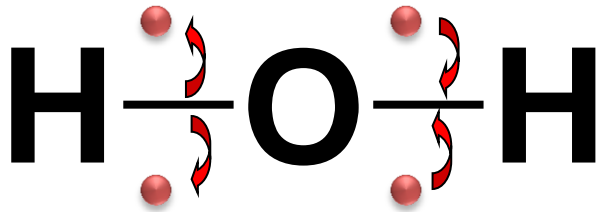


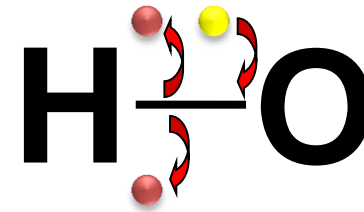
**stress oxydant**

# Notion de radical libre

Un radical libre (RL) est une espèce chimique qui possède un électron non apparié (célibataire) sur sa couche périphérique



électrons de la liaison H<sub>2</sub>O



électrons célibataire  
du radical hydroxyle

Le radical est doté **d'une réactivité particulière** associée à une durée de vie très courte ( $10^{-3}$  à  $10^{-6}$  s)

Afin d'apparier son électron célibataire, il peut se comporter **avec d'autres atomes ou molécules** comme :

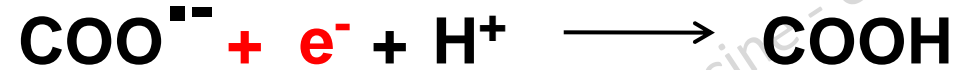
un oxydant

un réducteur

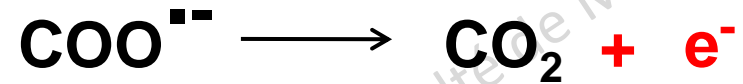
# Notion de radical libre

## Définition

**Réduction** → gain d'électron



**Oxydation** → perte d'électron

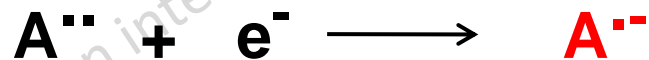


## Formation de radicaux libres

Scission homolytique d'une liaison covalente → **Radicaux neutres**



Réduction monoélectronique → **Radical négatif**



Oxydation monoélectronique → **Radical positif**



# Notion de radical libre

Les **radicaux libres** impliqués dans le **stress oxydant** présentent **un électron célibataire** sur un atome d'oxygène

Ces **radicaux libres** peuvent être produits *in vivo* ou *in vitro* soit :

- Par rupture homolytique d'une liaison covalente en deux composés conservant un électron célibataire
- Par la perte ou le gain d'un électron chez une espèce non radicalaire

*In vivo* ils peuvent être générés en faible quantité lors du métabolisme normal de l'oxygène (CRM)

# Formation des radicaux libres

Oxygène → H<sub>2</sub>O via chaîne respiratoire mitochondriale (CRM)

O<sub>2</sub> : **accepteur final des électrons libérés** (formation ATP)

Réduction quasi-instantanée de l'O<sub>2</sub> au cours de la respiration :



Pas d'états réduits intermédiaires (ERO, RL)

Réactions assurées par:

- Complexes protéiques (cytochrome C oxydase)
- Oxydation de **NADH, FADH<sub>2</sub>** (équivalents réduits)

# Formation des radicaux libres

La CRM permet la réduction de l'oxygène moléculaire en 2 H<sub>2</sub>O.

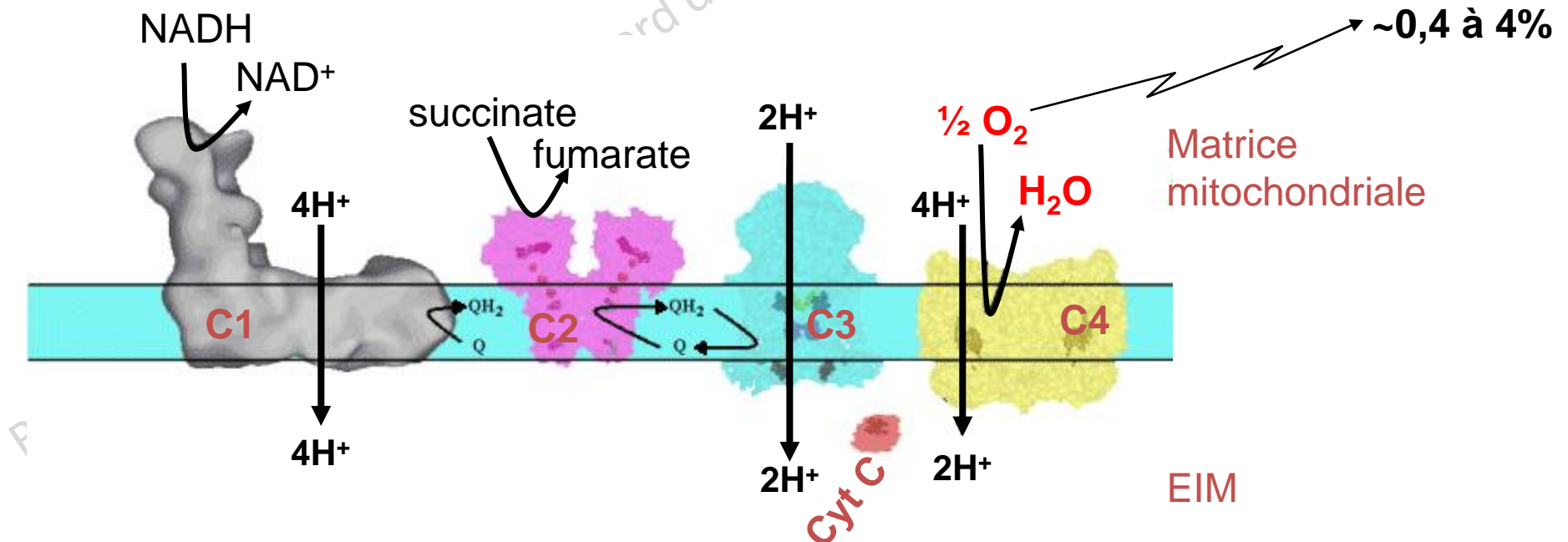
Cette réduction :

- implique la présence de quatre électrons
- est rendue possible grâce à un système complexe de protéines et d'enzymes localisées dans la membrane interne de la mitochondrie

Les conséquences de cette activité de la CRM sont doubles et paradoxales

→ la mitochondrie réapprovisionne la cellule en ATP

→ **~ 0,4 à 4% de O<sub>2</sub> ne sont pas correctement convertis en eau**



# Formation des radicaux libres / ERO

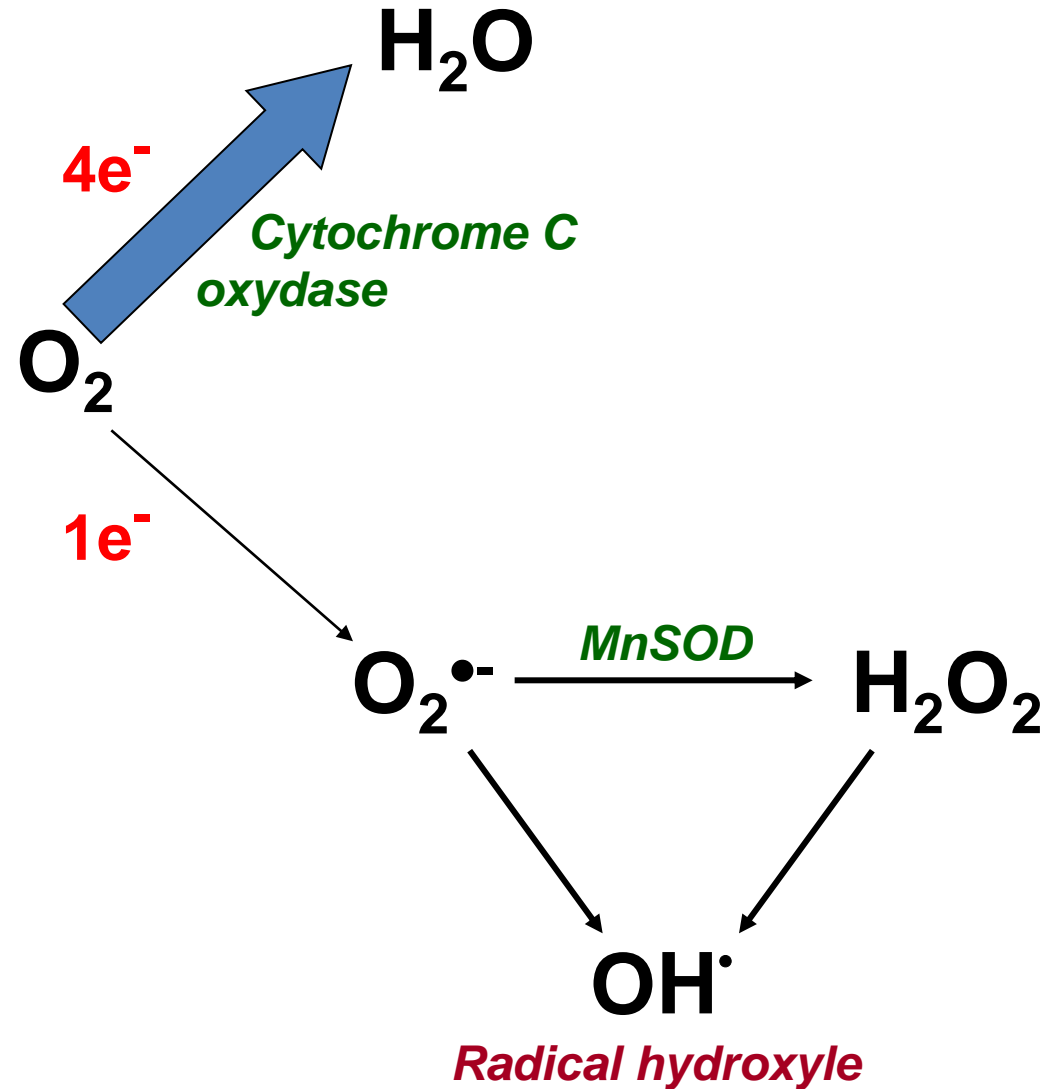
Au niveau mitochondrial

Tetraréduction

95%

Monoréduction

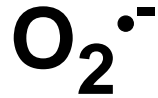
3-5%



# Espèces Réactives de l'Oxygène (ERO)

**ERO** : espèces beaucoup plus réactives que l'oxygène qui leur a donné naissance

*Anion superoxyde*



*peroxyde d'hydrogène*



*Radical hydroxyle*



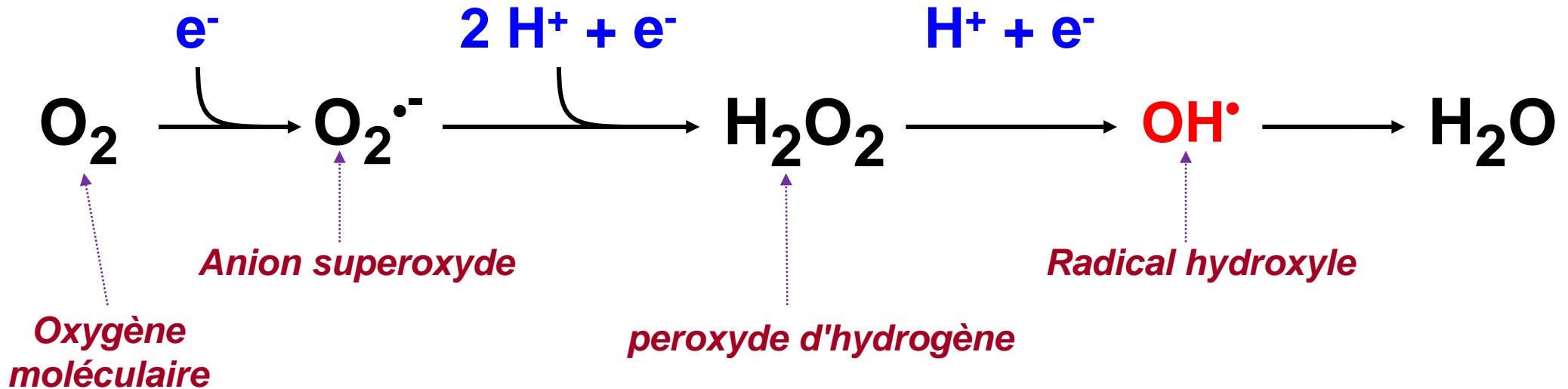
Espèces Réactives de l'Oxygène (ERO)

