

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

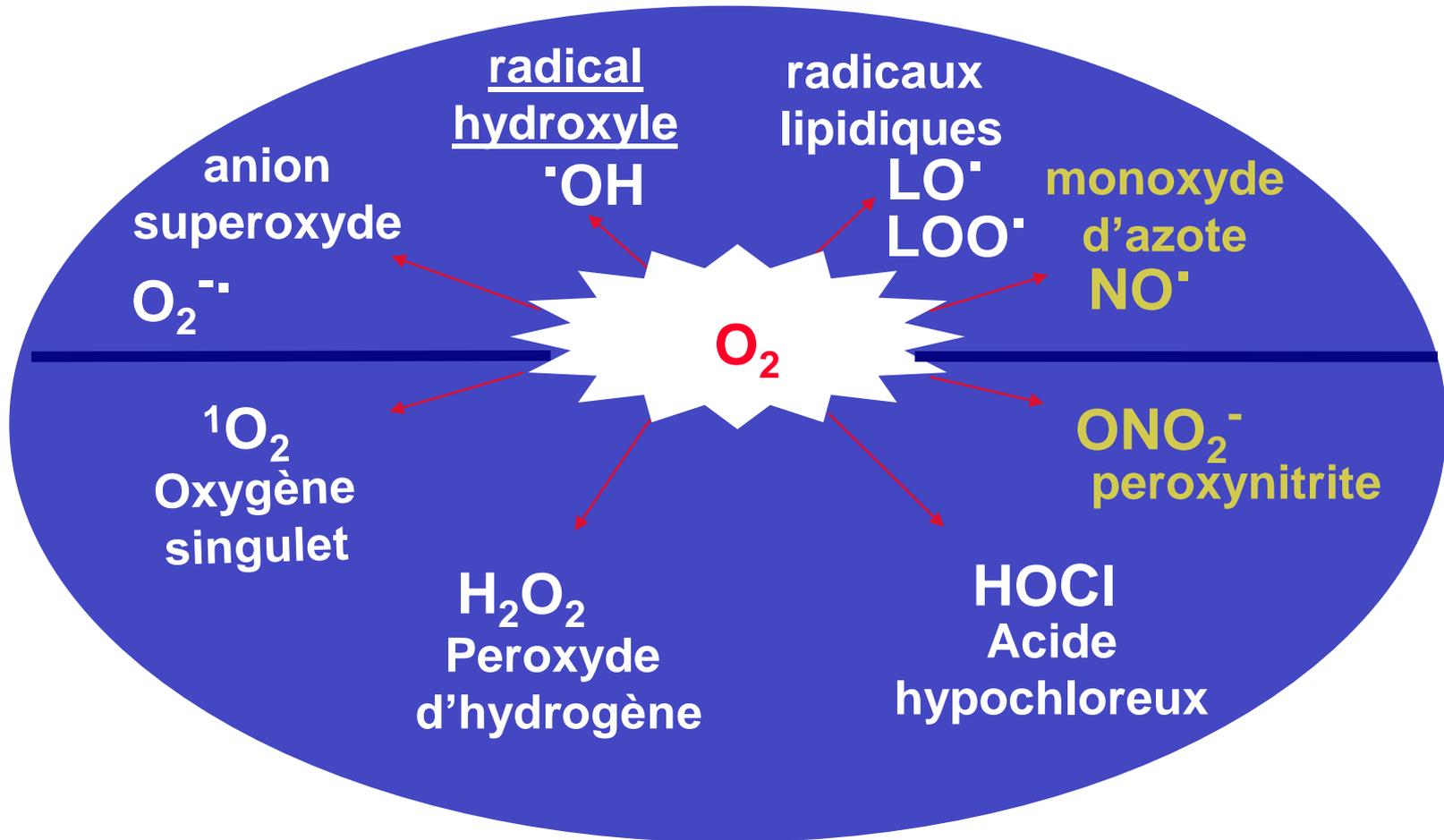
Que se passe t-il au sein de nos cellules ?

 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 ?

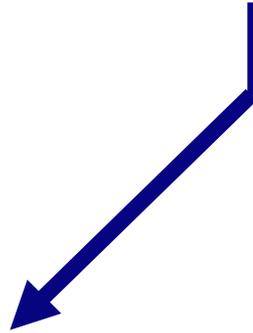


Toutes les cellules aérobies produisent en permanence des espèces réactives de l'oxygène qui sont neutralisées immédiatement par les antioxydants

→ Quelle sont ces espèces réactives ?

→ Quelle est l'origine de ces EROs ?

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

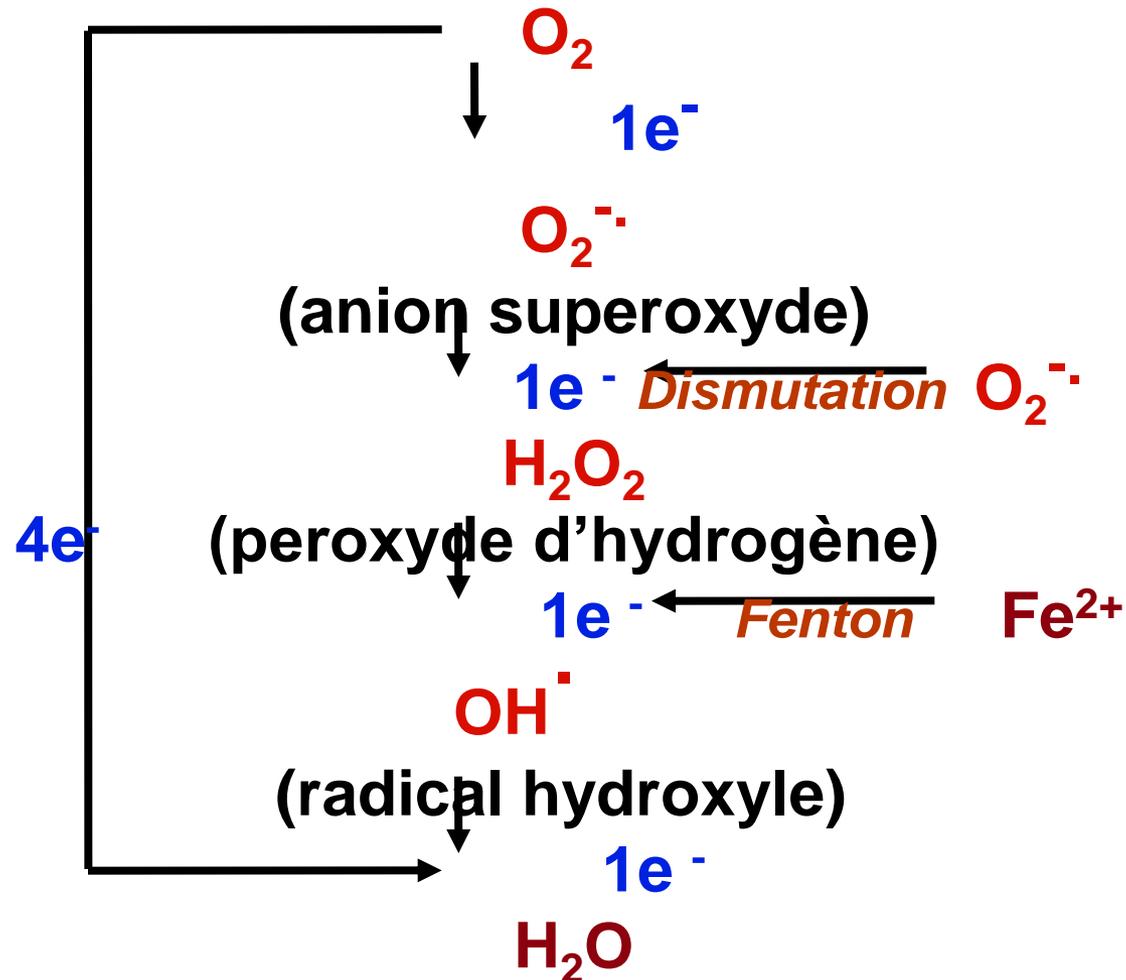


Transfert d'électrons

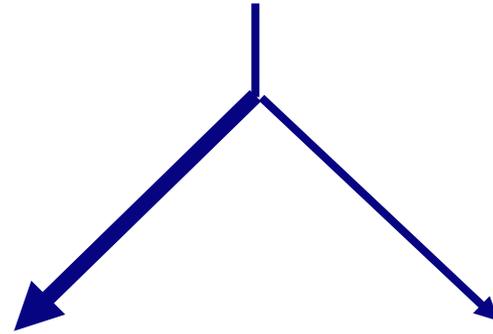


Lié au métabolisme cellulaire

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

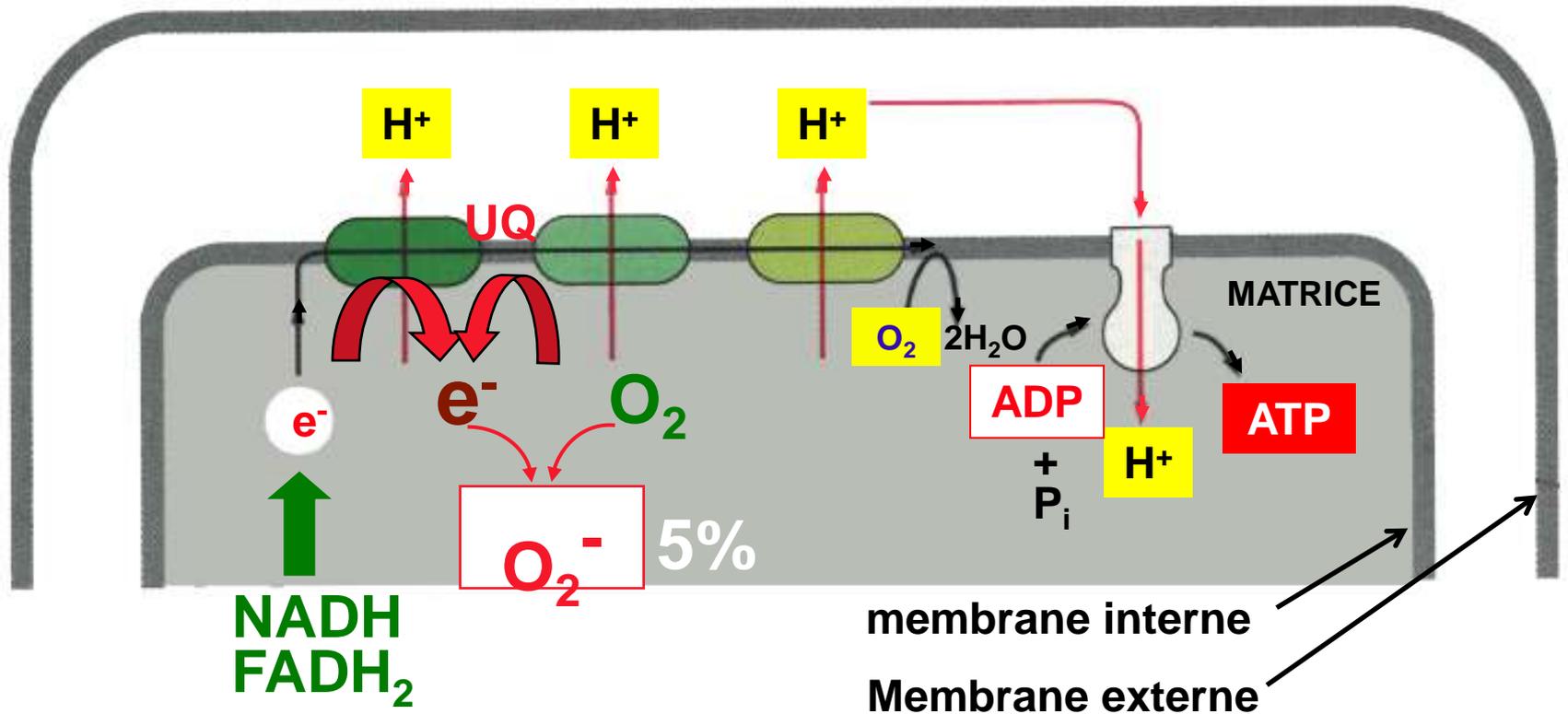
Production des Espèces Réactives de l'Oxygène et de l'Azote au cours du métabolisme

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)

