

# Physiopathologie du Stress Oxydant

Josiane Cillard

Faculté de Pharmacie  
Université de Rennes

EA 1274 « Mouvement-Sport-Santé »

QuickTime™ et un  
décompresseur TIFF (non compressé)  
sont requis pour visionner cette image.



# **le Stress Oxydant : Origine et Définition**

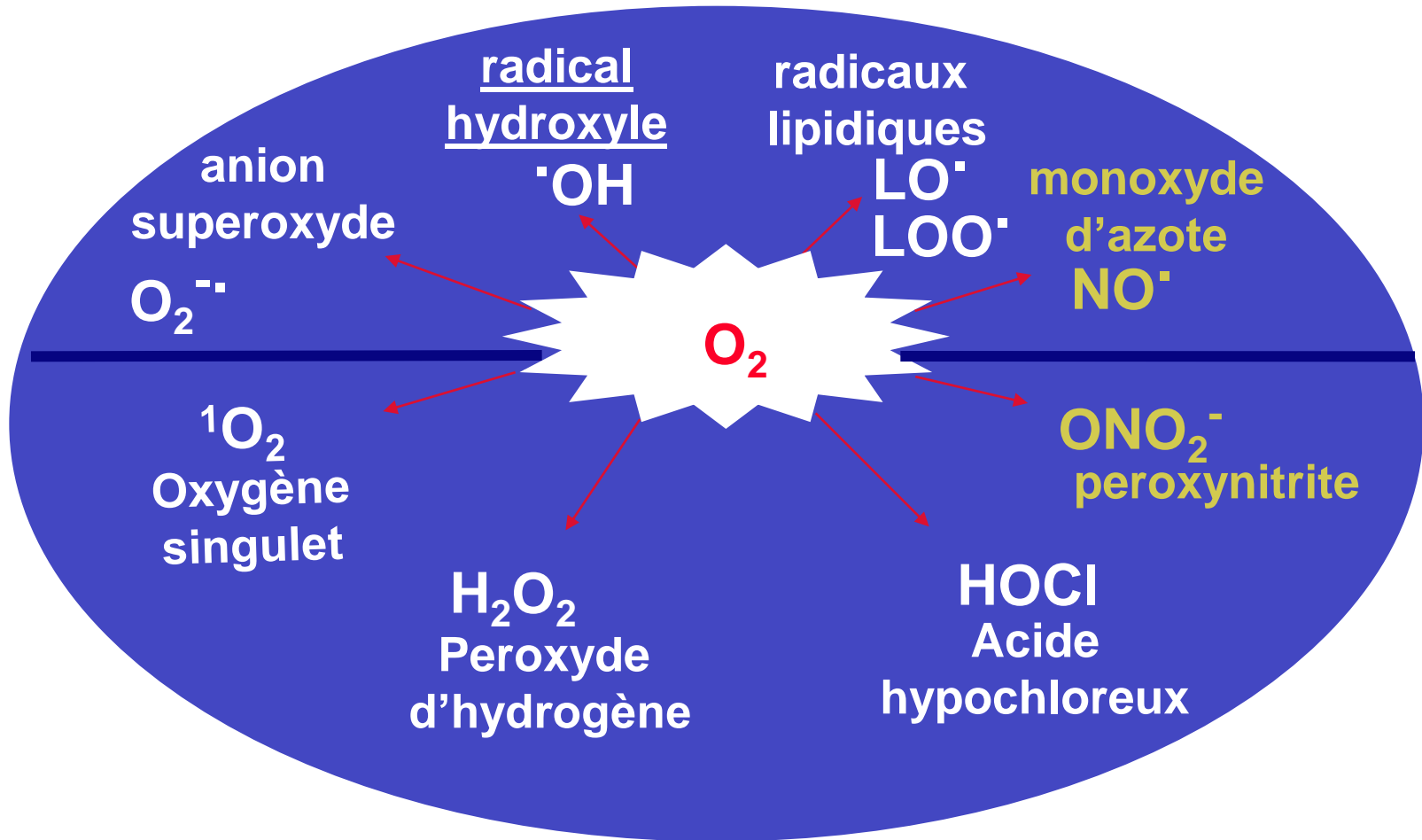
## Que se passe t-il au sein de nos cellules ?

 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 ?

# Les acteurs du Stress Oxydant: Les Espèces Réactives de l'Oxygène et de l'Azote

## ESPECES RADICALAIRES



## ESPECES NON RADICALAIRES

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

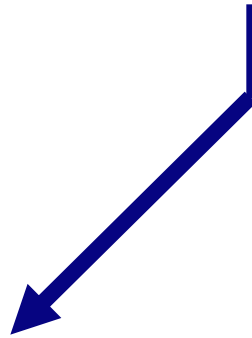


**Toutes les cellules aérobies produisent en permanence des espèces réactives de l'oxygène qui sont neutralisées immédiatement par les antioxydants**

**→ Quelle sont ces espèces réactives ?**

**→ Quelle est l'origine de ces EROs ?**

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

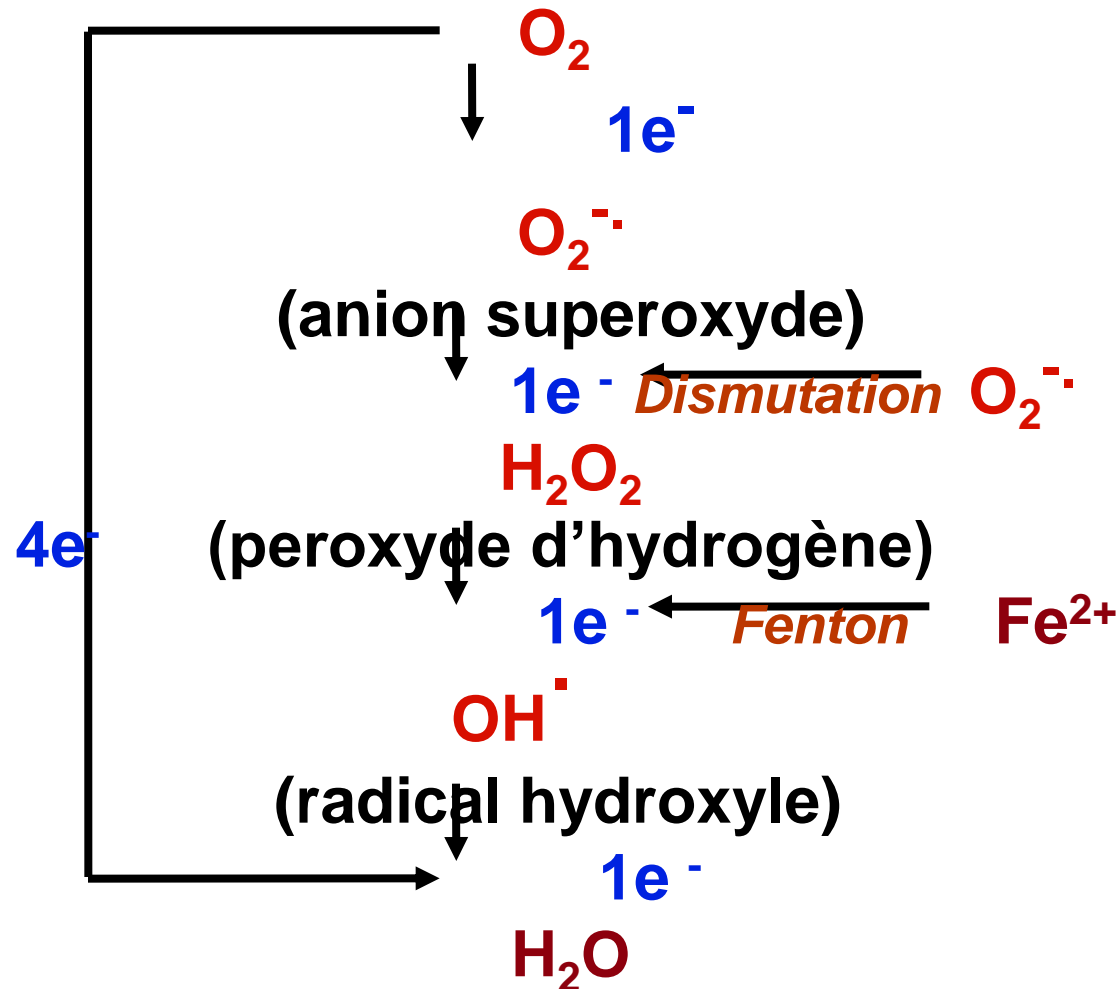


**Transfert d'électrons**

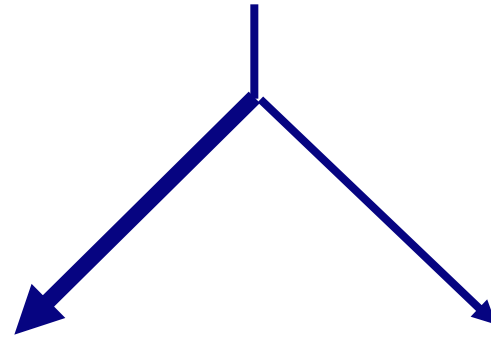


*Lié au métabolisme cellulaire*

# Principe : la formation des Espèces Réactives résulte d'une réduction progressive de l'oxygène



# 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*



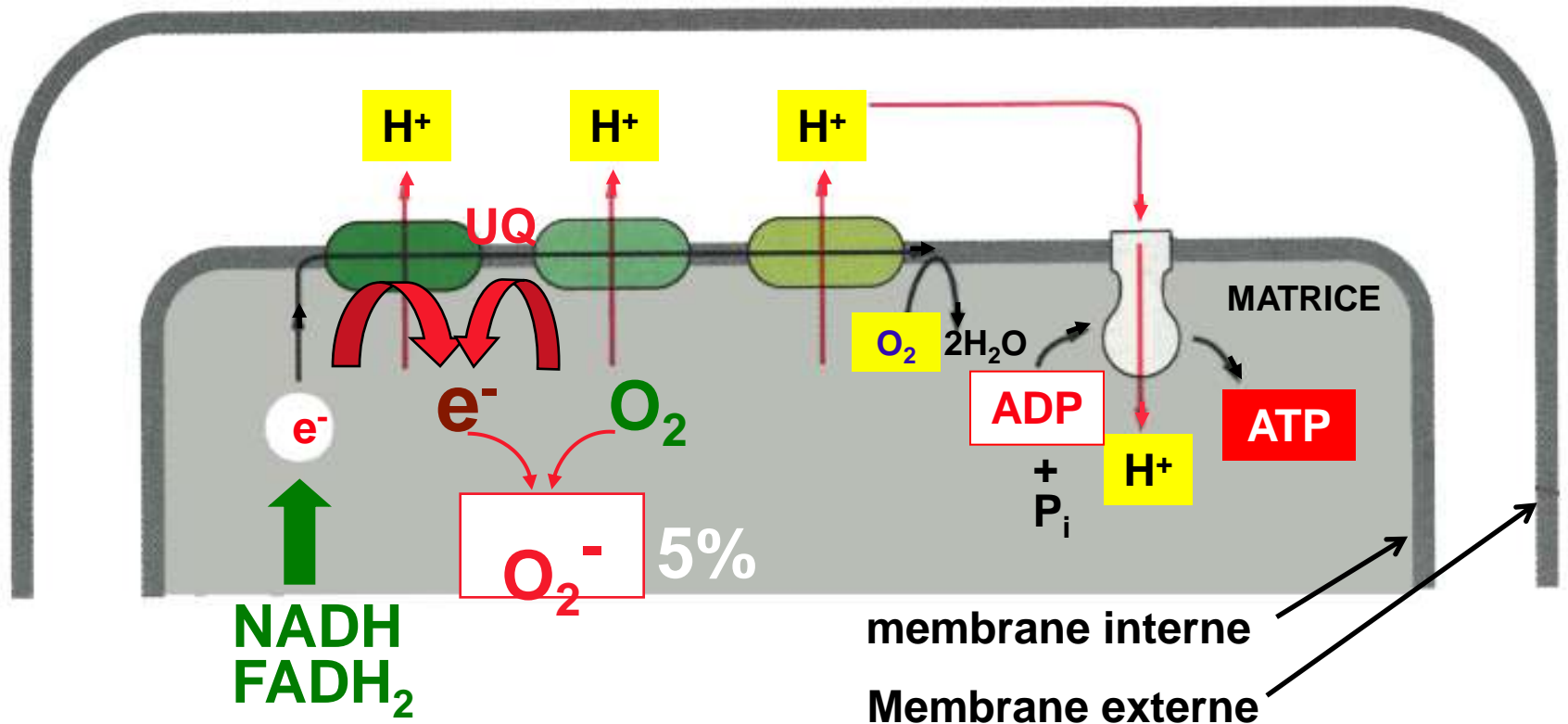
# Production des Espèces Réactives de l'Oxygène et de l'Azote au cours du métabolisme

