



**IBMM UMR 5247
Montpellier**

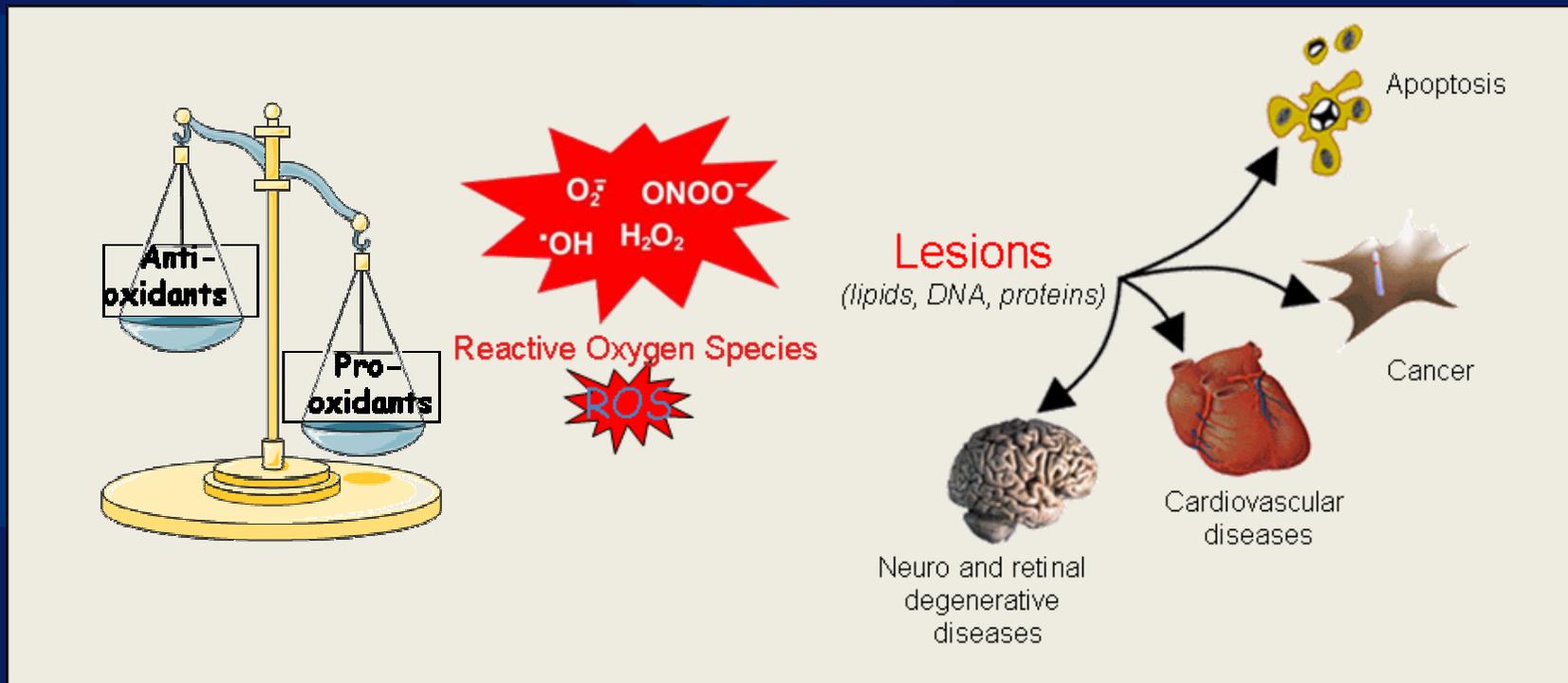
Le Stress Oxydant vu par les Chimistes...

IBMM : UMR 5247 - CNRS - UM - ENSCM
Faculté de Pharmacie, Montpellier
Jean-Marie Galano



Définitions

In 1985, the term oxidative stress was coined by Sies [1] to broadly describe a disturbance in the balance of prooxidants and antioxidants...in favor of the oxidants



De nos jours, le stress oxydatif est défini comme un événement au cours duquel une **perturbation transitoire ou permanente dans l'équilibre des espèces réactives (RS) génère des conséquences physiologiques au sein de la cellule (oxidative damage, disruption of redox signalling) , pour lequel le résultat précis dépend des concentrations et des cibles des RS.**

Quelles sont ces espèces réactives

Rebecca Gershman and Dan Gilbert en 1954 suggèrent que les effets délétères de l'oxygène observaient jusqu'à lors soient le fait d'espèces oxygénées radicalaires....

Table 2.1 Nomenclature of reactive species.

Free radicals	Non-radicals	Free radicals	Non-radicals
<p>Reactive oxygen species (ROS)</p> <p>Superoxide, $O_2^{\bullet-}$ Hydroxyl, OH^{\bullet} Hydroperoxyl, HO_2^{\bullet} Carbonate, $CO_3^{\bullet-}$ Peroxyl, RO_2^{\bullet} Alkoxy, RO^{\bullet} Carbon dioxide, $CO_2^{\bullet-}$ Singlet O_2 $^1\Sigma_g^+$</p> <p>Reactive chlorine species (RCS)</p> <p>Atomic chlorine, Cl^{\bullet}</p>	<p>Reactive oxygen species (ROS)</p> <p>Hydrogen peroxide, H_2O_2 Hypobromous acid, $HOBr^{a,b}$ Hypochlorous acid, $HOCl^b$ Singlet oxygen, O_2 $^1\Delta_g$ Organic peroxides, $ROOH$ Peroxynitrite, $ONOO^{-c}$ Peroxynitrate, O_2NOO^{-c} Peroxynitrous acid, $ONOOH^c$ Peroxynitric acid, O_2NOOH^c Nitrosoperoxycarbonate, $ONOOCO_2^-$ Peroxomonocarbonate, $HOOCO_2^-$</p> <p>Reactive chlorine species (RCS)</p> <p>Hypochlorous acid, $HOCl^b$ Nitryl chloride, NO_2Cl^d Nitrosyl chloride, $NOCl^d$ Chloramines Chlorine gas, Cl_2 Bromine chloride, $BrCl^a$ Chlorine dioxide, ClO_2</p>	<p>Reactive bromine species (RBS)</p> <p>Atomic bromine, Br^{\bullet}</p> <p>Reactive nitrogen species (RNS)</p> <p>Nitric oxide, NO^{\bullet} Nitrogen dioxide, NO_2^{\bullet} Nitrate radical, NO_3^{\bullet}</p>	<p>Reactive bromine species (RBS)</p> <p>Hypobromous acid, $HOBr^b$ Bromine gas, Br_2 Bromine chloride, $BrCl$</p> <p>Reactive nitrogen species (RNS)</p> <p>Nitrous acid, HNO_2 Nitrosyl cation, NO^+ Nitroxyl anion, NO^- Dinitrogen tetroxide, N_2O_4 Dinitrogen trioxide, N_2O_3 Peroxynitrite, $ONOO^{-c}$ Peroxynitrate, O_2NOO^{-c} Peroxynitrous acid, $ONOOH^c$ Peroxynitric acid, O_2NOOH^c Nitronium (nitryl) cation, NO_2^+ Alkyl peroxynitrites, $ROONO$ Alkyl peroxynitrates, RO_2ONO Nitryl chloride, NO_2Cl Peroxyacetyl nitrate, $CH_3C(O)OONO_2^e$</p>

Espèces Oxygénées Réactives (EOR)

Table 4. Reactive oxygen species of interest in oxidative stress.

Species	Name	Remarks
$O_2^{\ominus\ominus}$	Superoxide or hyperoxide	One-electron reduction state, formed in many autoxidation reactions (e.g. flavoproteins; redox cycling)
HO_2^{\ominus}	Perhydroxyl	Protonated form of $O_2^{\ominus\ominus}$, more lipid-soluble
H_2O_2	Hydrogen peroxide	Two-electron reduction state, formed from $O_2^{\ominus\ominus}$ (HO_2^{\ominus}) by dismutation, or directly from O_2
HO^{\ominus}	Hydroxyl	Three-electron reduction state, formed by Fenton reaction, metal(iron)-catalyzed Haber-Weiss reaction; highly reactive
RO^{\ominus}	R-oxyl, e.g. alkoxy	Oxygen-centered organic (e.g. lipid) radical
ROO^{\ominus}	R-dioxy, e.g. alkoxydioxy	Formally formed from organic (e.g. lipid) hydroperoxide, ROOH, by hydrogen abstraction
ROOH	R-hydroperoxide	Organic hydroperoxide (e.g. lipid-, thymine-OOH)
$^1\Delta_g O_2$ (also O_2^{\ddagger} or 1O_2)	Singlet molecular oxygen	First excited state, 22 kcal/mol above ground state (triplet) 3O_2 ; red (dimol) or infrared (monomol) photoemission
$^3R'R''CO$ (also $R'R''CO^*$)	Triplet carbonyl	Excited carbonyl compound, blue-green photoemission (e.g., formed via dioxetane as intermediate)

Tous les radicaux oxygénés sont des EOR
mais
Pas tous les EOR ne sont des espèces
radicalaires

Les Radicaux Libres (free radicals)

Espèces capables d'une existence indépendante (free) qui contiennent un ou plusieurs électrons non appariés