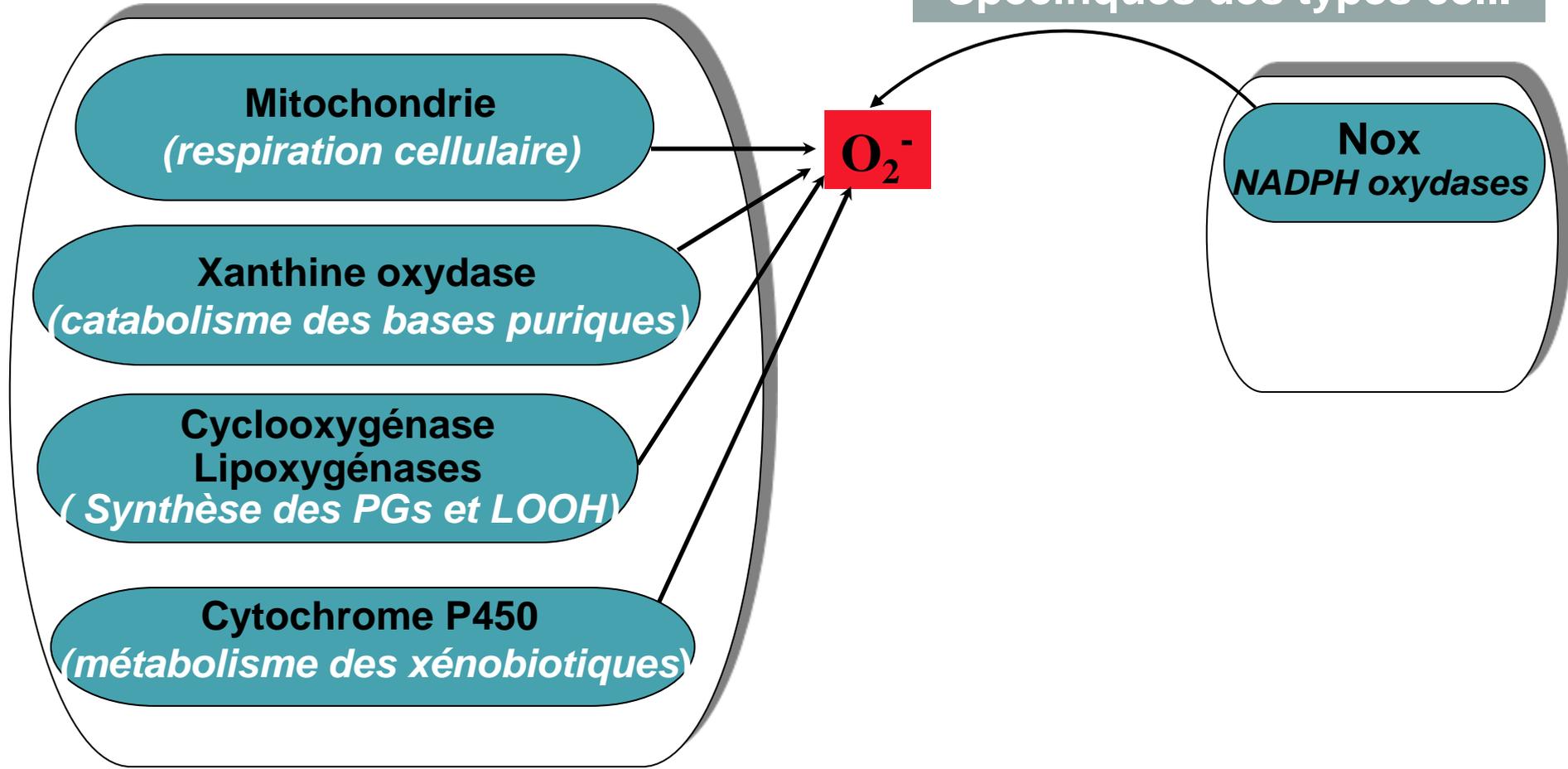
Xanthine oxydase
(catabolisme des bases puriques)

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

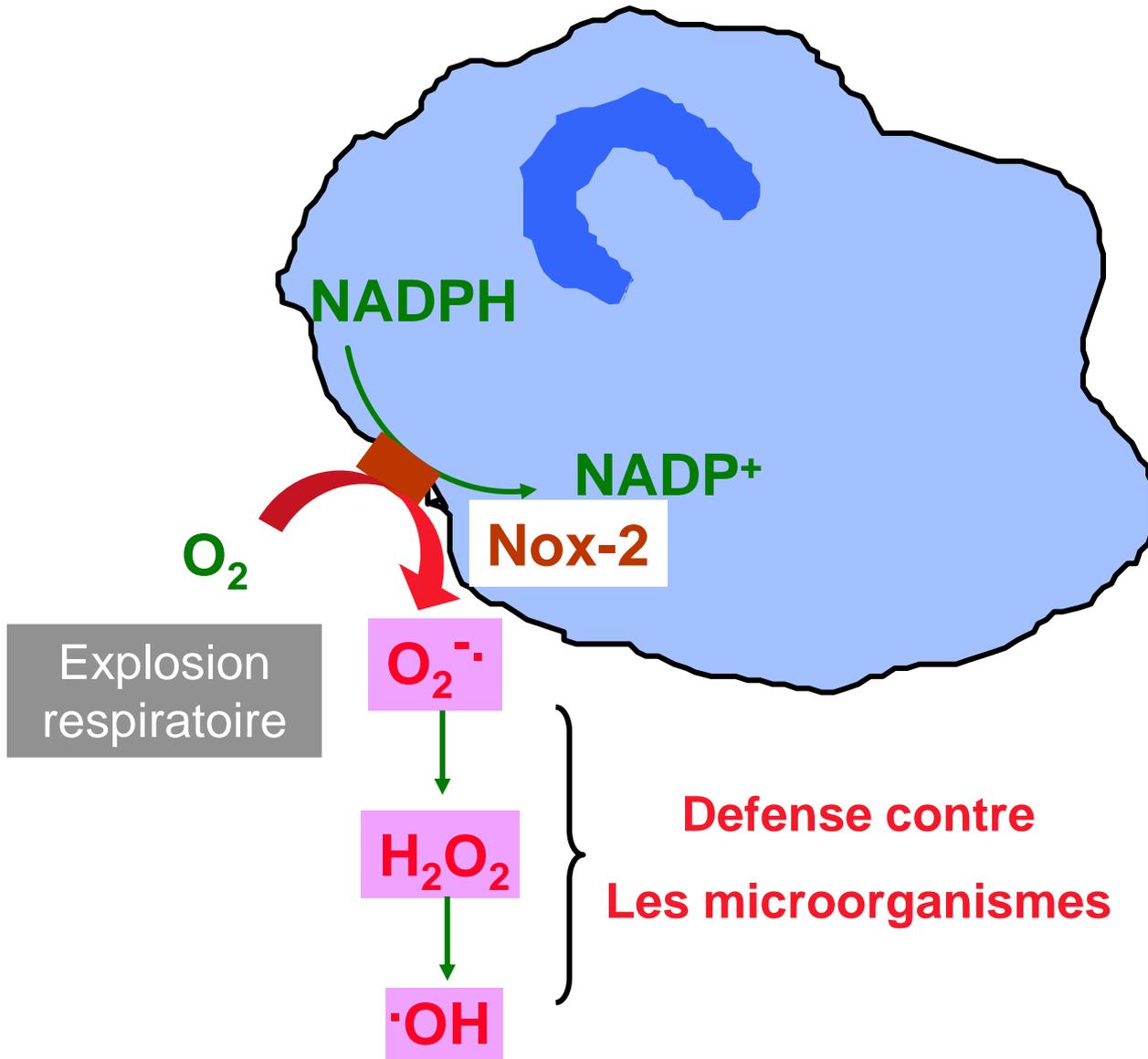
Cytochrome P450
(métabolisme des xénobiotiques)



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
Nox-2	Phagocytes Cell endothéliales Cardiomyocytes Muscle squelettique Fibroblastes Microglie, neurones	Défense	Granulomatose Maladies Cardio- Vasc Neurodégénérescence Angiogénèse Carcinome prostatique
Nox-1	Cell. Muscle lisse Cell épithéliales	Défense Différentiation	Athérogénèse Maladies Cardio-Vasc
Nox-3	Oreille interne	Sénescence	Octoconies
Nox-4 Constitutive	Cell. Muscle lisse Cell endothéliales Fibroblastes	Signalisation cellulaire Apoptose	Athérogénèse Maladies Cardio- Vasc Neurodégénérescence Angiogénèse, Diabète
Nox-5	Macrophages Lymphocytes	Différentiation	Infertilité masculine
Duox-1 et 2 Produisent H ₂ O ₂	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*)

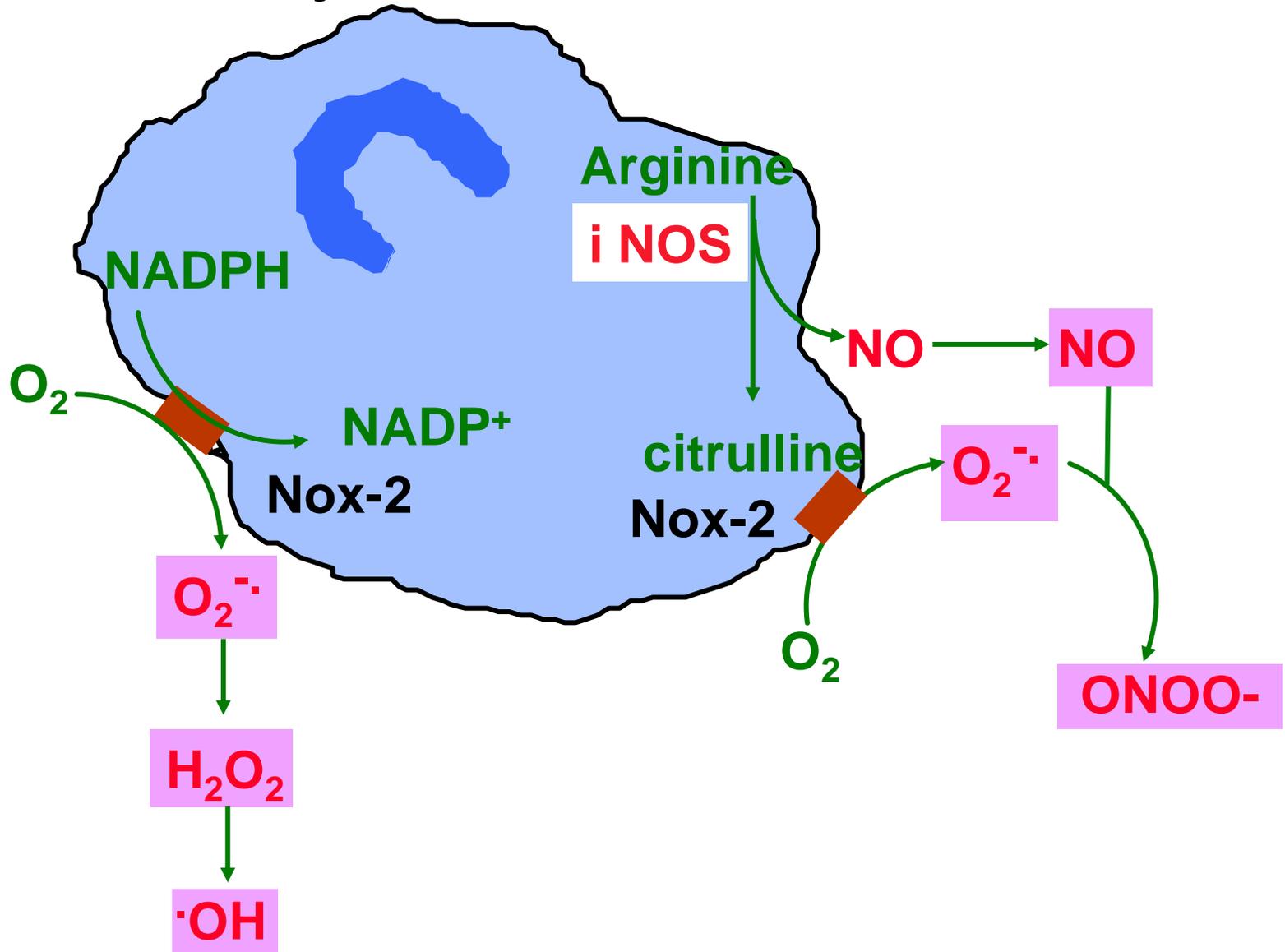
Cytochrome P450
(*métabolisme des xénobiotiques*)



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*)

