
LE STRESS OXYDANT

Plan

1. Introduction
2. Origines du stress oxydant
3. Les espèces oxygénées activées
4. Conséquences du Stress oxydant
5. « Un paradoxe: l'utilité des radicaux libres »
6. Les systèmes antioxydants
7. Stress oxydant et exercice

1. Introduction

Oxygène \rightarrow H_2O (chaîne respiratoire mitochondriale)

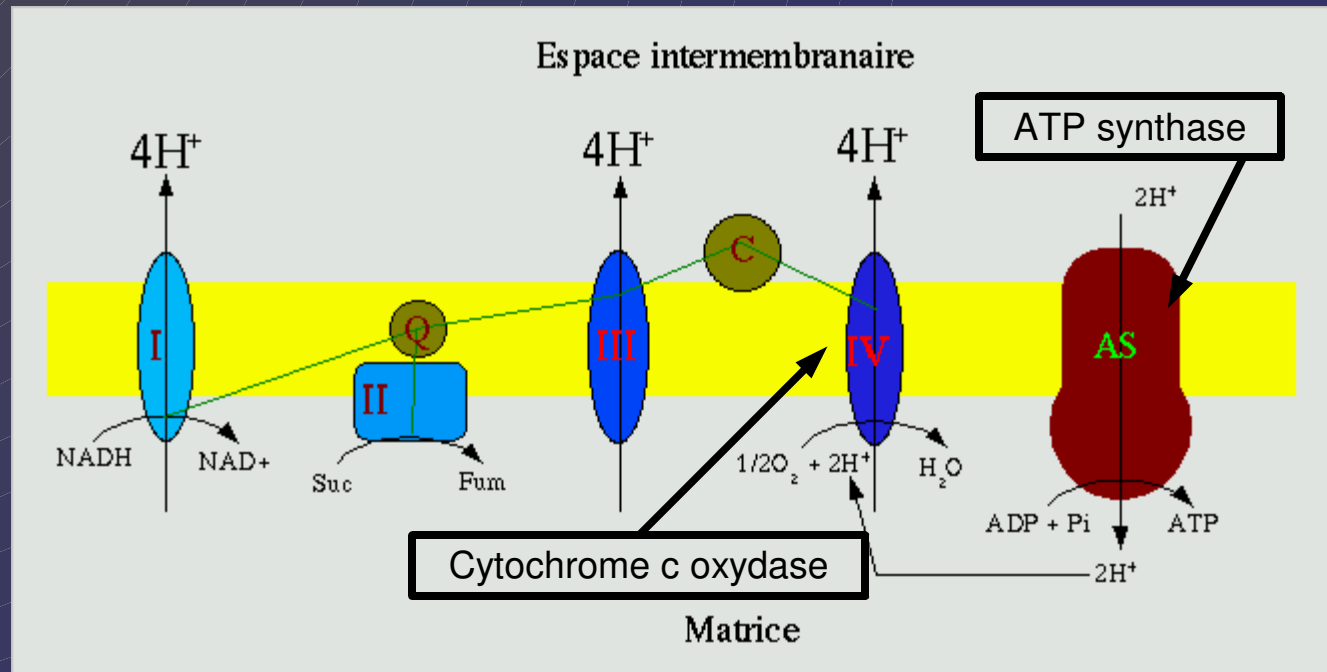
O_2 : accepteur final des électrons libérés (formation ATP)

Réduction quasi-instantanée de l' O_2 au cours de la respiration:



Pas d'états réduits intermédiaires (EOA, R.L)