En captant un électron, radical anionique



En perdant un électron, radical cationique



Par coupure homolytique

Les Radicaux Libres (free radicals)

Espèces capables d'une existence indépendante (free) qui contiennent un ou plusieurs électrons non appariés

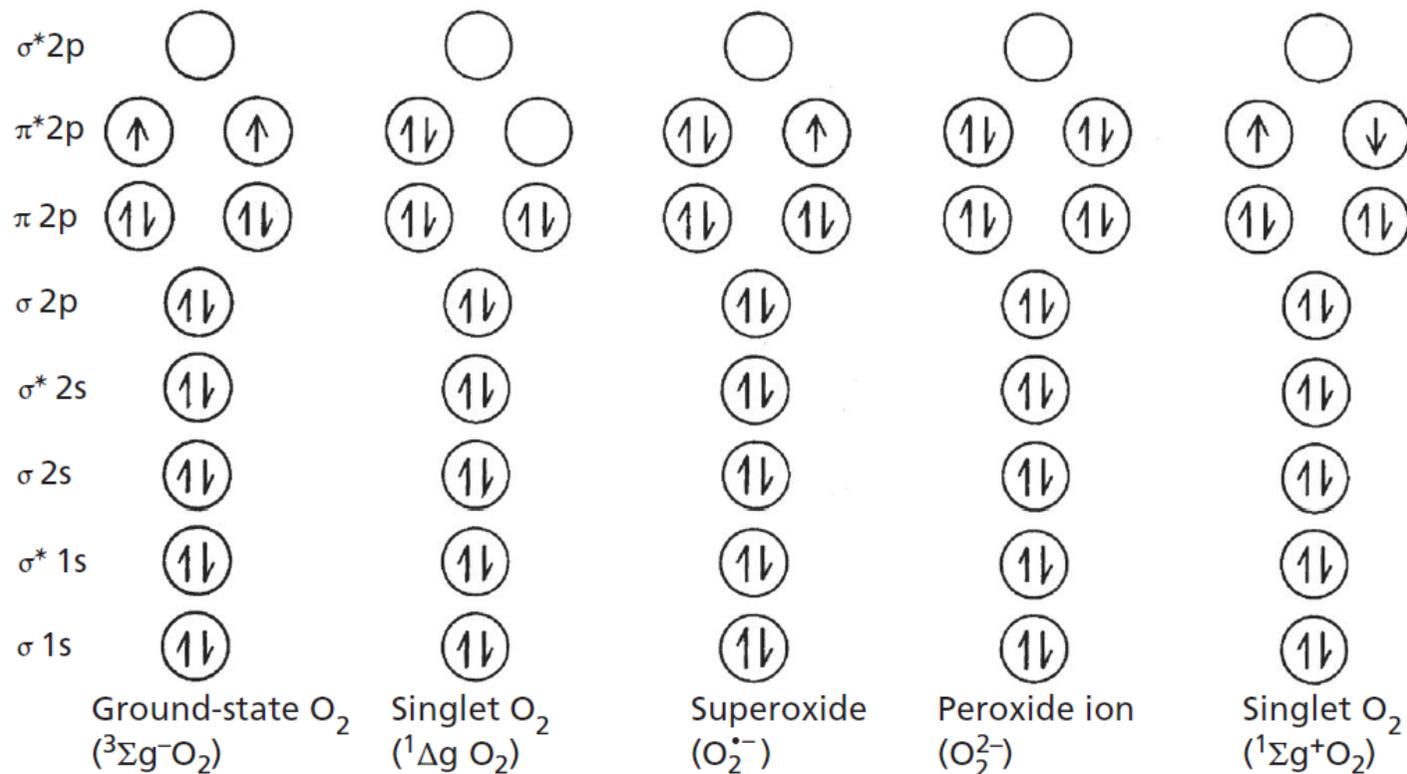
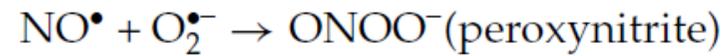


Figure 1.14 A simplified version of bonding in the diatomic oxygen molecule and its derivatives. The oxygen atom has eight electrons, O₂ has ten electrons. For further information, see *Active Oxygen in Chemistry*, eds CS Foote *et al*, Blackie Publishers, 1995.

Comment les Free radicals réagissent

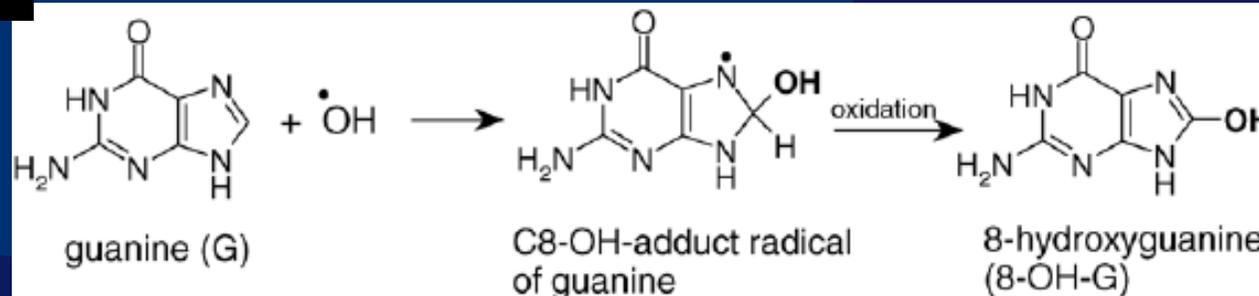
Life is nothing but an electron looking for a place to rest.
Albert Szent-György

-joindre leur paire d'électrons non appariés



Sauf que la plupart des molécules biologiques sont non-radicalaires

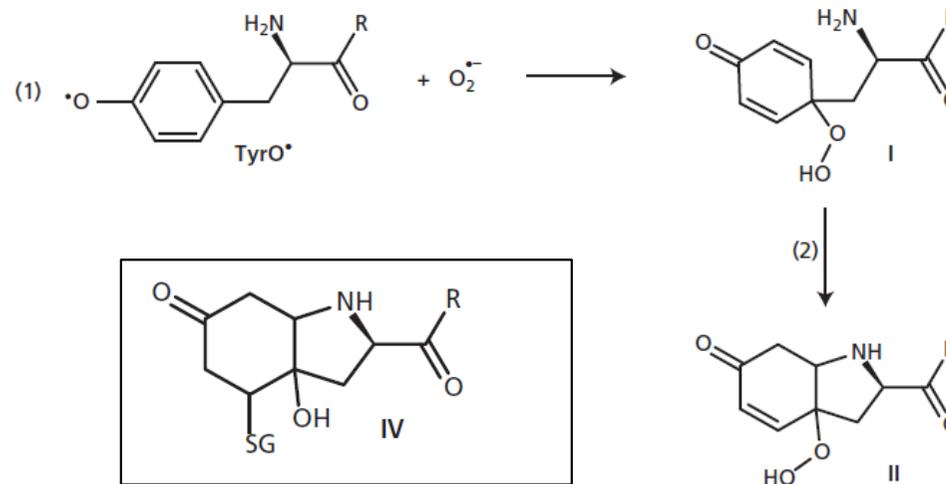
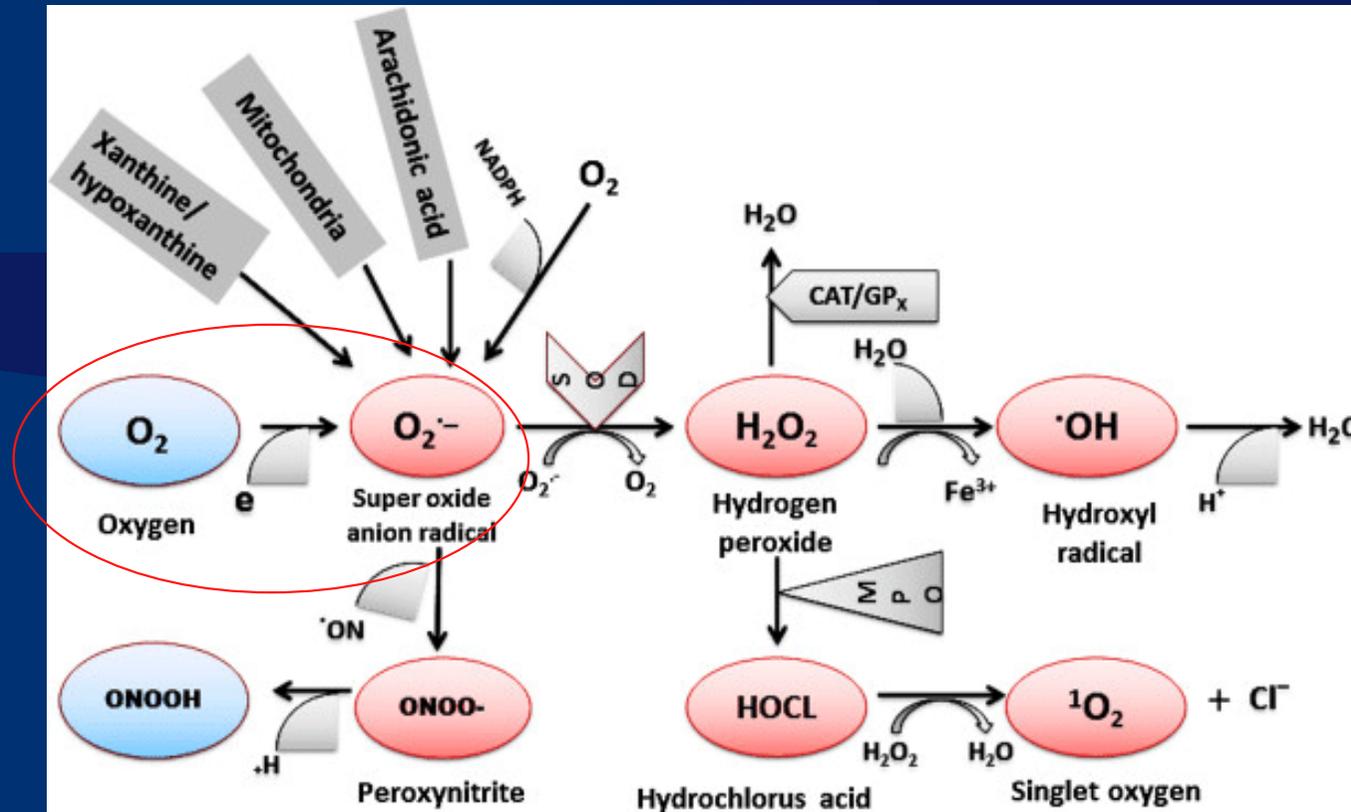
addition



