

Stress Oxydant physiologique, modéré et pathologique



Josiane Cillard

Faculté de Pharmacie
Université de Rennes



EA 1274 « Mouvement-Sport- Santé »

Les Radicaux libres amis ou ennemis ?

1^{er} concept :

- **Les Radicaux Libres sont des agents dangereux qui provoquent des dommages oxydatifs appelés « Stress Oxydant ».**
- **L'effet toxique des Radicaux Libres s'observe pour des fortes concentrations.**

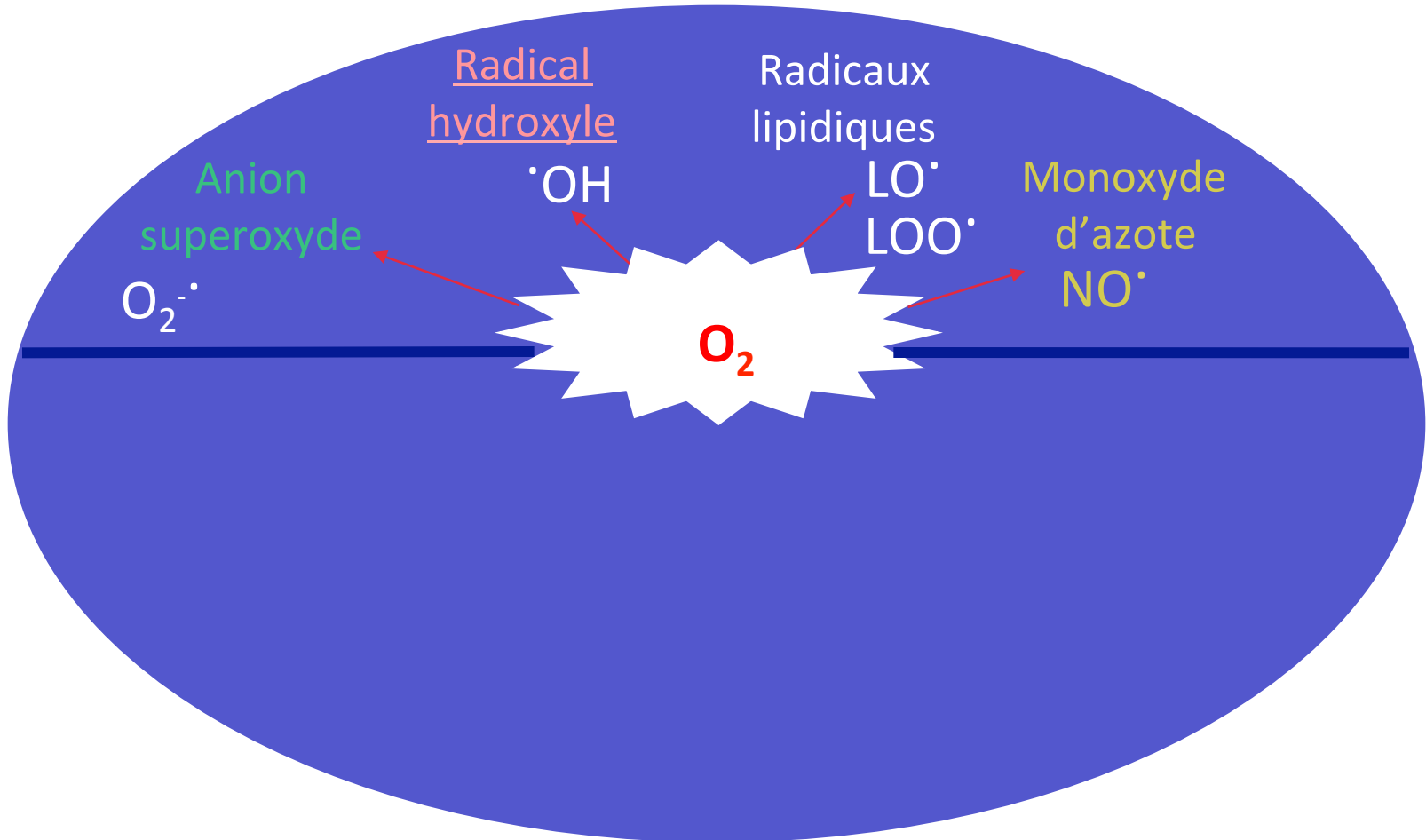
2^{ème} concept :

- **Les Radicaux Libres peuvent jouer un rôle physiologique comme messagers dans la signalisation cellulaire.**
- **Ce rôle bénéfique des radicaux libres s'observe pour des concentrations faibles ou modérées.**

De la notion de Radicaux Libres
à la notion d'Espèces Réactives de l'Oxygène (EROs)
et de l'Azote (ERNs)

Principales EROs et ERAs dans les organismes vivants aérobies

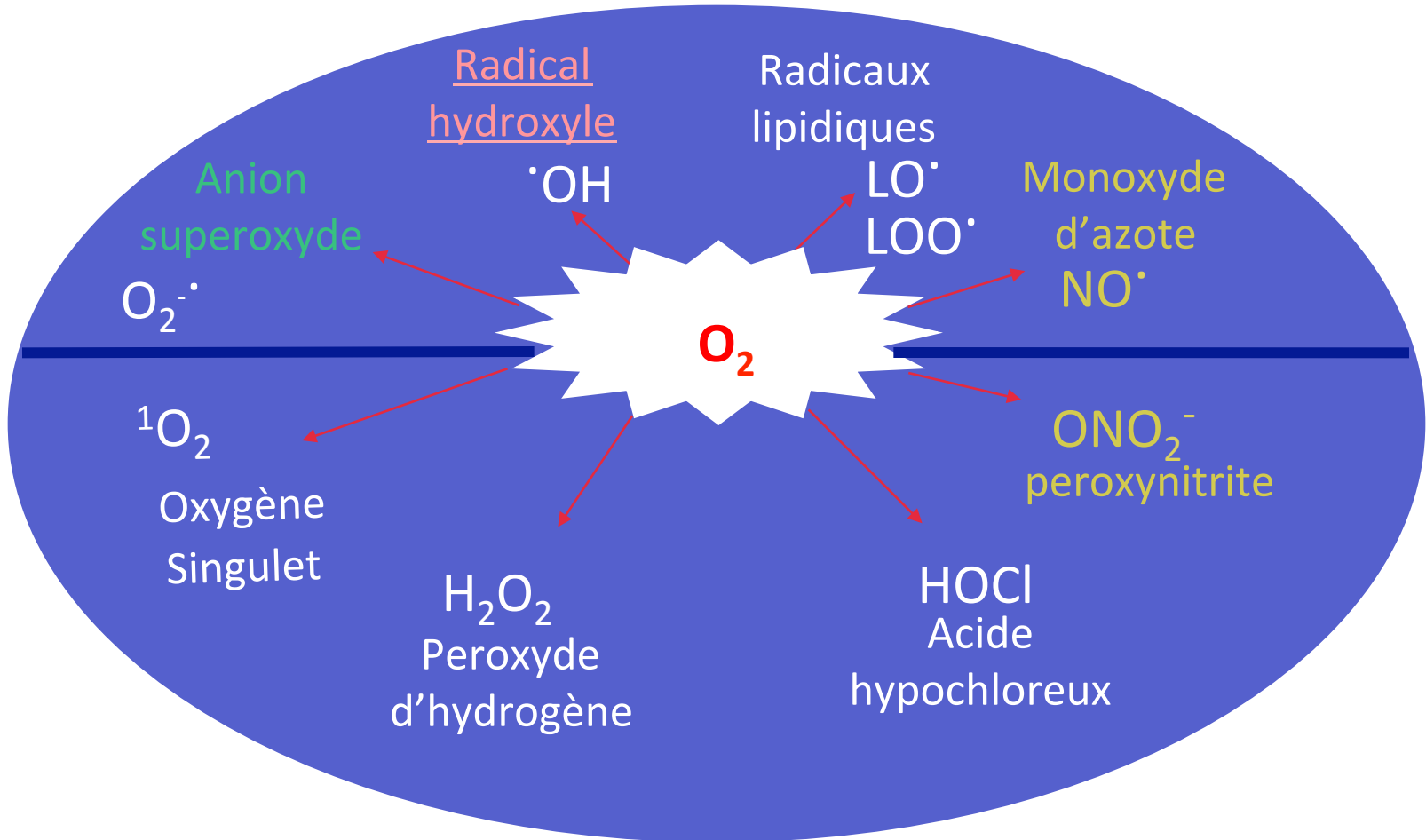
RADICAUX LIBRES



ESPECES NON RADICALAIRES

Principales EROs et ERAs dans les organismes vivants aérobies

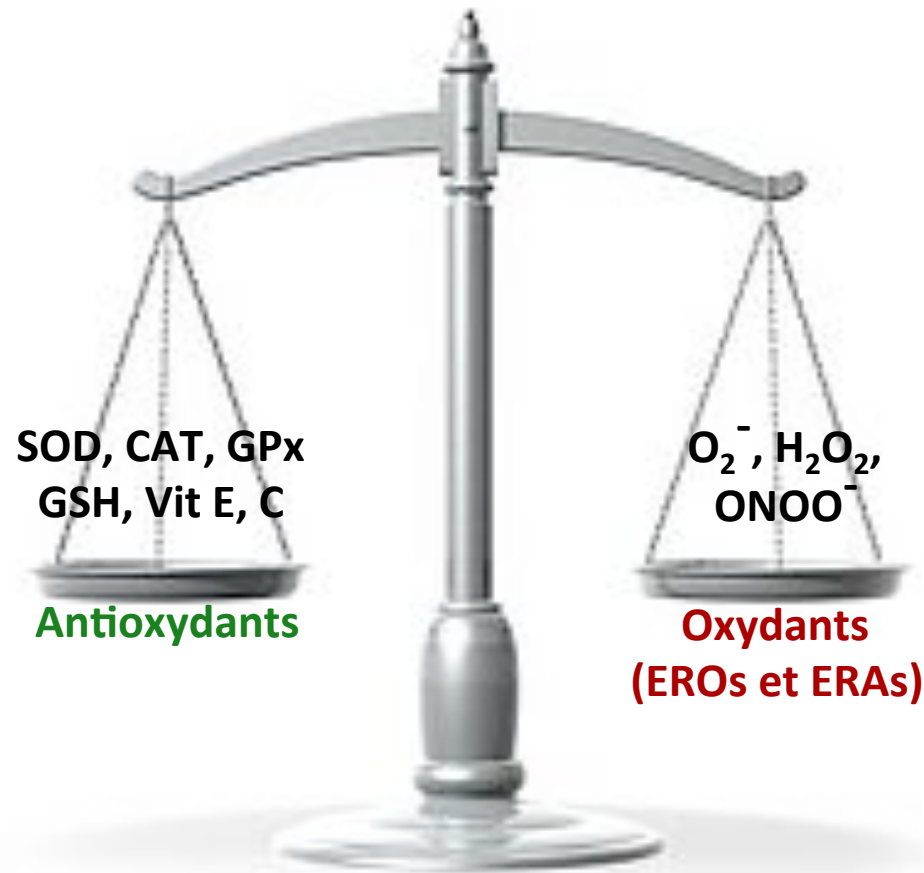
RADICAUX LIBRES



ESPECES NON RADICALAIRES

Stress Oxydant ou déséquilibre Redox ?

