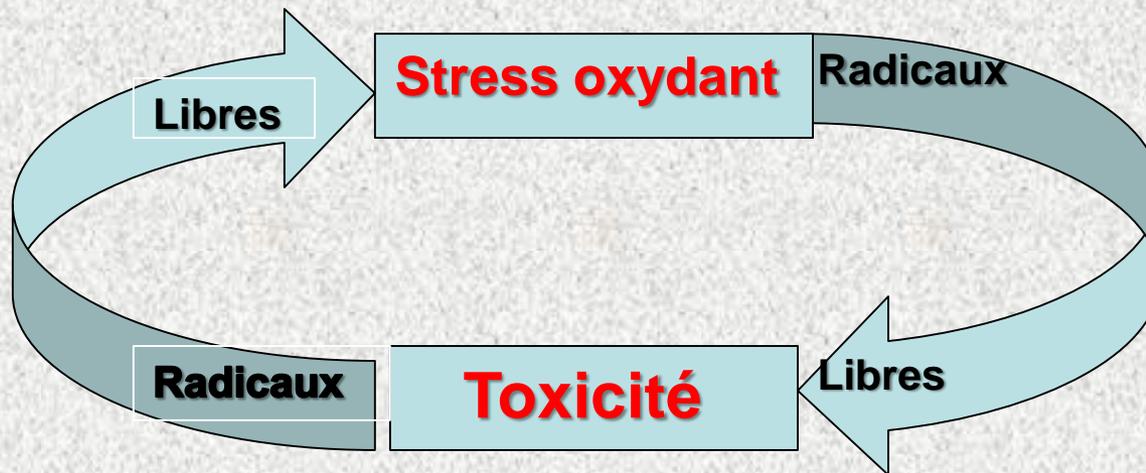


COURS
STRESS OXYDANT ET TOXICITE

M 1 TOXICOLOGIE
Dept Biologie Animale Fac SNV UM1C



Pr
LALAOUI KORRICHI

STRESS OXYDATIF

ET

TOXICITE

STRESS OXYDATIF

DEFINITION

Ensemble des mécanismes par lesquels l'oxygène ou des formes dérivées de l'oxygène provoquent des perturbations au niveau d'une cellule, d'un organe, ou d'un organisme

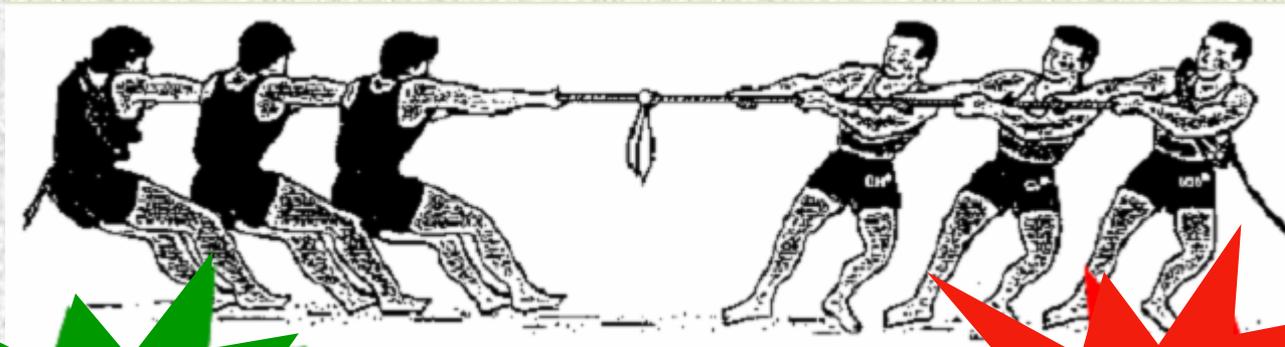
conséquence d'un excès de **radicaux libres**
agressifs par rapport aux **anti-oxydants protecteurs**

C' est un déséquilibre de la balance prooxydants/antioxydants en faveur des premiers qui entraîne des dommages oxydatifs des biomolécules

Un facteur d'inflammation et de mutagenèse qui favorisant le vieillissement et à l'origine de nombreuses pathologies

Qu'est-ce que le stress oxydatif?

A l'état de santé il existe un équilibre entre les radicaux libres, spécialement les réactions d'oxydation (espèces réactives de l'oxygène ou **ERO** produites et nos défenses, les anti-oxydants (**AC**)
Tout déséquilibre entraîne un état de stress oxydatif



Protection



AC

ROS ERO



Dommages

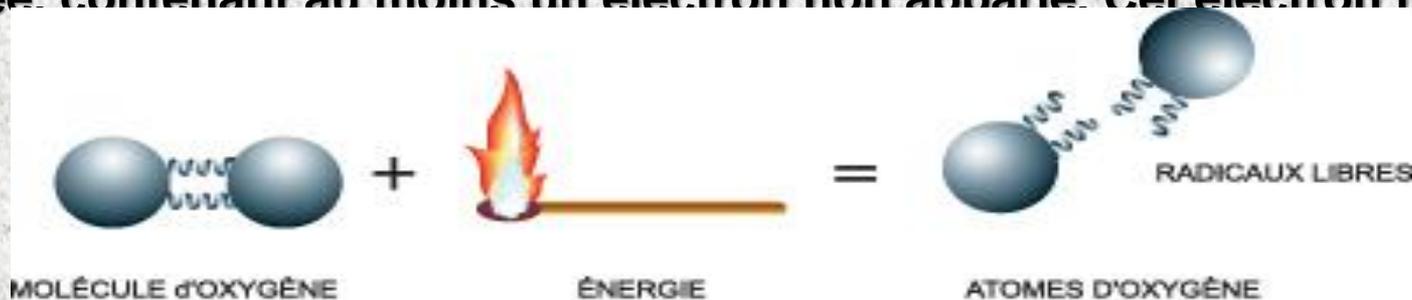
RADICAUX LIBRES

Dérivés instables et toxiques de l'oxygène

Réagissent et dégradent l'ADN, les lipides, les protéines

Augmentés par certaines situations: stress, tabac, alcoolisme, surpoids, exercice physique mal géré,

Un **radical libre** est une espèce chimique (atome ou molécule) neutre ou chargée, contenant au moins un électron non apparié. Cet électron libre est dit



L'oxydation = Transfert d'électron c'est la raison chimique du stress oxydatif

Les radicaux libres dans les phénomènes de stress oxydant ont un électron célibataire sur un atome d'oxygène.

Ils sont souvent appelé **espèces réactives de l'oxygène (ROS)**

Les Radicaux libres

Dérivés réactifs de l'oxygène DRO

ESPECES RADICALAIRES



ANION SUPEROXIDE



HYDROXYL RADICL

Demi vie très court

10^{-9}
SECONDES



ALOXYL
RADICAUX LIPIDIQUES



PEROXYL



AZOTE OXIDE

ESPECES NON RADICALAIRES



Oxygène
singulet



Peroxyde
d'hydrogène



peroxynitrite

Les principaux dérivés réactifs de l'oxygène

• Anion superoxyde : $O_2^{\cdot -}$

*Faible pouvoir oxydant en solution aqueuse
Agent réducteurs ++*

Oxydant plus puissant que $O_2^{\cdot -}$

• Radical hydroxyle : OH^{\cdot}

*Oxydant très puissant : attaque les molécules
biologiques
(ADN, protéines, lipides)*

• Peroxyde d'hydrogène : H_2O_2

*Relativement peu réactif en l'absence de métaux de
transition.*

*Diffuse rapidement à travers les membranes
cellulaires.*

AZOTE OXIDE



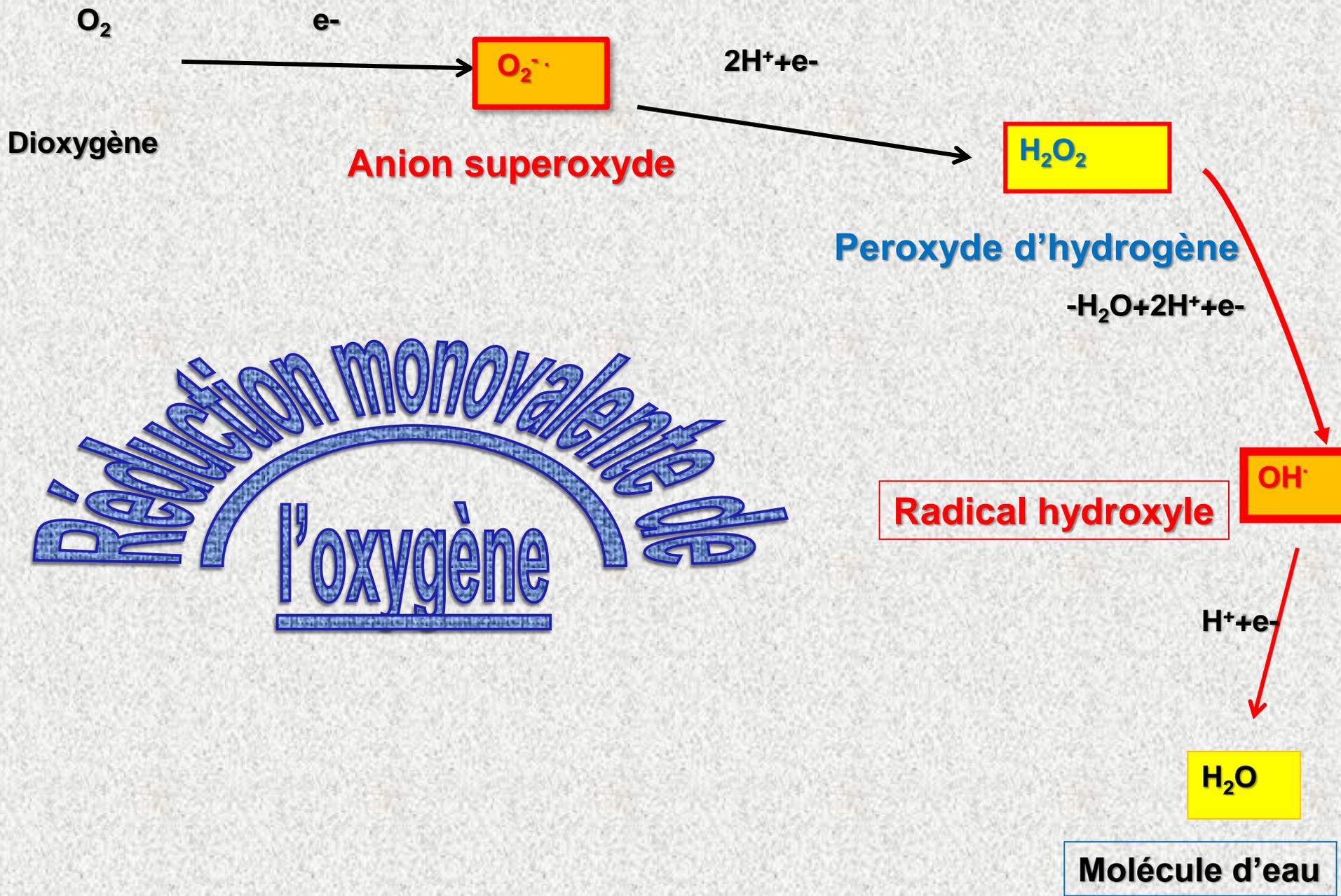
Monoxyde d'azote Nitrique oxyde

**Molécule radicalaire non chargée c'est un radical libre présent dans la circulation sanguine formé d'un atome d'oxygène et d'un atome d'azote
Avec une haute diffusibilité et demi-vie longue**

L'ion peroxynitrite



Les peroxynitrites sont également connus pour oxyder directement les thiols en sulfates, pour être une des causes de la peroxydation des lipides



Formation des radicaux libres: principales sources

Physique
UV, radiations
ionisantes

Biologique
virus, bacteries, reactions
immunologiques, fuite des
électrons (métabolisme humain
normal)

Chimique
polluants, drogues,
médicaments,
pesticides

Les radicaux libres sont inévitablement produits lors des réactions physiologiques normales – les radicaux libres sont nécessaires à la vie mais ils sont aussi le fléau de notre existence

D'où viennent les oxydants ?

Ils ont plusieurs origines, aussi bien à l'intérieur de l'organisme qu'à l'extérieur.

De l'intérieur

--|-- Ils sont la conséquence de la respiration aérobique normale, qui est le mécanisme par lequel nous nous procurons de l'énergie

La mitochondrie consomme de l'oxygène, qu'elle réduit par étapes successives pour libérer en dernier lieu de l'eau.

Les sous-produits inévitables de ce processus sont

(l'anion superoxyde O_2^- ; le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2); le radical hydroxyle ($\cdot OH$)).

On estime qu'environ 10^{12} molécules d'oxygène sont utilisées chaque jour par une cellule de rat et que 2% « fuient » sous la forme de molécules d'oxygène partiellement réduites. Ceci représente 2×10^{10} molécules de superoxyde et de peroxyde d'hydrogène par cellule et par jour.

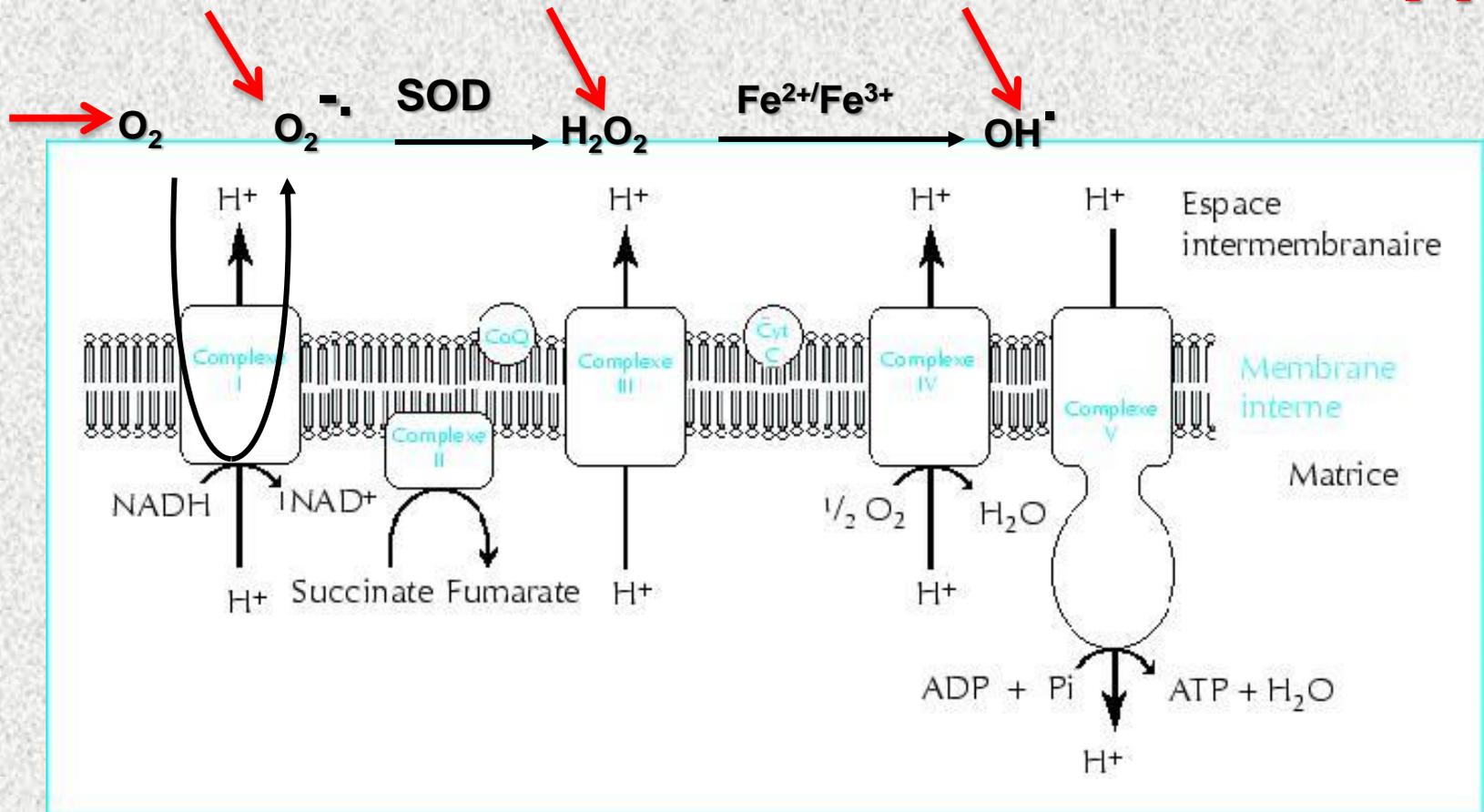
Les sources physiologiques de radicaux libres