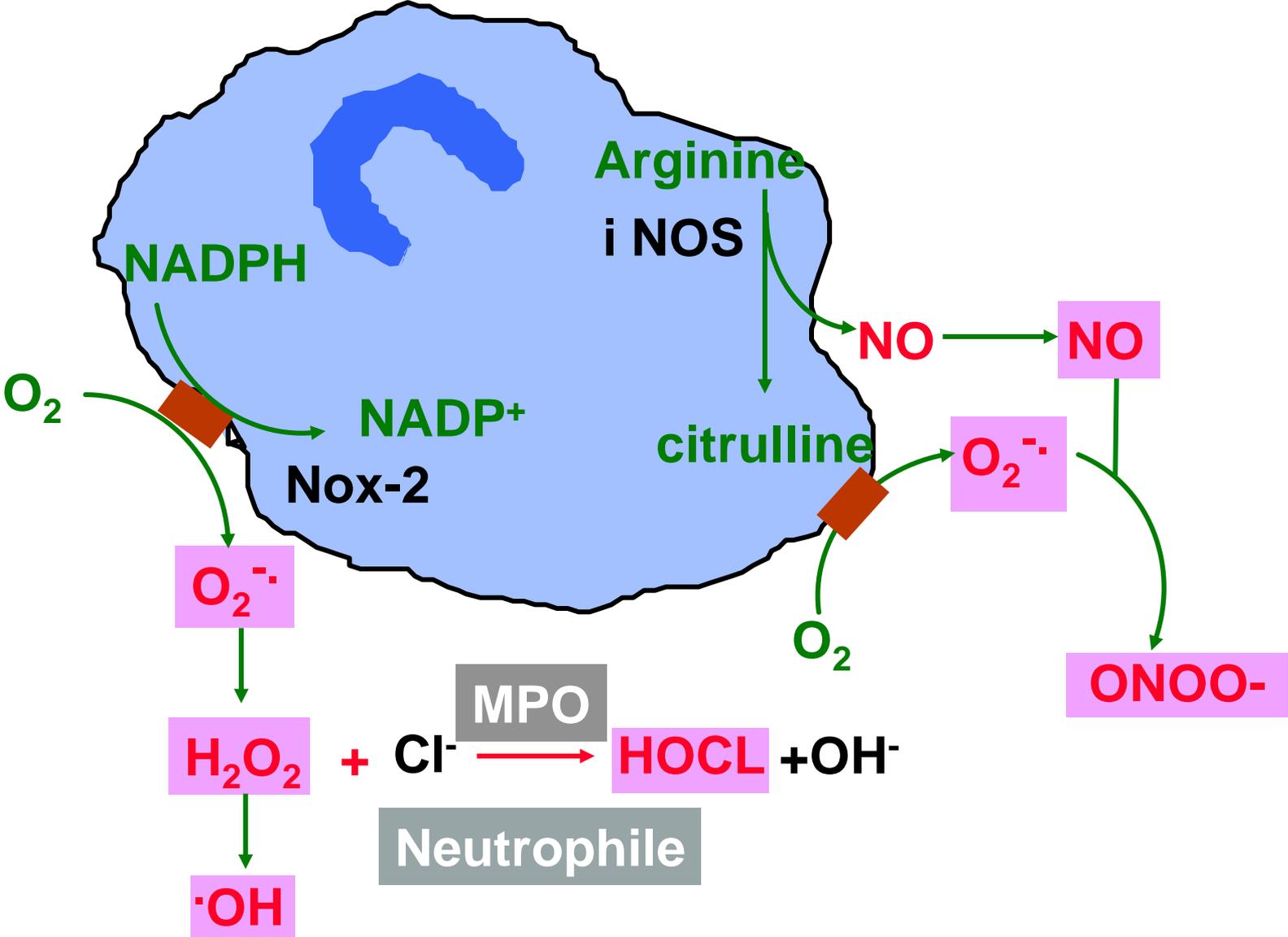


Nox
NADPH oxydases

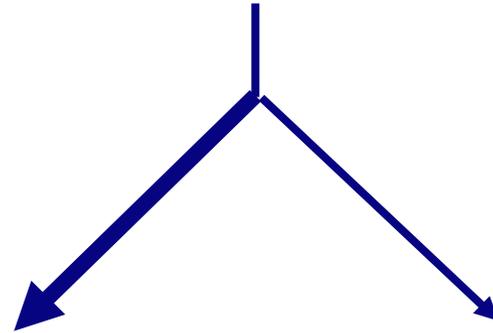
NO synthases

**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



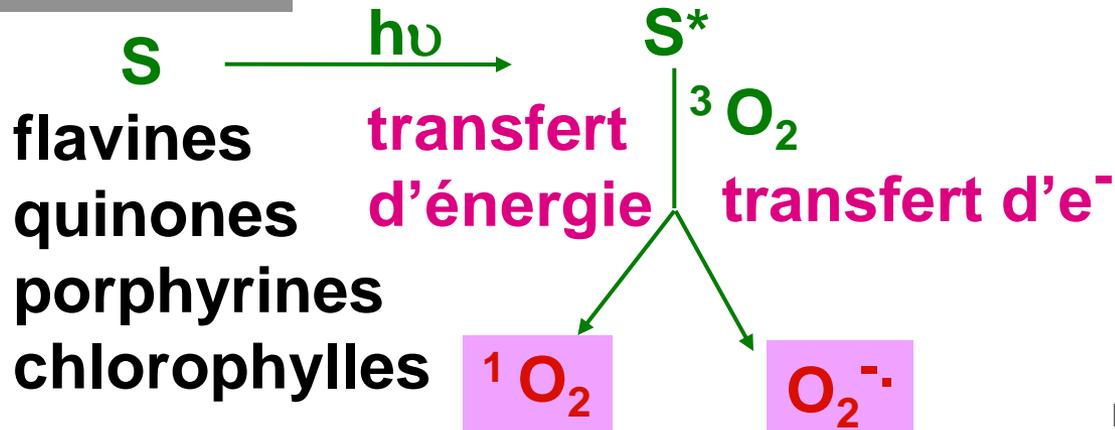
La lumière



photolyse



photochimie



LES SYSTEMES DE DEFENSE



Enzymes de défense antioxydante

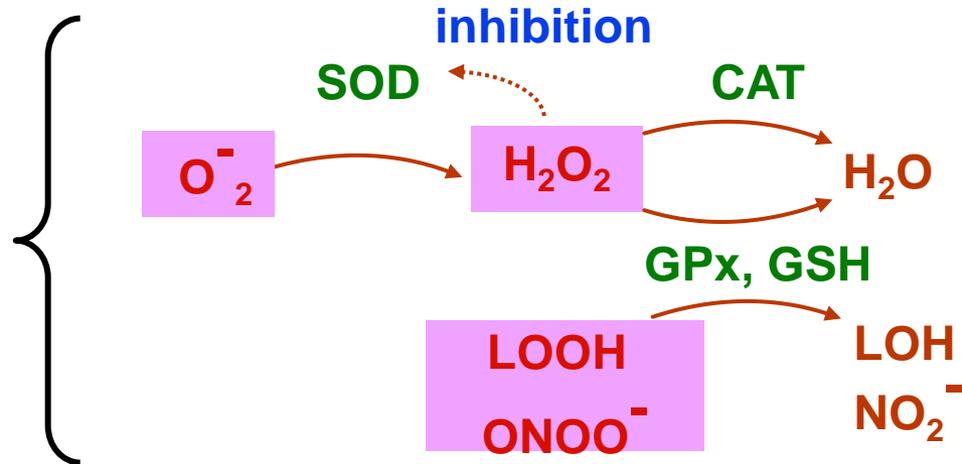
Enzymes clés

(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

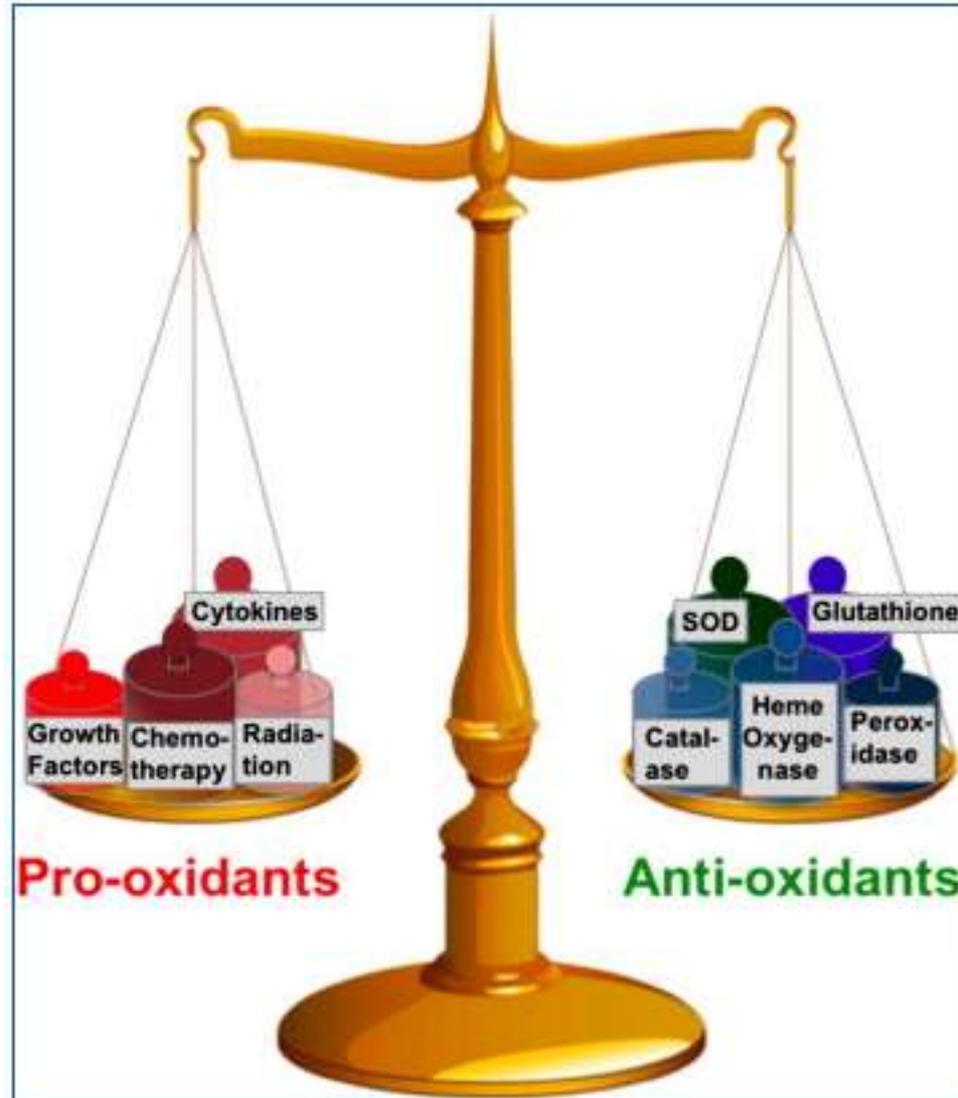
Endogènes

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

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 ?



