

## FICHE OUTIL



**RUBRIQUE** (ex : VII/ physiologie) : \_\_\_\_ / \_ Physiologie \_\_\_\_\_

**SECTION** (ex : 3/ biologie cellulaire) : \_\_\_\_ / Biologie cellulaire \_\_\_\_\_

**NUMERO** (ex : a/ techniques) : \_\_\_\_ / \_ Technique \_\_\_\_\_

### TITRE : Produits avancés de l'oxydation des protéines (AOPP)

**Auteur(s) : Vincent Pialoux, CRIS EA 647, Université Claude Bernard Lyon 1, Villeurbanne. Email : [vincent.pialoux@univ-lyon1.fr](mailto:vincent.pialoux@univ-lyon1.fr)**

### BASE THEORIQUE

L'exercice physique est connu pour significativement augmenter la production de radicaux libres dérivés de l'oxygène (ROS). La production de ROS est aussi plus élevée dans de nombreuses conditions pathologiques (BPCO, cancer, drépanocytose, diabète) ou physiologique (hypoxie, vieillissement). A ce titre la surproduction de ROS semble impliquée dans la pathogénèse des maladies cardio-vasculaires. S'ils ne sont pas neutralisés par les systèmes antioxydants de l'organisme, ces ROS vont oxyder différents tissus de l'organisme, en particulier, les protéines, les lipides ou l'ADN

L'oxydation avancée des protéines est révélée par la formation de liaisons covalentes entre les résidus tyrosine aboutissant à la formation de dityrosine et à des produits d'agrégation de haut poids moléculaire désignés sous le nom d'AOPP (*Advanced Oxidation Protein Products*) (Witko-Sarsat *et coll.*, 1996). La mise en évidence d'une relation entre les AOPP et l'activité oxydative des polynucléaires neutrophiles-dépendante de la myéloperoxydase suggère que les AOPP semblent être des médiateurs de la communication entre polynucléaires et monocytes (Witko-Sarsat *et coll.*, 1996).

Il a été montré que la concentration plasmatique des AOPP est augmentée en réponse à un exercice aigu (Pialoux *et coll.*, 2006) chez une population de sportifs mais aussi chez des patients BPCO (Koechlin *et coll.*, 2004).

### PRE-REQUIS

Le dosage des AOPP est le plus souvent réalisé sur le plasma (sang prélevé sur EDTA). Le dosage présenté est donc celui développé sur le plasma. Cependant, les dosages sur extraits de tissu sont aussi réalisables.

### PRINCIPE

Les AOPP ont la capacité d'absorber à 340nm en condition acide. La chloramine-T utilisée comme standard absorbe aussi à 340nm en présence d'iodide de potassium.

### MATERIEL REQUIS

- Tubes de plasma (EDTA)
- Pipettes et embouts
- Gants
- Tubes de 1,5 mL
- Microplaque de 96 puits

- Lecteur de microplaque à 340 nm
- Balance de précision électronique

### **REACTIFS REQUIS**

- Chloramine-T (227,6 g/mol)
- Potassium Iodide (KI) (166g/mol)
- Acide acétique (98-99%)
- PBS (1X)

### **ETAPES**

- Préparer la chloramine-T à 1mM avec du PBS 1X
- Préparer la solution de KI à 1,16M avec de l'eau distillé
- Préparer la gamme comme ci dessous dans un tube de 1,5 ml :

<b>Concentration de la gamme (µM)</b>	<b>0</b>	<b>10</b>	<b>30</b>	<b>50</b>	<b>70</b>	<b>100</b>	<b>150</b>	<b>200</b>
<b>Chl-T à 1mM (µL)</b>	0	10	30	50	70	100	150	200
<b>PBS (µL)</b>	1000	990	970	950	930	900	850	800
<b>KI (µL)</b>	50	50	50	50	50	50	50	50

- Garder les tubes de la gamme dans la glace durant le dosage
- Dans un tube de 1,5 ml ajouter 200 µL de plasma dans 850 µL de PBS 1X et mixer 6 min dans l'obscurité
- Ajouter 50µL d'acide acétique dans tous les tubes (échantillons et gamme) et mixer 6 min dans l'obscurité
- Disposer 200µL de chaque tube de la gamme en duplicate ou triplicate dans la microplaque
- Lire immédiatement à 340nm

### **INTERPRETATION DES RESULTATS/ANALYSE**

Vous pourrez comparer vos résultats au repos par rapport à une population contrôle. Cependant, en raison d'une forte variabilité au repos, pour comparer plusieurs populations de faible effectif, il est pertinent d'analyser les variations de concentration d'AOPP en réponse à un exercice physique d'intensité élevé. Les valeurs obtenues à forte concentration d'AOPP révèlent un stress oxydatif plus important et laisse envisager une surproduction de ROS ou une déficience des systèmes antioxydants.

### **REFERENCES CITEES**

- Koechlin C, Couillard A, Simar D, Cristol JP, Bellet H, Hayot M and Prefaut C.** (2004) Does oxidative stress alter quadriceps endurance in chronic obstructive pulmonary disease? *Am J Respir Crit Care Med.* 169(9):1022-7
- Pialoux V, Mounier R, Ponsot E, Rock E, Mazur A, Dufour S, Richard R, Coudert J and Fellmann N.** (2006) Effects of training in hypoxia on prooxidant/antioxidant balance. *Eur J Clin Nutr.* 60(12):1345-1354.
- Witko-Sarsat V, Friedlander C, Capeillere-Blandin T, Nguyen-Khoa AT, Nguyen J, Zingraff P, Jungers and Descamps-Latscha B.** 1996. Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. *Kidney Int.* 49:1304-1313.