Production intracellulaire en conditions physiologiques

1) La chaîne respiratoire mitochondriale

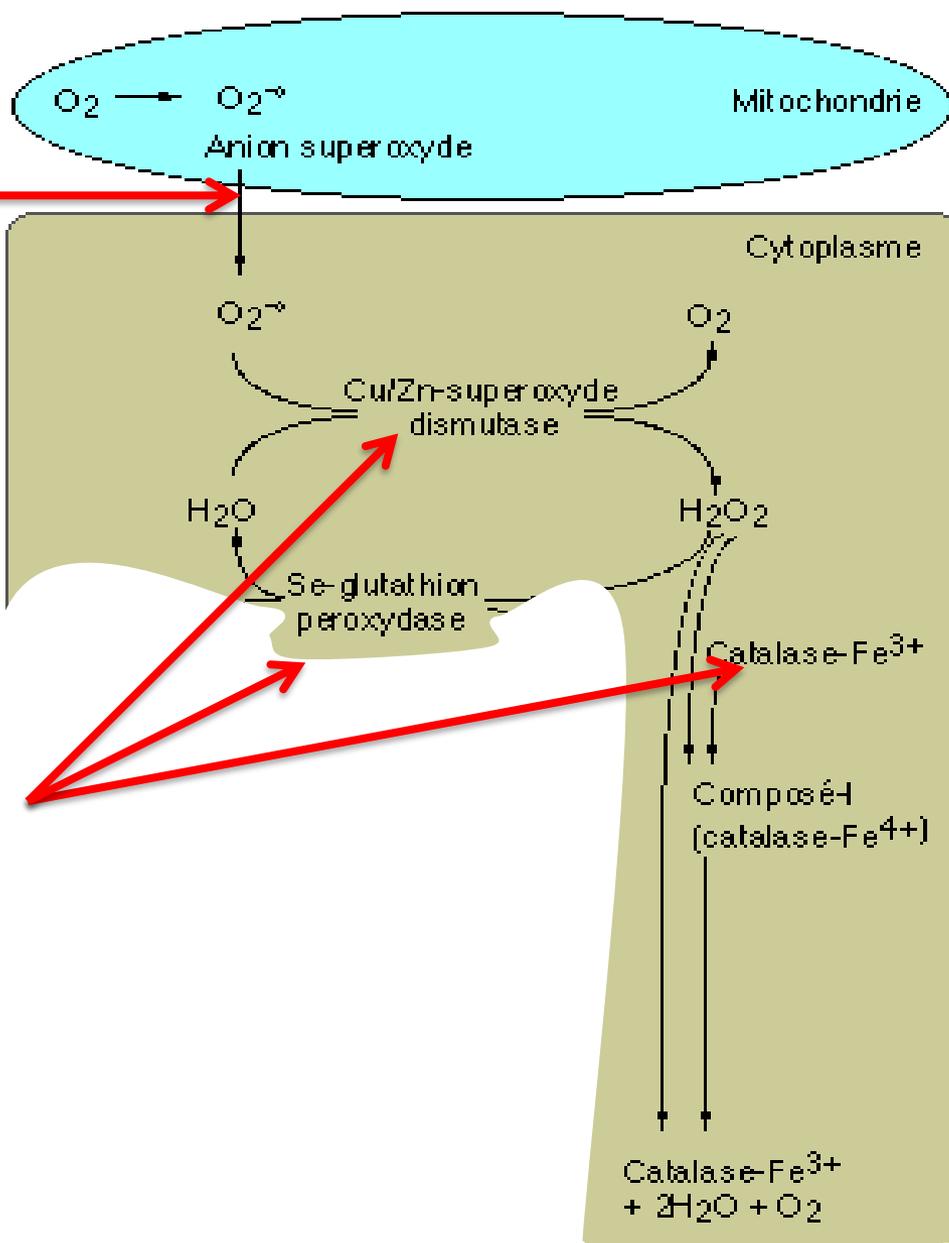
La mitochondrie est une source continue de radicaux libres.

Elle permet la formation de trois espèces radicalaires : $O_2^{\cdot-}$, OH^{\cdot} , H_2O_2



La formation de $O_2^{\cdot-}$ et H_2O_2 dans la mitochondrie + Cytoplasme

Une fuite de Anion superoxyde vers le cytoplasme



La cellule fait appel à des mécanismes d'action

Formation du peroxyde d'hydrogène

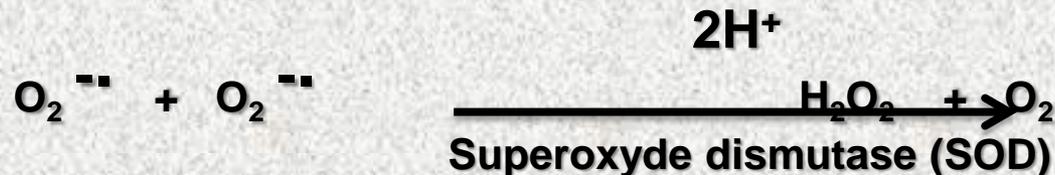
Peroxyde d'hydrogène : H₂O₂

La SuperOxyde Dismutase :

- Catalyse la dismutation spontanée :
- Deux enzymes connues: _la SOD mitochondriale (Mn dépendante)
_la SOD cytoplasmique (Cu et Zn dépendante)
- La production de cette enzyme est induite par son substrat.

SOD : SuperOxyde Dismutase

(ENZYME qui catalyse la transformation de 2 ions superoxyde en eau oxygénée peroxyde d'hydrogène)



Les sources physiologiques de radicaux libres

2) Les oxydases :

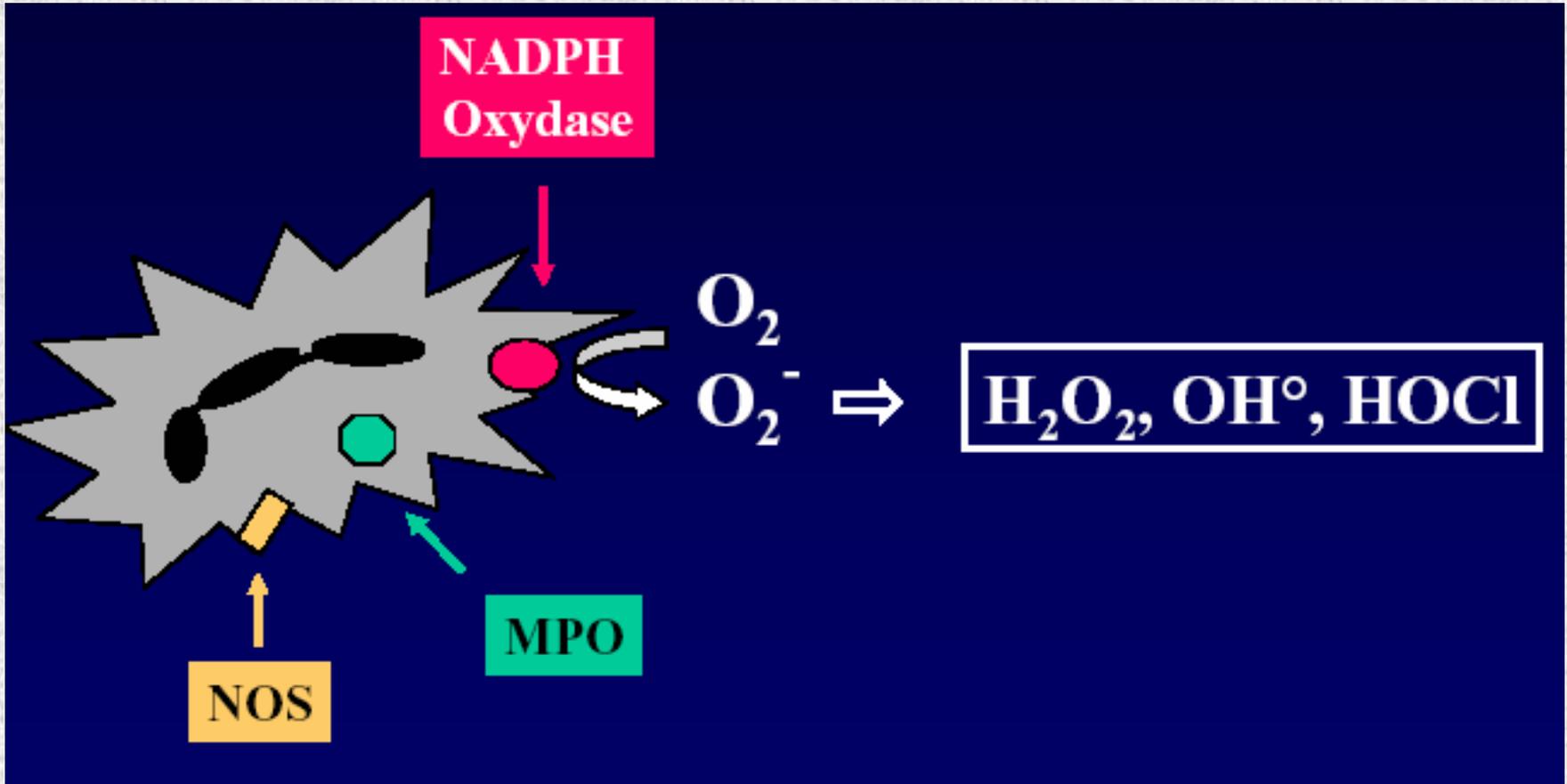
L'inflammation est par ailleurs une source importante de radicaux oxygénés produits directement par les **cellules phagocytaires activées** qui sont le siège d'un phénomène complexe de la NADPH oxydase, enzyme capable d'utiliser l'oxygène moléculaire pour produire de grandes quantités **d'anions superoxydes** au niveau de la membrane cellulaire.

la destruction par les cellules du système immunitaire de cellules infectées par des bactéries et des virus. Les phagocytes utilisent pour cela

le monoxyde d'azote (NO),
l'anion superoxyde, (O_2^-),
le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2),
l'ion hypochlorite (OCl^-).

Cellules phagocytaires

Système de la NADPHoxydase



MPO Myeloperoxydase

NO synthase inductible

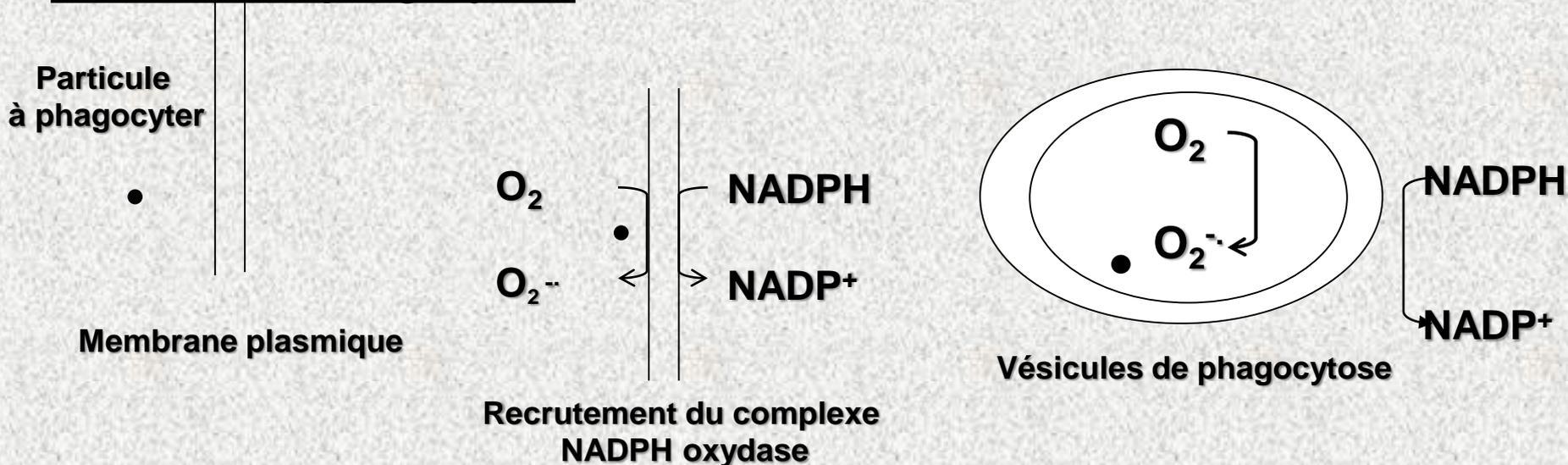
Les NADPH oxydases : membrane plasmique, membrane de vésicule de phagocytose

- Au cours de la phagocytose, la NADPH oxydase est capable de transformer l' O_2 en $O_2^{\cdot-}$.

Réaction globale



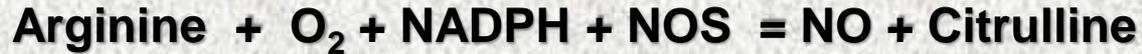
Schéma de la phagocytose :



Formation du Nitric oxyde et peroxynitrite

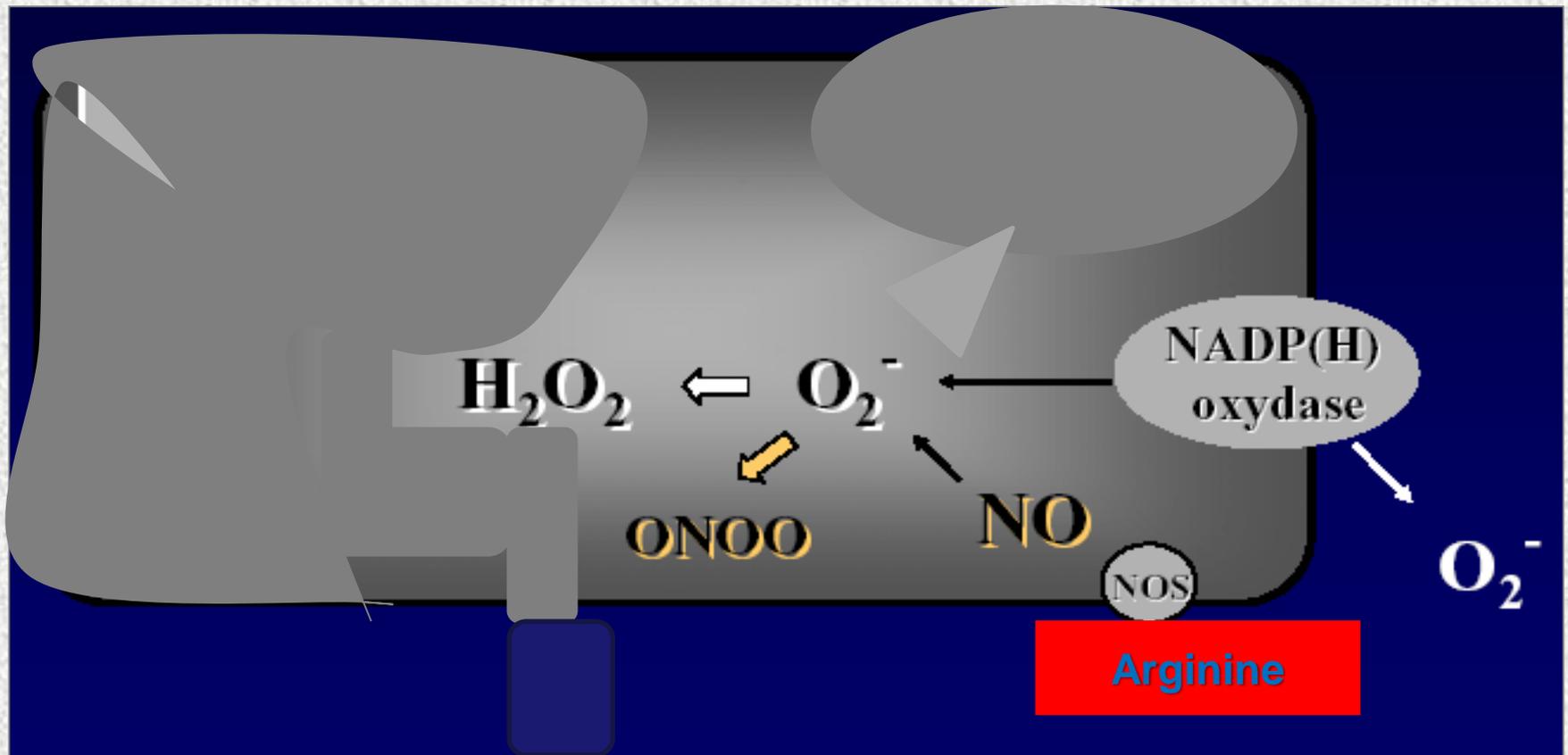
AZOTE OXIDE

Produit à partir de L-arginine sous l'action des NO synthases **NOS**



L'ion peroxynitrite

Réaction de NO radicalaire avec l'anion superoxyde pour forme le pyroxynitrite



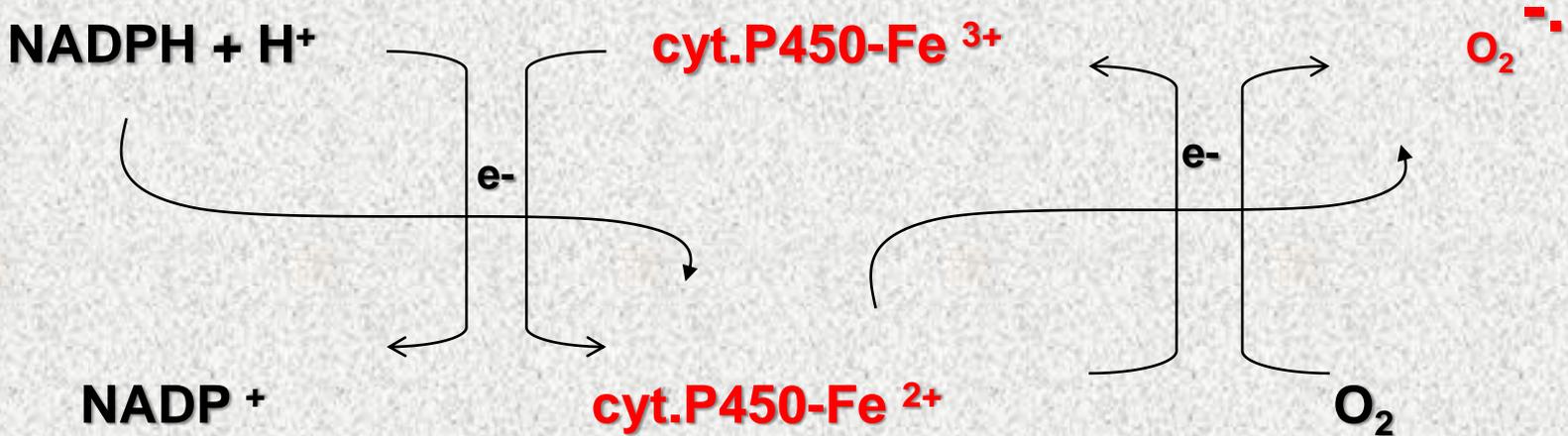
Les sources physiologiques de radicaux libres

3) La NADPH cytochrome P450 réductase : Réticulum Endoplasmique

les enzymes de la famille Cytochrome P450, ou enzymes de phase 1, qui constituent l'une des premières lignes de défense chez tous les animaux pour se protéger des substances toxiques . Ces enzymes sont également sollicités pour prendre en charge de dégradé des substances chimiques (médicaments, pesticides...).

