

STRESS OXYDANT

I. Pro-oxydants :

I.1. Définitions :

a) Radical libre :

Espèce chimique déséquilibrée par la présence d' e^- libre (non apparié) sur la couche externe. Ce déséquilibre n'est que transitoire et doit être rétabli soit par l'acceptation d'un autre e^- soit par le transfert de cet e^- libre sur une autre molécule.

- Très grande réactivité.
- Durée de vie très courte (10^{-3} à 10^{-6} seconde).

b) Espèces Réactives d'Oxygène :

Espèces électrophiles ubiquitaires de courte durée de vie (quelques nanosecondes), elles possèdent une réactivité chimique délétère à l'égard des biomolécules, cette réactivité est inversement proportionnelle au pouvoir oxydant ($OH^\circ > RO^\circ > HOO^\circ > ROO^\circ$).

Ils sont classés en :

- **ERO radicalaires** : Anion superoxyde ($O_2^{\circ -}$), Radical hydroxyle (OH°), Radical peroxyde (ROO°), Radical hydroperoxyde (HOO°), Radicaux alkoxydes (RO°), Monoxyde d'azote (NO°).
- **ERO non radicalaires** : Oxygène singulet (1O_2), Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), hydroperoxydes ($ROOH$), Peroxynitrite ($ONOO^-$), hypochlorite (ClO^-).

I.2. Mécanismes de formation des ERO :

I.2.1. ERO radicalaires :

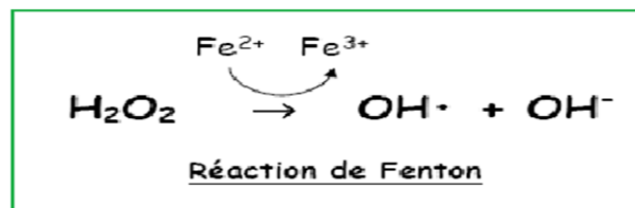
➤ Anion superoxyde $O_2^{\circ -}$:

- Produit de la réduction mono-électronique de O_2 lors de la respiration mitochondriale.
- Relativement stable.
- Réagit très lentement avec les molécules biologiques.
- Nucléophile.

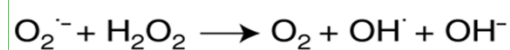
➤ Radical hydroxyle OH° :

- Espèce la plus réactive.
- Durée de vie en milieu biologique : $< 10^{-6}$ sec.
- Fort pouvoir oxydant sur les molécules environnantes et non pas à distance
- Il peut être généré de plusieurs manières :

- Réaction de Fenton** : Décomposition de H_2O_2 en présence de métaux (Fe II, Cu I, Co II, Ti III, Cr V) selon la réaction suivante :



- Réaction d'Haber-Weiss** : Interaction de H_2O_2 avec $O_2^{\circ -}$ selon la réaction suivante :



- c. Coupure homolytique de H₂O₂ sous l'influence de rayonnements UV.
- d. Réaction de l'acide hypochloreux avec l'O₂^{•-}
- e. Décomposition des ions peroxytrites (ONOO⁻).