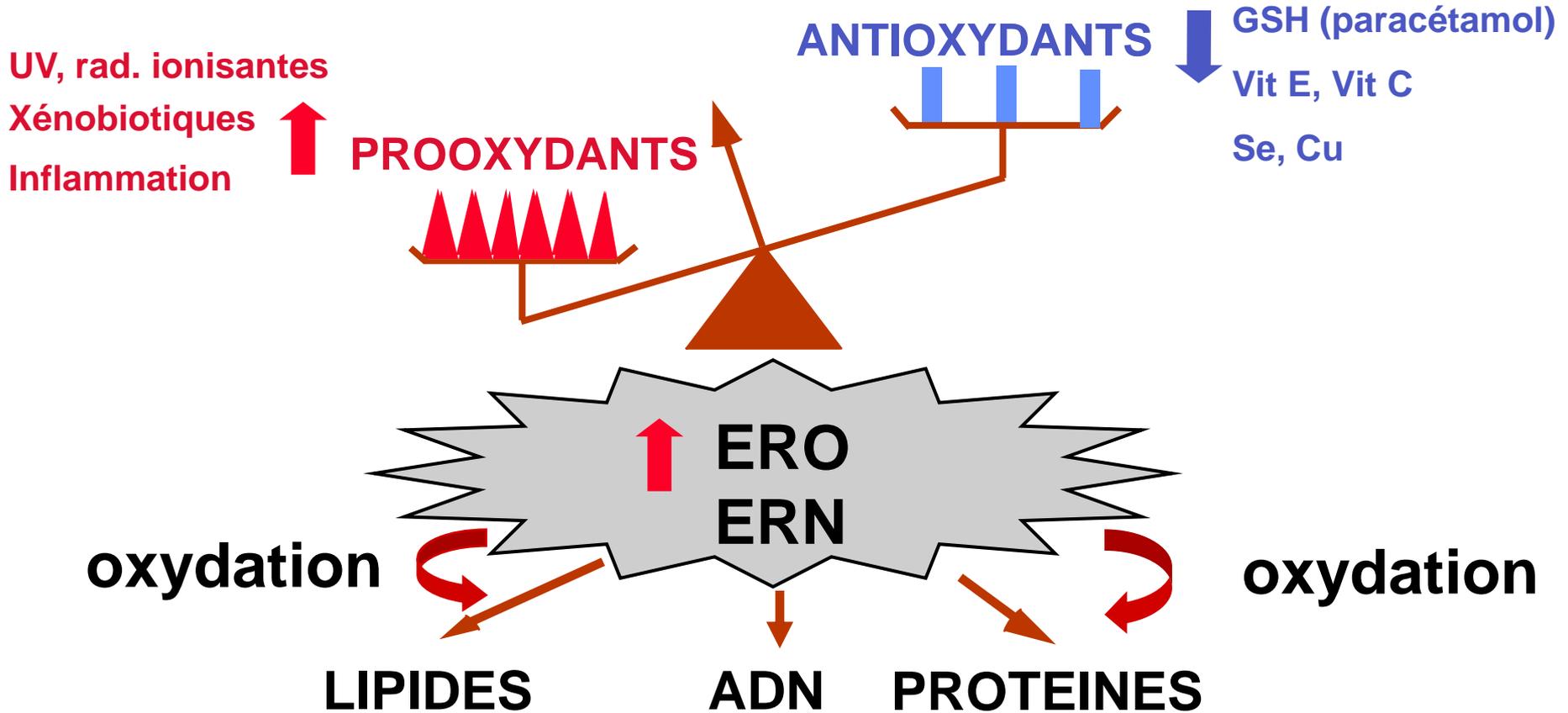
Toutes les cellules aérobies produisent en permanence des espèces réactives de l'oxygène qui sont neutralisées immédiatement par les antioxydants

→ Quelle sont ces espèces réactives ?

→ Quelle est l'origine de ces EROs ?

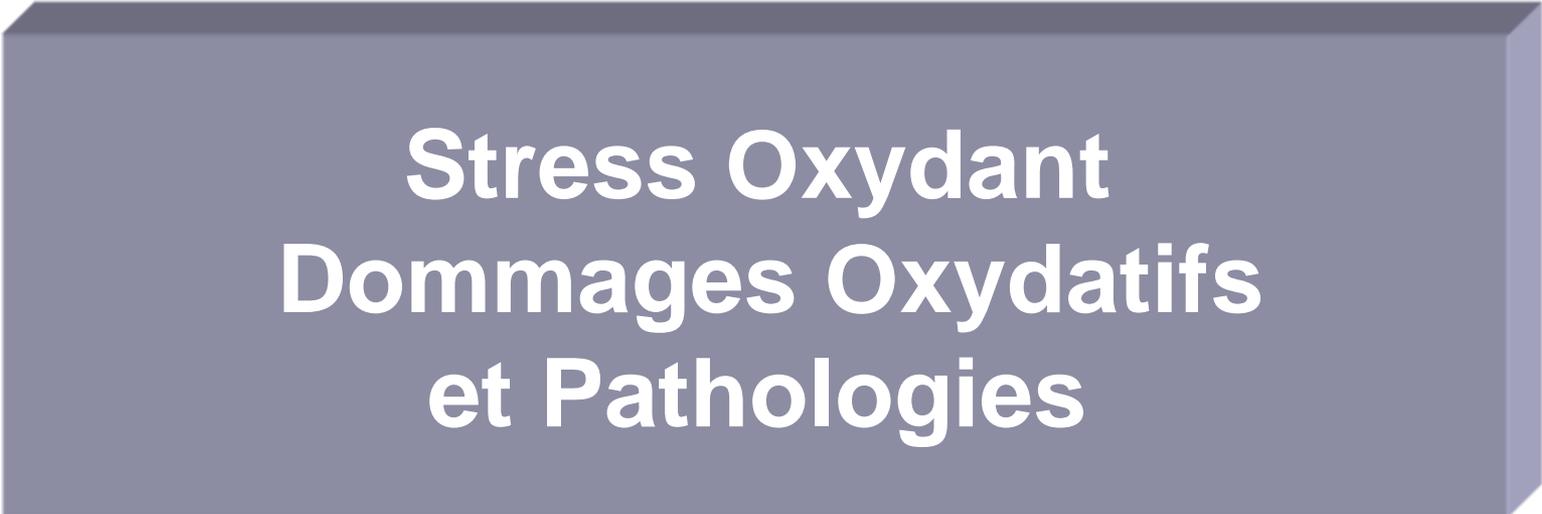
→ Comment entraînent-elles un stress oxydant ?

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">•Athérosclérose•Cancer•Diabète•Cataracte, DMLA•Maladie d'Alzheimer•Vieillessement	<ul style="list-style-type: none">•Lésions de reperfusion post-ischémique (infarctus, AVC, greffe d'organes)•Hyperoxygénation (O₂ hyperbare)•Choc septique•Inflammation

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

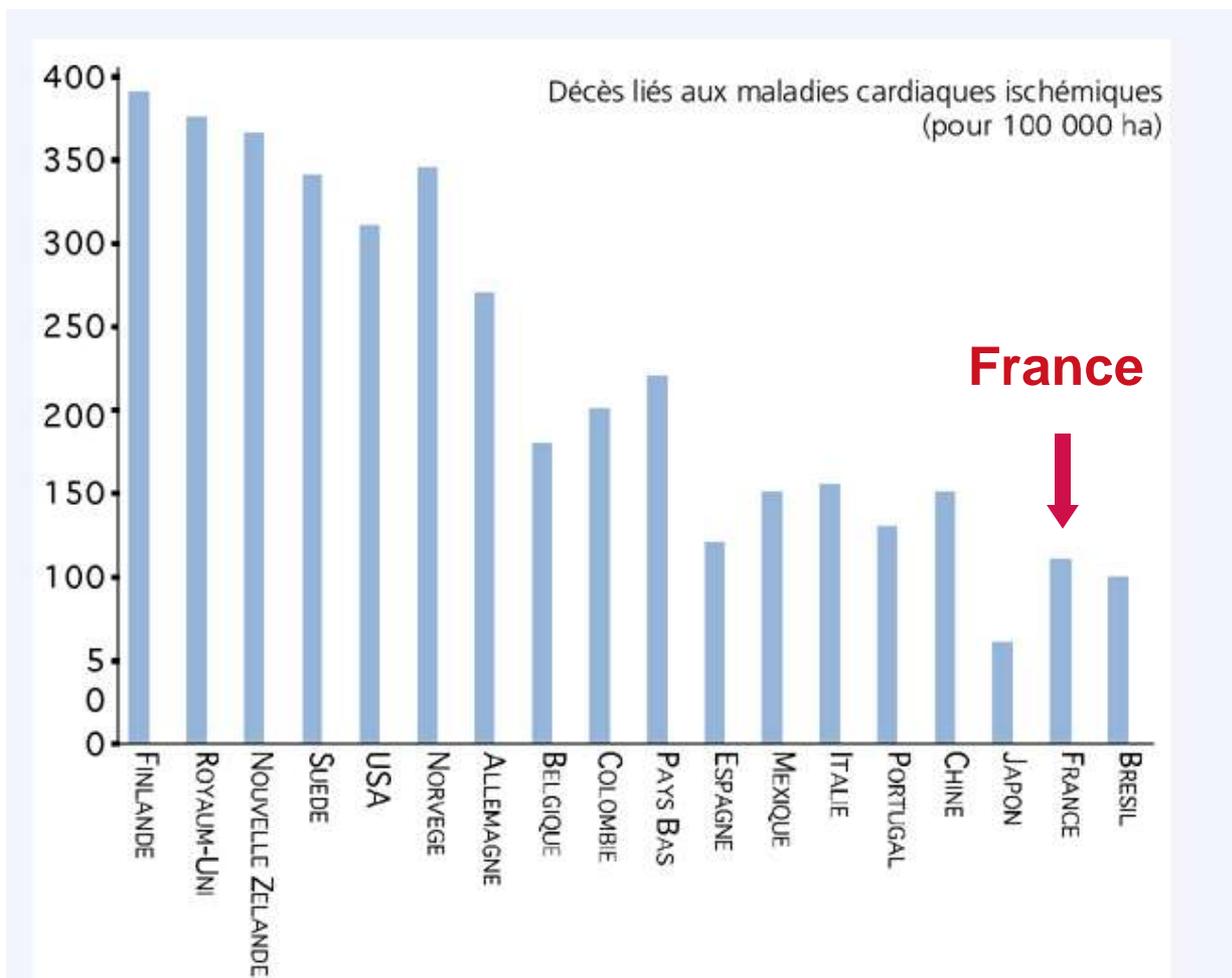
Pathologies chroniques	Pathologies aiguës
<ul style="list-style-type: none">• Athérosclérose• Cancer• Diabète• Cataracte, DMLA• Maladie d'Alzheimer• Vieillesse	<ul style="list-style-type: none">• Lésions de reperfusion post-ischémique (infarctus, AVC, greffe d'organes)• Hyperoxygénation (O₂ hyperbare)• Choc septique• Inflammation

Principales causes de décès dans le monde

Cause de décès :	Rang :		Progression :
	1990	2020	
"Top 15" :			
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
Hors "Top 15" :			
Violence	16	14	-2
Blessures de guerre	20	15	-5
Cancers du foie	21	13	-8
Sida	30	9	-21

→ 6. 10⁶ décès /an
 → 4. 10⁶ décès /an

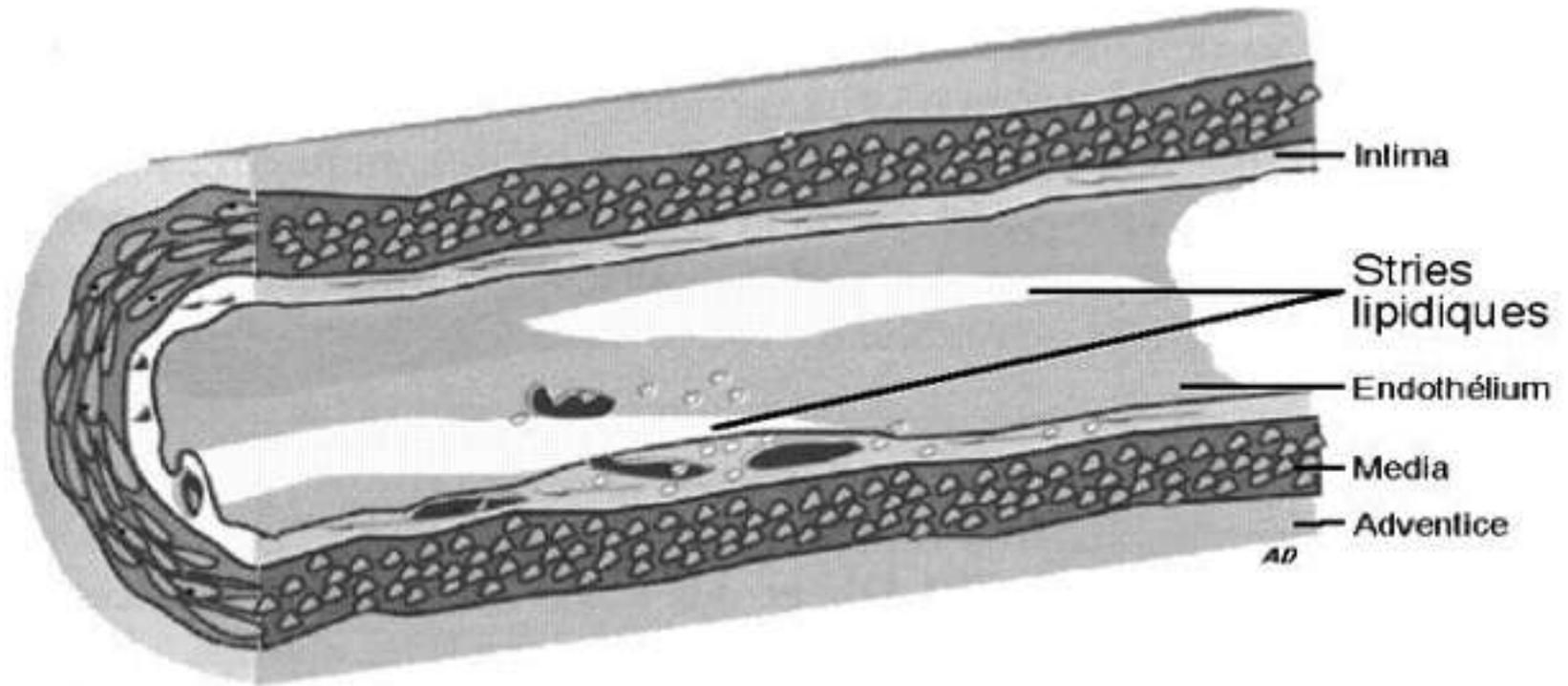
Taux de mortalité lié aux pathologies cardiaques d'origine ischémique