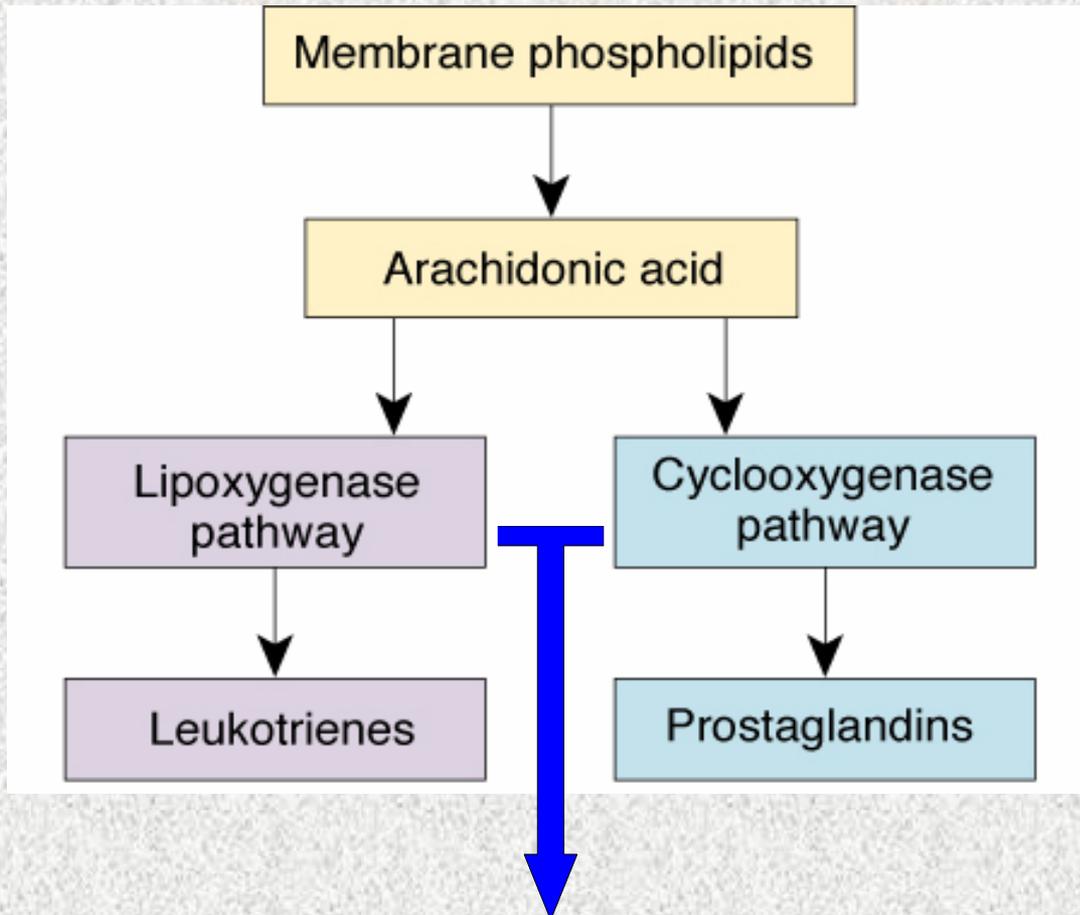
Le mécanismes de cycles redox que produit dans l'organisme l'oxydation de molécules .Ce cycle redox a lieu surtout lors de l'oxydation de ces composés au niveau du cytochrome P450, il se produit aussi avec des composés endogènes comme l'acide lévulinique et surtout les catécholamines.

Le transfert d'électrons fait intervenir une enzyme : la NADPH cytochrome P450 réductase capable de réduire O_2 en $O_2^{\bullet -}$



4) Autres sources :

-1- lipooxygénases et cyclooxygénases ($O_2^{\cdot-}$) Métabolisme de l'acide arachidonique



production d'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$)

2- NADPH oxydase

- équivalent au système NADPHoxydase des phagocytes

- cellules endothéliales et musculaires lisses

Exemple

1- Monoamines oxydases production de (H_2O_2) ;

Les monoamine oxydases (MAO) sont un groupe d'enzyme intervenant dans le catabolisme des monoamines, notamment de la **serotonine**



2- Xanthine oxydase **XO** (métabolisme des purines) (H_2O_2)



Source d'oxydants

Les sources des radicaux libres

De l'extérieur

A ces sources d'oxydants internes viennent s'ajouter les oxydants issus de notre environnement, à commencer par les oxydes d'azote dans la fumée de cigarette ou la pollution atmosphérique, qui oxydent des molécules de l'organisme.

Les sels de fer et de cuivre en excès favorisent la formation des radicaux libres par une réaction dite réaction de Fenton.

Les rayons UV du soleil sont à l'origine de l'apparition dans le corps de l'oxygène singulet et d'autres espèces réactives de l'oxygène.

Les sources exogènes de radicaux libres

RADIATION IONISANTES

Rayonnement = propagation d'énergie à travers l'espace.

Les RI interagissent avec la matière en produisant des excitations ou des ionisations = absorption

Les RI sont responsables de lésions biologiques néfastes .

Les sources de RI sont nombreuses et variées.

1. 1 Différents types de RI.

a) *Rayonnements α*

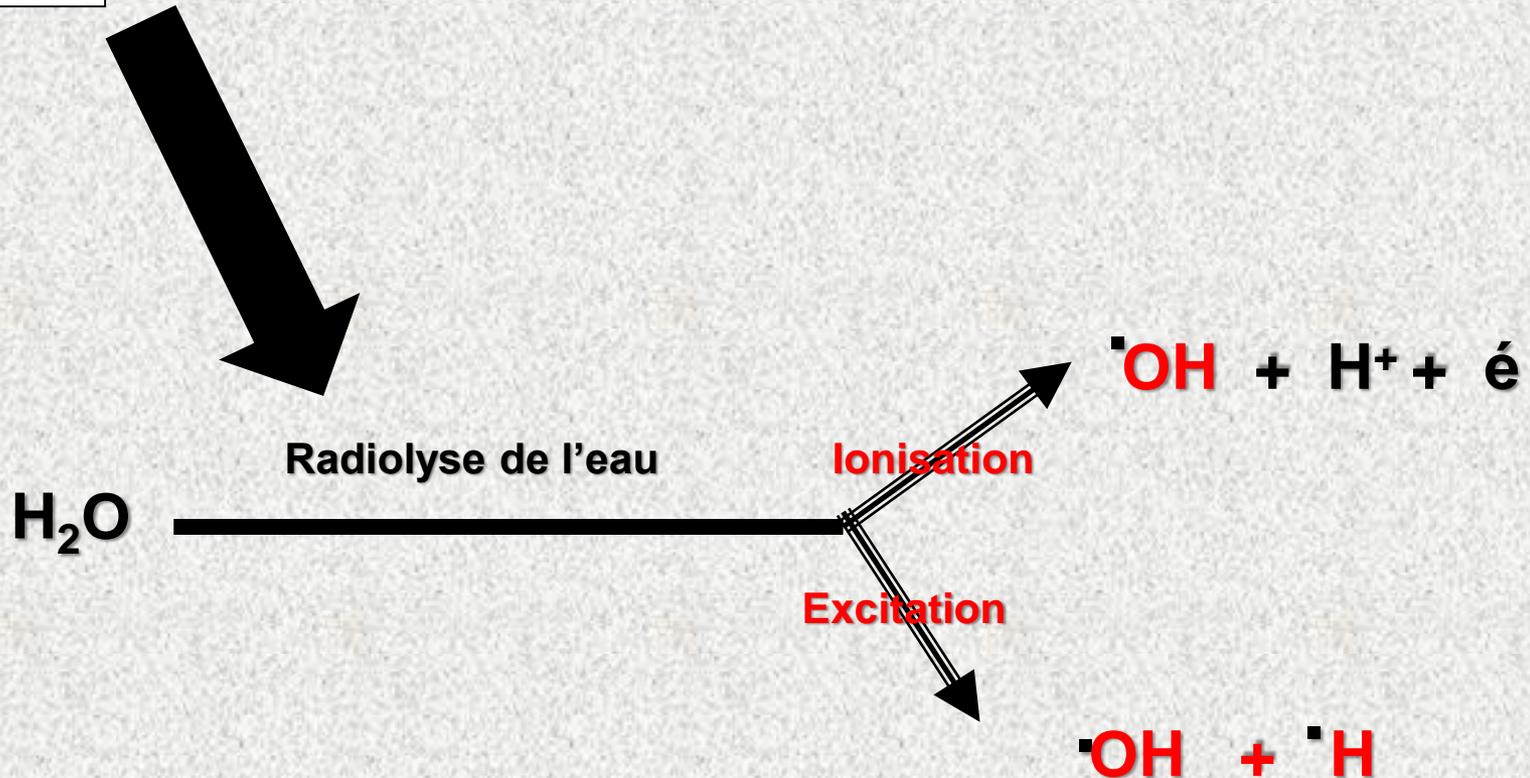
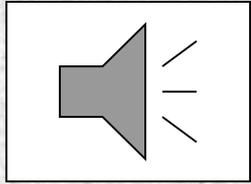
b) *Rayonnements β*

c) *Rayonnements X et γ*

Le phénomène initial = transfert d'une partie de l'énergie radiative à la molécule.

Les sources exogènes de radicaux libres

RADIATION IONISANTES



L'irradiation de l'eau aboutit à la formation de radicaux libres de haute réactivité chimique.

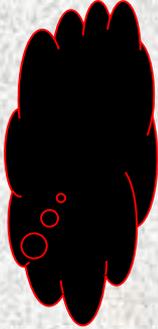
Fumée de Tabac

4 000 produits chimiques au moins

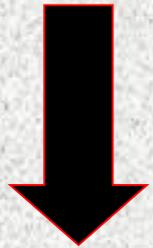
- **En grande majorité** (*eau, CO², ...*)
- **Un produit franchement très toxique** : *oxyde de carbone*
- **Des produits irritants, pouvant favoriser les cancers** :
(*formaldéhyde, acroléine, Radicaux libres...*)

La **nicotine** composant majeure de la fumée de cigarette, joue un rôle important dans le développement et la génération de radicaux.

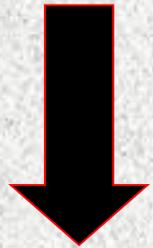
**CHALEUR
Tabagisme**



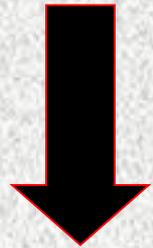
NICOTINE



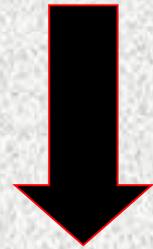
**Nitric
oxide**



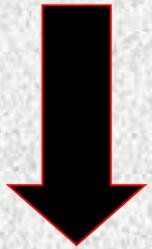
Nitrite



**Anione
superoxyde**



**Pyroxide
De
hydrogene**



**Radicale
hydroxyle**

Les sources exogènes de radicaux libres

2) Métabolites électrophiles

Electrophiles non ioniques

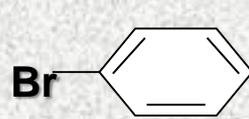
-Epoxides :

Aflatoxine B1

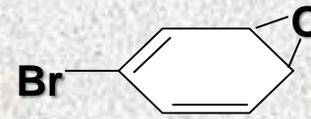
Aflatoxine B1 8,9 époxide

Bromobenzene

3.4 époxide bromobenzene



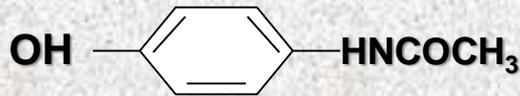
Cyt P450



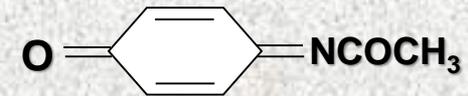
-Quinones :

Paracétamol

N-acétyl-p-benzoquinoneimine



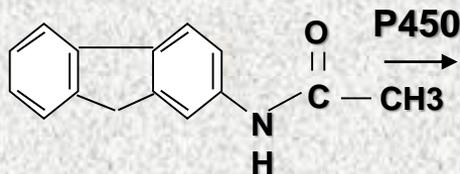
Cyt P450



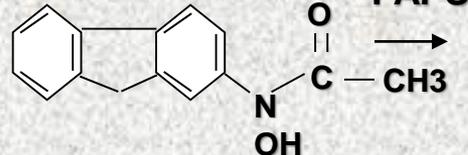
-Ions nitréniums :

2-acéthylaminofluorène (AAF)
nitrénium

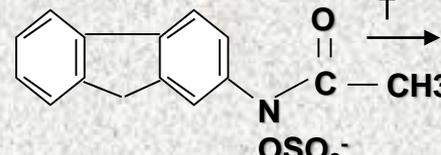
Ion



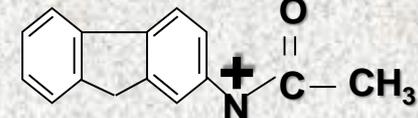
P450



PAPS

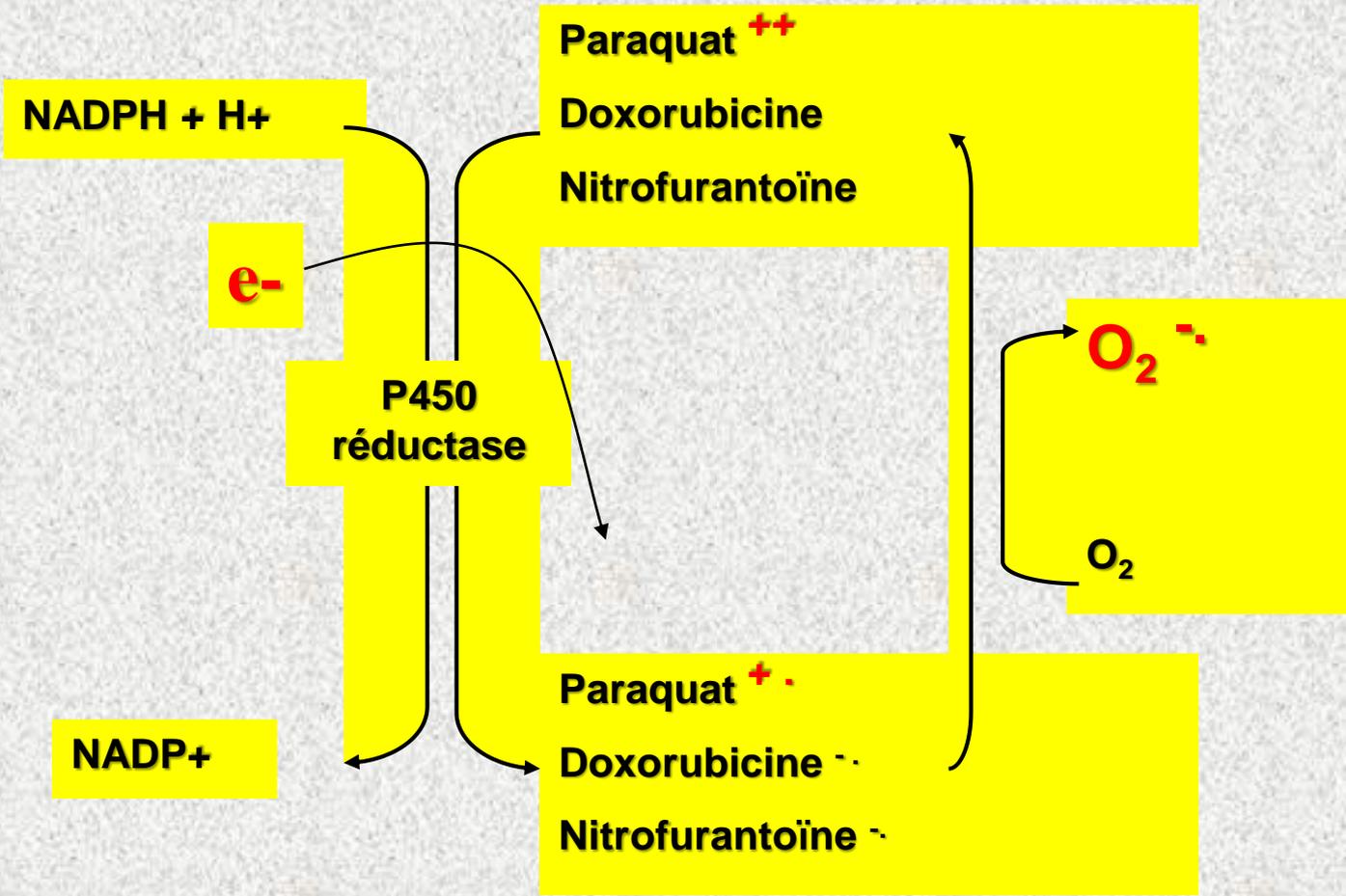


SO₄⁻



1) Le paraquat, la doxorubicine et la nitrofurantoïne

Formation d'anion superoxyde.



