

Polycopié du Cours

Matière : Biologie Moléculaire et Cellulaire II

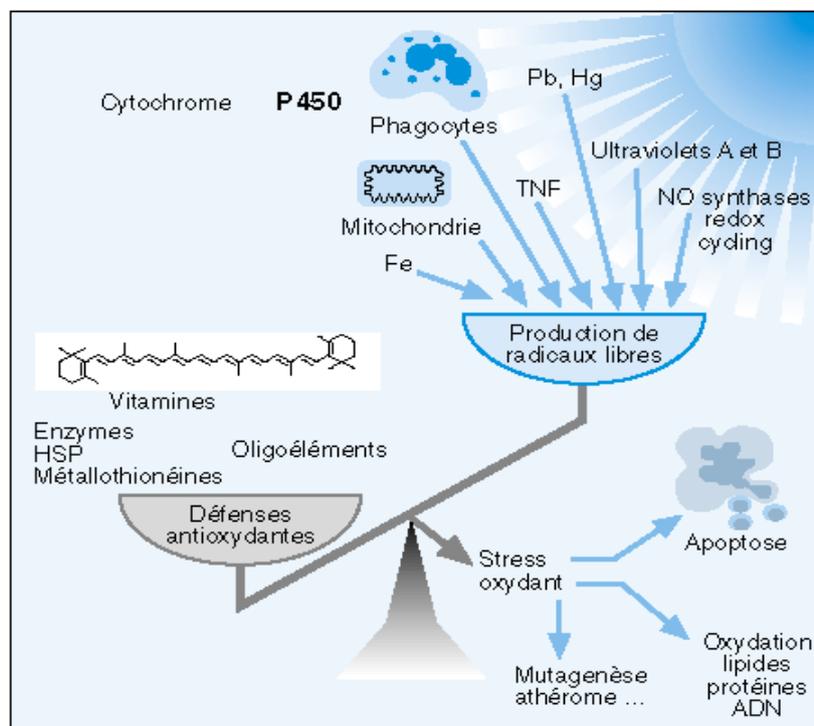
**Au profit des Etudiants des spécialités
M1 Biochimie Appliquée**

**Chargée de la matière
Dr Debbache-Benaida Nadjat**

Le stress oxydatif

Le stress oxydatif, dans les systèmes biologiques, se définit comme un déséquilibre de la balance oxydants/antioxydants en faveur des oxydants, provoquant des dommages cellulaires. Ce déséquilibre peut avoir diverses origines, telles que la surproduction endogène d'agents pro-oxydants d'origine inflammatoire. Un déficit nutritionnel en antioxydants ou une exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants (tabac, alcool, médicaments, rayons ultraviolets, pollution atmosphérique, métaux toxiques etc.). La production des molécules oxydantes est une conséquence inévitable du métabolisme aérobie. L'organisme a besoin d'oxygène pour produire de l'énergie au cours des réactions dites de respirations oxydatives. Cependant, une faible partie de l'oxygène échappe à sa réduction en eau, au niveau de la mitochondrie. Elle peut alors être à l'origine de la production de radicaux libres oxygénés.

Le stress oxydant est impliqué dans de nombreuses maladies cardiovasculaires comme l'athérosclérose, les accidents cérébro-vasculaires, les maladies hépatiques et rénales telle la glomérulonéphrite, le cancer, les troubles neurologiques comme la maladie d'Alzheimer, les maladies articulaires inflammatoires et l'asthme, la cataracte, l'obésité, les ulcères gastriques, l'hémochromatose. Ces troubles, dont la prévalence atteint des niveaux épidémiques, sont donc au centre des préoccupations de la santé publique.



Cause et conséquence du stress oxydant

Les radicaux libres

Les radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques car ils sont utiles pour l'organisme à doses raisonnables. Un radical libre est une espèce chimique possédant un ou plusieurs électrons non appariés sur sa couche externe (Figure 1) ce qui lui confère une grande instabilité. Un RL a donc la capacité de capter ou de céder un électron à une autre molécule de son entourage, pour être stable. Ils font partie des espèces réactives qui dérivent soit de l'oxygène (espèces réactives oxygénées) soit de l'azote (espèces réactives nitrogénées), ils sont les produits du métabolisme cellulaire normal et possèdent des rôles physiologiques importants.

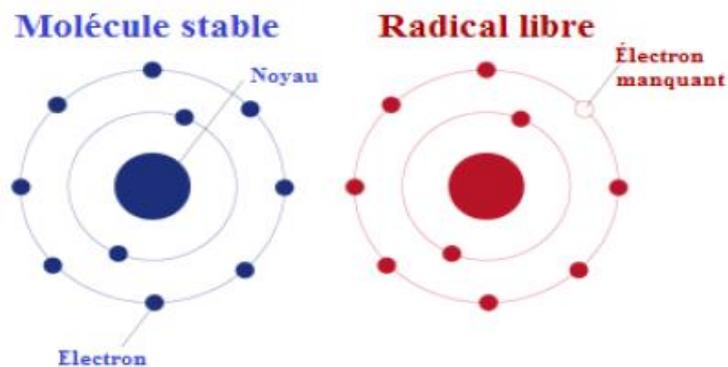


Figure 1: Schéma d'une molécule stable et d'un radical libre.

Ils sont extrêmement réactifs et ils sont directement formés à partir de l'oxygène (anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), radical hydroxyle (OH^{\cdot}) ou de l'azote dont le représentant majeur est le monoxyde d'azote (NO^{\cdot}). L'oxygène singulet (1O_2), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou le nitroperoxyde ($ONOOH$) ne sont pas de vrais radicaux libres, mais plutôt des précurseurs, présentant néanmoins une certaine réactivité.

Radicaux libres primaires

Il s'agit des espèces réactives de l'oxygène et du nitrogène (ERO), le terme ERO est donné aux espèces oxygénées radicalaires tels que l'anion superoxyde et le radical hydroxyle et non radicalaires tel que l'oxygène singulet et le peroxyde d'hydrogène.