Abstraction



Source cellulaire des EOR



Source cellulaire des EOR

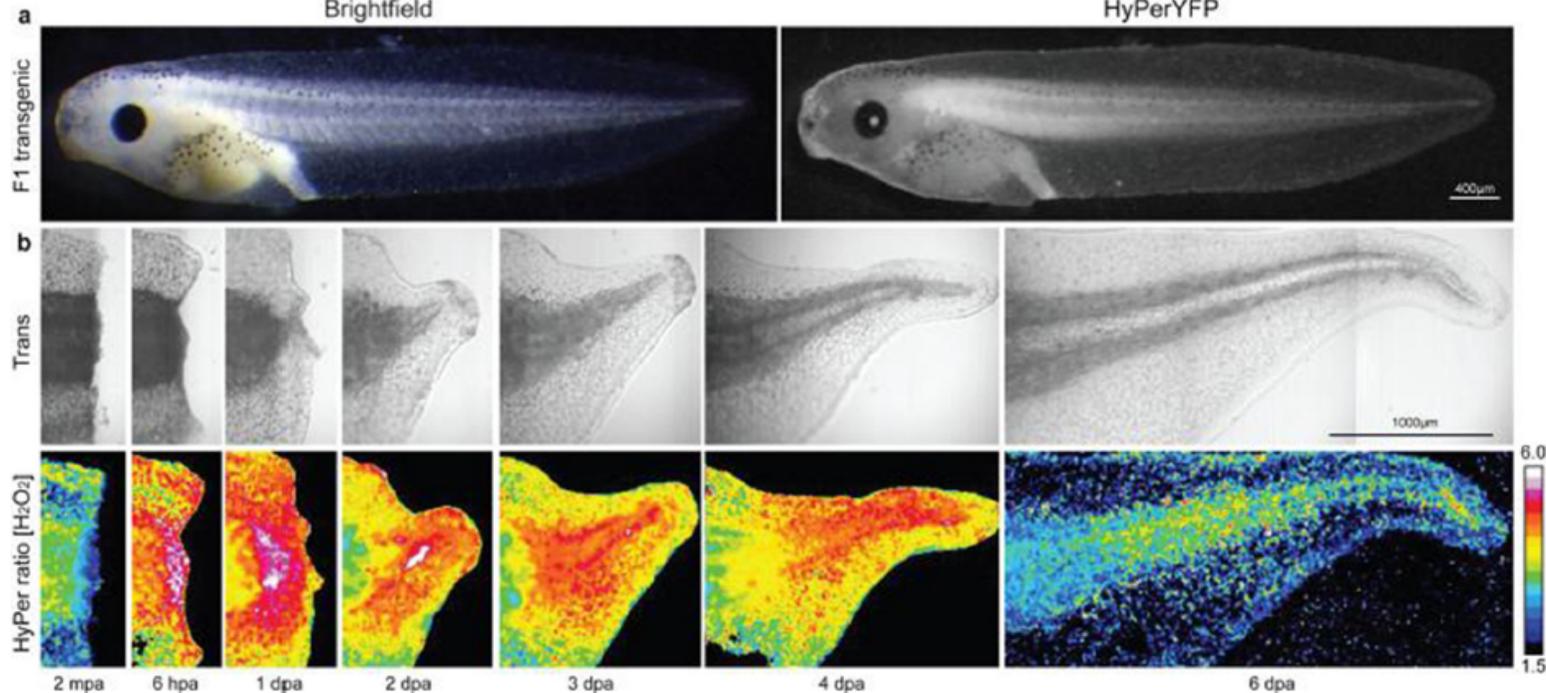
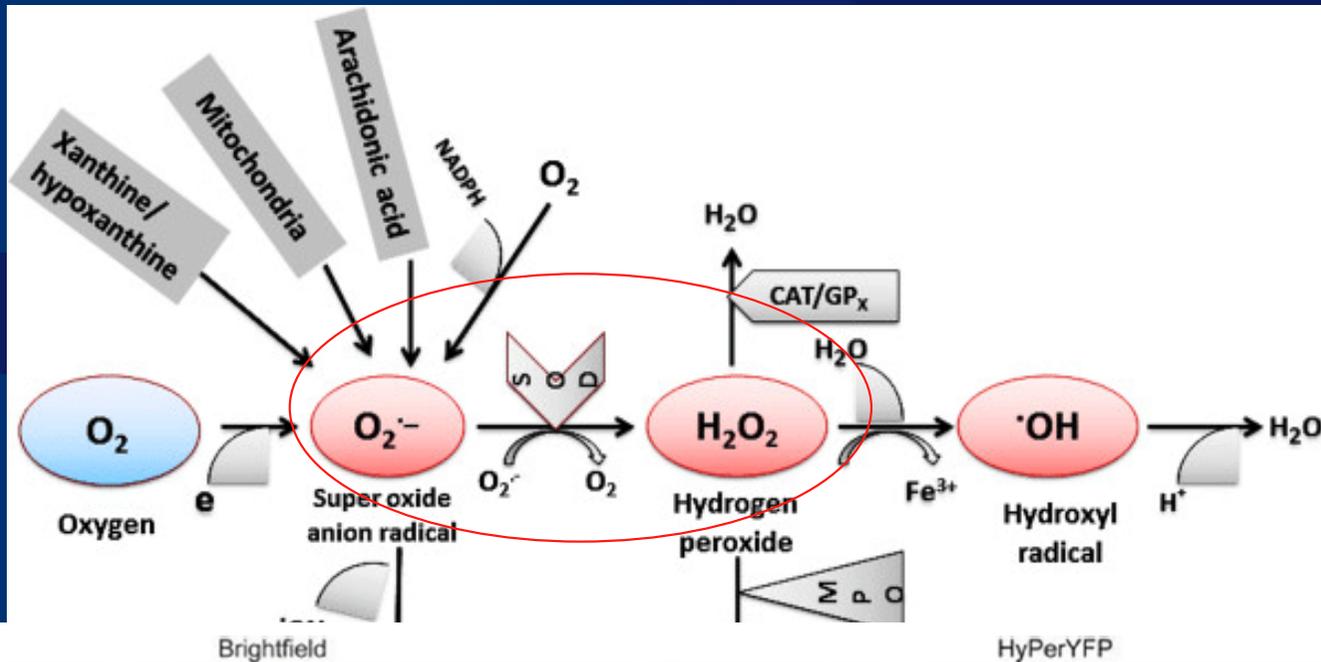
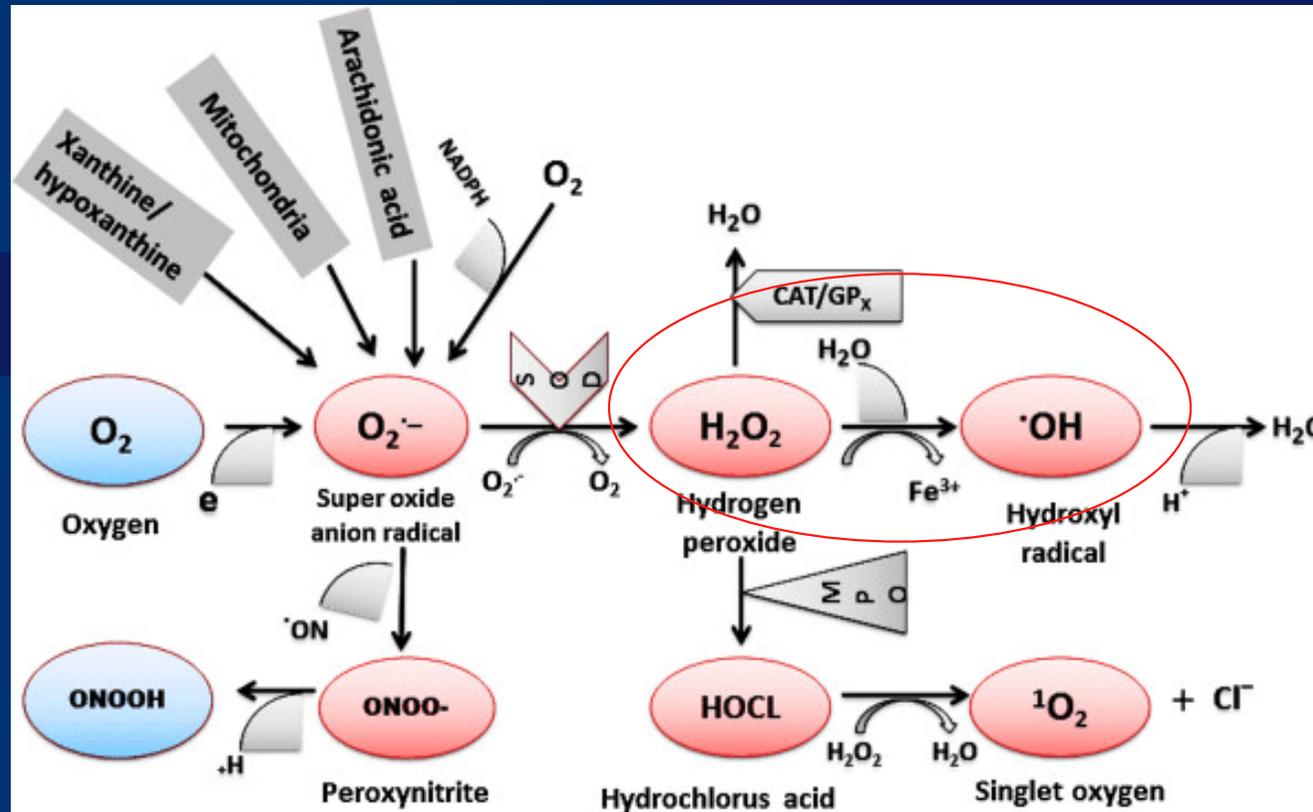