EROs sont des produits 2aires du métabolisme

**Mitochondrie**  
*(respiration cellulaire)*



# Fuites d'électrons au cours de la respiration cellulaire



# Production des Espèces Réactives de l'Oxygène et de l'Azote au cours du métabolisme

EROs sont des produits 2aires du métabolisme

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

**Mitochondrie**  
(*respiration cellulaire*)

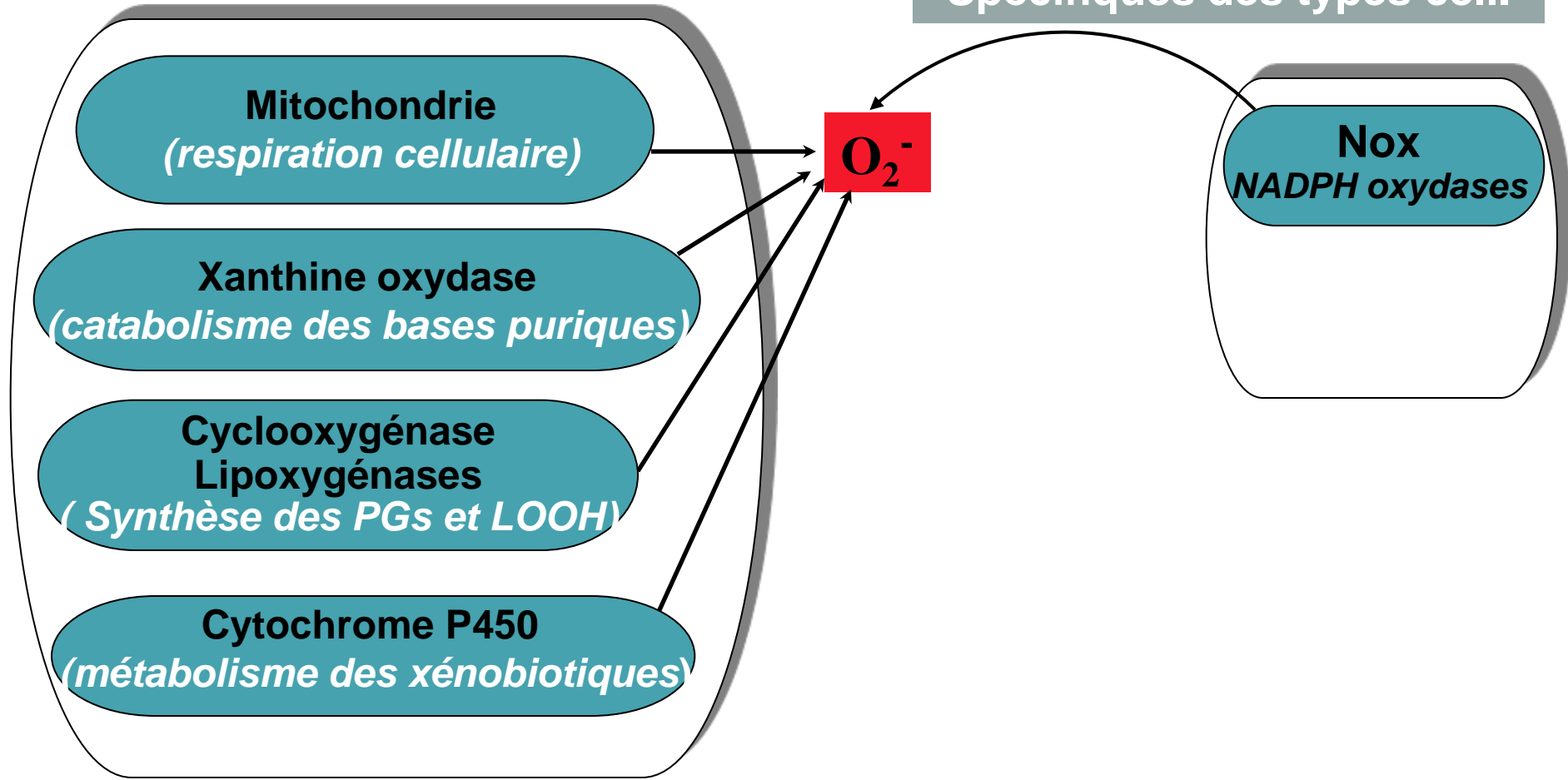
**Xanthine oxydase**  
(*catabolisme des bases puriques*)

**Cyclooxygénase  
Lipoxygénases**  
(*Synthèse des PGs et LOOH*)

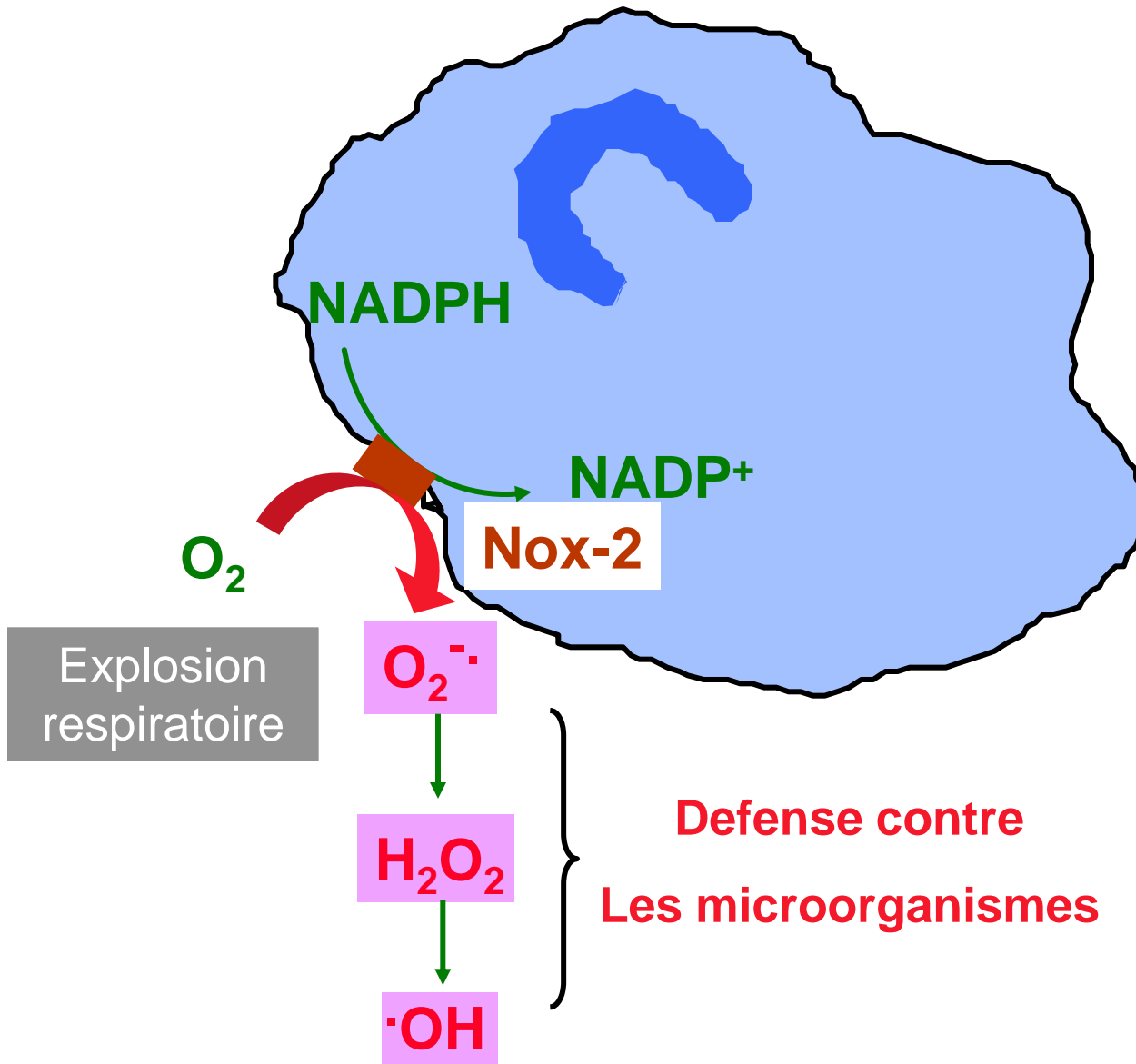
**Cytochrome P450**  
(*métabolisme des xénobiotiques*)



**Nox**  
*NADPH oxydases*



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



# Les principales Nox et physiopathologies

Types de Nox	Distribution	Fonctions	Physiopathologies
<b>Nox-2</b>	Phagocytes Cell endothéliales Cardiomyocytes Muscle squelettique Fibroblastes Microglie, neurones	Défense	Granulomatose Maladies Cardio- Vasc Neurodégénérescence Angiogénèse Carcinome prostatique
<b>Nox-1</b>	Cell. Muscle lisse Cell épithéliales	Défense Différentiation	Athérogénèse Maladies Cardio-Vasc
<b>Nox-3</b>	Oreille interne	Sénescence	Octoconies
<b>Nox-4</b> <b>Constitutive</b>	Cell. Muscle lisse Cell endothéliales Fibroblastes	Signalisation cellulaire Apoptose	Athérogénèse Maladies Cardio- Vasc Neurodégénérescence Angiogénèse, Diabète
<b>Nox-5</b>	Macrophages Lymphocytes	Différentiation	Infertilité masculine
<b>Duox-1 et 2</b> Produisent H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Cell épithéliales (thyroïde, poumon)	Défense Hormone thyroïde	Hypothyroïdisme

# Production des Espèces Réactives de l'Oxygène et de l'Azote au cours du métabolisme

EROs sont des produits 2aires du métabolisme

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

**Mitochondrie**  
(*respiration cellulaire*)

**Xanthine oxydase**  
(*catabolisme des bases puriques*)

**Cyclooxygénase**  
**Lipoxygénases**  
(*Synthèse des PGs et LOOH*)

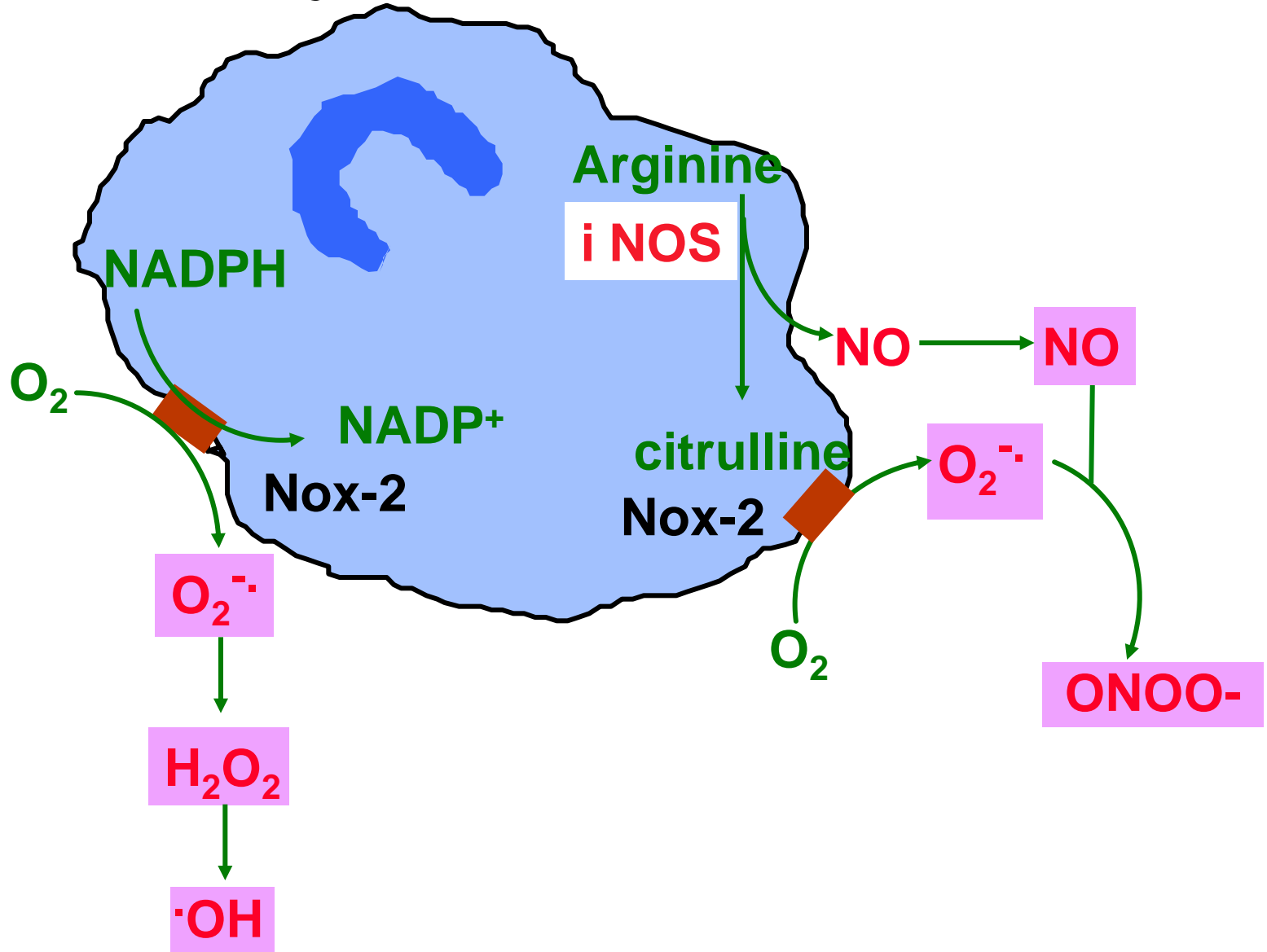
**Cytochrome P450**  
(*métabolisme des xénobiotiques*)



**Nox**  
*NADPH oxydases*

**NO synthases**

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



# Production des Espèces Réactives de l'Oxygène et de l'Azote au cours du métabolisme

EROs sont des produits 2aires du métabolisme

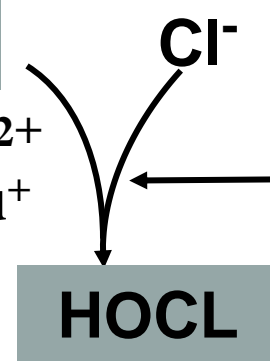
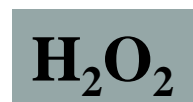
EROs et ERNs sont produits par des enzymes Spécifiques des types cell