Les cellules aérobies génèrent en permanence des Espèces Réactives de l'Oxygène et de l'Azote qui sont neutralisées par les Antioxydants endogènes



Comment sont produites les Espèces réactives de
l'Oxygène et de l'Azote
dans les organismes vivants?

Production of des espèces réactives de l'oxygène et de l'azote au cours du métabolisme

EROs sont des produits
2^{aires} du métabolisme

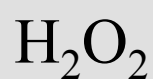
EROs et ERAs sont produits par
des enzymes spécifiques de
certains types de cellules

Respiration cellulaire
Mitochondries (90%)

Catabolisme des purines
Xanthine oxydase (↑hypoxie)

Synthèses des PGs and LOOH
Cyclooxygénase
Lipoxygénases

Métabolisme des Xénobiotiques
Cytochrome P450



Nox
NADPH oxydases

NO synthases

Myélo
peroxydase

Une machinerie antioxydante complexe maintient un faible taux d'EROs et ERAs

- **Enzymes Antioxydantes**

Superoxyde Dismutase (SOD), Catalase(CAT), Glutathion Peroxydase (GPX), Thiorédoxine (TRX), Glutarédoxine (GRX) Peroxyrédoxine (PRX)

- **Petites molécules antioxydantes**

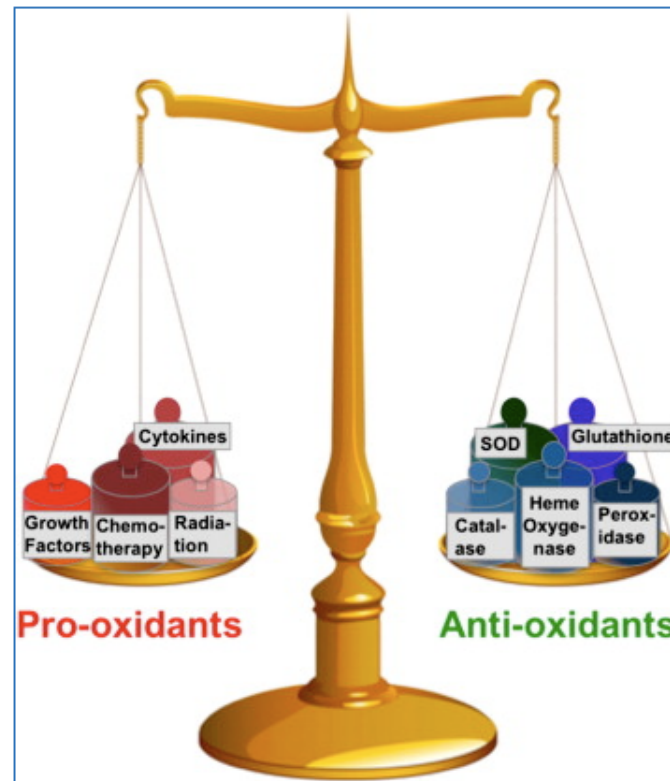
- ✓ **Endogènes**

Glutathion, acide urique, bilirubine, acide lipoïque, Coenzyme Q

- ✓ **Apportées par l'alimentation**

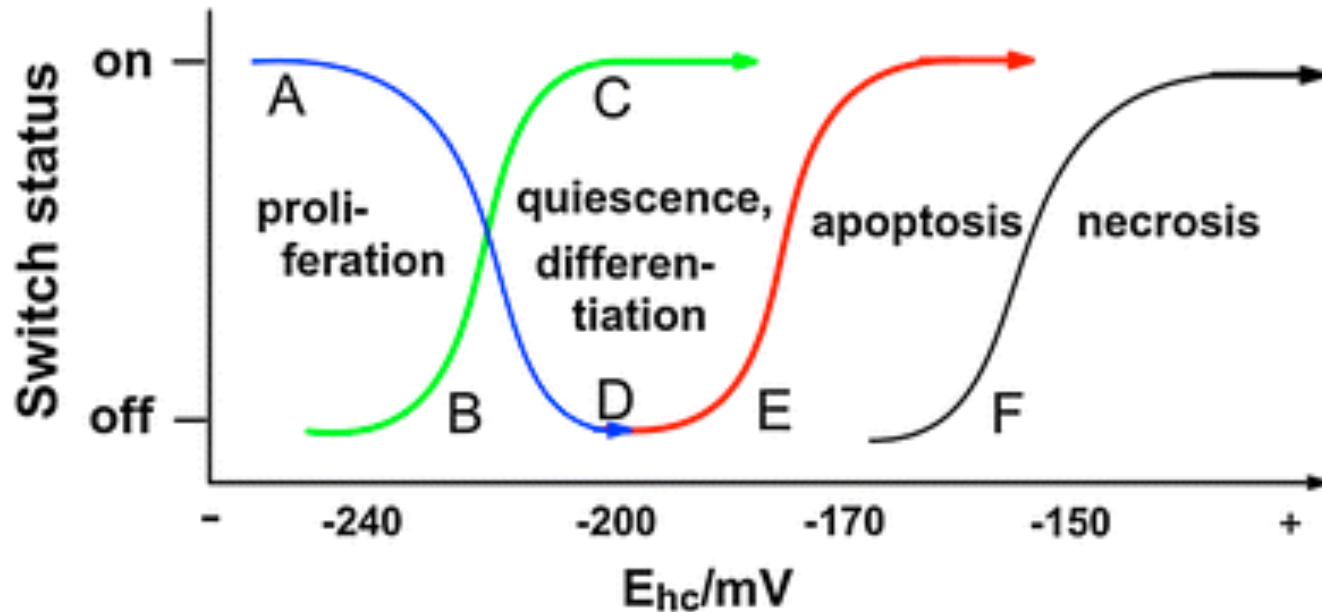
- Vitamines E and C
- Caroténoïdes
- Polyphénols (flavonoïdes)

Chaque cellule a un état redox et son oscillation détermine Les fonctions cellulaires



L'homéostasie redox intracellulaire est maintenue
par le glutathion (GSH/GSSG) et la thiorédoxine (TRX)

Relation entre l'état Redox et les fonctions biologiques des cellules



Un changement de 30mV du statut Redox correspond à un changement d'un facteur 10 du rapport entre les espèces réductrices et oxydantes

E_{hc} : potentiel d'oxydoréduction (redox)

Buettner, G.R. et al., Cell Biochem, Biophys, 2011

Quels sont les facteurs à l'origine d'une élévation des Espèces Réactives de l'Oxygène dans les cellules et qui entraîne un Stress Oxydant ?