1. Préathérome:

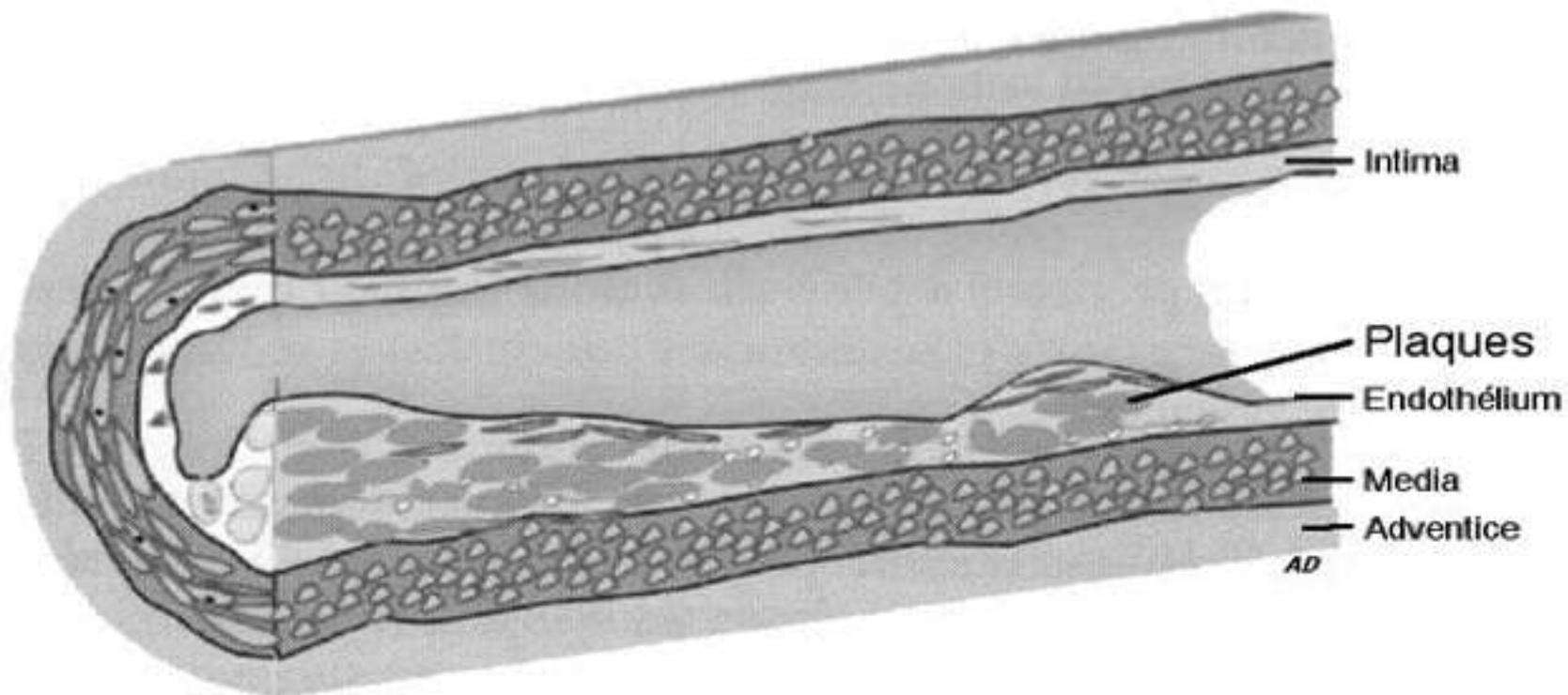
a- coussinet intimal

b- strie lipidique

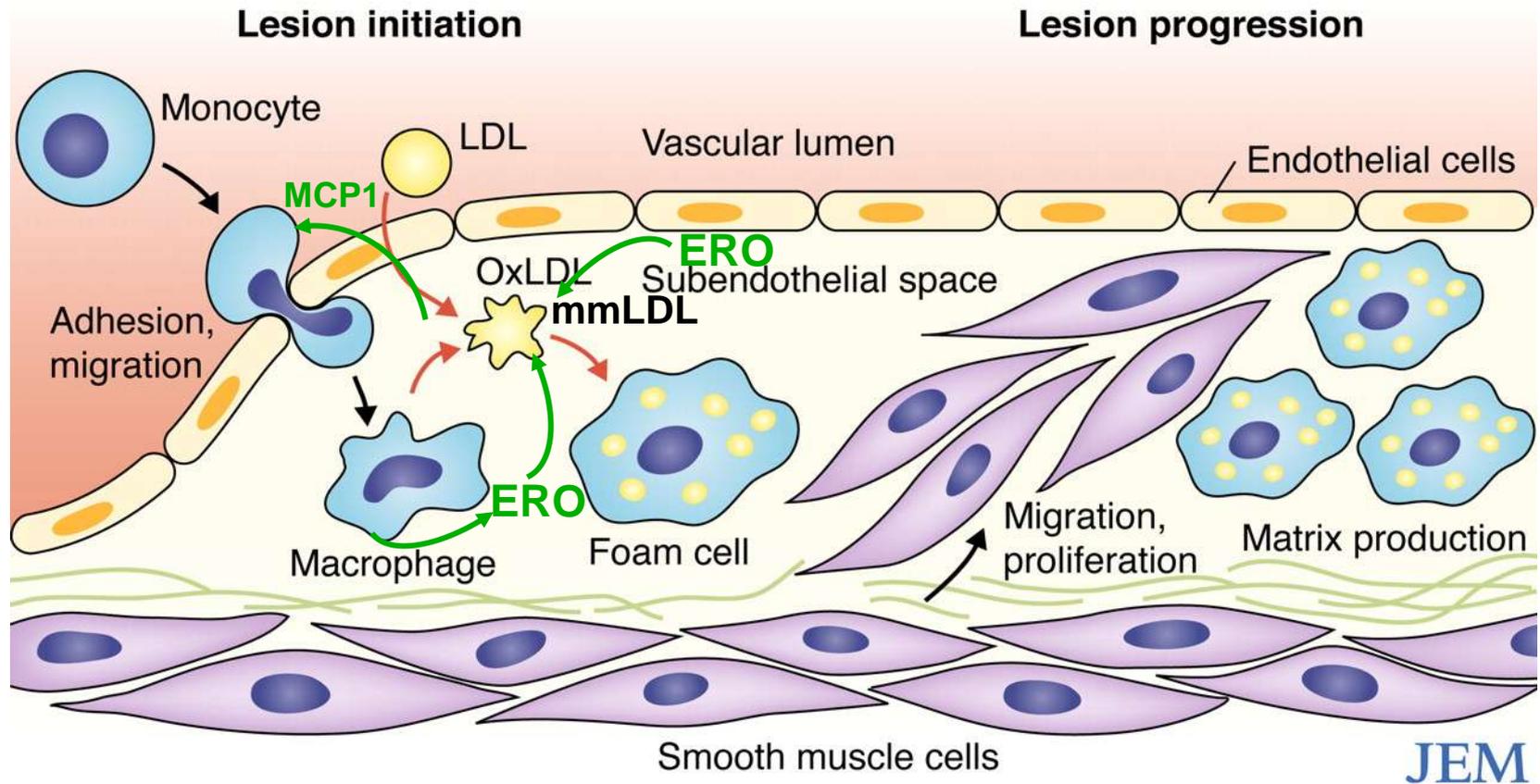


strie lipidique apparaissant sous l'endothélium artériel

2. Plaque fibreuse

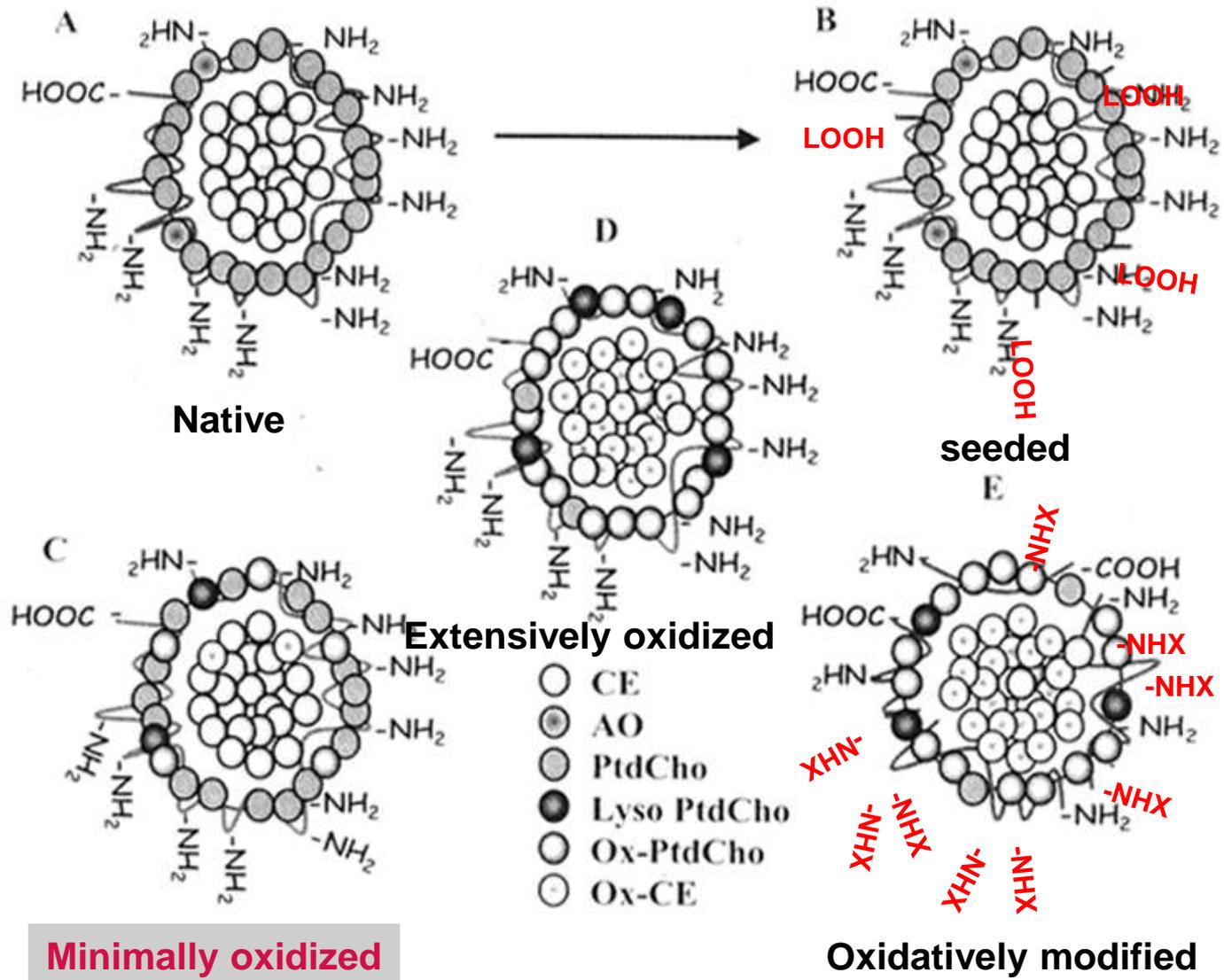


Les oxydations des LDL sont à l'origine de l'initiation de l'athérosclérose

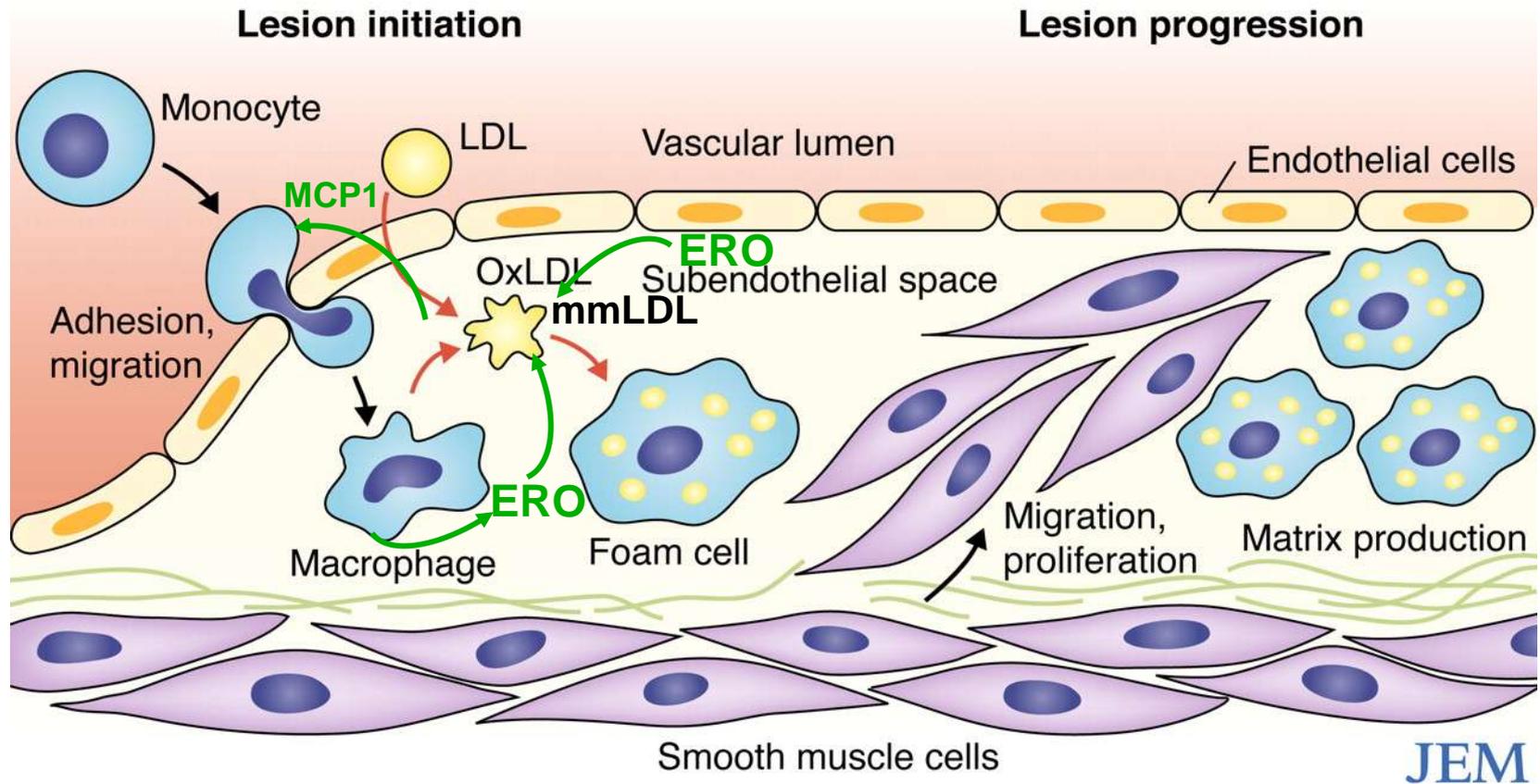


Heinecke J W J Exp Med 2006;203:813-816

Différentes formes de LDL oxydées

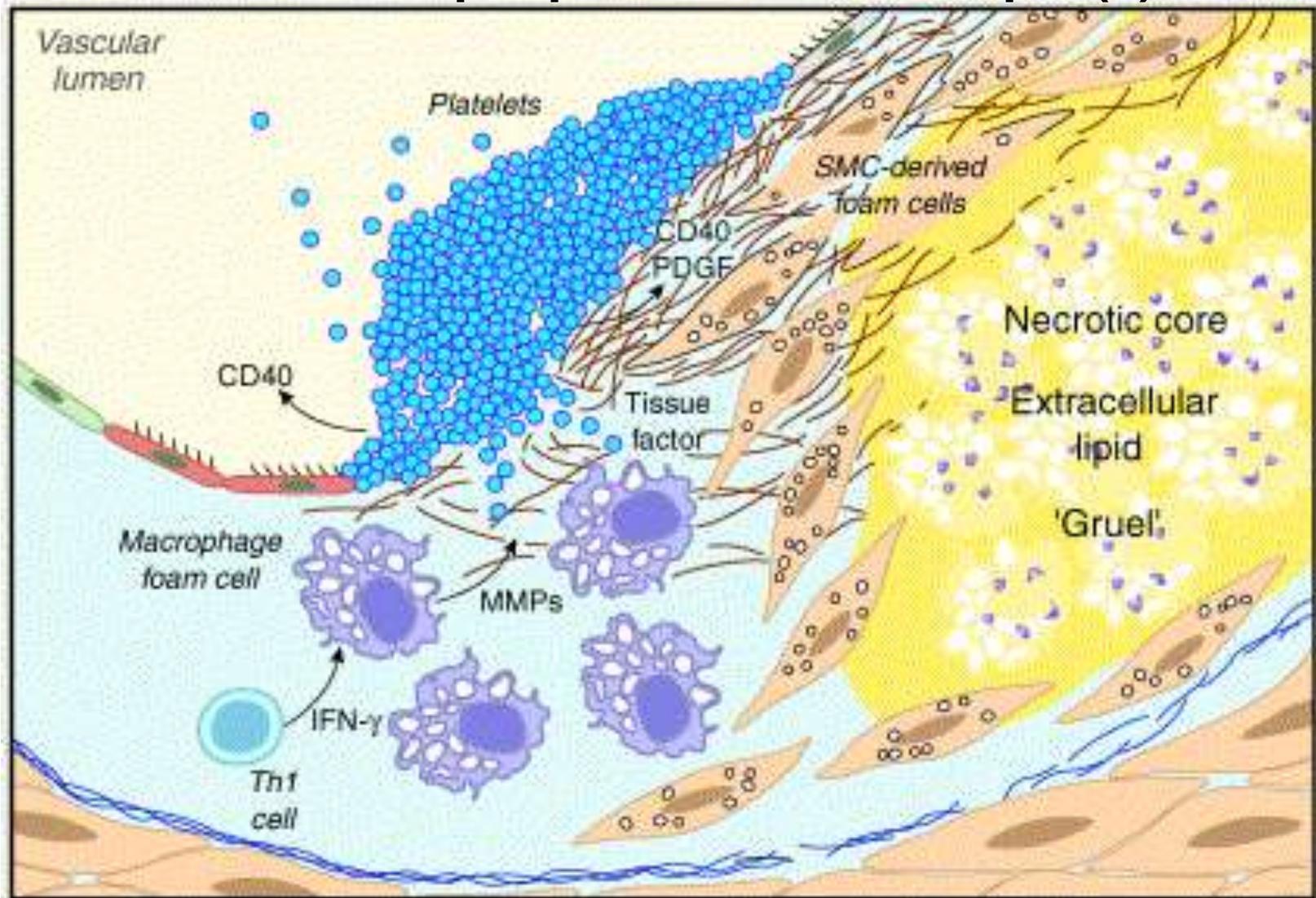