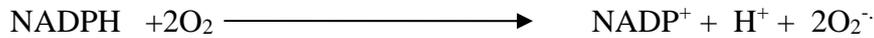
L'oxygène singulet (1O_2)

L'oxygène singulet est la forme «excitée» de l'oxygène moléculaire, ce radical résulte d'une inversion de spin des électrons de l'orbitale externe, il possède deux formes; la forme delta ($^1\Delta_g O_2$) et la forme sigma ($^1\Sigma_g O_2$) qui a une grande réactivité et une courte demi-vie car elle est rapidement transformée en forme delta



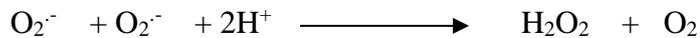
- **L'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$)**

Le $O_2^{\cdot-}$ résulte de la réduction de l'oxygène par différentes oxydases, on cite la Xanthine oxydase (XO), la glucose oxydase, la NADPH oxydase



- **Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)**

Le $O_2^{\cdot-}$ est peu réactif, il ne traverse pas les membranes cellulaires et il est rapidement dismuté en H_2O_2 catalysée par un des membres de la famille des superoxydes dismutases (SOD)



- **Le radical hydroxyle (OH^{\cdot})**

Une espèce hautement réactive, qui peut être générée durant la réaction de Haber-Weiss/Fenton qui consiste en une étape de réduction du fer par le $O_2^{\cdot-}$ et une étape de génération de OH^{\cdot} via la réaction de Fenton .

Le H_2O_2 est également peu réactif mais il a la capacité de traverser les membranes cellulaires et, en présence de métaux de transition tel que le Fe^{2+} , de se transformer en un puissant oxydant, le radical hydroxyle, selon la réaction de Fenton (Réaction 4).

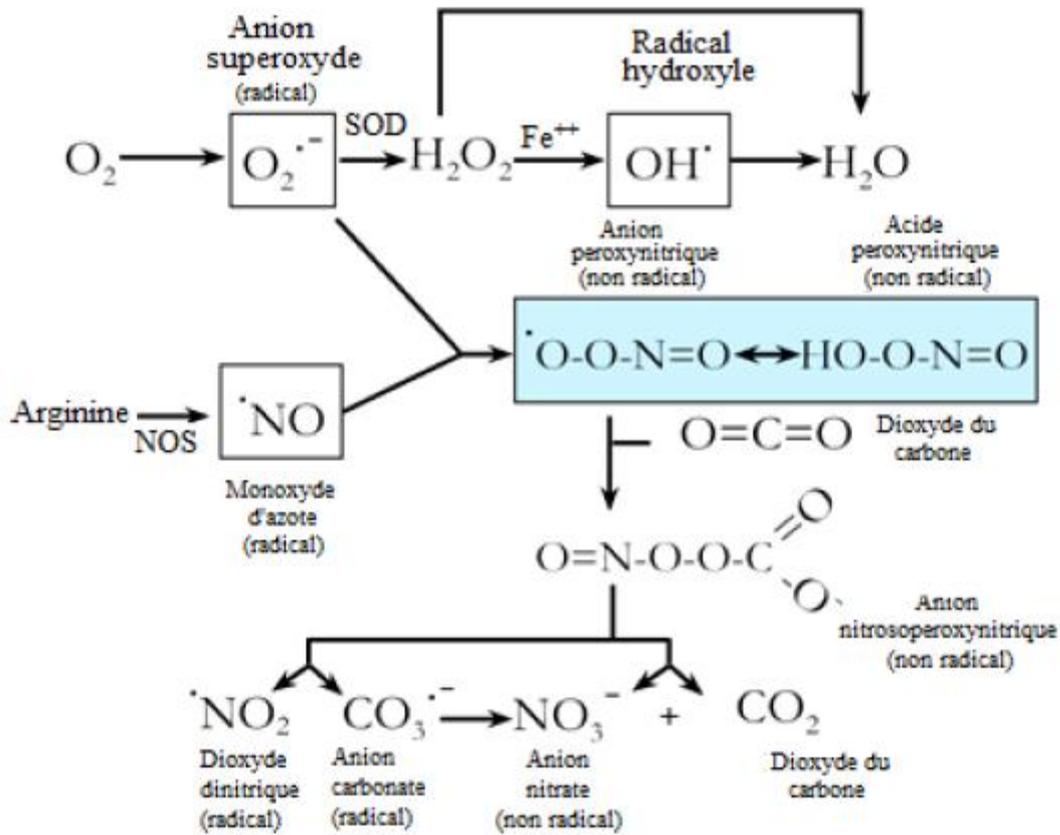


Le radical superoxyde peut réduire le Fe^{3+} et régénérer le Fe^{2+} , selon la réaction:

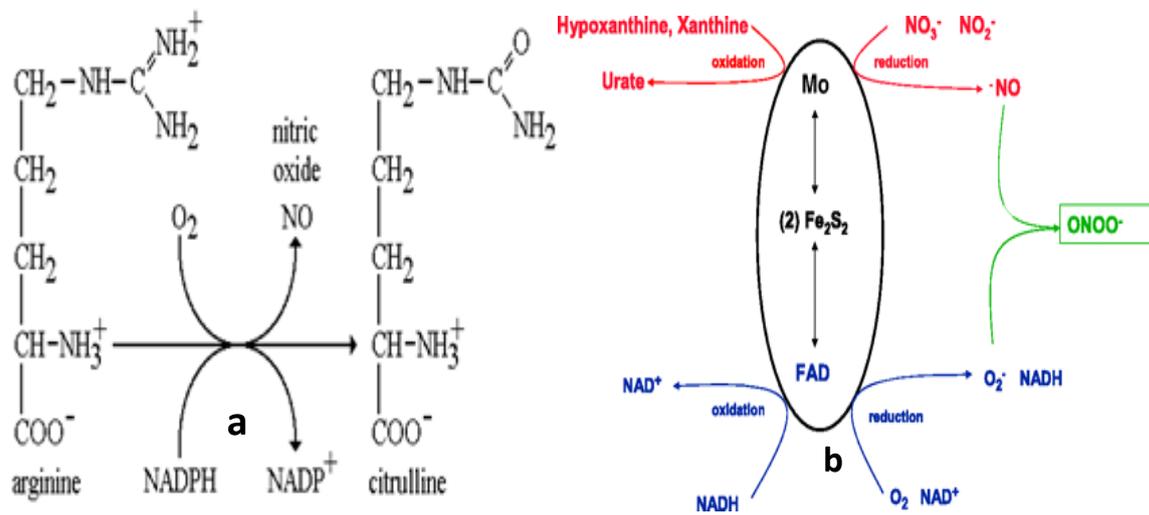


Le bilan de ces deux dernières réactions (ou réaction 6 d'Haber-Weiss) est donc :