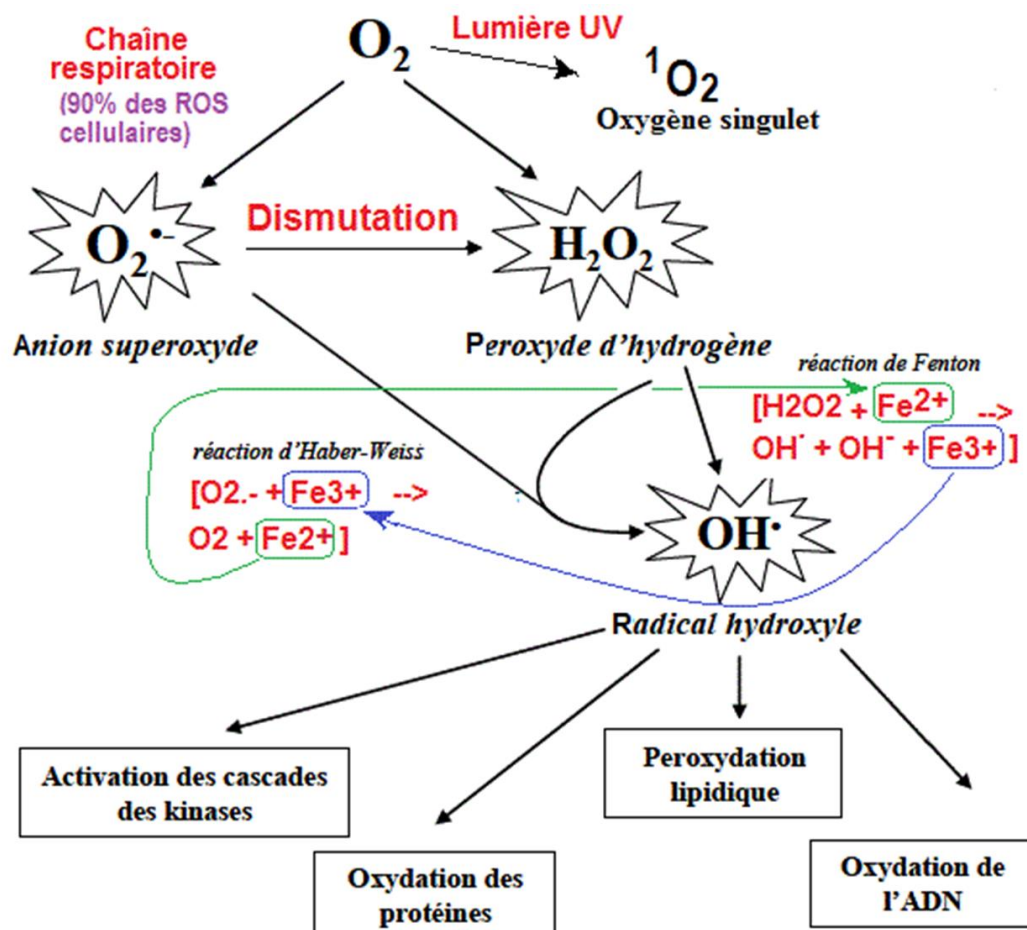
I.2.2. ERO non radicalaires :

➤ **Oxygène singlet ¹O₂** : Il représente l'état excité de l'oxygène moléculaire par des électrons périphériques à spins antiparallèles.

- Très instable.
- Extrêmement réactif face à des molécules riches en électrons.
- Il se forme principalement lors des processus physicochimiques (UVA).

➤ **Peroxyde d'hydrogène H₂O₂** :

- Molécules oxydantes et réductrices au même temps
- Peu réactif en l'absence de métaux de transition.
- Diffuse rapidement à travers les membranes cellulaires.
- Résulte de la dismutation de l'O₂^{•-} selon la réaction suivante :



I.3. Sources de production des ERO :

I.3.1. Sources endogènes :

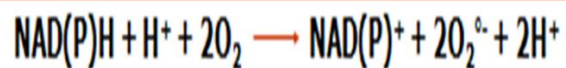
a) Sources Enzymatiques :

➤ Complexes enzymatiques mitochondriaux :

La réduction de l'oxygène moléculaire par les cytochromes respiratoires cellulaires s'accompagne d'une production parallèle d'ion superoxyde $O_2^{\cdot-}$, d'eau oxygénée et de radicaux hydroxyles OH^{\cdot} .

➤ Enzymes de l'inflammation :

▪ NAD(P)H oxydase (ubiquitaire) : Au cours de la phagocytose, elle est capable de réduire l' O_2 en $O_2^{\cdot-}$ selon la réaction suivante :

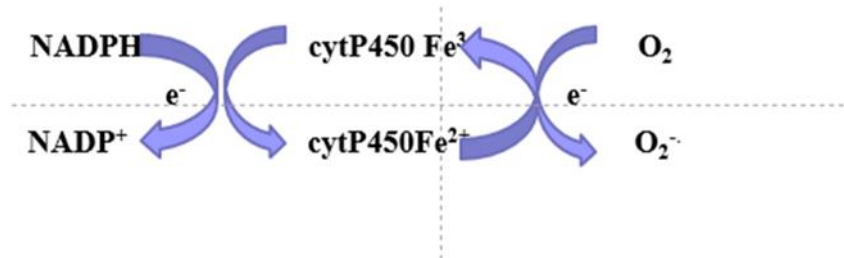


▪ NO Synthase (I, II, III, m) : Formation du monoxyde d'azote radicalaire (NO^{\cdot})

▪ Myéloperoxydase MPO : A l'intérieur de la vacuole de phagocytose, l'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$ est dismuté en peroxyde d'hydrogène qui à son tour va subir l'action de la myéloperoxydase et former de l'acide hypochloreux ($HClO$).

➤ Systèmes des CYP450 : CYP2E1 :

La NADPH oxydase transforme le NADPH en $NADP^+$, l'électron perdu réduit le CYP450 Fe III en CYP450 Fe II par la NADPH Cytochrome P450 réductase. L'auto-oxydation du CYP450 Fe II en CYP450 Fe III permet la réduction d' O_2 en $O_2^{\cdot-}$.