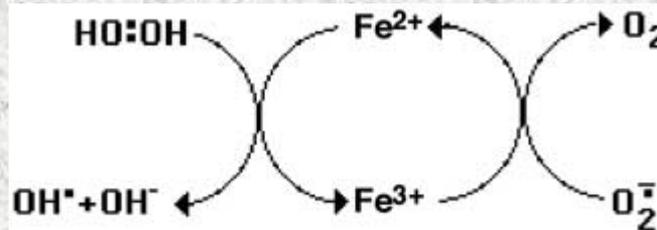
Formation du Radical hydroxyle

Radical hydroxyle : OH· **Roles catalytiques des métaux** Fe, Cu, Cr

1--- Réaction de Fenton

La réaction de Fenton est une réaction d'oxydation avancée aboutissant à la formation du radical hydroxyle ·OH qui est le Radical oxydant le plus puissant présent dans la nature

Au cours de la réaction, le peroxyde d'hydrogène (ou eau oxygénée) oxyde le fer ferreux (ion fer II) selon la réaction d'oxydo-réduction:



Le cycle de Fenton : H₂O₂ est réduit par le fer ferreux, libérant ·OH. et

Fe³⁺ est réduit en Fe²⁺ par l'anion superoxyde.

Le mélange fer ferreux et peroxyde d'hydrogène est appelé **réactif de Fenton** et constitue un très bon oxydant pour de nombreux composés organiques

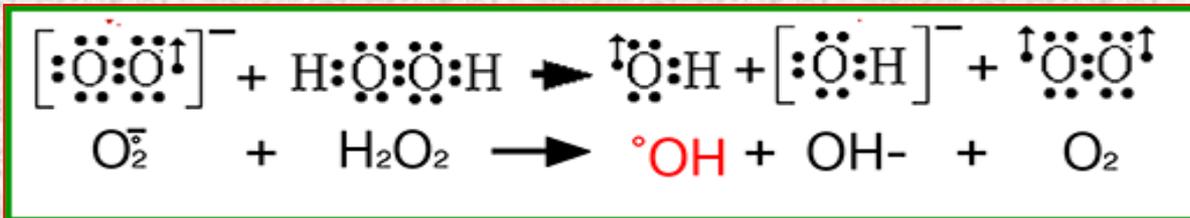
La réaction de Fenton constitue de nos jours une méthode efficace permettant de lutter contre les micropolluants organiques présents dans les effluents industriels et agricoles et, plus généralement, pour le traitement des eaux usées

Elle est également utilisée pour certains soins

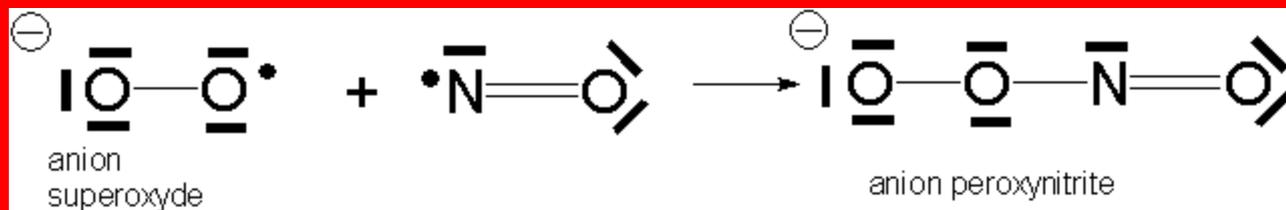
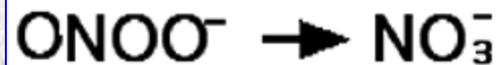
dentaires

2-- Réaction d'Haber et Weiss

le superoxyde peut réagir avec le peroxyde d'hydrogène, pour donner le radical hydroxyle hautement réactif, qui peut être à l'origine de l'oxydation des constituants cellulaires. Cette réaction est catalysé par des ions de certains métaux de transition, tels que le fer ou le cuiivre.



Il peut aussi réagir avec le monoxyde d'azote pour donner l'anion peroxynitrite qui est un agent oxydant et nitrant puissant



**Métabolisme des Xénobiotiques
et
Radicaux Libres**

METABOLISME DES XENOBIOTIQUES ET formation DES RADICAUX LIBRES

Exemple des Xenobiotiques

PAH

Paracétamol

Benzène

Ccl4

Afla Toxins

Doxorubicine

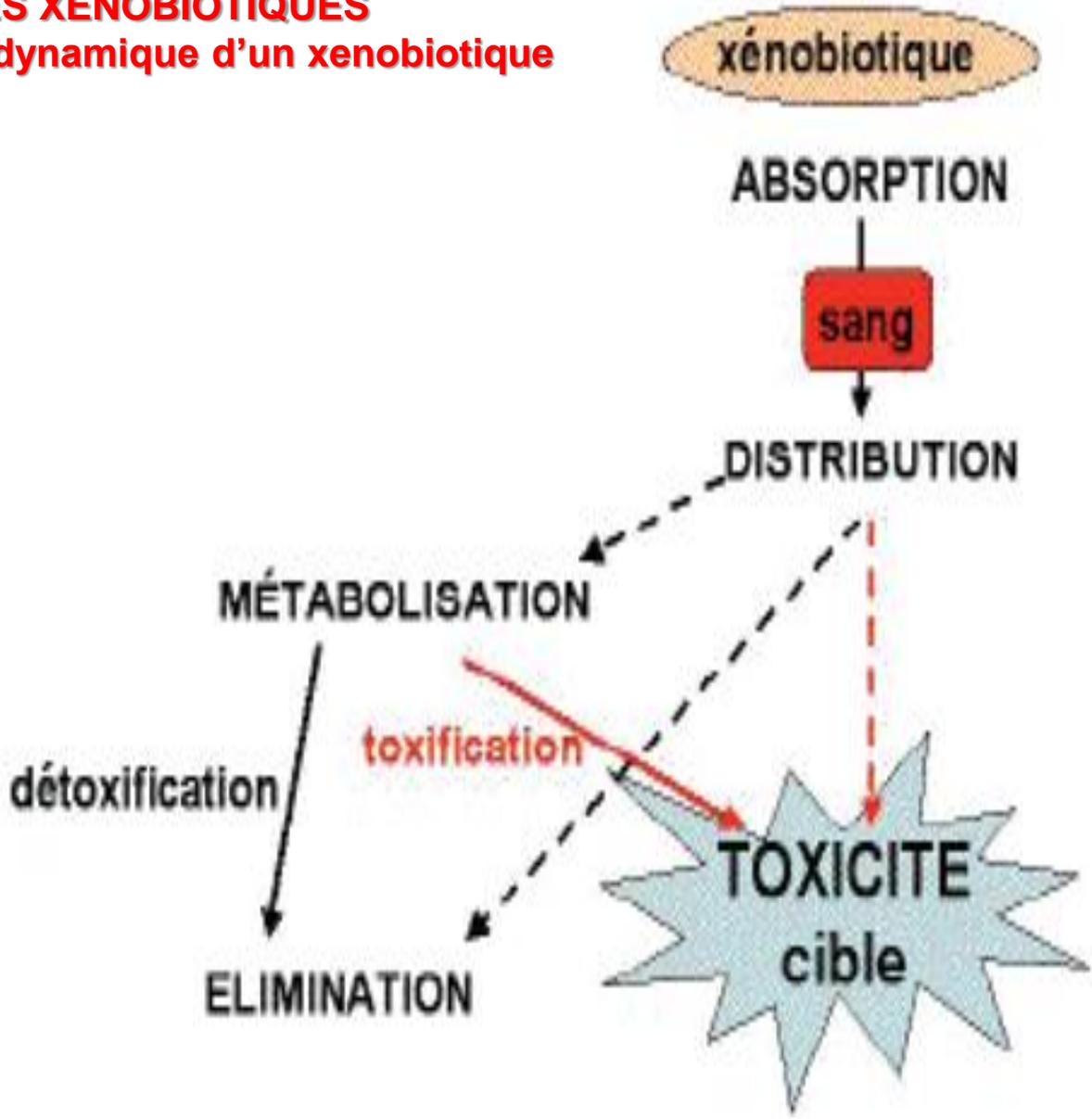
Ethanol

Paraquat

Menadione

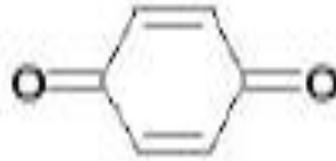
Apomorphine

METABOLISME DES XENOBIOTIQUES
Toxicocénitique et dynamique d'un xenobiotique

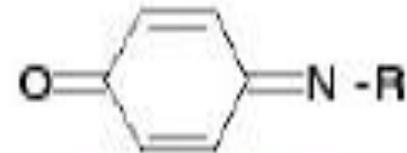


Toxiques électrophiles

Exemples :



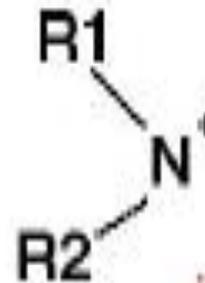
quinone



quinone-imine



époxyde



ion nitrenium

Tetrachlorure de Carbone **CCl₄**

**Un polluant
atmosphérique**

Cytochrome P450

Voiè réductrice



Chloroforme

Radical trichlorométhyle



Radical trichlorométhylpéroxy

Métabolisme hépatique de l'éthanol

Alcool et xénobiotiques partagent la même voie d'oxydation «microsomale ». Cette voie fait intervenir des enzymes appartenant à la super-famille des **cytochromes P450**. L'enzyme clé de la voie microsomale d'oxydation de l'éthanol est **le cytochrome P450 2E1 (CYP2E1)**.

Il est induit par la consommation chronique **d'alcool**, son activité au niveau du foie étant multipliée par trois à cinq chez les sujets alcooliques. Cette induction, contribue à la tolérance métabolique qui se développe chez l'alcoolique et qui concerne non seulement l'alcool mais aussi certains médicaments

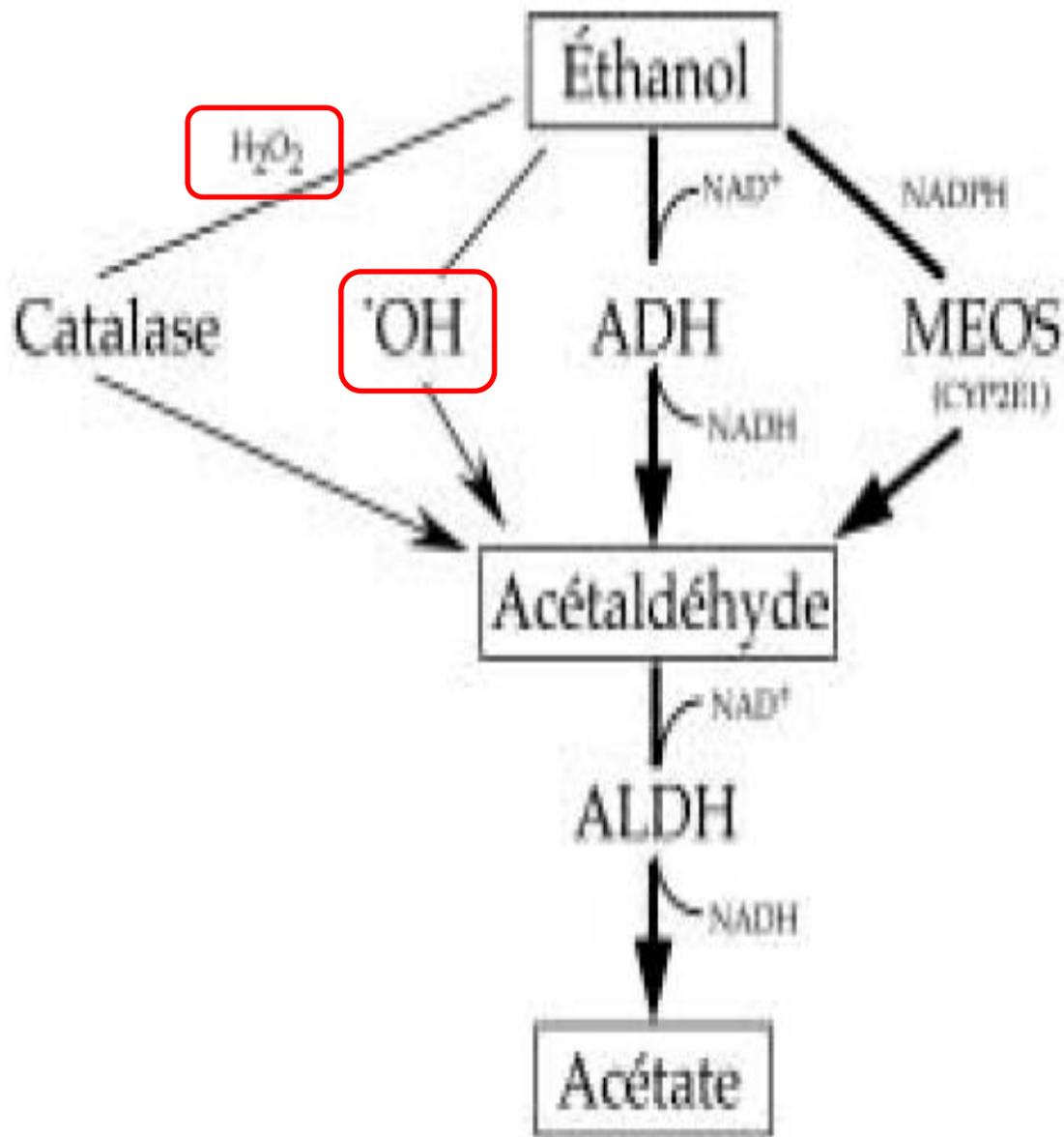
Le CYP2E1 a une grande capacité d'activer de nombreux xénobiotiques en métabolites toxiques ou carcinogènes.

Cette bio activation concerne des médicaments utilisés couramment tels que le **paracétamol**, des anesthésiques (**halothane**), des solvants industriels (**le benzène ou ses dérivés**), des solvants halogénés (**tétrachlorure de carbone**) et **des nitrosamines** présentes dans l'alimentation ou la fumée de cigarette

Ainsi, la consommation excessive d'alcool, qui a pour effet d'induire le CYP2E1, augmente la susceptibilité des individus aux effets toxiques ou carcinogènes de ces xénobiotiques au des leurs productions des radicaux libres.

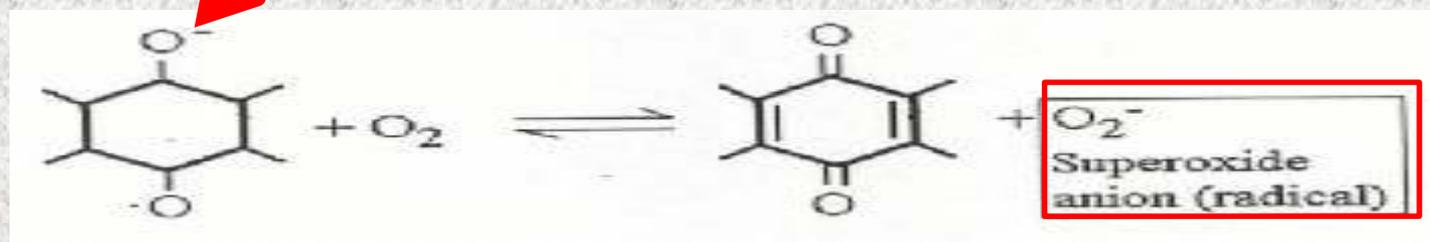
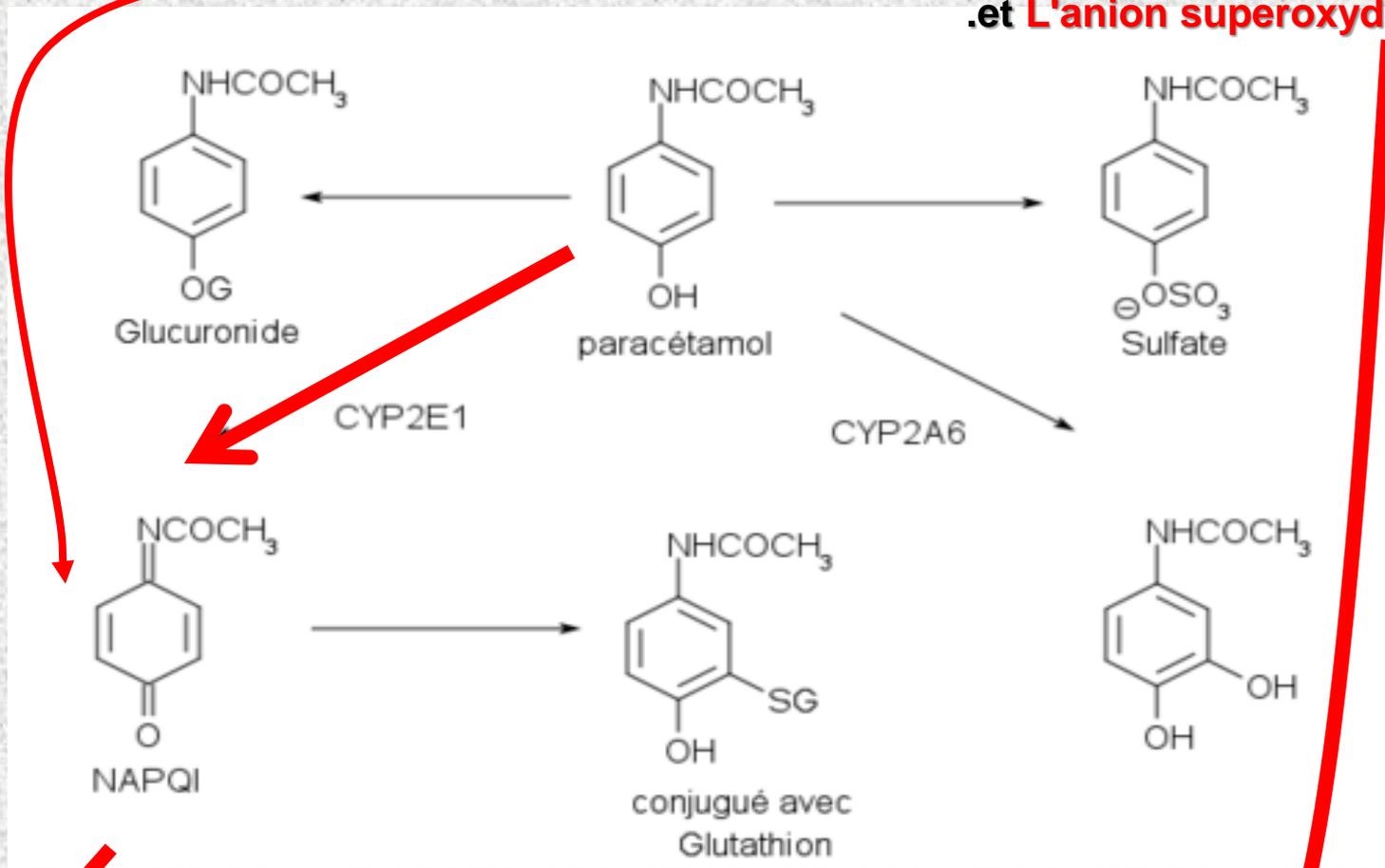
Métabolisme hépatique de l'éthanol

production des radicaux libres H_2O_2 et OH



Métabolisme du Paracétamol et Production O_2

Formation de N acetyl *P* benzoquinone imine et L'anion superoxyde



Quinone Radical

Quinone

O_2^-
Superoxide anion (radical)