Il existe d'autres ERO



# Espèces Réactives de l'Oxygène (ERO)

**ERO** : espèces beaucoup plus réactives que l'oxygène qui leur a donné naissance



# ERO rencontrées dans l'organisme

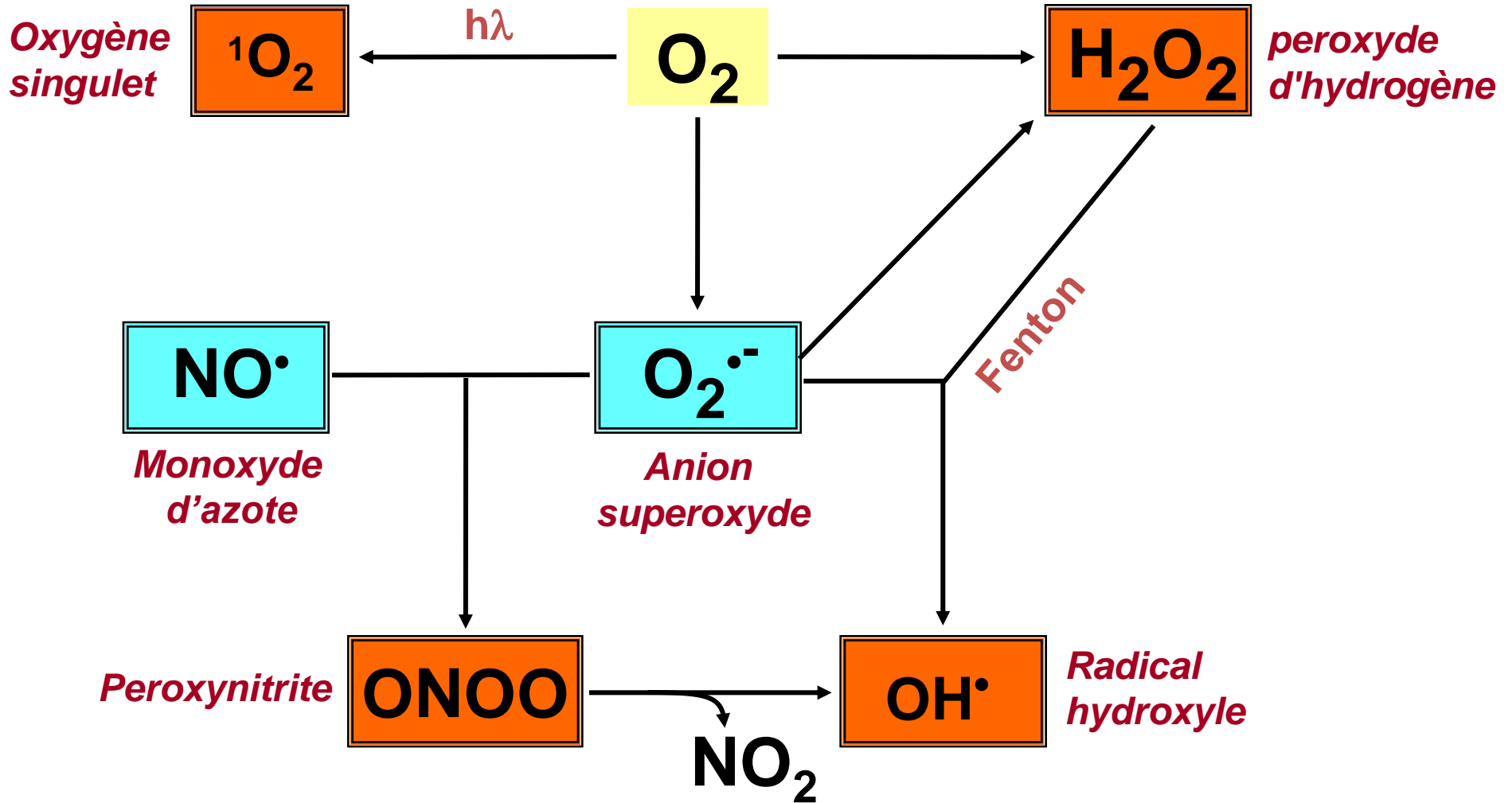
## Les radicaux libres de l'oxygène

<b>Anion superoxyde</b>	<b><math>O_2^{\bullet-}</math></b>	<b>Faible action oxydative Formé par la mitochondrie Peut générer des radicaux secondaires</b>
<b>Radical hydroxyle</b>	<b><math>OH^{\bullet}</math></b>	<b>Très réactif avec les macromolécules biologiques</b>
<b>Oxyde nitrique</b>	<b><math>NO^{\bullet}</math></b>	<b>Réagit avec <math>OH^{\bullet}</math> → peroxyde nitrite</b>
<b>Radical nitrosyle</b>	<b><math>ONOOH</math></b>	<b>Se décompose en radical hydroxyle</b>

## Les espèces réactives de l'oxygène

<b>peroxyde nitrite</b>	<b><math>ONOO^-</math></b>	<b>Peut réagir avec la SOD pour nitrater les Tyr</b>
<b>Oxygène singulet</b>	<b><math>^1O_2</math></b>	<b>Atome d'oxygène seul ; Très réactif ; Durée de vie très limitée</b>
<b>Peroxyde d'hydrogène</b>	<b><math>H_2O_2</math></b>	<b>En présence Fe → radical hydroxyle</b>

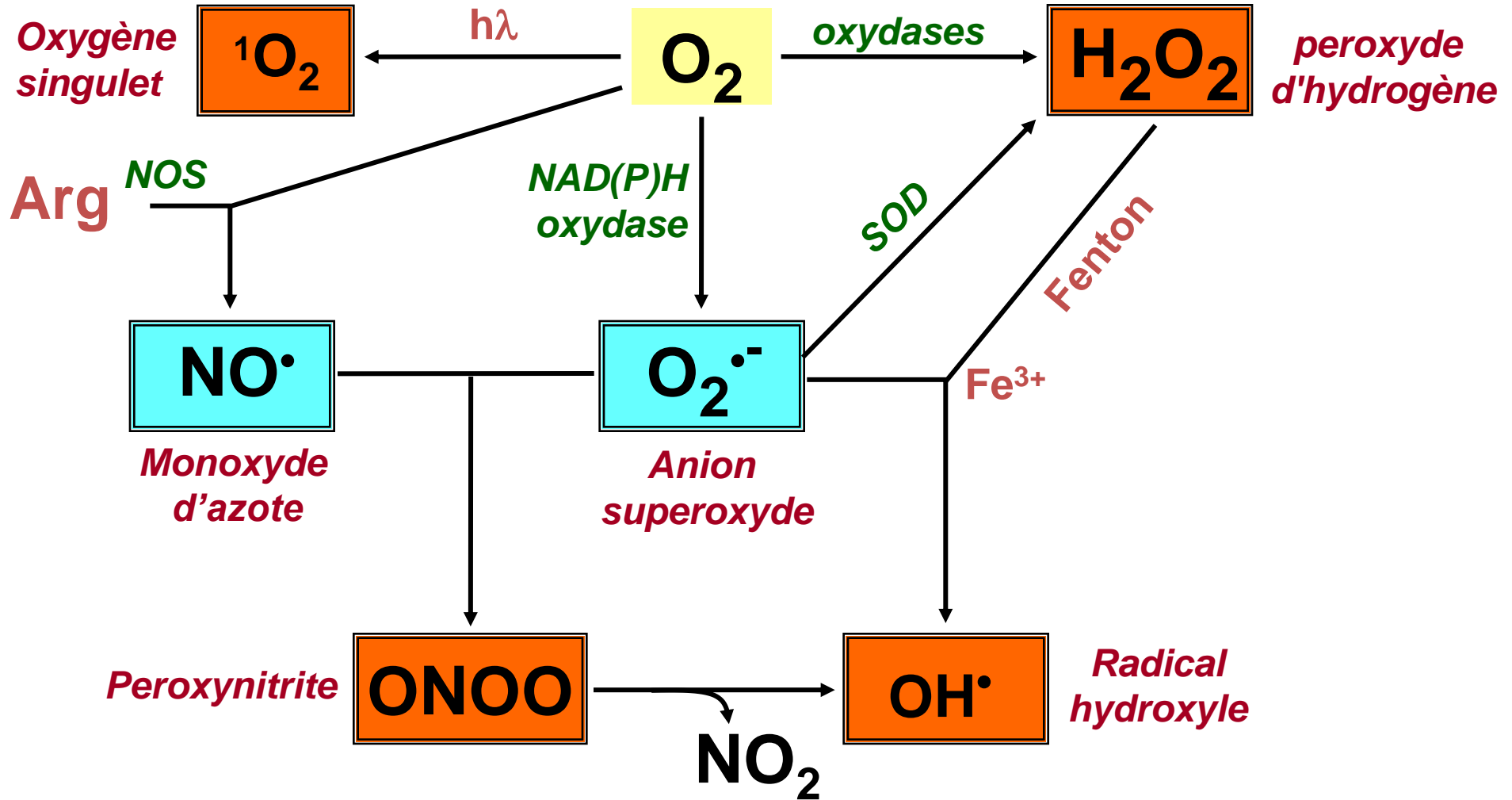
# Formation des différentes ERO



  Radicaux primaires, dérivent de  $O_2$  ou de N par réduction de  $1e^-$

  Espèces réactives de  $O_2$  (ERO)

