

Faculté de Médecine d'Alger
Département de Pharmacie

Les stress oxydant

Pr OTMANE

Plan

- Présentation et définition du stress oxydant
- Biologie du stress oxydant
- Interactions entre les nutriments et le stress oxydant: les carences et les excès
- Biologie clinique et stress oxydant

Radicaux libres et espèces réactives

- **Radicaux libres**: molécules très réactives qui présentent un (des) électron(s) non apparié(s) célibataire, **·OH**
- **O₂**: biradical qui présente deux électrons non appariés, de spin parallèle (état **triplet** – conservation de spin). **O:O** Cet état limite la réactivité en empêchant une réaction directe et en imposant une barrière énergétique.
- **Espèces réactives (ER)**: radicalaires ou non; ce sont des molécules à très haute réactivité. **ERO**, **ERN** et **ERCl** correspondent à O, N et Cl

Glossaire

Adduit

Fixation d'une molécule sur une des bases de l'ADN par une liaison covalente pouvant parfois former un pont intra-caténaire entre les deux chaînes de l'ADN.

Cytosol

Liquide contenu à l'intérieur des cellules.

Facteur de transcription

Protéine permettant la lecture d'un gène lorsqu'elle se fixe sur son promoteur.

Radical libre

Espèce chimique possédant un électron non apparié.

Régulon

Chez les bactéries, ensemble contigu de gènes codant pour des protéines et de gènes codant pour des protéines régulatrices.

Sites abasiques

Partie de l'ADN dépourvue d'une base purique ou pyrimidique et ayant perdu l'information génétique par rupture de la liaison entre une base et le désoxyribose.

Xénobiotique

Molécule étrangère, susceptible de pénétrer dans le corps humain.

Les principales espèces oxydantes

Reactive oxidant species

Radicals		Non-radicals	
Hydroxyl	$\bullet\text{OH}$	Peroxynitrite	ONOO^-
Alkoxyl	$\text{L(R)O}\bullet$	Hypochlorite	^-OCl
Hydroperoxyl ^a	$\text{HOO}\bullet$	Hydroperoxide ^b	L(R)OOH
Peroxyl	$\text{L(R)OO}\bullet$	Singlet oxygen	$^1\Delta\text{O}_2$
Nitric oxide ^c	$\text{NO}\bullet$	Hydrogen peroxide ^d	H_2O_2
Superoxide ^d	$\text{O}_2^{\bullet-}$		

"Longevity" of reactive species

Reactive Species

Half-life

Hydrogen peroxide
Organic hydroperoxides
Hypohalous acids

~ minutes

Peroxyl radicals
Nitric oxide

~ seconds

Peroxynitrite

~ milliseconds

Superoxide anion
Singlet oxygen
Alcoxyl radicals

~ microsecond

Hydroxyl radical

~ nanosecond

Définition du stress oxydant

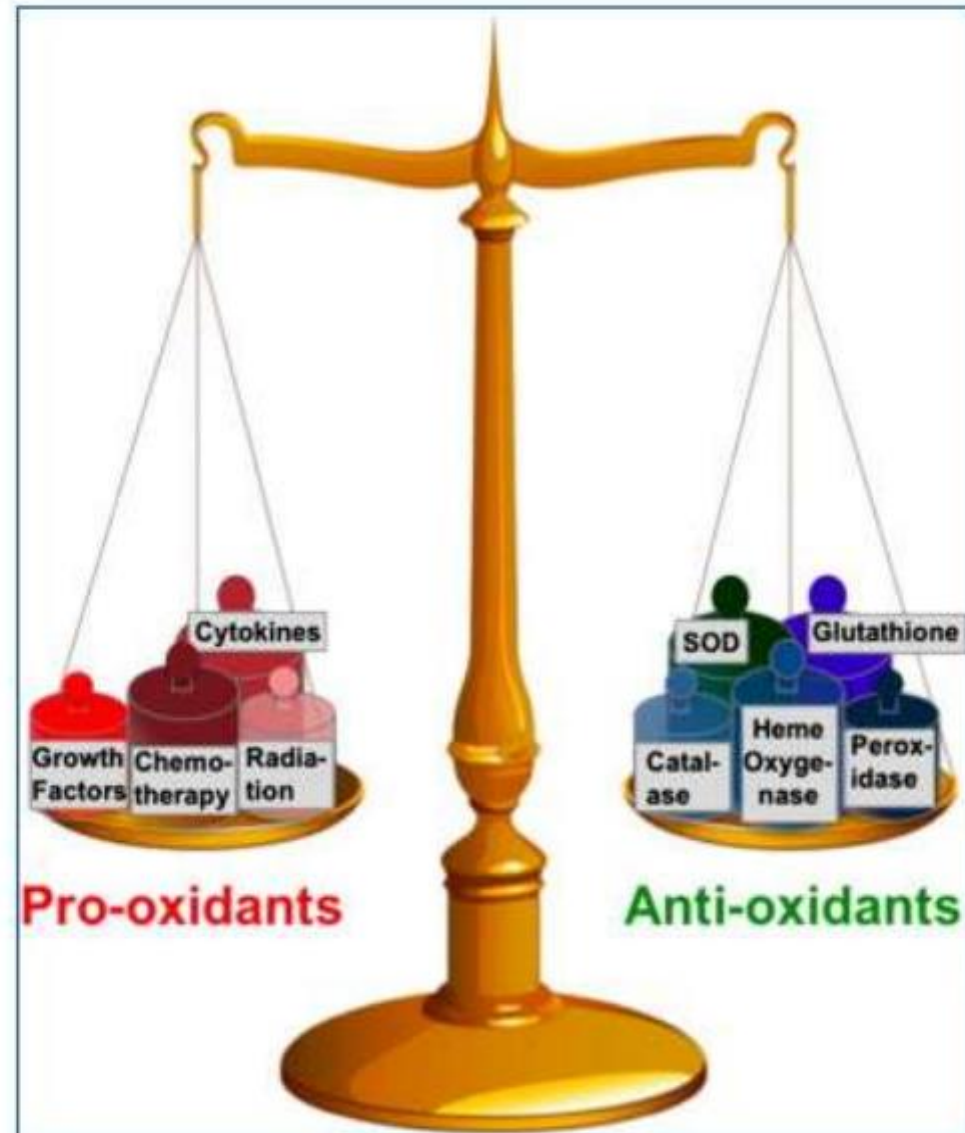
Stress oxydant: état de **déséquilibre** entre la production d'espèces réactives et les défenses de l'organisme.

Un état de stress oxydant existe lorsqu'au moins une des trois conditions suivantes est présente:

- Excès des espèces réactives de O_2 , N_2 ou Cl_2
- Défenses insuffisantes (endogènes et exogènes)
- Mécanismes de réparation insuffisants

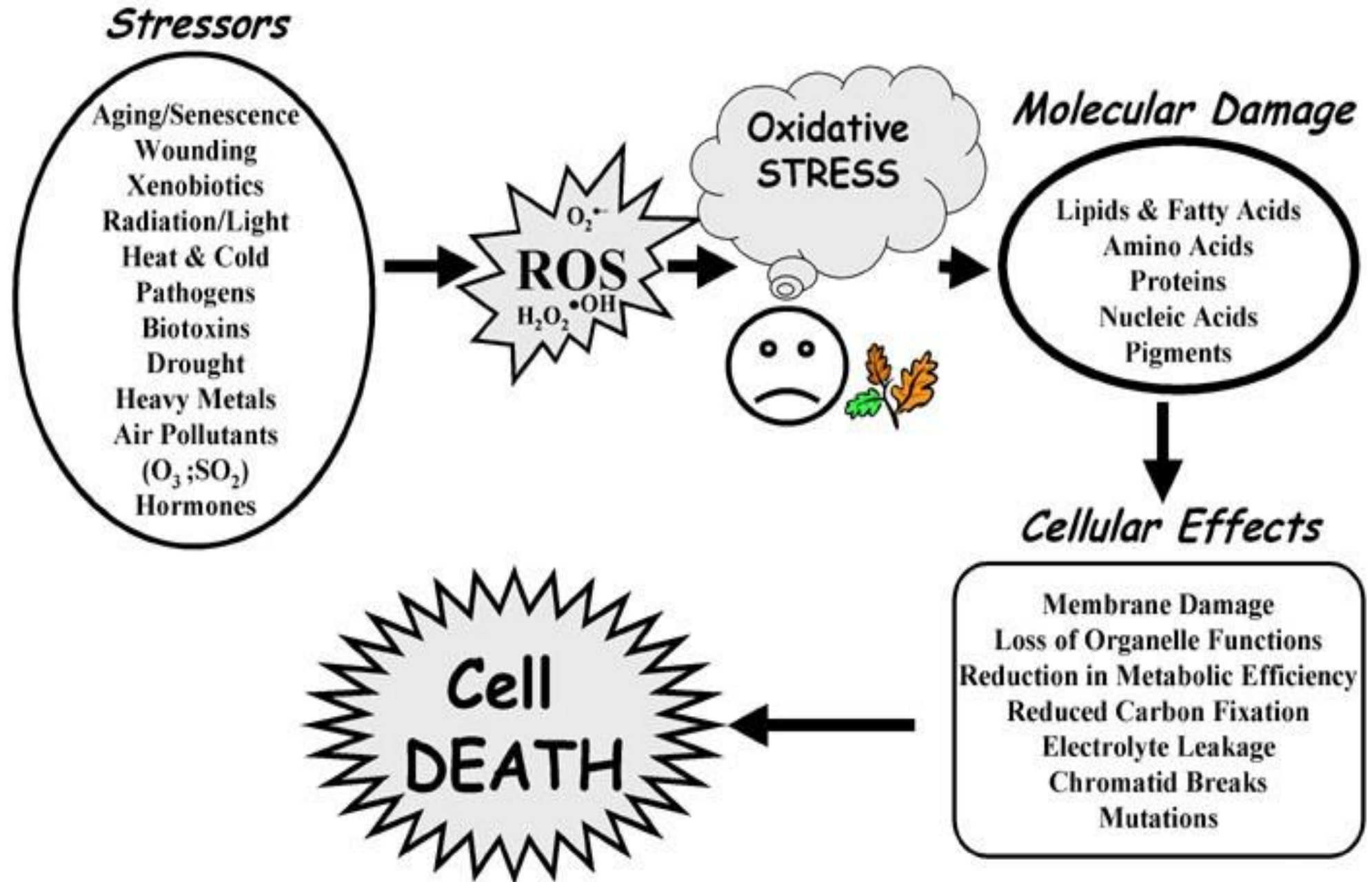
Le stress oxydant n'est pas une maladie mais un mécanisme physiopathologique. Un excès d'espèces réactives mal maîtrisé favorisera une maladie ou un vieillissement accéléré.

Déséquilibre de la balance



Activer Window
Accédez aux paramè
activer Windows.

Causes et conséquences du stress oxydant



Que se passe t-il au sein de nos cellules ?