**Mitochondrie**  
*(respiration cellulaire)*

**Xanthine oxydase**  
*(catabolisme des bases puriques)*

**Cyclooxygénase  
Lipoxygénases**  
*(Synthèse des PGs et LOOH)*

**Cytochrome P450**  
*(métabolisme des xénobiotiques)*



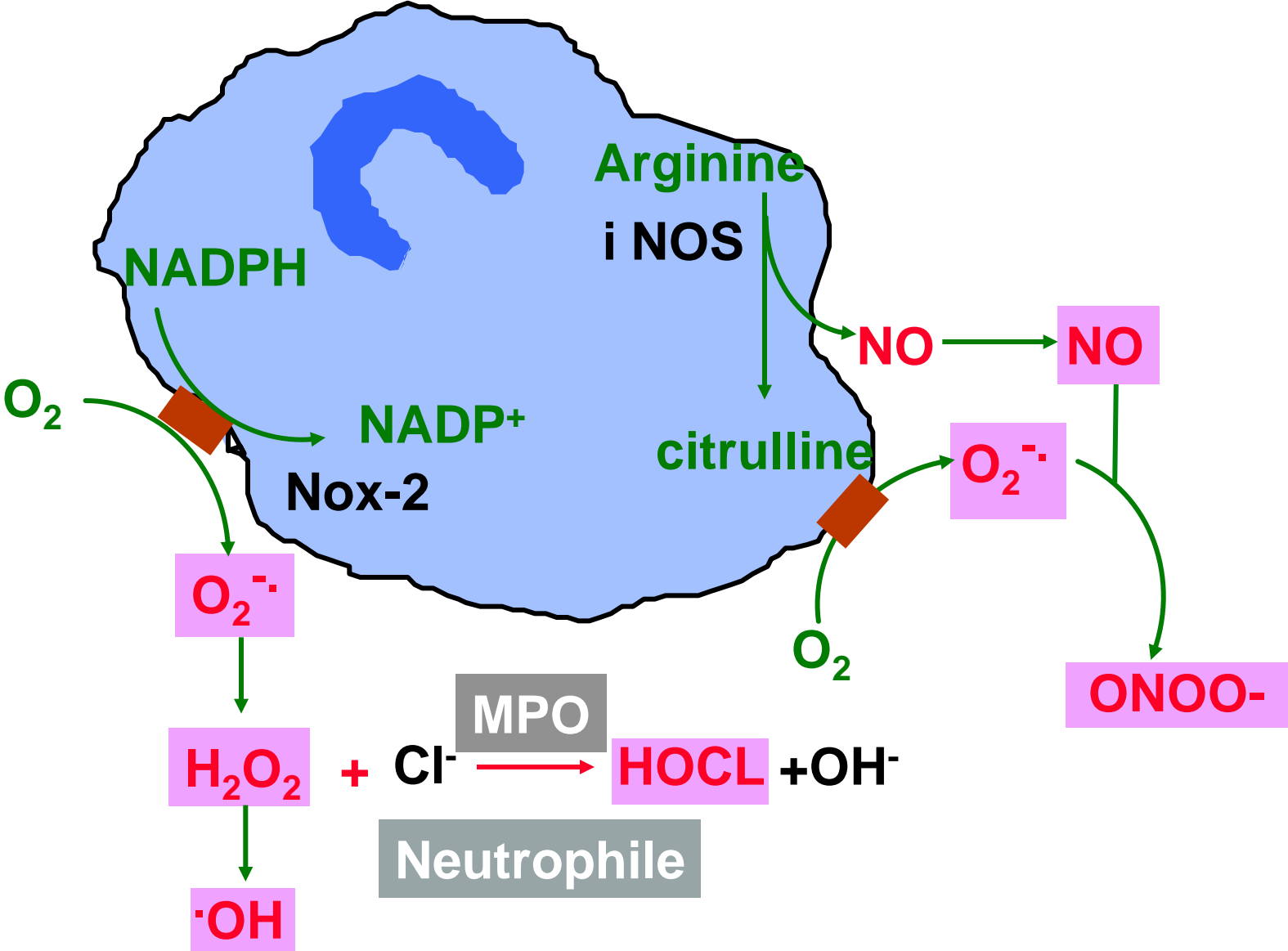
**Nox**  
*NADPH oxydases*

**NO synthases**

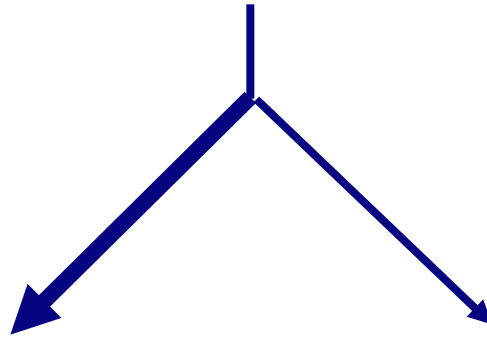
**Myélo peroxydase**



# La Myéloperoxydase des neutrophiles rôle majeur dans les défenses et l'inflammation



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



**Transfert d'électrons**



*Lié au métabolisme cellulaire*

**Scission homolytique  
des liaisons covalentes**



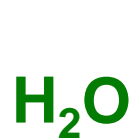
*Nécessite de l'énergie*



# Les radiations ionisantes



Radiolyse de l'eau



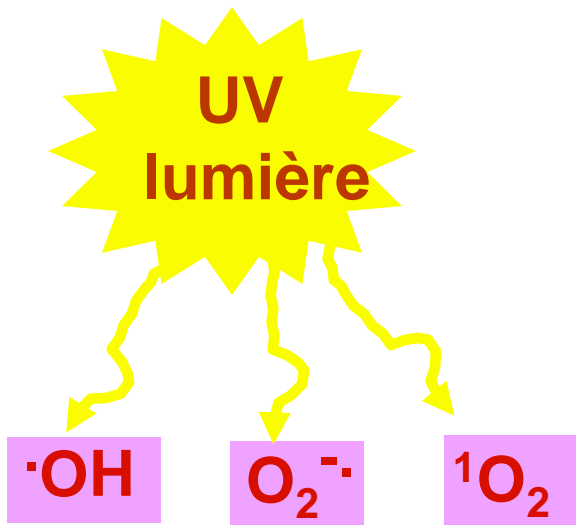
irradiation

ionisation

excitation



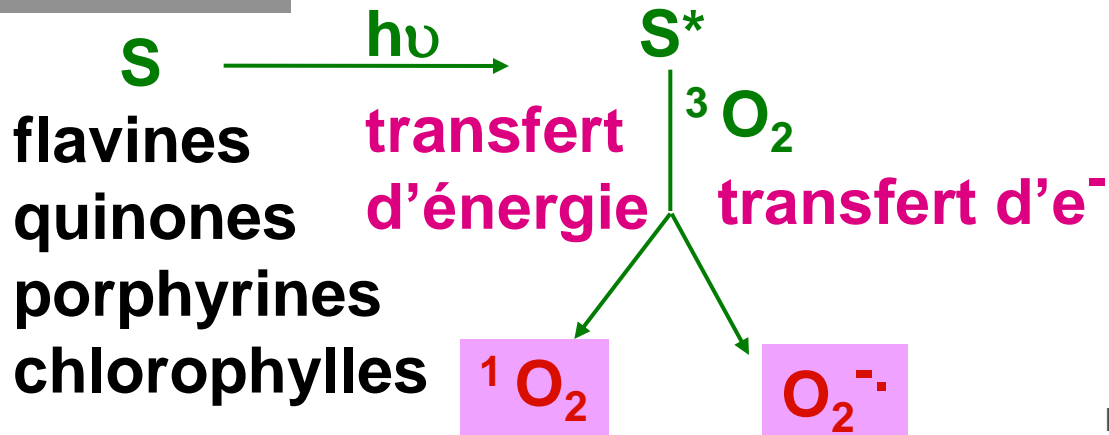
# La lumière



photolyse



photochimie



# LES SYSTEMES DE DEFENSE



# Enzymes de défense antioxydante

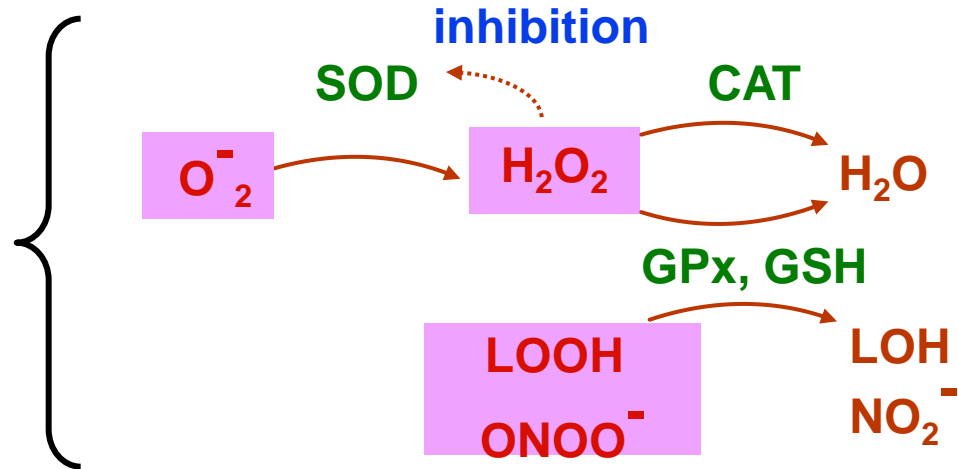
## Enzymes clés

*(Housekeeping enzymes)*

Superoxyde dismutases

Catalase

Glutathion peroxydases



# Autres protéines antioxydantes

## 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:  $Zn^+$ ,  $Cu^+$ ,  $Cd^+$ ,  $Hg^{2+}$

# Antioxydants de bas poids moléculaire

## Endogènes

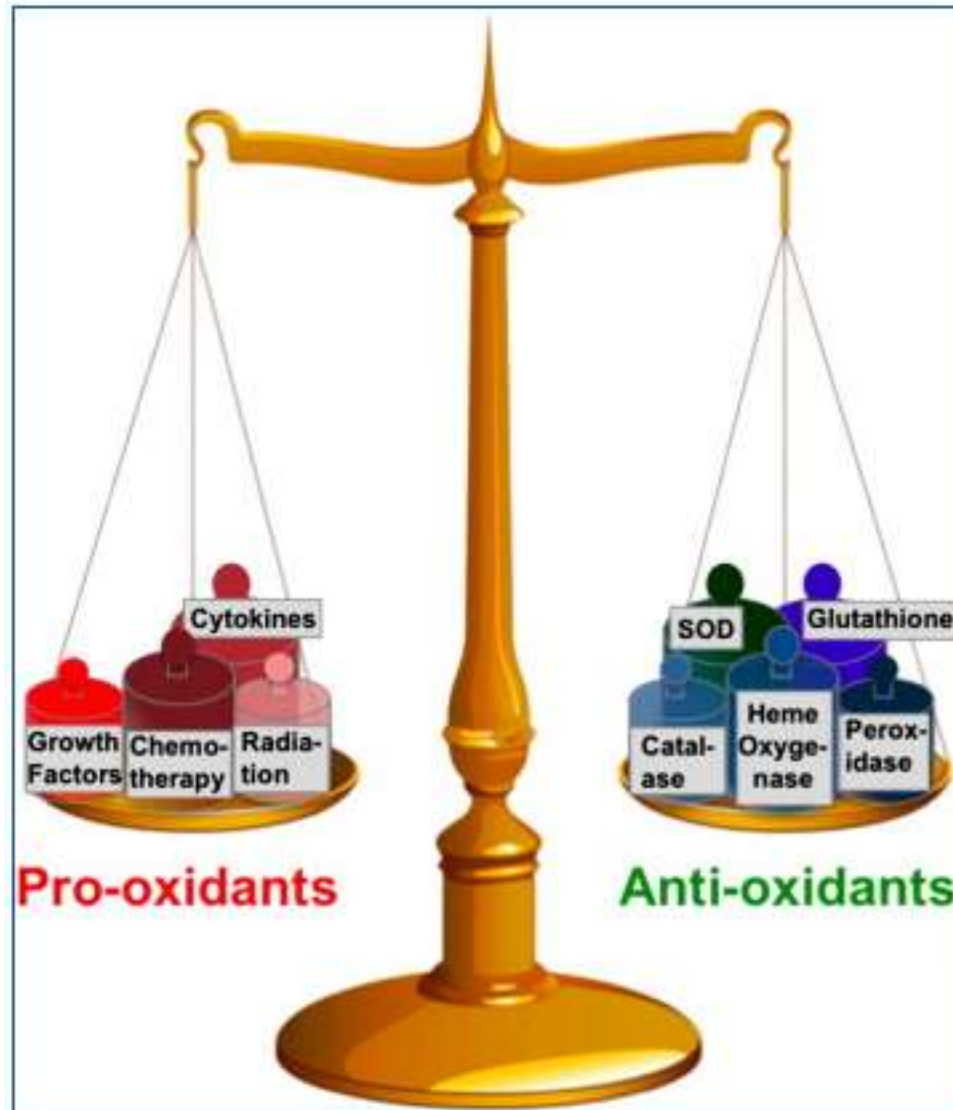
- glutathion ( ↑ synthèse par la N-acétyl cystéine)
- acide urique :  $^1\text{O}_2$ ,  $\text{LOO}^\circ$
- bilirubine :  $^1\text{O}_2$ ,  $\text{LOO}^\circ$
- acide lipoïque :  $\cdot\text{OH}$ ,  $\text{LOO}^\circ$ ,  $\text{HOCL}$ ,  $\text{ONOOH}$
- coenzyme  $\text{Q}_{10}$  :  $\text{LOO}^\circ$

