

Espèces réactives de l'oxygène

Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ?

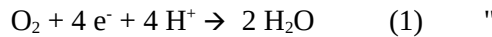
Gardès-Alber et al. 2005

I. Origine et régulation des espèces réactives de l'oxygène in vivo

p. 91. "A l'exception de certains organismes anaérobies et aérotolestants, l'oxygène est nécessaire à tous les animaux, plantes et bactéries pour produire de l'énergie par l'intermédiaire de chaînes de transport d'électrons telles que celle existant dans les mitochondries des cellules eucaryotes."

ERO : Espèces Réactives de l'Oxygène

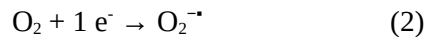
p. 92. "La majeure partie de l'oxygène que nous respirons subit une réduction tétravalente (addition de 4 électrons, réaction (1)) conduisant à la production d'eau. Cette réaction est catalysée par la cytochrome oxydase, accepteur terminal d'électrons présent dans le complexe IV de la chaîne de transport des électrons située dans la membrane interne mitochondriale.



Potentiel standard de réduction de l'oxygène, sol. acide (in Greenwood et Earnshaw 1997, p. 628) :



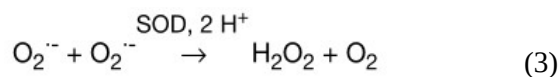
p. 92. "Toutefois, cette chaîne de transport peut laisser « fuir » une certaine proportion d'électrons qui vont réduire l'oxygène, mais en partie seulement. C'est ainsi qu'environ **2 % de l'oxygène** subit une réduction **mono-électronique** (addition d'un seul électron, réaction (2)) conduisant à la formation du radical superoxyde $\text{O}_2^{\cdot-}$, au niveau de l'ubiquinone (ou coenzyme Q).



Potentiel standard de réduction de l'oxygène, sol. alcaline (in Greenwood et Earnshaw 1997, p. 628) :

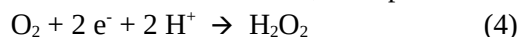


(...) Le radical superoxyde qui présente une certaine toxicité (...) est éliminé ou tout au moins maintenu à un niveau de concentration assez bas par des enzymes appelées superoxyde dismutases (SOD) qui catalysent sa disparition par dismutation (réaction (3)).



L'eau oxygénée (ou peroxyde d'hydrogène, H_2O_2) ainsi formée n'est pas elle-même un radical libre mais une molécule (ayant tous ses électrons périphériques appariés).

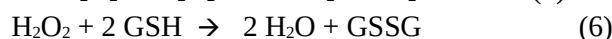
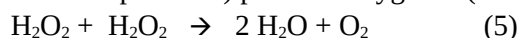
Sa production peut également résulter de la réduction **bi-électronique** de l'oxygène (réaction (4)) en présence d'oxydases.. qui se trouvent principalement dans des organites cellulaires bien individualisés comme les peroxysomes. Par ailleurs, la membrane mitochondriale externe renferme une monoamine oxydase capable de catalyser la désamination oxydative de certaines amines, avec production simultanée de H_2O_2 .



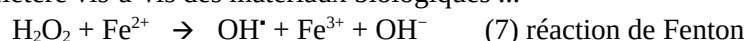
Potentiel standard de réduction de l'oxygène, sol. acide (in Greenwood et Earnshaw 1997, p. 628) :



L'eau oxygénée est un intermédiaire réduit de l'oxygène qui est relativement toxique. Sa concentration est régulée par des enzymes telles que la catalase (présente dans les peroxysomes) et les glutathion peroxydases (essentiellement localisées dans le cytosol). La catalase accélère la réaction de dismutation de l'eau oxygénée en oxygène et en eau (réaction (5)), tandis que la glutathion peroxydase accélère la réaction d'oxydation du glutathion (thiol peptidique, symbolisé ici par GSH) par l'eau oxygénée (réaction (6)).



La majeure partie de la toxicité de l'eau oxygénée provient de sa capacité à générer le radical hydroxyle OH^\cdot en présence de cations métalliques tels que Fe^{2+} (réaction (7), dite de Fenton) ou Cu^+ . Le radical hydroxyle est particulièrement délétère vis-à-vis des matériaux biologiques ...