Les oxydations des LDL sont à l'origine de l'initiation de l'athérosclérose

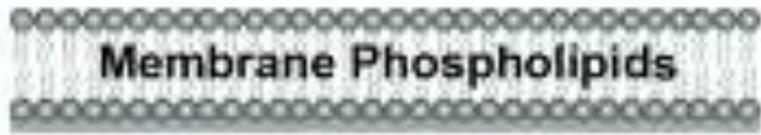


Heinecke J W J Exp Med 2006;203:813-816

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 Δ
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 Δ
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?



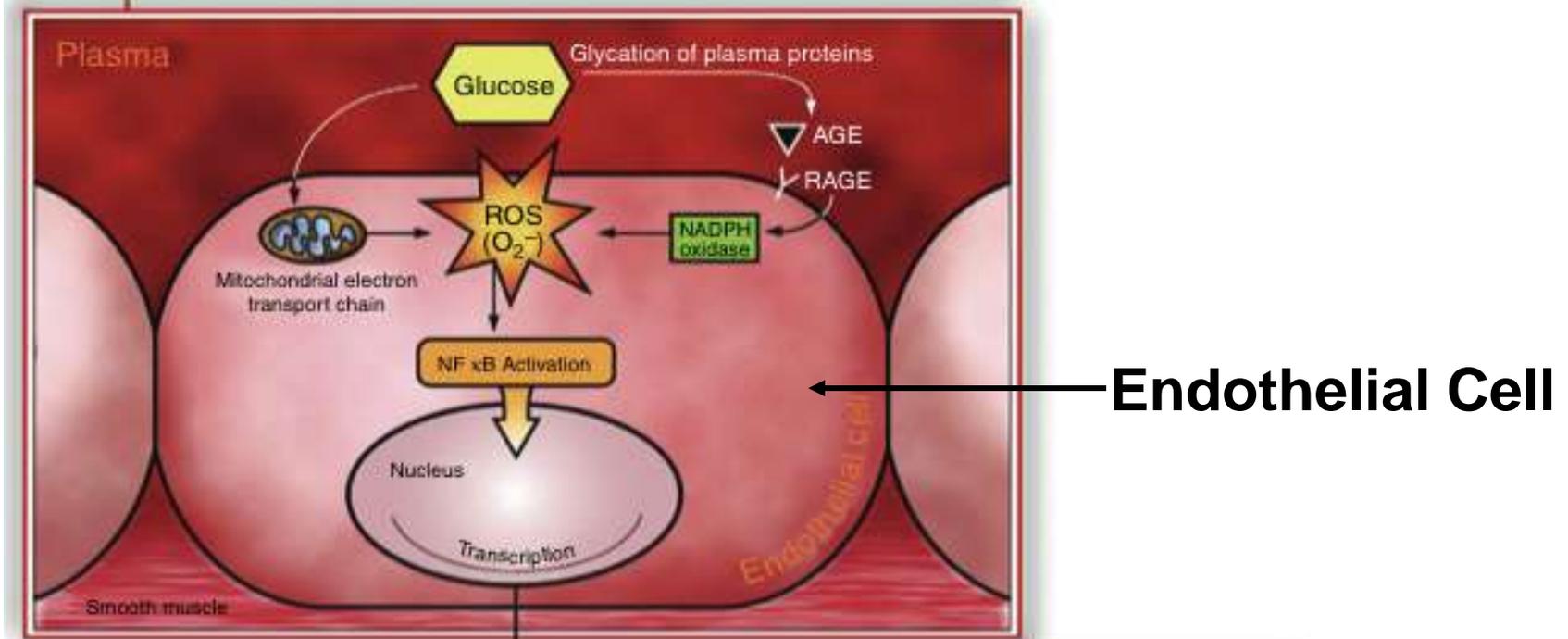
La réduction des IsoPs doit elle être *précoce* dans la phase d'athérogénèse pour avoir des effets bénéfiques ou est ce que la diminution des IsoPs au *stade avancé* de la maladie est également bénéfique?