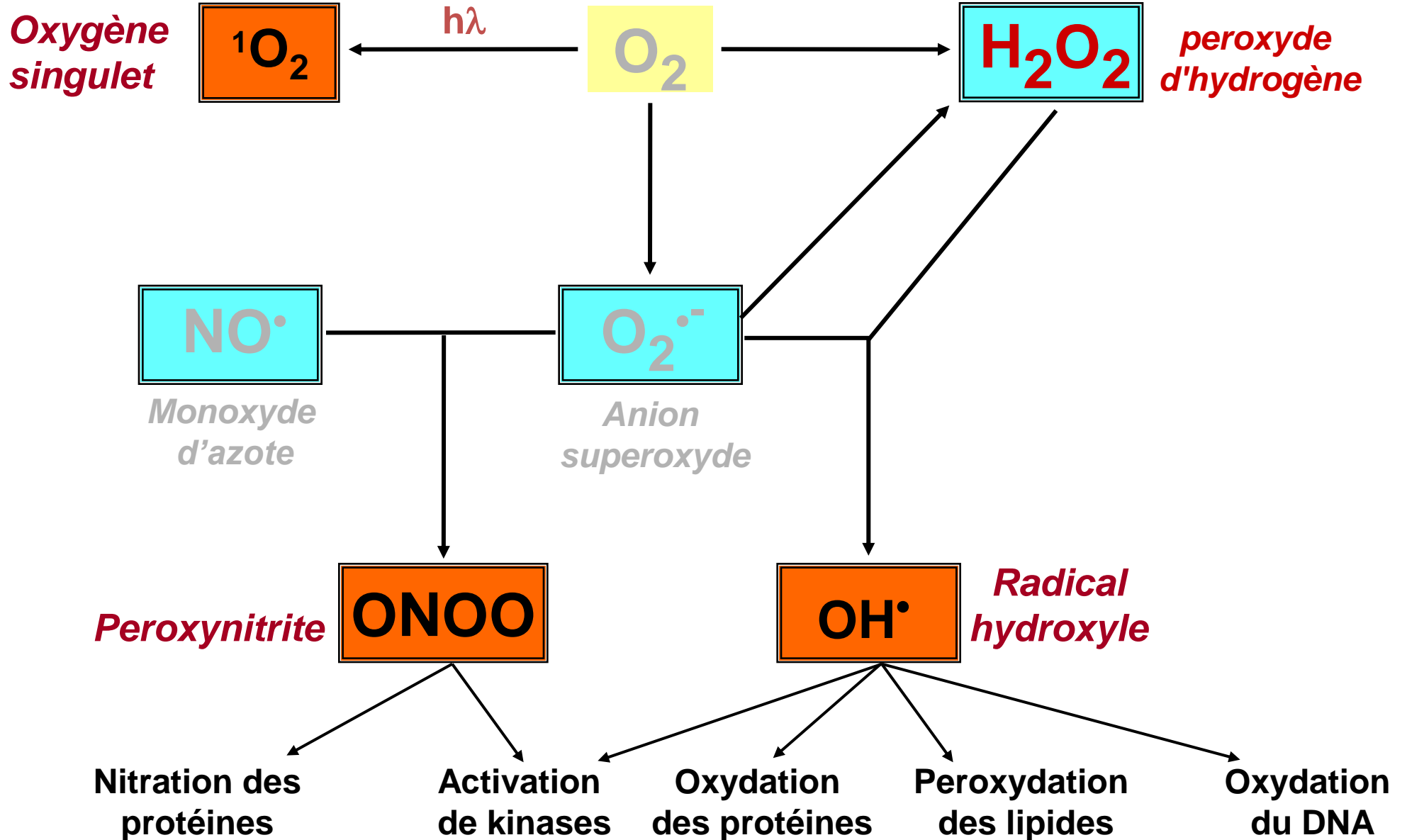
# Formation des différentes ERO



  Radicaux primaires, dérivent de  $O_2$  ou de N par réduction de  $1e^-$

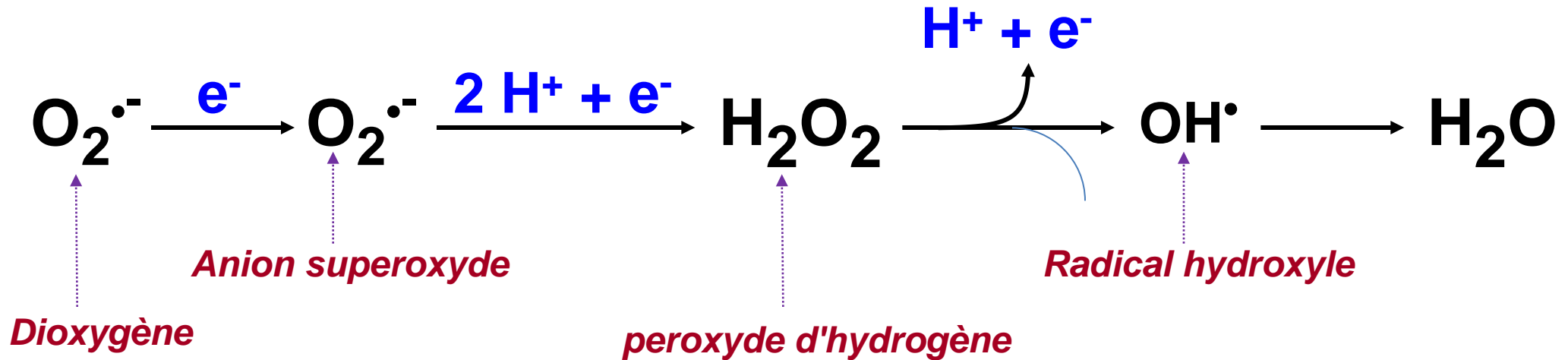
  Espèces réactives de  $O_2$  (ERO)

# Toxicité des ERO



# Espèces Réactives de l'Oxygène (ERO)

**ERO** : espèces beaucoup plus réactives que l'oxygène qui leur a donné naissance



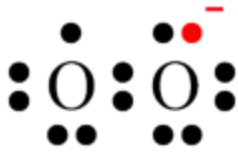
# Les Espèces Réactives de l'Oxygène

## Oxygène singulet

Atome d'oxygène seul.

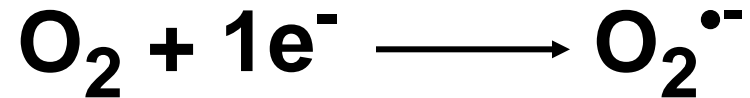
- Il est très réactif - Durée de vie très courte.
- Il est produit par transfert d'énergie lumineuse par des protéines telles que la riboflavine, la bilirubine et le rétinol.

# Les Espèces Réactives de l'Oxygène



## Anion superoxyde ( $O_2^{\bullet -}$ )

Produit par capture d'un électron  $\rightarrow$  l'oxygène moléculaire est réduit en anion superoxyde :



Il est produit majoritairement par la CRM, mais également par des oxydases

Produit par une oxydase membranaire **NAD(P)H oxydase** :

Modulation de la signalisation cellulaire

Intervention dans les régulations métaboliques

Parmi les RL du stress oxydant, **l'anion superoxyde est celui qui a la réactivité vis-à-vis des substrats la plus faible**

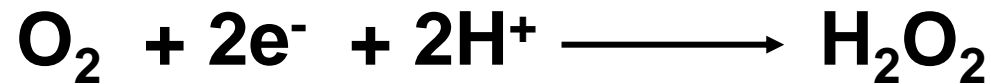
Il ne réagit pas avec les Acides nucléiques et les protéines

# Les Espèces Réactives de l'Oxygène

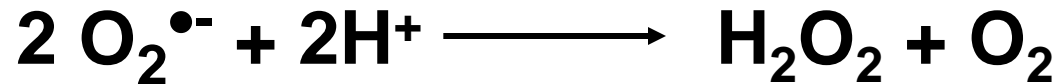
## Peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

Peut être obtenu :

Par réduction divalente de l'oxygène moléculaire (action des oxydases)



Par dismutation de l'anion superoxyde :



**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** électriquement neutre, réactivité limitée → **diffuse à travers les membranes biologiques** plus facilement que l'anion superoxyde

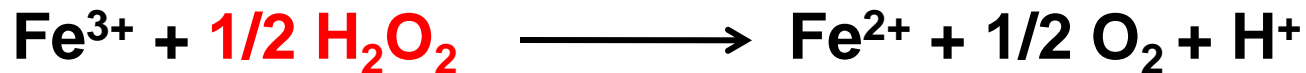
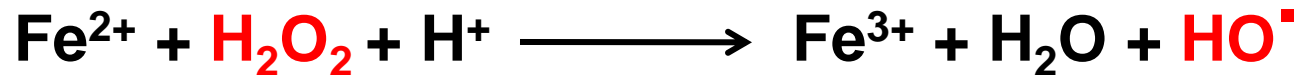
Il donne naissance à des radicaux plus réactifs

# Les Espèces Réactives de l'Oxygène

## Peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est un oxydant puissant, mais les vitesses de réaction, en l'absence d'un catalyseur tendent à être très faibles

De petites traces d'ions métalliques rédox-actifs peuvent augmenter considérablement les réactions d'oxydation de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>



Le peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> par lui-même n'est pas une ROS dangereuse, sauf si de petites traces de métaux impliqués dans les réactions rédox, en particulier Fe<sup>2+/3+</sup> sont présents

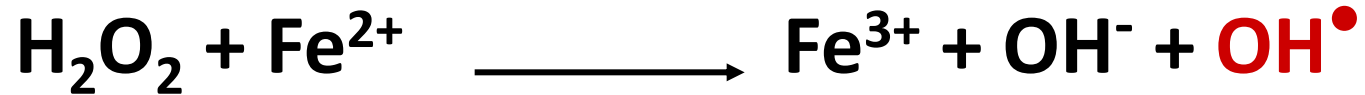
# Les Espèces Réactives de l'Oxygène

## Le radical hydroxyle (OH<sup>•</sup>)

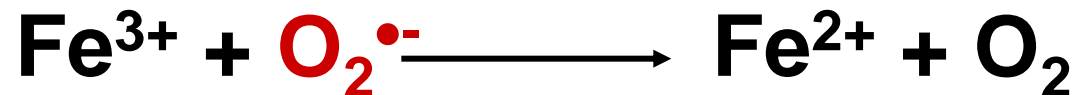
La coexistence de l'anion superoxyde et du peroxyde d'hydrogène peut engendrer cette espèce oxygénée très réactive

Cette réaction est catalysée par des métaux de transition (Fe<sup>2+</sup> et Cu<sup>2+</sup>)

## Réaction de Fenton



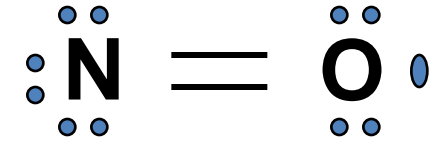
Fe<sup>2+</sup> est reconstitué par divers réducteurs dont l'anion superoxyde



# Les Espèces Réactives de l'Oxygène

## Le monoxyde d'azote (NO<sup>•</sup>)

Le **monoxyde d'azote** est un radical libre diatomique constitué d'un atome d'azote et d'un atome d'oxygène



Gaz

Radical libre peu réactif (NO<sup>•</sup>)

Concentrations in vivo: 5 nM - 4 μM

**NO<sup>•</sup> est caractérisé par :**

Une grande capacité à diffuser

Une réactivité limitée

Une ½ vie qui n'excède pas quelques secondes

**NO<sup>•</sup> est susceptible de réagir avec :**

La plupart des ERO

Les fonctions thiols

Les métaux (fer héminique)

# Les Espèces Réactives de l'Oxygène

## Synthèse du monoxyde d'azote (NO<sup>•</sup>)

NO<sup>•</sup> est synthétisé à partir du L-arginine

La réaction est catalysée par les **Nitric Oxide Synthases (NOS)**

## Les **NOSynthases**

Homodimères, PM = 135-150 kD/monomère

Chaque monomère → deux domaines d'activité :