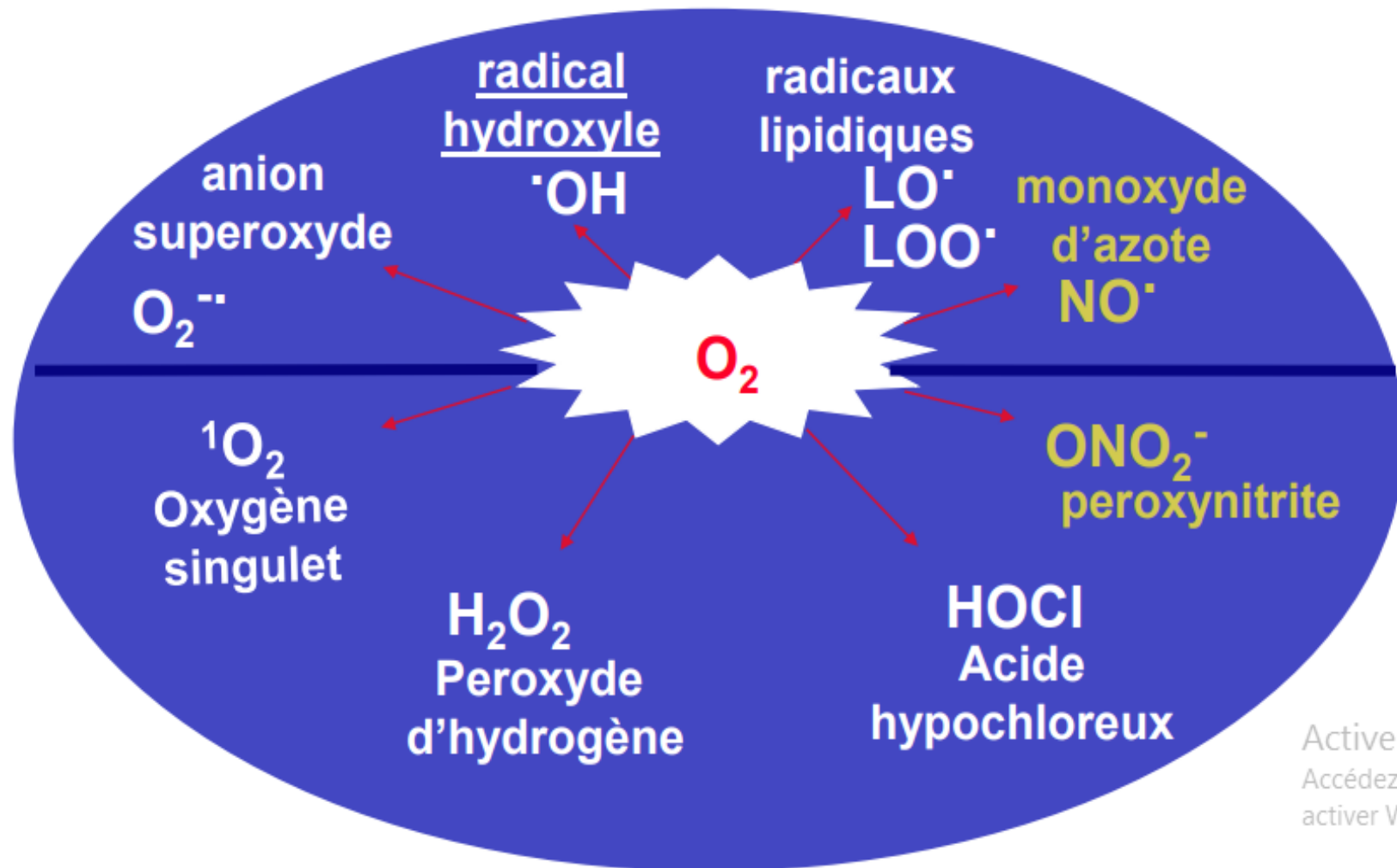
Toutes les cellules aérobies produisent en permanence des espèces réactives de l'oxygène qui sont neutralisées immédiatement par les antioxydants

➔ Quelle sont ces espèces réactives ?

➔ Quelle est l'origine de ces EROs ?

Les Espèces Réactives de l'Oxygène et de l'Azote

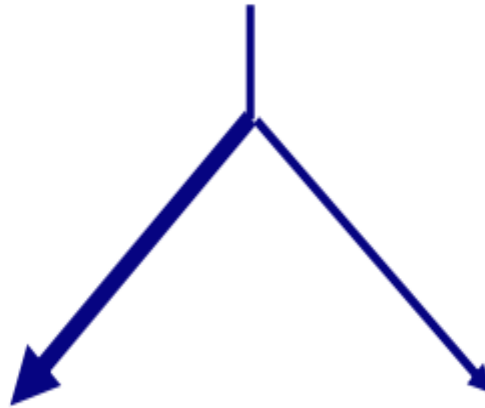
ESPECES RADICALAIRES



Activer Windows
Accédez aux paramètres
activer Windows.

ESPECES NON RADICALAIRES

2 grandes voies de production des Espèces Réactives de l'Oxygène



Transfert d'électrons



Lié au métabolisme cellulaire

**Scission homolytique
des liaisons covalentes**



Nécessite de l'énergie

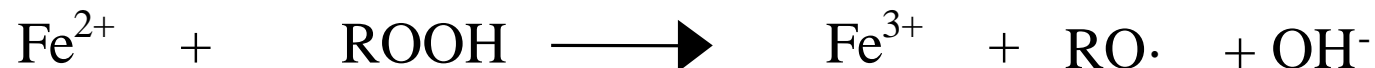
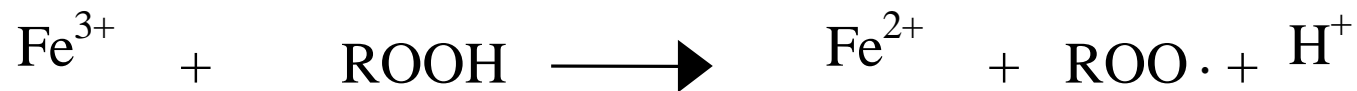
Activité pro-oxydante des métaux de transition

Le contrôle de l'activité rédox des métaux est vital. On estime qu'en dehors des processus pathologiques il y a moins d'un atome de fer libre par cellule.

Production directe de radicaux alkyls (graisses, huiles)



Décomposition des hydroperoxydes en radicaux peroxydes ou alkoxydes.



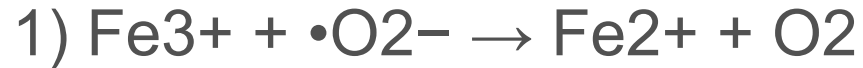
Le taux de peroxydation des lipides est maximal pour un rapport Fe (II):Fe(III) de 1:1.

Minotti, G. and Aust S.D. (1987) J. Biol. Chem. 262, 1098-1104.

Activation de l'oxygène moléculaire puis production de singulet.



Le cycle d'Haber-Weiss: un concept périmé



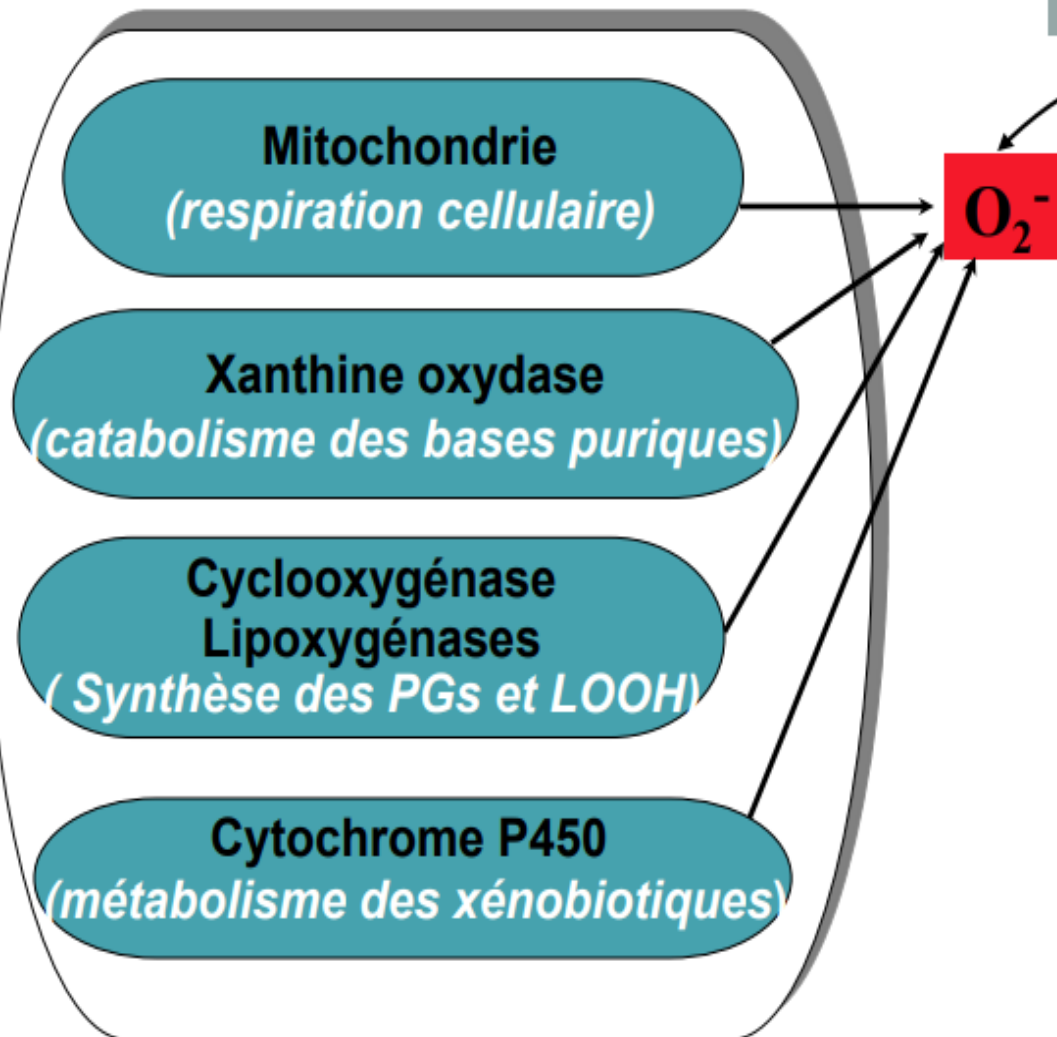
Réaction de Fenton

Réaction nette du cycle:

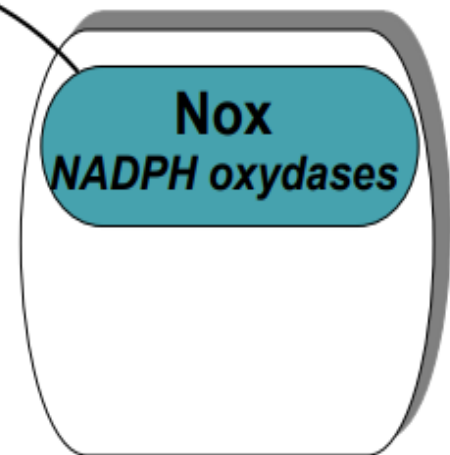


Production des ROS

EROs sont des produits 2aires
du métabolisme



EROs et ERNs sont produits
par des enzymes
Spécifiques des types cell.



Mitochondrie: notre centrale « nucléaire » fuit...