Remarque : le radical hydroxyle OH^\bullet et l'anion basique OH^- sont tous deux formés au cours de la réaction (7). Toutefois, ce sont deux espèces chimiques nettement distinctes, puisque l'une (OH^-) a tous ses électrons périphériques appariés, tandis que l'autre (OH^\bullet) a un électron célibataire sur sa couche périphérique. Leur différence de réactivité est directement corrélée à cette différence de structure électronique.

D'un point de vue formel, la réduction de l'oxygène en eau nécessite l'apport de 4 électrons qui peuvent s'additionner un par un, successivement sur O_2 , en conduisant aux intermédiaires respectifs $\text{O}_2^{\bullet -}$, H_2O_2 et OH^\bullet (Fig. 1). Ces intermédiaires sont appelés espèces réactives de l'oxygène (ERO) ou encore espèces activées de l'oxygène, car ils ont une réactivité beaucoup plus importante que l'oxygène qui leur a donné naissance.

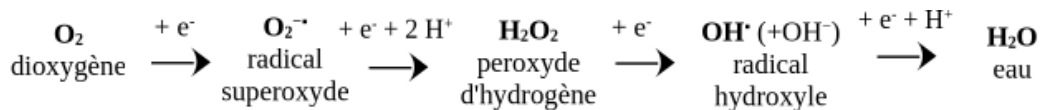


Fig. 1. Intermédiaires réduits de l'oxygène. Les quatre étapes de réduction mono-électronique de l'oxygène

II. Production et analyse des radicaux libres oxygénés par radiolyse de l'eau (p. 93)

(...) "La décomposition de l'eau pure par des rayonnements ionisants tels que les rayons gamma (provenant de sources radioactives de ^{137}Cs ou de ^{60}Co) **produit en quelques nanosecondes les espèces radicalaires** e^-_{aq} (électron hydraté), OH^\bullet et H^\bullet , ainsi que les espèces moléculaires H_2 , H_2O_2 et H^+ (figure 2).

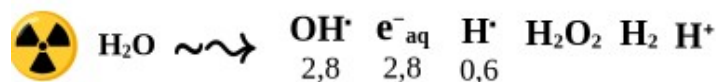
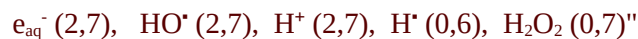


Fig. 2. Production d'espèces radicalaires en quelques nanosecondes par radiolyse de l'eau (rayons γ).

Ogata et al. (1983, p. 761) : "Dans la radiolyse, la valeur G est le nombre de molécules en réaction ou produites par 100 eV d'énergie absorbée. Par exemple la radiolyse de l'eau à pH neutre génère des électrons hydratés (e^-_{aq}), le radical hydroxyle, proton, atomes d'hydrogène et du peroxyde d'hydrogène avec des valeurs G mises entre parenthèse :



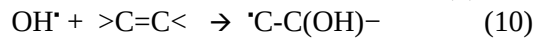
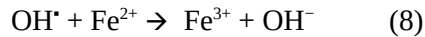
La quantité de chacune de ces espèces est bien connue; elle s'exprime en terme de rendement radiolytique, c'est-à-dire en nombre de moles formées par unité d'énergie absorbée (le Joule). Les valeurs de ces rendements sont donnés en Fig. 2.

En présence d'oxygène (milieu aéré), les radicaux e^-_{aq} et H^\bullet réagissent avec O_2 pour donner respectivement les radicaux $\text{O}_2^{\bullet -}$ et HO_2^\bullet . Ces derniers sont liés entre eux par un équilibre acido-basique dont le pKa est égal à 4,8... Un phénomène **similaire se produit lors d'irradiations** (accidentelles ou thérapeutiques) **d'organismes vivants, puisque ces derniers sont constitués majoritairement d'eau (70 à 80 % en poids)**. Les ERO générés par radiolyse de l'eau provoquent des dommages oxydatifs... (...)

