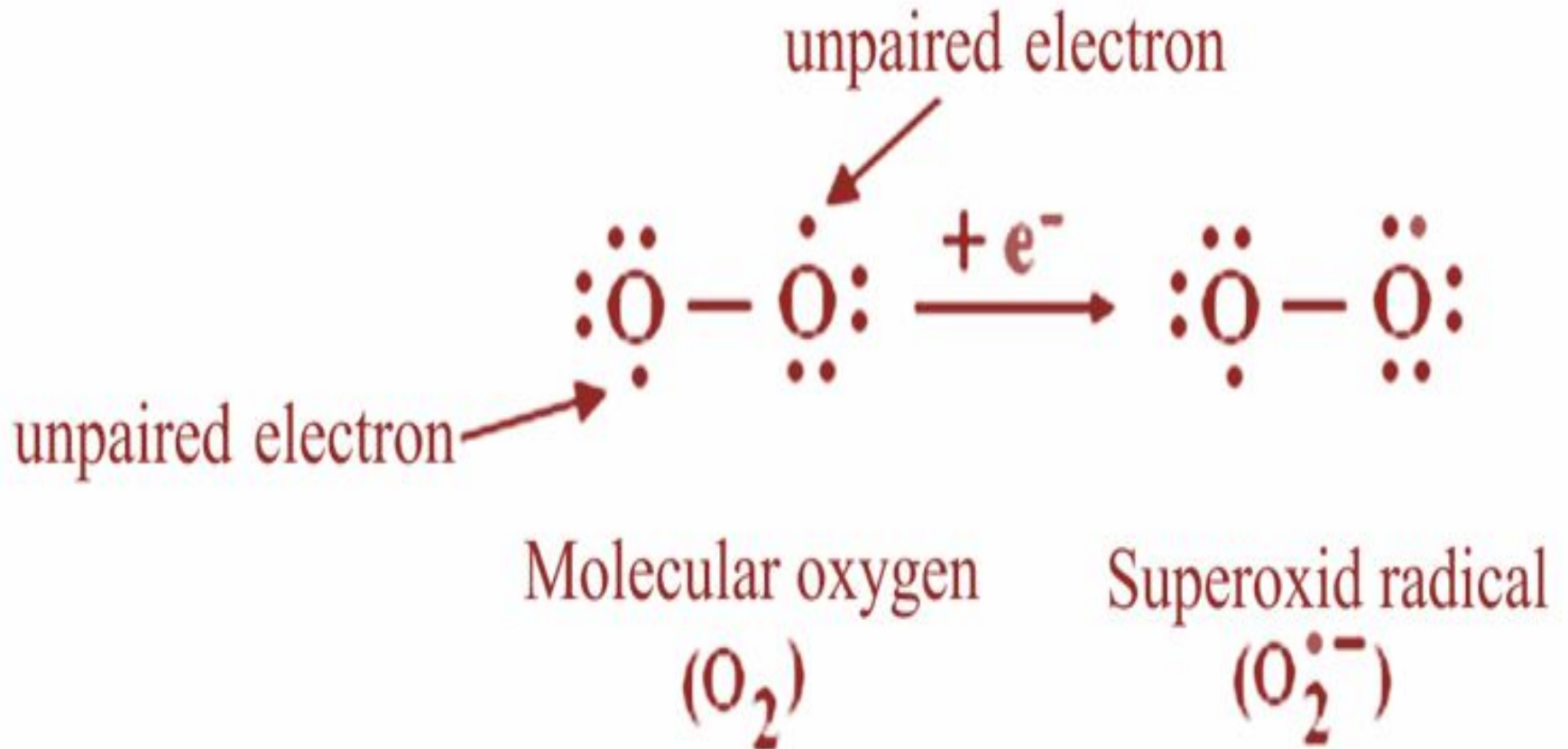
The O_2 is major promoters of radical reaction.

FORMATION DES RADICAUX LIBRES



Suite à la scission homolytique , chaque électron intervenant dans la liaison entre l'atome A et B gagne l'orbital externe de ces atomes , qui deviennent alors des radicaux libres . L'électron célibataire est désigné par un point en exposant. **La plupart des ions ne sont pas des radicaux.**

1. FORMATION DE L'ANION SUPEROXYDE

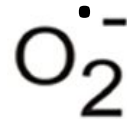




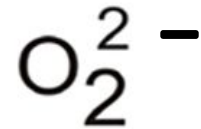
Oxygen



Superoxide anion



Peroxide



Hydrogen Peroxide



Hydroxyl radical



Hydroxyl ion



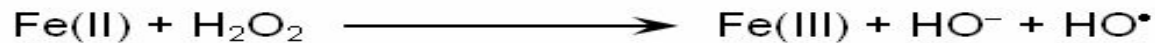
L'ion peroxyde n'est pas un radical libre du fait de l'absence d'électron célibataire. Il est très réactif et donne rapidement du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en réagissant avec avec 2 H^+ .

2 La réaction de Fenton

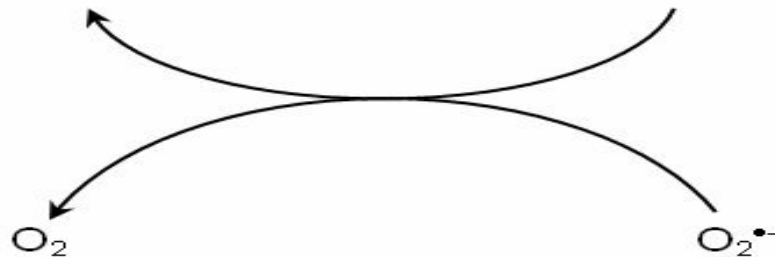
Synthèse du $\bullet\text{OH}$ (radical hydroxyle)

Les radicaux hydroxyles sont les radicaux libres **les plus réactifs**, réagissant rapidement avec un très grand nombre de molécules in vivo. Ils ne diffusent pas et **peuvent oxyder des acides aminés, entraîner des coupures de l'ADN, oxyder les lipides membranaires et les lipoprotéines.**

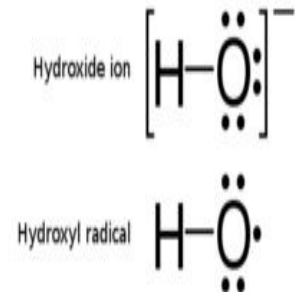
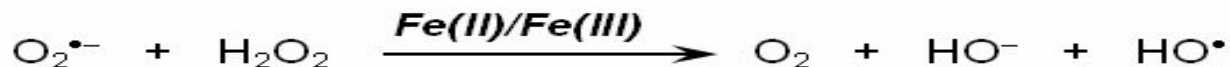
Fenton Reaction



Haber–Weiss Reaction (Superoxide Driven Fenton Reaction)