ETATS PATHOLOGIQUES IMPLIQUANT LE STRESS OXYDANT

Cause ou Conséquence

Pathologies chroniques	Pathologies aiguës
<ul style="list-style-type: none">•Athérosclérose•Cancer•Diabète•Cataracte, DMLA•Maladie d'Alzheimer•Vieillessement	<ul style="list-style-type: none">•Lésions de reperfusion post-ischémique (infarctus, AVC, greffe d'organes)•Hyperoxygénation (O₂ hyperbare)•Choc septique•Inflammation

Inflammation résultant de la production des ERO dans le diabète



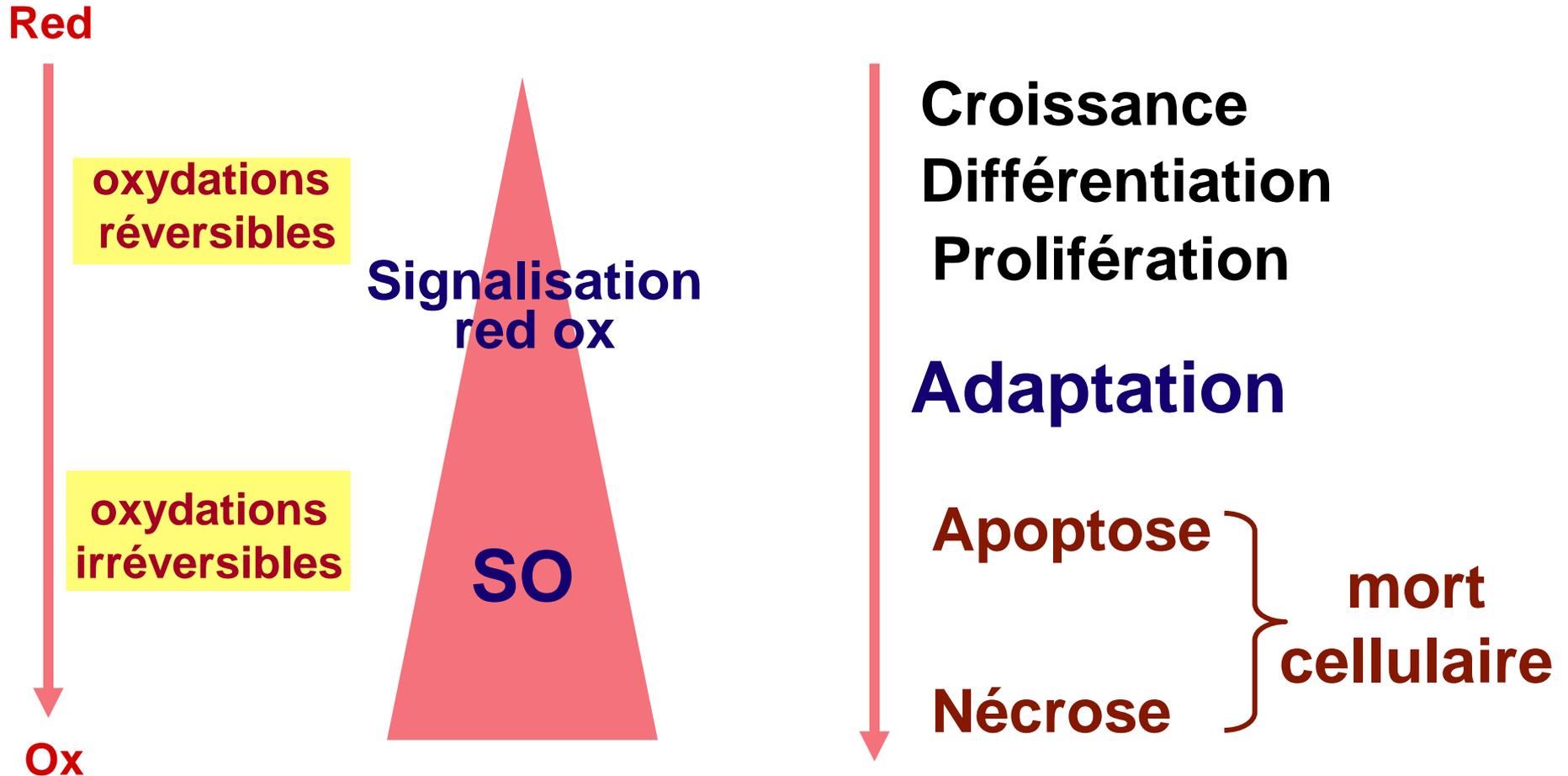
Endothelial Cell

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

Vasomotor imbalance	
<p>↓ No-availability (↓ Vasodilation)</p>	<p>↑ Endothelin-1 (↑ Vasoconstriction)</p>

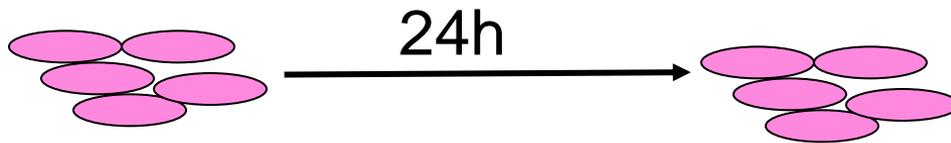
**Rôle des ERO et ERN
dans la signalisation cellulaire
Application à l'adaptation**

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



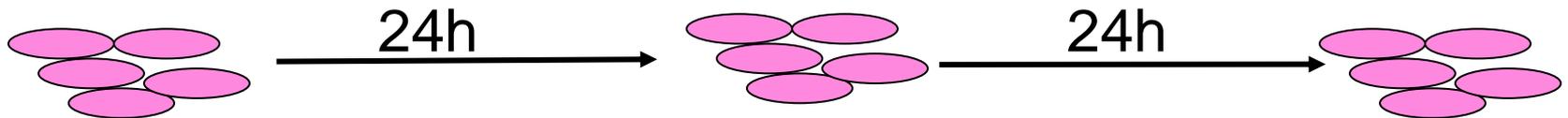
mise en évidence de l'adaptation (principe de l'hormésie)

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



Cellules + H₂O₂ 1mM

Mort cellulaire



Cellules + H₂O₂ 100nM

H₂O₂ 1mM

Survie cellulaire

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

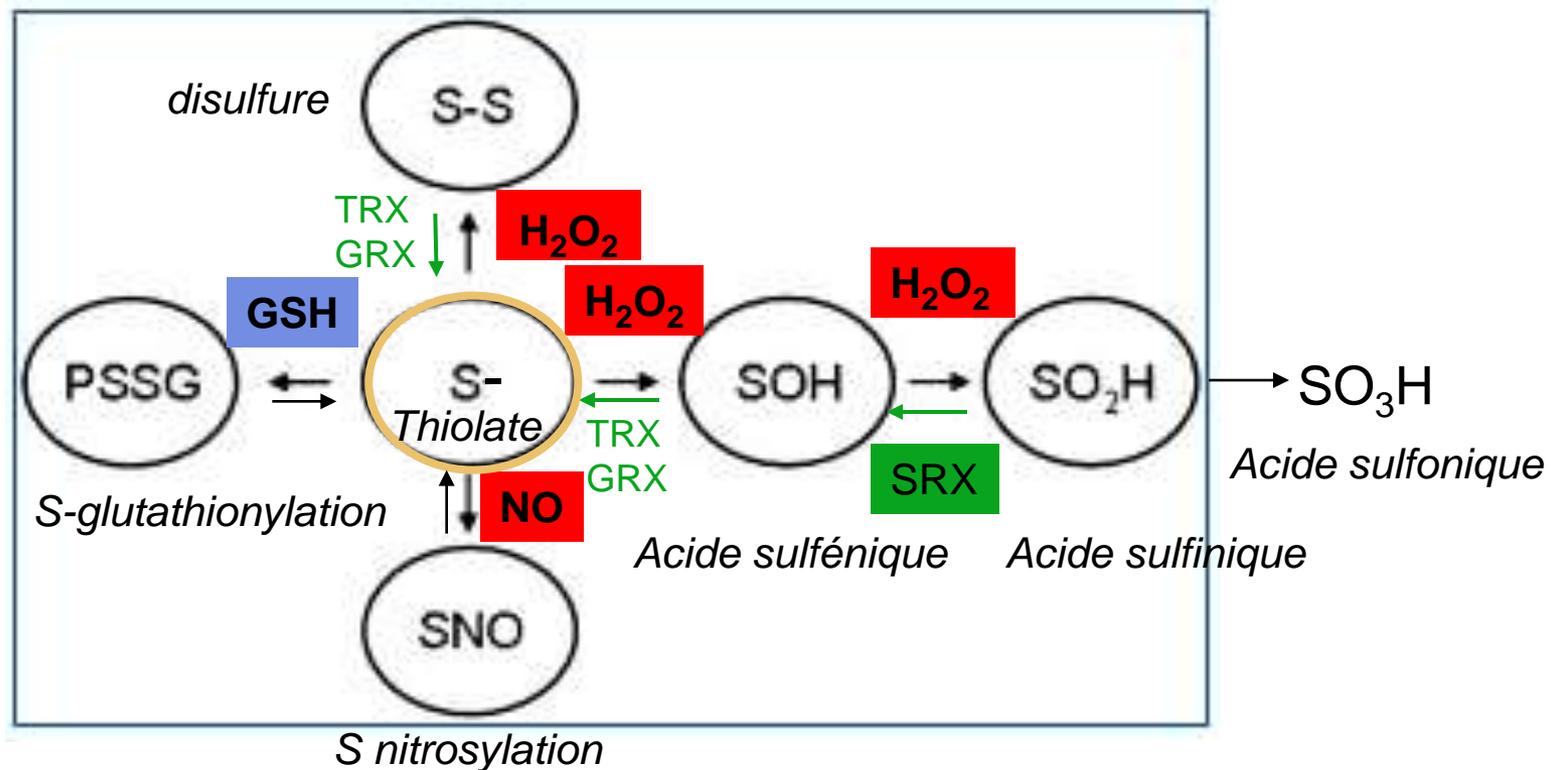
Modification **réversible** des groupements thiols des cystéines des protéines

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

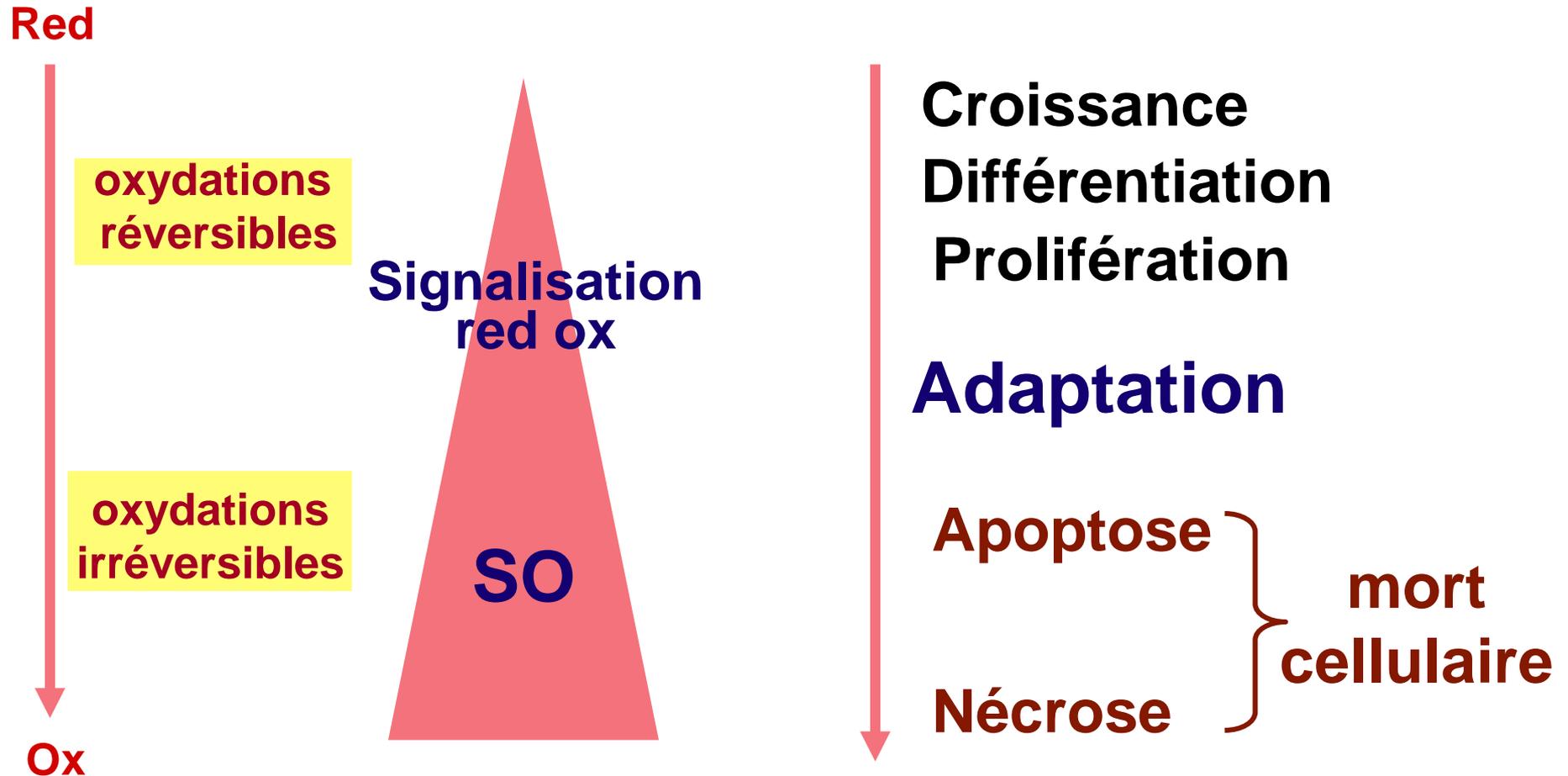
Caspases (Inhibition par H_2O_2 et NO)