- Les radicaux oxyde nitrique (NO•) et peroxy-nitrite (ONOO•)

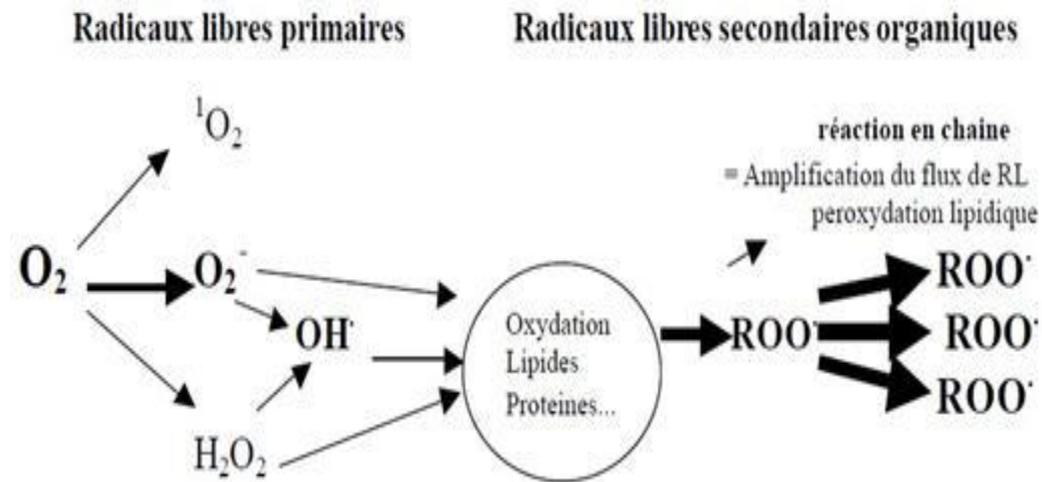


Biosynthèse du NO• par: a) La NOS b) La XOR

Les radicaux libres secondaires

Les radicaux libres secondaires sont de grandes molécules, qui ne sont pas formés spontanément. Ils sont formés par l'action d'un radical libre primaire sur un composant

cellulaire (acides nucléiques, lipides membranaires et protéines) (Favier, 2003). Le radical peroxy ($\text{ROO}\cdot$) est un radical très réactif avec la plupart des molécules, il est impliqué notamment dans la propagation de l'oxydation des acides gras polyinsaturés des membranes cellulaires.

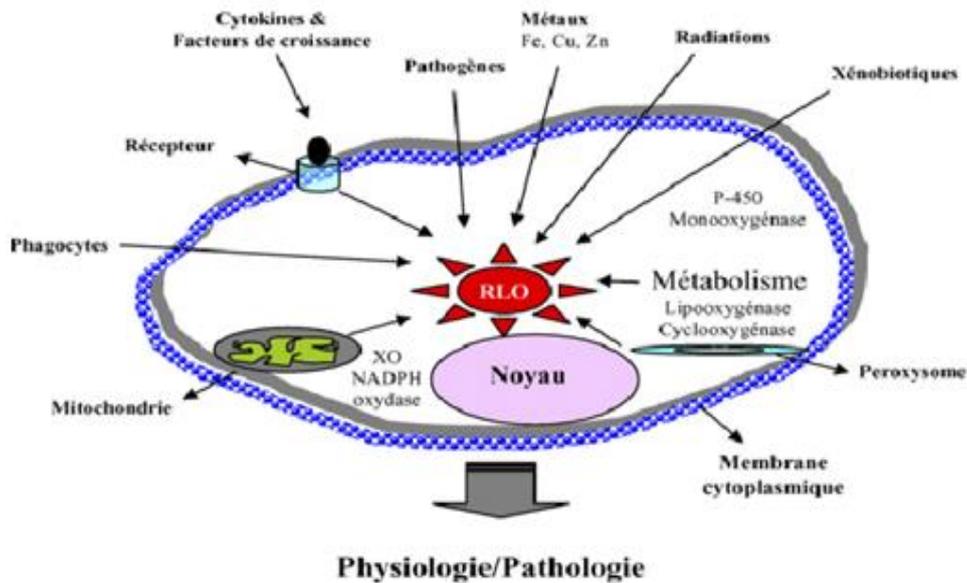


Sources des radicaux libres

Les cellules utilisant l'oxygène produisent différentes espèces réactives de l'oxygène ou du nitrogène, impliquées dans des milliers de réactions chimiques qui accompagnent l'activité métabolique cellulaire. Les agents et stimuli endogènes ou exogènes à l'organisme induisant la production de substances pro-oxydantes hautement cytotoxiques sont nombreux.

a) Production endogène des radicaux libres

Le métabolisme cellulaire (respiration oxydative mitochondriale, dégradation de composés étrangers par le système du cytochrome P450.); l'action d'enzymes, de cytokines et de mitogènes; la réponse immunitaire; l'exposition excessive à des facteurs environnementaux (xénobiotiques, sels métalliques, irradiation ionisante, pathogènes, etc.) génèrent des radicaux libres.