Environ 1000/cellule

Multiples copies d'un mini-génome

Dépend aussi du génome externe

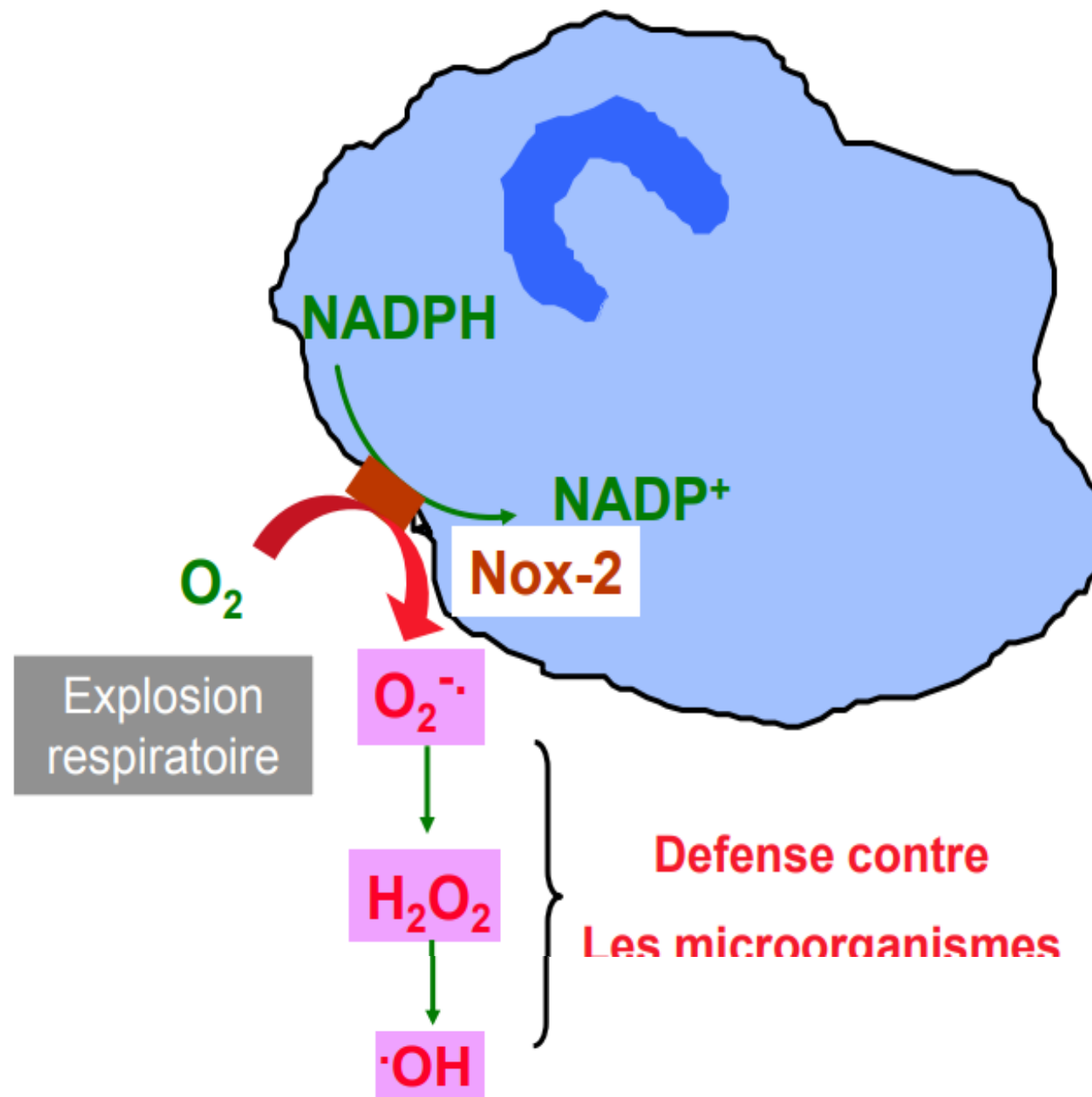
Chaîne respiratoire

Production d'énergie

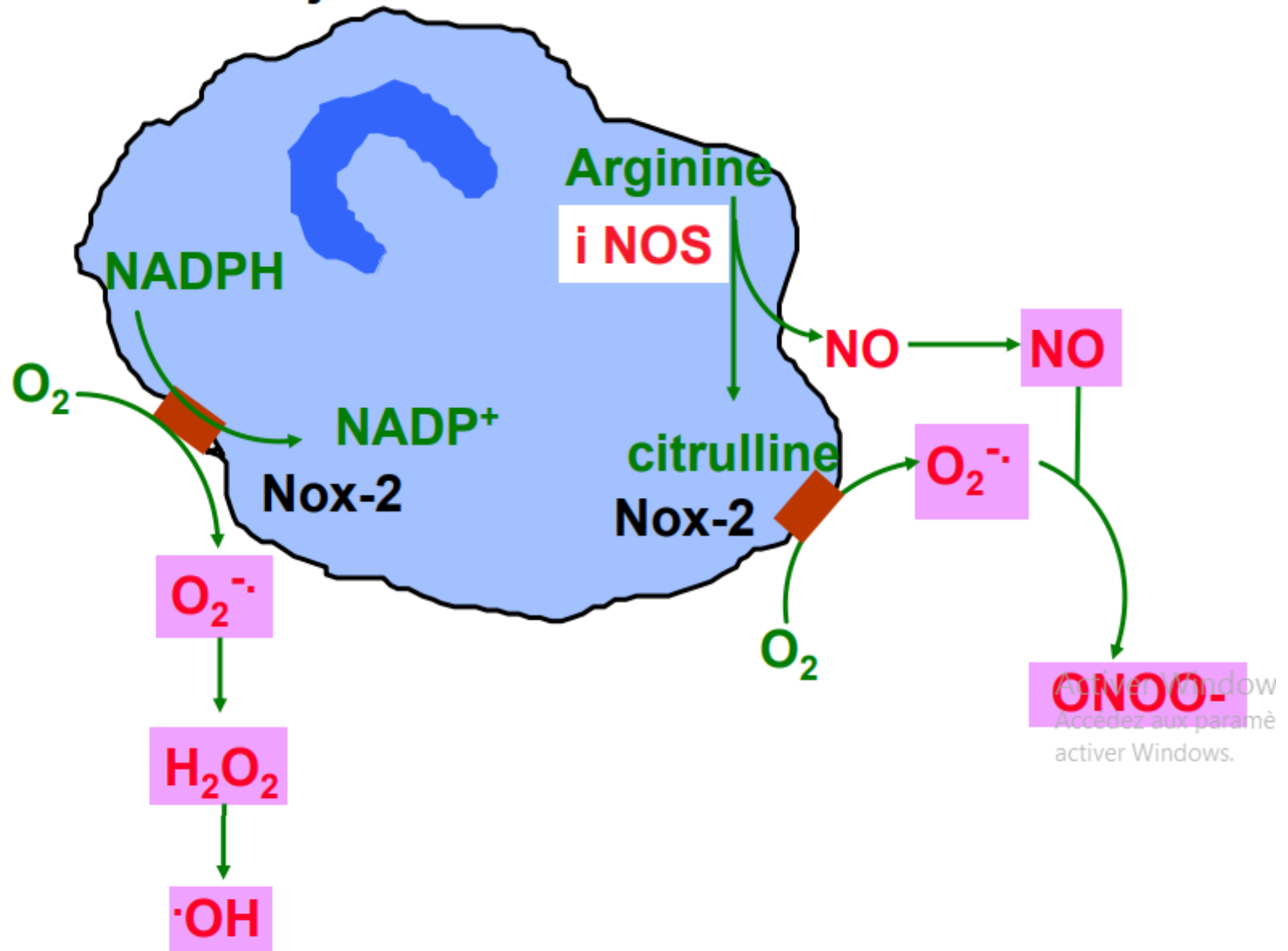
Production d'ERO

Lésions mt ADN >> ADN
nucléaire

La NADPH Oxydase (Nox-2) des phagocytes rôle majeur dans l'inflammation et dans l'immunité innée



La NO Synthase inducible des phagocytes rôle majeur dans l'inflammation



Facteurs environnementaux

**Radiations
Ionisantes, UV**

**Médicaments, Pesticides,
Solvants industriels**

**Polluants
atmosphér**

Métaux lourds

infection

**Surcharge
Fe,Cu**

Inflammation

↑
ERO, ERN

**Hyperglycémie
Hyperlipidémie**

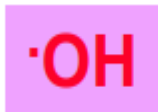
**Ischémie/
reperfusion**

Facteurs endogènes

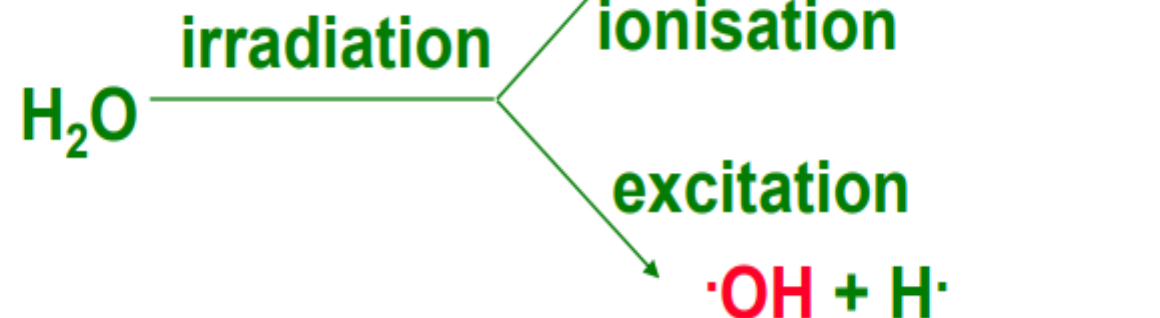
Activer Windows
Accédez aux paramètres
activer Windows.