## Apportés par l'alimentation

- vitamines E et C
- caroténoïdes
- polyphénols, flavonoïdes



**Dans les conditions physiologiques normales la balance oxydants/anti-oxydants est équilibrée**



# Facteurs augmentant la production ERO et ERN

## Facteurs environnementaux

Radiations  
Ionisantes, UV

Médicaments, Pesticides,  
Solvants industriels

Polluants  
atmosphér

Métaux lourds

infection

Surcharge  
Fe,Cu

Inflammation

Hyperglycémie  
Hyperlipidémie

Ischémie/  
reperfusion

↑  
ERO, ERN

## Facteurs endogènes

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



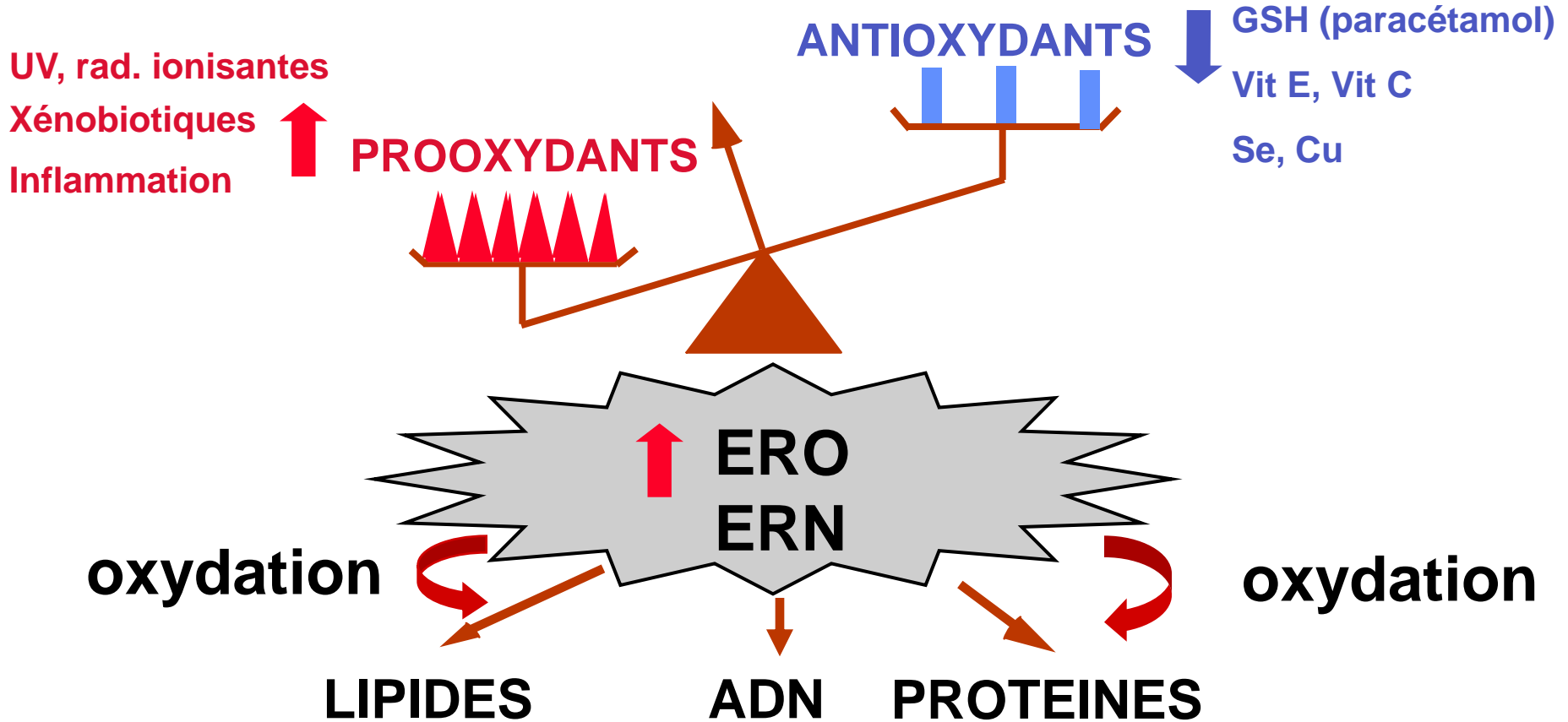
**Toutes les cellules aérobies produisent en permanence des espèces réactives de l'oxygène qui sont neutralisées immédiatement par les antioxydants**

**→ Quelle sont ces espèces réactives ?**

**→ Quelle est l'origine de ces EROs ?**

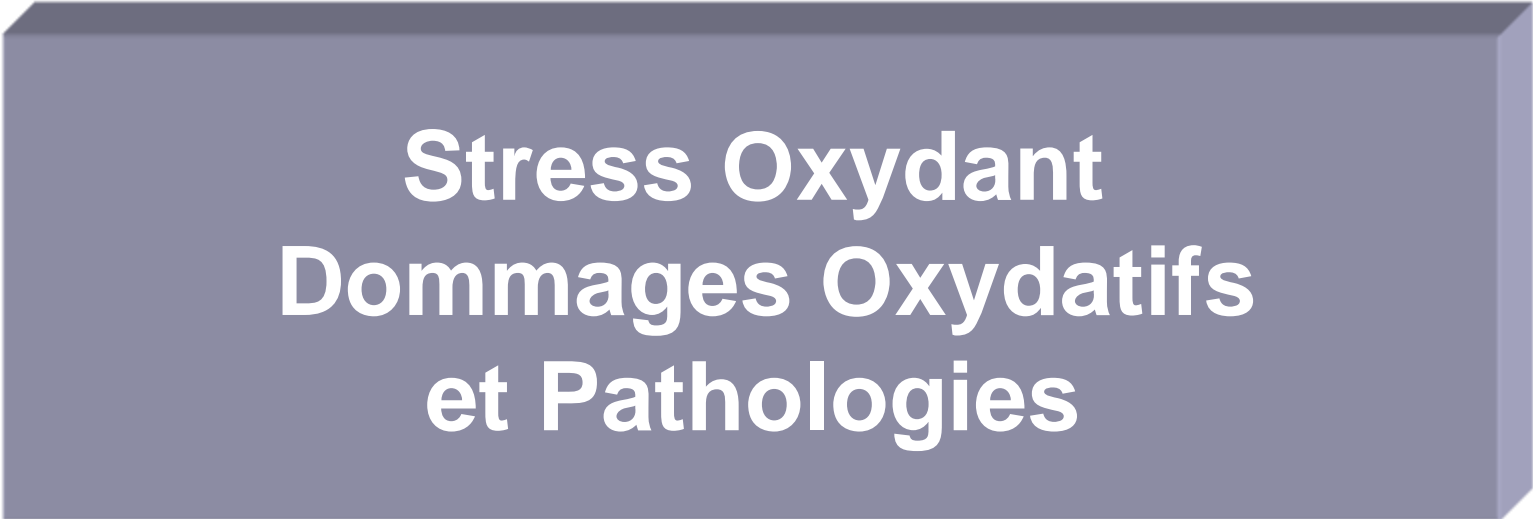
**→ Comment entraînent-elles un stress oxydant ?**

# STRESS OXYDANT



*Le stress oxydant est un déséquilibre de la balance prooxydants/antioxydants en faveur des premiers qui entraîne des **dommages oxydatifs** des biomolécules*

*Helmut Sies (1985)*



**Stress Oxydant  
Dommages Oxydatifs  
et Pathologies**

# ETATS PATHOLOGIQUES IMPLIQUANT LE STRESS OXYDANT

## Cause ou Conséquence

Pathologies chroniques	Pathologies aiguës
<ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Athérosclérose</b></li><li>• <b>Cancer</b></li><li>• <b>Diabète</b></li><li>• <b>Cataracte, DMLA</b></li><li>• <b>Maladie d'Alzheimer</b></li><li>• <b>Vieillessement</b></li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Lésions de reperfusion post-ischémique (infarctus, AVC, greffe d'organes)</b></li><li>• <b>Hyperoxygénation (O<sub>2</sub> hyperbare)</b></li><li>• <b>Choc septique</b></li><li>• <b>Inflammation</b></li></ul>

# Accumulation de produits de la peroxydation des lipides dans le cœur humain



Granules de lipofuscine dans le myocarde d'un homme de 80 ans  
(x12500) (J.F. MEAD, Free Radical in Biology, 1976, 1, 51-60)

# ETATS PATHOLOGIQUES IMPLIQUANT LE STRESS OXYDANT Cause ou Conséquence

Pathologies chroniques	Pathologies aiguës
<ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Athérosclérose</b></li><li>• <b>Cancer</b></li><li>• <b>Diabète</b></li><li>• <b>Cataracte, DMLA</b></li><li>• <b>Maladie d'Alzheimer</b></li><li>• <b>Vieillessement</b></li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• <b>Lésions de reperfusion post-ischémique (infarctus, AVC, greffe d'organes)</b></li><li>• <b>Hyperoxygénation (O<sub>2</sub> hyperbare)</b></li><li>• <b>Choc septique</b></li><li>• <b>Inflammation</b></li></ul>



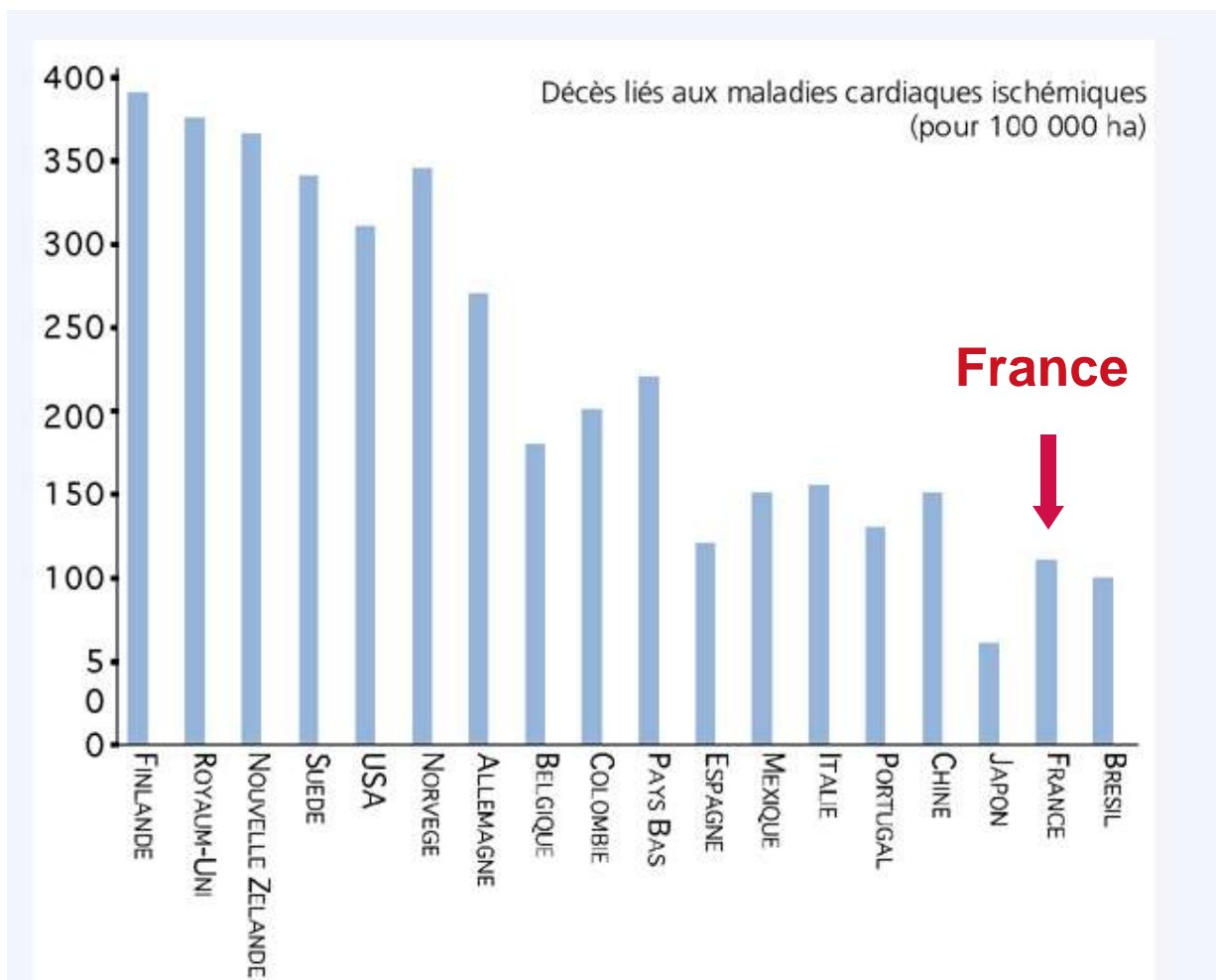
# Principales causes de décès dans le monde

Cause de décès :	Rang :		Progression :
	1990	2020	
<b>"Top 15" :</b>			
Ischémies cardiaques	1	1	0
Accidents Vasculocérébraux	2	2	0
Insuffisances respiratoires d'origine infectieuse	3	4	+1
Diarrhées	4	11	+7
Troubles périnataux	5	16	+11
Bronchopneumopathies chroniques obstructives	6	3	-3
Tuberculose	7	7	0
Rougeole	8	27	+19
Accidents de la route	9	6	-3
Cancers (trachée, bronches ou poumons)	10	5	-5
Malaria	11	29	+18
Mutilation volontaire	12	10	-2
Cirrhose du foie	13	12	-1
Cancer gastrique	14	8	-6
Diabète	15	19	+4
<b>Hors "Top 15" :</b>			
Violence	16	14	-2
Blessures de guerre	20	15	-5
Cancers du foie	21	13	-8
Sida	30	9	-21

→ 6. 10<sup>6</sup> décès /an

→ 4. 10<sup>6</sup> décès /an

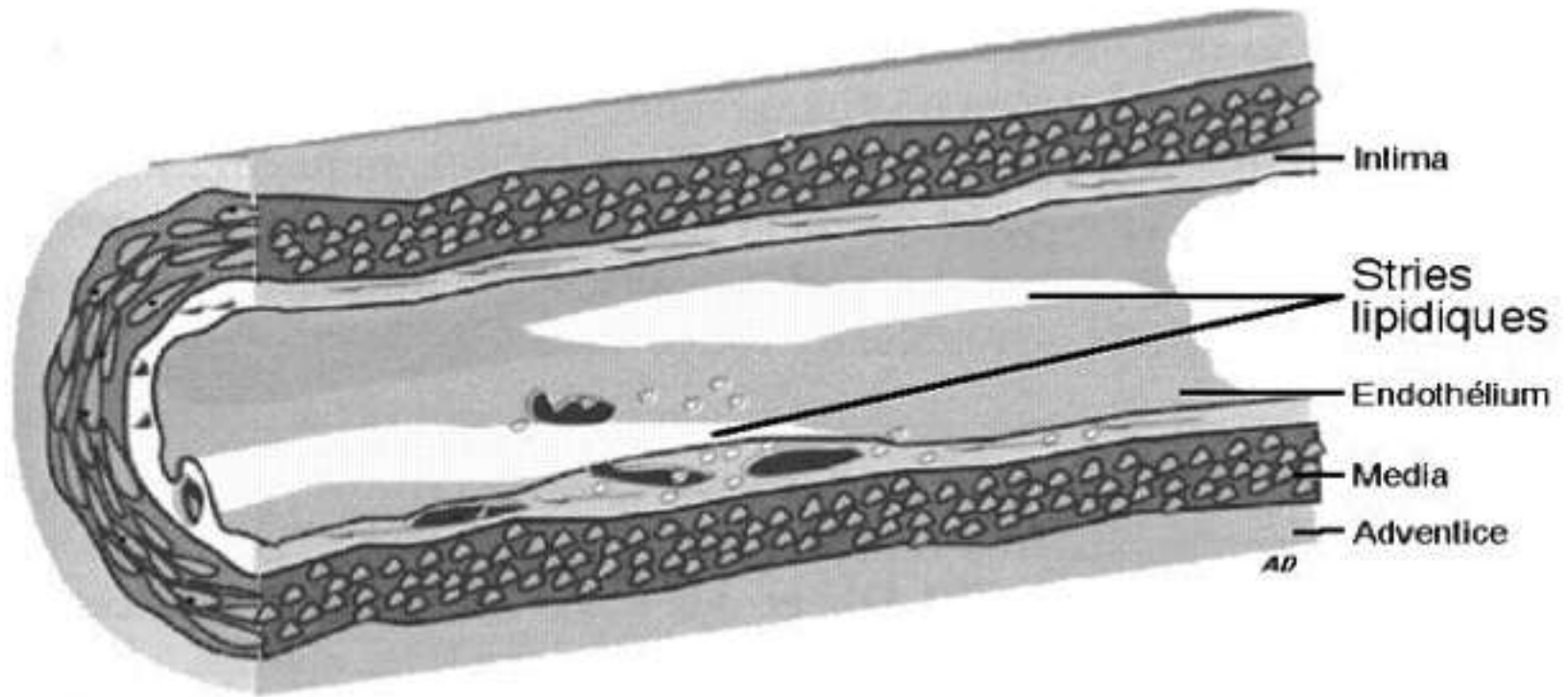
# Taux de mortalité lié aux pathologies cardiaques d'origine ischémique