Haber–Weiss Net Reaction

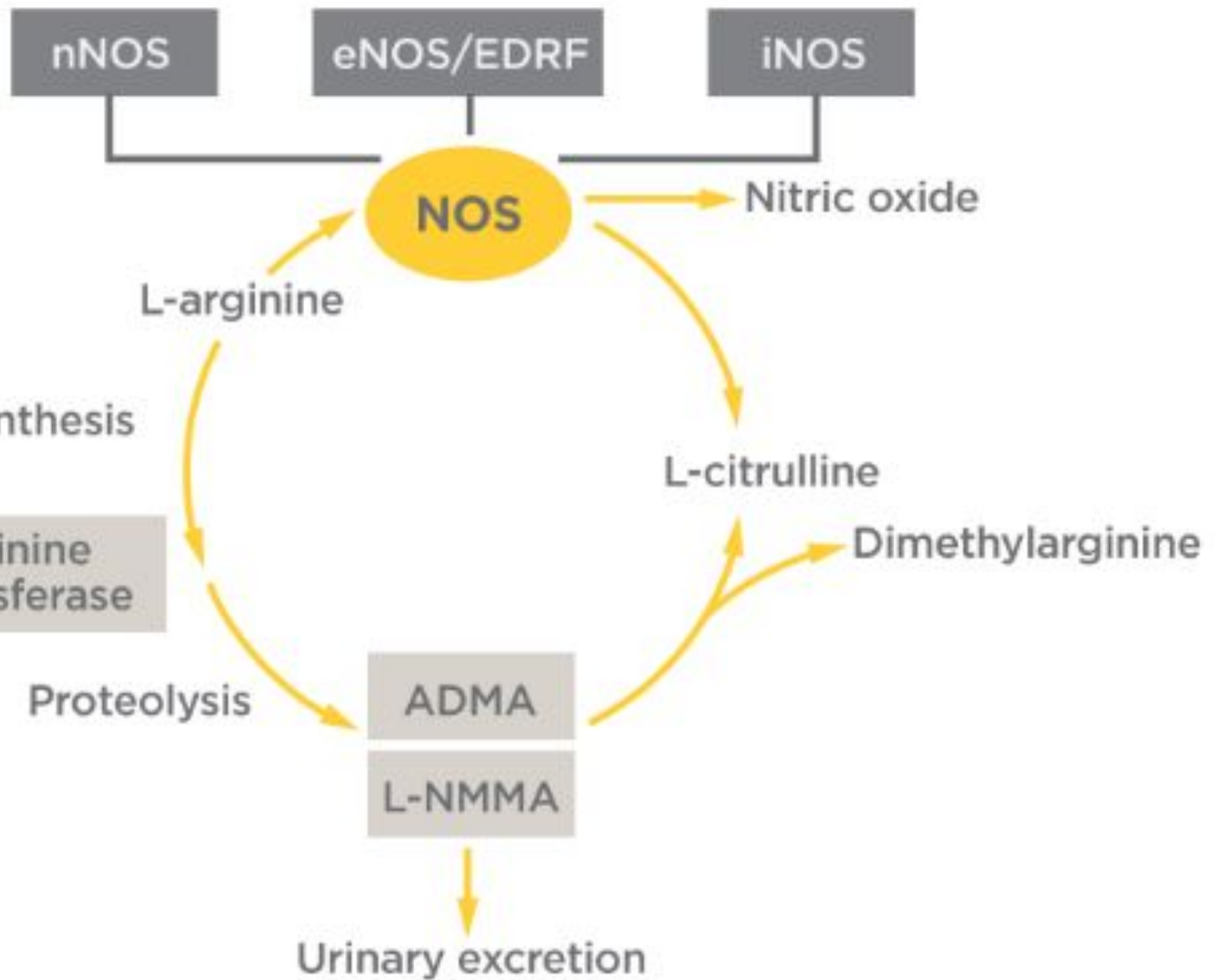


3 LE MONOXYDE D'AZOTE

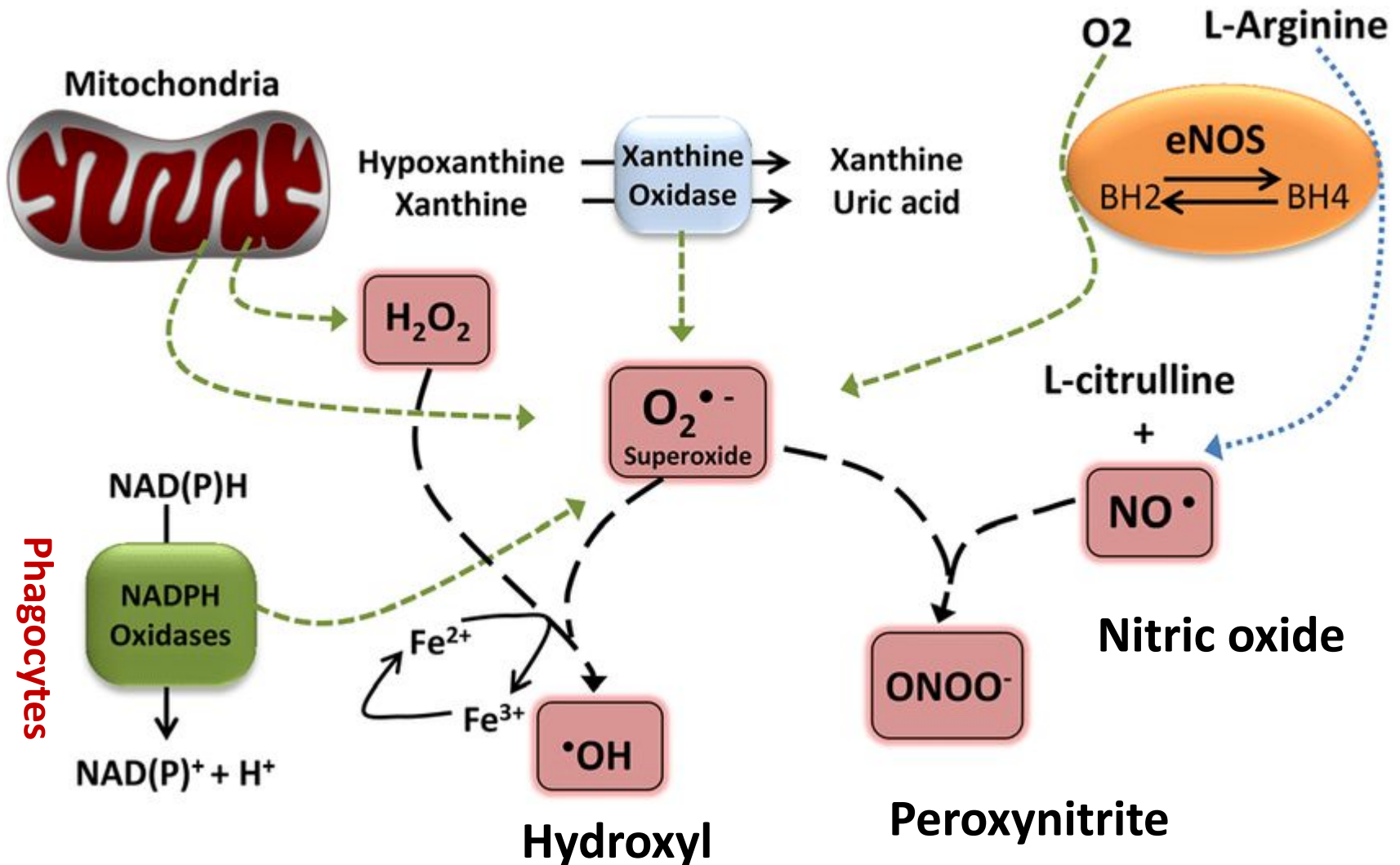
Le monoxyde d'azote (oxyde nitrique) est un radical libre ubiquitaire synthétisé à partir de **l'arginine** grâce à des **enzymes les NO synthases**.

Il existe 3 types de NO synthases :

- **La NO synthase endothéliale constitutive (NOS III)** : calcium dépendante , elle permet la production de NO dans les vaisseaux sanguins; **c'est un puissant vasodilatateur**.
- **La NO synthase inductible (NOS II)**: ne dépend du calcium, présente dans **les macrophages**.
- **La NO synthase neuronale constitutive (NOS I)**: présente dans les neurones et le muscle squelettique.



LES ORIGINES DES RADICAUX LIBRES



The most important source of free radicals in the body is the mitochondrial respiratory chain.

ROS and RNS

Reactive Oxygen Species (ROS)	Symbol	Reactive Nitrogen Species (RNS)	Symbol
Hydroxyl	$\text{OH}\cdot$	Nitric Oxide	$\text{NO}\cdot$
Superoxide	$\cdot\text{O}_2^-$	Nitric Dioxide	$\text{NO}_2\cdot$
Hydrogen Peroxide	H_2O_2	Peroxynitrate	OONO^-
Peroxyl	$\text{RO}_2\cdot$	Nitroxyl Anion	NO^-
Singlet Oxygen	$^1\text{O}_2$	Dinitrogen Trioxide	N_2O_3
Hypochloric Acid	HOCl	Nitrous Acid	HNO_2
Ozone	O_3		

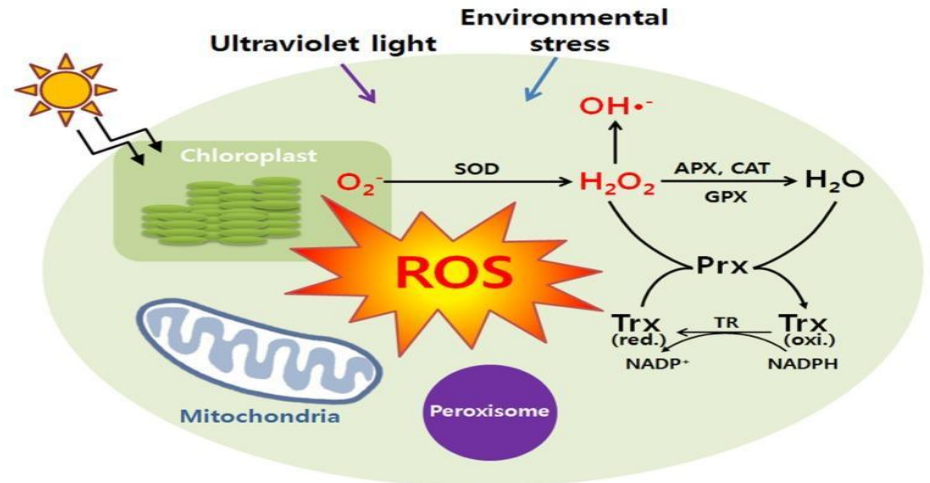
Physiological Activities of Free Radicals

Maintenus à des concentrations acceptables les ROS ont un rôle bénéfique pour l'organisme :

- ils interviennent dans la synthèse de certaines structures cellulaires ;
- ils neutralisent des agents pathogènes (comme dans la réaction inflammatoire). En effet, **les phagocytes fabriquent et stockent** les ROS qui seront **libérés pour neutraliser les agents microbiens.**

Physiological Activities of Free Radicals

- ils interviennent comme régulateurs de nombreuses voies de signalisation cellulaire ; parmi les plus importants régulateurs est le **NO**.
- ils interviennent dans **l'expression génique et la division cellulaire**