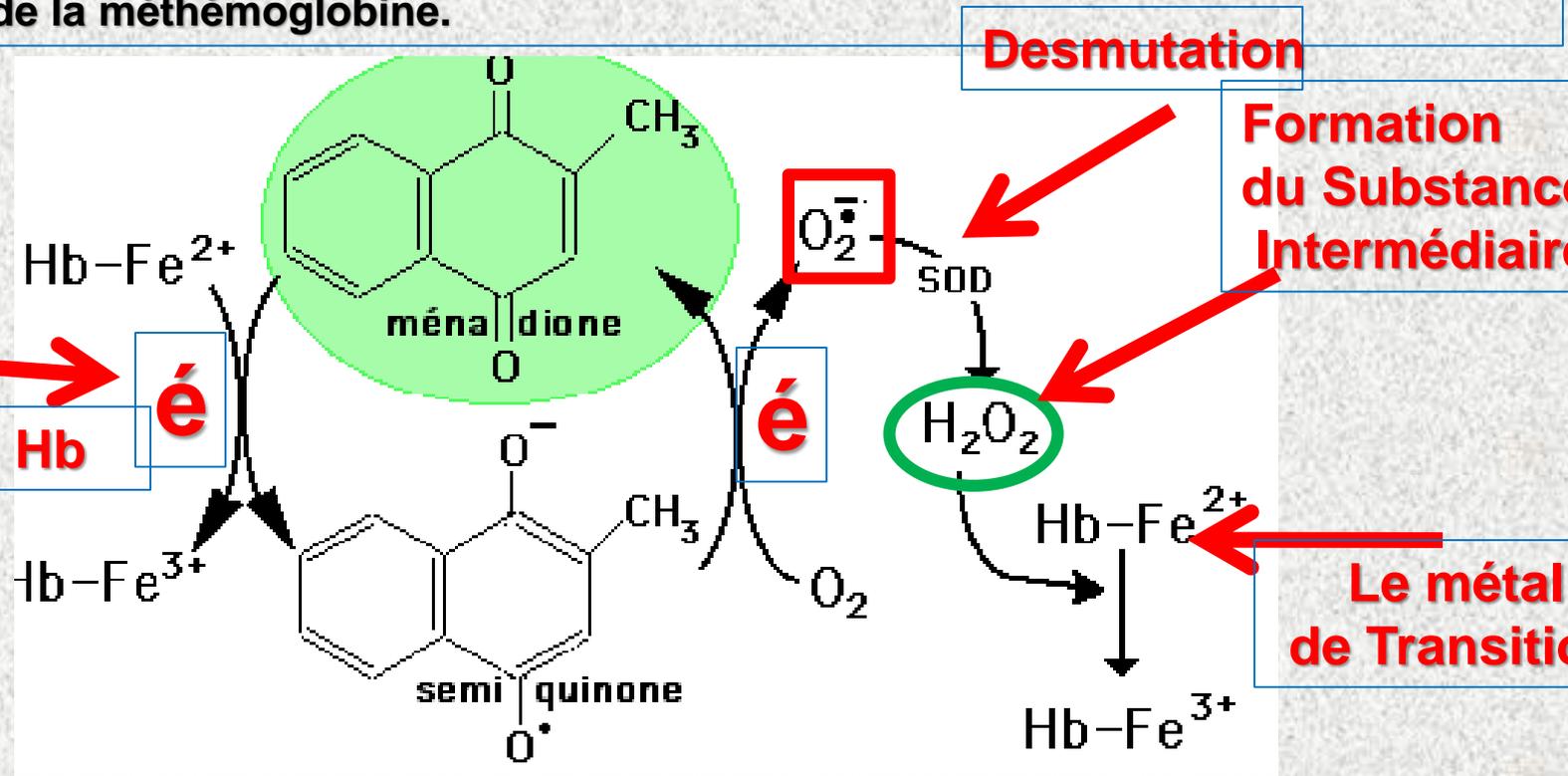
Métabolisme Ménadione Vit

La ménadione est une quinone qui est le précurseur biologique de la vitamine K

En présence d'hémoglobine vacante (non vectrice d'O₂), la ménadione peut capter un électron du Fe²⁺ en formant de la méthémoglobine **MetHb**.

la méthémoglobine subit une autoxydation en présence d'oxygène et produit **H₂O₂**

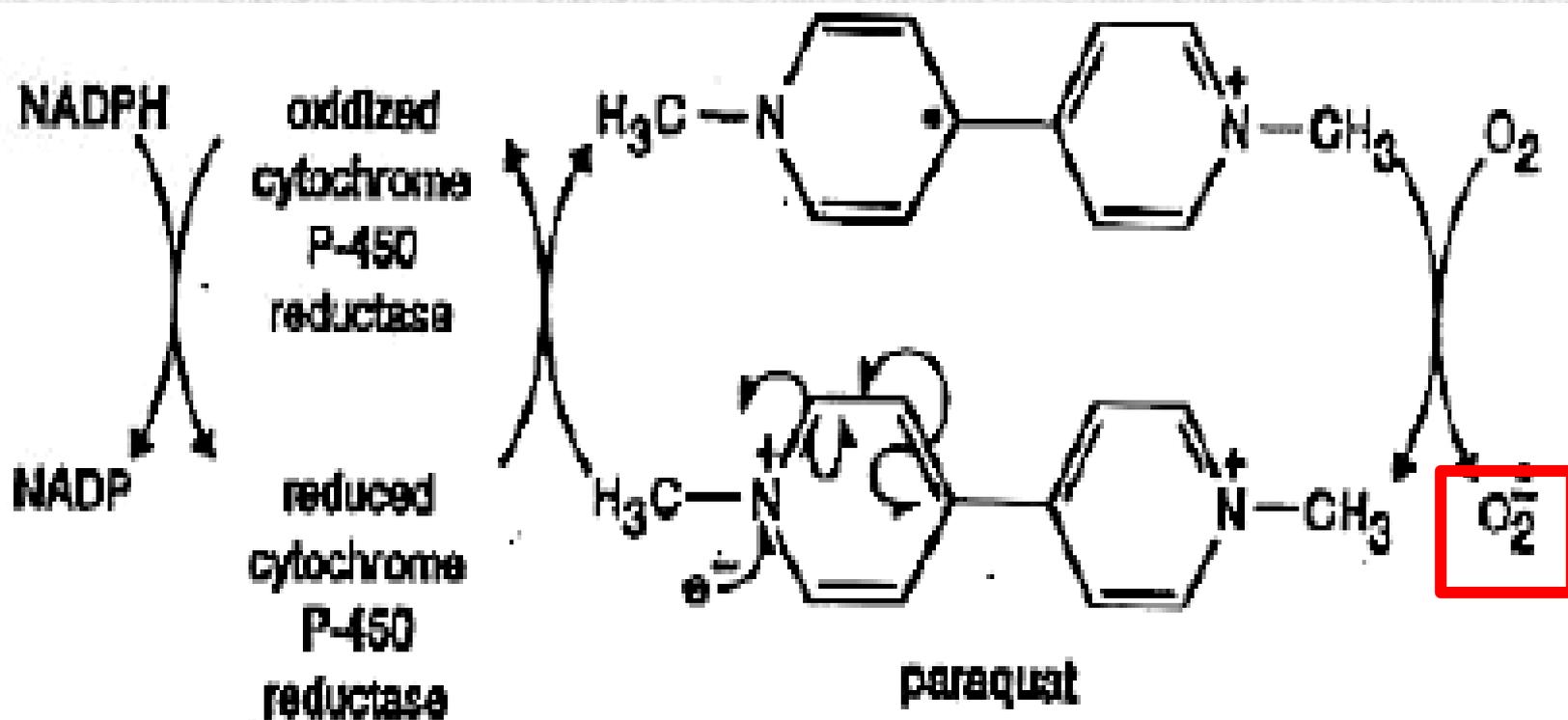
la semi-quinone formée est elle-même réductrice d'O₂, en redevenant la ménadione. L'anion superoxyde résultant de cette réaction, en dismutant en **H₂O₂**, contribue à son tour à générer de la méthémoglobine.



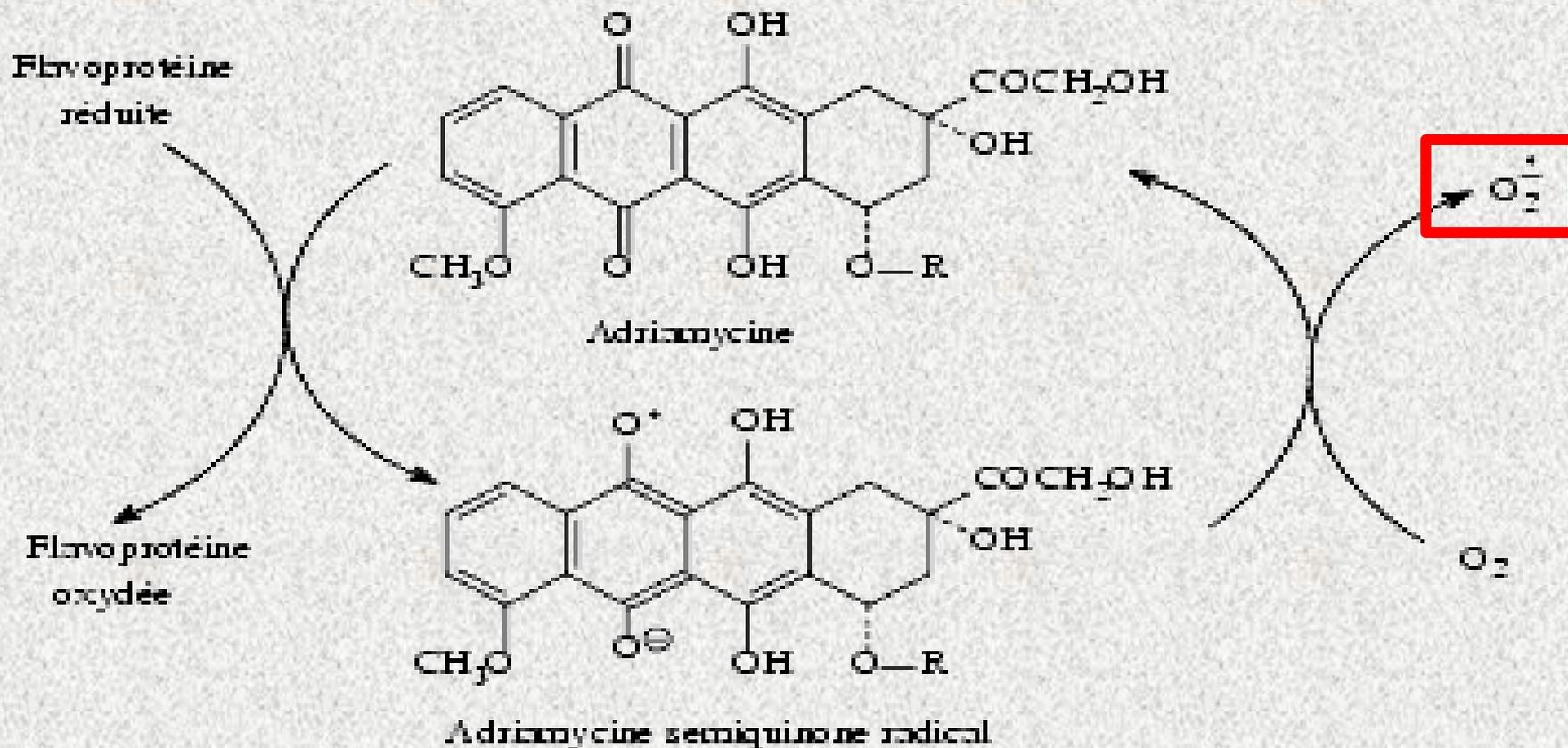
Métabolisme

Paraquat (herbicide)

Le paraquat oxydé (Pq^{++}) est initialement réduit (Pq^+) par la NADPH-cytochrome c réductase. Le Pq^+ est rapidement oxydé en Pq^{++} par l'oxygène moléculaire avec formation d'un **anion superoxyde**



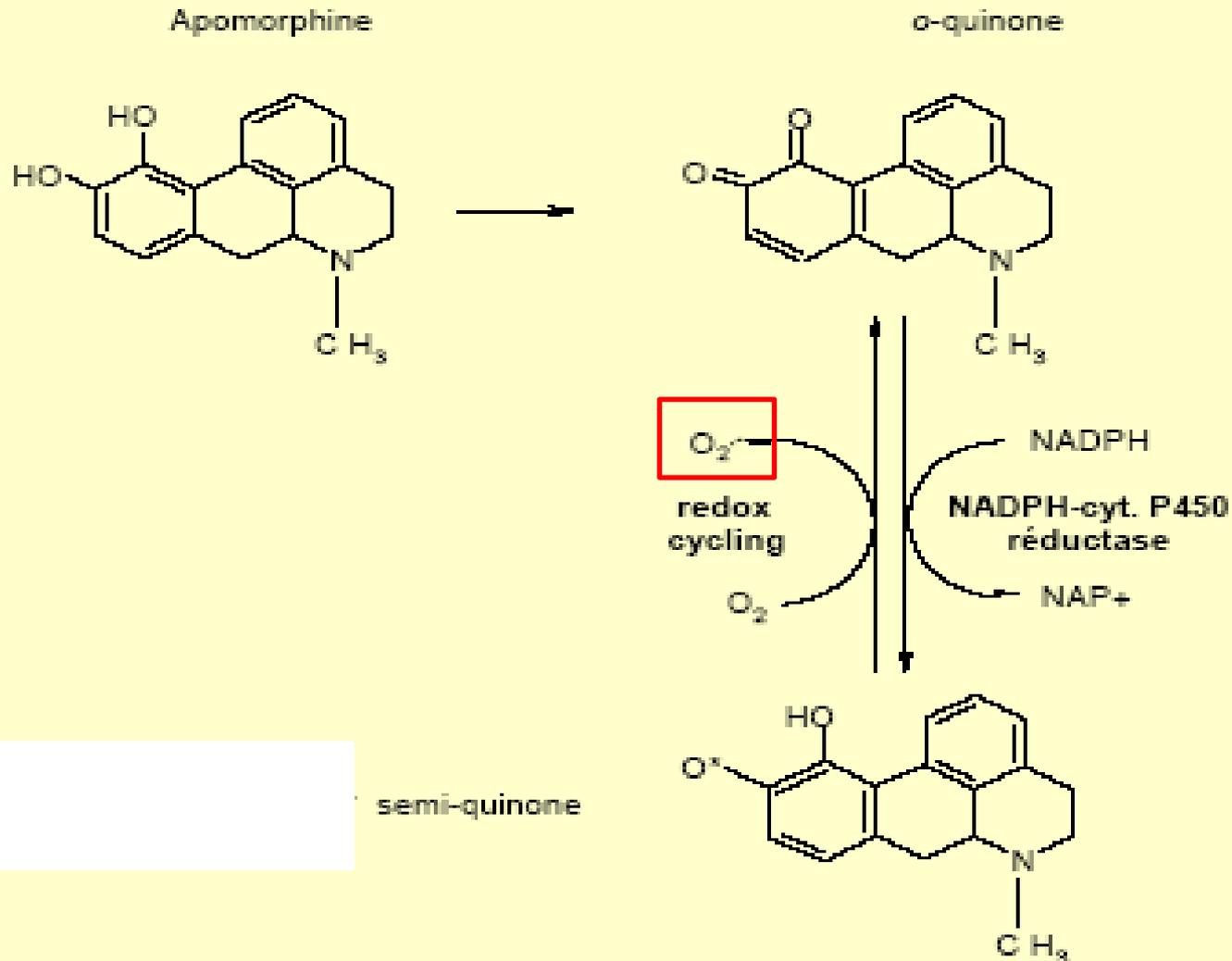
Métabolisme Adriamycine Antibiotique



Métabolites de l'apomorphine et la formation Anion superoxyde

Quinones subissent deux oxydations avec un Transfer d'un électron = quinone puis semiquinone

Le passage de la semiquinone à la quinone libère un électron et permet la formation de l'anion superoxyde.



Les consequences du stress oxydant
Effet sur
Les protéines Lipides et ADN

Les conséquences du stress oxydant

La production excessive de radicaux libres provoque des lésions directes des molécules biologiques (oxydation de

ADN

des protéines

des lipides

des glucides

mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides.