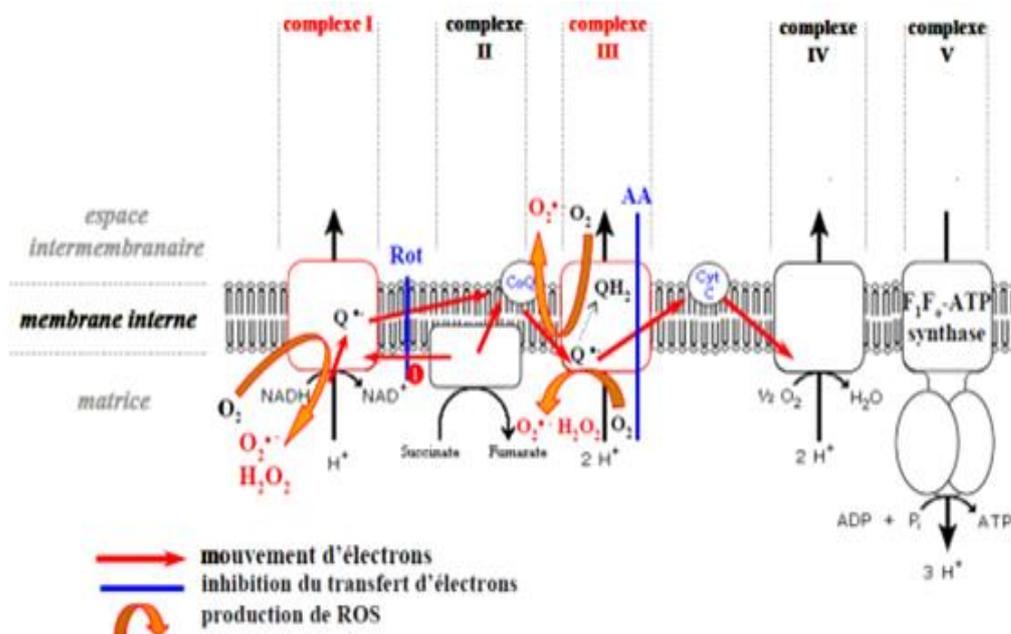


Différentes sources d'espèces réactives de l'oxygène

La formation des radicaux libres s'effectue au niveau de divers organites cellulaires à des fins de défense, pour la transduction des signaux et sont impliqués dans plusieurs processus physiologiques. Parmi ces organites:

- les mitochondries

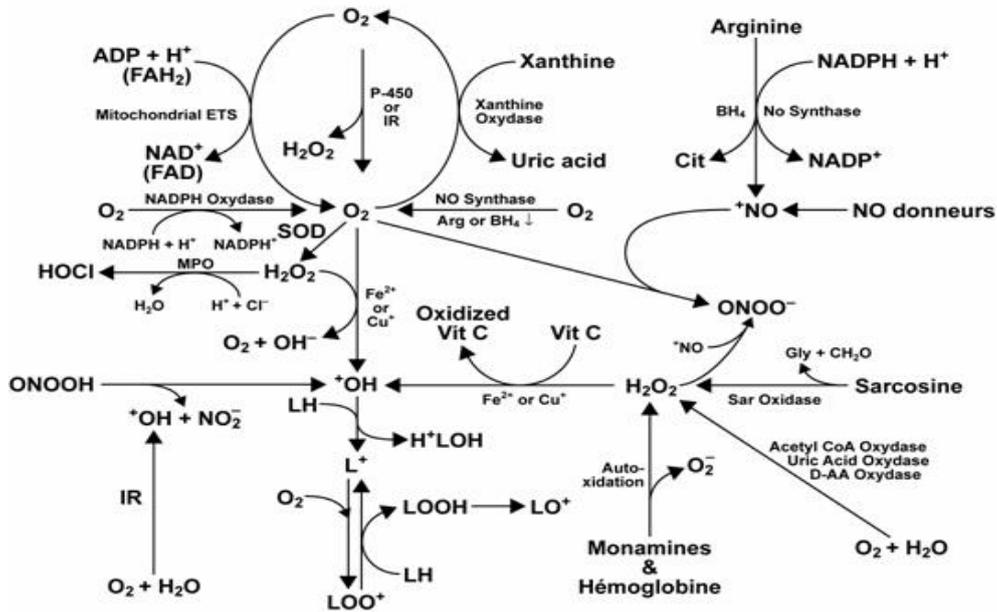
Environ 2 % de l'oxygène subit une réduction monovalente conduisant à la formation de $O_2^{\cdot -}$ et H_2O_2 au niveau de l'ubiquinone. Cette réaction est catalysée par la cytochrome oxydase, accepteur terminal d'électrons présent dans le complexe IV de la chaîne de transport des électrons située dans la membrane interne mitochondriale.



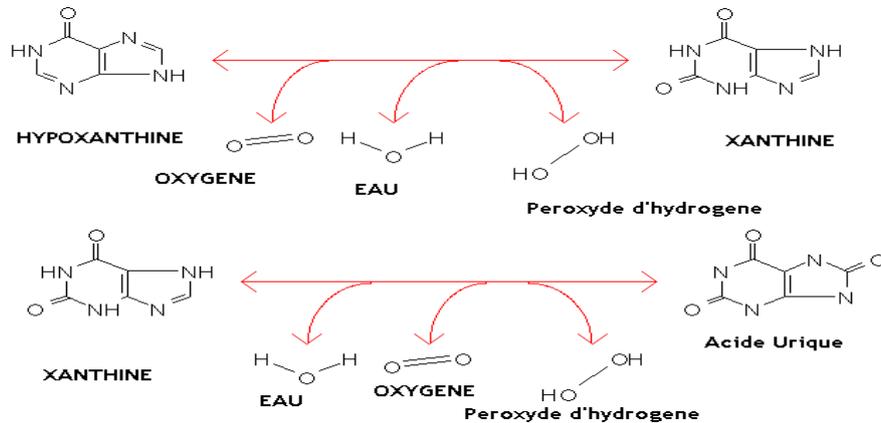
Sites de production des ERO au niveau de la chaîne respiratoire

- le cytosol

Dans le cytosol diverses réactions enzymatiques peuvent produire des radicaux libres,

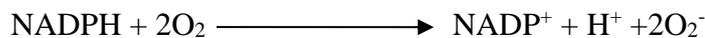


sources enzymatiques des espèces réactives de l'oxygène et de l'azote



Réactions catalysées par la xanthine oxydase.