1. Introduction



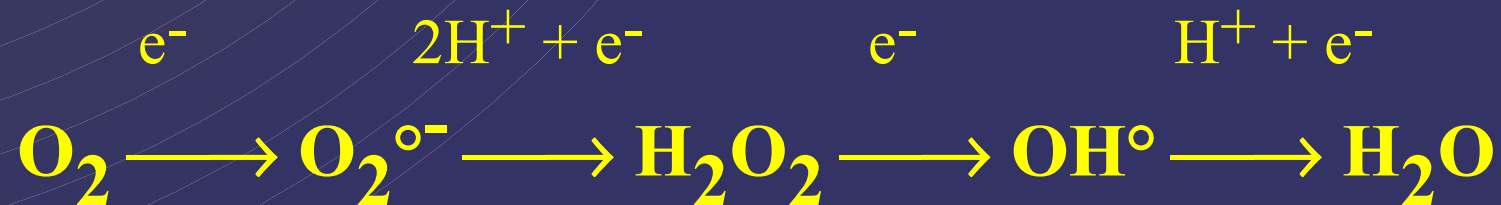
Réaction assurée par:

- Complexes protéiques (cytochrome c oxydase)
- Oxydation de NADH , FADH_2 (équivalents réduits)

1. Introduction

Imperfections de la chaîne respiratoire

- Les électrons sont apportés un à un
- 2 à 5% est convertie en espèces oxygénées activées (EOA)
(radicaux libres)



Intermédiaires réduits de l'oxygène.

« Les quatre étapes de réduction monoélectronique de l'oxygène »

1. Introduction

- Les EOA ou ROS:

sont dotées de propriétés oxydantes

réaction avec différents substrats biologiques

- lipides
- protéines
- ADN
- glucose

- Radicaux libres (R.L)



font partis des EOA

1. Introduction

- Un radical libre:

est une espèce chimique (atome ou molécule) possédant un électron non apparié sur son orbitale externe. Du fait de sa très grande réactivité, un radical libre a une durée de vie très courte (10^{-3} à 10^{-6} seconde).

- Déséquilibre transitoire:

Contrôlé par l'acceptation ou le transfert d'un e^-

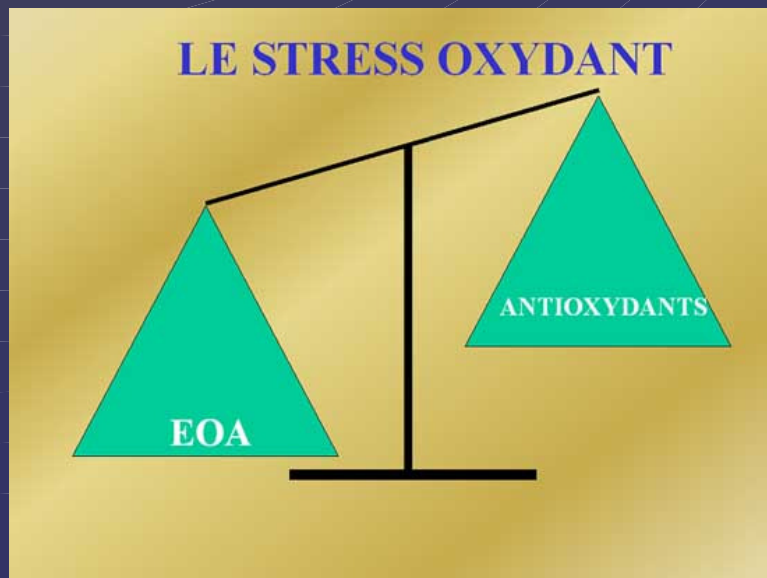
- Instabilité « modérée »: gain d' e^- (R.L = étape transitoire)
- Instabilité « élevée »: transfert d' e^- vers une autre molécule (oxydation définitive et réaction en chaîne)

2. Origines du stress oxydant

2. Origines du stress oxydant

Equilibre physiologique

- R.L produits en permanence
- Systèmes de défense: antioxydants



Le « Stress Oxydant »

rupture d'équilibre en faveur des antioxydants

- déficit en antioxydants
- surproduction de radicaux libres
- les deux

2. Origines du stress oxydant

Origines multiples :

- Intoxications aux métaux lourds (mercure, plomb, cadmium)
- Irradiations (UV, rayons X...)
- Phénomènes d'ischémies/reperfusions (thromboses, exercice)
- Carences nutritionnelles (vitamines, oligo-éléments)
- Anomalies génétiques (mauvais codage pour une protéine)

Localisé:

- Niveau tissulaire
- Type cellulaire précis
- Pas au niveau de l'organisme entier

3. Les espèces oxygénées activées

3. Les espèces oxygénées activées

Origines variées :

- R.L: dérivés de l'oxygène ou de l'azote
- EOA: requiert la présence de métaux de transition

Les différents radicaux:

- Anion superoxyde ($O_2^{\circ-}$)
- Radical hydroxyle (OH°)
- Monoxyde d'azote (NO°)
- Radical peroxyde (ROO°)
- Radical alkoxyde (RO°)

Radicaux libres primaires

3. Les espèces oxygénées activées

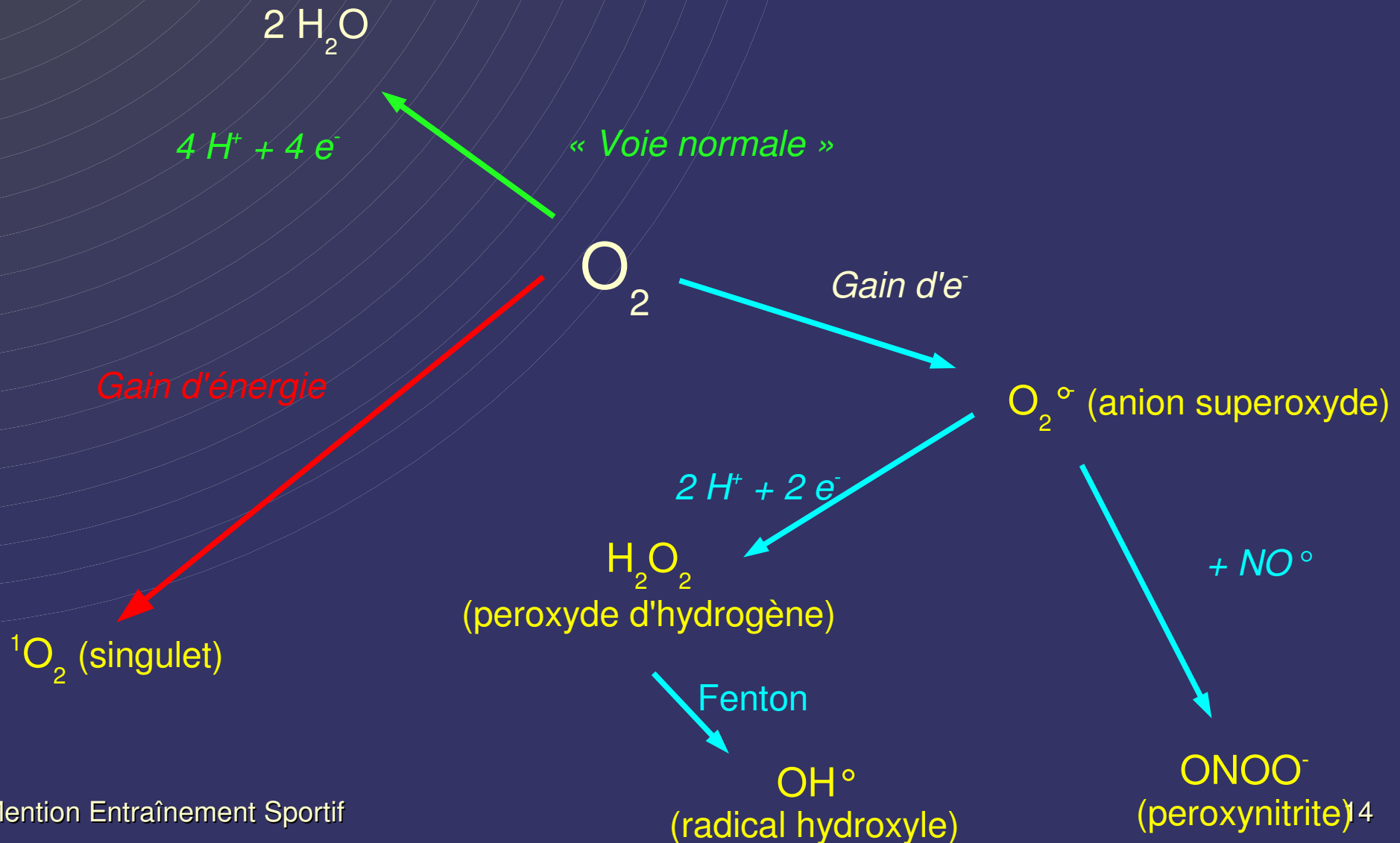
Dérivés oxygénés non radicalaires:

- Oxygène singulet ($^1\text{O}_2$)
- Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)
- Nitroperoxyde (ONOOH)
- Peroxynitrite (ONOO^-)

Toxicité importante

3. Les espèces oxygénées activées

Formation des espèces oxygénées



3. Les espèces oxygénées activées

Production des espèces oxygénées

Mécanismes enzymatiques

- Mitochondries (chaîne respiratoire)
- Cellules phagocytaires (macrophages et polynucléaire)

($\text{NADPH} \rightarrow \text{O}_2^\circ$: « burst oxydatif »)

- Réticulum endoplasmique (détoxification via cyt. P450)
- Xanthine oxydase (catabolisme $\text{ATP} \rightarrow \text{O}_2^\circ$)
- Ions métalliques (Fe, Cu): $\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{OH}^\circ$

(séquestrés dans des protéines spécialisées)

3. Les espèces oxygénées activées

Production des espèces oxygénés

Mécanismes non enzymatiques:

- Auto-oxydation des catécholamines, quinones, flavines
(O_2°)
- Facteurs environnementaux (UV, ultra-sons, radiations ionisantes, catalyseur métalliques)
- Alcool, tabac, médicaments
- Phénomènes d'ischémie-reperfusion

4. Conséquences du Stress Oxydant

4. Conséquences du Stress Oxydant

- Implications dans de nombreuses pathologies
- EOA réagissent avec toute une série de substrats biologiques
 - Les protéines
 - Les lipides
 - L'ADN
 - Les sucres

4. Conséquences du Stress Oxydant

Maladies liées au stress oxydant

Principalement liées à l'âge et au vieillissement:

- Diminution antioxydants
- Augmentation de la production de radicaux libres

Cause initiale:

cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aigu, oedème pulmonaire...

Aggravation du processus initial (Potentialisation):

maladies cardiovasculaires, diabète, alzheimer, rhumatismes...

4. Conséquences du Stress Oxydant

Maladies liées au stress oxydant

Exemple: le SIDA

- processus initial: infection virale
- virus induit un stress oxydant (réprime le gène de la SOD de Gpx)
- facilite la mort des lymphocytes T par apoptose

4. Conséquences du Stress Oxydant

Les protéines

- Dénaturation (introduction d'un groupement carbonyle C=O)
- Fragmentation

➡ Perte de la fonction catalytique ou structurale

Les sucres

En présence de traces métalliques:

Oxydation du glucose avec libération de H_2O_2 et OH°

4. Conséquences du Stress Oxydant

L'ADN

- Coupures et mort cellulaire
- Mutations carcinogènes

Cassures et mutations

Si anomalie des « réparations »:

erreurs de transcription

erreurs de synthèse (mutation ponctuelle)

erreurs de réplication (conduit à l'apoptose)

4. Conséquences du Stress Oxydant

Les lipides

Peroxydation lipidique

Mécanisme en chaîne de dégradation des acides gras membranaires conduisant à la formation d'hydroperoxydes (ROOH) instables, responsables de la diminution de la fluidité membranaire

(ac.gras polyinsaturés de lipoprotéines ou de la membrane cellulaire)

- Altération du fonctionnement des membranes
- Dépôts de lipides oxydés dans les vaisseaux ou les tissus âgés
- Genèse de dérivés carcinogènes

5. « Utilité » des radicaux libres

5. « Utilité » des radicaux libres

« Un paradoxe »

Les R.L de l'oxygène ou de l'azote
pas uniquement toxiques:

- produits par divers mécanismes physiologiques
- régulation des fonctions cellulaires



« Gestion » des situations de stress
contrôle du niveau de prooxydants

5. « Utilité » des radicaux libres

- Immunité
 - Phagocytose (« burst oxydatif »)
 - activation de gènes impliqués dans la réponse immunitaire
- Fonctionnement de certaines enzymes et neurones
- Transduction de signaux cellulaires (messagers cellulaires induisant une réponse au stress : T°, UV).