➤ Autres enzymes :

▪ Xanthine oxydase : Formation de $O_2^{\cdot-}$.

▪ Monoamine oxydase : Formation de H_2O_2 .

▪ Cyclo-oxygénases : Métabolisme de l'acide arachidonique.

b) Non enzymatiques :

Auto-oxydation de l'adrénaline, dopamine, flavines, hydroquinone, hémoglobine :

$O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 , OH^{\cdot} .

I.3.2. Sources exogènes :

a) Agents chimiques :

➤ Métaux : le Cuivre et le Fer libres génèrent des radicaux hydroxyles OH^{\cdot} , très réactifs, à partir de l' H_2O_2 , par la réaction de Fenton.

Arsenic : Production de H_2O_2 lors de l'oxydation de l' As^{3+} en As^{5+} .

Plomb, cadmium...

➤ Particules inhalées : Amiante, Silice, sont des sources de RL par la phagocytose exacerbée qu'elles déclenchent et car elles sont recouvertes de sels de Fer en surface.

➤ Ethanol, tabac, drogues, ...

- Médicaments : paracétamol, barbituriques, ...
- Pesticides : paraquat ...
- Solvants : tétrachlorure de carbone....

b) Agents physiques :

- ☐ Radiations ionisantes (RI) : la radiolyse de l'eau cellulaire conduit à la génération de OH• qui est responsable de 65% des effets des RI.
- ☐ Rayonnements UV : Formation de l'oxygène singulet sous l'action d'un rayonnement UVA.

c) Agents microbiologiques : virus, bactéries...

II. Anti-oxydants :

II-1- Définition :

Toute substance même à faible concentration est capable d'inhiber l'oxydation du substrat oxydable et d'empêcher l'accumulation des radicaux libres. On distingue :

- Antioxydants enzymatiques
- Antioxydants non enzymatiques

II-2- Antioxydants enzymatiques : 1 ère ligne de défense

➤ **Superoxyde Dismutase (SOD)** : Métalloenzyme, ubiquitaire (présente dans toutes les cellules) qui se présente sous 03 isoenzymes :

CuZn-SOD1 (cytosolique), Mn-SOD2 (mitochondriale), CuZn-SOD3 (extracellulaire).

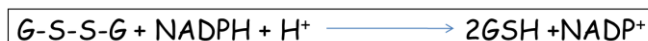
Elle est capable d'éliminer l'anion superoxyde O₂^{•-} par une réaction de dismutation :



➤ **Catalase** : Enzyme héminique, ubiquitaire (foie, GR ++) et localisation subcellulaire (peroxysomes). Elle catalyse la réaction de dismutation de H₂O₂ qui se fait en deux étapes :

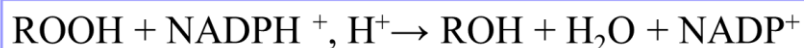


➤ **Système Glutathion peroxydase / glutathion réductase (GPx / GR)** : Ce sont des sélénoprotéines (enzyme à sélénium), il existe 07 isoformes. C'est la voie majeure de dégradation des hydroperoxydes (ROOH, H₂O₂). Elle a comme Co-facteur le glutathion réduit (GSH).



➤ **Thiorédoxines peroxydases (Trx)** : Sélénoenzymes, NADPH dépendante.

Substrats : H₂O₂, ROOH, ONOO-



L'efficacité catalytique de Trx est inférieure à celle de GPx et de la catalase.

II-2- Antioxydants non enzymatiques :

➤ **Glutathion** : Tripeptide naturel riche en groupements thiol (-SH) :

L- γ -glutamyl + L-cystéinyl + glycine. La forme réduite (GSH) constitue 90% du glutathion total. C'est une molécule hydrosoluble (cytoplasme, noyau, mitochondries) possédant des propriétés réductrices (anti oxydant).

Co-facteur de nombreuses enzymes anti oxydantes comme la (GPx)

Substrats : protéines oxydées, ROS (OH^\bullet , $^1\text{O}_2$, ...) ,4-HNE, espèces électrophiles

▪ Conjugaison aux espèces électrophiles :



➤ **Vitamines** :

▪ **Vitamine E** : α -tocophérol est la forme la plus active et la mieux absorbée. Elle a une capacité d'insertion dans les membranes donc Antioxydant majeur des structures lipidiques. Elle capte les ERO dans les membranes par déplacement (mouvement de navette).

Autres actions : neutralisation de $^1\text{O}_2$.