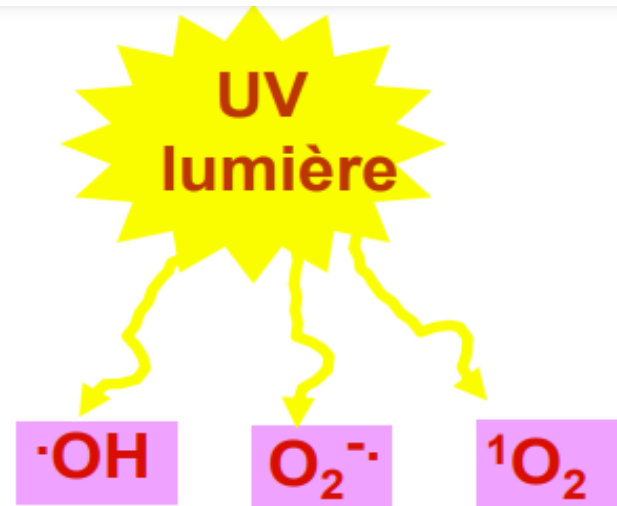
Les radiations ionisantes



Radiolyse de l'eau



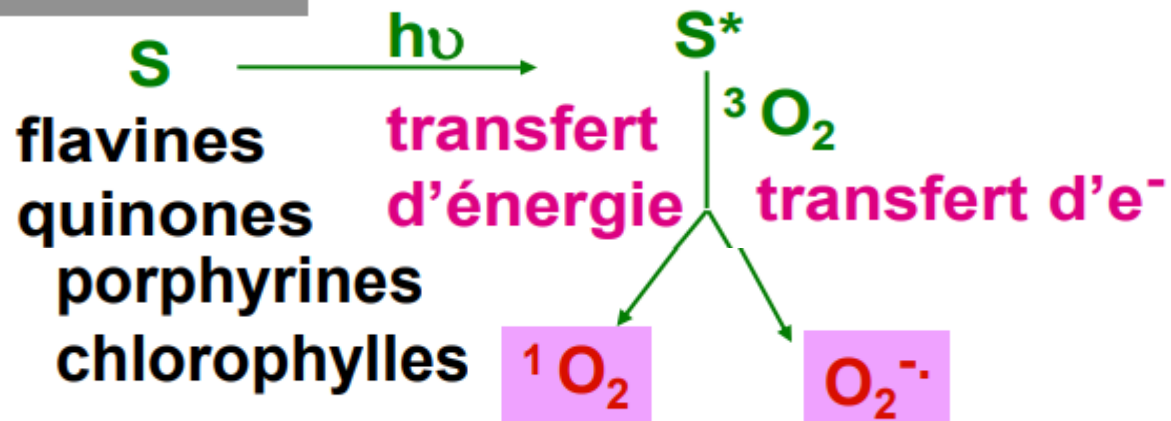
La lumière



photolyse



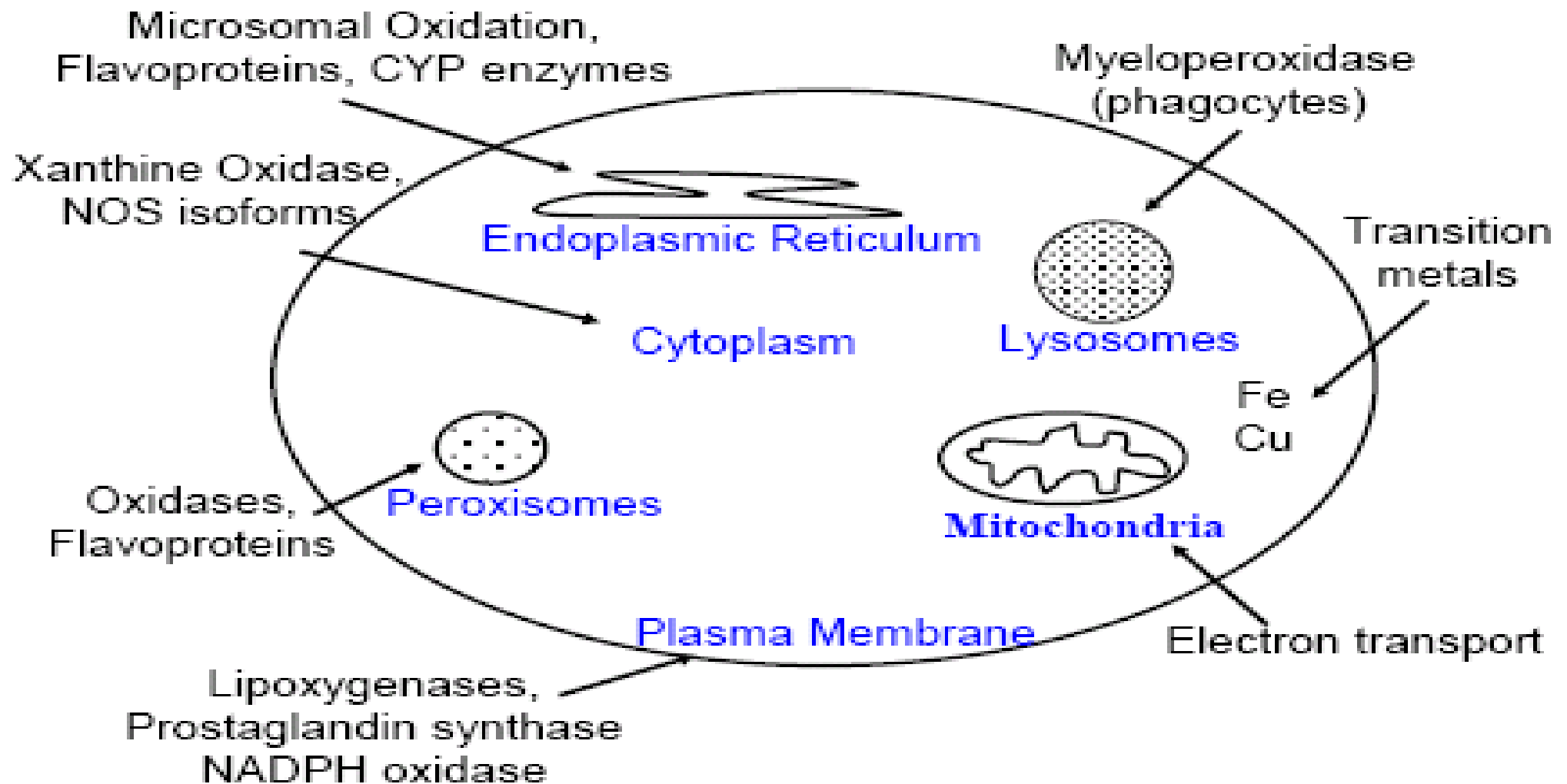
photochimie



Acti
Accé
activ

Sources endogènes d'espèces réactives

Endogenous sources of ROS and RNS



Systemes de defense anti oxydante

- Enzymatiques
- Non enzymatiques (les protéines)

Protéines enzymatiques

✓ Les thiols-disulfures oxydoréductases et transférases

- Système thiorédoxine (thiorédoxine/thiorédoxine réductase/NADPH)
- Peroxirédoxines (thiorédoxine peroxydases)
- Système glutarédoxine (glutarédoxine/ glutarédoxine réductase/GSH)

✓ Hème oxygénase

Protéines non enzymatiques

✓ Sequestrants des minéraux

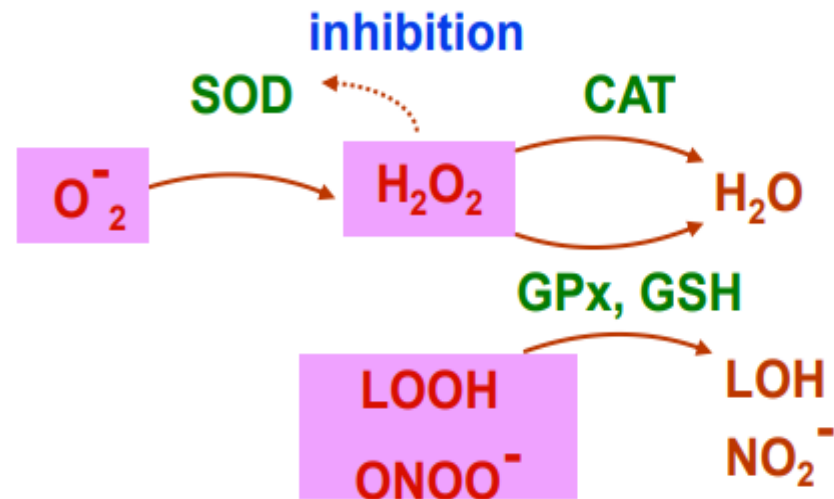
- du fer: Transferrine, ferritine, lactoferrine
- du cuivre: céruloplasmine, albumine
- métallothionéines: Zn^+ , Cu^+ , Cd^+ , Hg^{2+}

Enzymes de défense antioxydante

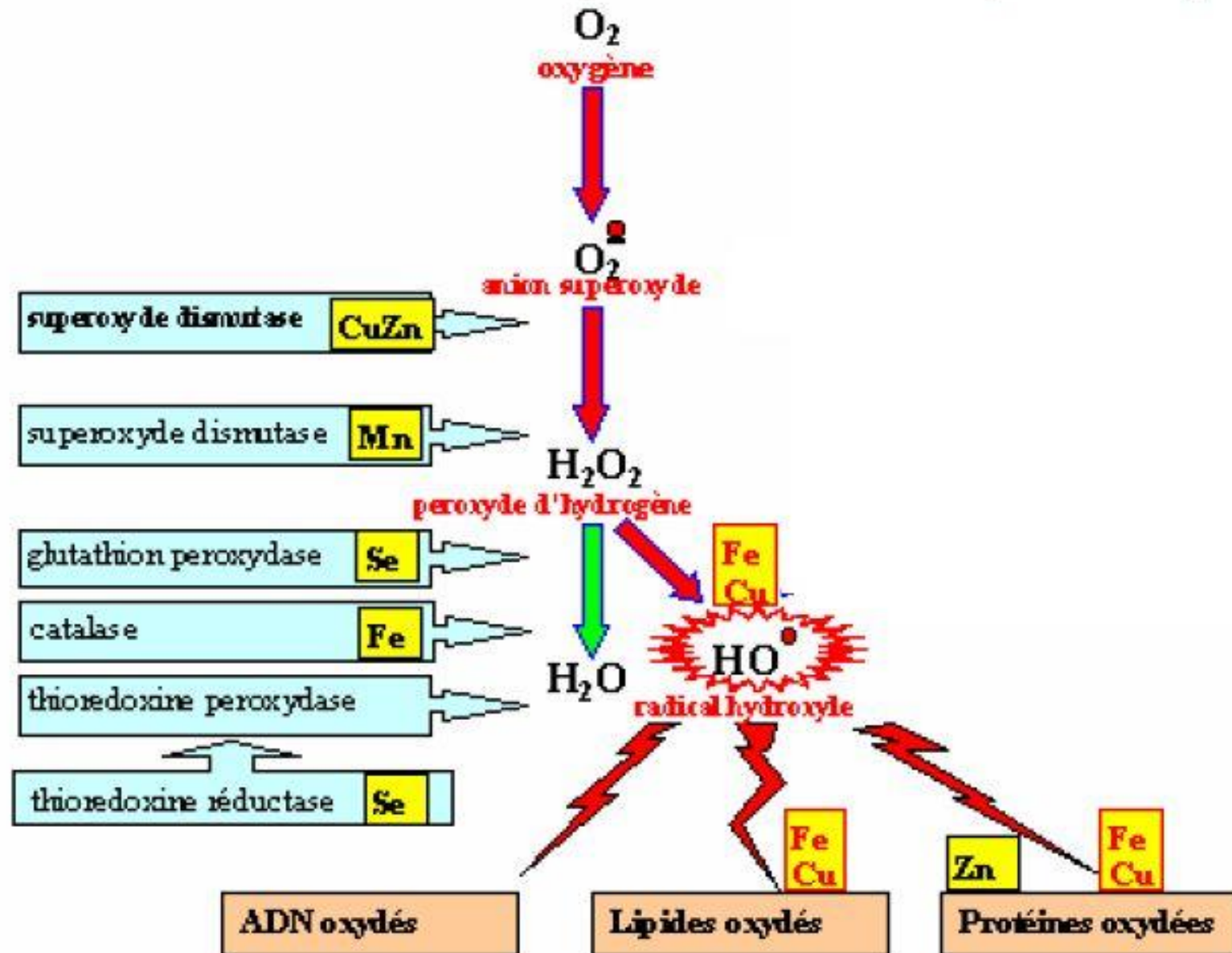
Enzymes clés

(Housekeeping enzymes)