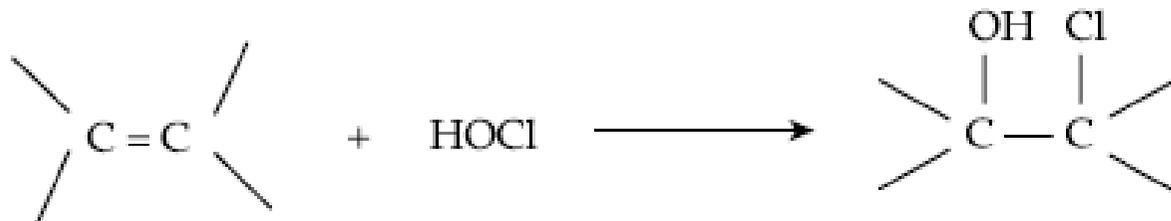
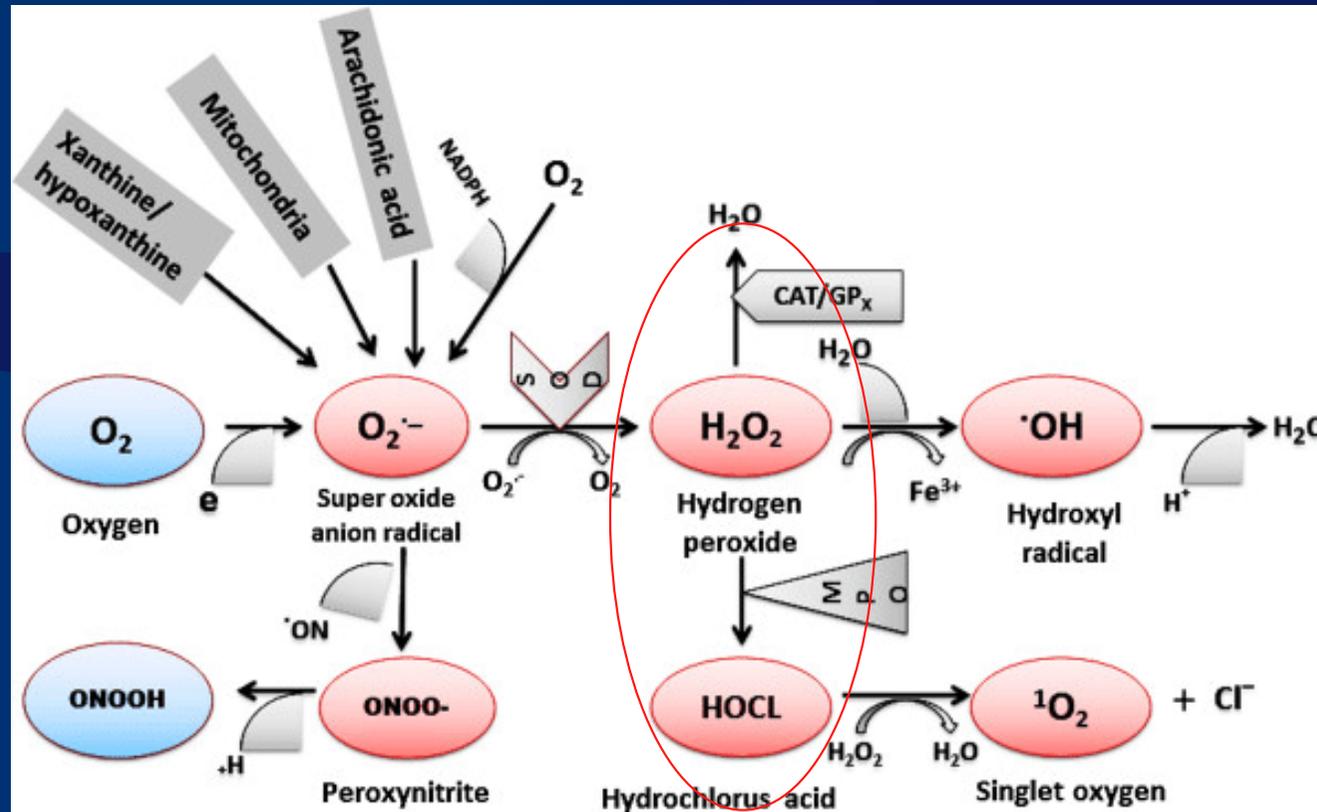
FIGURE 2. Production of H_2O_2 during tadpole tail regeneration. Images on the bottom show the false color representation of $[H_2O_2]$ at 2 min post amputation (mpa) of the tadpole tail and in hours (hpa) or days (dpa) post amputation. From Love et al. (13), with permission.

Source cellulaire des EOR

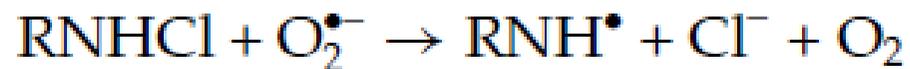
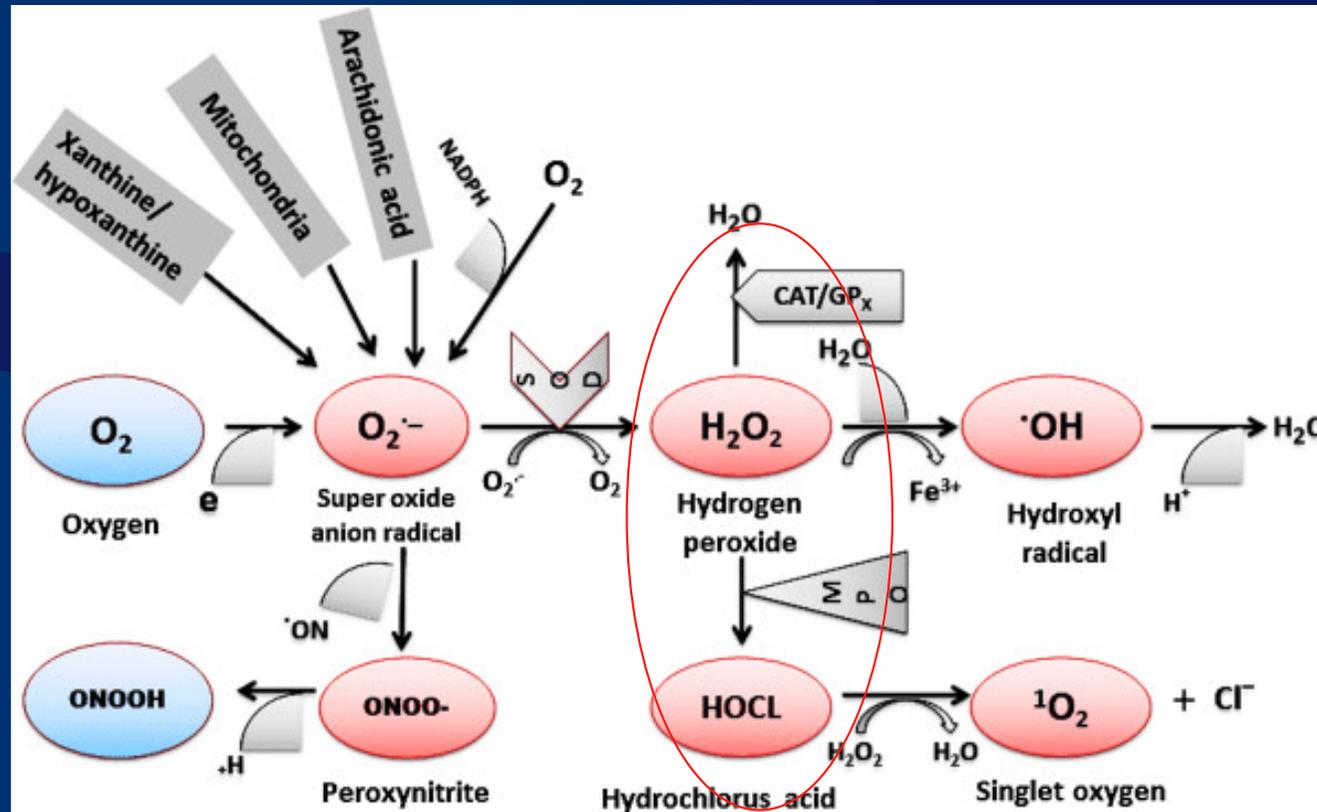