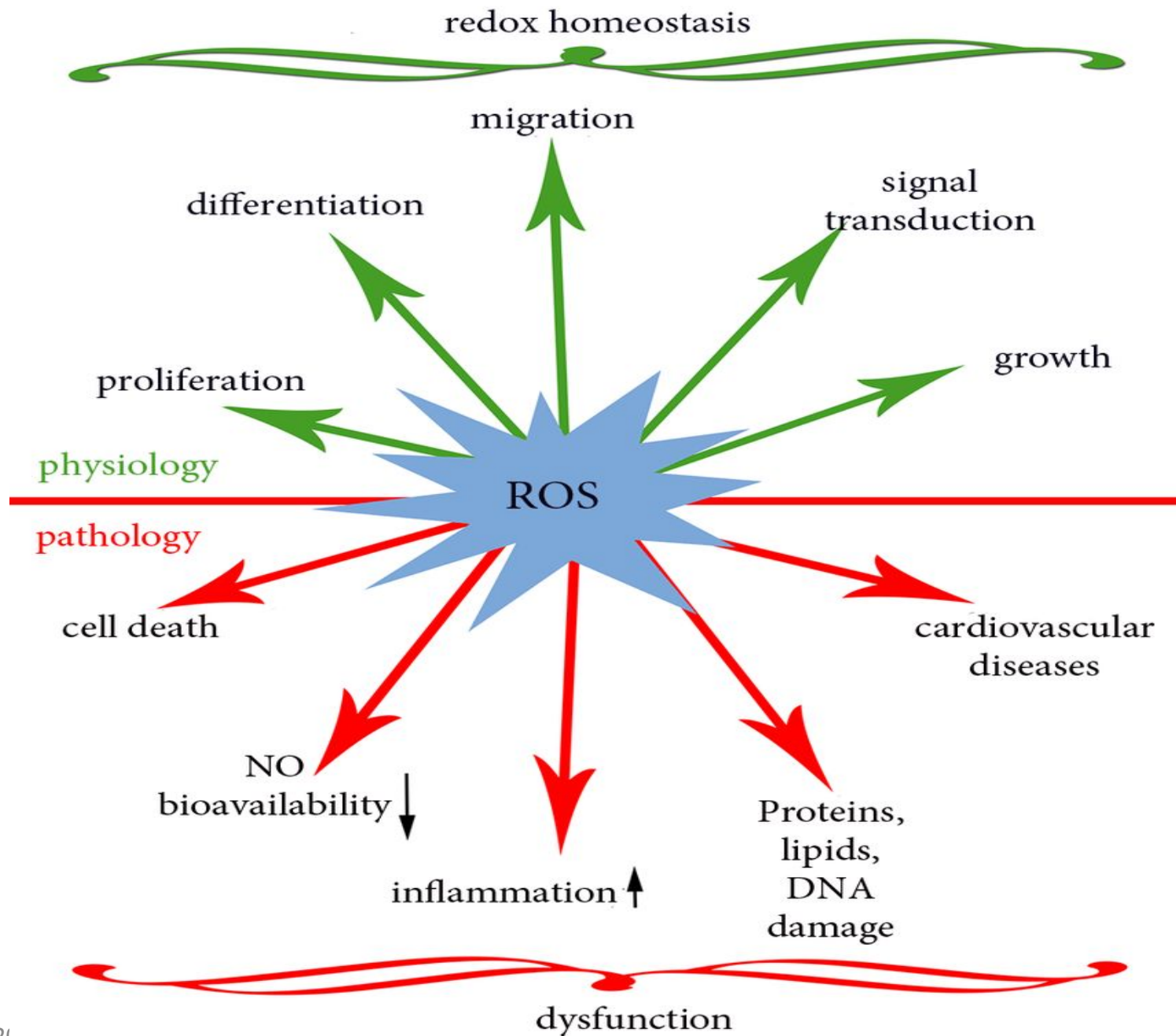


LES EFFETS NEFASTES DU STRESS OXYDANT

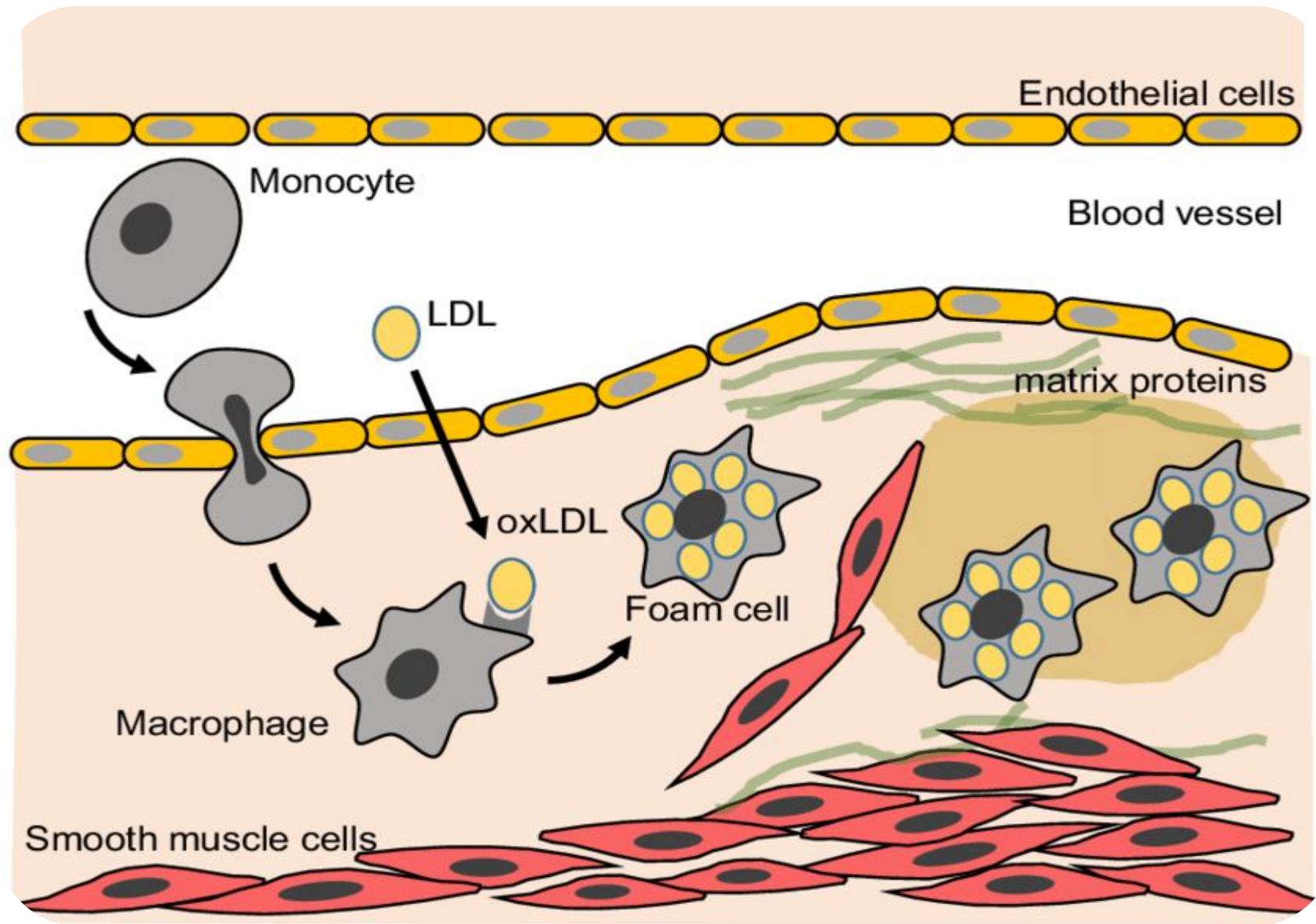
Le **SO** est à l'origine de nombreux effets moléculaires et cellulaires ; il provoque des **dommages** vis-à-vis des principales macromolécules biologiques (lipides, protéines et acides nucléiques) et des nécroses cellulaires par ses effets toxiques.

Il jouerait un rôle important dans **le vieillissement** et dans d'autres pathologies à l'instar de **l'athérosclérose** , le **diabète sucré** et les **maladies inflammatoires**;

Comme certains radicaux libres peuvent jouer un rôle dans la signalisation cellulaire , l'expression génique et dans le phénomène de l'apoptose.