Un domaine réductase

Un domaine oxygénase

Coenzymes impliqués : FAD, FMN et Hème

Cofacteurs impliqués : BH<sub>4</sub> et Ca-calmoduline

# Les Espèces Réactives de l'Oxygène

## Les *NO*Synthases

Chaque monomère → deux domaines d'activité :

**Un domaine réductase**

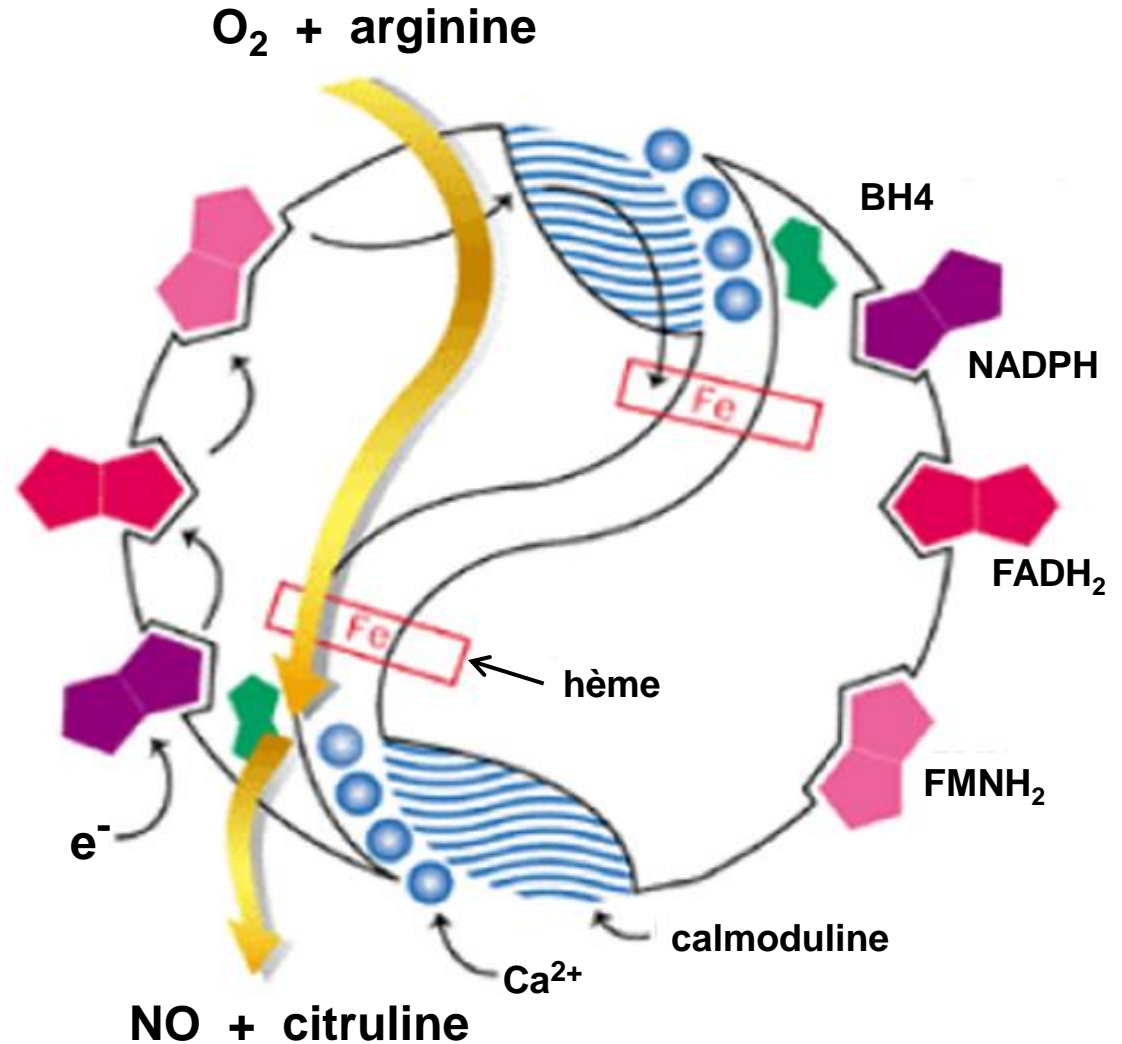
**Un domaine oxygénase**

Coenzymes impliqués :

**FAD, FMN, NADPH et Hème**

Cofacteurs impliqués :

**BH4 et Ca-calmoduline**



# Les Espèces Réactives de l'Oxygène

## Les NO Synthases (NOS)

4 isoenzymes de Nitric Oxide Synthase

NOS-I → neuronale → nNOS

NOS-II → inductible → iNOS

NOS-III → endothéliale → eNOS

mtNOS → mitochondrial → mNOS

## Réaction globale



# Les Espèces Réactives de l'Oxygène



## *NOS I et NOS III*

- Exprimées de façon constitutive
- Activées par  $[\text{Ca}^{++}]$  intracellulaire
- Produisent des concentrations **nanomolaires** de NO

## *NOS II*

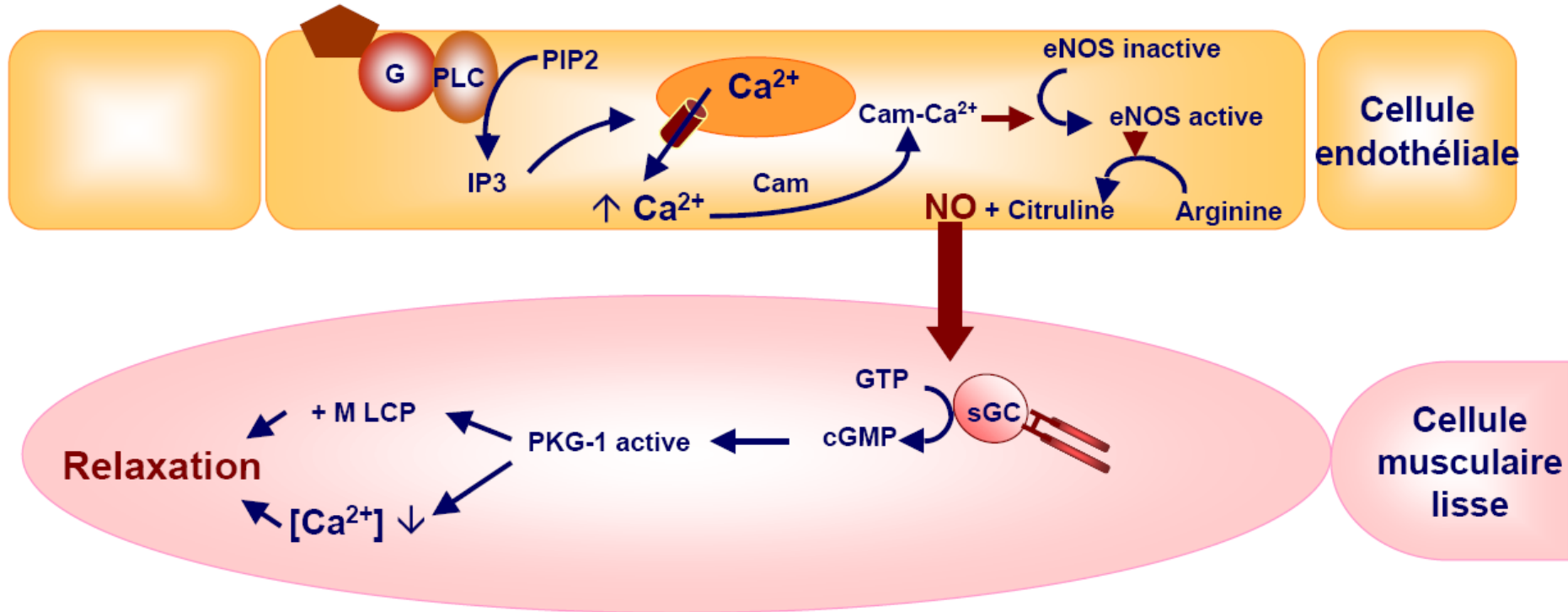
- Exprimée de façon constitutive à de faibles concentrations et inductible par les cytokines
- Activité constitutive mais possible stimulation par les RCPG via  $\text{G}\beta\gamma$
- Produit des concentrations **micromolaires** de NO

## *mtNOS*

- Mitochondriale
- Forte homologie avec nNOS
- Activée par  $[\text{Ca}^{++}]$  intracellulaire

# Les effets du NO

## Monoxyde d'azote (NO)



# Les Espèces Réactives de l'Oxygène

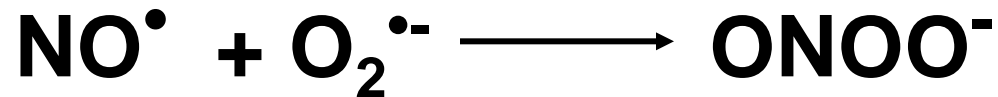
## Devenir du monoxyde d'azote (NO<sup>•</sup>)

NO<sup>•</sup> peut être :

Oxydé en ion nitrosonium (NO<sup>+</sup>)

Réduit en anion nitroxyle NO<sup>-</sup>

La production concomitante de NO<sup>•</sup> et de d'ion superoxyde (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) en un même site entraîne la formation du peroxy nitrite (OONO<sup>-</sup>) ; ERO hautement cytotoxique



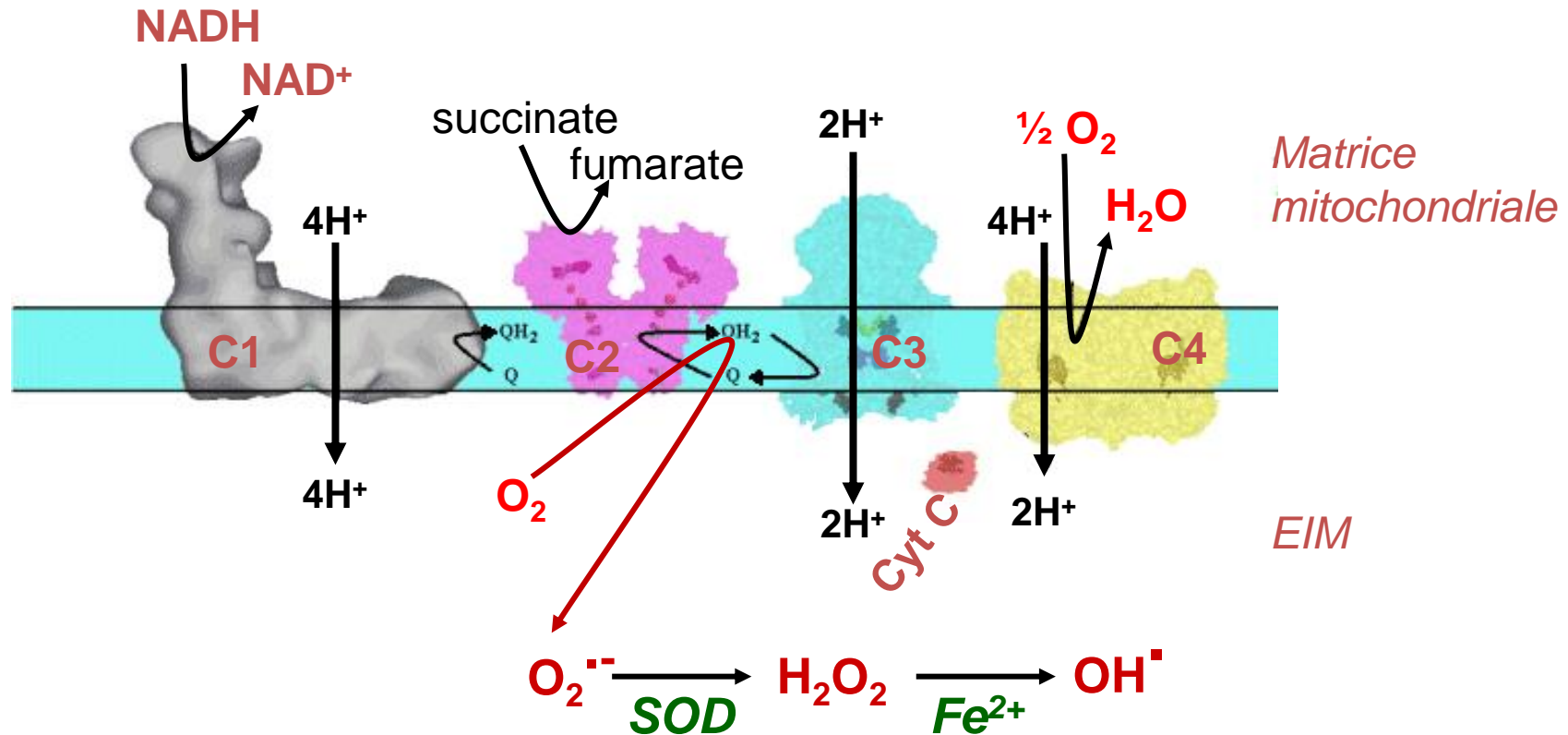
NO<sup>•</sup> se rapproche de O<sub>2</sub><sup>•-</sup> par sa faible réactivité sur les molécules biologiques