stress oxydant

Facteurs environnementaux

Radiations
Ionisantes, UV

Médicaments, Pesticides,
Solvants industriels

Polluants
atmosphériques

Métaux lourds

infection

STRESS OXYDANT

Surcharge Fe, Cu
hémochromatose,
Wilson

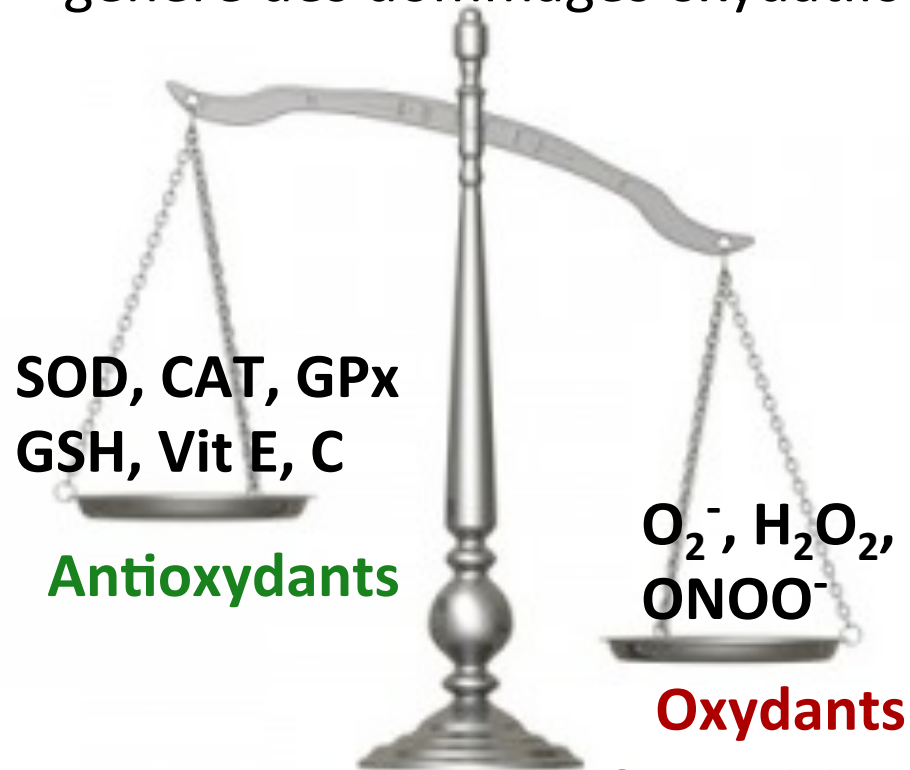
Hyperglycémie
Hyperlipidémie

Inflammation

Ischémie/reperfusion

Facteurs endogènes

Une augmentation **significative** des EROs
génère des dommages oxydatifs



Oxydations irréversibles

Lipides

- ✓ Lipoperoxydation des membranes
- ✓ Oxydation LDL

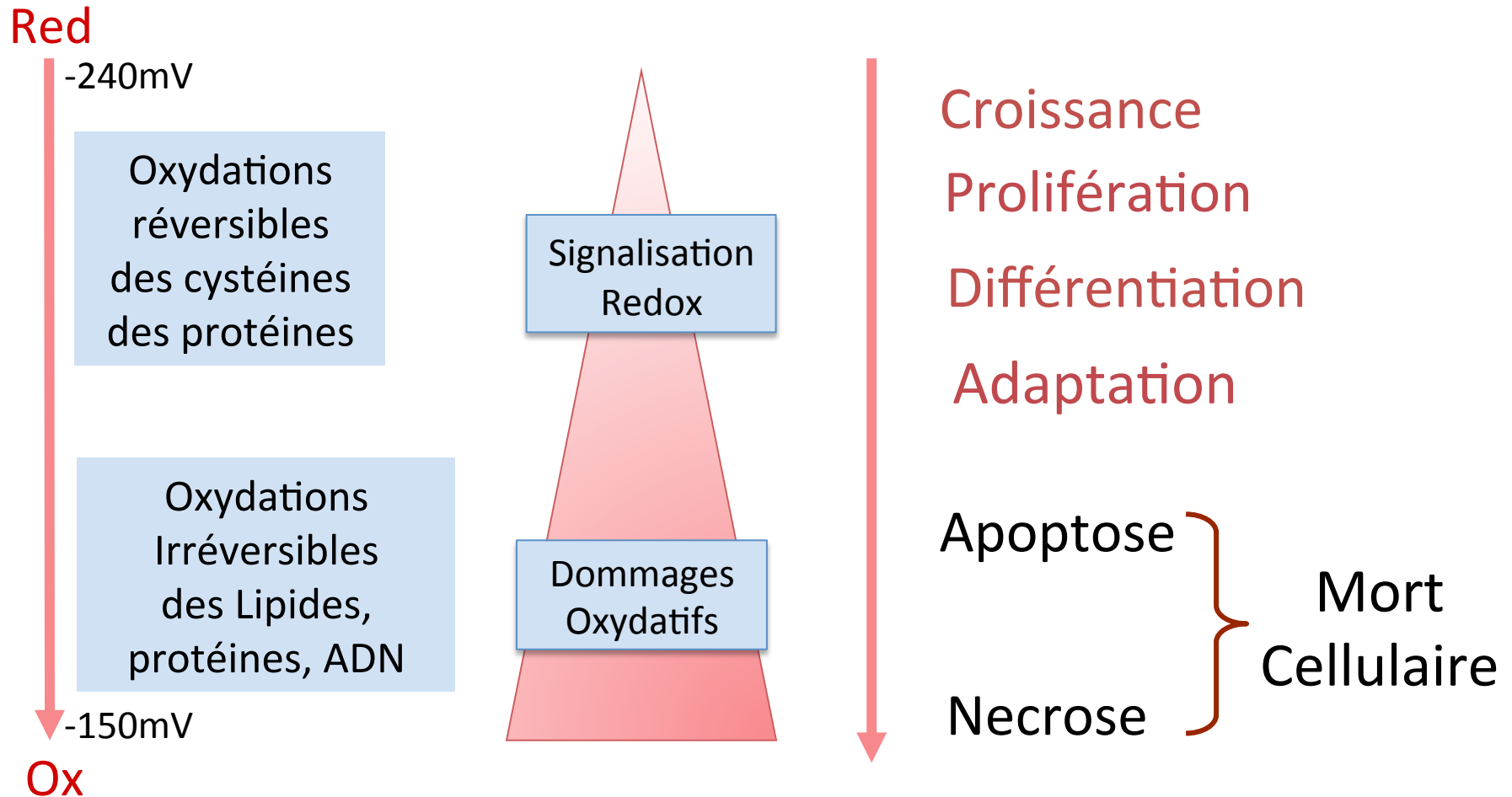
ADN

- ✓ Mutations
- ✓ Instabilité génomique
- ✓ Carcinogénèse

Protéines

- ✓ Inactivation enzymes,
- ✓ Inactivation récepteurs

Effets cellulaires en fonction de l'intensité du stress oxydant



Redéfinition du Stress Oxydant

«Déséquilibre de la balance Redox »

Helmut Sies (1985)

Le stress oxydant est un déséquilibre de la balance oxydants / antioxydants en faveur des premiers qui résulte en des dommages oxydatifs des biomolécules

Dean Jones 2006

Le stress oxydant est une perturbation de la signalisation redox et de son contrôle.

Helmut Sies & Dean Jones 2007

Le stress oxydant est un déséquilibre de la balance oxydants / antioxydants en faveur des premiers conduisant à une perturbation de la signalisation redox et de son contrôle et/ou des dommages moléculaires

Classification du stress oxydant et hiérarchie des réponses

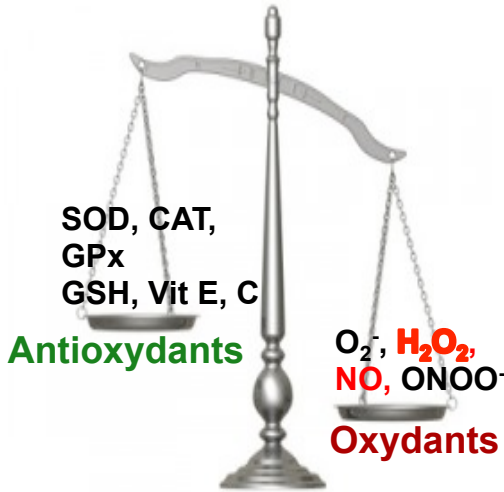
(d'après Lushchak V.I. Chemico-biological Interactions 2014)

Intensité SOx	Voies de signalisation	Résultats	
		Moléculaire	Physiologique
Basal	—	—	—
Faible	Nrf2/Keap1	Enzymes antioxydantes	Réponse adaptative
Modérée	HSF MAP Kinases NF-kB, AP1	Heat Shock Proteins Protéines inflammatoires Enzymes antioxydantes	Réponse combinée adaptation vs dommages
Elevée	???	Mitochondrie: ouverture du PTP Lipoperoxydation membranes	Apoptose Nécrose

Rôles Physiologiques du stress Oxydant

Stress oxydant et signalisation cellulaire

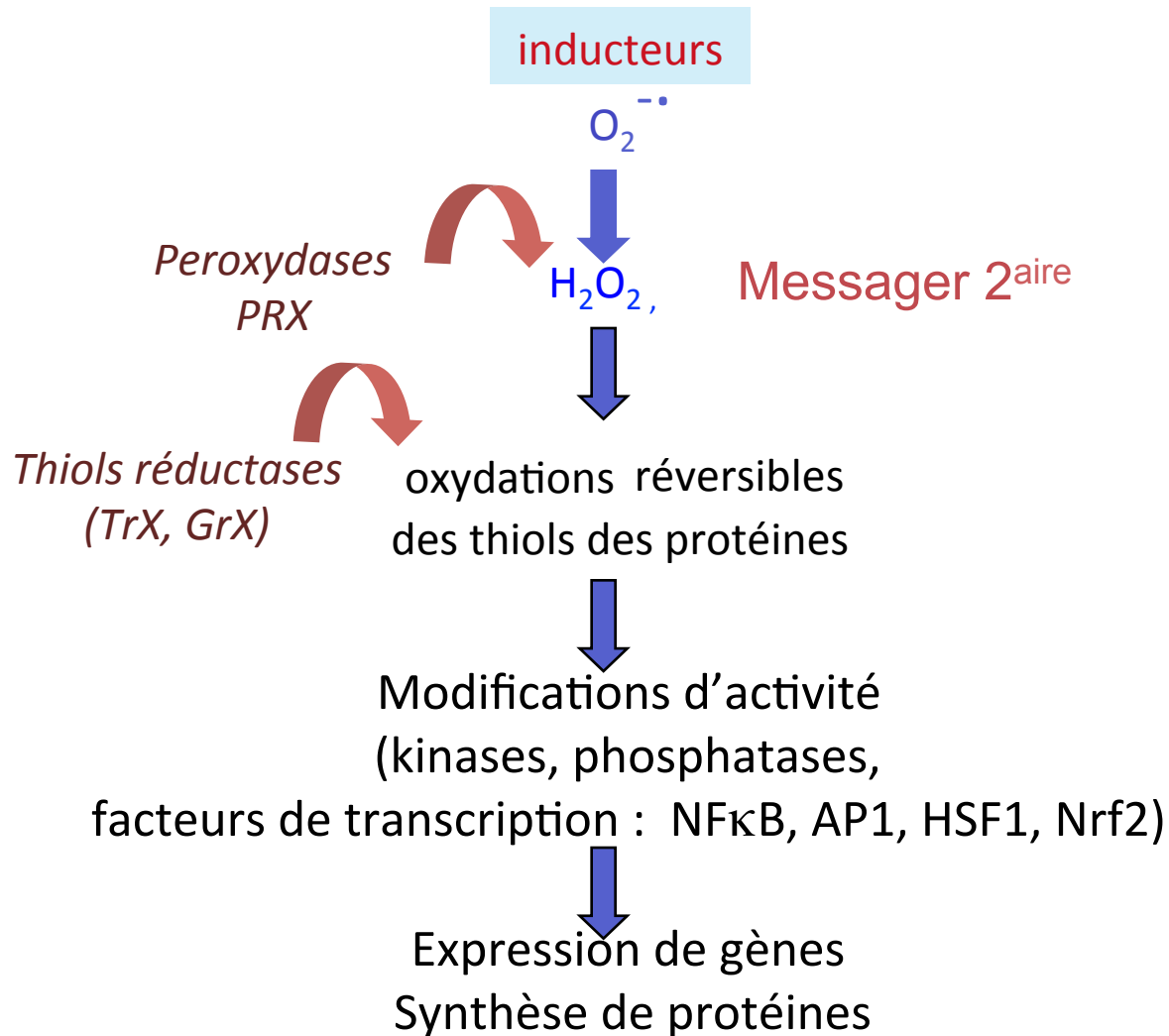
Comment ça marche ?