Rôle du stress oxydant dans la genèse de la plaque athéromateuse

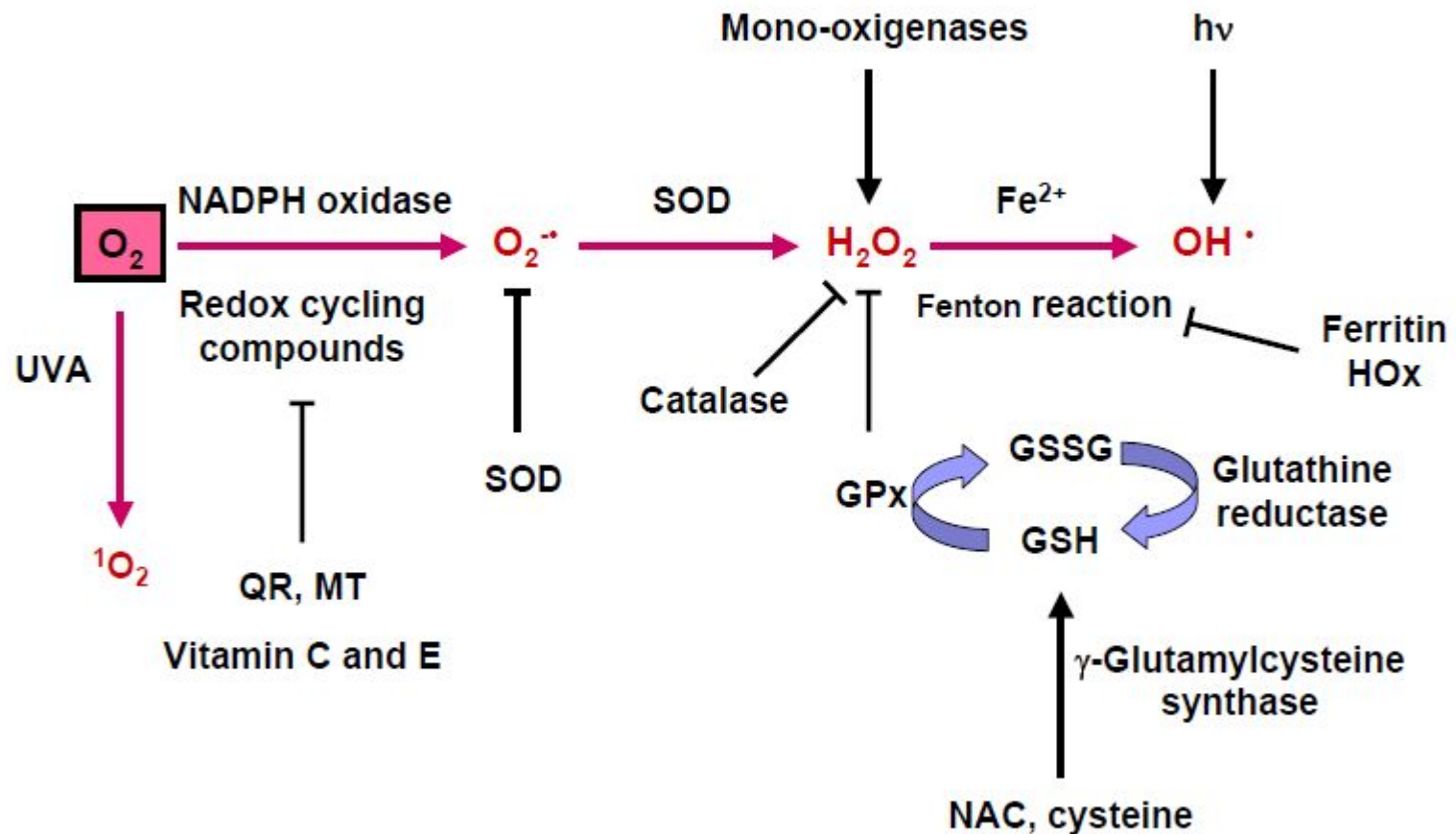




KEEP
CALM
AND
PLEASE PAY
ATTENTION

Très souvent on parle **d'espèces réactives de l'oxygène (ROS)** qui sont des radicaux libres dérivant de l'oxygène ; cependant , on inclue des espèces réactives non radicalaires dérivés de l'oxygène comme le H_2O_2 , HOCL (acide hypochloreux) . Par ailleurs, il existe d'autres espèces réactives ne dérivant pas de l'oxygène à l'instar du monoxyde d'azote (NO).

ROS generation and detoxification



Biochem. J. (1999) 342, 481.

LES SYSTEMES ANTIOXYDANTS

Les enzymes cytoprotectives et les molécules antioxydantes existent dans le compartiment intra et extra cellulaire agissant en maintenant la balance redox.

□ **Les enzymes** : superoxyde dismutase (SOD), la catalase , la peroxydase

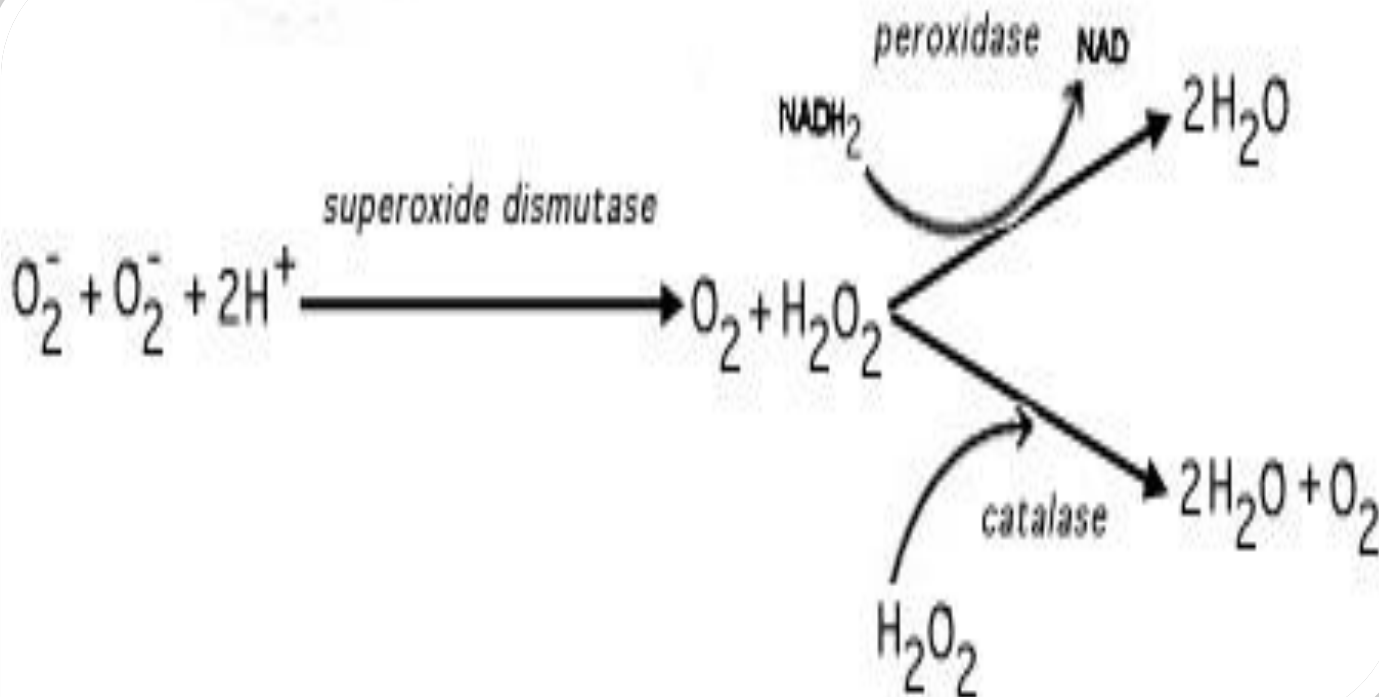
□ **Les protéines** : transferrine, haptoglobine, ceruloplasmine, ferritine.

□ **Des composés de bas poids moléculaire:**

Glutathion , Vitamines E, C, Bilirubine, Acide urique.

Enzymes antioxydantes

Ces enzymes agissent principalement en éliminant les principaux radicaux libres en l'occurrence l'anion superoxyde et le peroxyde d'hydrogène. Les principales enzymes sont la **SOD**, la **catalase** et la **peroxydase**. Ils agissent de concert pour convertir l'anion superoxyde en peroxydes d'hydrogène et ce dernier en H₂O et oxygène moléculaire.



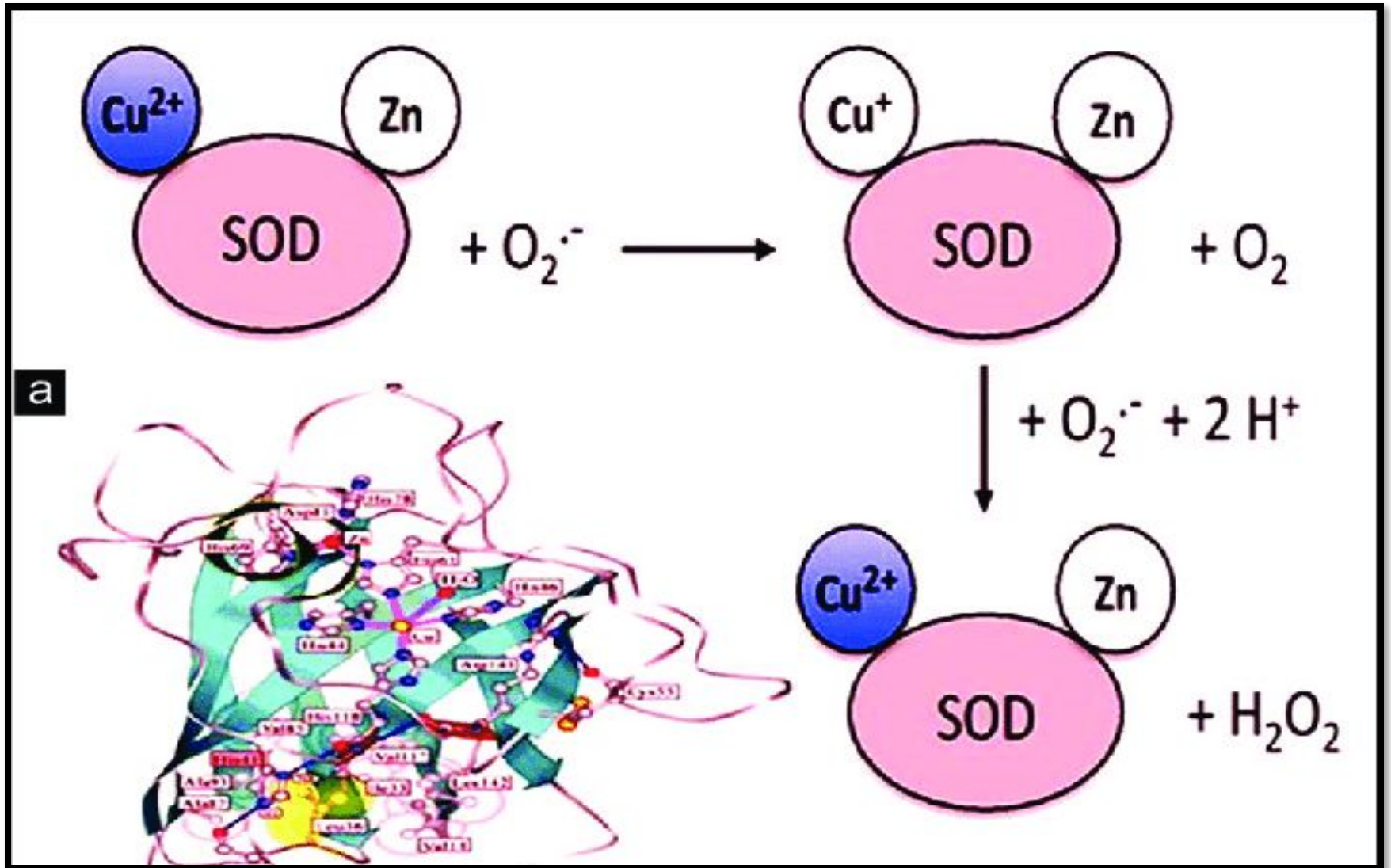
Les superoxyde dismutases

Les superoxyde dismutases catalysent la dismutation monoélectronique de l'anion superoxyde en H_2O_2 et oxygène . Il existe plusieurs types de SOD:

- **SOD à cuivre et à zinc (Cu, Zn-SOD)** essentiellement présente dans le **cytoplasme des eucaryotes** (peut être retrouvée dans MEC [EC-SOD]);
- **SOD manganèse (Mn-SOD)** chez les procaryotes et les mitochondries des eucaryotes;
- **SOD à fer (Fe-SOD)** chez les procaryotes uniquement.