Superoxyde dismutases
Catalase
Glutathion peroxydases



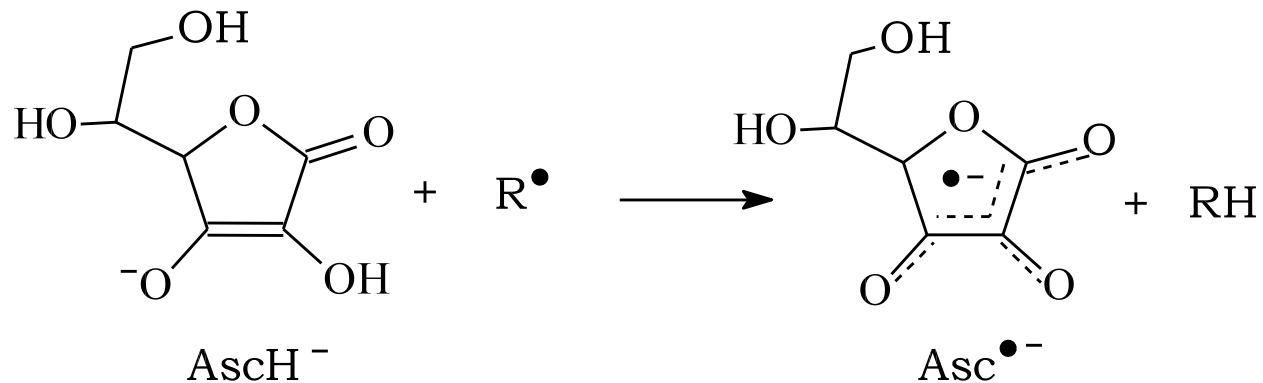
Transformation par voie enzymatique



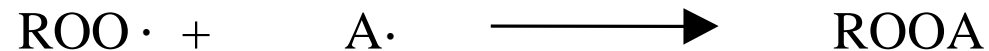
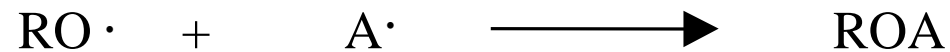
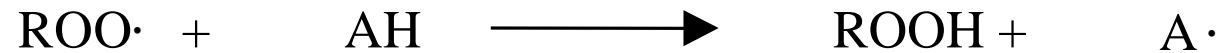
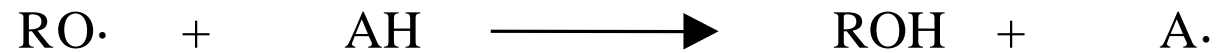
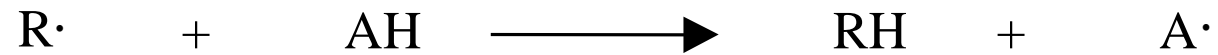
Définition d'un antioxydant

- N'importe quelle substance qui, lorsqu'elle est présente à une concentration faible par rapport à un substrat oxydable, retarde de façon significative ou empêche l'oxydation du dit substrat.

Halliwell & Gutteridge (1999)



Action des antioxydants: terminaison



Antioxydants

Endogènes

- glutathion (↑ synthèse par la N-acétyl cystéine)
- acide urique : $^1\text{O}_2$, LOO°
- bilirubine : $^1\text{O}_2$, LOO°
- acide lipoïque : $^\bullet\text{OH}$, LOO° , HOCL , ONOOH
- coenzyme Q_{10} : LOO°

Apportés par l'alimentation

- vitamines E et C
- caroténoïdes
- polyphénols, flavonoïdes

Les défenses contre le stress oxydant

- ENZYMATIQUES

- Superoxyde dismutase
- Catalase
- Glutathion peroxydase
- Glutathion réductase
- Autres enzymes de phase 2
 - Glutathion S transférase
 - Thiorédoxine réductase
 - Hème oxygénase 1

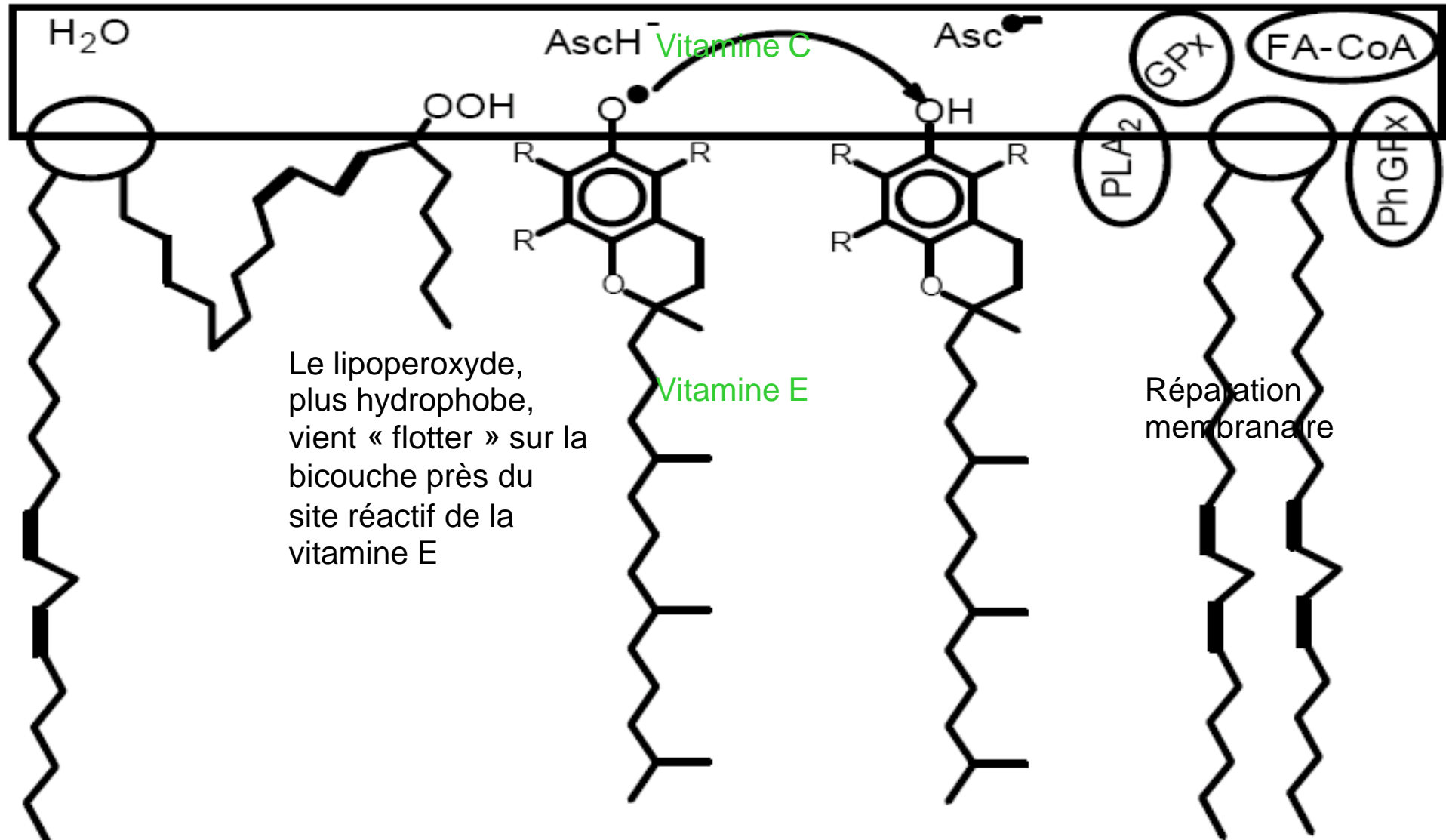
Les enzymes de phase 2 sont
inductibles

- NON-ENZYMATIQUES

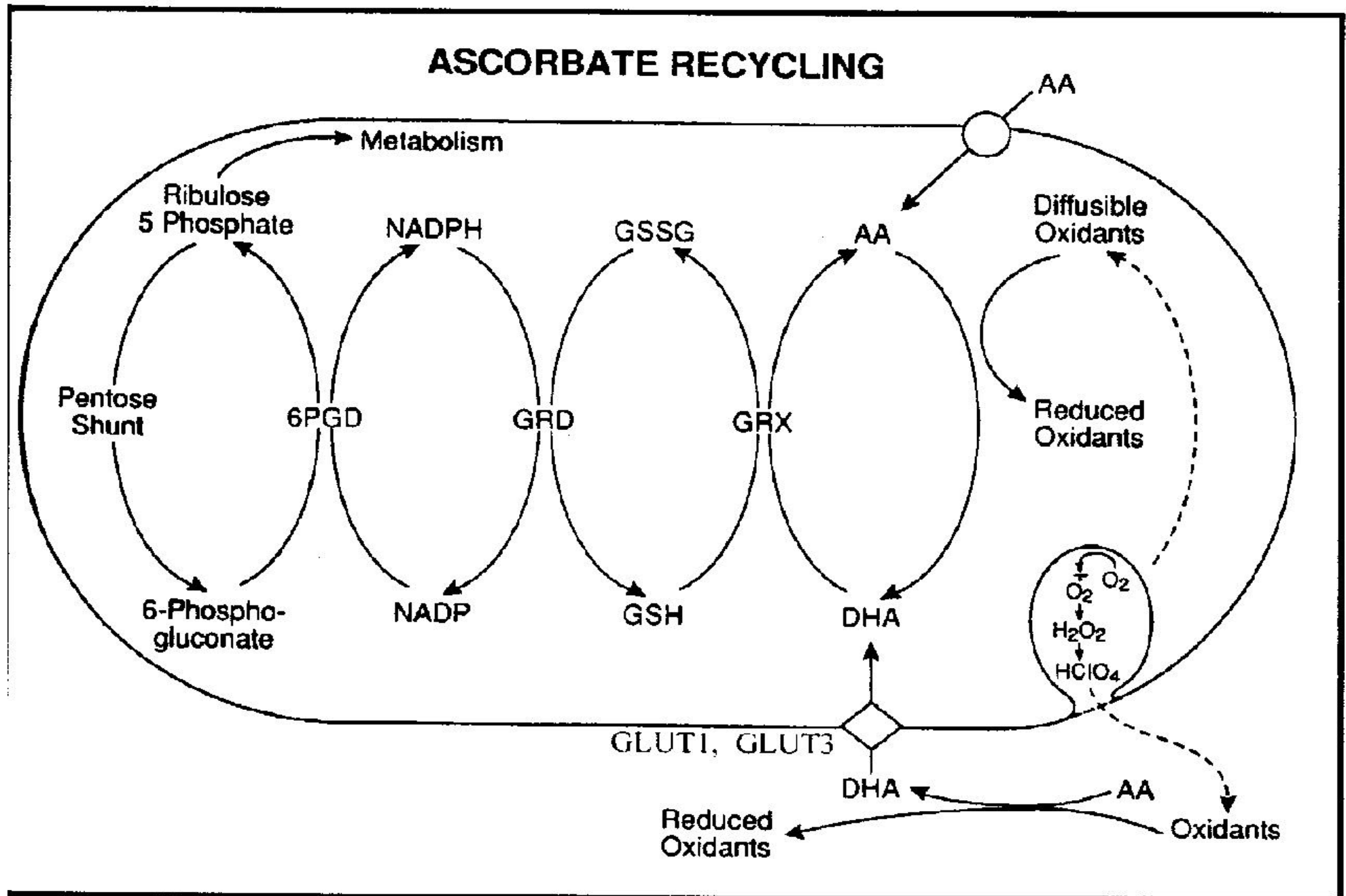
- Protéines
 - Albumine
 - Céruloplasmine,...
- Hydrosolubles
 - Vitamine C
 - Glutathion
 - Acide urique
- Liposolubles
 - α -tocophérol
 - γ -tocophérol
 - Coenzyme Q10
 - Caroténoïdes
 - Polyphénols-flavonoïdes