# 1. Préathérome:

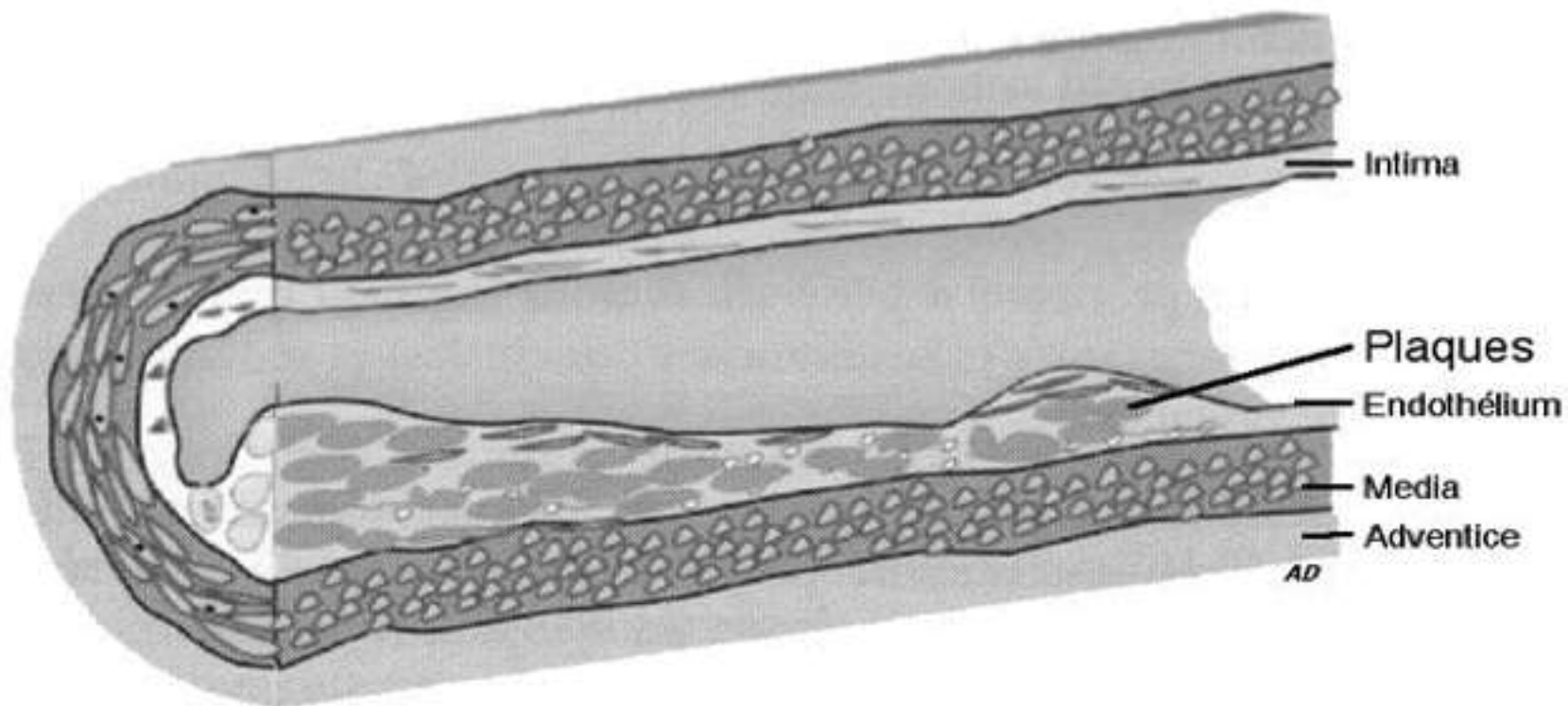
a- coussinet intimal

b- strie lipidique

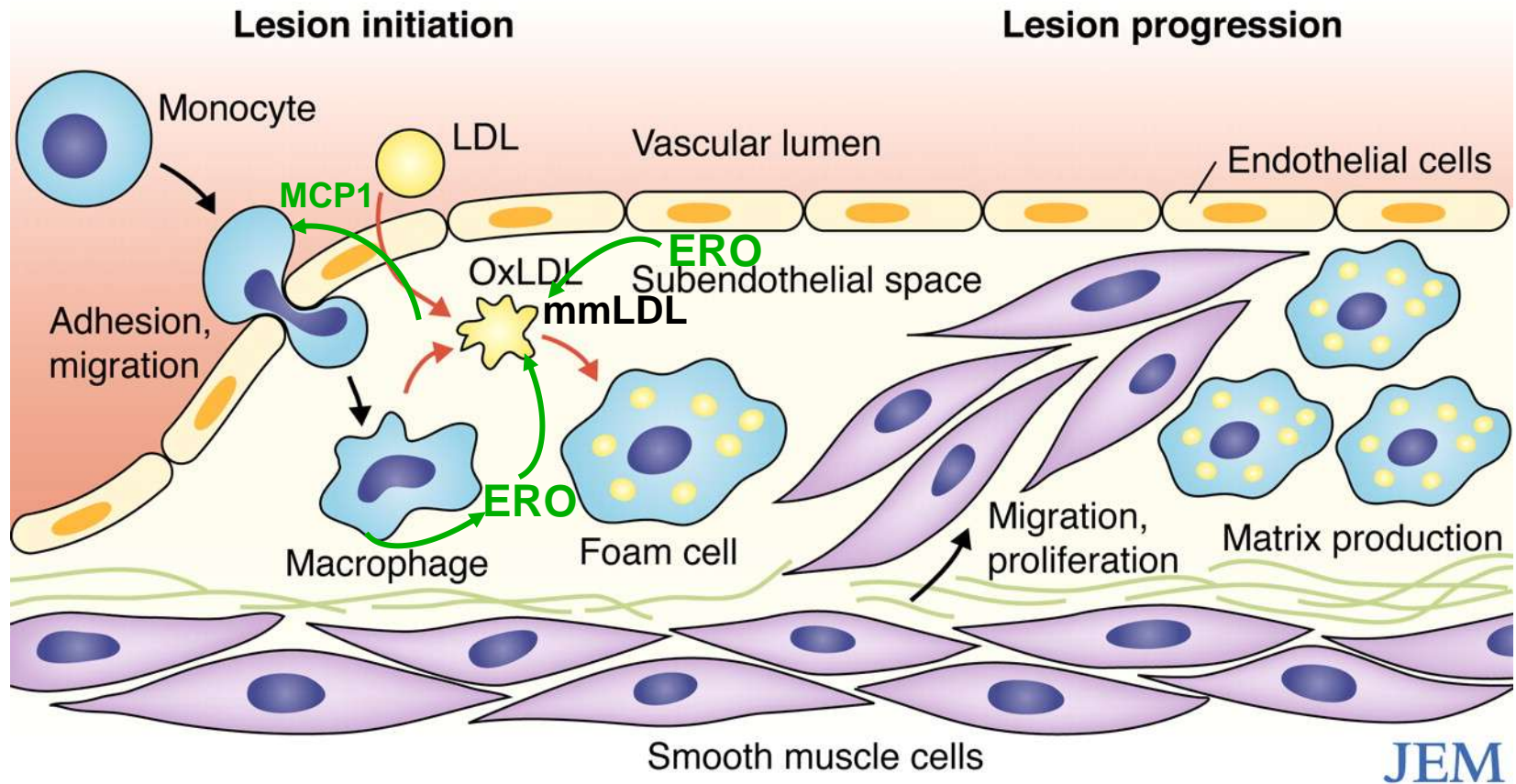


**strie lipidique apparaissant sous l'endothélium artériel**

## 2. Plaque fibreuse



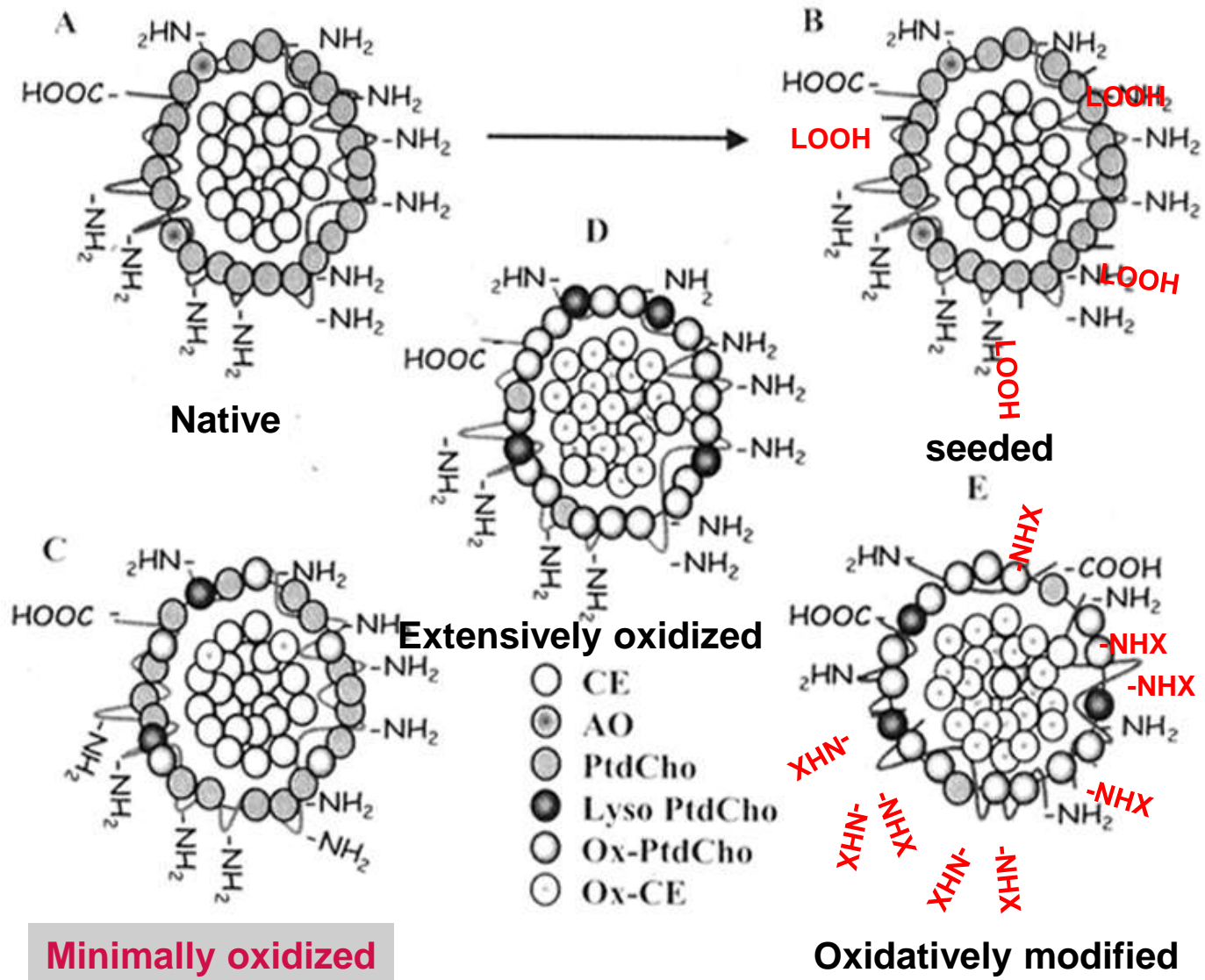
# Les oxydations des LDL sont à l'origine de l'initiation de l'athérosclérose