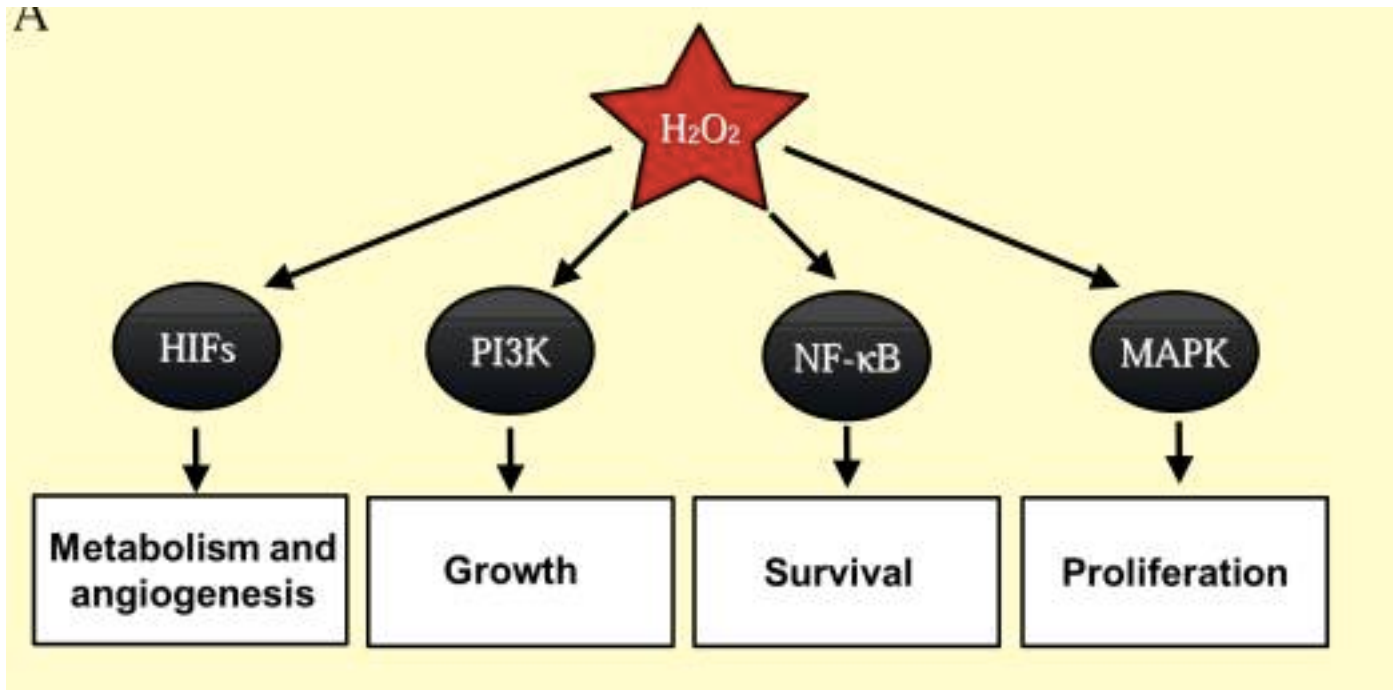
Déséquilibre transitoire et modéré de la balance redox caractérisé par un changement du rapport thiol/disulfures

- Parmi les EROs et ERAs : seuls H_2O_2 , O_2^- (dans certaines conditions) et NO interviennent comme messagers dans la signalisation cellulaire
- Oxydation réversible (H_2O_2) ou S-nitrosylation (NO) des cystéines des protéines ce qui modifie leurs fonctions (activation ou inactivation).
- **Protéines cibles**
 - Phosphatases (inactivées)
 - Kinases (activées ou inactivées)
 - Facteurs de Transcription (NFkB, AP1, Nrf2..) sont activés et régulent l'expression de gènes codant des protéines (protéines antioxydantes, inflammatoires, facteurs de croissance)

Mécanisme de la signalisation Redox



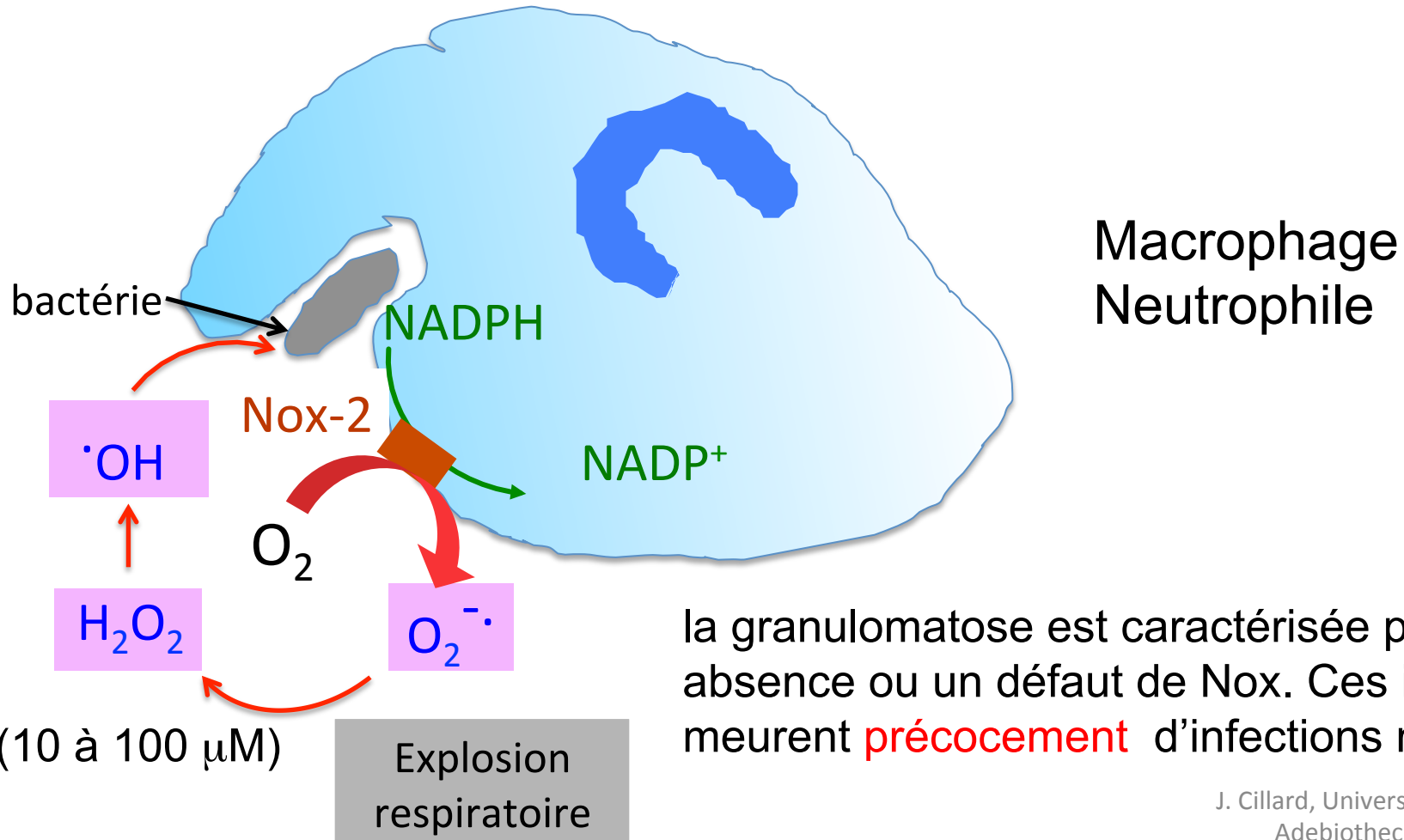
Principales voies de signalisation Redox impliquées Dans des rôles physiologiques



Schiener M, Chandel NS, Curr Biol , 2014

Défense Immunitaire innée : activité bactéricide (1)