5. « Utilité » des radicaux libres

- Apoptose
- Prolifération cellulaire
- Cycle et différenciation cellulaire
- Dilatation capillaire (NO, CO)
- Fécondation de l'ovule
- Régulation des gènes (induction de gènes antioxydant : SOD-Mn, Catalase, Ferritine, HO)

6. Les antioxydants

6. Les antioxydants

Neutralisation d'un oxydant (composé réducteur)

2 systèmes de défense:

- Enzymatique
- Non enzymatique



Empêcher la formation des R.L

Élimination des R.L

« Réparations tissulaires et cellulaires »

6. Les antioxydants

Les systèmes de défense enzymatiques

- Superoxyde dismutase (SOD)
- Catalase
- Glutathion peroxydase (Gpx)



anion superoxyde (O_2^\ominus)
peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)



radical hydroxyle (OH^\ominus)
oxygène singulet (1O_2)
radicaux hydroperoxydes (ROO^\ominus)

6. Les antioxydants

Les systèmes de défense enzymatiques

Superoxyde dismutase (SOD)

- Co-facteur métallique (Cu, Zn, Mn)
- Localisée dans le cytosol et mitochondries (Cu et Zn-SOD et Mn-SOD)
- Catalyse la dismutation de l'anion superoxyde ($O_2^{\circ-}$)



6. Les antioxydants

Les systèmes de défense enzymatiques

Catalase

- Localisée dans les peroxysomes (myocarde)
- Elimination du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)



6. Les antioxydants

Les systèmes de défense enzymatiques

Glutathion peroxydase (Gpx)

- Co-facteur (sélénium)
- Localisée dans le cytosol et la matrice mitochondriale
- Dégradation des peroxydes organiques et du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)



GSH: γ -glutamyl-cystéinnyl-glycine

GSSG: = 2GSH reliées par un pont disulfure (S-S)

6. Les antioxydants

Les systèmes de défense non enzymatiques

- Vitamines (C, E)
- Oligo-éléments (Se, Cu, Zn)
- Acide urique (métabolisme des purines)
- Composés à groupement thiol (-SH)

6. Les antioxydants

Importance de l'alimentation

- Fourniture de molécules antioxydantes (non synthétisées)
- Fraction non énergétique



Fruits et Légumes

- Minéraux
- Oligo-éléments
- Vitamines (C, E, A): effets synergiques
- Polyphénols
flavonoïdes (oignons, ail, agrumes, citron)
tanins (thé, vin, raisin)

6. Les antioxydants

Etude SU.VI.MAX

Fruits et légumes / effets sur la cancerogenèse

- Supplémentation en vitamines et minéraux antioxydant (équivalent à l'apport d'une « alimentation saine »)
- 13000 personnes (35-65 ans)
- Risque de cancer et mortalité diminués de 30% chez l'homme
- Pas d'effet chez la femme (hyp. Hygiène de vie)

6. Les antioxydants

Les vitamines

- Captent l'électron libre du R.L qui devient une molécule ou un ion stable
- La vitamine devient un radical détruit ou régénéré

α -tocophérol (vitamine E)

- antioxydant très puissant
- inhibition peroxydation lipidique (stoppe la propagation radicalaire: cède un e^-)



6. Les antioxydants

Acide ascorbique (vitamine C)

- antioxydant très puissant (capte O_2° et OH°)
- inhibition peroxydation lipidique
- Régénération vitamine E