Interdépendance des systèmes antioxydants I

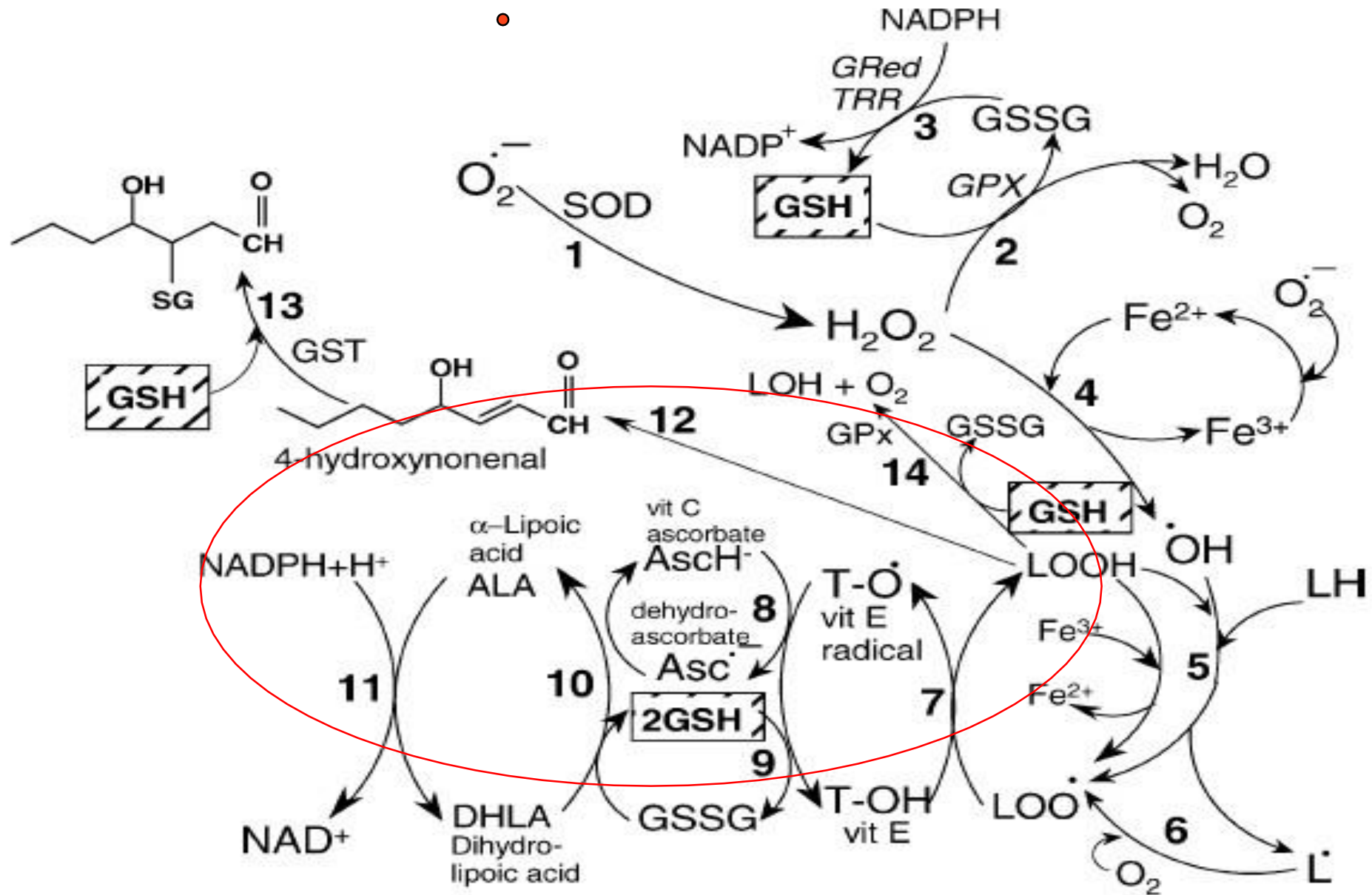
C and E as Co-Antioxidants



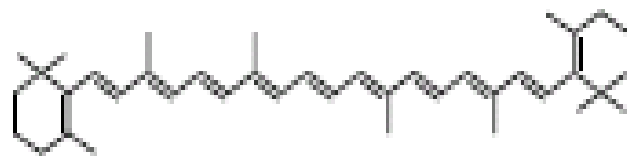
Interdépendance des systèmes antioxydants II



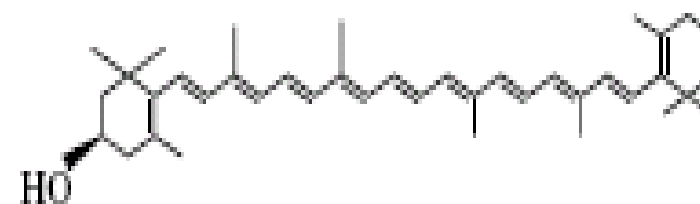
Interdépendance des systèmes antioxydants III



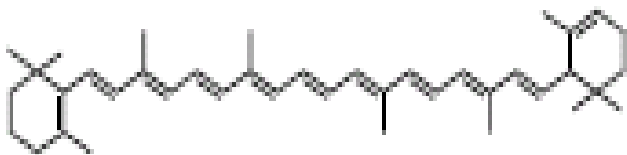
Les caroténoïdes et xanthophylles



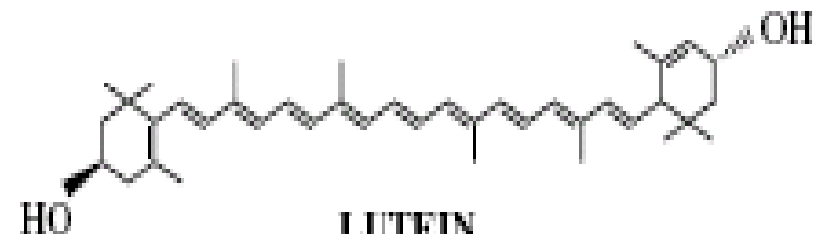
β -CAROTENE



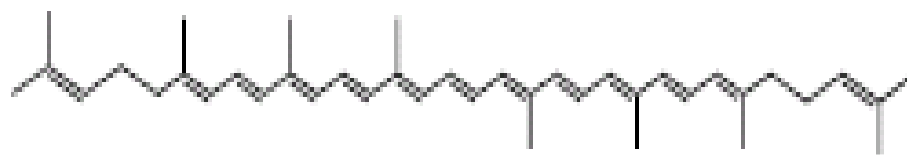
β -CRYPTOXANTHIN



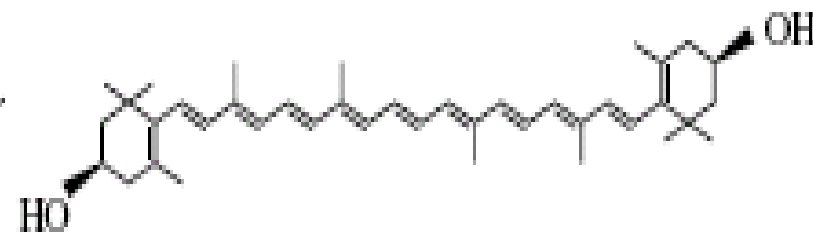
α -CAROTENE



LUTEIN

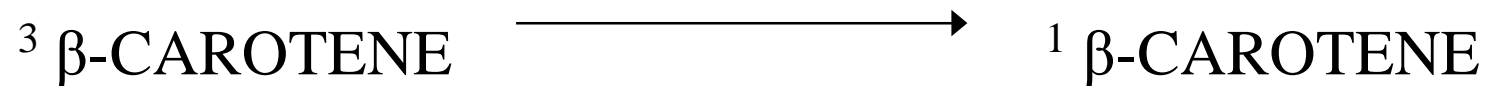
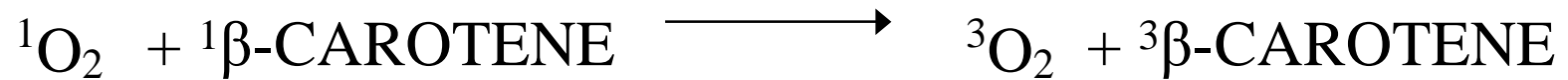