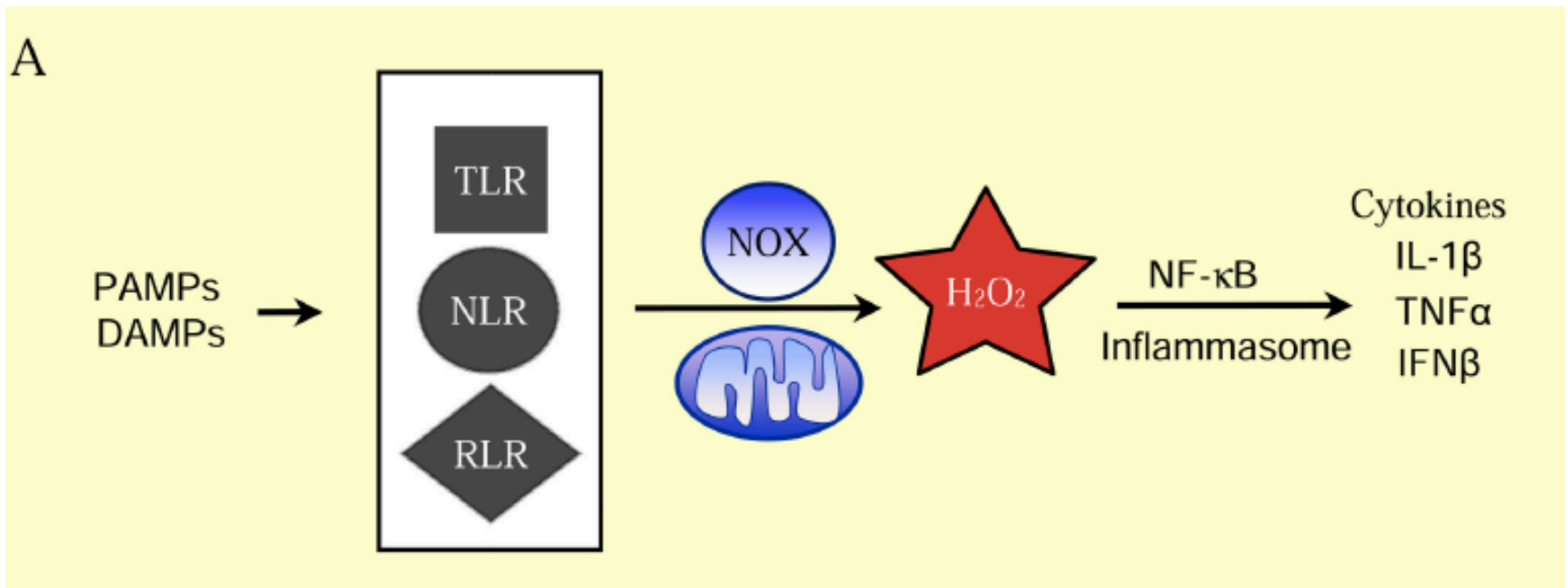
La production massive de EROs par la NADP(H) oxydase (Nox) au cours de la phagocytose joue un rôle majeur dans la défense contre les pathogènes (**immunité innée**).



la granulomatose est caractérisée par une absence ou un défaut de Nox. Ces individus meurent **précocement** d'infections massives

Défense Immunitaire innée : la réaction inflammatoire (2)

Le système immunitaire innée répond aux molécules PAMPS et DAMPS pour produire des cytokines qui jouent un rôle dans la lutte contre les pathogènes et dans la réparation des dommages tissulaires



PAMPS: Pathogen-associated molecular pattern: endotoxines, LPS...

DAMPS : Damage-associated molecular pattern: HSP...

Schiener M, Chandel NS, Curr Biol , 2014

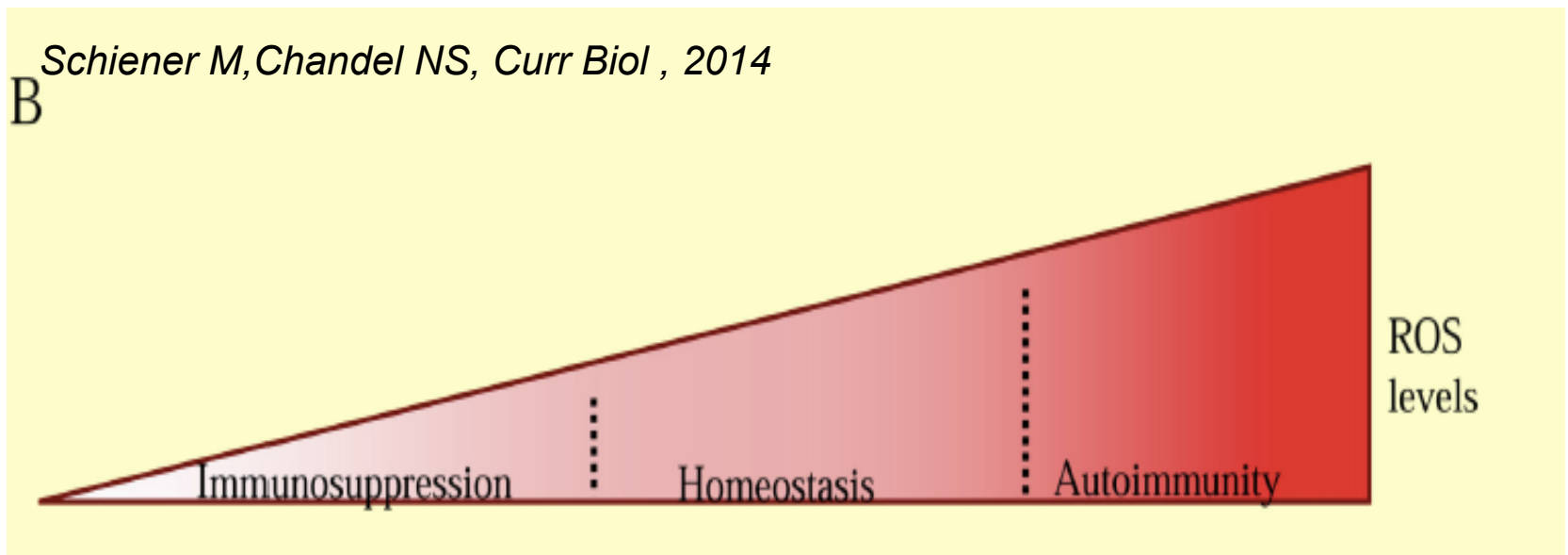
Défense Immunitaire acquise (3)

Les EROs produits par les Nox et les mitochondries jouent également un rôle dans l'activation et la prolifération des lymphocytes B et T (Immunité acquise).

L'administration d'antioxydants in vitro, inhibe la prolifération et la production de cytokine IL6 après stimulation du récepteur des cellules T (TCR)

Importance de l'homéostasie du système immunitaire

Si le système immunitaire ne peut être activé (ex la granulomatose) ou s'il est activé de façon permanente, il contribue à de multiples pathologies incluant l'auto-immunité, les maladies cardiovasculaires et l'accélération du vieillissement normal



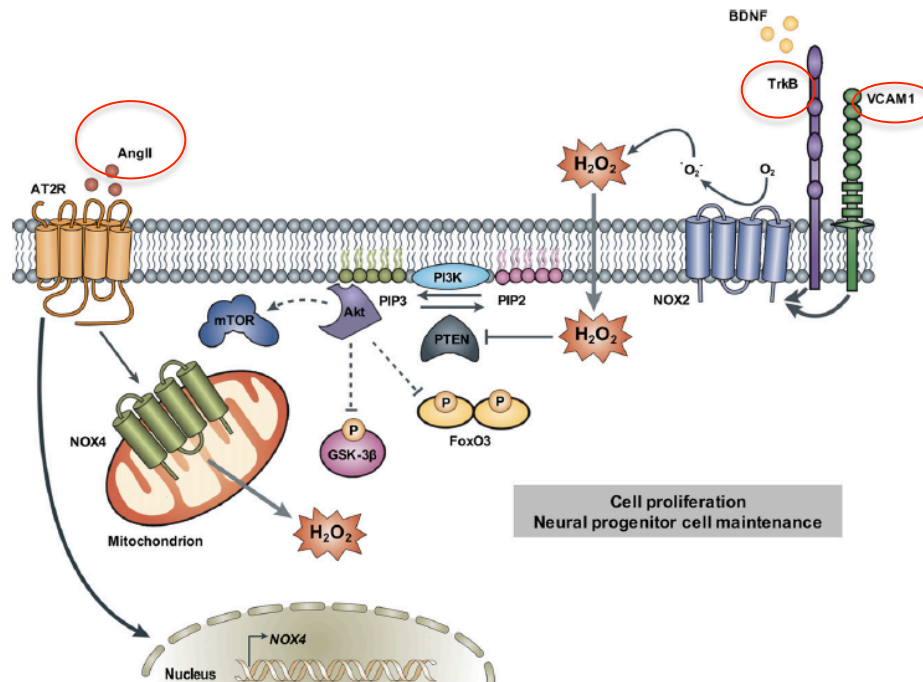
Les antioxydants dans les thérapies immunomodulatrices

- Les antioxydants ne doivent pas être administrés chez les sujets sains qui ont un système antioxydant robuste et un système immunitaire sain.
- Dans le cas d'un système immunitaire dérégulé (maladies auto-immunes), l'administration d'antioxydants pourrait s'avérer utile pour améliorer la réponse inflammatoire. Dans ce cas, les doses d'antioxydants ne doivent pas être trop élevées pour ne pas interférer avec la réponse immunitaire normale.