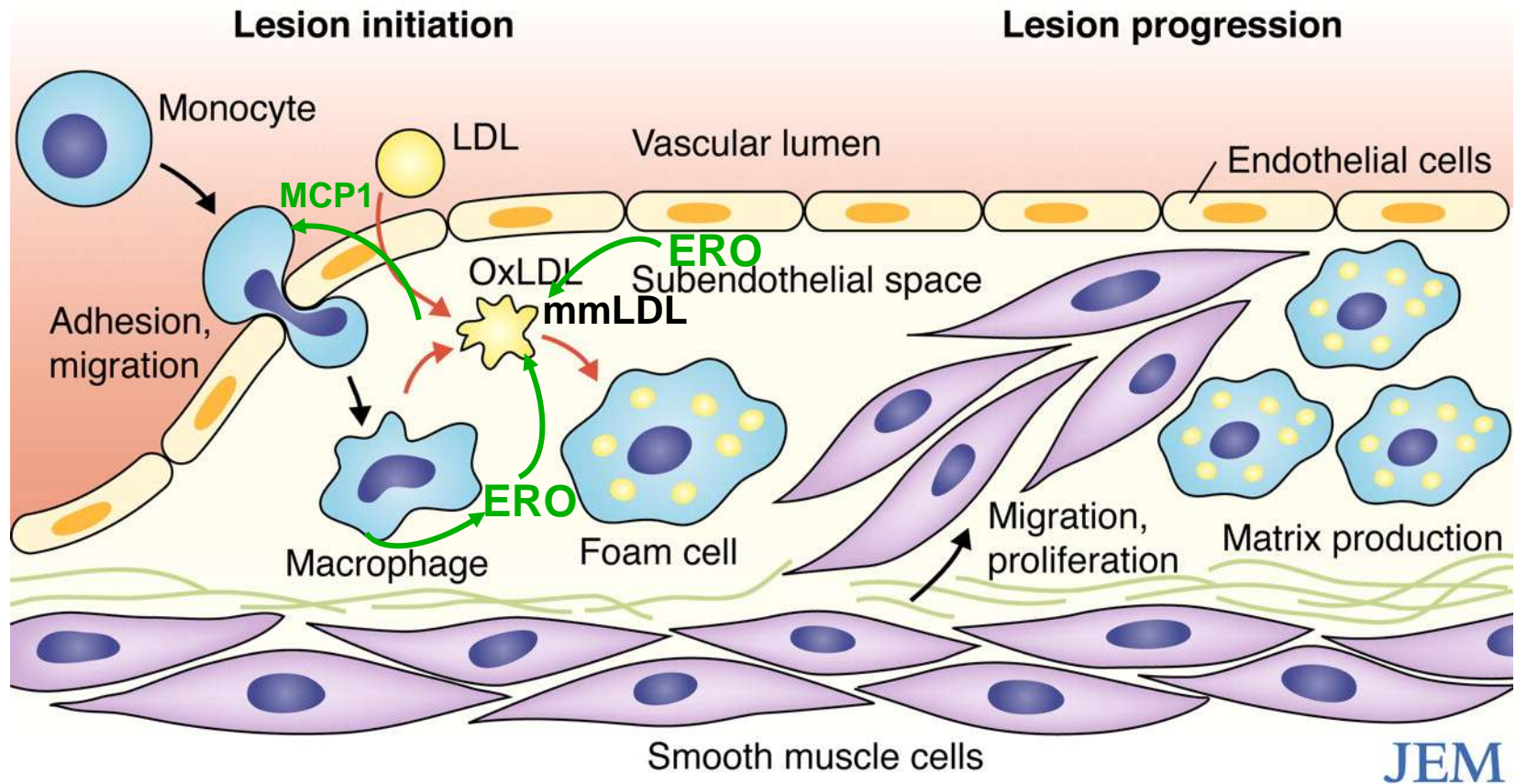
Heinecke J W J Exp Med 2006;203:813-816



# Différentes formes de LDL oxydées



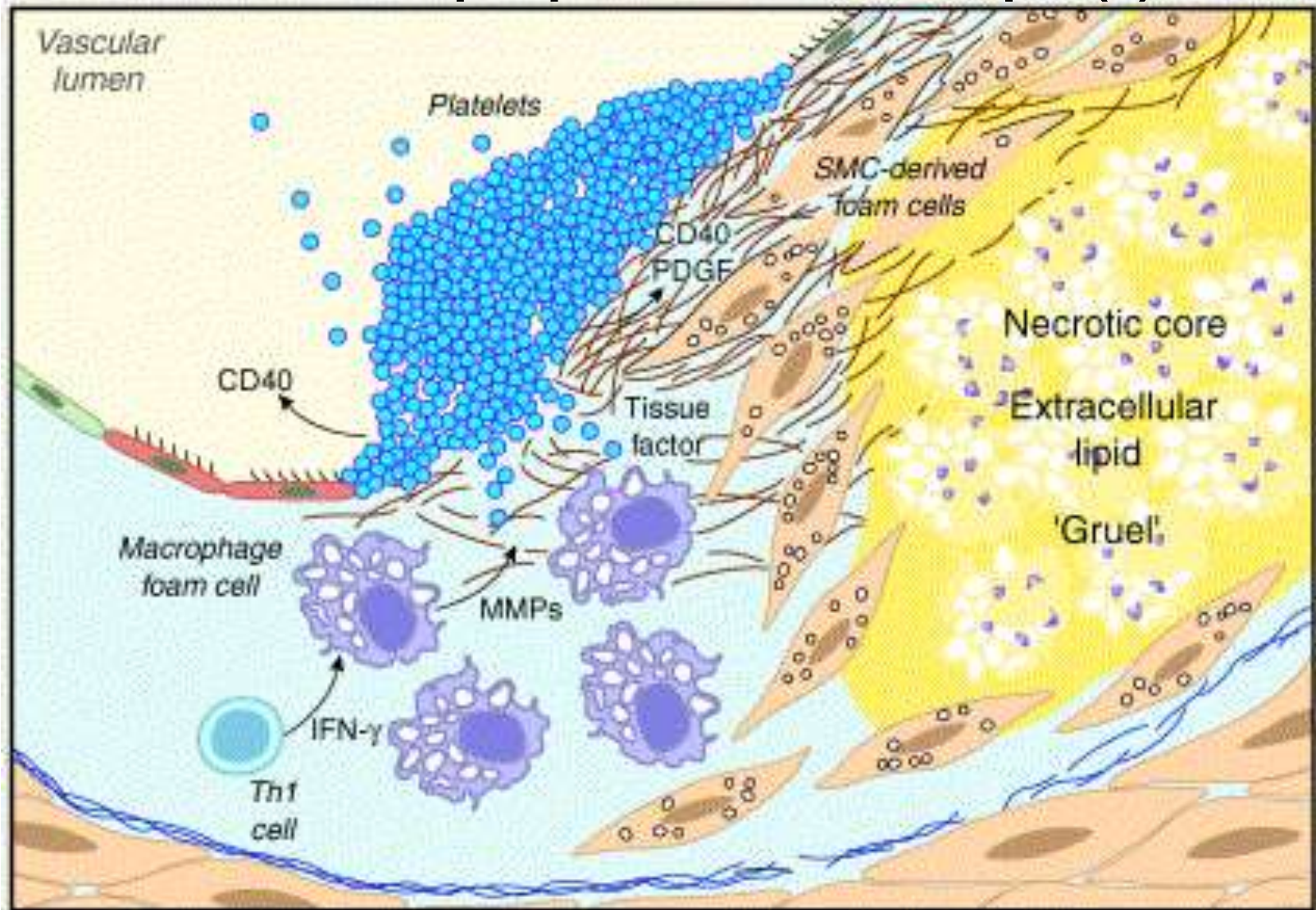
# Les oxydations des LDL sont à l'origine de l'initiation de l'athérosclérose



Heinecke J W J Exp Med 2006;203:813-816



# Mécanismes de l'origine et de la progression de la plaque athérosclérotique (3)





# Marqueurs de la peroxydation Lipidique



**AGPI**

Phospholipides des LDL

*Peroxydation Induite  
par les ERO*

Hydroperoxydes lipidiques

*Décomposition*

*Réduction*

**Aldéhydes**

MDA, 4 HNE

**Alcanes**

Pentane, hexane

**Produits 2aires**

**isoprostanes**

• **LC-MS**

• **GC-MS**

• **Elisa**

**Lipides bioactifs**

**induit aggrégation des plaquettes  
(agonist du thromboxane)**

# Relation entre les facteurs de risques de la maladie coronarienne et le taux d'isoprostanes

## Facteurs de risques

↑ Isoprostanes  
(plasma, urine)

**Fumeurs**

**X 3 gros fumeurs**

**Hypercholestérolémie**

**X 2 à 3**

**Diabète type 2**

**X 2 à 6**

**Obésité**

**X 3 à 4 - *log isoP urinaire corrélé au IMC***

**Hypertension**

**X 2 - *log isoP urinaire corrélé avec la pression systolique***

**Protéine C réactive**

**X 1.5 (homocystéine élevée)**

# Observations de l'étude de Davies et Roberts II



**Il existe une relation entre le taux d'isoprostanes et la sévérité de la maladie coronarienne.**

*Patients avec un syndrome coronarien aigu (douleur thoracique) :*

*> X3 IsoPs à l'admission*

*30 jours plus tard , 42% des taux IsoP les plus élevés ont fait un infarctus ou sont morts contre 14-17% des patients avec un taux modéré en IsoP*



**les isoprostanes circulantes proviennent de la peroxydation lipidique des vaisseaux athérogènes**

*Une athérectomie coronaire directionnelle montre x16 du taux d'isoP dans les lésions de patients ayant une angine de poitrine instable ( x 7 stable).*

# Diminution des IsoPs par les interventions pharmacologiques

## Agents thérapeutiques

## ↓ Isoprostanes (plasma, urine)

**Statines (HC)**

**34-52 %**

**Arrêt de fumer  
(2 semaines)**

**32-38 %**

**Restriction calorique  
obèses- 1200Kcal/ - 3-6mois**

**32-72 %**

**Vitamine E ( 16 semaines)**

**100-400 UI/J pas de  $\Delta$   
1600 UI/j 35%  
3200 UI/j 49%**

# Diminution des IsoPs par les interventions pharmacologiques

## Agents thérapeutiques

## ↓ Isoprostanes (plasma, urine)

**Statines (HC)**

**34-52 %**

**Arrêt de fumer  
(2 semaines)**

**32-38 %**

**Restriction calorique  
obèses- 1200Kcal/ - 3-6mois**

**32-72 %**

**Vitamine E ( 16 semaines)**

**100-400 UI/J pas de  $\Delta$   
1600 UI/j 35%  
3200 UI/j 49%**

# Questions soulevées par cette étude ?



Le **dosage des IsoPs** lors de l'admission à l'hôpital pour une douleur de poitrine ou un syndrome aigu coronarien peut il être un *indicateur utile du pronostic* à court et à long terme ?



La **diminution de la peroxydation lipidique** par les interventions Pharmacologiques à t-elle un *effet clinique* ?



De quelle *ordre de grandeur* doit être cette réduction pour avoir un effet clinique bénéfique?



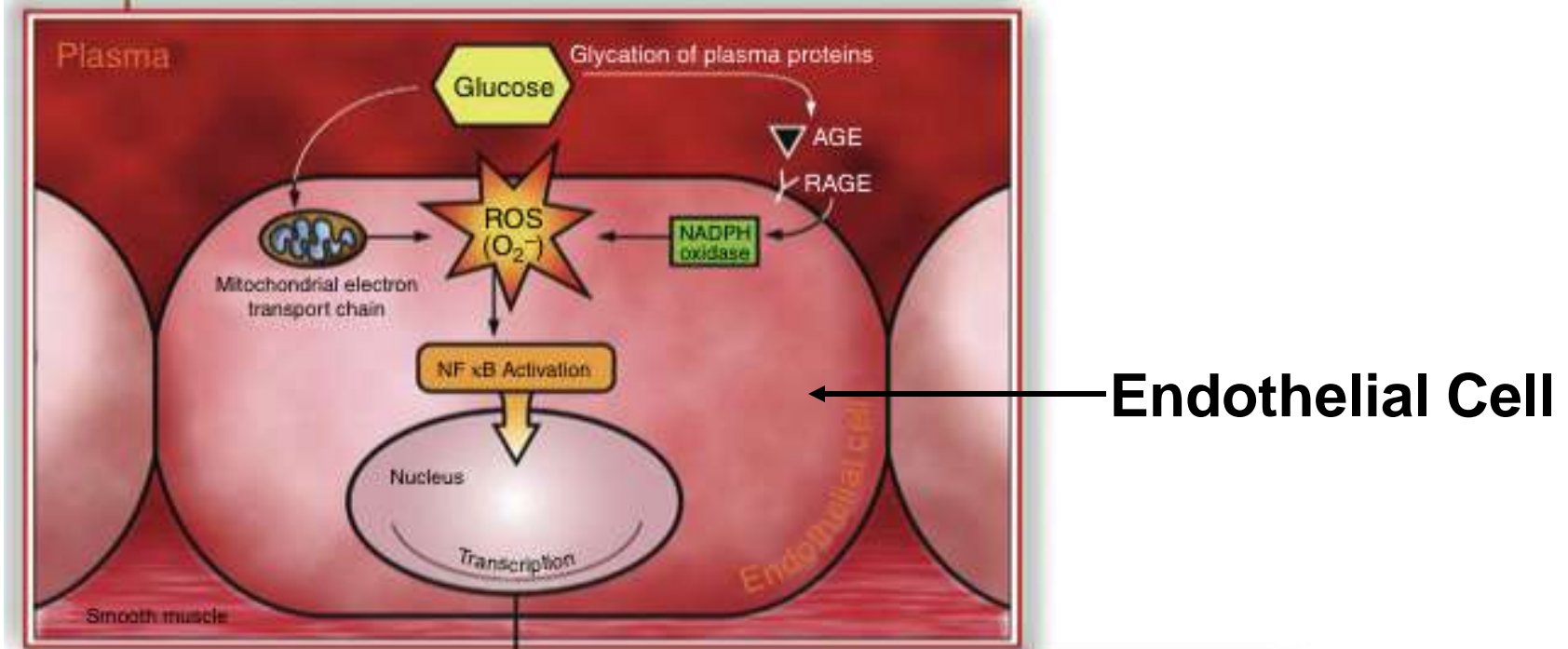
La réduction des IsoPs doit elle être *précoce* dans la phase d'athérogénèse pour avoir des effets bénéfiques ou est ce que la diminution des IsoPs au *stade avancé* de la maladie est également bénéfique?