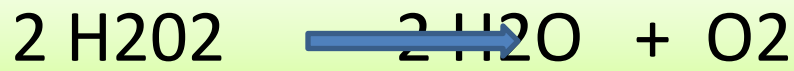
MEC = Matrice ExtraCellulaire

Mécanisme d'action de la superoxyde dismutase



Les catalases et peroxydases

Ils catalysent la transformation de H_2O_2 en H_2O . En ce qui concerne la catalase aucun autre substrat n'est impliqué.

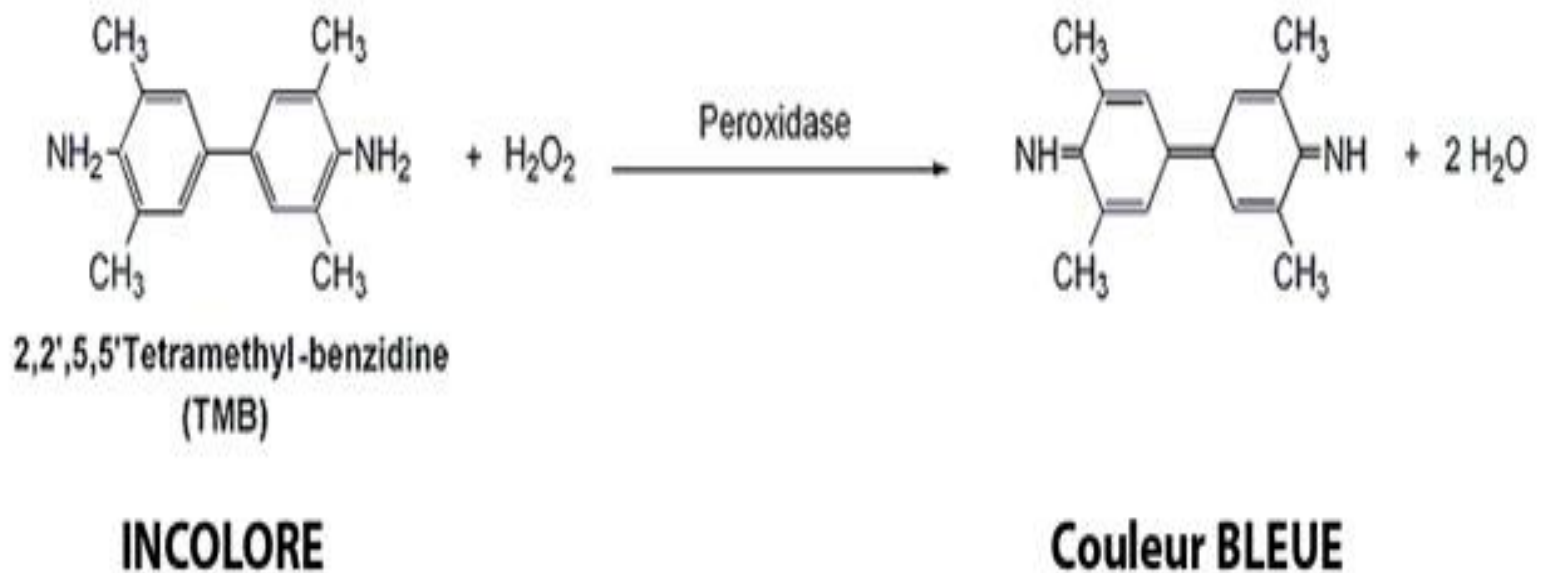


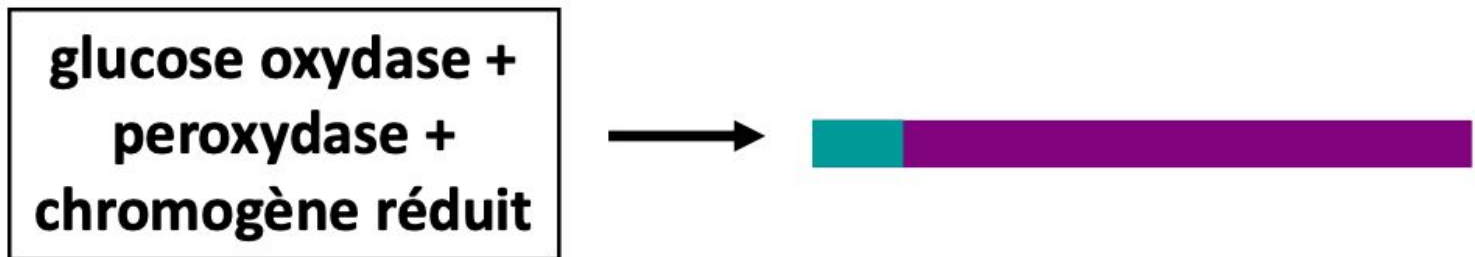
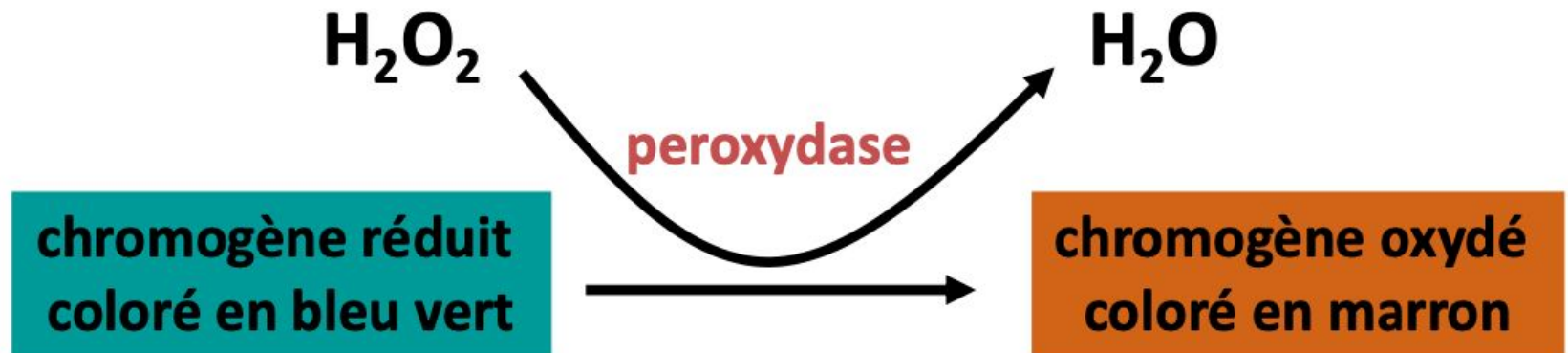
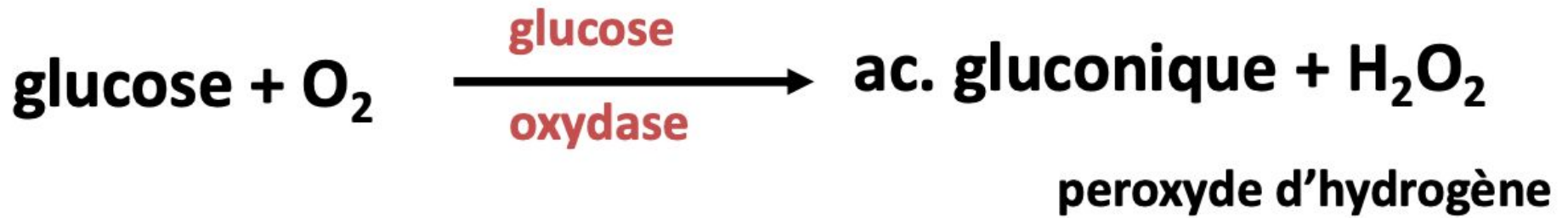
Il existe plusieurs types de catalases qui sont localisées principalement au niveau des **peroxysomes**; organelles produisant en grande quantité le peroxyde d'hydrogène.