Rôle des EROs dans la neurogenèse

Les EROs favorisent

- ✧ **la prolifération** des cellules souches neurales progénitrices (CSN). L'utilisation d'antioxydants inhibent la prolifération des CSN dans l'hippocampe d'embryon.
- ✧ **la différenciation** des CSN en neurones. La NAC (antioxydant) diminue la neurogenèse et la croissance des neurites



Borquez D. A., et al. ,
Neurochemistry, 2016

Signalisation Redox

Régulation du tonus vasculaire par H_2O_2

- ✧ H_2O_2 induit et active la eNOS qui produit du NO vasodilatateur
- ✧ H_2O_2 est lui même vasodilatateur par un mécanisme d'hyperpolarisation (H_2O_2 = Endothelium-Dependent Hyperpolarization Factor – EDHF).
- ✧ Ces effets dépendent des stimuli et du type de vaisseaux
- ✧ H_2O_2 induit l'adhésion des leucocytes aux cellules endothéliales

L'adaptation au stress Oxydant: Une réponse hormétique

Définition de l'hormésie

Réponse biologique biphasique :

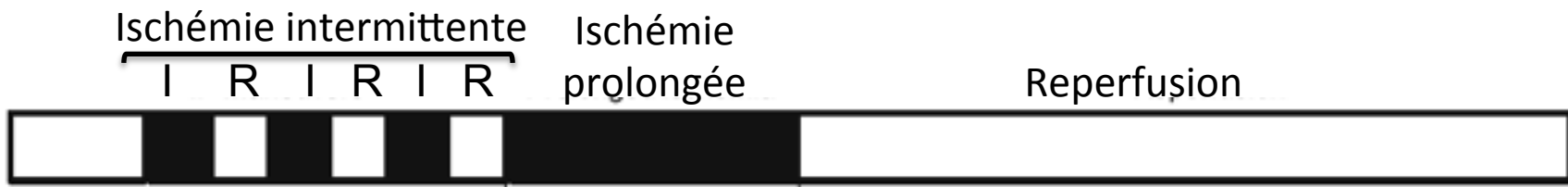
- ✓ l'exposition à de **faibles doses d'un toxique de l'environnement** résulte en un effet potentiellement **bénéfique**
- ✓ alors que l'exposition à de fortes doses de toxique a des effets délétères

L'Hormésie est une réponse adaptative de l'organisme à un stress modéré et intermittent

L'adaptation au stress Oxydant: le Pré-conditionnement

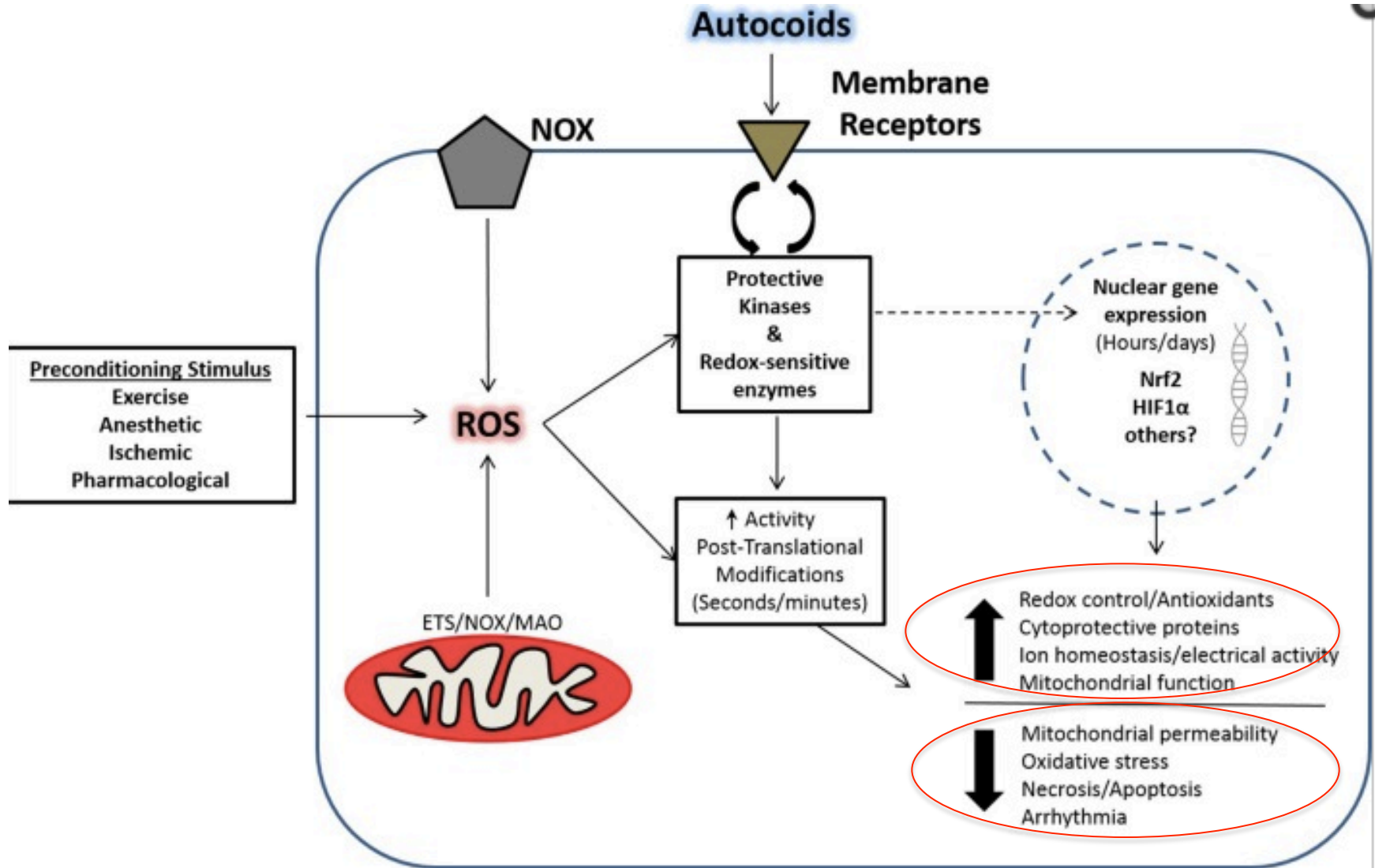
Principe du pré-conditionnement Ischémique

- Exemples d'Ischémie/ reperfusion: Infarctus, désocclusion coronaire brutale, angioplastie, transplantation d'organe, choc hémorragique, *Exercice physique*
- Le pré-conditionnement potentialise la signalisation redox et convertit le signal de mort cellulaire en signal de survie
- Protocole de pré-conditionnement

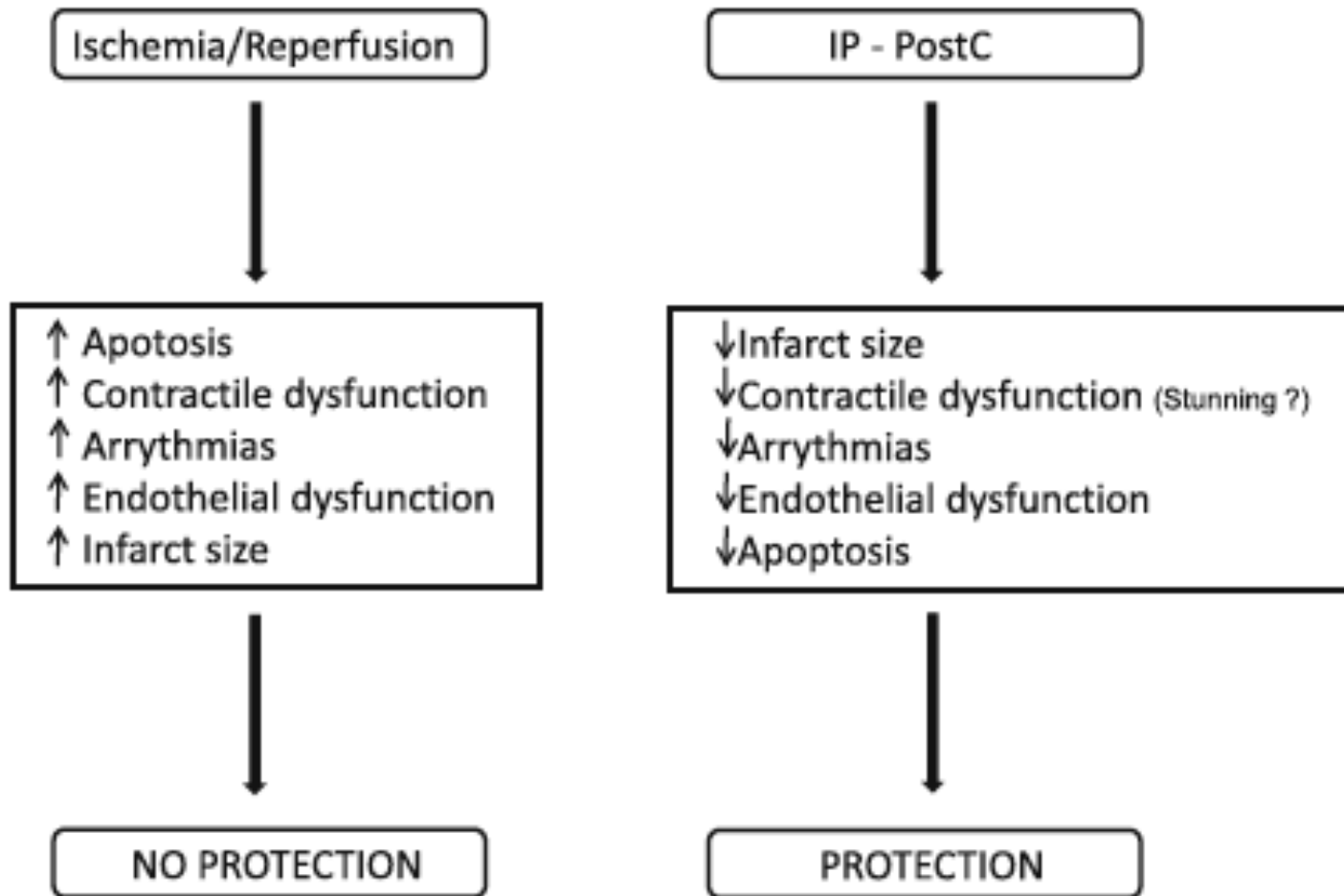


- La protection cardiaque par le pré-conditionnement est abolie si le cœur est pré-perfusé avec l'antioxydant NAC

Mécanisme moléculaire du pré-conditionnement



Cardio-protection par le pré-conditionnement (IP) et post-conditionnement Ischémique (PostC)