-La NADPH oxydase est présente dans les neutrophiles, elle est responsable de leurs propriétés bactéricides où elle pourrait intervenir par la formation d'ions superoxydes à partir de l'oxygène (Réaction 8) (Fortuno et al., 2005).



-Les petites molécules cytoplasmiques : les phénomènes d'auto-oxydation des petites molécules solubles dans le cytoplasme (hémoglobine, des flavines, des quinones, cathécolamines) produisent des radicaux libres par la réduction partielle de l'oxygène, quand ces molécules oxydées sont encore réduites un cycle redox s'établi.

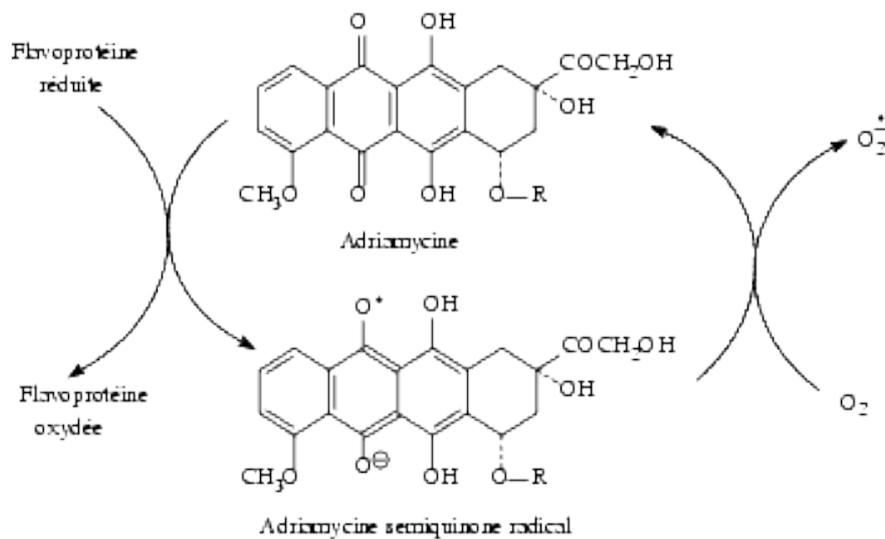
- Le peroxysome

Le peroxysome contient de nombreuses enzymes générant le H₂O₂. Toutefois, ce dernier est utilisé comme substrat par la catalase peroxysomale afin de réaliser des réactions de peroxydation d'autres substrats.

- Le réticulum endoplasmique

Le réticulum endoplasmique lisse contient des enzymes qui catalysent des réactions de détoxification. La NADPH cytochrome P450 réductase capable de réduire l'O₂ en O₂⁻ pendant l'oxydation des acides gras insaturés et les xénobiotiques.

Un certain nombre de médicaments, notamment l'adriamycine, la bléomycine et des toxiques comme le paraquat, constituent une source renouvelable de radicaux libres, grâce à des phénomènes de régénération des formes oxydées/réduites, appelés cycles redox.



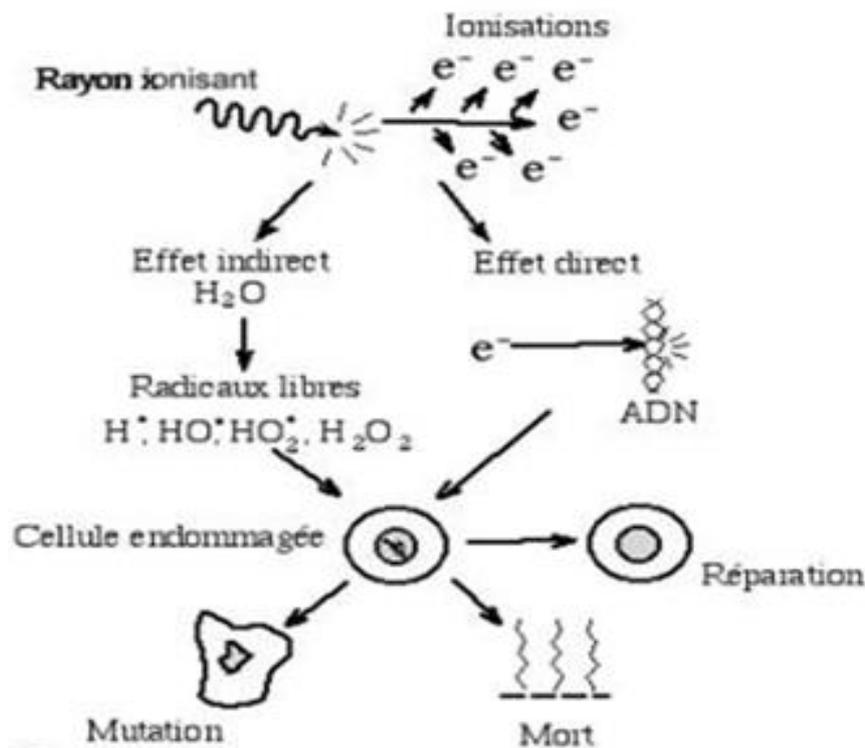
Production du superoxyde pendant le cycle redox

Sources exogènes de radicaux libres

La génération de radicaux libres apparaît donc essentiellement intracellulaire, mais elle peut être d'origine extracellulaire.

Rayonnement électromagnétique

Les rayonnements ionisants (x , γ) produisent les RL en arrachant des électrons au cours de leur ralentissement, ce qui provoque la radiolyse de la molécule d'eau contenue dans les tissus exposés, qui conduit en présence d'oxygène à la formation d'anions superoxyde et hydroxyle.



Production des ERO par les radiations

- Métaux de transition

Les ions métalliques, comme le fer et le cuivre, sont des promoteurs de processus radicalaire *in vitro*: ils transforment H_2O_2 en $OH\cdot$, et accélèrent la peroxydation lipidique.