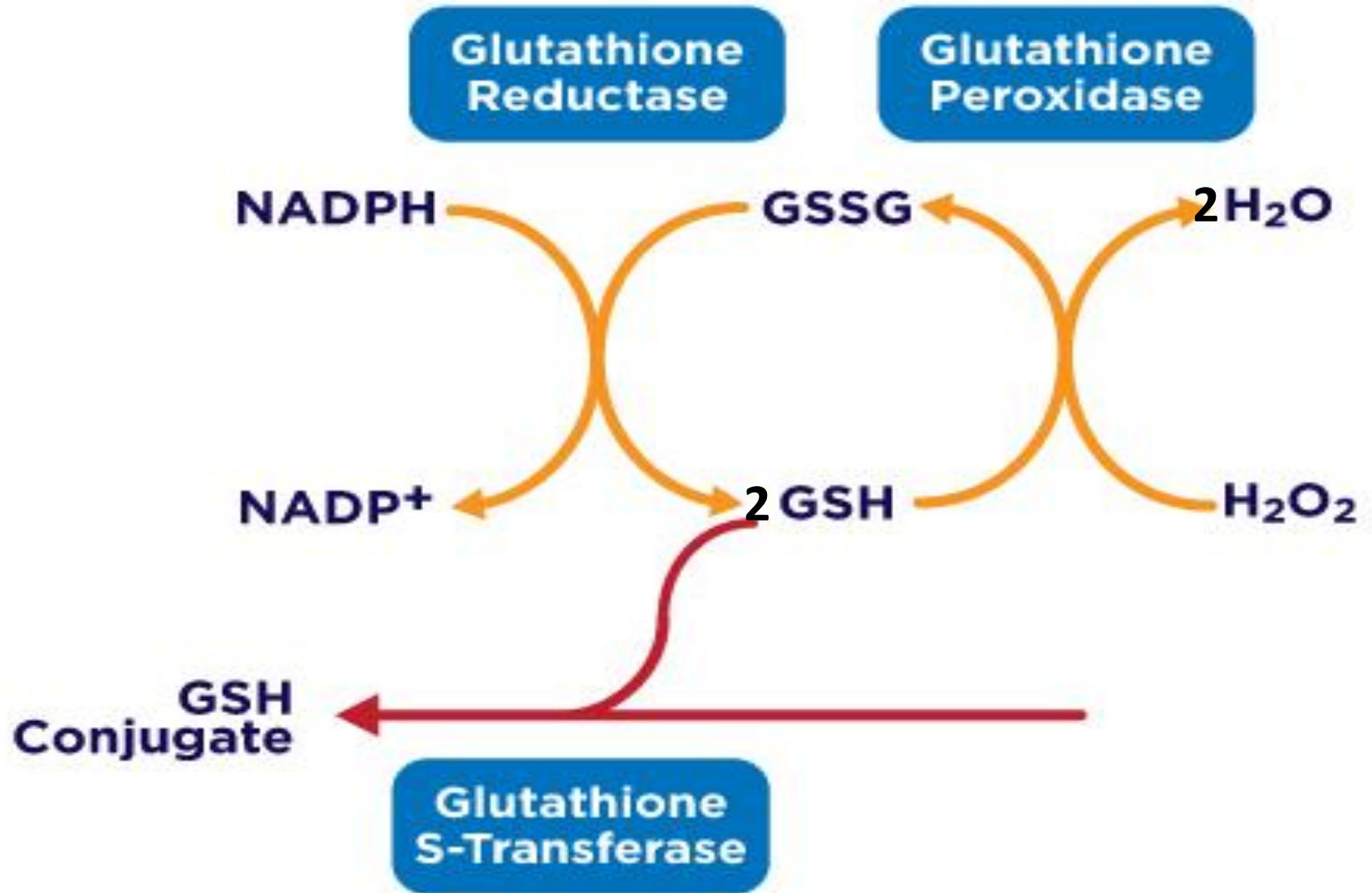
A l'inverse des catalases les peroxydases catalysent la même réaction mais en présence d'un autre substrat. Ce dernier est oxydé alors que le peroxyde d'hydrogène est réduit. **La principale peroxydase chez les mammifères est la glutathion peroxydase .**

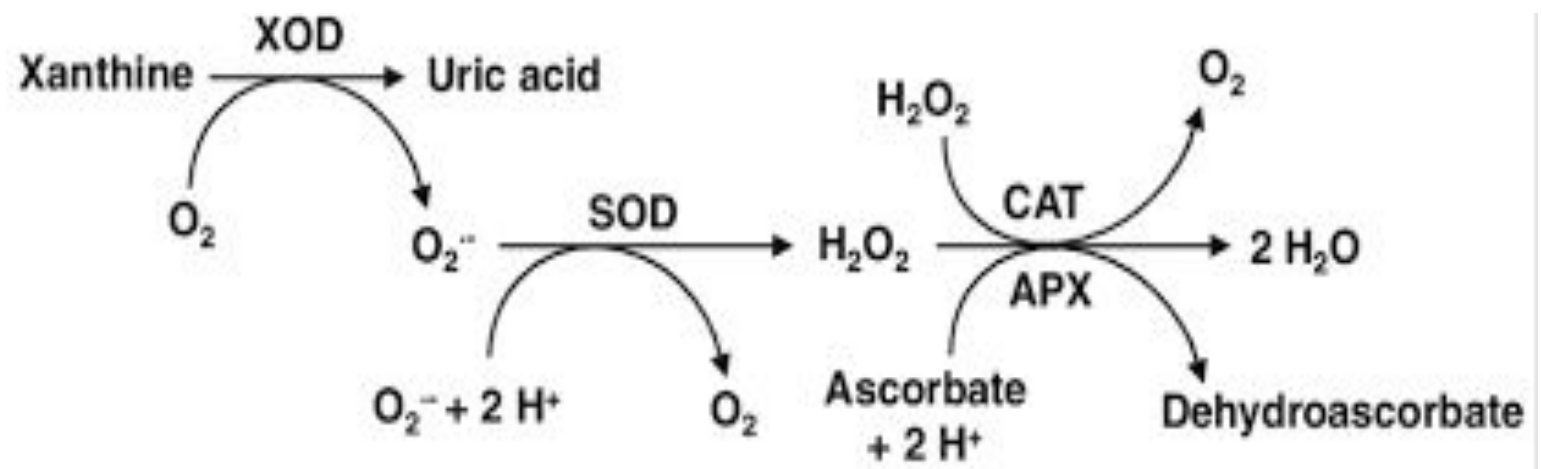
Toutes ces enzymes antioxydantes collaborent entre elles de façon très étroite