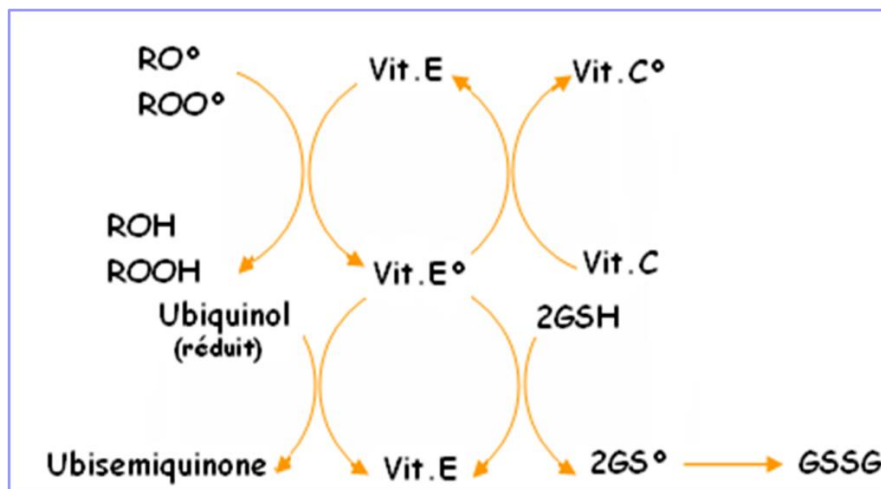
▪ **Vitamine C** : Acide ascorbique (AscH_2). C'est un agent réducteur et chélateur.

Ses actions sont :

Interaction directe avec les radicaux O_2^\bullet , OH^\bullet et $^1\text{O}_2$

Elimination du H_2O_2

Régénère la vitamine E active



▪ **Provitamine A (caroténoïdes)** : Chef de fil : β -carotène = précurseur de la vitamine A et réagit avec les ERO : ROO^\bullet , OH^\bullet et O_2^\bullet

▪ **Autres vitamines** :

-Flavonoïdes (vitamine P) : Interaction avec ROO^\bullet et chélateurs des métaux de transition

-Coenzyme Q10 : C'est une vitamine-like liposoluble. Neutralisation O_2^\bullet , OH^\bullet , ROO^\bullet , RO^\bullet et régénération de la vitamine E.

➤ **Oligo-éléments** : Cofacteurs de systèmes enzymatiques. L'activité des enzymes anti oxydantes dépend de l'apport en oligo-éléments par l'alimentation.

▪ Sélénium : Co-facteur GPx, Trx (\downarrow [Se] facteur limitant synthèse sélénoenzymes).

▪ Zinc : Co-facteur SOD1, SOD3.

III. Stress oxydant :

III-1- Définition : Un déséquilibre entre les pro-oxydants et les systèmes de défense antioxydants, avec comme conséquence, l'apparition de dégâts souvent irréversibles pour la cellule.

III-2- Dommages oxydatifs :

a) Dommages oxydatifs lipidiques :

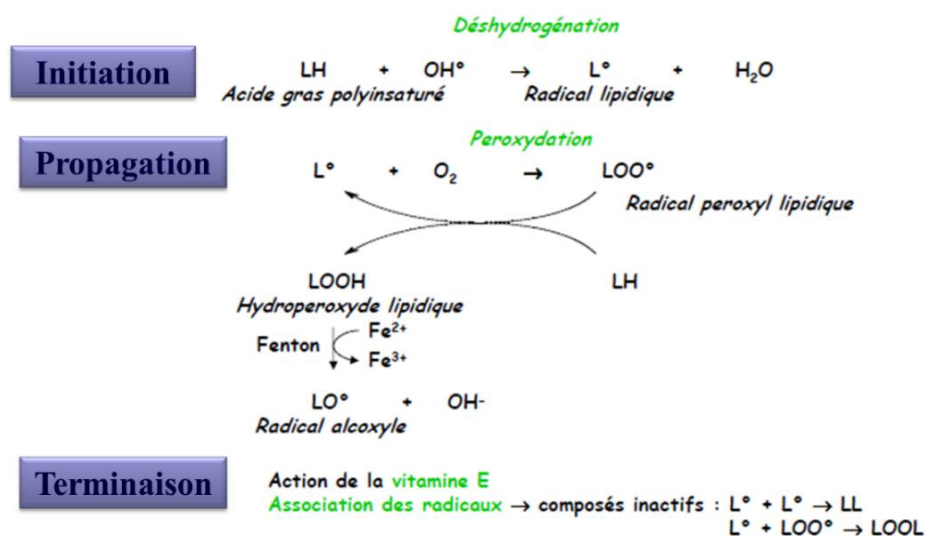
Peroxydation lipidique : c'est l'ensemble des phénomènes d'oxydation non enzymatique (Dégradation) non spécifiques des lipides.