# ETATS PATHOLOGIQUES IMPLIQUANT LE STRESS OXYDANT

## Cause ou Conséquence

Pathologies chroniques	Pathologies aiguës
<ul style="list-style-type: none"><li>•Athérosclérose</li><li>•Cancer</li><li>•<b>Diabète</b></li><li>•Cataracte, DMLA</li><li>•Maladie d'Alzheimer</li><li>•Vieillessement</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>•Lésions de reperfusion post-ischémique (infarctus, AVC, greffe d'organes)</li><li>•Hyperoxygénation (O<sub>2</sub> hyperbare)</li><li>•Choc septique</li><li>•Inflammation</li></ul>

# Inflammation résultant de la production des ERO dans le diabète



**Endothelial Cell**

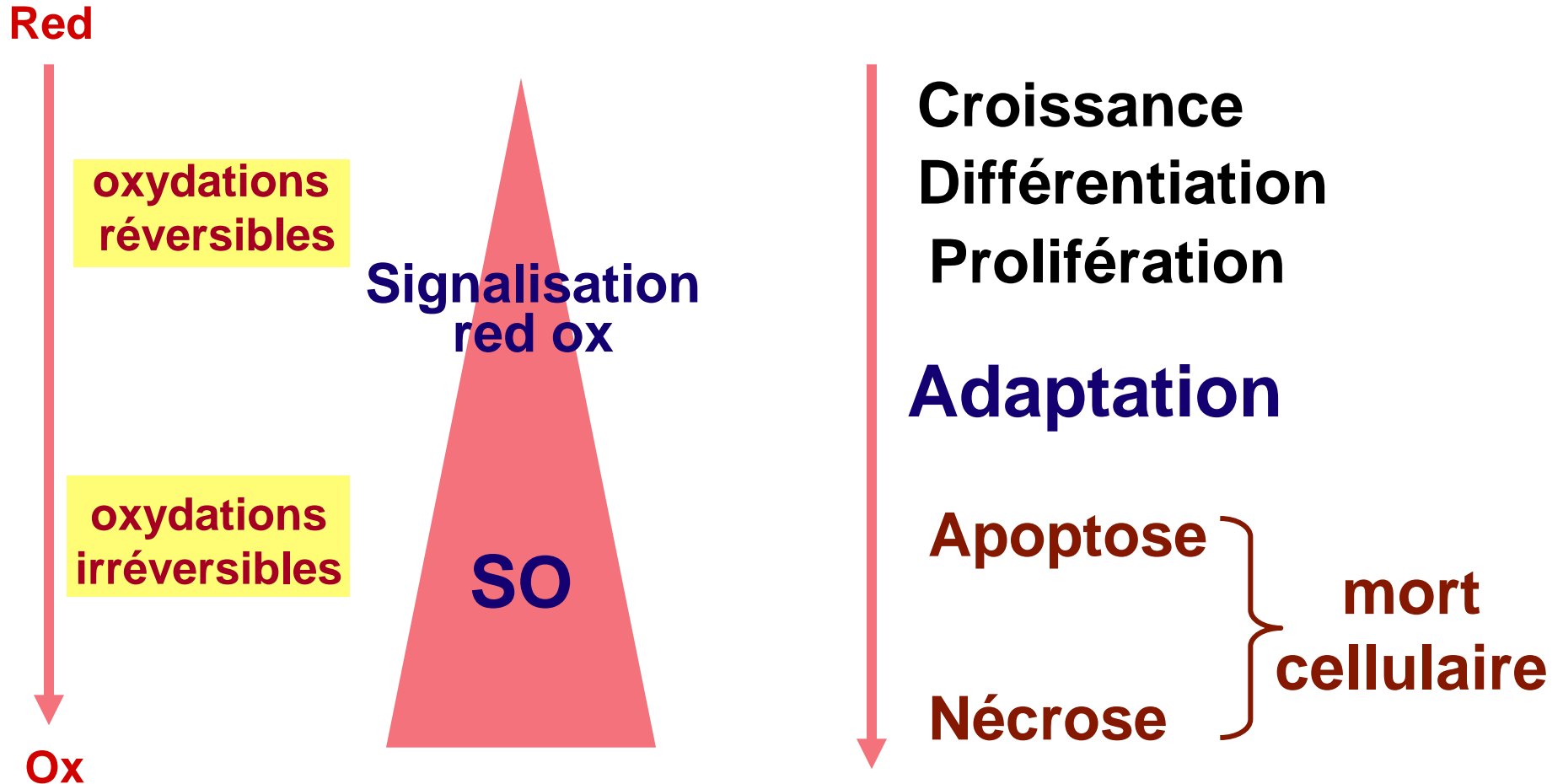
Inflammatory response		
↑ Cytokines	↑ Acute-phase reactants	↑ Cellular adhesion molecules
<ul style="list-style-type: none"> <li>• TNF-α</li> <li>• IL-1</li> <li>• IL-6</li> <li>• IL-8</li> <li>• IL-18</li> <li>• Interferon-γ</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Fibrinogen</li> <li>• von Willebrand Factor</li> <li>• Plasminogen</li> <li>• PAI-1</li> <li>• Ferritin</li> <li>• Complement</li> <li>• Lipoprotein (a)</li> <li>• Cortisol</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ICAM-1</li> <li>• VCAM-1</li> <li>• E-selectin</li> </ul>

Vasomotor imbalance	
↓ No-availability (↓ Vasodilation)	↑ Endothelin-1 (↑ Vasoconstriction)



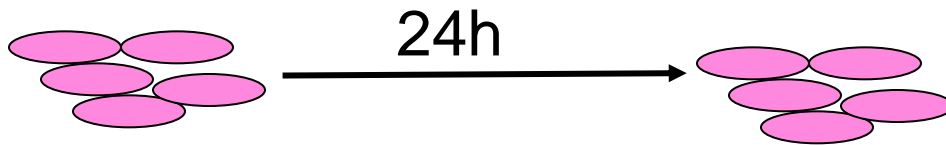
**Rôle des ERO et ERN  
dans la signalisation cellulaire  
Application à l'adaptation**

# Les effets cellulaires des ERO et ERN dépendent de leur concentration dans les cellules



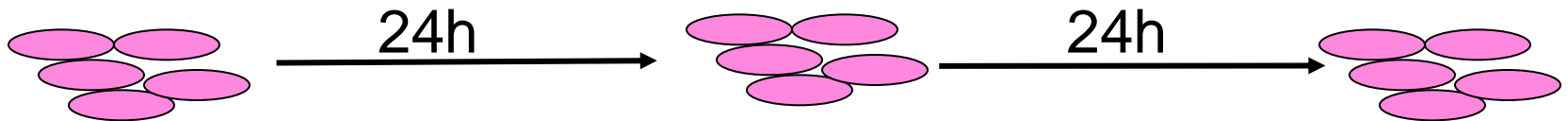
# **mise en évidence de l'adaptation (principe de l'hormésie)**

*Hormésie : réponse biologique favorable en réponse à l'exposition à de faibles doses de toxiques*



**Cellules + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 1mM**

**Mort cellulaire**



**Cellules + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 100nM**

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 1mM**

**Survie cellulaire**

# Comment les ERO/ERN interviennent -ils dans la signalisation cellulaire ?

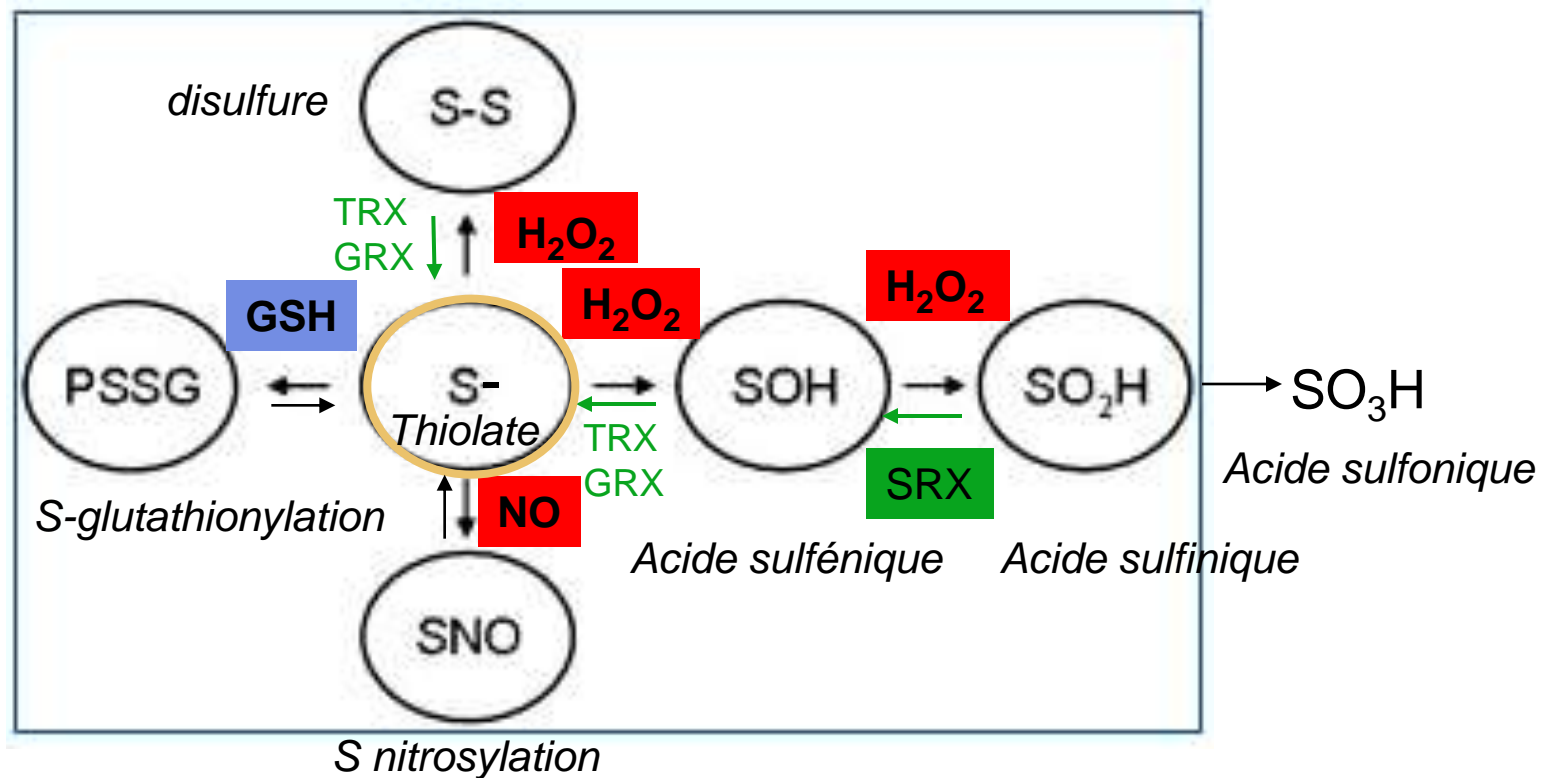
Modification **réversible** des groupements thiols des cystéines des protéines

Rôle de messagers secondaires

$H_2O_2$

NO

# Modifications réversibles des cystéines réactives des protéines



# Les protéines cibles des oxydations réversibles des cystéines

**Phosphatases : Inactivées**

**Kinases : activées ou inactivées**

**Protéases : activées ou inactivées**

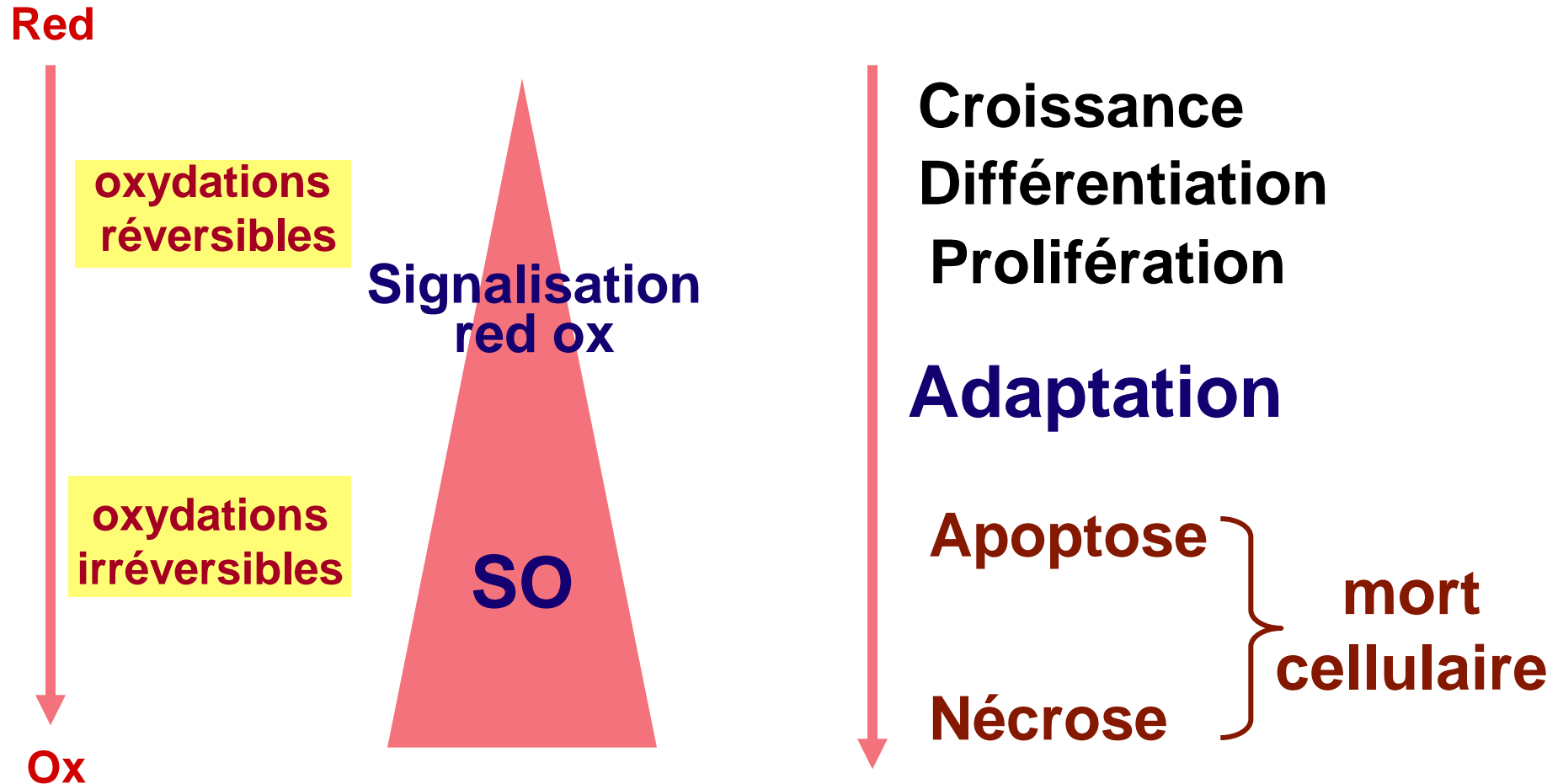
**Caspases (Inhibition par  $H_2O_2$  et NO)**