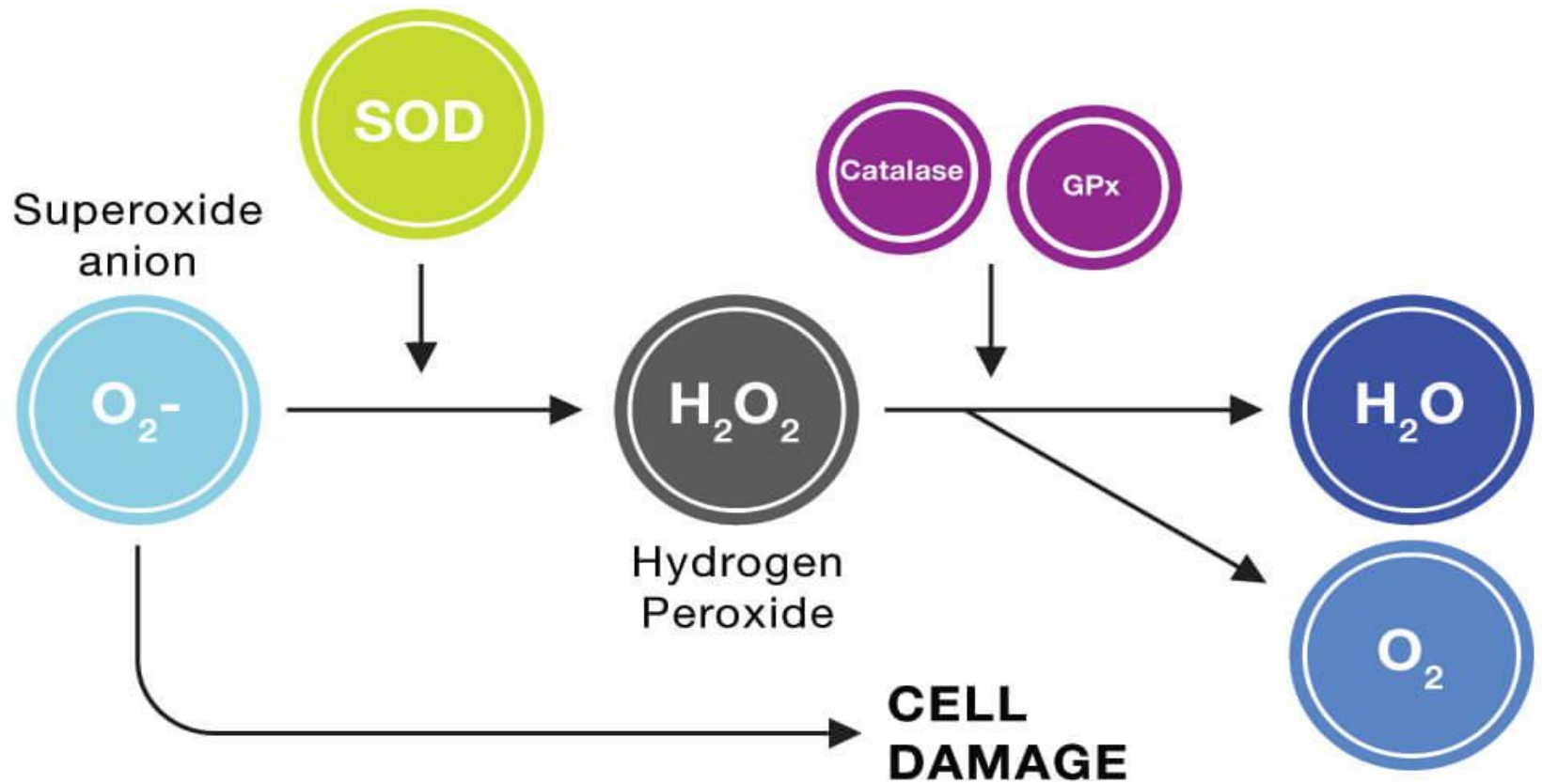
ACTION DE LA PEROXYDASE

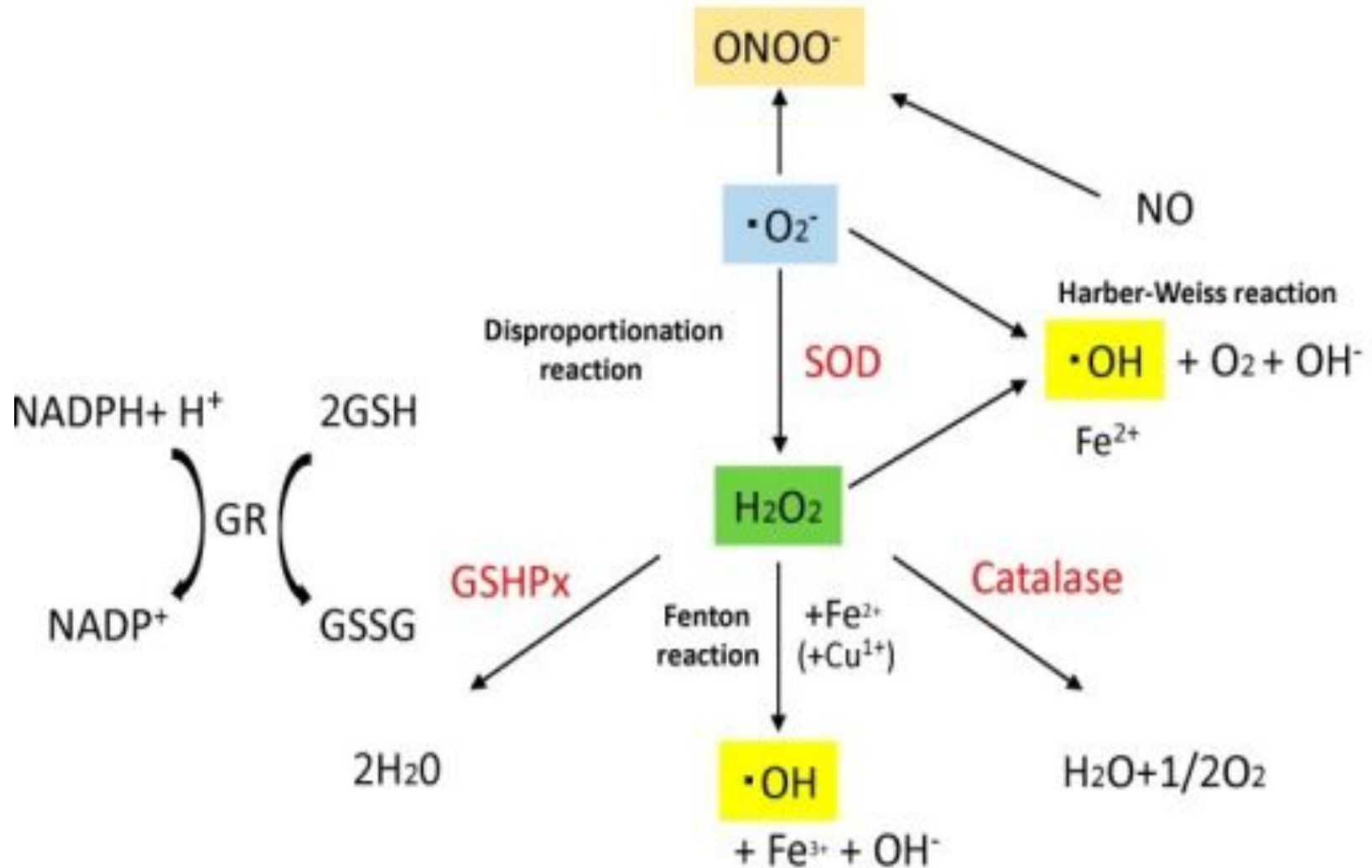












Toutes ces enzymes antioxydantes collaborent entre elles de façon très étroite.

Les principaux antioxydants biologiques et leurs modes d'actions

ANTIOXYDANT	Mode d'action
SOD (Cu, Zn SOD, EC –SOD, Mn-SOD, Fe-SOD)	Transforme le O_2^- en H_2O_2
Catalases et peroxydases	Transforme le H_2O_2 en H_2O et O_2
Glutathion réductase	Réduit le glutathion oxydé en GSH
Ferritine	Chélate le Fe^{++}
Transferrine	Chélate le Fe^{+++}
Ceruloplasmine	Oxyde le Fe^{2+} en Fe^{3+}
Bilirubine	Scavenger pour les radicaux peroxy
Acide urique	Inhibe la peroxydation lipidique et scavenge les radicaux oxygénés
Vitamine E	Bloque la chaîne de réaction de peroxydation lipidique en réagissant avec les radicaux peroxy
Caroténoïdes	Scavenge l'oxygène singulet et le radical OH
Vitamine C	Scavenge les RL et régénère la vitamine E

TOXICITE DES RADICAUX LIBRES

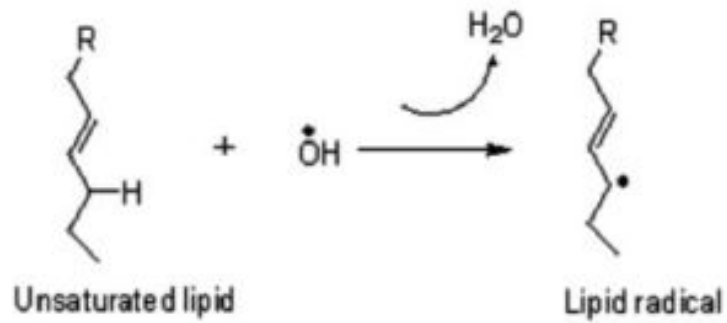
Le stress oxydant peut provoquer des dégâts importants au niveau cellulaire. Les dommages peuvent toucher les membranes cellulaires, les lipides, les lipoprotéines, les protéines et les acides nucléiques

Sur l'ADN : le stress oxydant peut entraîner la cassure de la double hélice d'ADN ; comme il peut provoquer la modification des bases puriques et pyrimidiques ou le désoxyribose. **Le plus dangereux des radicaux pour l'ADN** est le **radicale hydroxyle** , qui peut réagir directement avec l'ADN à l'inverse de l'anion superoxyde et H_2O_2 . La lésion la plus représentative de l'action du SO sur l'ADN est la formation du 8-oxo-2'-desoxyguanosine (8-OHdG) . Ce composé est très pernicieux pour l'ADN car il peut être **responsable de la mutagenèse et la perte de l'information épigénétique** .

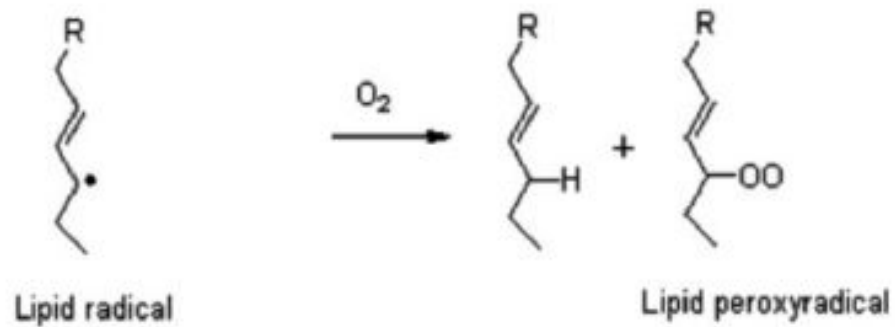
ACTION SUR LES LIPIDES

Action sur les lipides : ce sont surtout **les acides gras polyinsaturés (AGPI)** qui sont la cible majeure des radicaux libres. Une autre cible moins importante que les AGPI est le cholestérol libre. Ce processus est appelé **la peroxydation lipidique**. Ce dernier commence par l'élimination d'un atome d'hydrogène du méthylène ($-CH_2-$). **Le fer et le cuivre jouent, également un rôle important dans la peroxydation lipidique.**