Métalloprotéinases (activées par H_2O_2 et NO)

Régulation des facteurs de Transcription

NK κ B activé par H_2O_2 , inactivé par NO

Effets cellulaires des ERO et ERN

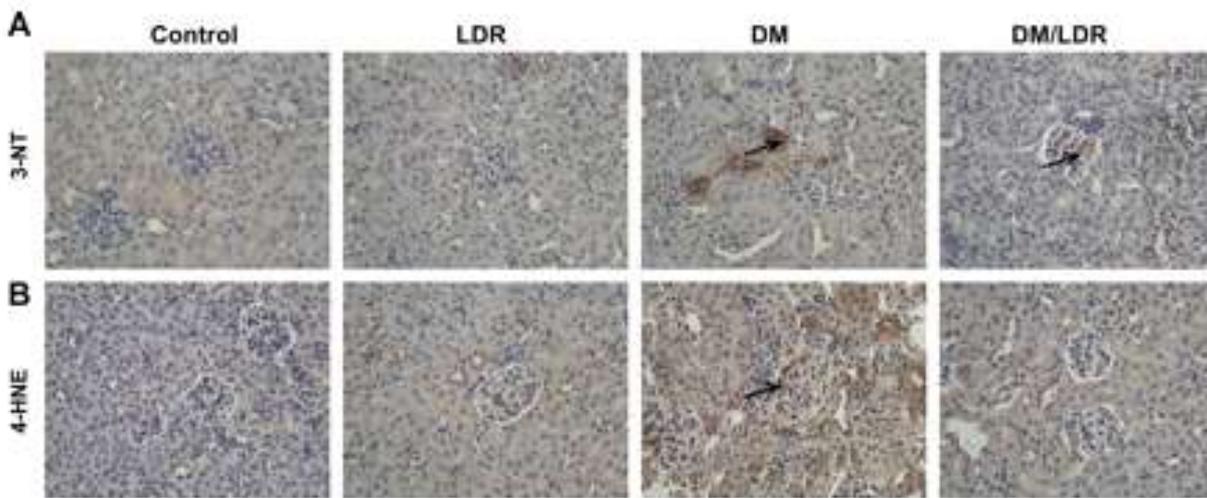


Des expositions répétées à de faibles doses de radiations ionisantes atténuent la néphropathie rénale chez le diabétique

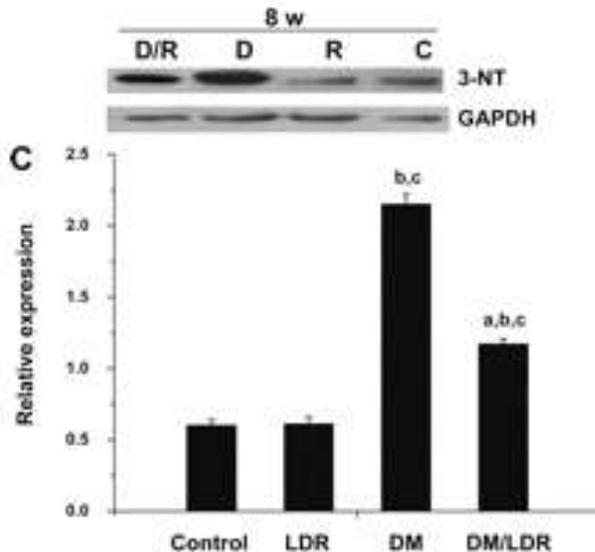
Des souris diabétiques sont soumises à 25 mGy/j pendant 16 semaines

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

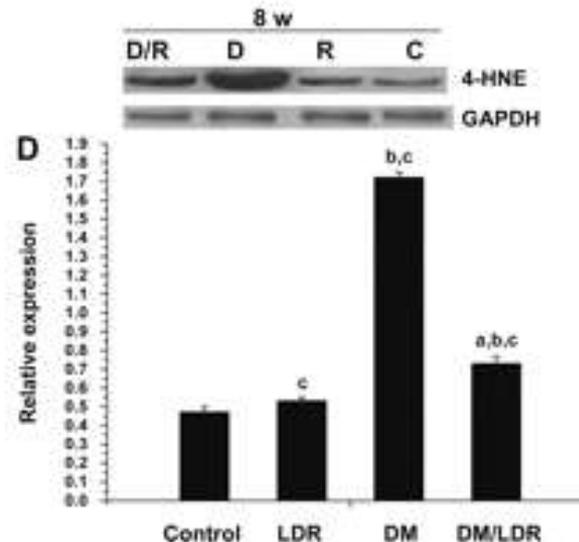
Biomarqueurs du stress oxydant



3-NT



4 HNE



LDR: Low Radiation doses
DM: diabète méllitus

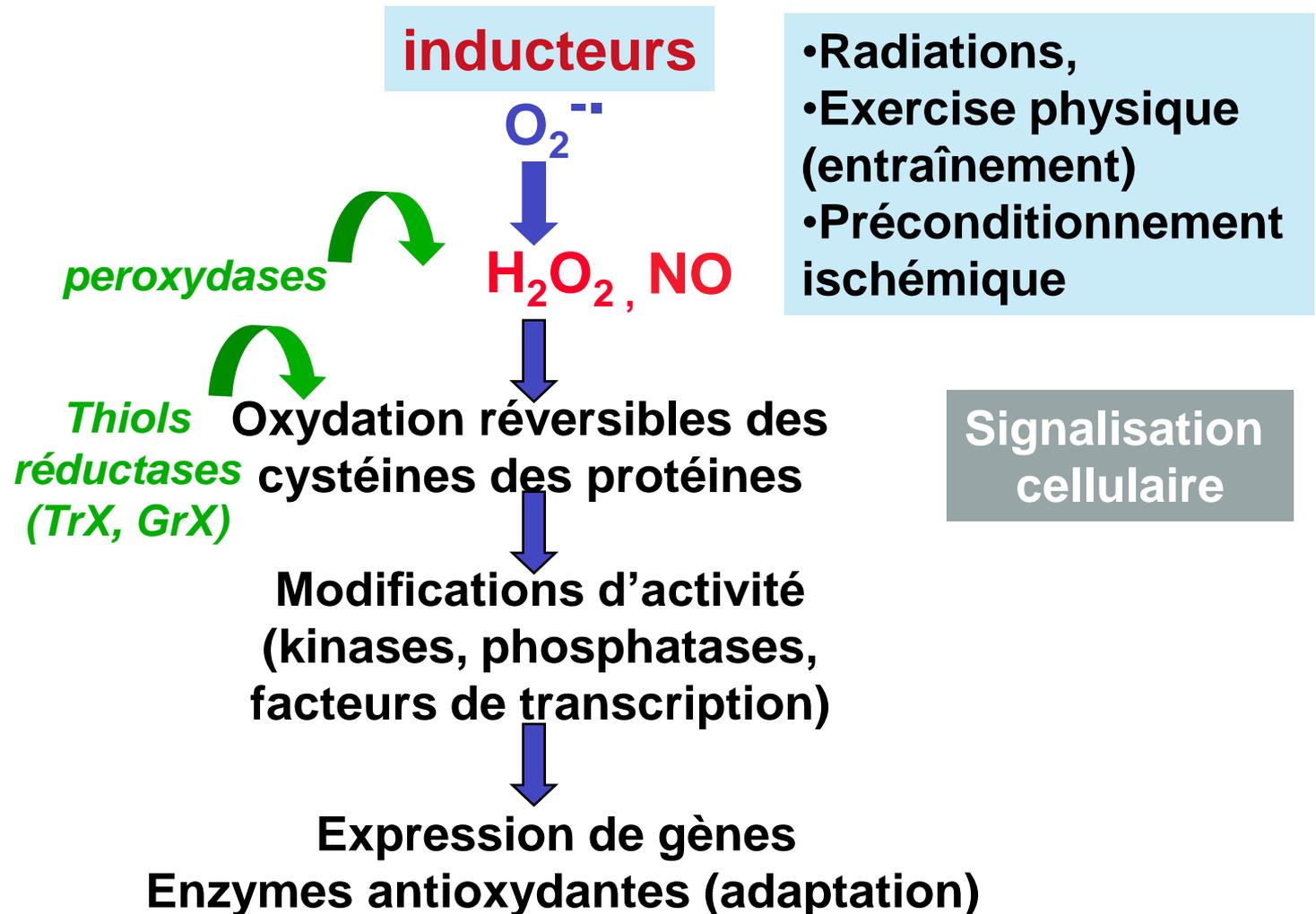
Zhang C. et al., *Endocrinology & Metabolism*, 2009, 297

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

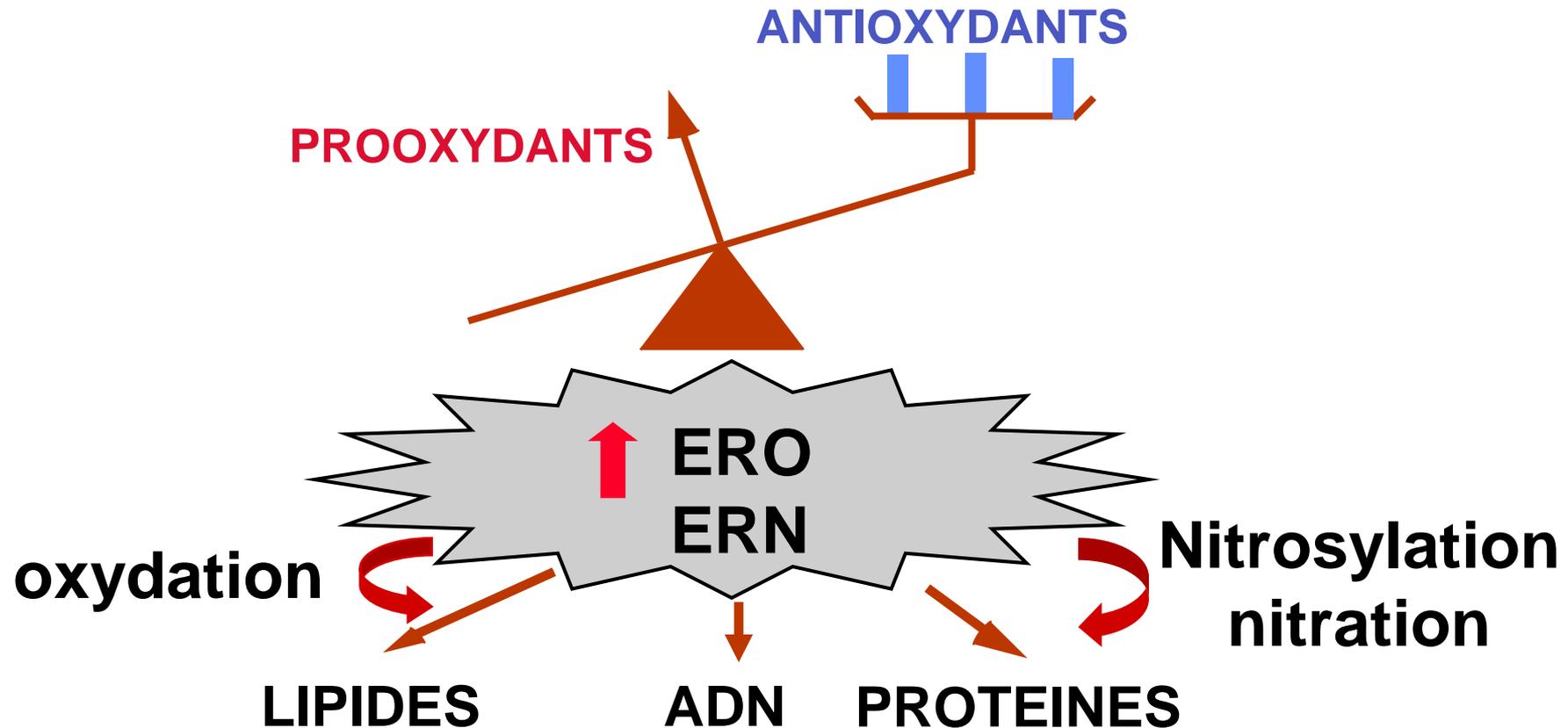
Des souris diabétiques sont soumises à 25 mGy/j pendant 16 semaines

-  **Diminution des marqueurs de l'inflammation**
(TNF α , 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^{me} 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 - 12h