**Métalloprotéinases (activées par  $H_2O_2$  et NO)**

**Régulation des facteurs de Transcription**



**NK $\kappa$ B activé par  $H_2O_2$ , inactivé par NO**

# Effets cellulaires des ERO et ERN



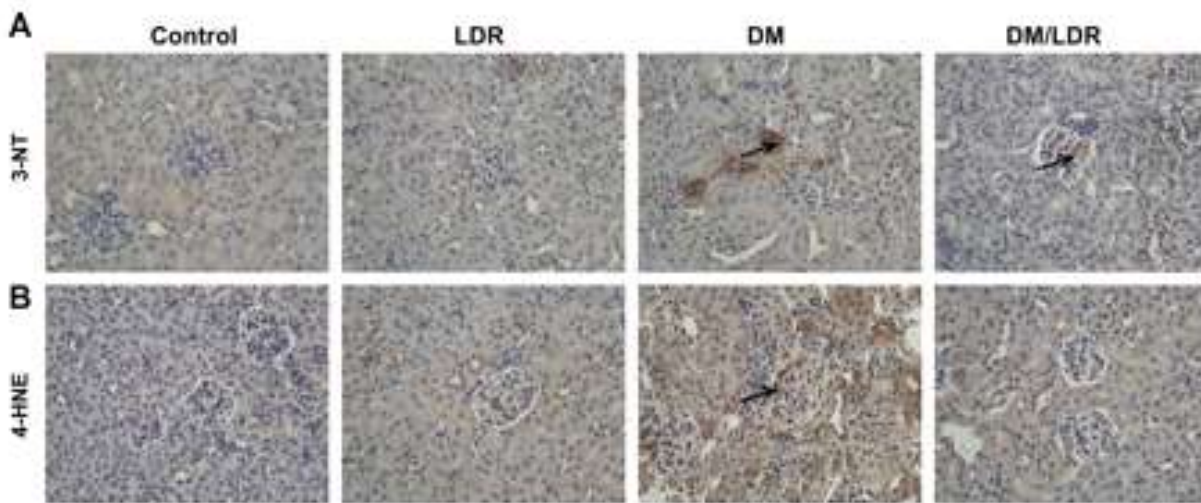
# Des expositions répétées à de faibles doses de radiations ionisantes atténuent la néphropathie rénale chez le diabétique

**Des souris diabétiques sont soumises à 25 mGy/j pendant 16 semaines**

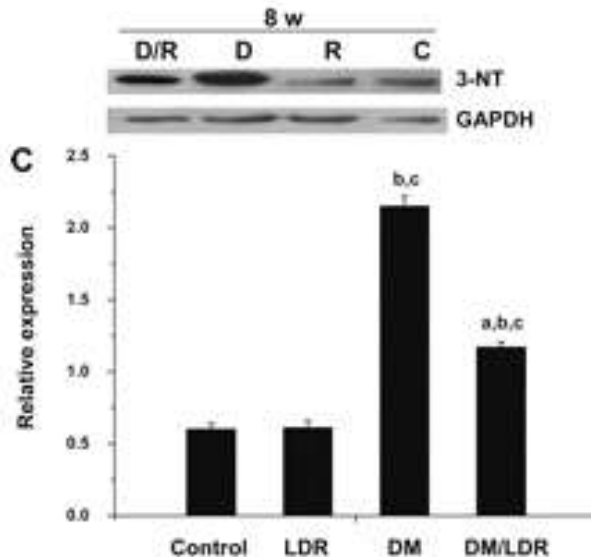
-  **Diminution des marqueurs de l'inflammation**  
*(TNF $\alpha$ , IL18, ICAM-1, MCP-1)*
-  **Diminution des marqueurs du stress oxydant**  
*(HNE, Nitrotyrosine)*



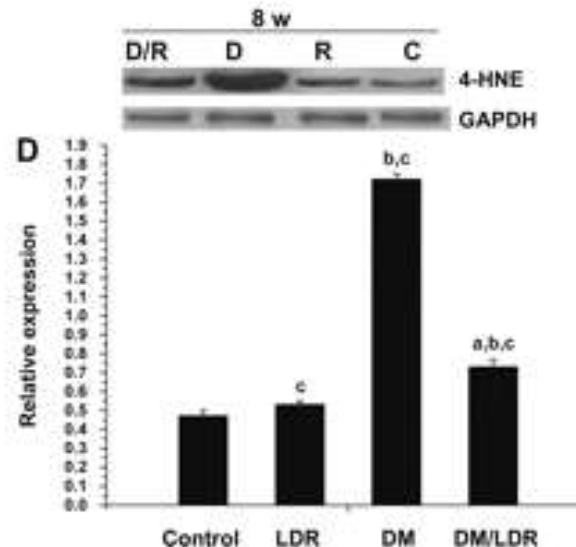
# Biomarqueurs du stress oxydant



**3-NT**



**4 HNE**






LDR: Low Radiation doses  
DM: diabète méllitus

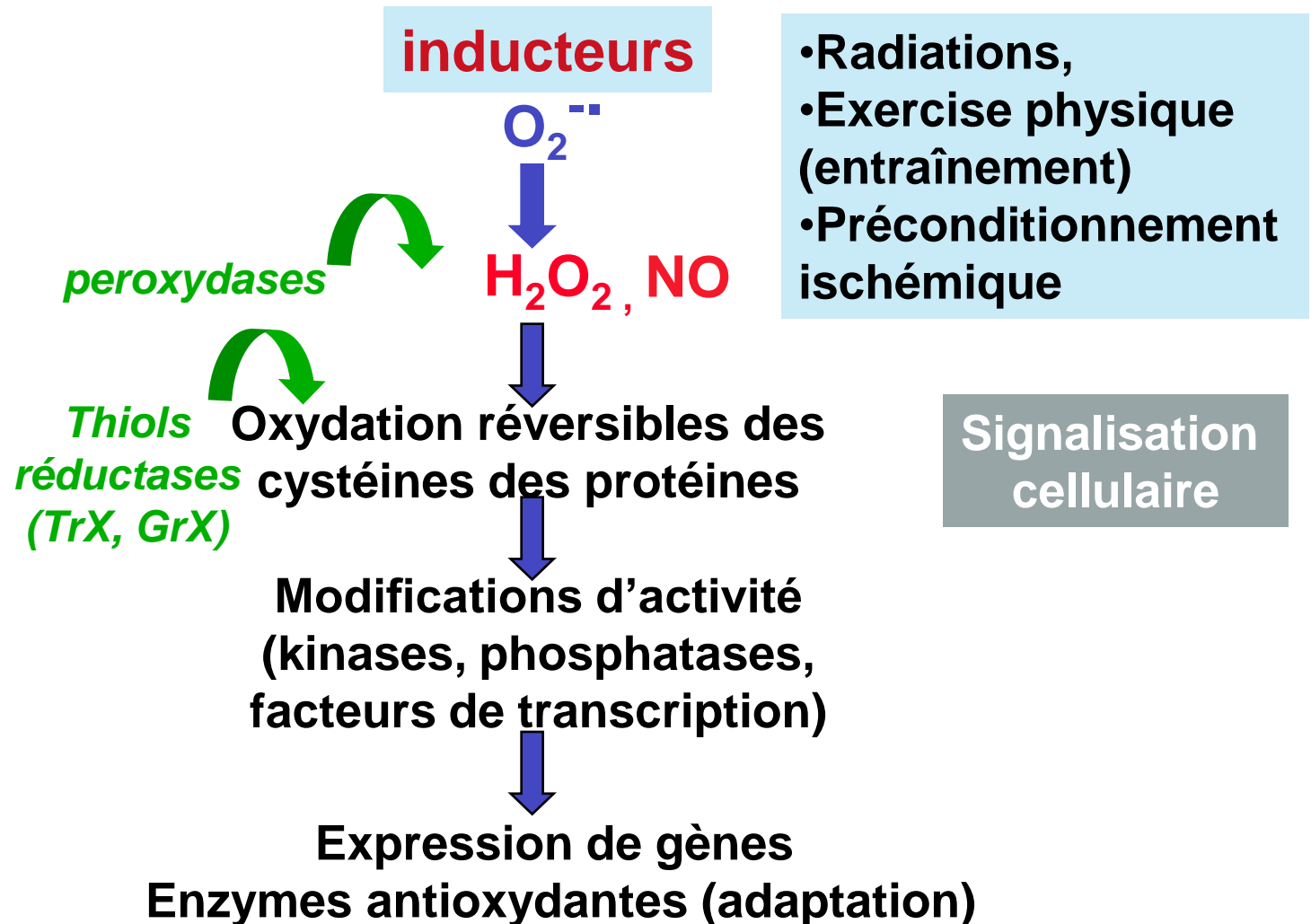
Zhang C. et al., *Endocrinology & Metabolism*, 2009, 297

# Des expositions répétées à de faibles doses de radiations ionisantes atténuent la néphropathie rénale chez le diabétique

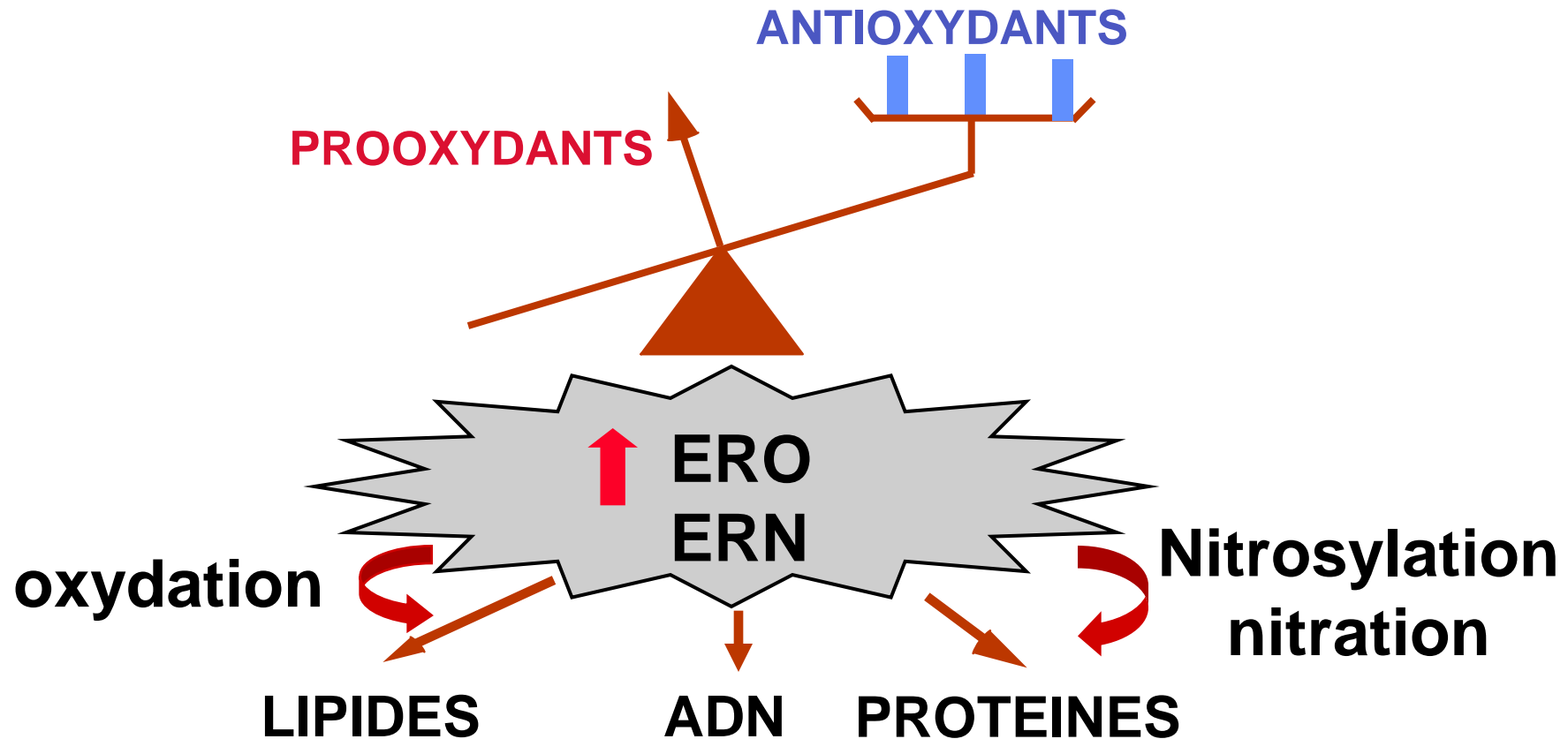
**Des souris diabétiques sont soumises à 25 mGy/j pendant 16 semaines**

-  **Diminution des marqueurs de l'inflammation**  
*(TNF $\alpha$ , IL18, ICAM-1, MCP-1)*
-  **Diminution des marqueurs du stress oxydant**  
*(HNE, Nitrotyrosine)*
-  **Amélioration de la fonction rénale**  
*(créatinine, microalbumine)*

# Mécanisme de l'adaptation par une élévation modérée des ERO et ERN




# STRESS OXYDANT: NOUVELLE DEFINITION




*Le stress oxydant est un déséquilibre de la balance prooxydants/antioxydants en faveur des premiers qui entraîne des **dommages oxydatifs** des biomolécules*  
*Helmut Sies (1985)*

*Le stress oxydant est une perturbation de la signalisation redox et une perte du contrôle de l'homéostasie redox (Dean Jones 2006)*

## CONCLUSION

 Le stress oxydant induit par les ERO et ERN qui se forment dans nos cellules a été longtemps considéré comme à l'origine de dommages associés à des pathologies (Mr Hyde)

 Néanmoins les ERO et ERN lorsqu'ils sont produits en quantité modérée et contrôlée, interviennent dans la signalisation cellulaire qui régule la vie cellulaire (croissance, prolifération, différenciation) et permettent aux cellules de s'adapter en augmentant notamment leur défense antioxydante pour faire face à un stress oxydant sévère ultérieur (Dr Jekyll)

 La supplémentation en antioxydants ne contrecarre t-elle pas l'adaptation?



**Merci de votre attention**





# 4<sup>me</sup> Symposium International Nutrition, Biologie de l'Oxygène et Médecine



Société Française de Recherches sur Les Radicaux  
Libres  
(correspondant de la SFRR Europe)  
et  
Oxygen Club of California (OCC)

**15-17 juin 2011**  
**Paris**

***RADICAUX LIBRES ET VIEILLISSEMENT :  
DES ACPECTS FONDAMENTAUX AUX APPLICATIONS CLINIQUES***

Le 15 juin 2011 / Paris / 11h - 18h