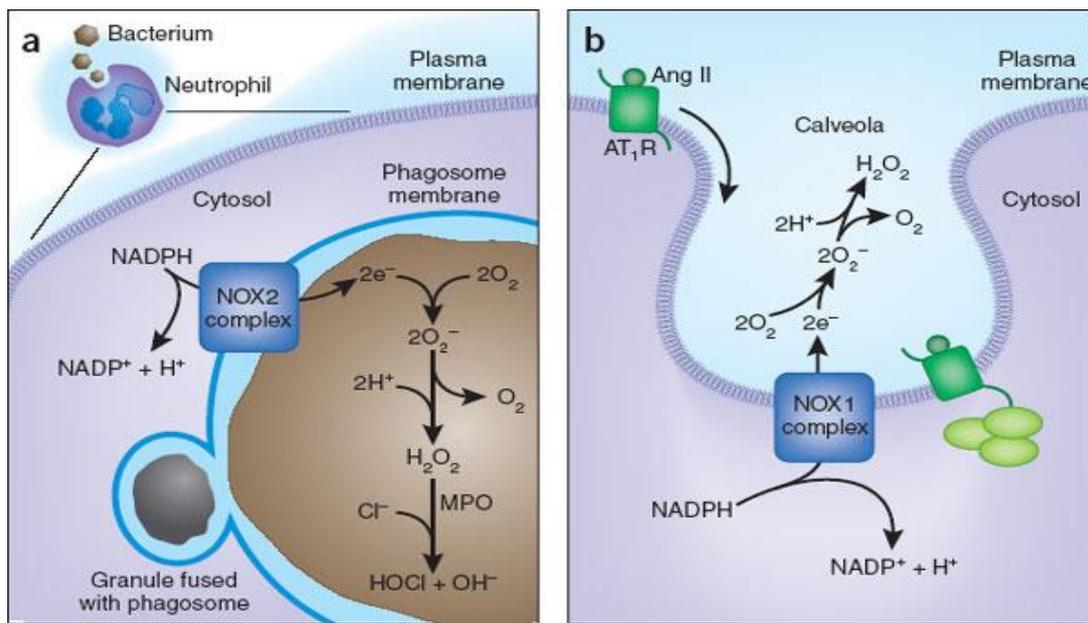
-Produits chimiques: la détoxification de certaines drogues comme les antiseptiques (métronidazole), médicaments comme la phénacétine (anti-inflammatoire non stéroïdien), pesticides (dichloro-diphényl-trichloro-éthane) et paraquat (herbicide), solvants (benzène) et les poussières d'amiante et de silice produisent des métaboliques toxiques durant leur cycle redox au niveau des hépatocytes.

Rôles des ERO et ERN

Il faut distinguer la production normale et continue de ces substances prooxydantes par le métabolisme cellulaire aérobie à l'état physiologique de leur accumulation excessive et cytotoxique dans les conditions physiopathologiques .

a) Rôles physiologiques

La production de substances oxydantes est un phénomène normal. Elles possèdent de nombreuses propriétés bénéfiques incluant :

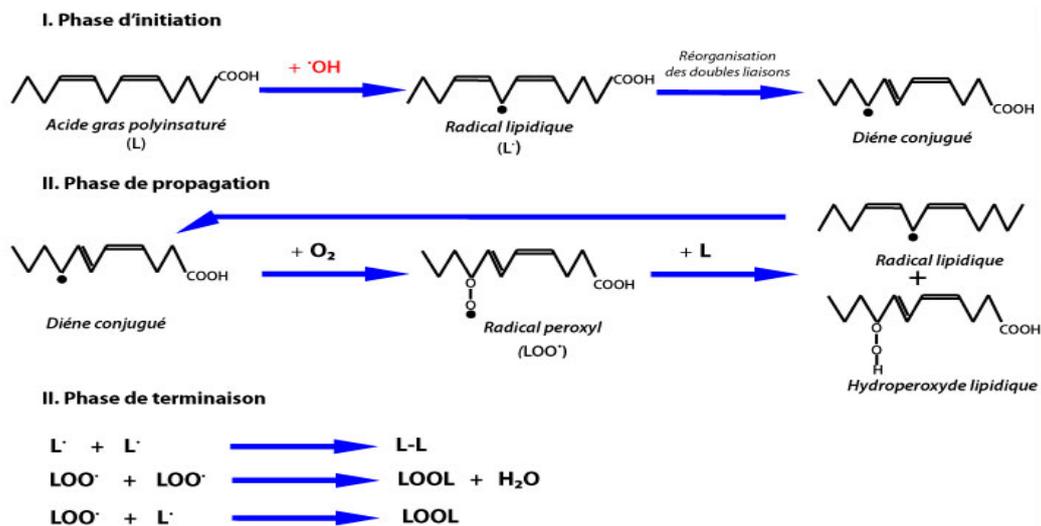
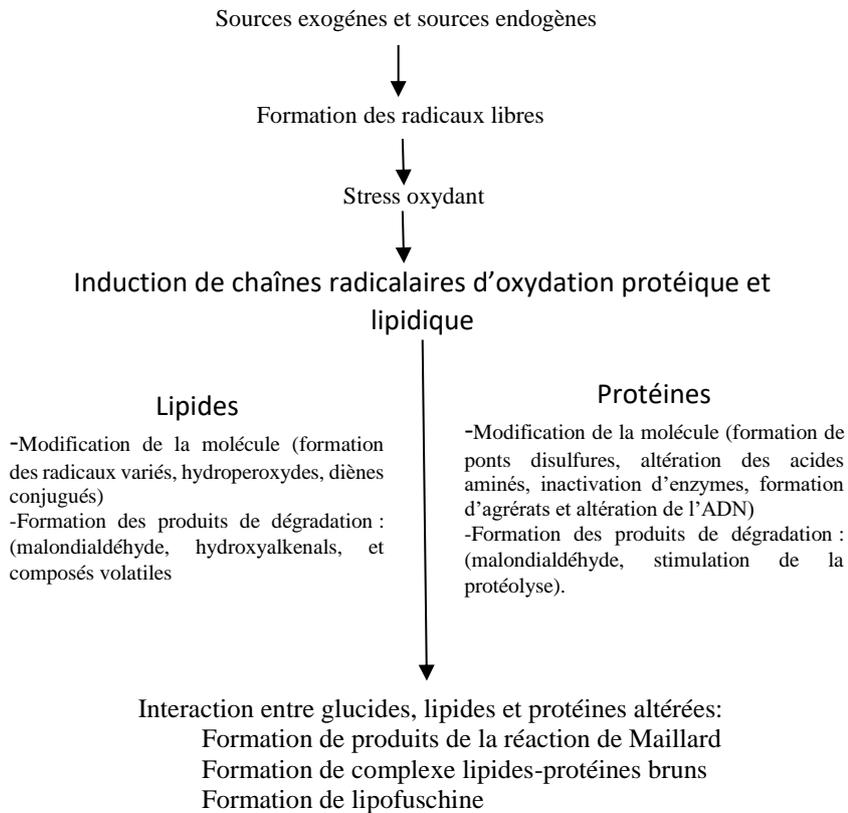