$$k_2 = 76 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1} \text{ (Fenton reaction)}$$

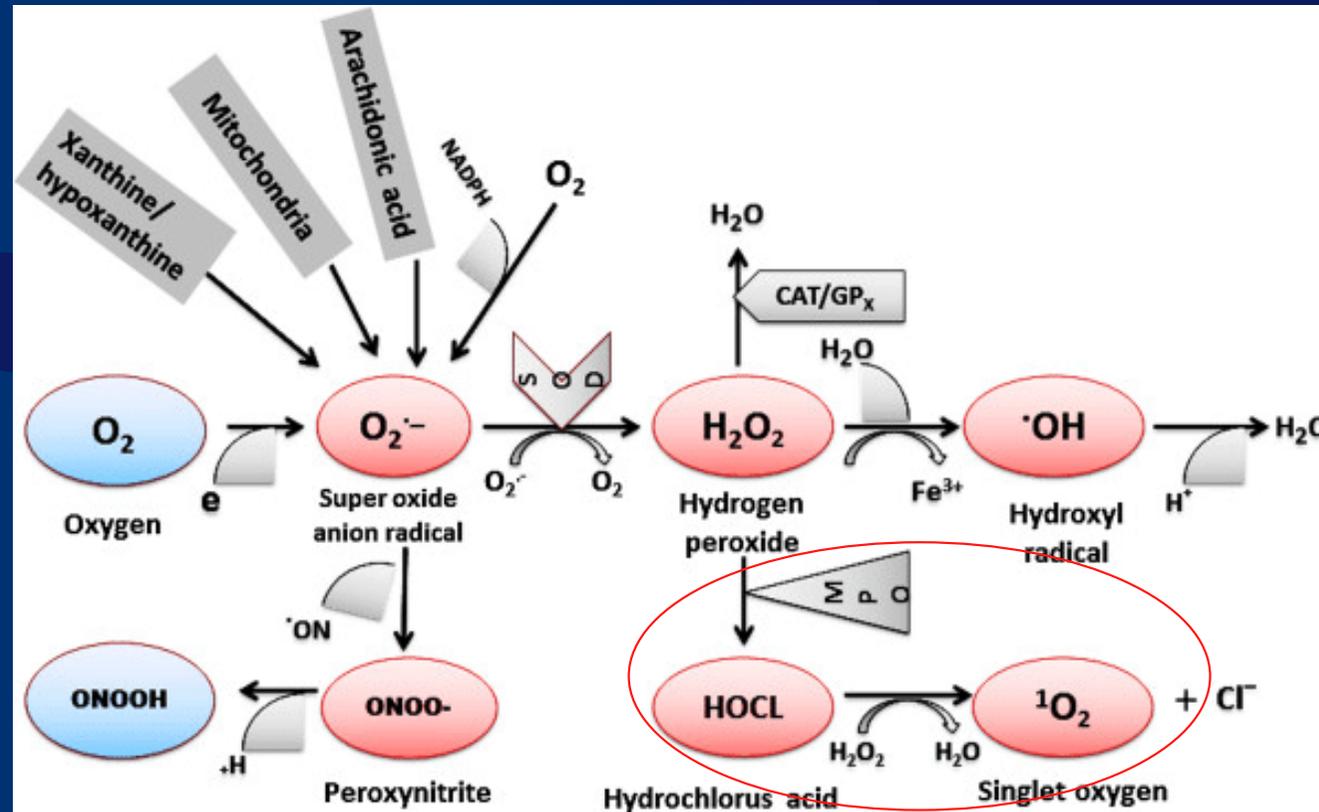
Source cellulaire des EOR

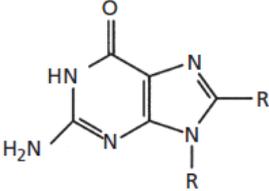
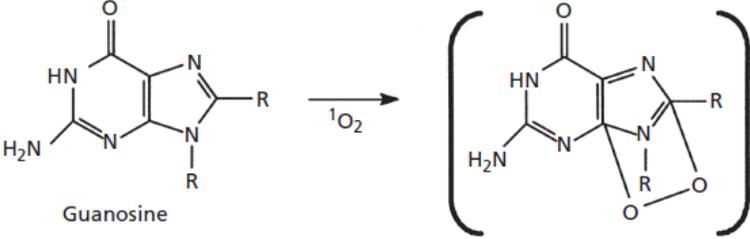


Source cellulaire des EOR

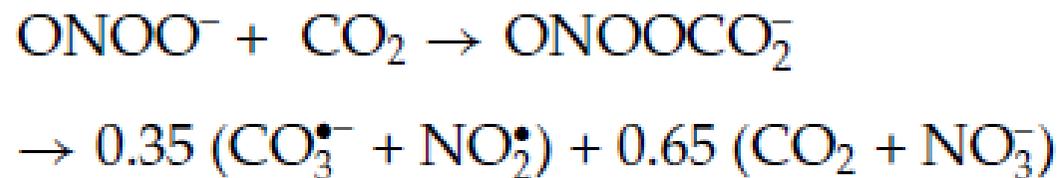
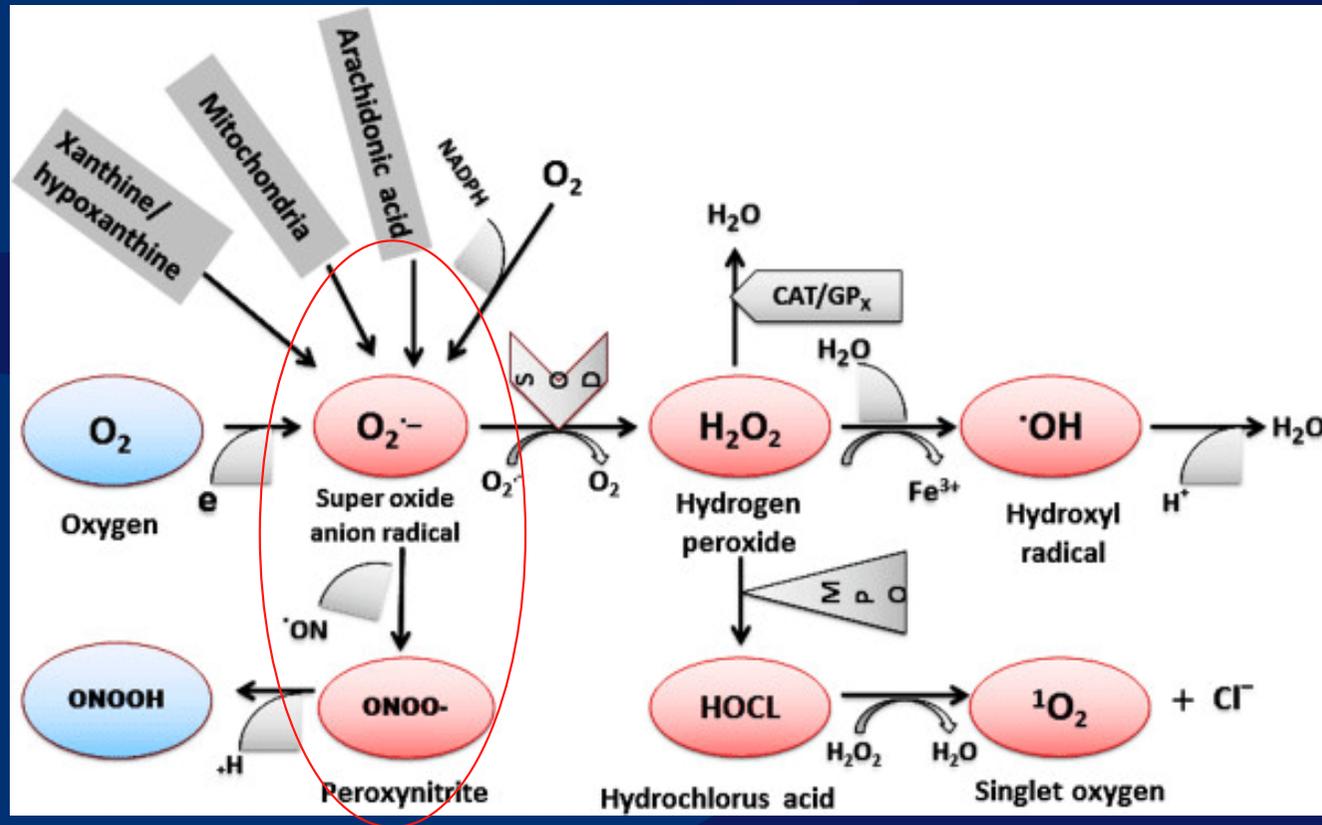