En radiolyse gamma (ou radiolyse à l'état quasi-stationnaire), des durées d'irradiation croissantes (de quelques minutes à quelques heures) conduisent à des concentrations « cumulées » croissantes de radicaux libres, tandis que leurs concentrations « instantanées » restent extrêmement faibles (par exemple 10-10 à 10-12 mol.L-1 pour les radicaux OH^\bullet), en raison de la grande réactivité de ces radicaux. Il n'est donc pas possible de doser les espèces radicalaires pendant les irradiations. En revanche, le substrat transformé peut être analysé après chaque irradiation. (...)

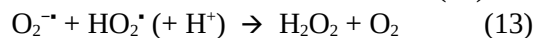
Les radicaux hydroxyles sont les ERO les plus dommageables du stress oxydant, en raison de leur extrême réactivité... Ces constantes de vitesse sont dites limitées par la diffusion, c'est-à-dire limitées seulement par le mouvement des molécules et non par une barrière énergétique (énergie d'activation). Par conséquent, la durée de vie des radicaux OH^\bullet est extrêmement faible (inférieure à la microseconde) et les distances qu'ils peuvent parcourir sont également très faibles (inférieures à la dizaine de nanomètres). Ce sont donc des radicaux qui diffusent peu et qui réagissent quasiment sur le lieu de leur production, à l'opposé des radicaux superoxydes qui, comme nous le verrons, « ont le temps » de diffuser en raison de leur relative inertie chimique. Les radicaux hydroxyles attaquent tous les matériaux biologiques (ADN, protéines, lipides...). Ce sont des oxydants puissants qui réagissent selon trois modes d'action : soit en arrachant un électron (réaction

(8)), soit en arrachant un atome d'hydrogène (d'un substrat organique RH, réaction (9)), soit encore en s'additionnant sur les doubles liaisons (réaction (10)).



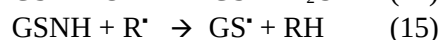
Par exemple, dans le cas de l'ADN, le radical hydroxyle réagit avec les bases en s'additionnant sur les doubles liaisons... Le radical hydroxyle peut également réagir avec les acides gras polyinsaturés des phospholipides membranaires et des lipoprotéines, initiant ainsi des chaînes de peroxydation lipidique. De même, les acides aminés constitutifs des protéines sont très sensibles à l'attaque des radicaux hydroxyles. En outre, lorsqu'une protéine possède une fonction enzymatique, les radicaux hydroxyles sont susceptibles d'inactiver, tout au moins en partie, le site actif.

Paradoxalement, les radicaux superoxydes sont eux-mêmes peu réactifs vis-à-vis de la majorité des substrats bioorganiques (acides nucléiques, protéines, lipides et leurs constituants)... Ce sont donc des espèces dont la durée de vie est relativement longue (jusqu'à quelques dizaines de secondes) et qui peuvent diffuser bien au-delà de leur lieu de production... il existe très peu de cibles privilégiées des radicaux $\text{O}_2^{\bullet-}$; citons à titre d'exemple les SOD..., le cytochrome c(Fe^{3+})..., ou encore l'ascorbate... En réalité, la toxicité des radicaux superoxydes semble s'exercer plutôt d'une manière indirecte. En effet, en réagissant avec l'eau oxygénée, les radicaux $\text{O}_2^{\bullet-}$ peuvent donner naissance à des radicaux OH^\bullet (réaction (11), dite de Haber Weiss, catalysée par Fe^{3+}) ou bien encore en réagissant avec des radicaux NO^\bullet (monoxyde d'azote, radical centré sur l'azote), conduire à l'apparition de peroxynitrites (réaction (12)) dont la toxicité est maintenant bien établie. En outre, la dismutation spontanée des radicaux superoxydes (réaction (13)) est suffisamment rapide, même en l'absence de SOD... pour que la production d'eau oxygénée soit en elle-même un phénomène délétère via les réactions de Fenton (réaction (7)) et de Haber Weiss (réaction (11)), c'est-à-dire via la production de radicaux hydroxyles.