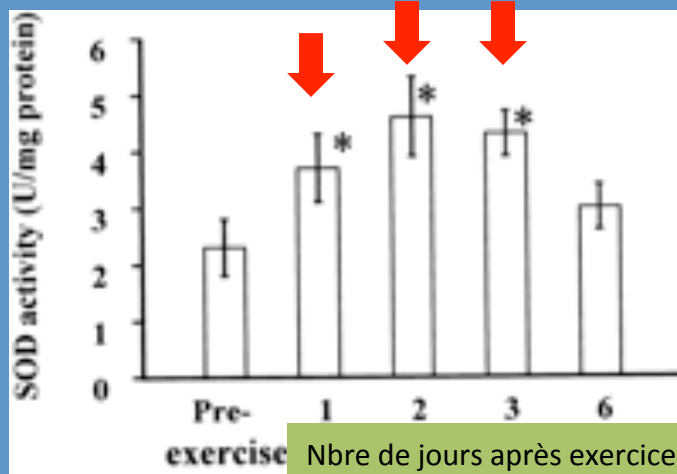




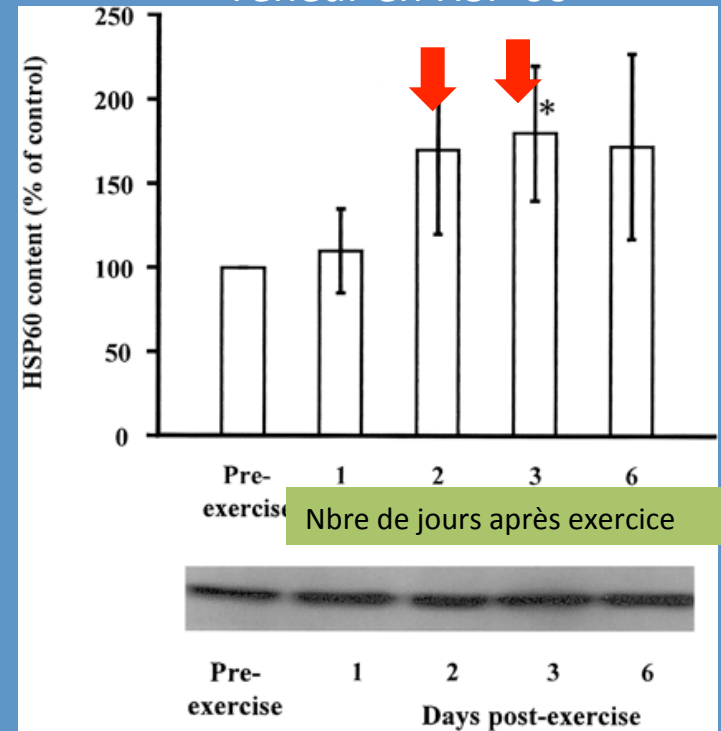
L'adaptation des muscles conduit à une augmentation transitoire de l'expression des protéines cytoprotectrices

Volontaires sédentaires – exercice non traumatisant avec une seule jambe sur un cycloergonmètre avec une intensité croissante jusqu'à épuisement – biopsies musculaires

Activité SOD



Teneur en HSP 60

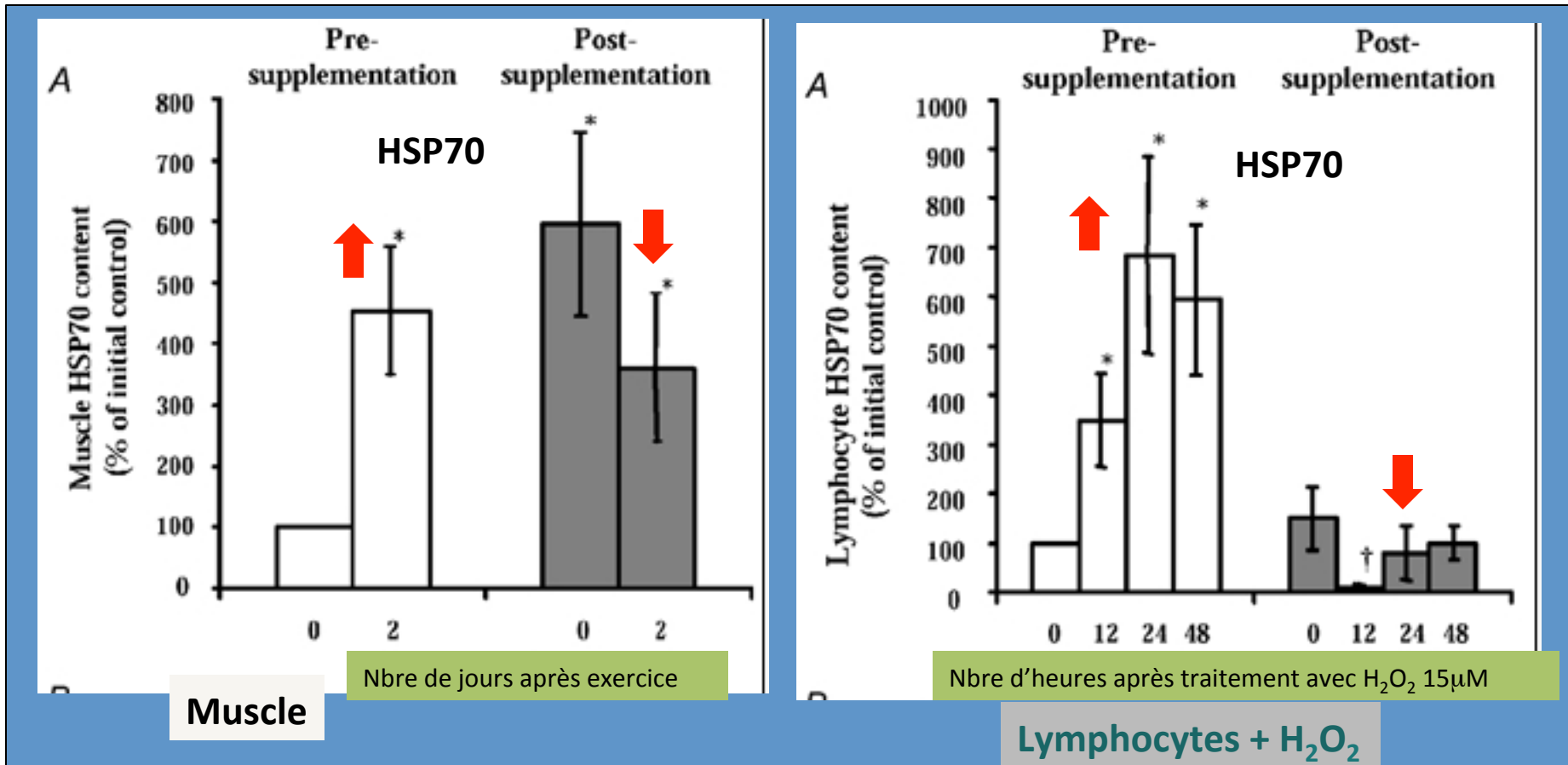


Khassaf M. et al, Journal of Applied Physiology, 2001



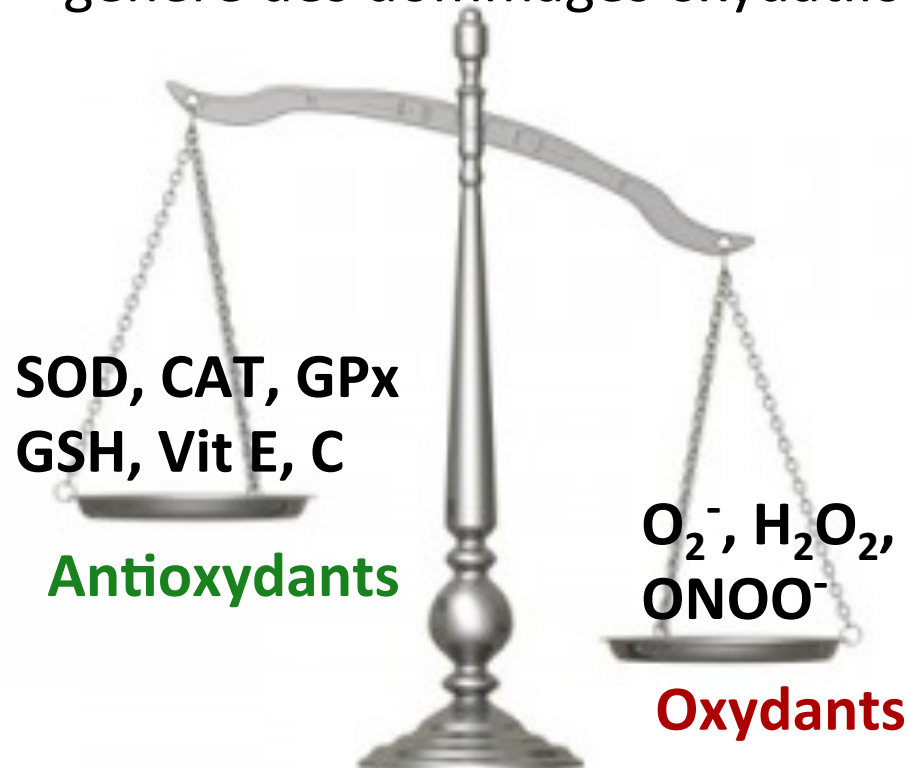
La supplémentation en vitamine C atténue la réponse adaptative à un stress oxydant

16 volontaires sains, supplémentés avec 500 mg/j de vitamine C pendant 8 semaines .Ils sont soumis à un exercice de 45 mn sur un cycloergonome avec une intensité croissante avant et après supplémentation