Génération des ERO par la NADPH oxydase

b) Propagation et toxicité radicalaire

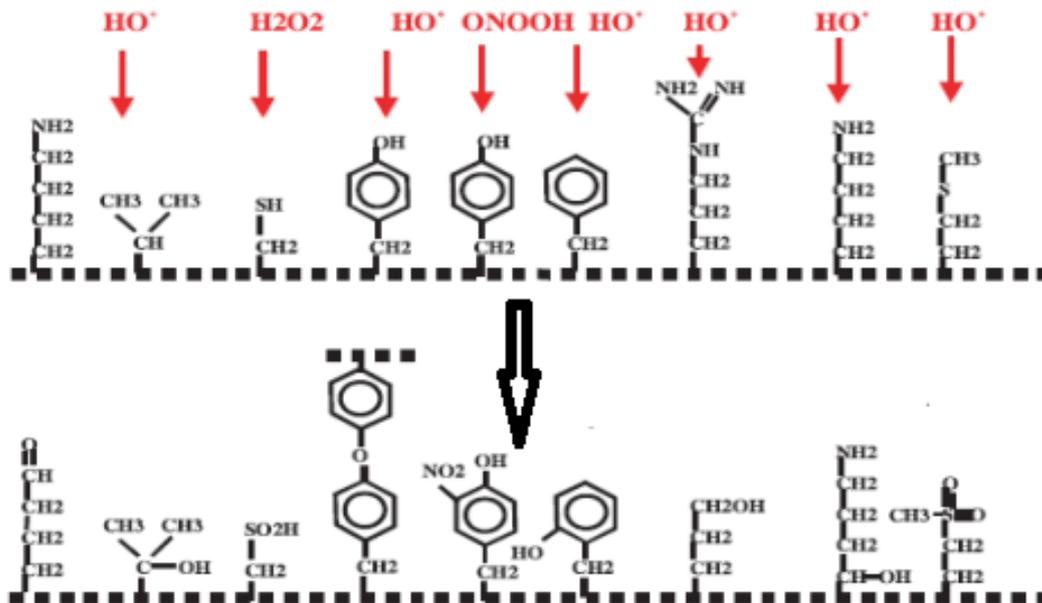
En cas de stress oxydant une partie des espèces réactives échappent au système de contrôle et vont donc pouvoir attaquer des cibles cellulaires.

- Peroxydation lipidique



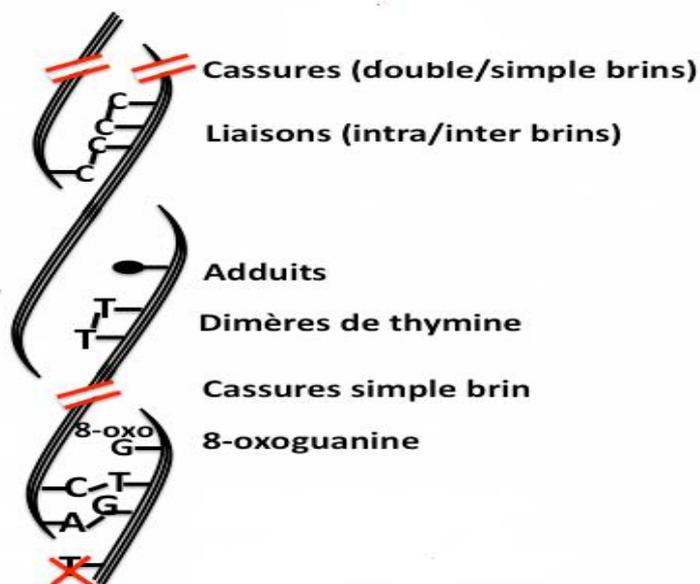
Mécanisme de peroxydation lipidique induite par le radical hydroxyle

- Oxydation des protéines



Nature de quelques modifications des chaînes latérales d'acides aminés des protéines après attaque radicalaire