L'organisme peut aussi réagir contre ces composés anormaux par production d'anticorps, qui malheureusement peuvent aussi être des auto-anticorps créant une troisième vague d'attaque chimique.

Auto immune

Les Conséquences biochimiques sur les Proteines

Les protéines les plus sensibles aux attaques radicalaires sont surtout celles qui comportent un groupement sulfhydryle (SH). C'est le cas de nombreuses enzymes cellulaires et protéines de transport qui vont ainsi être oxydées et inactivées

Les protéines modifiées par oxydation perdent leurs propriétés biologiques

Les protéines oxydées deviennent aussi très hydrophobes, soit

- par suppression de groupements amines**
- par extériorisation de zones hydrophobes centrales.**

Elles vont alors former des **amas anormaux dans ou autour des cellules. Ces amas, associés aux lipides, forment les dépôts de **lipofuschines** caractéristiques des tissus des sujets ages.**

Les acides aminés

AA Aromatiques

AA Soufrés

AA Basiques

**Phe amine
Tyrosine
Tryptophane**

Cystéine Méthionine

Lysine + Arg + His

Altération des acides aminés

Formation des peptides /des protéines modifiés dans leurs structures

Altération sur l'activités des protéines formées

Modification de l'activité Enzymatique

**Modification de la perméabilité Membranaire
Effet sur les protéines dans les zones Hydrophiles**

Effets sur les protéines de Transport

Modifications de certains acides aminés

Formation de ponts bi-tyrosine

Oxydation des chaînes latérales des acides aminés

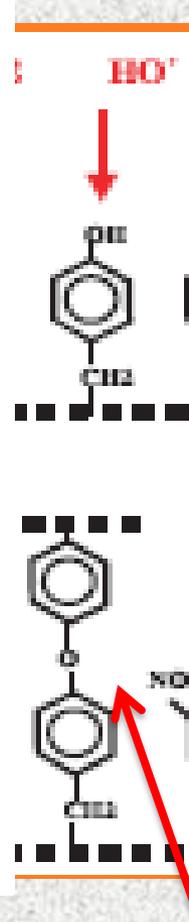
Oxydation des cycles phénoliques

Oxydation des groupements SH

Nitrosation

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

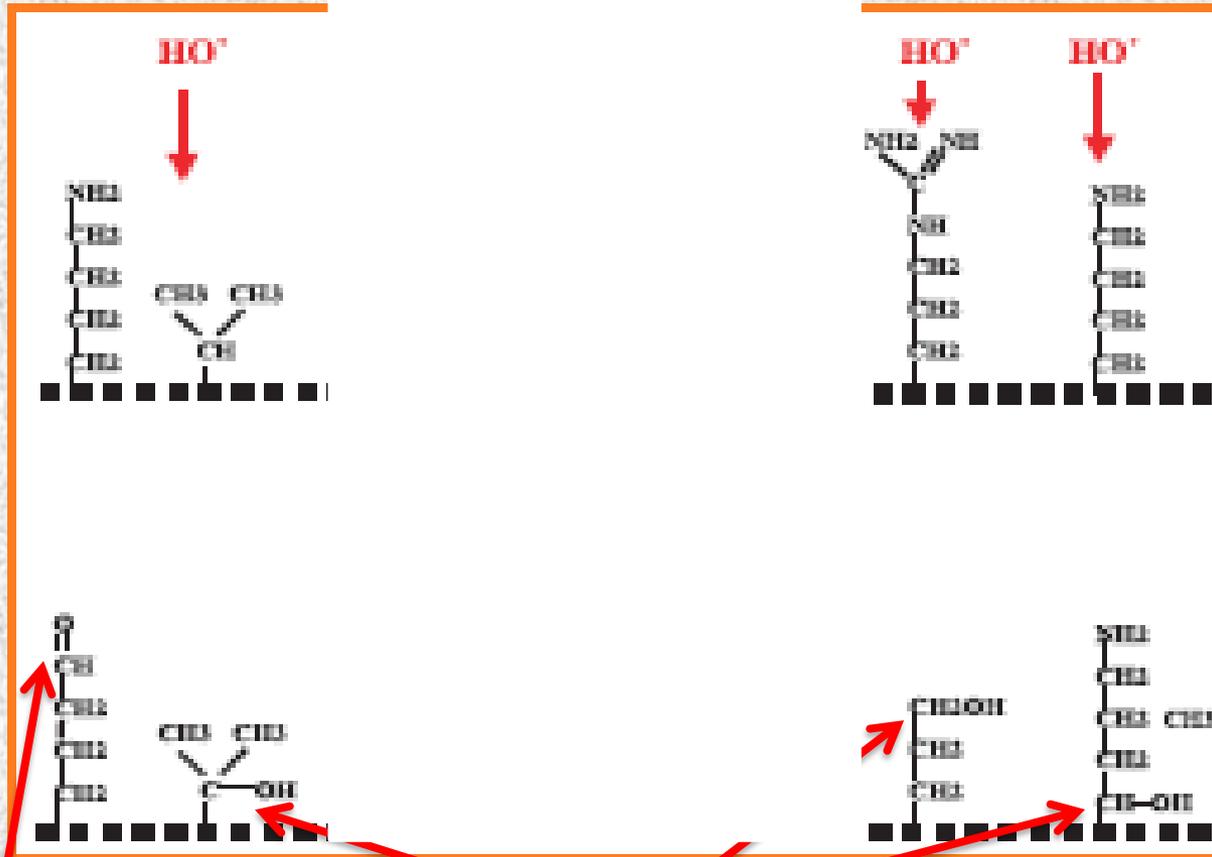
Radical Responsable



Formation de ponts bi-tyrosine

Figure - Nature de quelques modifications des chaînes latérales d'acides aminés après attaque radicalaire.

Radical Responsable

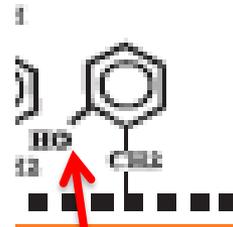
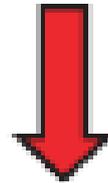
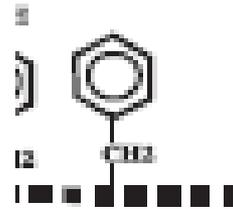


Oxydation des chaînes latérales des acides amines

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

Radical Responsable

HOOH HO^\bullet



Oxydation des cycles phenoliques

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

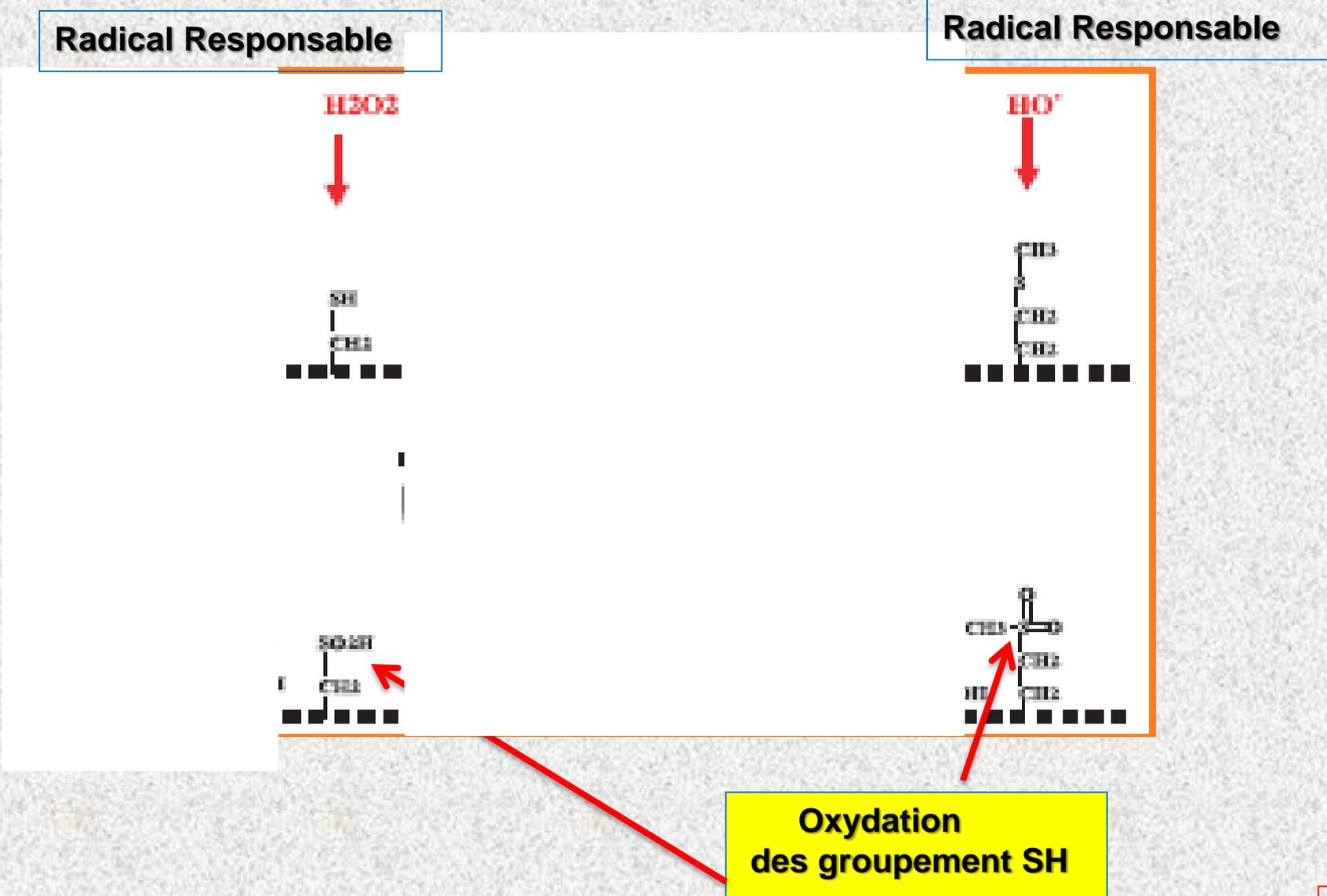
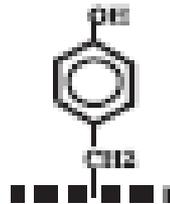


Figure - Nature de quelques modifications des chaînes latérales d'acides aminés des protéines après attaque radicalaire.

Radical Responsable

O[•] ONDC



Nitrolisation

Les conséquences du stress oxydant sur l'ADN

Bien que l'ADN soit la mémoire de toute la composition biochimique des êtres vivants, il s'agit d'une molécule très sensible à l'attaque par les radicaux de l'oxygène

cinq classes principales de dommages oxydatifs médiés par $\text{OH}\cdot$ peuvent être générées. Parmi elles

les bases oxydées

des adduits intra-caténares

les sites abasiques

des cassures de brins

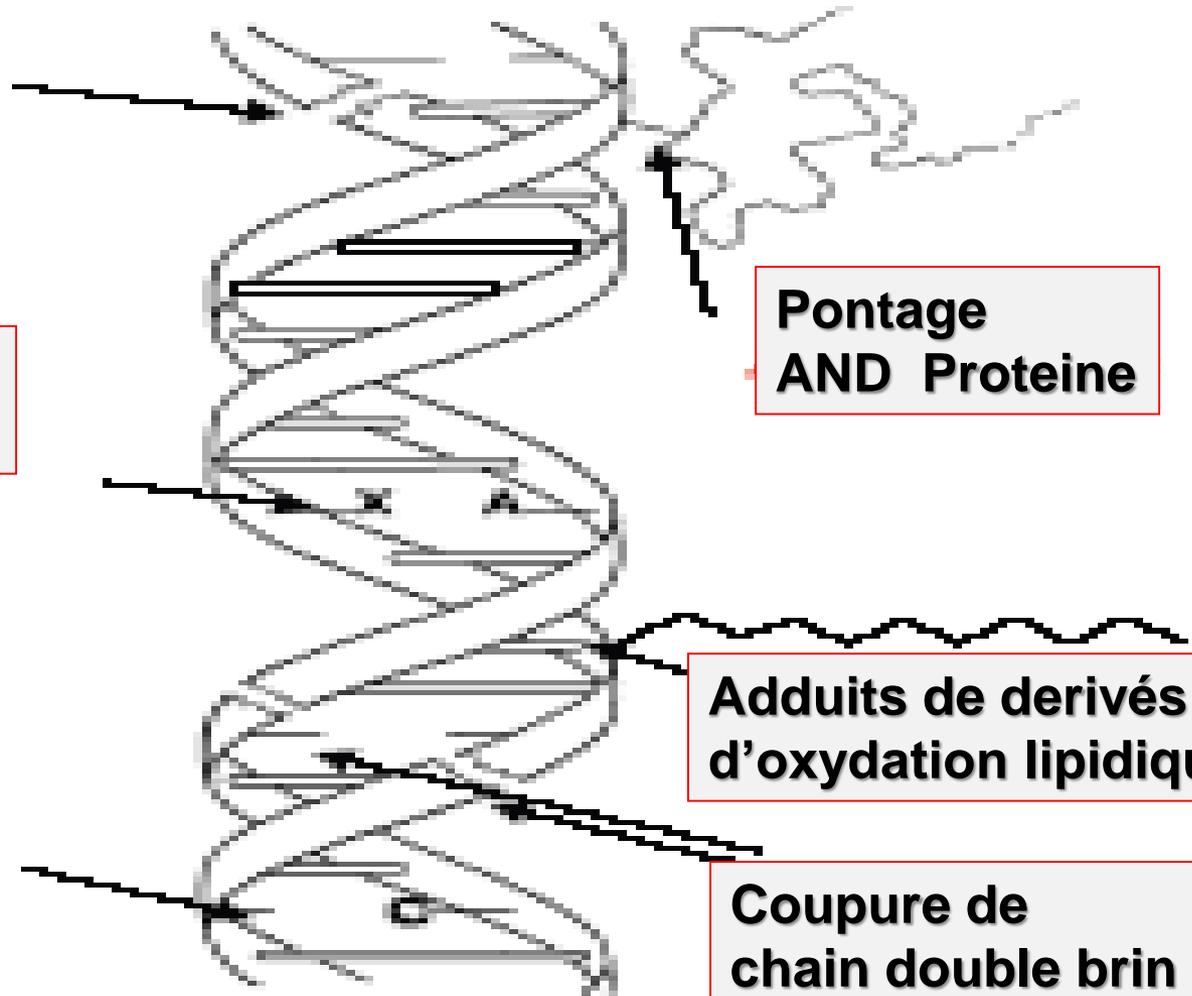
des pontages ADN-protéines

Figure - Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules.

**Coupure de
chain simple brin**

**Modification
De La Base**

**Formation de site
A Basique**



**Adduits de derivés
d'oxydation lipidiques**

**Coupure de
chain double brin**

peroxydation lipidique

Les lipides et principalement leurs acides gras polyinsaturés AGPI sont la cible privilégiée de l'attaque par le radical hydroxyle capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons

Les hydroperoxydes peuvent subir plusieurs modes d'évolution : continuer à s'oxyder et à se fragmenter en aldéhydes acides et en alcanes (éthane, éthylène, pentane) qui, est par leur volatilité, sont éliminés par voie pulmonaire

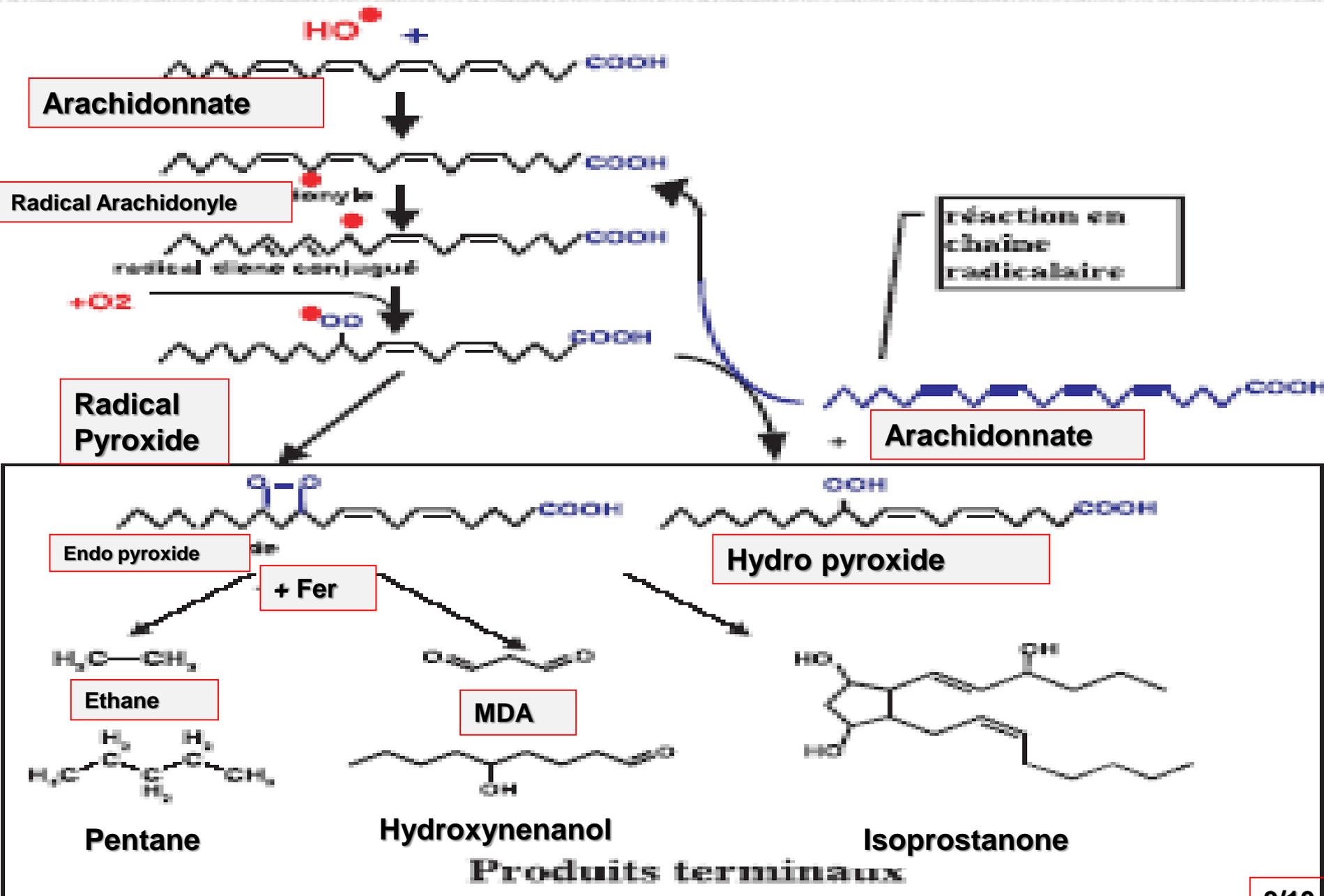
Cette attaque des lipides peut concerner les lipoprotéines circulantes ou les phospholipides membranaires

Les conséquences seront différentes

l'attaque des lipides circulants aboutissant à la formation de LDL (lipoprotéines de densité légère) oxydées qui, captées par des macrophages, formeront le dépôt lipidique de la plaque d'athérome des maladies cardiovasculaires

l'attaque des phospholipides membranaires modifiant la fluidité de la membrane et donc le fonctionnement de nombreux récepteurs et transporteurs et la transduction des signaux.