➤ Cible :

- Les constituants membranaires principalement les acides gras polyinsaturés (-CH=CHCH₂-CH=CH-)
- Les lipides circulants : lipoprotéines, et le cholestérol non estérifié (libre).

Elle se déroule en trois étapes :

- 1) **Initiation** : Le radical libre initiateur de la réaction, par transfert d'un atome d'hydrogène du groupement méthylène séparant deux doubles liaisons de l'acide gras polyinsaturé créé un site radicalaire.
- 2) **Propagation** : L^o radical lipidique subit une série de réactions, dont la première avec l'oxygène qui aboutit à la formation d'un radical peroxy L^{oo}.
L^{oo} :
 - Réagir sur une molécule lipidique formant un LOOH (hydroperoxyde) et nouveau site radicalaire
 - Former un endoxyde qui, par scission homolytique de la liaison dioxygène et par réarrangement électronique génère malonaldéhyde (MDA) et 4-hydroxynonéol (4-HNE).
- 3) **Terminaison** : Il se peut aussi qu'il réagisse avec un autre RL assurant ainsi la terminaison de la chaîne.



➤ **Métabolites réactifs issus de la peroxydation lipidique :**

Métabolites primaires : ROO°, HOOR, RO°.

Métabolites secondaires : Aldéhydes : 4-hydroxynonéal (4-HNE) considéré comme le plus génotoxique, Malonedialdéhyde (MDA) mutagène et atherogène.

➤ **Conséquences de la peroxydation lipidique :** Les conséquences de la peroxydation lipidiques proviennent de l'action conjuguée des métabolites primaires et secondaires :

Une atteinte de l'intégrité des structures membranaires.

Dysfonctionnements cellulaires.

b) Dommages oxydatifs protéiques :

➤ **Cibles :** AA soufrés + AA aromatiques, peptides, protéines (les protéines les plus sensibles sont celles qui ont un groupement sulfhydryle (SH)).

➤ **Métabolites réactifs :**

Directe : formation de métabolites primaires : RO• et ROO• de la chaîne peptidique et latérale.

Indirecte : formation de métabolites secondaires par glycation (formation de groupements carbonyles)

➤ **Conséquences :**

- Modification des propriétés des protéines (protéines oxydées plus thermolabiles)

- Altération du fonctionnement cellulaire par altération des enzymes :

Inhibitions enzymatiques.

Perte de spécificité ligand-récepteur.

Dénaturation des épitopes antigéniques.

Perturbations métaboliques.

c) Dommages oxydatifs de l'ADN :

➤ **Cibles :** ADN mitochondrial et ADN nucléaire.

➤ **Mécanisme :** La réaction de OH• avec l'ADN est susceptible de conduire à :

-Formation d'adduits à l'AND

-Oxydation des bases et des résidus des sucres

-Cassures de chaîne par arrachement d'un atome d'hydrogène du 2-désoxyribose (simple, double brins).

-Pontages ADN-protéines dans les nucléoprotéines.

-Formation de sites abasiques, oxydation et modification des bases, mutations.

➤ **Conséquences :**

-Altération mitochondriale

-Si les systèmes de réparations sont dépassés →mutation ponctuelle ou apoptose.

III-3-Pathologies associées au stress oxydatif :

Maladies où le stress oxydant =cause primordiale	Maladies où le stress oxydant = facteur potentialisant	Maladies entraînant un stress oxydant secondaire
Cancers, auto-immunité, cataracte, œdème pulmonaire, vieillissement accéléré...	Diabète, stérilité masculine, rhumatismes, athéromes, Maladie d'Alzheimer, asthme, ...	SIDA, IR, parkinson, thalassémie, maladies cardiovasculaires...

III-4-Évaluation du stress oxydatif :

1) Quantification des ERO : Elle se fait soit par mesure directe (chimiluminescence, par résonance paramagnétique électronique) soit par mesure indirecte (marqueurs immunohistochimiques).

2) Quantification des marqueurs d'oxydation :

Marqueurs d'oxydation lipidique :

- Malonedialdéhyde (MDA)

- 4-hydroxynonéanal (4-HNE) est un marqueur plus spécifique.

Marqueurs d'oxydation protéique : Dosage des protéines carbonylées ++++....

Marqueurs d'oxydation nucléique :

- 8-OHdG (8Oxoguanosine) = marqueur de choix

3) Quantification des antioxydants :

➤ Enzymes (Catalase, SOD...)

➤ Vitamines (vit E, vit C.....)

➤ Oligoéléments (Zn, Se.....)