6. Les antioxydants

Les oligo-éléments

- Sélénium (Se): co-facteur de la Gpx
- Cuivre (Cu): co-facteur de la SOD / métal de transition ($\uparrow = S.O$)
- Zinc (Zn): co-facteur de la SOD
 - induction de protéines antioxydantes
 - protection des groupements thiols (-SH) des protéines
 - inhibition partielle de la formation des EOA (induites par Fe et Cu)

6. Les antioxydants

Acide urique et groupements thiols

- Acide urique (métabolisme des purines): réagit avec le radical hydroxyle (OH^\bullet)
- Groupements thiol (-SH): réagissent avec les EOA

7. Stress Oxydant et Exercice

Exercice ~ stress:

- Conséquences métaboliques (atteintes des structures cellulaires)
- Production de R.L et élévation T° → lésions tissulaires

Production accrue de R.L lors d'un exercice d'intensité élevée

- Augmentation VO_2
- Hyperthermie
- Ischémie-reperfusion locale
- oxydation spontanée de l'épinéphrine, des catécholamines ou de l'acide lactique



Production R.L x 10

7. Stress Oxydant et Exercice

Dillard et coll. 1978

Elimination du pentane: 80% d'accroissement à 75% VO_2max

Alessio 1993

Production de R.L proportionnelle à l'I d'exercice

Jackson 1998

Formation R.L > contractions isométriques et concentriques vs
excentrique (consommation en O_2 inf.)

7. Stress Oxydant et Exercice

Origine des R.L formés à l'exercice

- mitochondrie musculaire (2 à 5% synthétisé en anion superoxyde)
- xanthine oxydase (musculaire et hépatique)
- cellules phagocytaires (macrophages, neutrophiles)
- protéines ferriques (microlésions des fibres musculaires)

7. Stress Oxydant et Exercice

Mécanismes de défense: la SOD

Animal

- + 50% SOD à l'exercice dans muscle, foie, coeur, poumons, erythrocytes (Li 1998; Radak et coll. 2000)
- Perdre 2-3 jours

Homme

- Activité de la SOD proportionnelle à $VO_2\text{max}$ (Jenkis; Frieland et Howald 1984)
- Activité augmente dans les 3 jours post (exercice 45' à 70% $VO_2\text{max}$) (Khassaf et coll. 2001)

7. Stress Oxydant et Exercice

Mécanismes de défense: la catalase

Pas d'effets (production dans les peroxysomes)

Animal

Mécanismes de défense: la Gpx

Animal

Résultats controversés

Homme

Augmentation de l'activité de la Gpx (Evelo et coll. 1992)

7. Stress Oxydant et Exercice

Autres mécanismes de défense:

- Augmentation temporaire vitamine E

Exercice excentrique ou premières minutes d'un semi-marathon

(Pincemail et al., Eur J Appl Physiol, 1988:57:189-191; Gohil et al., J Appl Physiol 1988:64:115-9).

7. Stress Oxydant et Exercice

Intérêt d'une supplémentation ?:

	norme	Placebo		Antioxydants	
		avant	après	avant	après
Vitamine C (µg/mL)	6,21–15,18	10,42±3,54	7,36±4,42	9,98±1,89	9,43±1,69
Vitamine E (µg/mL)	8 – 15	9,51±1,59	7,55±0,13	9,20±2,75	9,00±3,73
Sélénium (µg/mL)	94 – 130	105,25±7,8	95,25±4,79	106,40±10,11	114,0±9,63
SOD (UI/g Hb)	785 – 1570	611±25	738±82	649±86	806±88
Gpx (UI/g Hb)	30 – 55	71,2±20,2	88,5±28,7	77±13,04	94,00±15,00
Peroxydes lipidiques (µg/mL)		273,3±53,6	476,3±251,0	206,8±34,02	237,00±54,96

Exemple d'une randonnée de 20 jours dans l'himalaya: groupe placebo vs apport complémentaire en antioxydants (vitamine C, E, A; sélénium, zinc)

Conclusion

- Production de R.L continue
- Phénomènes potentiellement délétères
- Existences de mécanismes de « défenses »
- Contrôle de la propagation (équilibre)
- Déséquilibre: atteintes cellulaires et maladies