Source cellulaire des EOR

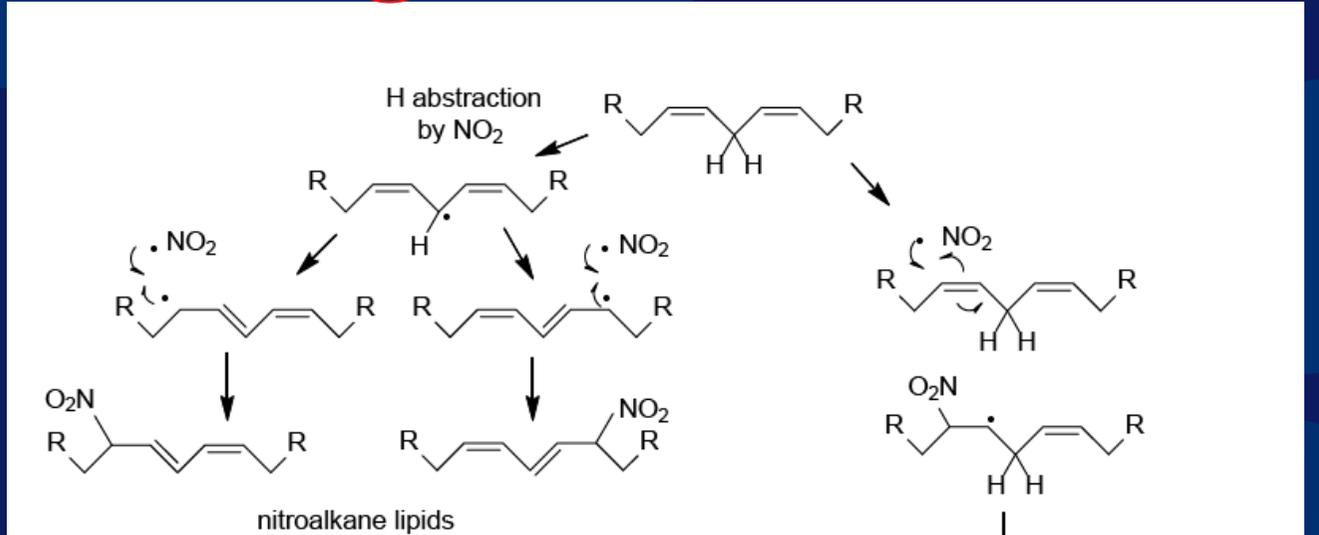
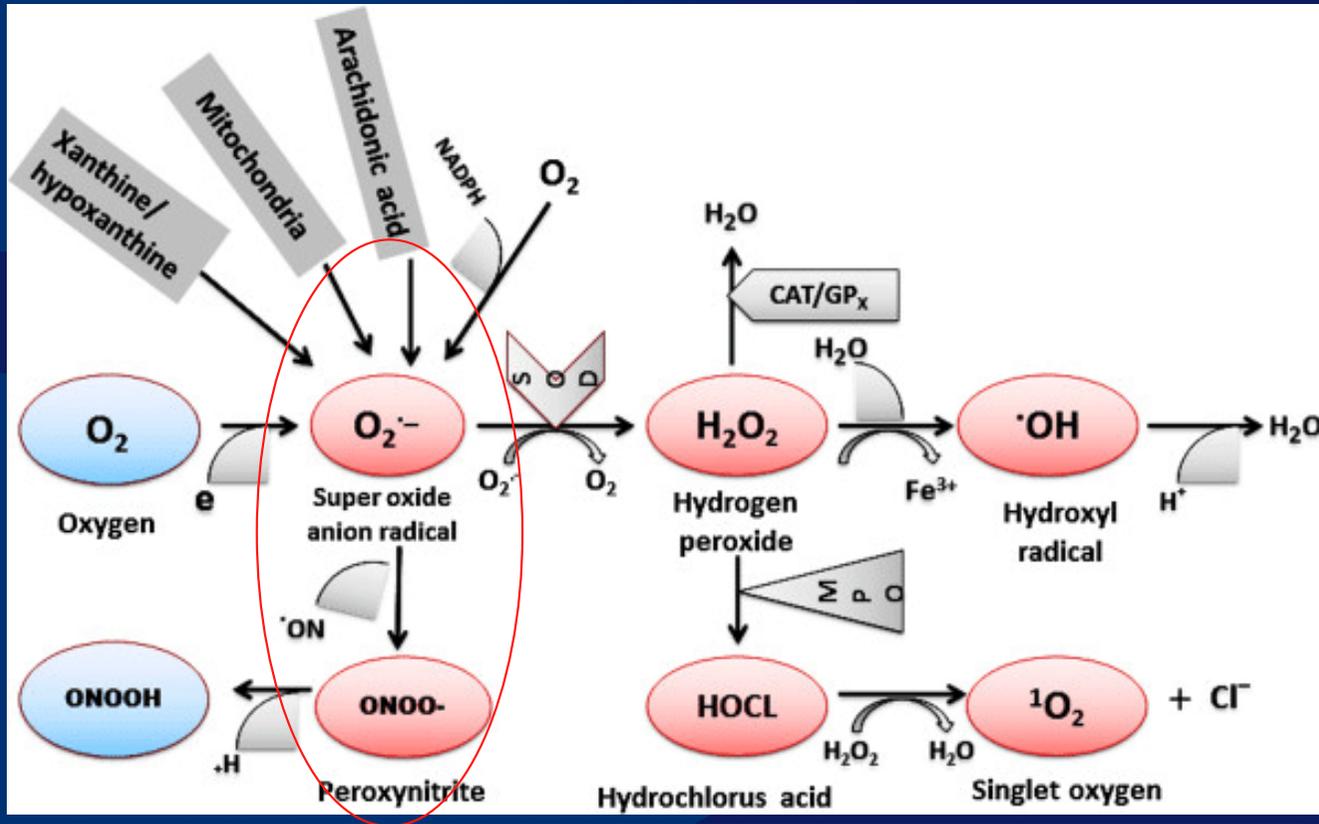


Compound	Structure	Comments
Guanine in DNA	 <p>Guanosine</p>	<p>Forms unstable endoperoxide; opening of the ring can eventually form 8OHdG. 1O_2 can then oxidize 8OHdG further (Section 5.8.2.11)</p>  <p>8OHdG and other products</p>