# Sources cellulaires des ERO

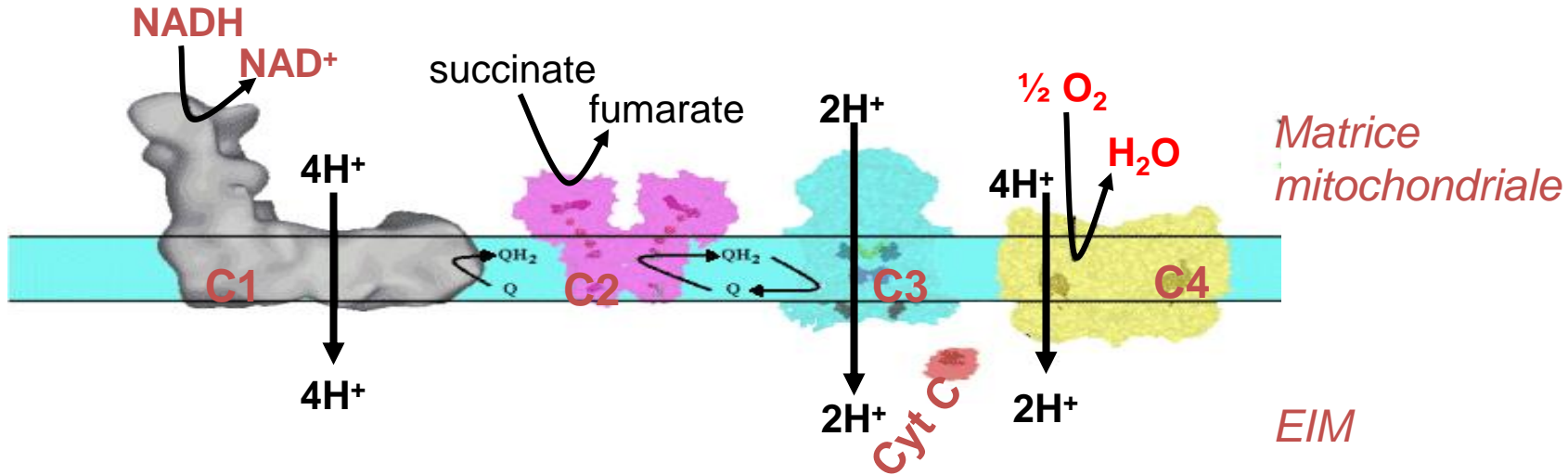
La CRM → coenzyme Q (ubiquinone)

La mitochondrie → source continue de radicaux libres (~0,4 à 4%)

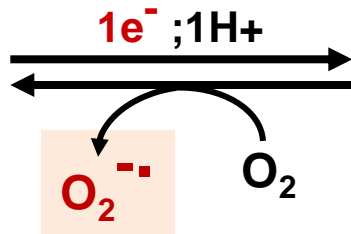
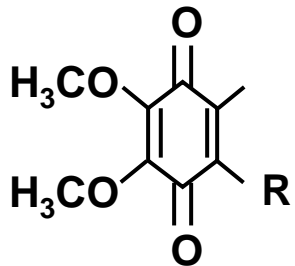
Elle permet la formation de trois espèces radicalaires :  $O_2^{\cdot-}$ ,  $OH^{\cdot}$ ,  $H_2O_2$



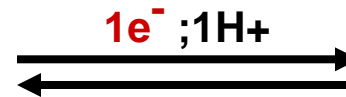
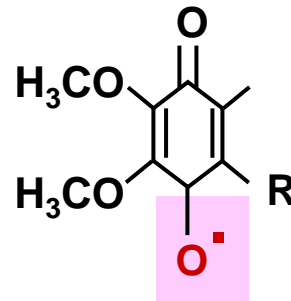
# Sources cellulaires des ERO



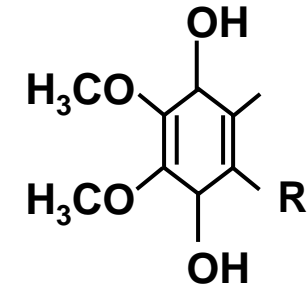
Coenzyme Q  
Ubiquinone



Ubisemiquinone  
(réduction partielle)



Ubiquinol  
(Réduction totale)



Coenzyme Q  
Ubiquinone  
(Oxydation totale)

Ubisemiquinone  
(Oxydation partielle)

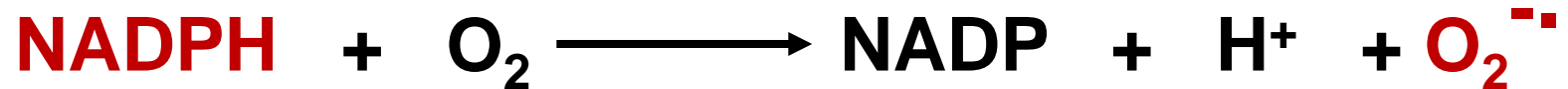
Ubiquinol

# Sources cellulaires des ERO

Dans les cellules → production essentiellement enzymatique :

## Les oxydases

*NAD(P)H oxydase* membranaire (membrane plasmique, membrane de vésicules de phagocytose)



## Autres sources enzymatiques :

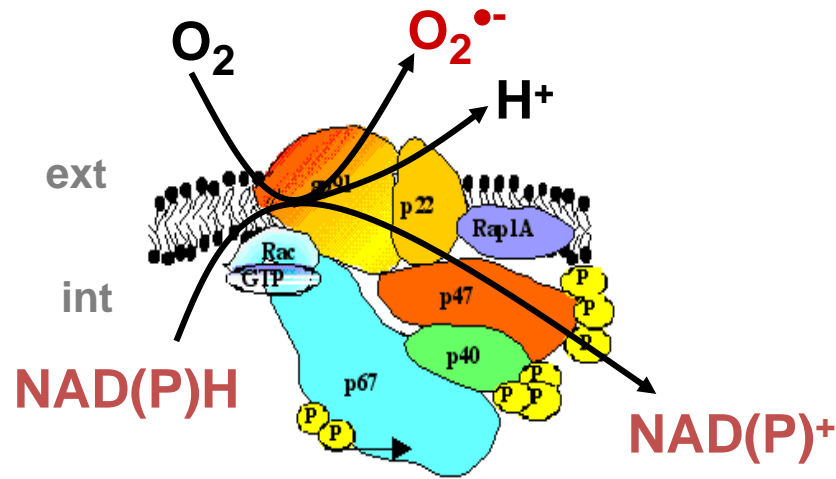
Monoamines oxydases →  $\text{H}_2\text{O}_2$

5-lipooxygénases et cyclooxygénases →  $\text{O}_2^{\bullet -}$

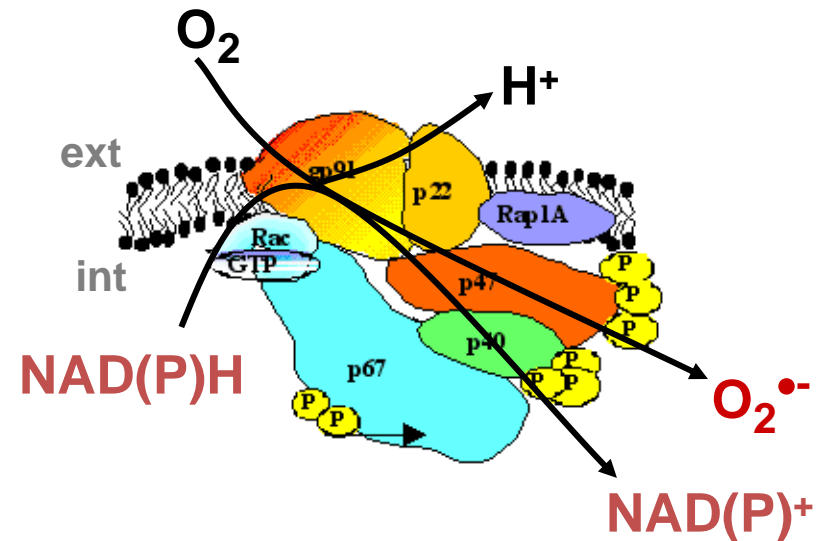
Auto-oxydation des catéchols et des cathécholamines →  $\text{O}_2^{\bullet -} + \text{OH}^\bullet$

# Sources cellulaires des ERO

## *NAD(P)H oxydase membranaire*



**Polynucléaire neutrophile**



**Cellule musculaire lisse**

Complexe multimérique localisé au niveau de la membrane plasmique

Complexe transmembranaire qui permet par interactions avec le substrat **NAD(P)H cytoplasmique**, la libération de l'anion superoxyde produit à l'extérieur (PN) ou à l'intérieur (cellules musculaires lisses) de la cellule

# Sources cellulaires des ERO

## Au niveau du peroxysome

Les peroxysomes utilisent une part importante de l'O<sub>2</sub>

**Production majoritaire de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>**

*Glycolate oxydase; acylCoA oxydase; D-amino acide oxydase...*

La ***catalase*** utilise H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> formée par ces enzymes pour oxyder différents substrats (AG) et pour la détoxification (éthanol)

## Au niveau du REL / CytP<sub>450</sub>

- Le REL est riche en complexes multienzymatiques impliqués dans les processus de détoxification de métabolites faisant intervenir des cytP<sub>450</sub>
- Oxydation de AG insaturés
  - ↳ Réduisent O<sub>2</sub> en ions superoxyde (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) et/ou H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

ERO produits pourraient être impliqués dans des fonctions physiologiques du RE (adressage, sécrétion protéines)