LYCOPENE



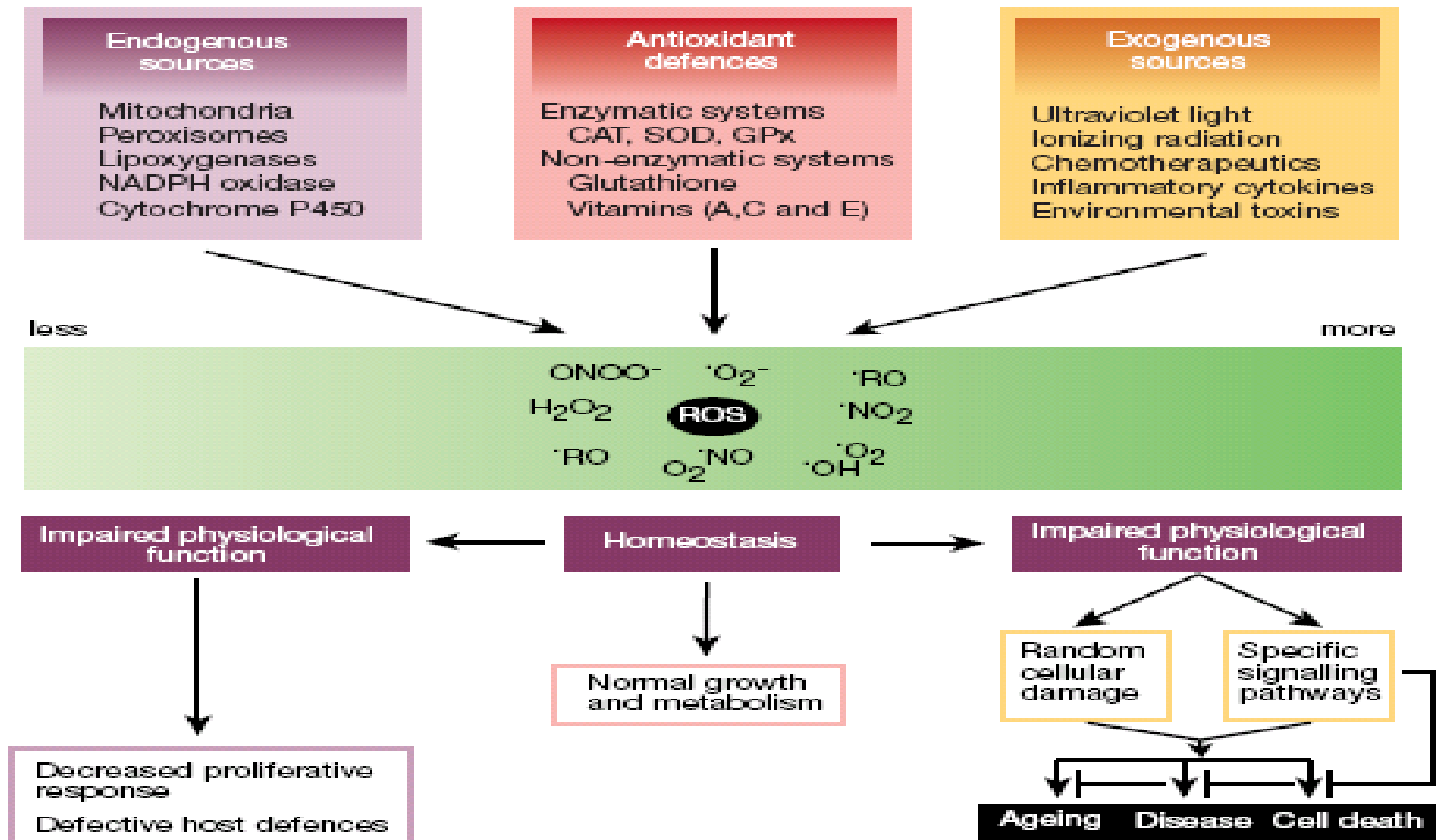
ZEAXANTHIN

Mécanisme antioxydant des caroténoïdes: cas de l'oxygène singulet

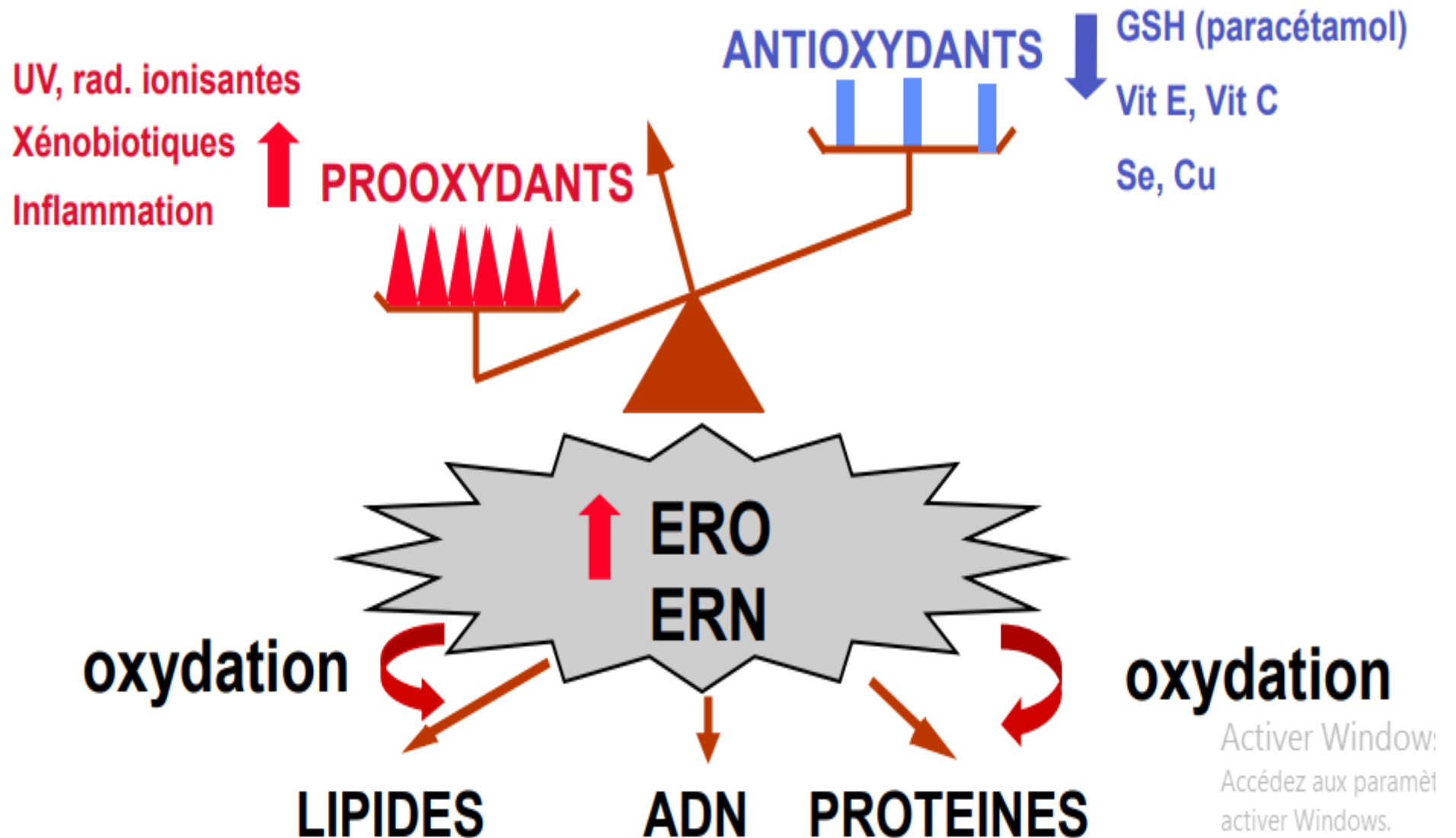


Conversion non-radiative

Vue globale du stress oxydant



STRESS OXYDANT



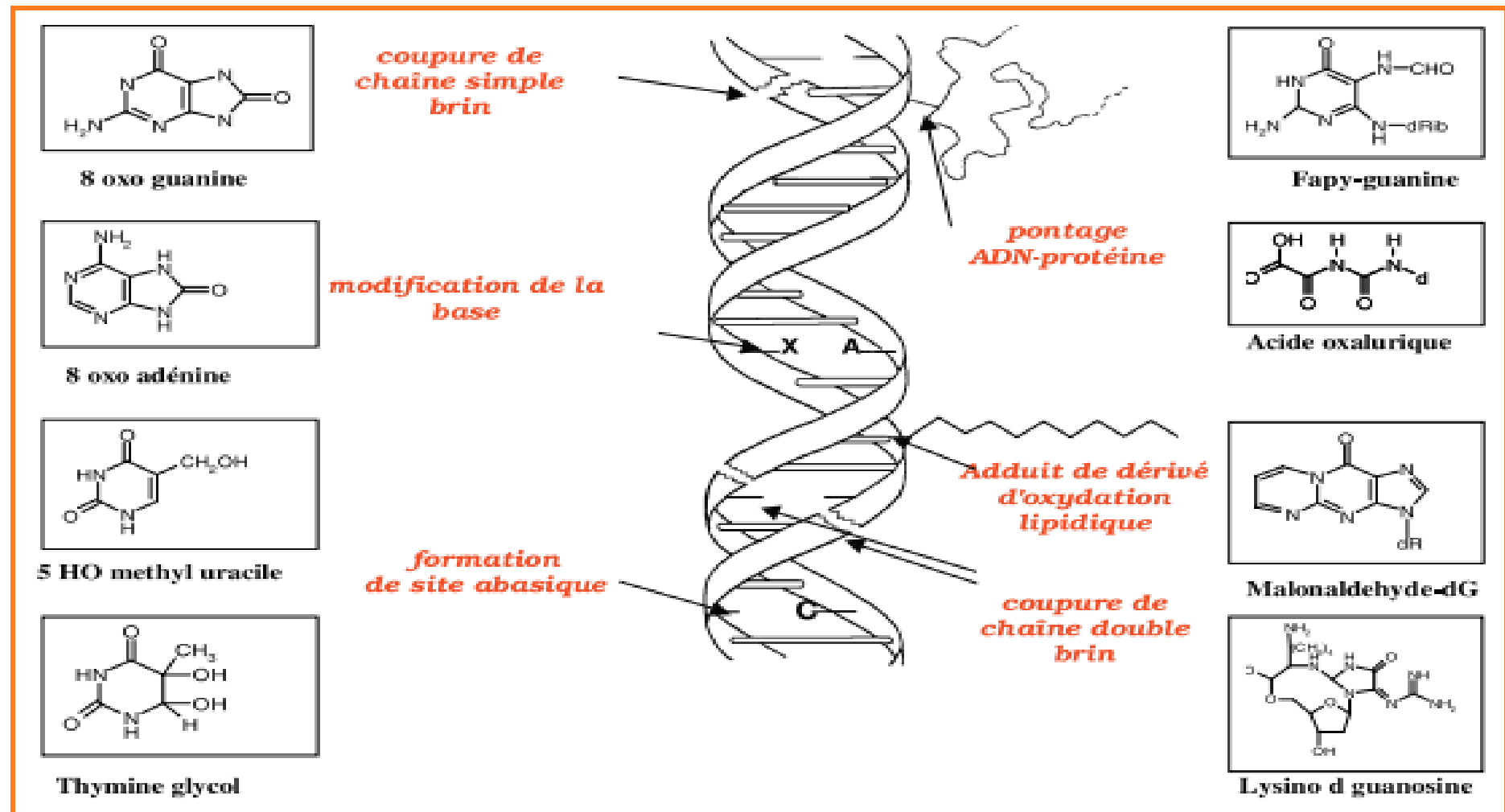


Figure 4 - Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules.

Maladies avec présence de marqueurs de stress oxydant (liste abrégée)

- Sickle cell disease
- ALS
- Systemic lupus erythematosus
- Asthma
- Systemic sclerosis (scleroderma)
- Atherosclerosis
- Diabetes mellitus
- Preeclampsia
- ARDS
- Alcoholic liver disease
- COPD
- Asbestosis
- HIV-positive patients
- Acute and chronic alcoholic liver disease
- Retinopathy of prematurity
- Rheumatoid arthritis
- Myocardial inflammation
- Osteoarthritis
- Preeclampsia
- Chronic kidney disease
- Friedreich ataxia
- Crohn disease
- Renal cell carcinoma
- Cystic fibrosis
- Spherocytosis
- Huntington disease
- AD
- Hyperhomocysteinemia
- Ischemia/Reperfusion injury
- Interstitial lung disease
- Pancreatitis
- Primary biliary cirrhosis
- Psoriatic arthritis
- Lung cancer
- Pulmonary hypertension
- Lung injury
- Multiple sclerosis
- Inflammation...

Dalle-Donne I. et al *Clinical Chemistry* 52:4 601–623 (2006)

Etude Su.Vi.Max: prévention primaire micronutritionnelle du cancer

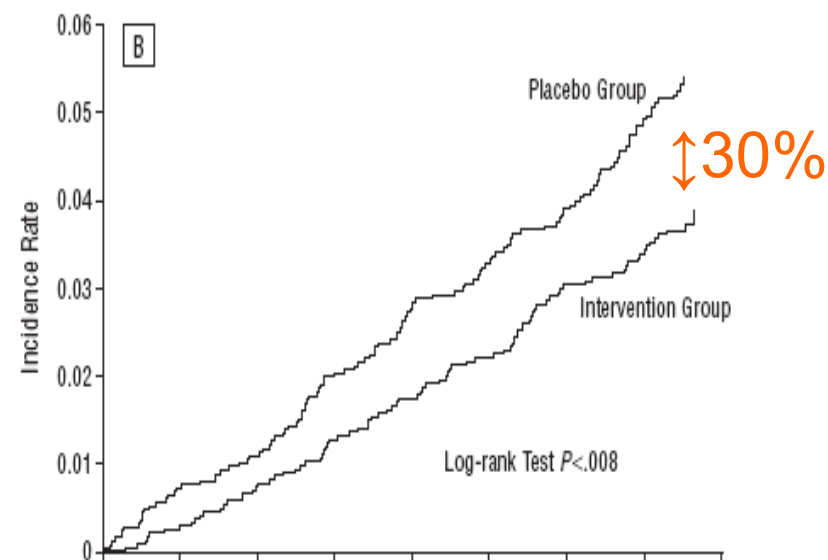
12741 participations complètes

Etude prospective randomisée en double insu, contrôlée

7.5 années de suivi

Zinc, Sélénium, Vit. E, Vit. C et B carotène **associés** à doses **nutritionnelles**.