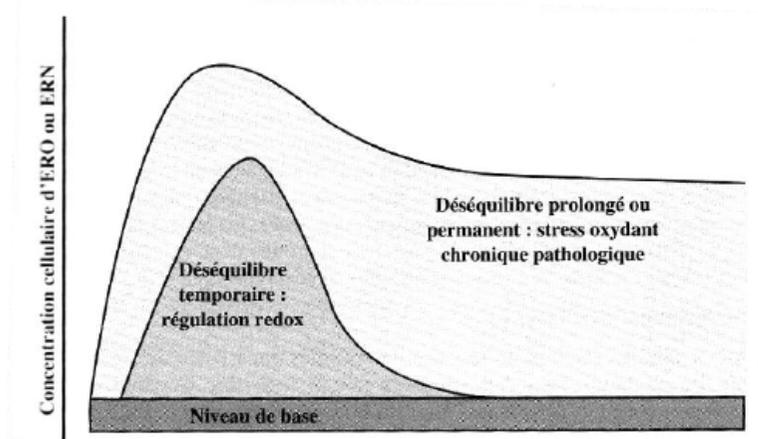
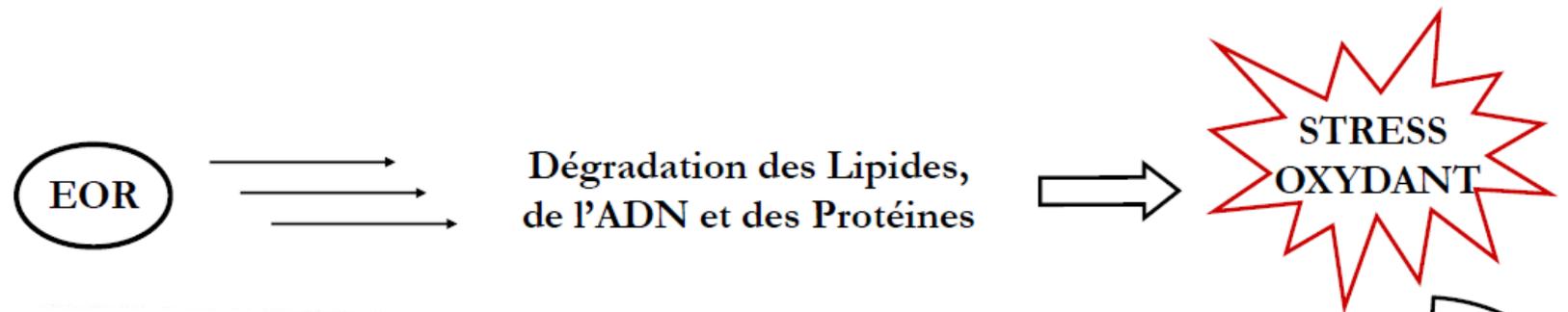
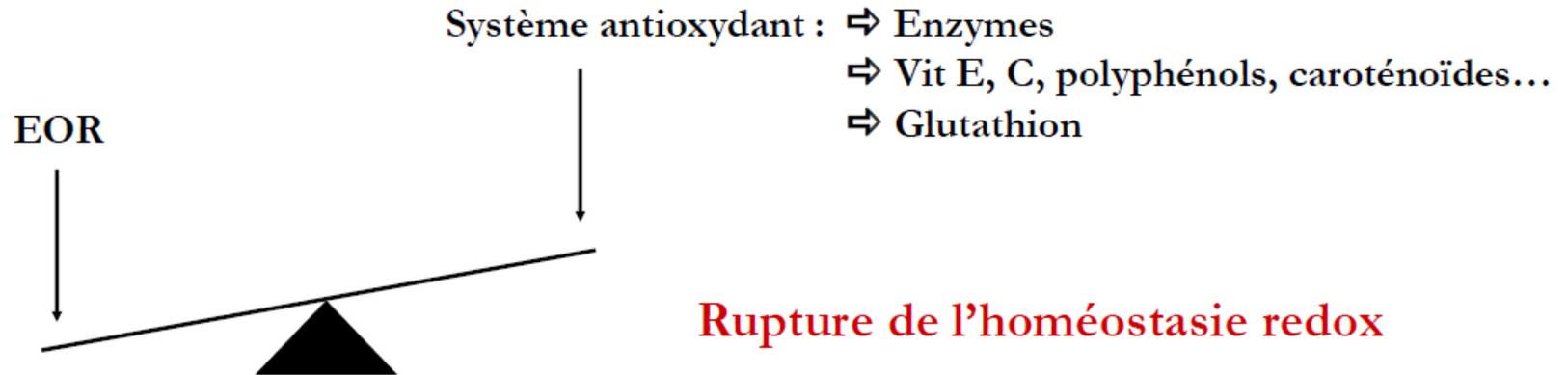
Source cellulaire des EOR



Source cellulaire des EOR et quelques dégâts des EOR



Les conséquences multiples du Stress Oxydant

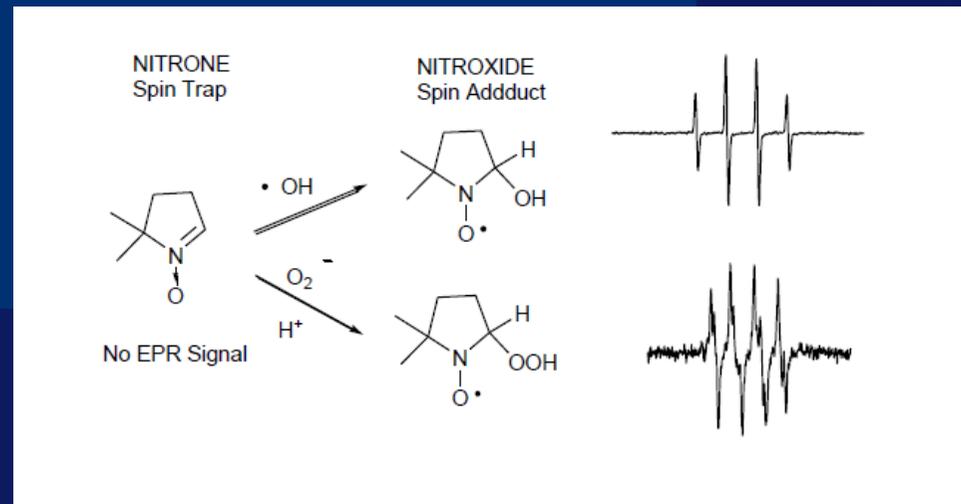


- Mort cellulaire
- Vieillesse
- Maladies

Détecter les EOR: Résonance paramagnétique électronique (RPE)

équipe Grégory Durand, Université d'Avignon, IBMM

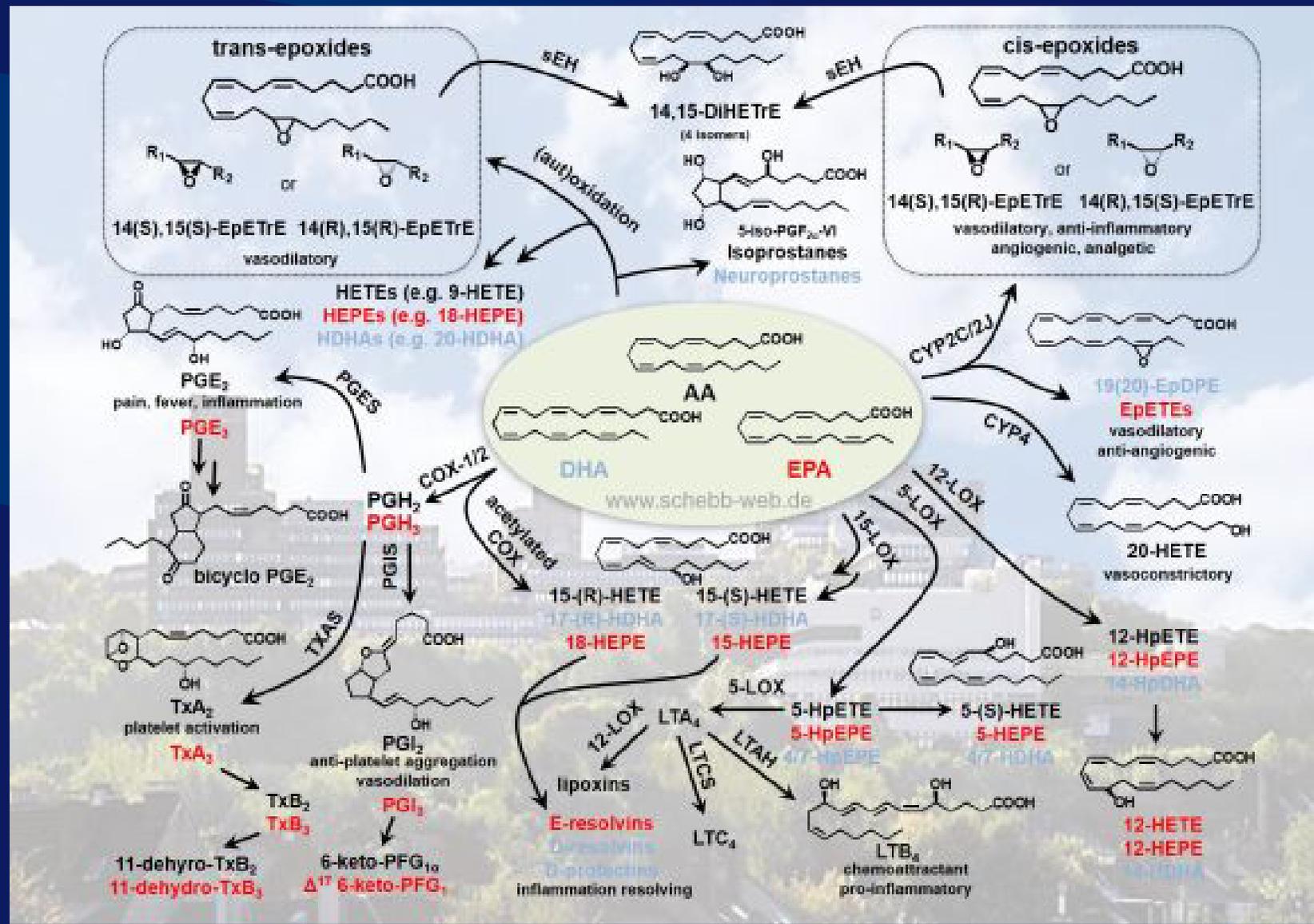
- ⇒ Très bonne sensibilité (μM voire nM dans certains cas)
- ⇒ Détection d'espèces paramagnétiques en milieux solide, liquide et gaz
- ⇒ Technique non invasive
- ⇒ Possibilité de travailler à différentes températures
- ⇒ Basée sur l'absorption d'énergie de radiations électromagnétiques de fréquence variant de ~ 1 Mhz à plusieurs THz (9.5 GHz pour les RPE X-band)