# Sources cellulaires des ERO

## Autres systèmes de production

**Auto-oxydation**

**Cyclo-oxygénase et lipo-oxygénase**

**Système de transport des électrons dans la membrane nucléaire**

**Xanthine/xanthine oxydase**

**Activation des polynucléaires**

**Hémoglobine et Myoglobine**

# Sources cellulaires des ERO

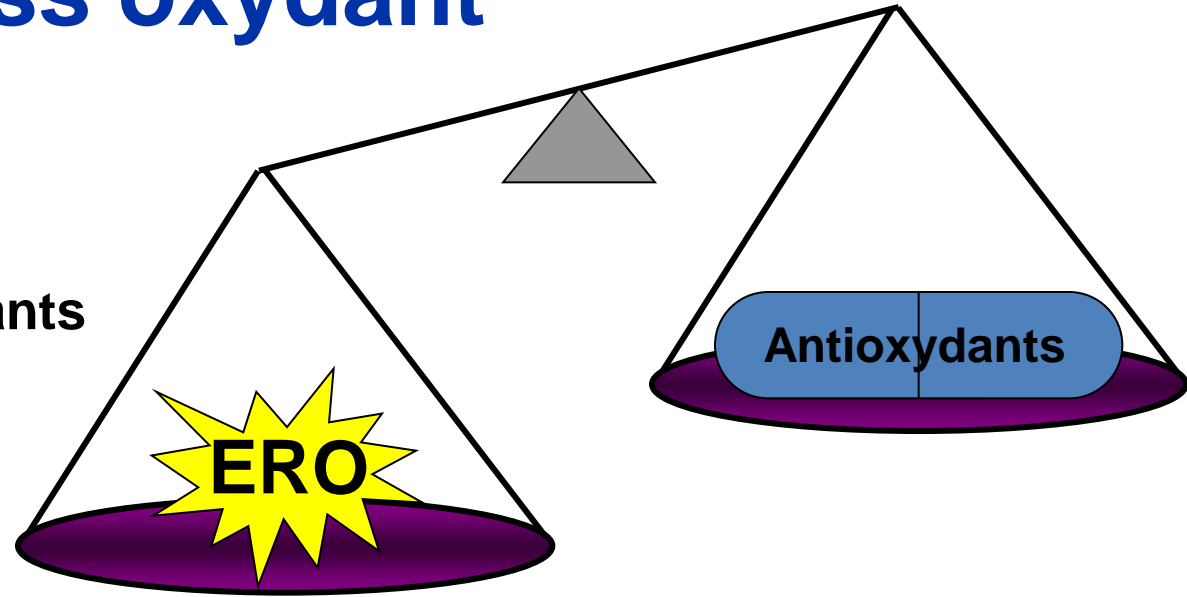
Les mitochondries : principale source de production des ERO

Mitochondries	micrososome	peroxysome	cytosol
45%	20%	30%	5%
<b>Exception pour le foie, où les microsomes sont les principaux producteurs</b>			
Mitochondries	micrososome	peroxysome	cytosol
15%	45%	35%	5%

# Stress oxydant

## Equilibre physiologique :

- RL produits en permanence
- Systèmes de défense : antioxydants



Le **stress oxydant** est observé lorsque la production des ERO dépasse les capacités de défense des tissus :

- déficit en antioxydants
- surproduction de radicaux libres
- les deux

Il entraîne des altérations des composants cellulaires, dues aux réactions chimiques des ERO avec les **lipides**, les **protéines** et les **acides nucléiques cellulaires**

# Origines du stress oxydant

## Origines multiples

- Intoxications aux métaux lourds (mercure, plomb, cadmium)
- Irradiations (UV, rayons X...)
- Phénomènes d'ischémies/reperfusions (thromboses, exercice)
- Carences nutritionnelles (vitamines, oligoéléments)
- Anomalies génétiques (mauvais codage pour une protéine)

## Localisation

- Pas au niveau de l'organisme entier
- Niveau tissulaire
- Type cellulaire précis

# **LA DOUBLE VIE DES RADICAUX LIBRES**

# UN PARADOXE

## Faible concentration

ERO (de O<sub>2</sub> et/ou N<sub>2</sub>) → médiateurs cellulaires avec des fonctions diversifiées :

- inflammation; phagocytose et réaction immunitaire

- voies de transduction du signal de plusieurs Ho et FC (PDGF, Insuline...)

1/2 vie courte, diffusion rapide, réactivité avec protéines et lipides → parfaits médiateurs

## Forte concentration

- Équilibre redox perturbé → ERO s'accumulent et exercent une toxicité dépendante de la dose, de la nature et de la cellule
- Cibles des ERO → ADN ; ARN ; protéines ; lipides et/ou glucides
- Problème essentiel de la notion de seuil :

**Où commence la toxicité où finit la physiologie?**

# UN PARADOXE

## FAIBLE concentration

Effets à des concentrations inférieure ou égale à 10 nM

→ Production physiologique suite activation de eNOS (*NOS I*) et nNOS (*NOS III*)

Cibles:

- Facteurs de transcription (exemple HIF-1)

- Enzymes:

Hème oxygénase ↓ → synthèse de l'hème ↓

Cofacteur des NOS ↓ → synthèse de NOS ↓

Cytochrome C oxydase ↓ → synthèse d'ATP ↓

Catalase → ↓ OH<sup>•</sup> (macrophages) ↑

# UN PARADOXE

## FORTE concentration

- Effets à des concentrations  $> 1 \mu\text{M}$

### Conséquences de l'activation d'iNOS

Inflammation, infections, ischémie, hypoxie, diabète, ...

- Production de radicaux libres résultant de l'oxydation du NO

**NO<sup>+</sup>** (nitrosonium)

**ONOO** (peroxynitrite)

- Modifications covalentes

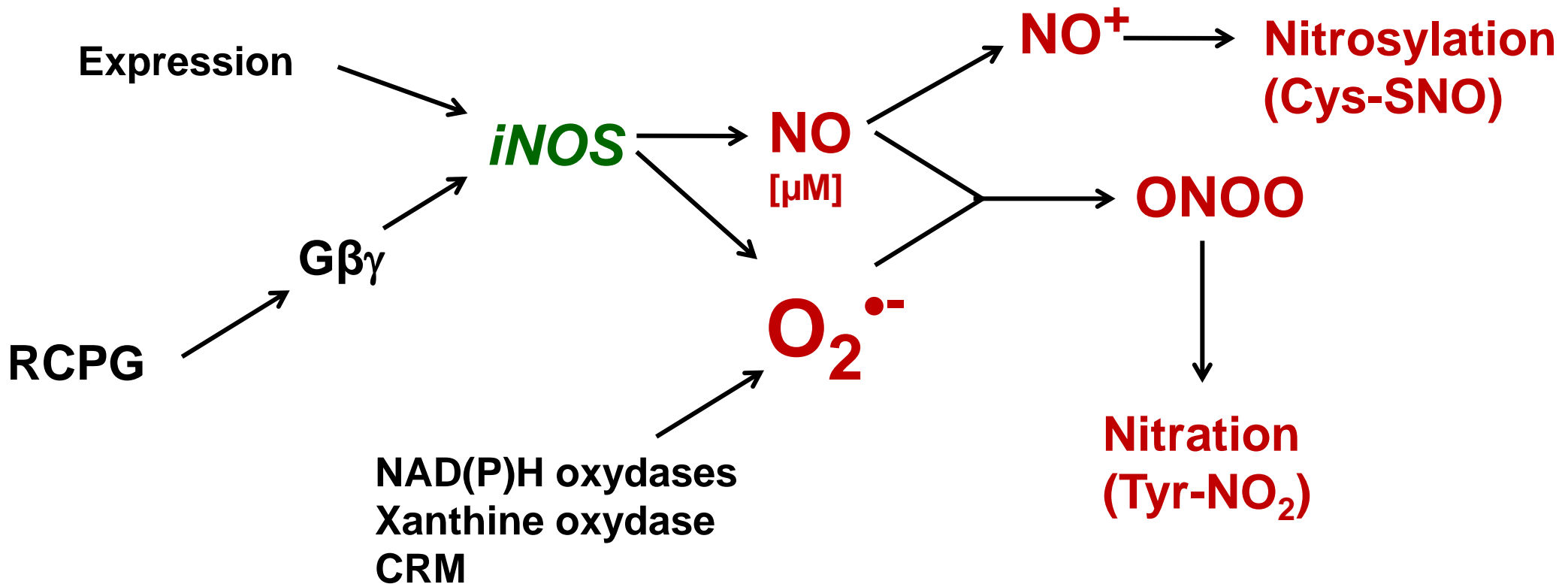
de l'ADN

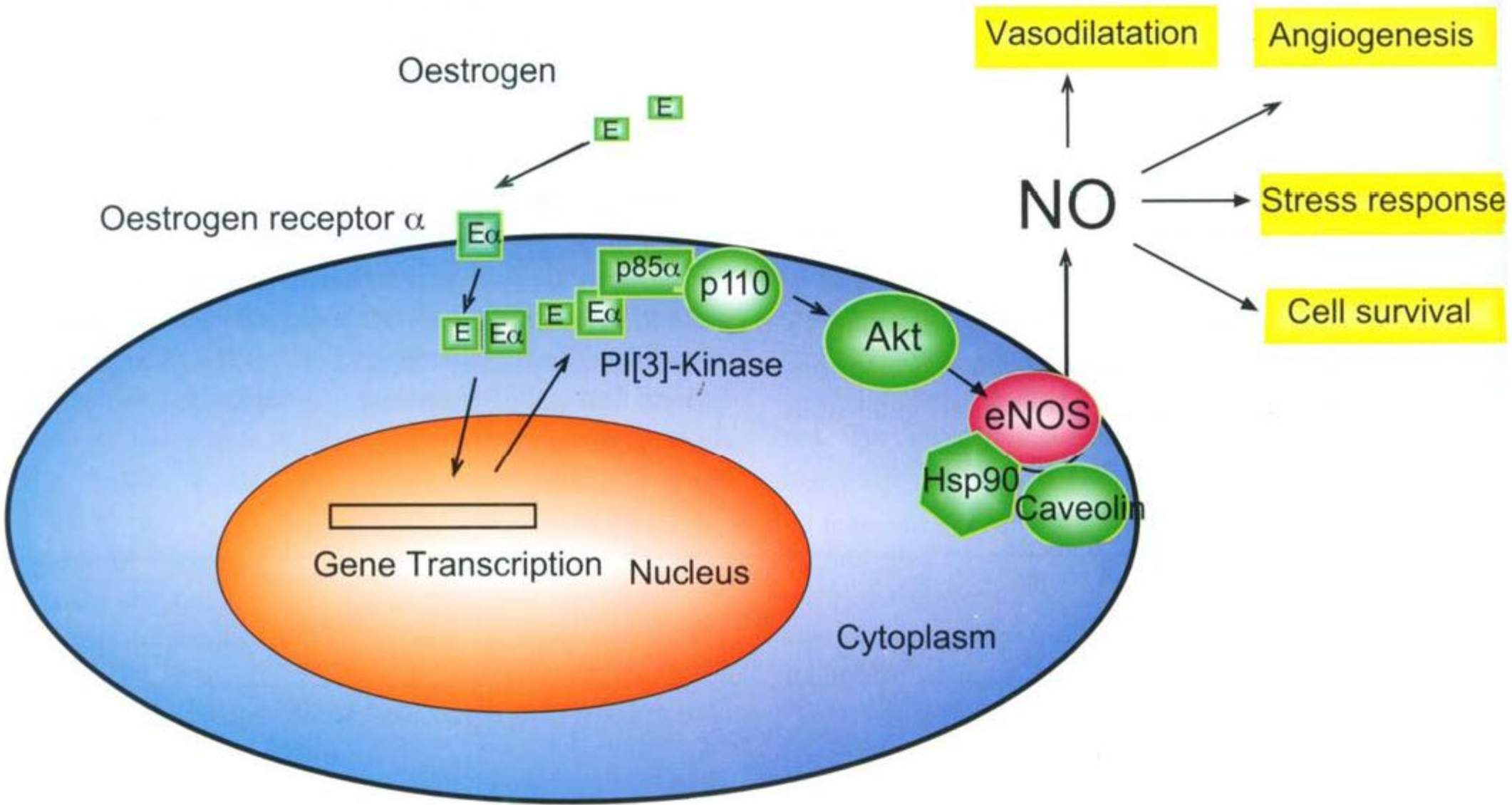
des protéines (**nitrosylation et nitration**)