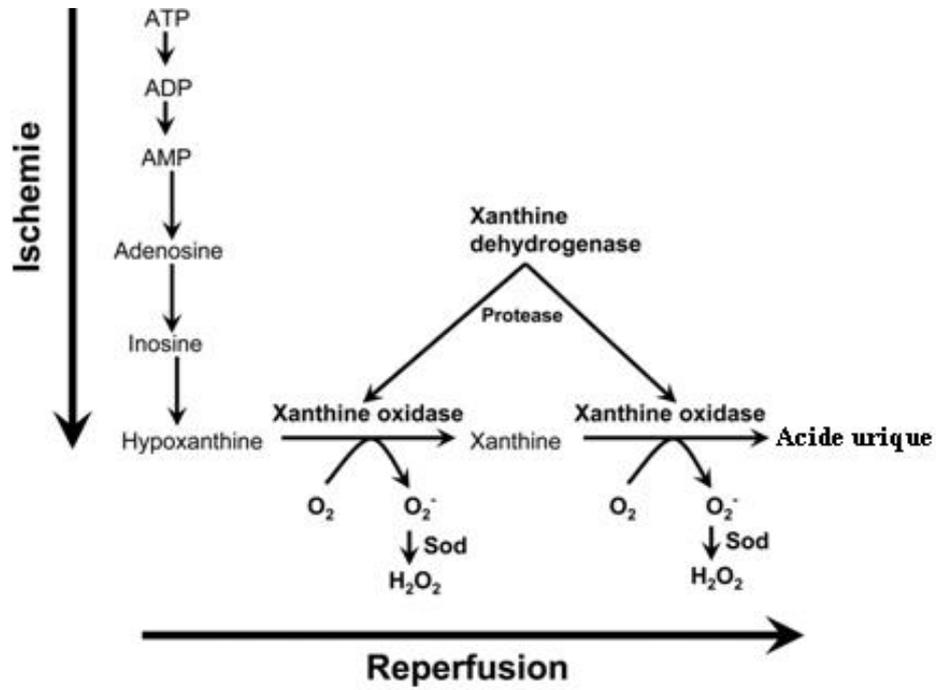
- Oxydation de l'ADN



Différents types de lésions provoquées au niveau de l'ADN par les ERO

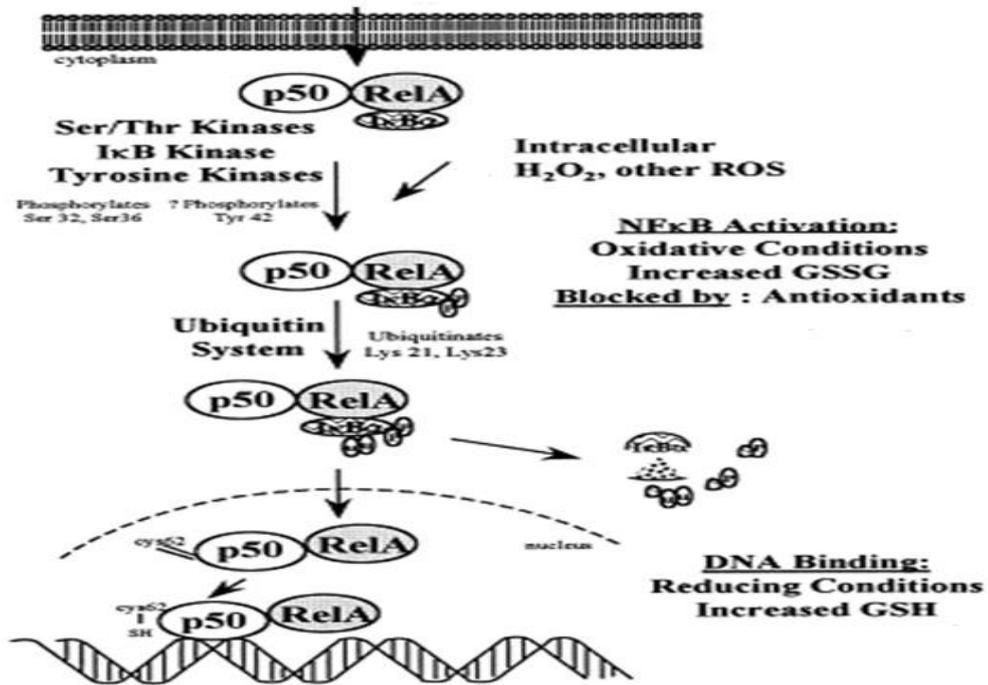
Les pathologies liées au stress oxydant

Ischémie reperfusion

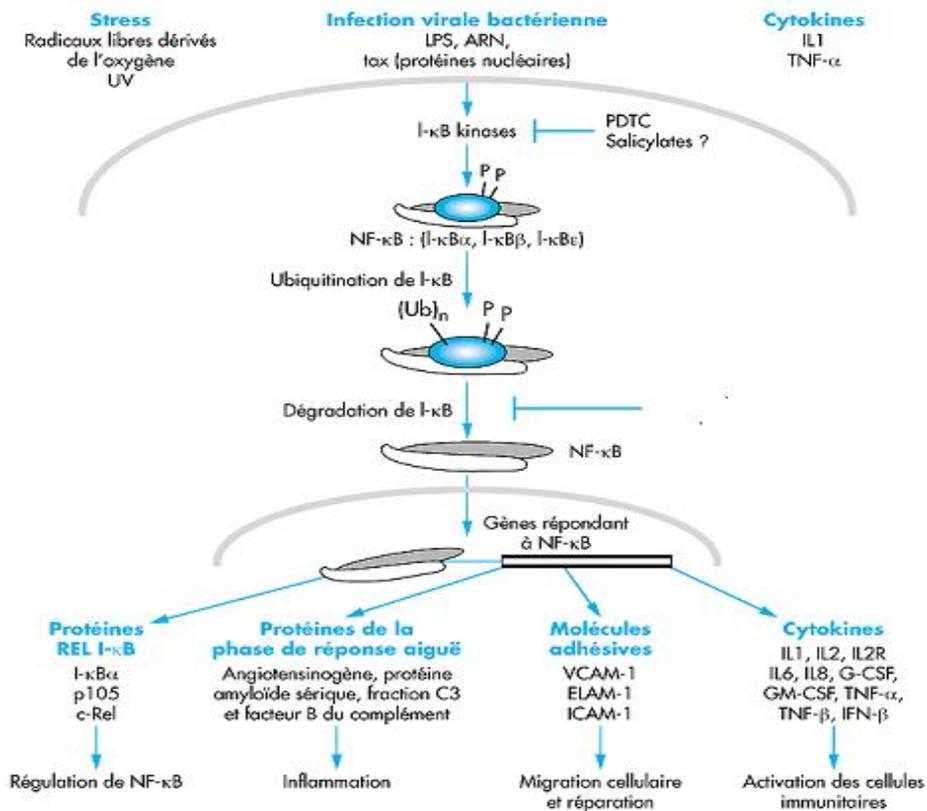


Mécanisme de génération des ERO par la XOR lors durant l'ischémie-reperfusion.

L'inflammation



Les ERO comme médiateurs de la réaction inflammatoire



Les différents médiateurs pro-inflammatoires activés par le facteur NF-κB

Les maladies cardiovasculaires