Figure - Mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides gras polyinsaturés et nature des produits terminaux formés.



Les Maladies et radicaux Libres

Stress oxydatif



Altération des protéines des lipides et de l'ADN



Lésions Cellulaires



LESIONS TISSULAIRES



LESIONS DES ORGANES



MALADIES

VIEILLISSEMENT & MALADIES DEGENERATIVES

ALZHEIMER Les mécanismes impliqués

a - Le dépôt de protéines dites "protéines B-amyloïdes" (APP amyloid precursor protein, c'est dans le cortex cérébral que l'on retrouve la plus forte expression d'APP) sans doute liées au stress oxydatif.

b - Une perte de neurones notamment dans l'hippocampe, zone du cerveau impliqué dans la mémoire.

c - Des déficits en neurotransmetteurs tels que la noradrénaline, l'acétylcholine et la sérotonine, molécules qui transmettent les signaux entre les neurones.

PARKINSON Les mécanismes impliqués

La maladie de Parkinson est caractérisée par une perte de neurones sécrétant un neurotransmetteur : la dopamine. Ce déficit entraîne des signes bien connus

d'un tremblement des extrémités

d'une rigidité et d'une perte d'équilibre.

Les dommages causés par les radicaux libres pourraient constituer un des facteurs majeur dans la dégénérescence de cellules nerveuses au niveau de l'encéphale observée dans le Parkinson

PATHOLOGIES OCULAIRES

Les pathologies oculaires liées à l'âge (cataracte, dégénérescence maculaire) sont les principales causes de cécité au niveau mondial.

Ces altérations oculaires sont liées à l'exposition directe de l'œil aux UV solaires et à l'action délétère des dérivés radicalaires de l'oxygène.

1 - La cataracte

Une opacification du cristallin, qui jusqu'à présent ne peut se corriger que par la chirurgie. Les principaux facteurs de risque connus de la cataracte sont le tabagisme, le diabète, l'exposition à la lumière et l'utilisation de corticoïdes. , ces différentes situations sont sources de radicaux libres oxydants. L'exposition continue du cristallin à la lumière favorise l'oxydation des lipides constituant le cristallin et la formation de la cataracte.

2 - La dégénérescence maculaire : DMLA

Elle consiste en une altération du centre de la rétine (macula), Caractérisé par une chute brutale de l'acuité visuelle. la rétine elle possède très grande richesse en AGPI (acides gras poly-insaturés) devient une proie très facile pour le stress oxydatif. Par ailleurs, le tabac, est un facteur de risque important pour la DMLA.

Les complications **vasculaires** sont souvent dues au stress oxydatif induites par **l'hyperglycémie** caractéristique des **syndromes diabétiques**.

Ces lésions vasculaires sont responsables de la mortalité observées chez les diabétiques.

Des travaux récents ont montré que les **NAD-(P)-H oxydases** sont des sources majeures de **superoxyde** dans les **cellules vasculaires** et les **myocytes**.

Le stress oxydatif peut entraîner une

- Cardiomyopathie,**
- une maladie coronarienne**
- Des maladies cardiovasculaires**

En induisant une inflammation du muscle cardiaque et des vaisseaux sanguins

A ce jour plus de 100 troubles et maladies liés à l'âge ont été attribuées aux radicaux libres

Par exemple

Les Rides : elle sont provoquées par la dégradation des protéines de structure du derme.

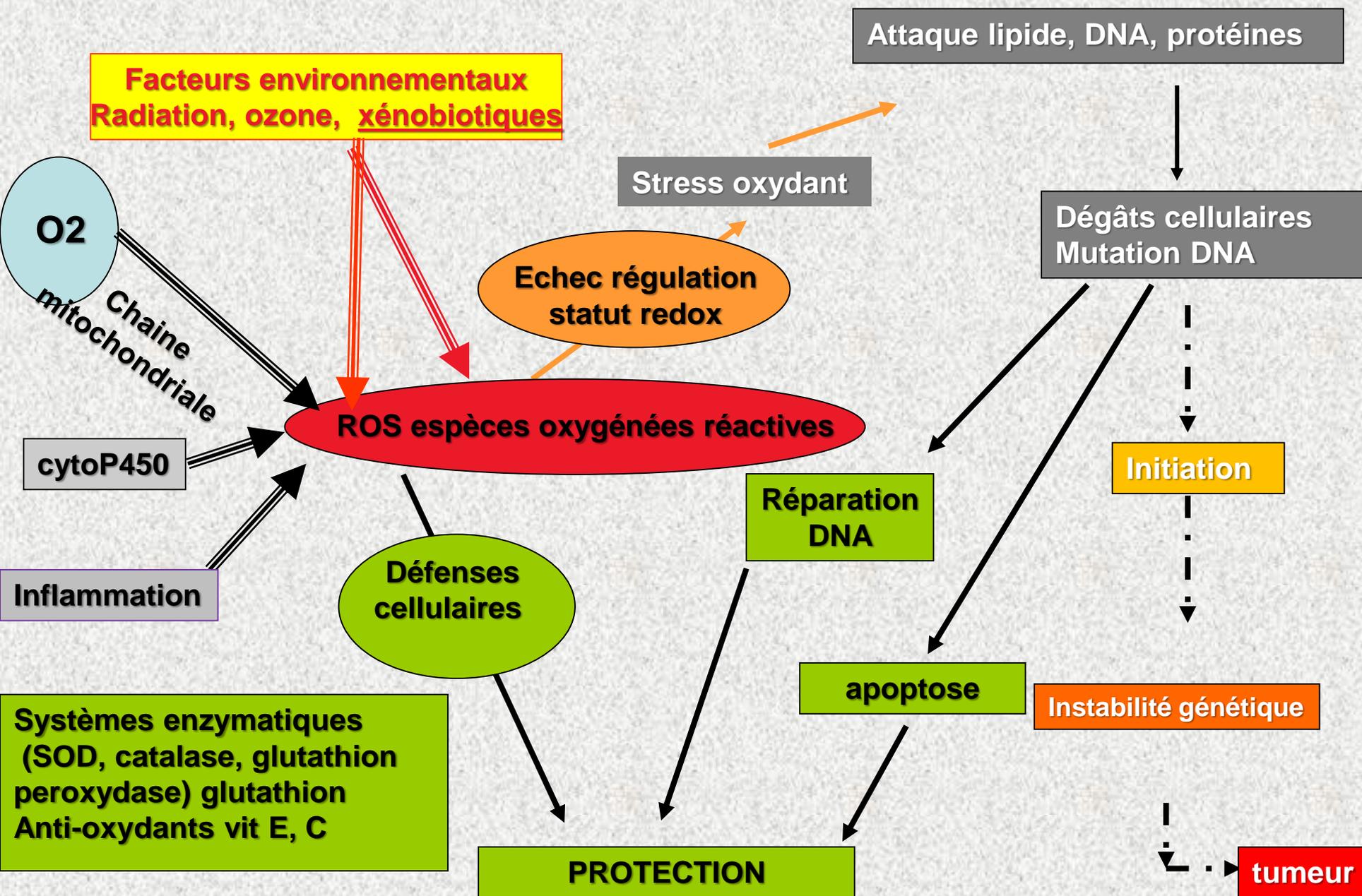
L'Emphysème : endommagées par les radicaux libres du tabac, les protéines du poumon perdent leur élasticité.

L'Infarctus : oxydé par les radicaux libres, le cholestérol se dépose le long des artères.

Le Cancer : le support du code génétique, l'ADN, essuie chaque jour environ 10 000 attaques dues aux radicaux libres. Lorsque ces lésions ne sont plus réparées, le code génétique est altéré, et ceci peut conduire au cancer.



Statut oxydo-réducteur



LE TEST

KRL

Principe du test KRL

KRL Kit Radicaux Libres

La résistance du sang à l'attaque radicalaire est exprimée par le temps nécessaire à la lyse de 50 % des cellules.

Cette technique qui permet d'évaluer la capacité d'un produit à améliorer les défenses cellulaires préventivement à une agression radicalaire

Erythrocyte Attaque radicalaire Cellule lysée Flux lumineux

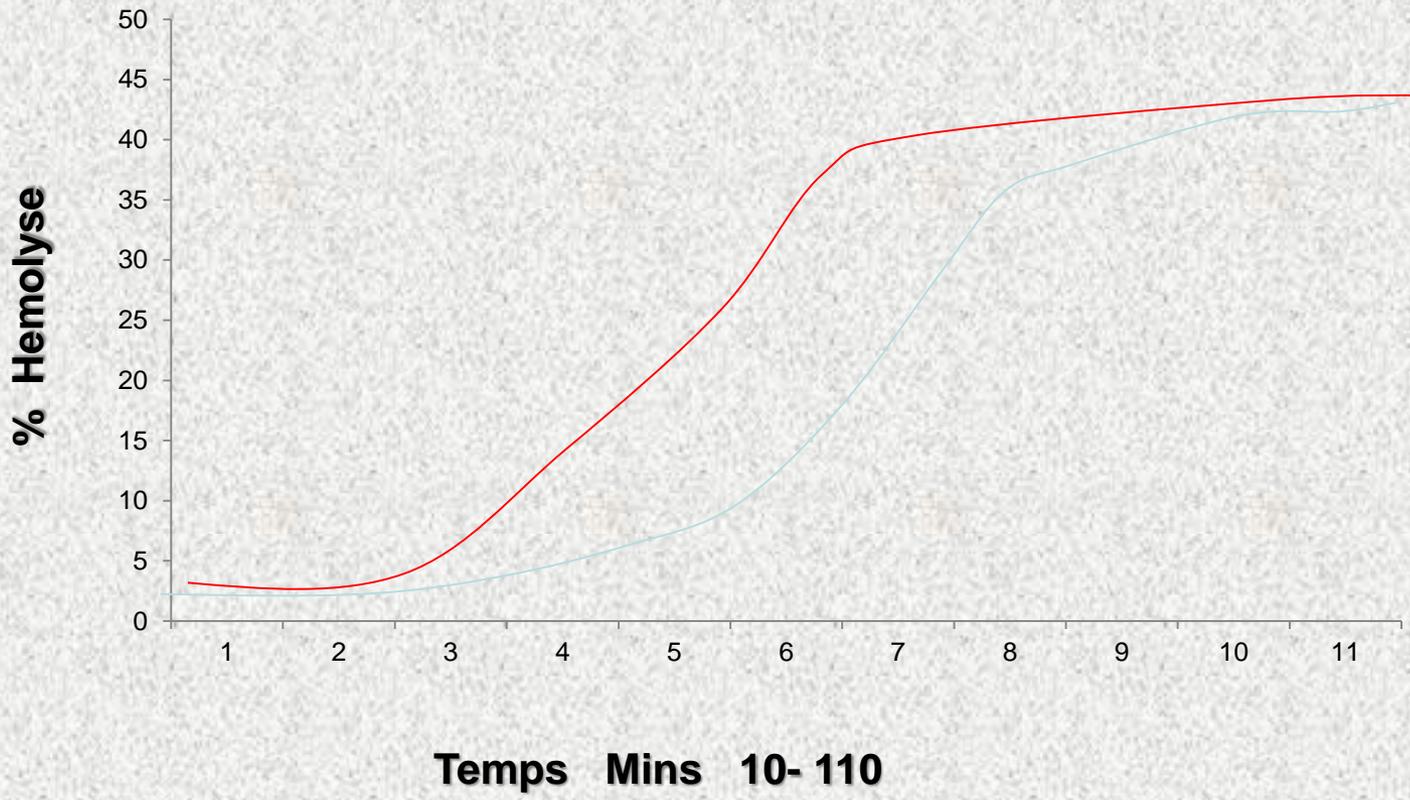
C'est un test biologique basé sur la mise en contact, à 37°C, d'un générateur de **radicaux libres**, avec du sang total. La décomposition thermique de ce composé génère des radicaux libres à vitesse constante qui attaquent **la membrane des globules rouges**. Lorsque les antioxydants endogènes sont consommés, **la membrane des globules rouges éclate** et l'hémoglobine se retrouve dans le surnageant. Le suivi de **l'hémolyse** se fait par spectrophotométrie à 630 nm, il permet de mesurer la variation de la turbidité du milieu réactionnel au cours du **temps**.

L'addition dans le milieu d'incubation de molécules ou d'extraits à activité **antioxydante** retarde l'apparition de **l'hémolyse**

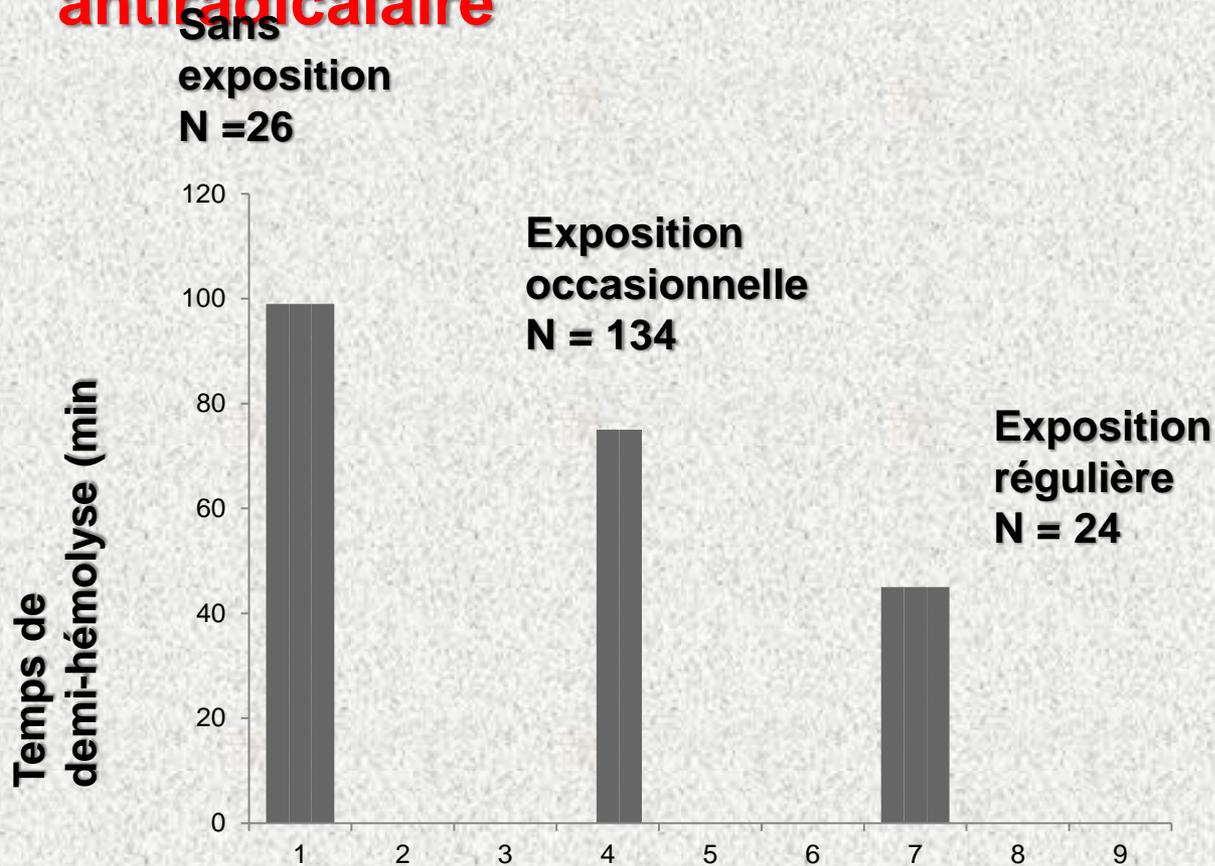
**DES
EXEMPLES
PATHOLOGIQUES
ET
PHYSIOLOGIQUES**

Altérations des défenses antiradicalaires érythrocytaires chez les rats diabétiques