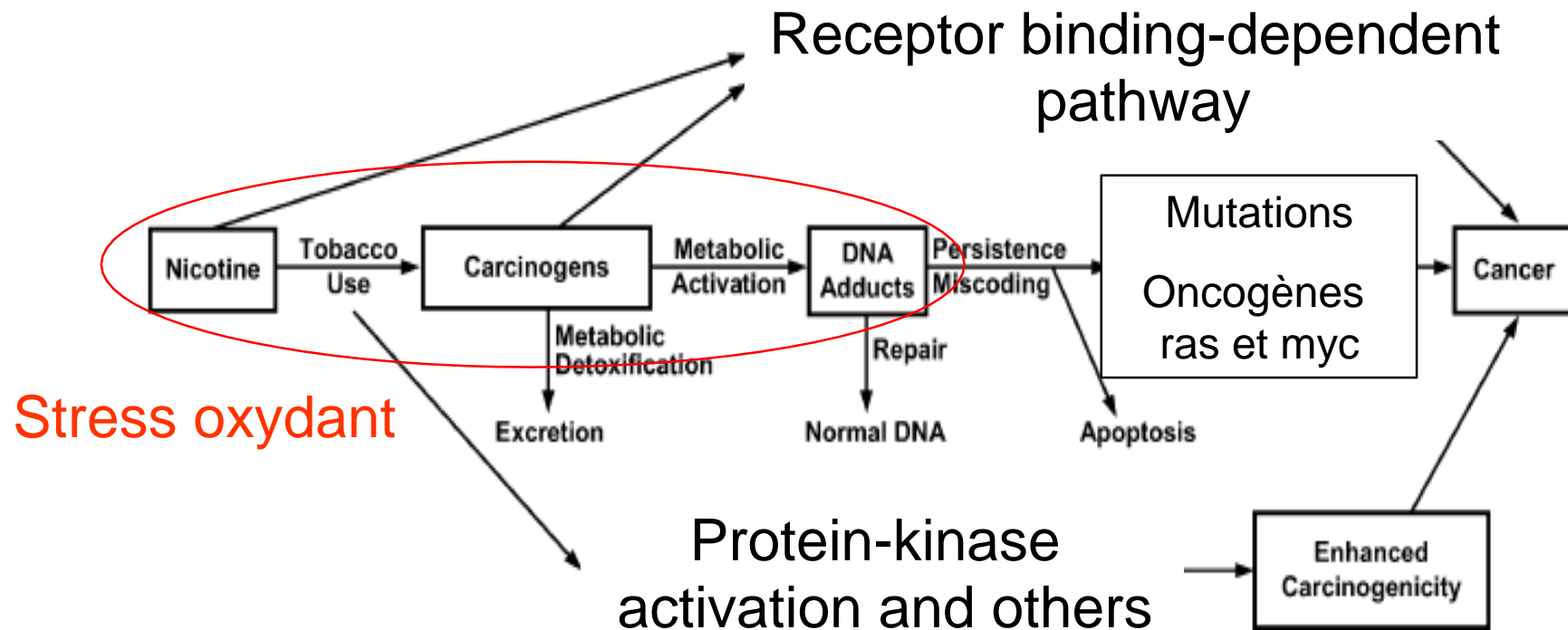
Incidence de cancers, hommes



Galan P et al British Journal of Nutrition 2005, 94, 125–132

Hercberg et al, Arch Int Med 2004, 164:2335

La carcinogenèse



Modifié d'après Wogan GN *et al* Seminars in Cancer Biology 14 (2004) 473–486

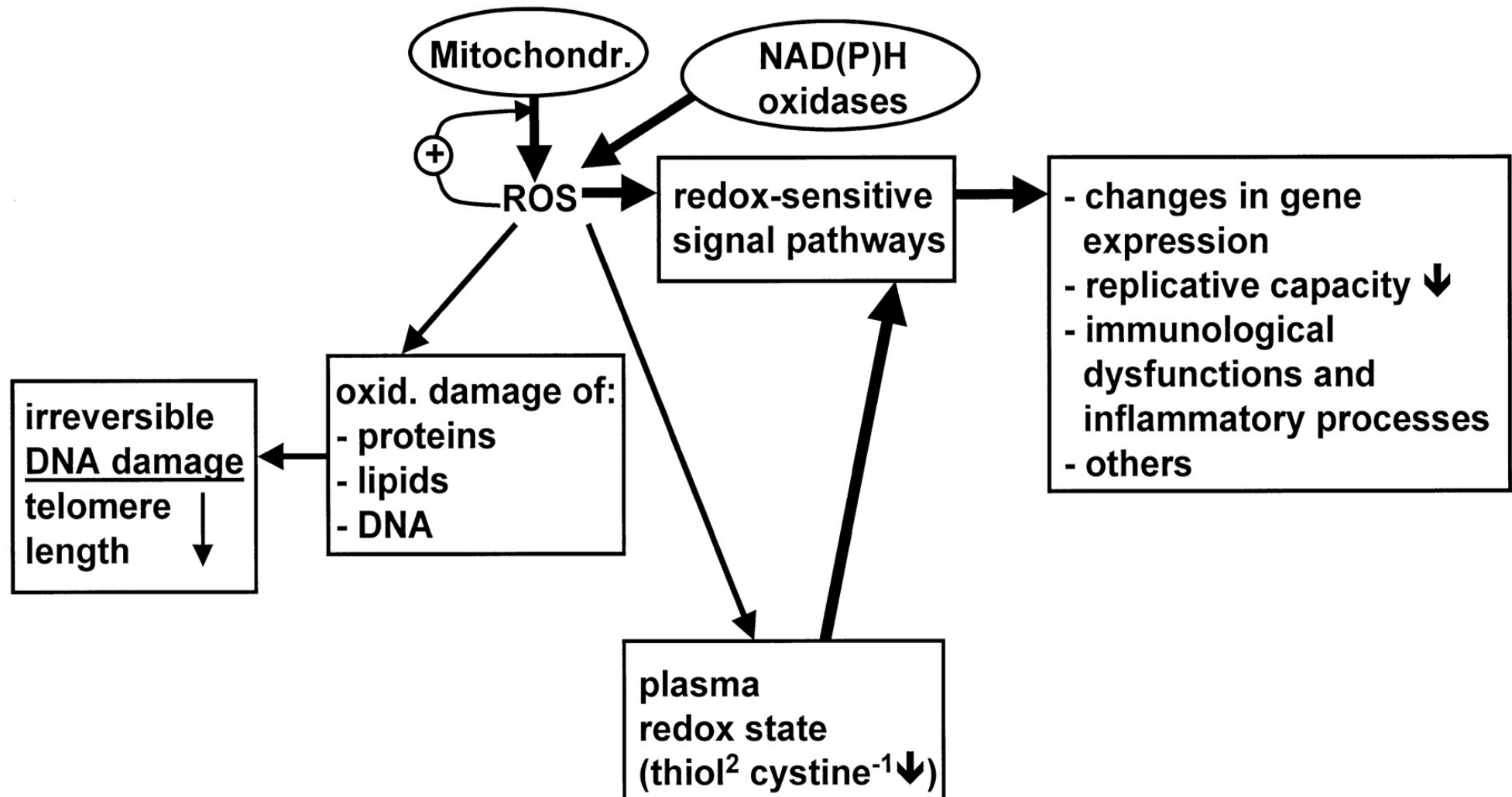
ERO, stress oxydant et carcinogenèse

- Il existe un niveau physiologique d'ERO
- Altérations des molécules
 - ADN (génotoxicité) Bases oxydées, site abasique, adduits
 - Protéines (épigénétique) Régulation génome, déchets
 - Lipides Propagation des réactions, adduits
- Altération des signaux
 - Intracellulaires
 - Intercellulaires Connexines
- Système de réparation de l'ADN

Initiation → Promotion → Progression

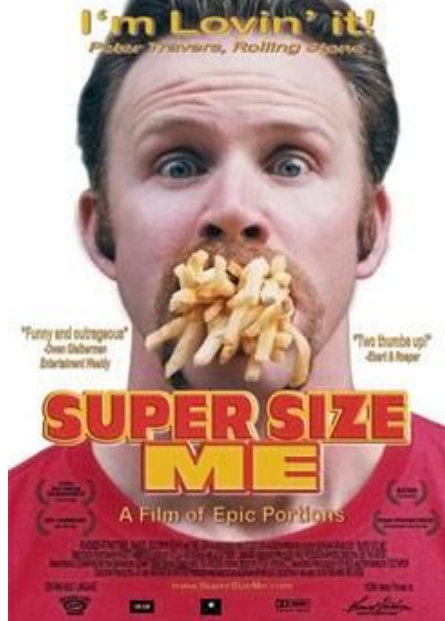
Stress oxydant et vieillissement

OXIDATIVE STRESS AND SENESCENCE: observed age-related changes and putative mechanisms



L'alimentation et le mode de vie influencent fortement le stress oxydant

Une alimentation
déséquilibrée



La sédentarité/effort violent



Le tabac



...sont les problèmes les plus courants

Conséquences biologiques du stress oxydant

Severity of
Oxidative Stress

Biological
Consequences

A. *Low level & gradual*

Aging

B. *Medium level & rapid*

*Carcinogenesis
Mutagenesis*

C. *Large level & rapid*

*Death, Stroke,
Trauma, Ionizing
irradiation*

L'analyse médicale pour évaluer le stress oxydant et corriger le mode de vie

L'analyse de laboratoire joue un rôle clé dans cette démarche :

- Les déséquilibres sont objectifs et quantifiables
- La démarche médicale se base sur des faits concrets qui favorisent la prise de conscience. L'approche est personnalisée.
- Les recommandations reposent sur des données individuelles
- au lieu de conseils généraux.
- Les effets de l'intervention sont contrôlables. Les résultats
- d'analyses objectivent les résultats et renforcent la motivation.

Applications des tests de laboratoire

- **Vérifier** si le statut en oligo-éléments et vitamines est adéquat.
- **Suivre** les effets d'une prescription (compliance, absorption, adéquation) ou d'un conseil alimentaire.
- **Evaluer** les défenses et réponses contre le stress oxydant
 - Dégâts LDL oxydées, bases oxydées
 - Réponses Glutathion peroxydase $2\text{GSH} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{GS-SG} + 2\text{H}_2\text{O}$
Superoxyde dismutase (Cu,Zn) $\text{O}_2^- + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2$
 - Antioxydants Caroténoïdes, vitamine E et C, Zn, Se, GSH/GSSG
 - Pro-inflammatoire Profil des acides gras
- **Détecter** la prise inavouée ou par inadvertance de suppléments.
 - Alpha-tocophérol: \uparrow de l' α -tocophérol, \downarrow du γ -tocophérol, $\uparrow\uparrow$ du rapport α/γ .
 - Concentration de β -carotène; profil des caroténoïdes
 - Concentration ou excrétion d'oligoéléments (Zn, Se, ...)

Paramètres biologiques

Espèces
réactives

$O_2^{\circ-}$

$^{\circ}OH$

ROO°

NO°

....

Très instable
Très complexe

Dégâts

8-iso-PGF 2α

4-HNE

MDA

8-OH 2-déoxy DG

ADMA

AGEP

....

Instable
Complexe

Défenses

Eléments traces

Enzymes

Antioxydants



GSH/GSSG

Vit C

Instable ou stable
Moins complexe

Conclusion

- Le stress oxydant est un concept complexe et en pleine évolution.
- Il s'agit d'un mécanisme et non d'une maladie.
- En pratique les mécanismes inflammatoires servent souvent d'évènement déclenchant.
- On peut mesurer le stress du moins ses conséquences
- On peut mesurer les défenses antioxydantes,
- Il est possible d'agir par voie pharmacologique et/ou nutritionnelle.