- Peroxydation

Lipides

# Régulation et activité des NO synthases





**Fig 2.** Schematic presentation of pathway mediating indirect activation of eNOS by oestrogen.

# Conséquences du Stress oxydant

# Conséquences du Stress Oxydant

## Les ERO

- Sont dotées de propriétés oxydantes
- Interagissent avec différents substrats biologiques

Lipides

Protéines

Glucides

ADN

- Sont impliqués dans de nombreuses pathologies

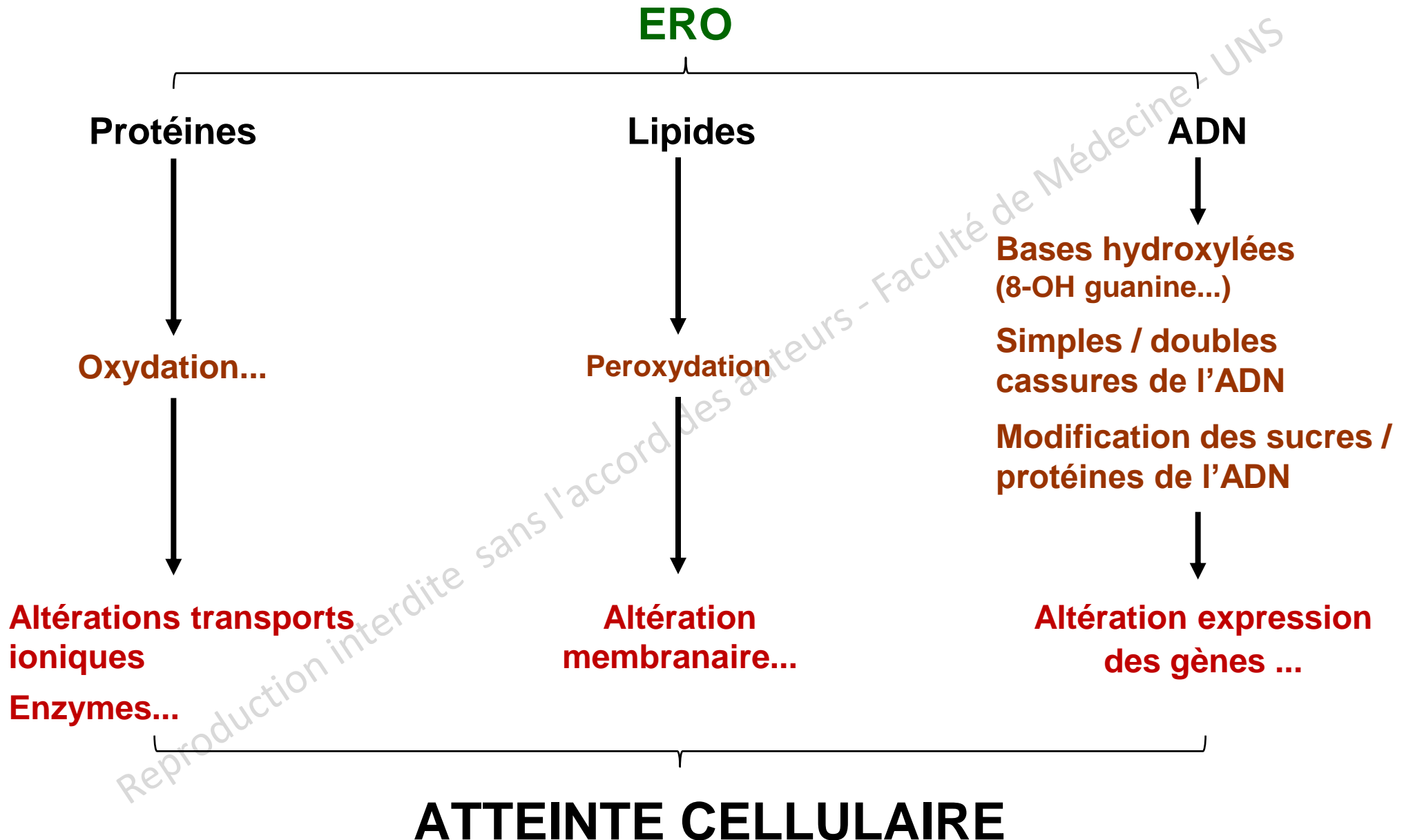
## Maladies liées au stress oxydant

Principalement liées à l'âge et au vieillissement

→ Diminution antioxydants

→ Augmentation de la production de radicaux libres

# Conséquences du Stress Oxydant



# Conséquences du Stress Oxydant

**ERO**

**Réponse cellulaire**

**Activation de facteurs de transcription**

**Induction de gènes de réponse au stress oxydant**

**Prolifération  
cellulaire  
abérrante**

**Adaptation  
au Stress oxydant**

**Apoptose  
Nécrose**

**Anti oxydants**  
**Enzymes de réparation de l'ADN**  
**Enzymes de réparation lipides**  
**Protéases, cytokines,**  
**protéines de choc thermique**

# Conséquences du Stress Oxydant

## Pathologies liées au stress oxydant

Principalement liées à l'âge et au vieillissement

- Diminution des antioxydants
- Augmentation de la production de radicaux libres

### Cause initiale

cancer, cataracte,  
sclérose latérale amyotrophique,  
syndrome de détresse  
respiratoire aigu  
œdème pulmonaire...

### Aggravation d'un processus initial

→ **Potentialisation**  
maladies cardiovasculaires  
diabète  
Alzheimer  
rhumatismes...

**SIDA** : Cause initiale : Infection virale

- induction d'un stress oxydant (répression gènes SOD Gpx)
- facilite mort lymphocytes T par apoptose

# Conséquences du Stress Oxydant

## Les protéines

Dénaturation (introduction d'un groupement carbonyle C=O)

Fragmentation

Perte de la fonction catalytique (enzymes, transporteurs)  
ou structurale (intégrité cellulaire)

## Les sucres

En présence de traces métalliques :

Oxydation du glucose avec libération de d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et d'OH•

## L'ADN

Coupures et mort cellulaire

Mutations carcinogènes

# Conséquences du Stress Oxydant

## Les lipides

### Peroxydation lipidique

Mécanisme en chaîne de dégradation des AG membranaires →

Formation d'**hydroperoxydes** (ROOH) instables, responsables de la diminution de la fluidité membranaire

(AG polyinsaturés des lipoprotéines ou de la membrane cellulaire)

### Conséquences :

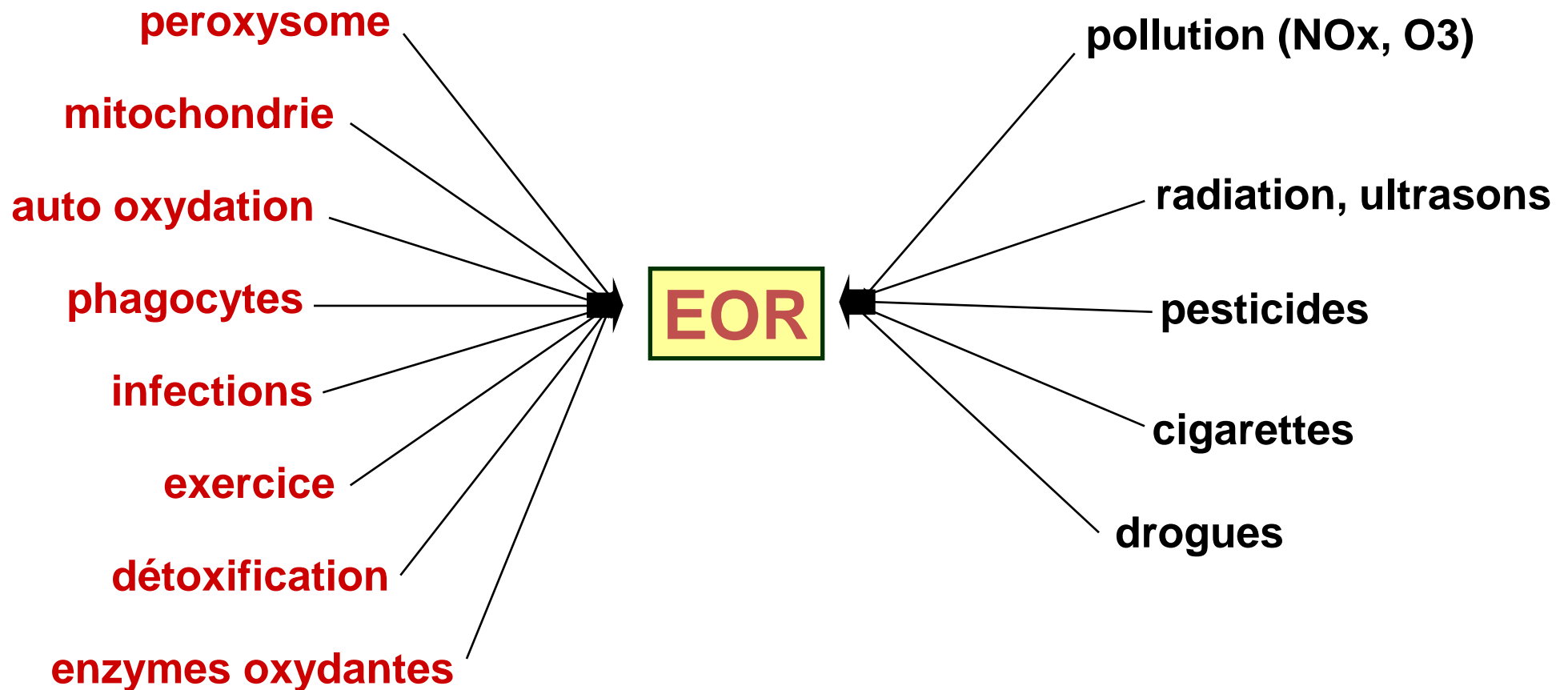
- ✓ Altération du fonctionnement des membranes
- ✓ Dépôts de lipides oxydés dans les vaisseaux ou les tissus âgés
- ✓ Genèse de dérivés carcinogènes

# Origine des ERO

## Sources

*endogènes*

*exogènes*



# Fonctions des ROS

Les RL de l'oxygène ou de l'azote → pas uniquement toxiques

RL produits par ≠ mécanismes physiologiques interviennent :