Il est important de noter le rôle de second messager que les radicaux superoxydes peuvent jouer au niveau des mécanismes de signalisation cellulaire. Ils sont ainsi impliqués dans les phénomènes d'apoptose (mort cellulaire programmée), dans la prolifération des cellules musculaires lisses (cellules vasculaires), dans l'adhésion des monocytes (types de globules blancs) aux cellules endothéliales, ou bien encore dans l'agrégation plaquettaire. De plus, les radicaux $\text{O}_2^{\bullet-}$ sont capables de modifier l'activité enzymatique de tyrosine kinases et de sérine/thréonine kinases... conduisant en aval à activer des facteurs de transcription (protéines spécifiques) qui vont initier l'expression de gènes « redox-sensibles ».

L'ensemble des dommages radicalaires semble pouvoir être limité, tout au moins en partie, par l'action de molécules dites antioxydantes. Celles-ci ont pour rôle d'empêcher les ERO d'atteindre leurs cibles biologiques, d'où leur fonction de protecteur chimique. Il est habituel de dire qu'un bon antioxydant est un bon « capteur » de radicaux libres. Toutefois, cette condition n'est pas suffisante; il faut en outre que l'antioxydant soit régénéré (recyclé) in vivo de manière à jouer plusieurs fois son rôle. Parmi les antioxydants non enzymatiques se trouvent les thiols (fonction SH) dont certains sont synthétisés in vivo, comme le glutathion (symbolisé ici par GSH). Le glutathion est un tri-peptide dont la concentration intracellulaire est importante... La fonction thiol confère au glutathion un rôle d'antioxydant, c'est-à-dire de réducteur (donneur d'électron ou d'atome H), qu'il exerce vis-à-vis de nombreuses espèces oxydées, et en particulier vis-à-vis de l'eau oxygénée (voir réaction (6)) et des radicaux hydroxyles (réaction (14)). Toutefois, le rôle protecteur de GSH semble provenir de sa capacité à réagir avec les radicaux centrés sur le carbone R^\bullet (réaction (15)). En effet dans ce cas, un phénomène de « réparation » des radicaux R^\bullet en RH se produit [14], par opposition à l'oxydation possible des radicaux R^\bullet par O_2 , donnant naissance à des radicaux peroxydes RO_2^\bullet .



Cependant, les radicaux thiyles GS^\bullet formés lors des réactions (14) et (15) sont loin d'être eux-mêmes « inoffensifs » car leurs réactions ultérieures peuvent générer de nouveaux radicaux libres susceptibles d'initier à leur tour des dommages moléculaires. Par conséquent, l'effet protecteur des thiols reste relativement limité. La régénération de la fonction thiol SH semble se faire, in vivo, à l'aide d'autres réducteurs tels que l'ascorbate." (...).

- En complément, Cadet et di Mascio (2006, p. 917-8) :

"L'existence de réactions d'oxydation dans les cellules résultant du métabolisme aérobie est maintenant bien établie. Dans cette catégorie, le radical superoxyde $O_2^{\bullet-}$ est généré comme produit secondaire d'une réduction incomplète de l'oxygène moléculaire pendant le transport d'électron dans les mitochondries et le réticulum endoplasmique. $O_2^{\bullet-}$ est aussi produit dans les macrophages et les neutrophiles comme partie de la défense de l'hôte via la réduction de O_2 conduite par NADPH...

La plus grande partie des radicaux $O_2^{\bullet-}$ subit une dismutation dans les cellules soit enzymatiquement ou chimiquement, générant H_2O_2 - autre espèce réactive de l'oxygène qui en soi montre une activité oxydante très faible envers la plupart des biomolécules. Cependant, en présence de métaux de transition réduits, particulièrement de Fe^{2+} , H_2O_2 est converti via la réaction dite de Fenton, soit dans le radical fortement oxydant OH^{\bullet} ou une espèce réactive voisine. Une autre possibilité **pour généré le radical OH^{\bullet} est fournie par la radiolyse X ou gamma des molécules d'eau.**"