Initiation



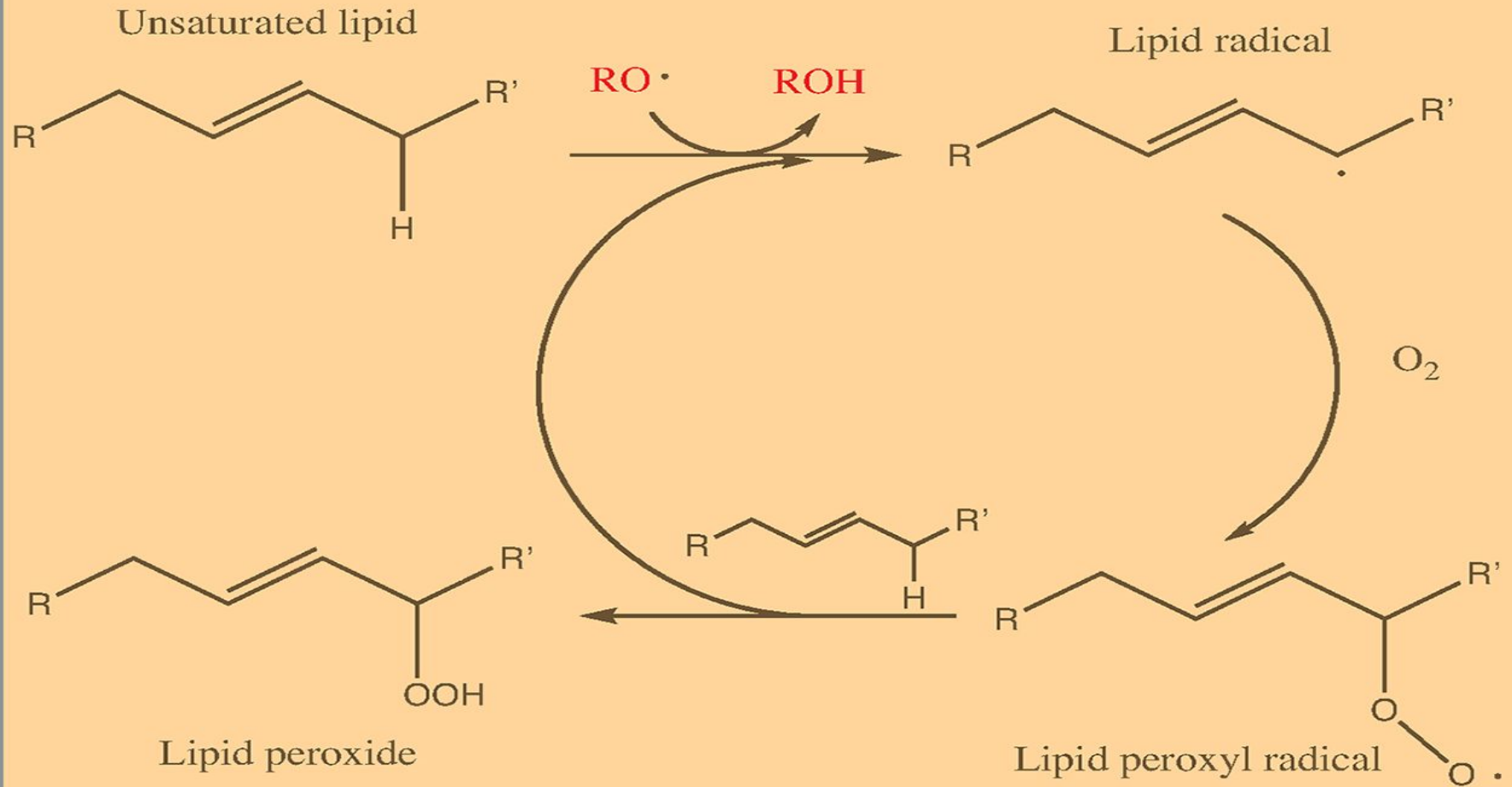
Propagation



Termination

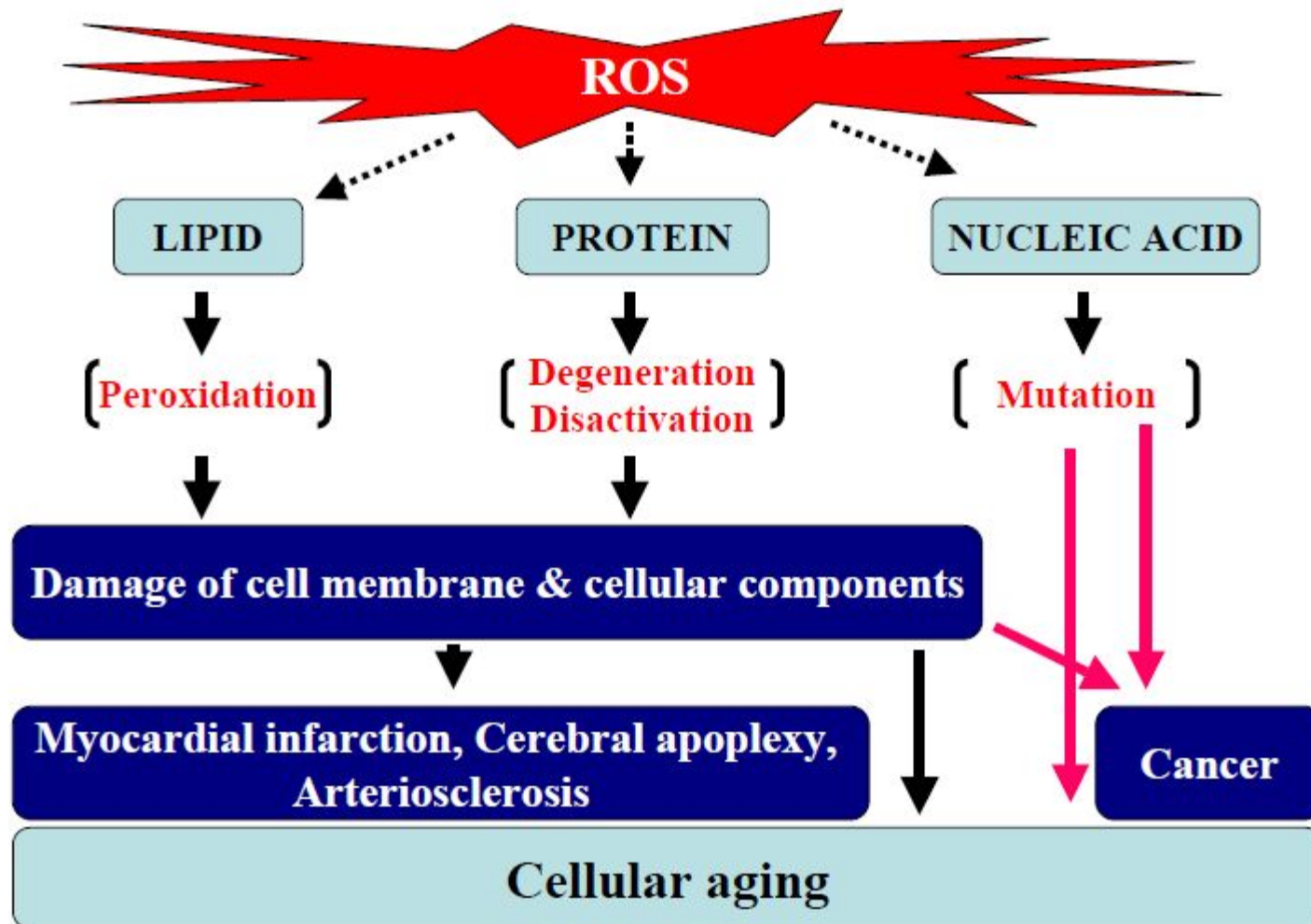


② Lipid Peroxidation Initiation and Propagation



Action sur les protéines: les RLO peuvent entraîner des dommages aux protéines soit directement ou à travers les produits de la peroxydation lipidique. L'attaque des protéines peut entraîner des changements de conformation avec des pertes de fonctions pour certaines enzymes

Cell & tissue damage by ROS



BIOMARQUEURS DU STRESS OXYDANT

Le stress oxydant est évalué selon 3 approches :

1. **Mesure des radicaux libres:** elle n'est réalisée que dans les laboratoires de recherches spécialisées.
2. **Mesure des systèmes antioxydants +++**
3. **Mesure des dommages occasionnés par l'attaque des radicaux libres +++**

Evaluation des systèmes antioxydants

Par la détermination des **activités enzymatiques** de certaines enzymes comme la SOD, la catalase, la peroxydase et la glutathion réductase, dans le plasma, sérum et/ou dans les éléments figurés.

Le dosage de certaines **composés lipophiles** (α - tocophérol, β -carotène, ubiquinol).

On peut évaluer le statut en antioxydant en estimant, également, **le pouvoir antioxydant total du plasma** (**TRAP : *total radical trapping parameter***).



**Glutathione Reductase
Fluorescent Activity Kit**

Marqueurs de la peroxydation lipidique

Les hydroperoxydes sont les produits primaires de la peroxydation lipidique. Leur dosage est possible en évaluant leur pouvoir oxydant en transformant le fer ferreux en fer ferrique.

Les aldéhydes produits secondaires issues de la décomposition des hydroperoxydes. Ce fait par la détermination du **MDA (malondialdéhydes)** et plus précisément des **TBARS** (substances réagissant avec l'acide thiobarbiturique).

Autres biomarqueurs de la peroxydation lipidique: isoprostanes ou prostaglandines-like. Qui sont dosés par GC-MS.

MDA



C₃H₄O₂



DOSAGE PAR LA TECHNIQUE ELISA

Marqueurs de l'oxydation des protéines et des acides nucléiques

On peut utiliser le 2,4 DNPH pour le dosage des dérivés carbonylés des protéines et/ou des AA par une technique spectrophotométrique à 370 nm. Une technique ELISA beaucoup plus sensible a été proposée.

Deux métabolites sont dosés suite à l'oxydation de l'ADN ; il s'agit du 8-hydroxy-2-desoxyguanosine et du thymidine glycol. Cependant, leur dosage est l'apanage des laboratoires spécialisés.

CONCLUSION

Il est actuellement bien établi que les radicaux libres et plus précisément le stress oxydant sont impliqués dans l'étiopathogénie de plusieurs pathologies dont les plus fréquentes sont l'athérosclérose les cancers et le diabète.

le stress oxydant apporte des modifications, oxydative, des principales macromolécules de l'organisme en l'occurrence les lipides , protéines et ADN

Il existe actuellement plusieurs techniques pour l'évaluation du stress oxydant: spectrophotométriques, immunologiques et chromatographiques.

L'exercice physique régulier, une alimentation saine à base de fruits et légumes permettent de diminuer le stress oxydant



BIBLIOGRAPHIE

1. J. Delattre, G. Durand, J-C Jardinier. **Biochimie pathologique**. Ed. Flammarion MS , 2003; p 59 – 81.
2. Rosa Mayor Oxilia. **Estrés Oxidativo y Sistema de Defensa Antioxidante**. R. Rev. Inst. Med. Trop. 2010;5(2):23-29.
3. J.I. ELEJALDE GUERRA . **Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes**. ANALES DE MEDICINA INTERNA , 2001, 18: 6; 326-335.
4. William J Marshall and Stephen K Bangert. **Clinical Biochemistry: metabolic and clinical aspects** .Ed Elsevier 2Ed; 2008 , p 984
5. Jaroslav Racek, Daniel Rajdl. **Clinical Biochemistry** . 1st Ed. Prague 2016; p 426.
6. Annia Galano. **Free Radicals Induced Oxidative Stress at a Molecular Level: The Current Status, Challenges and Perspectives of Computational Chemistry Based Protocols**. J. Mex. Chem. Soc. 2015, 59(4), 231-262