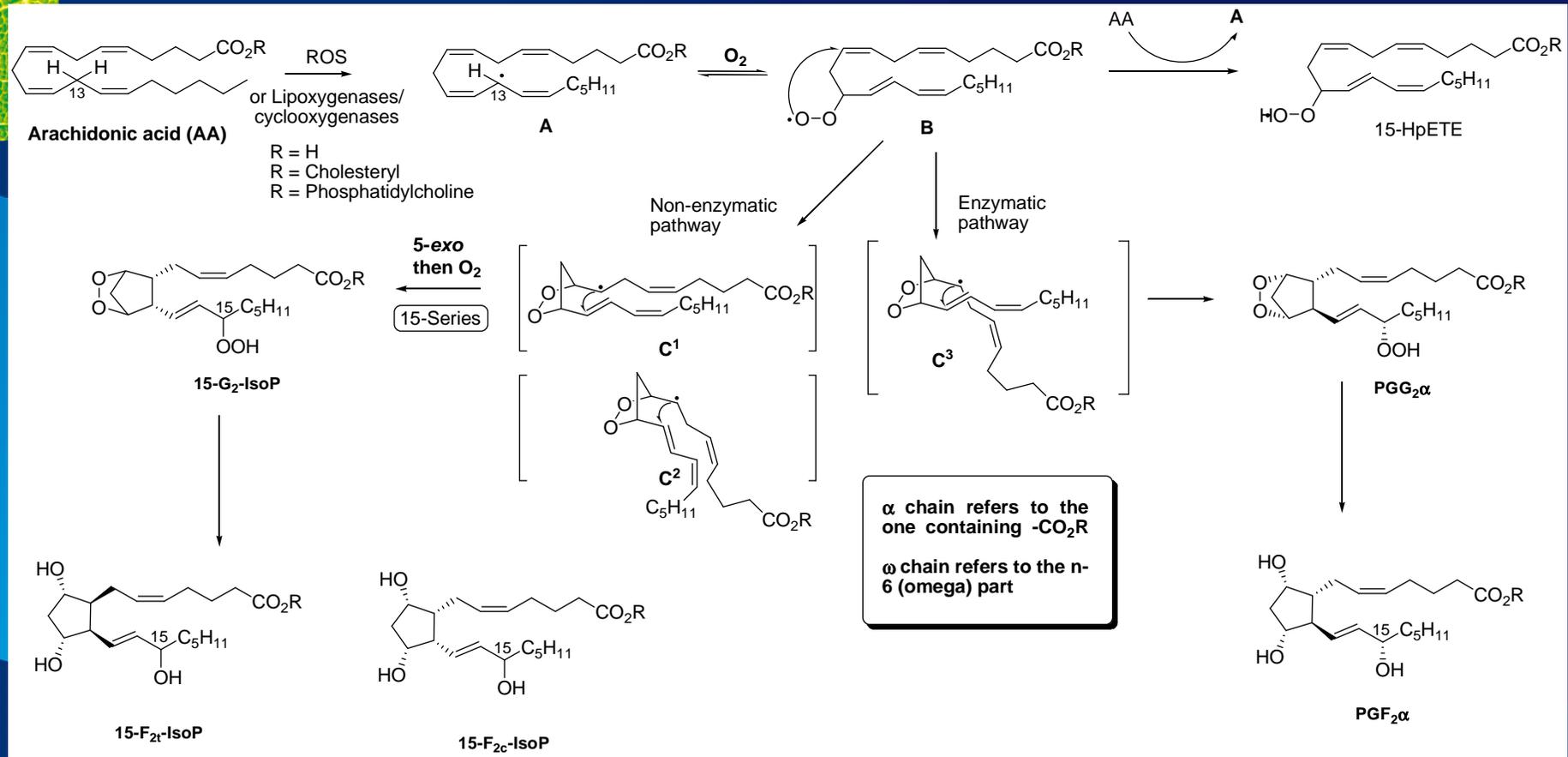
Détecter les conséquences des EOR: analyse des métabolites lipidiques

équipe Thierry Durand, Univ Montpellier, IBMM

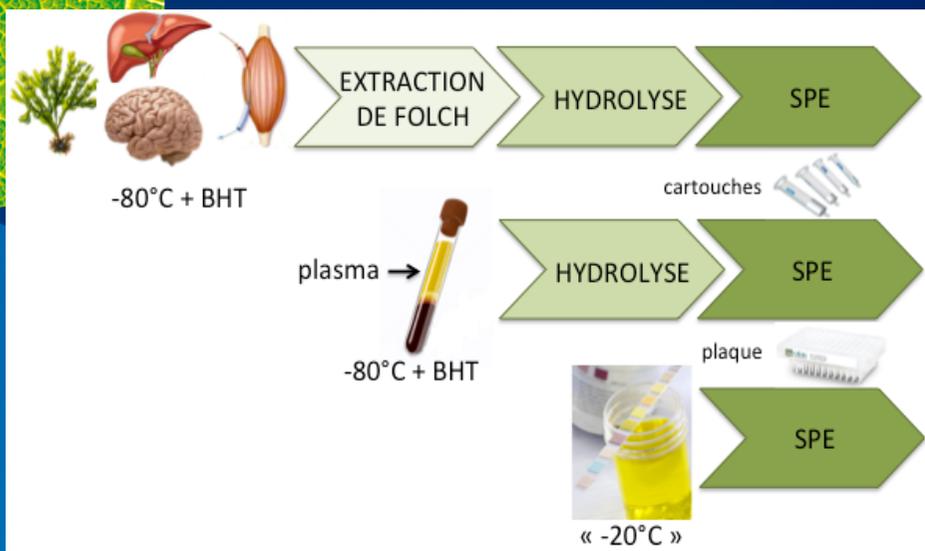
Les oxylipines biomarqueurs du Stress Oxydant



Les isoprostanoïdes: biomarqueurs du stress oxydant



COMMENT? Dosage en LC-MS/MS : sensible, sélectif, robuste, « rapide »



Préparation des échantillons

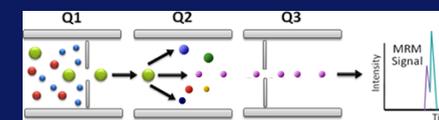
Sciex 5500 QTrap



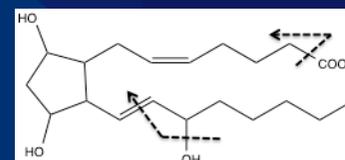
ESI mode négatif

MRM (multiple ionisation monitoring)

- double sélectivité
- sensibilité accrue

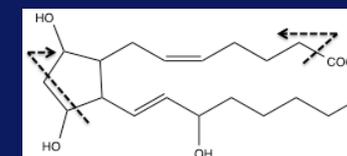


15(RS)-15-F_{2t}-IsOP



T1: 353.2/193.0

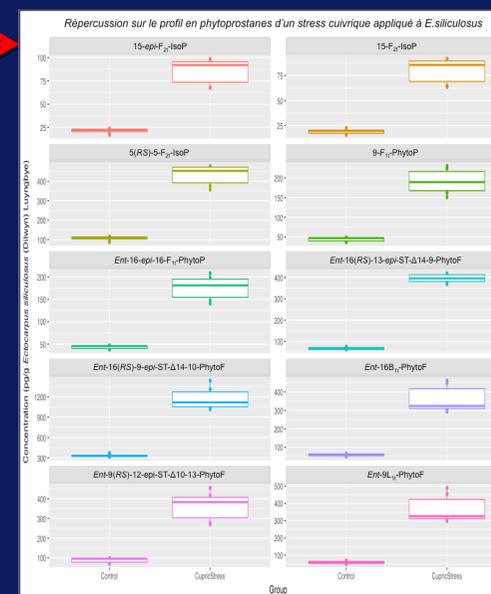
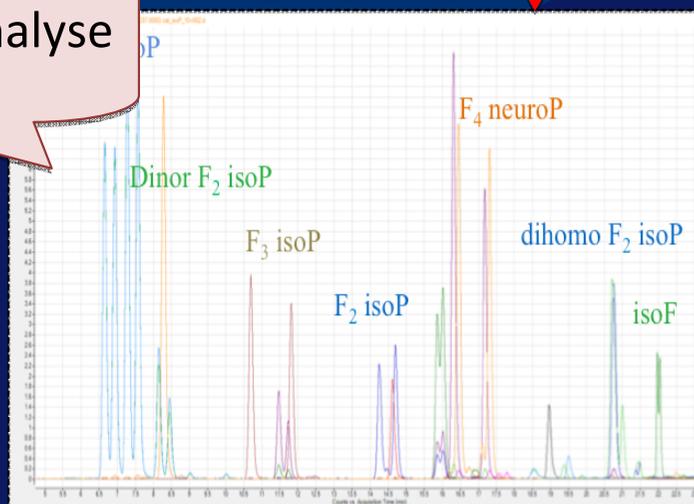
Analyse LC-MS/MS



T1: 353.2/247.0

Résultats

> 40 métabolites/1 analyse
(<15 min)



Conclusion

Le stress oxydant rassemble à la fois les aspects de la chimie, biochimie, biologie cellulaire, physiologie et pathophysiologie.

Le concept est global mais il est nécessaire d'élucider les détails moléculaires pour chaque cas particulier de formation de EOR et ces conséquences.

Le but ultime, peut-être :

« If only stress could be seen, isolated and measured, I am sure we could enormously lengthen the average human lifespan ».

Hans Selye, 1907-1982, père fondateur de la théorie du stress

Cette présentation a été inspirée par
le Livre référence