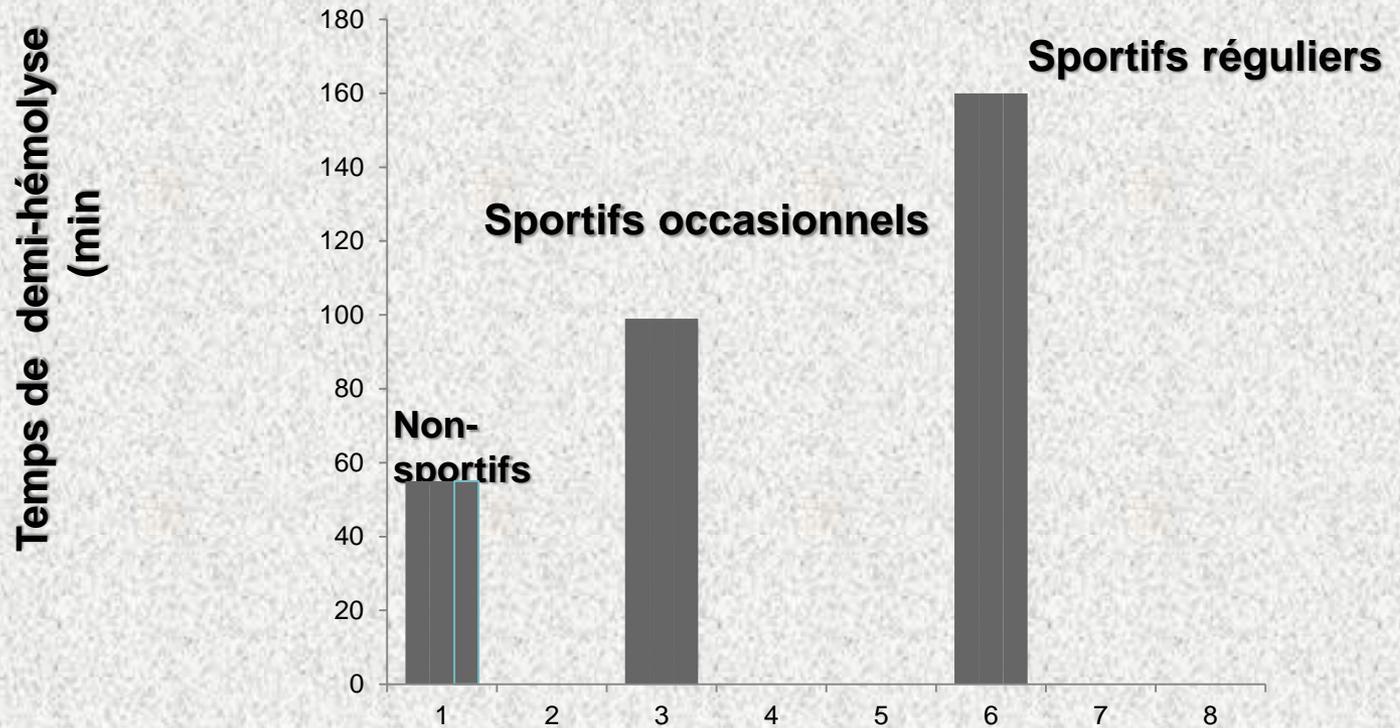
----- Diabétiques
----- Témoins



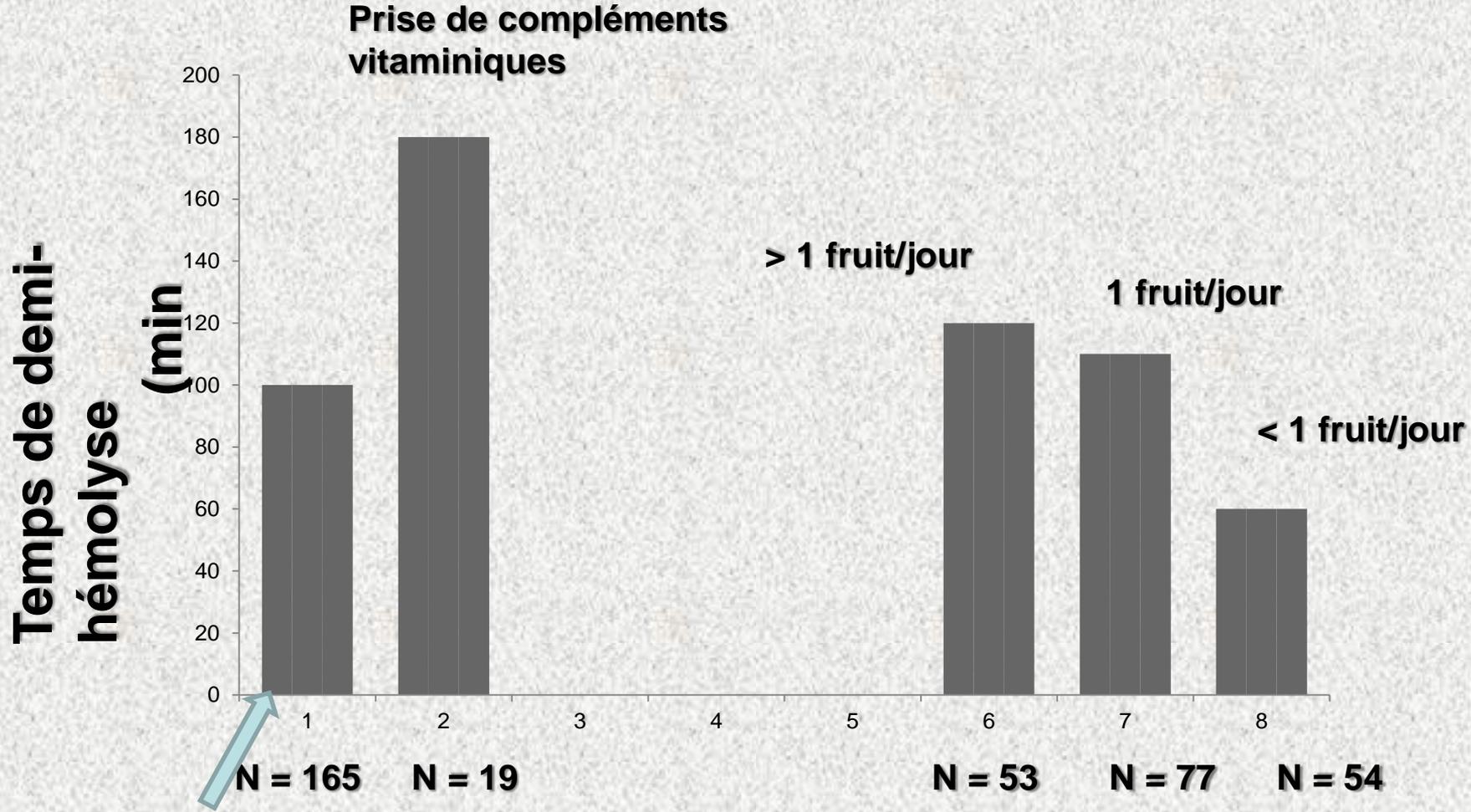
Effet de l'exposition au soleil sur le potentiel de défense antiradicalaire



Influence de l'exercice physique sur le potentiel de défense antiradicalaire

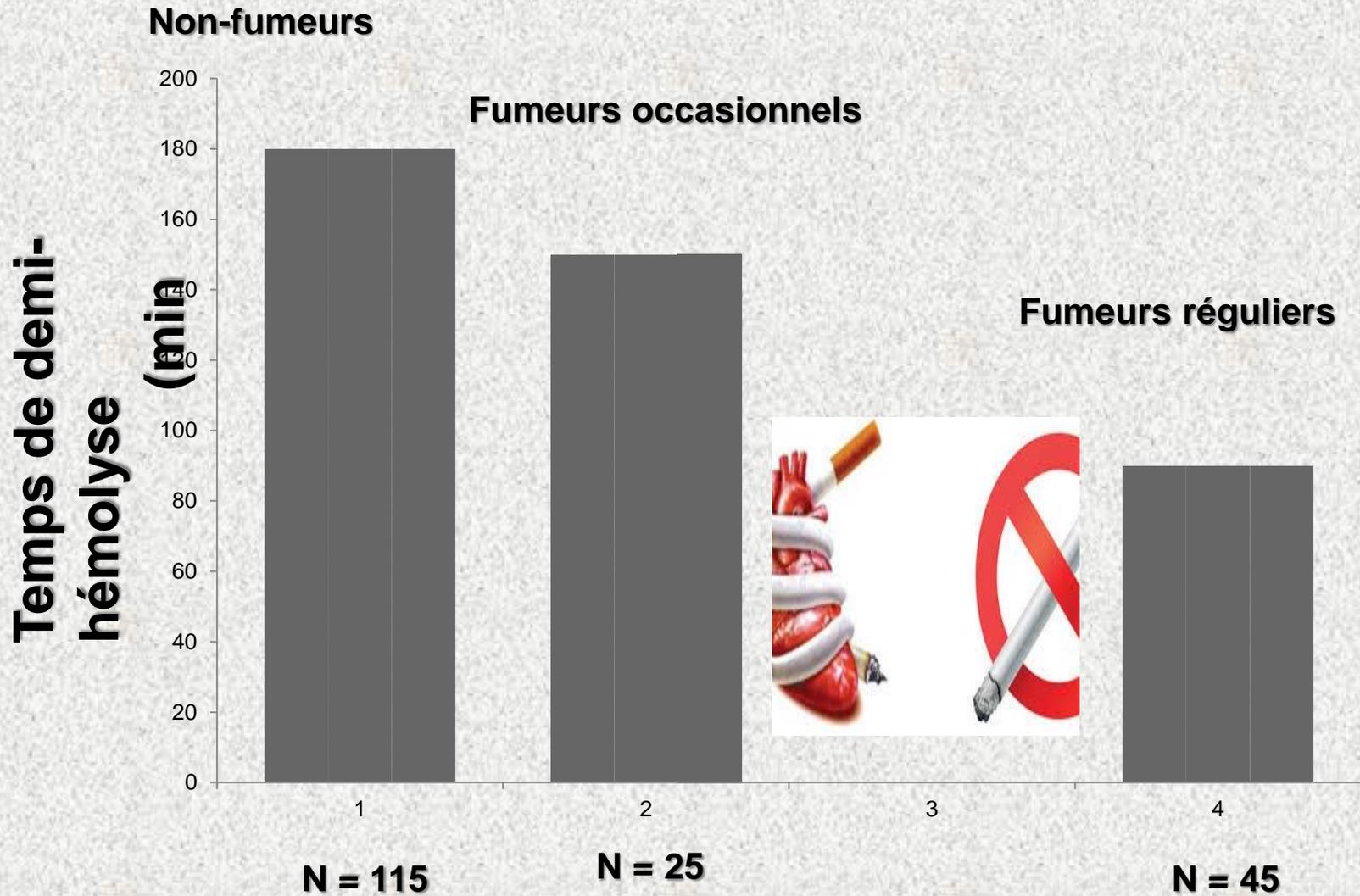


Influence de la consommation de fruits et de compléments vitaminiques



Pas de prise de compléments vitaminiques

Effet du tabac sur le potentiel global de défense antiradicalaire



LES ANTI OXIDANTS

LES ANTI OXIDANTS

L'organisme possède un certain nombre de moyens de défenses contre les atteintes des radicaux libres mettant en jeu des enzymes comme les superoxyde dismutases, les catalases, la glutathion peroxydase et la glutathion reductase.

D'autres antioxydants (espèces chimiques embuchant les réactions d'oxydation dommageables causées par les ROS) sont des petites molécules telles que les vitamines E et C, les caroténoïdes, certains polyphénols, des huiles essentielles

Le Rôle protecteur des

I- Empêcher la formation des RL

II- les éliminer

III- Réparer les dégâts cellulaires et tissulaires

Les systèmes de protection contre les radicaux libres

Regroupe deux modèles

-1- Les antioxydants de l'organisme

la cellule synthétise ses propres antioxydants

-2- Les antioxydants de l'alimentation

La meilleure source d'antioxydants est sans aucun doute l'alimentation sous forme de légumes et fruits, et la consommation de certains suppléments fera partie d'une bonne stratégie de lutte contre le vieillissement et la dégénérescence.

Antioxydants de l'organisme

Fonction

Superoxyde dismutase (SOD)
à base de zinc et cuivre



Enzyme. Neutralise les radicaux superoxydes en les transformant en peroxyde d'hydrogène

Superoxyde dismutase (SOD)
à base de manganèse



Enzyme. Neutralise les radicaux superoxydes en les transformant en peroxyde d'hydrogène

Catalase



Enzyme. Neutralise les peroxydes d'hydrogène en les transformant en eau et oxygène

Glutathion peroxydase
(à base de sélénium)



Enzyme. Neutralise les peroxydes d'hydrogène en les transformant en eau et oxygène.

Les antioxydants de l'organisme

Transferrine

Lactoferrine

Cerruloplasmine

Acide urique

Albumine

Glutathion

Coenzyme Q10

Mélatonine



Protéine. Transporte le fer.

Protéine. Transporte le fer.

Protéine. Transporte le cuivre.

Neutralise les radicaux libres dans les compartiments extra-cellulaires.

Protéine. Neutralise les radicaux libres.

Protéine. Neutralise les radicaux libres.
Détoxifiant.

Transporteur d'électrons. Préviend les réactions radicalaires dans les mitochondries.

Hormone anti-oxydante.

Superoxyde dismutase

Première ligne de defense

x1000 dismutation spontanée



– Cofacteur métallique: Zn^{2+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} ,

2 enzymes connues

– SOD cytoplasmique (Cu et Zn dependant)

– SOD mitochondrial (Mn dependant)

- Production enzyme induit par le substrate anion superoxide (O_2^-)

Catalase

Deuxième ligne de défense

- Hémoprotéine contenant des ions Fer



Glutathion peroxydase (GPX) et reductase

Deuxième ligne de défense

- Hémoprotéine des atomes de sélénium
- Nécessite un donneur d'hydrogène
- Réaction coûteuse en énergie
- Régénération du GS-SG en GSH par une glutathion réductase

GSH peroxydase et réductase

– GSHP_x

- $2 \text{ GSH} + \text{H}_2\text{O}_2 \implies \text{GSSG} + 2 \text{H}_2\text{O}$
- Élimination du H_2O_2 + ac. gras peroxydés

– GSH réductase

- $\text{GSSH} + \text{NADPH} + \text{H}^+ \implies 2 \text{ GSH} + \text{NADP}^+$
- Régénération du GSH

Antioxydants de l'alimentation

Fonction

Vitamine C (fruits, légumes) → Réagit avec les radicaux libres dans le plasma (sang) et à l'intérieur des cellules. Régénère la vitamine E et le bêta-carotène.

Vitamine E (germe de blé, noix, amandes, huiles végétales) → Réagit avec les radicaux libres dans les milieux gras. Protège les membranes, les graisses circulantes, et les protéines.

Caroténoïdes (légumes à feuilles vert sombre, carottes, tomates, maïs) → Réagit avec les radicaux libres dans les milieux gras. Protège les membranes, les graisses circulantes, et les protéines.

Les antioxydants de l'alimentation

Polyphénols (fruits, légumes) → Réagissent avec les radicaux libres dans les milieux aqueux et/ou gras. Protègent la vitamine C.

Terpènes (épices, aromates) → Neutralisent des radicaux libres.

Sélénium, fer, zinc, manganèse, cuivre (viandes, végétaux). → Composants des enzymes antioxydantes.

Cystéine (viandes, végétaux) → Précurseur du glutathion.

Acide phytique (céréales complètes) → Minimise la concentration des formes réactives des minéraux (fer, cuivre, manganèse) qui peuvent donner naissance à des radicaux libres.

Sulforaphane (Légumes crucifères : brocoli, choux,) → Induit des enzymes détoxifiantes qui s'opposent à la formation du radical superoxyde.

Les Piègesurs (« scavengers ») des radicaux libres

- Inactivation de tous les composés radicalaires
- Composés stables et facilement oxydables

1• Membranaire

Vitamine E, Caroténoïdes Pro-vitamine A

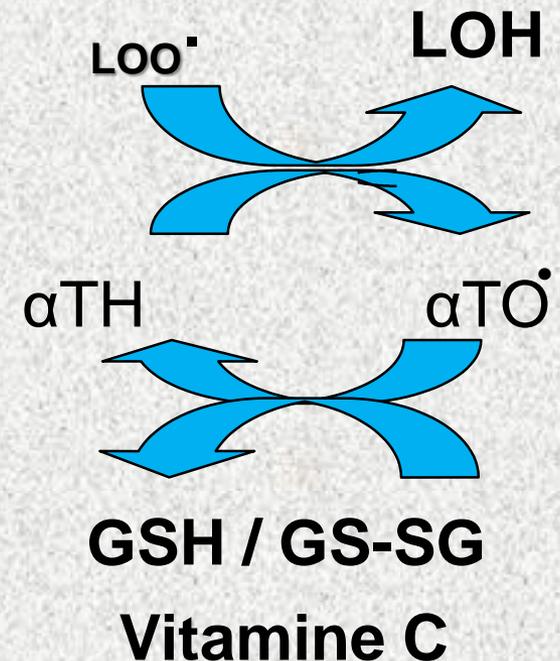
2• Cytosolique et plasmaticque

Vitamine C,

Vitamine E alpha tocophérol

action membranaire

- Composé Lipophile
- Inactive la peroxydation lipidique
- Recyclé par vitamine C ou GSH



Ter
mi
nai
so
n

Vitamine C Acide ascorbique

- Composé Hydrophile
- Antioxydant majeur du plasma
- Peut réagir avec tous les radicaux libres
- Régénération du dérivé oxydé par le glutathion ou le NADPH
 - $\text{vitC} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Déhydro-vitC} + 2 \text{H}_2\text{O}$
- Pas de stockage dans l'organisme
- Dégradation en l'absence de régénération

FIN

BON COURAGE

Pr LALAOUI K