Rôles Pathologiques du stress Oxydant

Une augmentation **significative** des EROs
génère des dommages oxydatifs



Oxydations irréversibles

Lipides

- ✓ Lipoperoxydation des membranes
- ✓ Oxydation LDL

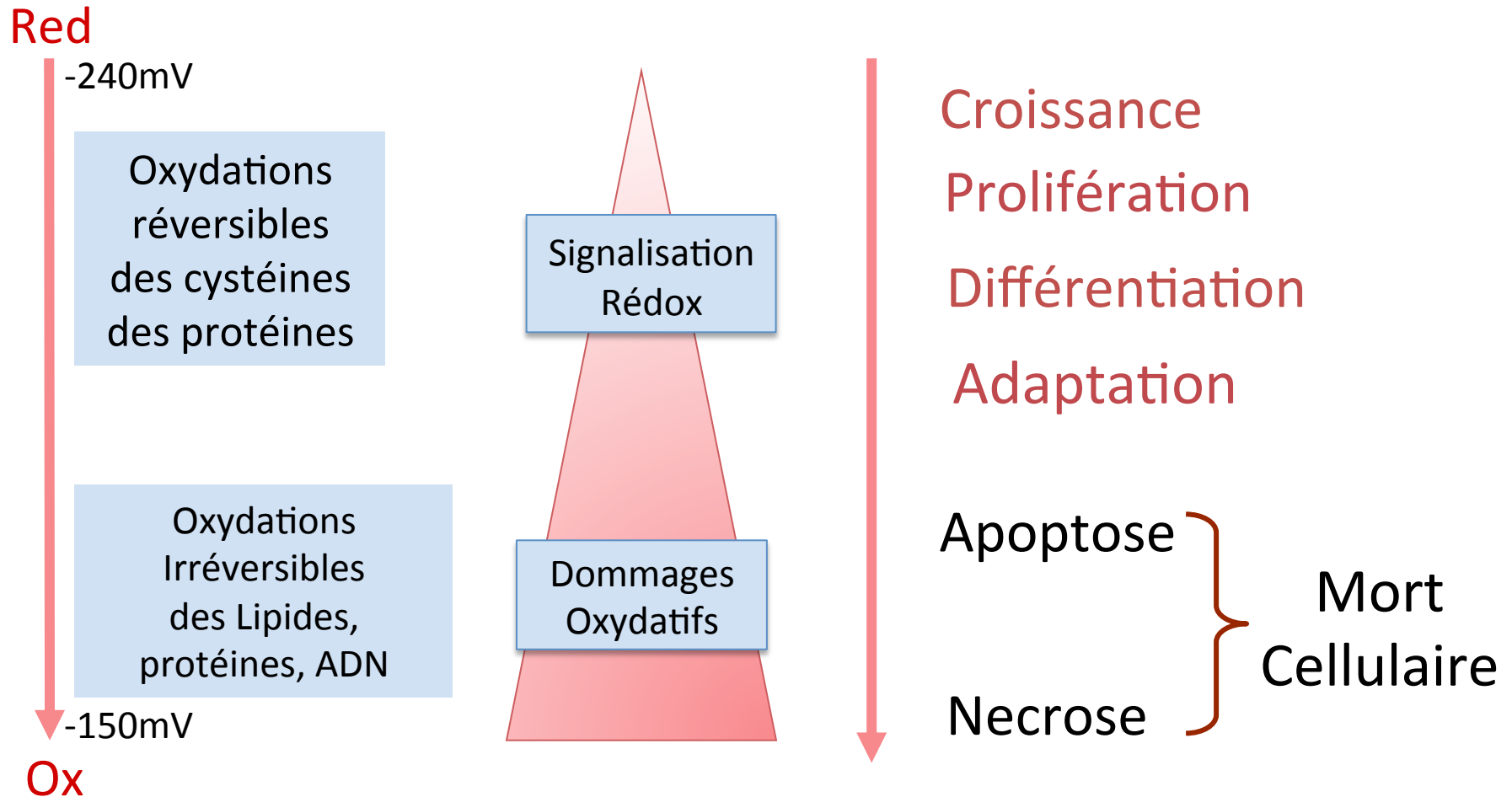
ADN

- ✓ Mutations
- ✓ Instabilité génomique
- ✓ Carcinogénèse

Protéines

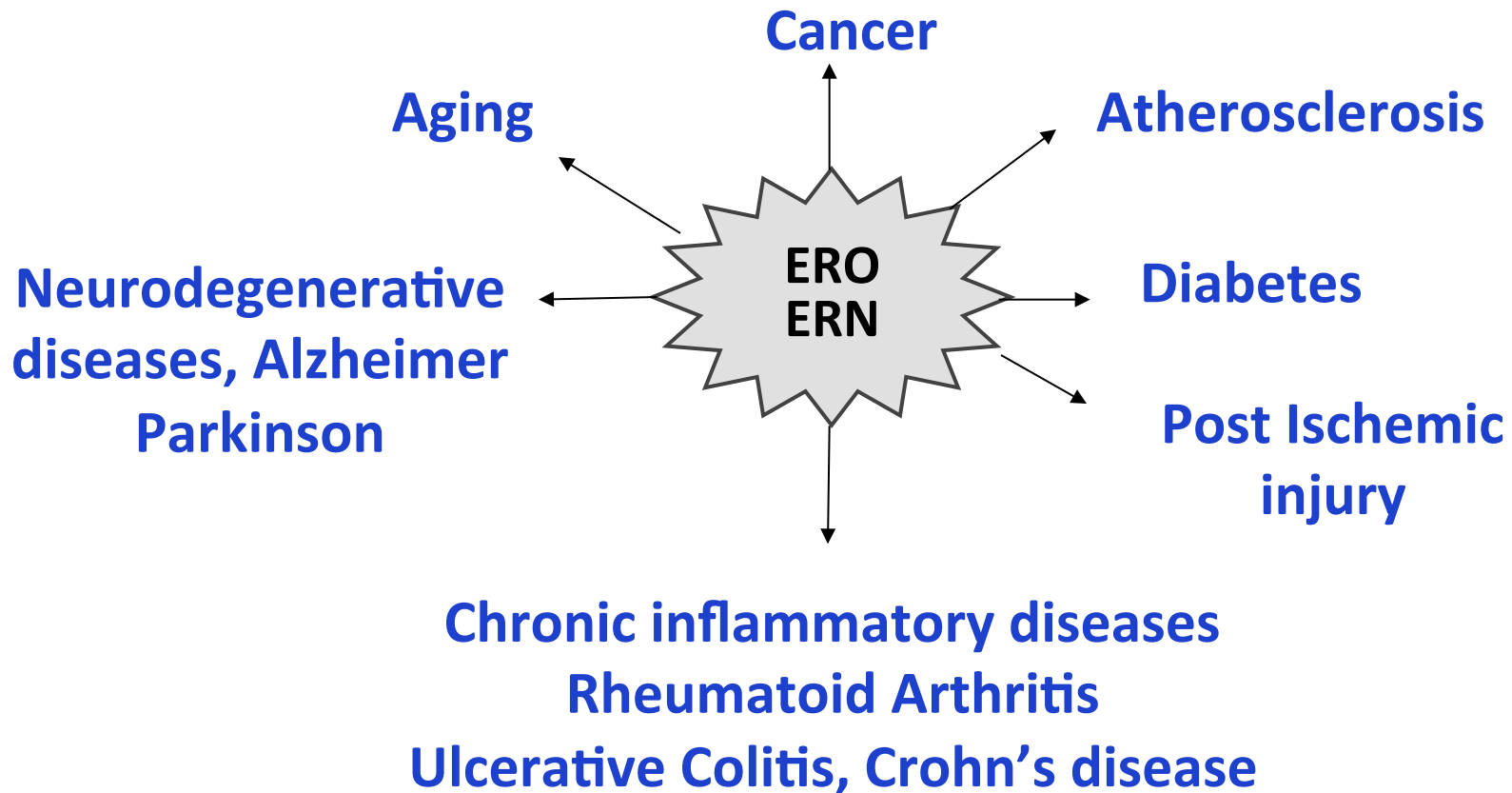
- ✓ Inactivation enzymes,
- ✓ Inactivation récepteurs

Effets cellulaires en fonction de l'intensité du stress oxydant



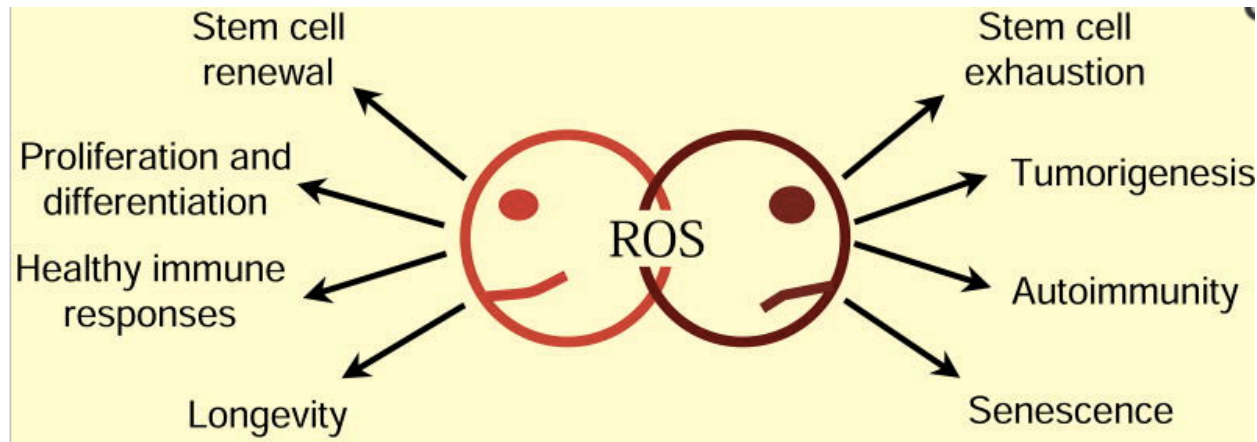
Oxidative stress is involved in many pathologies

Cause or Consequence



Conclusion

- Les 2 faces du stress oxydant ou de la biologie Redox englobent à la fois des rôles physiologiques et pathologiques



Schiener M, Chandel NS, Curr Biol, 2014

- la question centrale qui se pose est de savoir si l'on doit utiliser une **thérapie pro-oxydante** pour promouvoir les réponses physiologiques des EROs ou une **thérapie antioxydante** pour prévenir les pathologies liées au stress oxydant

*Merci pour votre
attention*