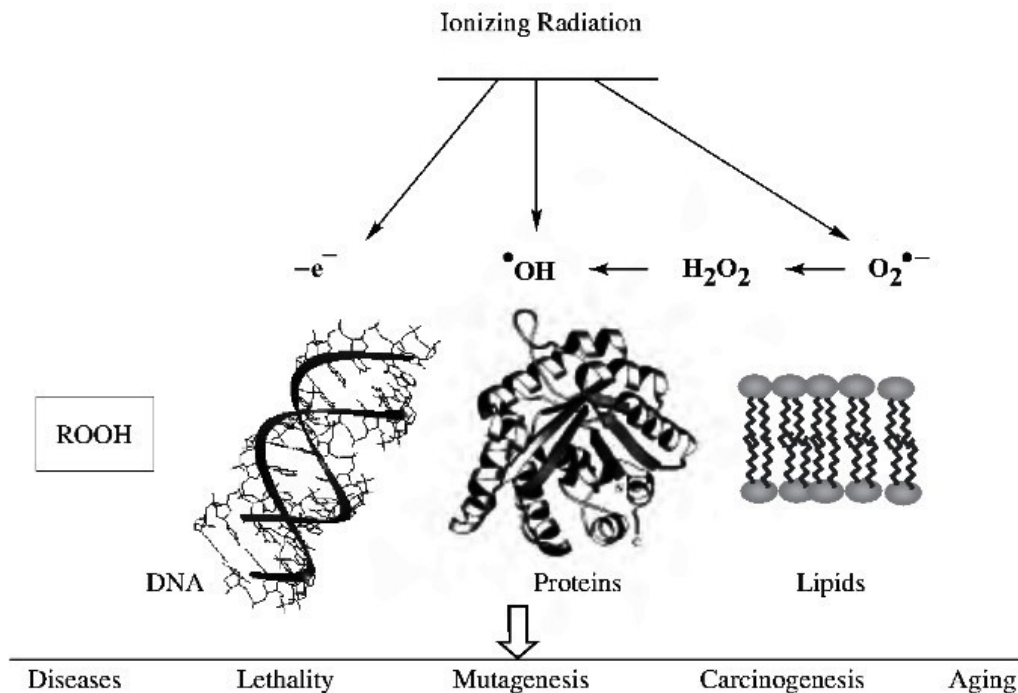


Fig. 3. Réactions oxydatives des molécules biologiques et conséquences biologiques (partiel)

"Il y a eu une accumulation d'évidences les trois dernières décades de la forte implication du radical OH^{\bullet} et oxydants à un électron dans la génération d'hydroperoxydes à partir de plusieurs bases nucléiques, acides aminés et composants lipides non saturés. L'oxygène singlet, $^1\Delta_g$, qui peut être produit entre autres possibilités par la myeloperoxidase, une enzyme impliquée dans les processus d'inflammation, et par la composante UV-A de la radiation solaire, est aussi une source majeure de peroxydation de plusieurs composantes cellulaires clé. Les produits de dégradation des précurseurs hydroperoxydes qui sont plutôt instables ainsi produits d'expositions à des agents oxydants endogènes ou exogènes peuvent être impliqués dans des effets biologiques délétères tel que la létalité des cellules, le vieillissement, la mutagenèse et la carcinogénèse (Fig. 3). On peut ajouter que les processus oxydants des molécules biologiques sont impliqués aussi dans l'étiologie d'autre pathologies incluant l'athérosclérose,, l'arthrite, la cataracte et le diabète."

Biblio

- Cadet, J. - di Mascio, P. 2006, "Peroxides in biological systems", in Rappoport, Z. (edit), "The chemistry of peroxides", John Wiley & sons, vol. 2: 915-999.
- Gardès-Albert, M. - Bonnefont-Rousselot, D. - Abedinszadeh, Z. - Jore, D. 2003, "Espèces réactives de l'oxygène - Comment l'oxygène peut devenir toxique ?", L'actualité chimique - novembre-décembre : 91-96, [là](#).
- Greenwood, N.N. - Earnshaw, A. 1998 (1984), "Chemistry of the Elements", Butterworth/Heinemann, 1343p.

- Ogata, Y. - Tomizawa, K. - Furuta, K. 1983, "Photochemistry and radiation chemistry of peroxides", in Patai, S. "The Chemistry of Functional Groups, Peroxides": 711-775.