Régulation des fonctions cellulaires

## Immunité

Phagocytose (« burst oxydatif »)

activation de gènes impliqués dans la réponse immunitaire

## Fonctionnement de certaines enzymes et neurones

## Transduction de signaux cellulaires

messagers cellulaires induisant une réponse au stress : T°, UV

# **Systemes de Défense**

# Systemes de Défense

## Objectif :

Neutralisation d'un oxydant

2 systemes de defense



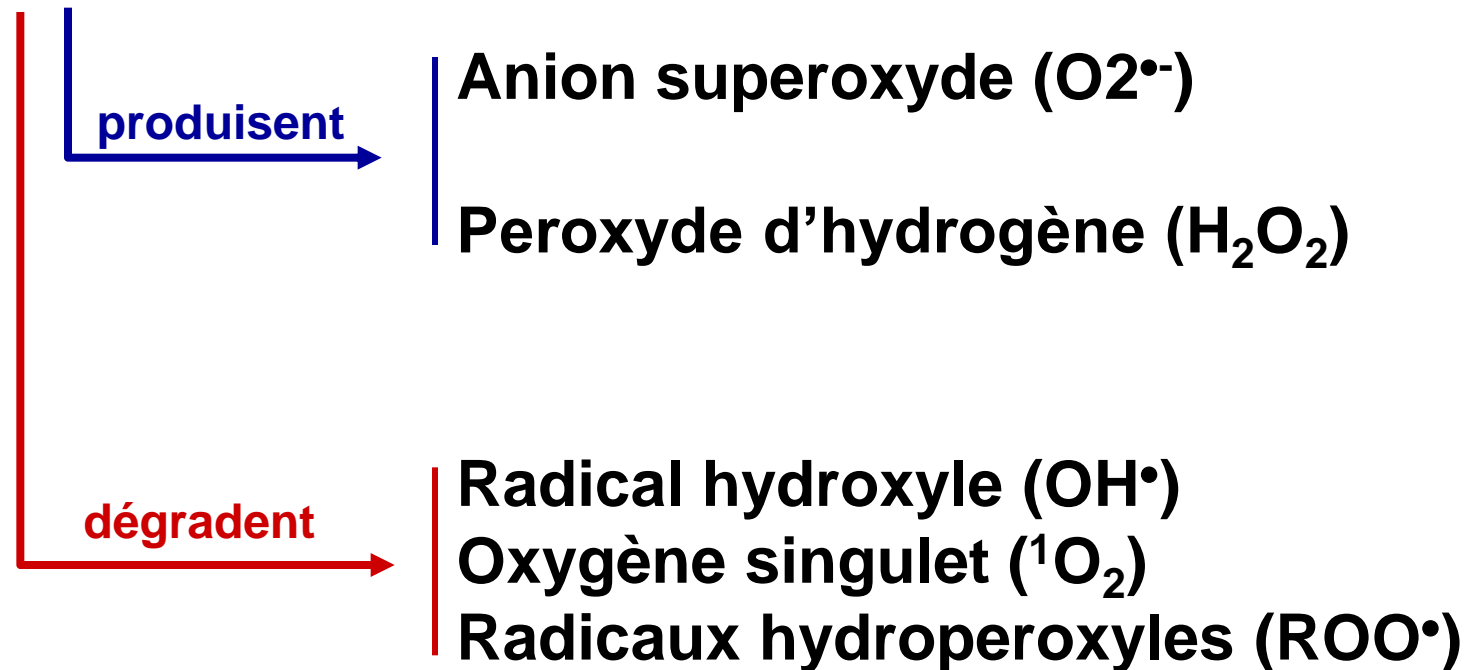
# Systemes de Défense

## Systemes enzymatiques

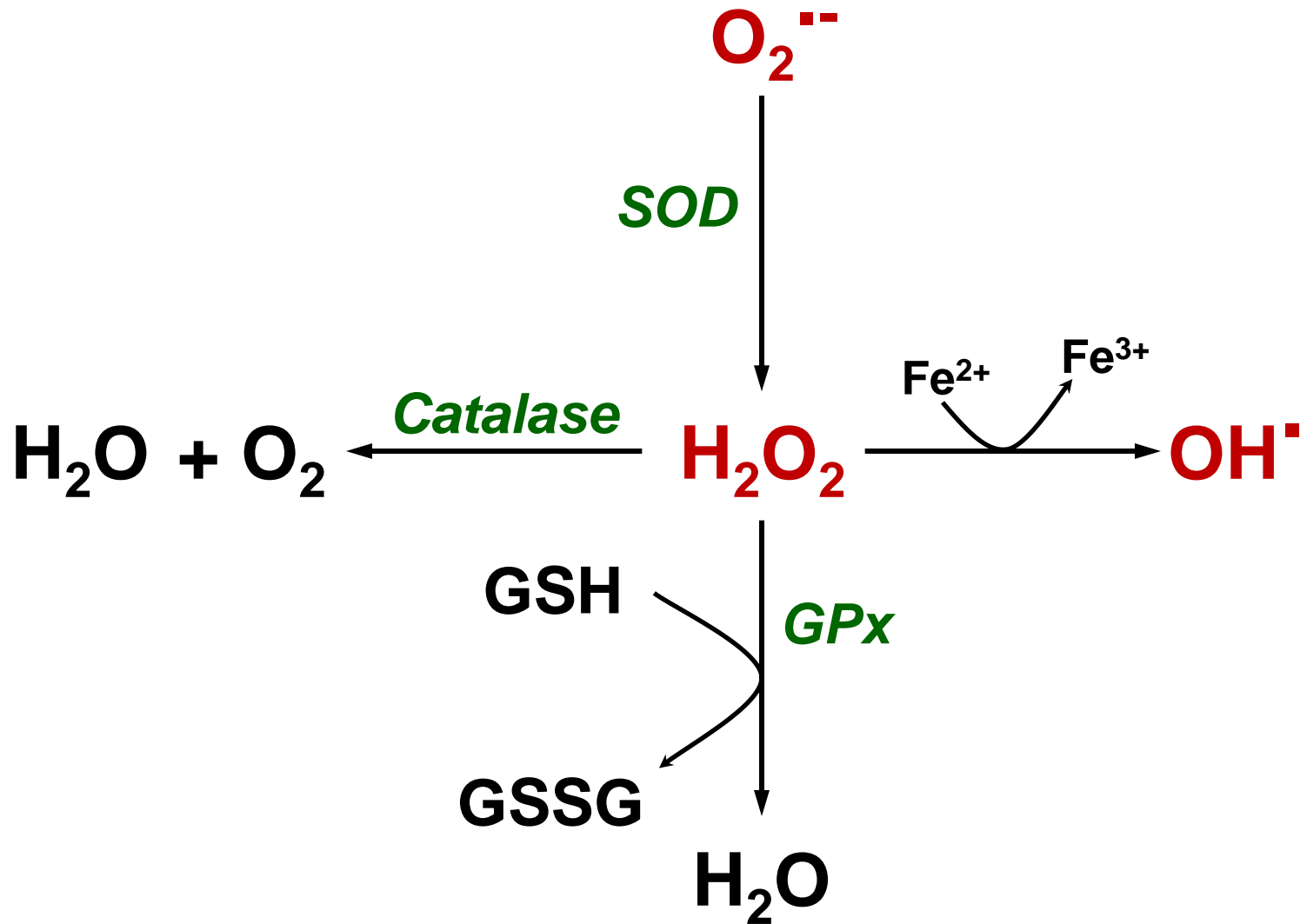
*Superoxyde dismutases (SOD)*

*Catalase*

*GSH peroxydases (Gpx)*



# Première ligne de défense

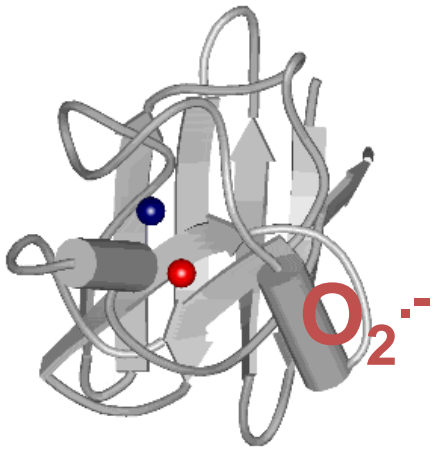


# Superoxyde dismutase

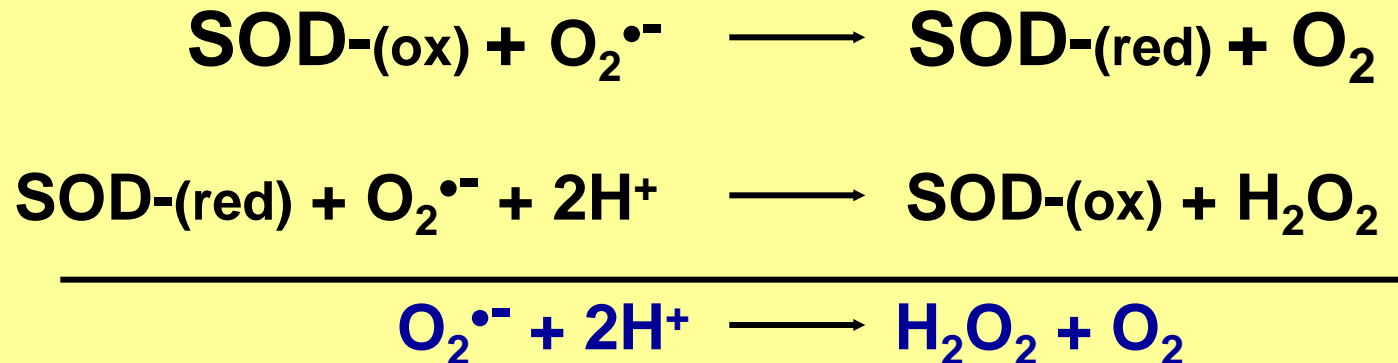


Enzyme qui permet l'élimination du radical  $\text{O}_2^{\bullet-}$  en le métabolisant en  $\text{H}_2\text{O}_2$  par une réaction de dismutation.

Cofacteurs : Cu ; Zn et Mn



Différentes formes	SOD	Localisation
Cu/Zn-SOD	SOD1	cytosolique
Mn-SOD	SOD2	Mitochondriale (MIM)
Cu-SOD	SOD3	Matrice extracellulaire



# Catalase



Enzyme tétramérique hémique.

Chaque unité porte {  
un hème  
un NADPH

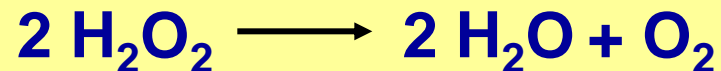
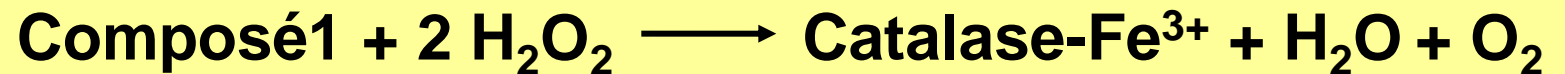
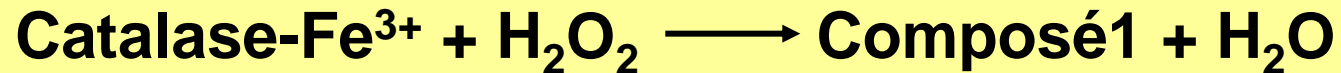
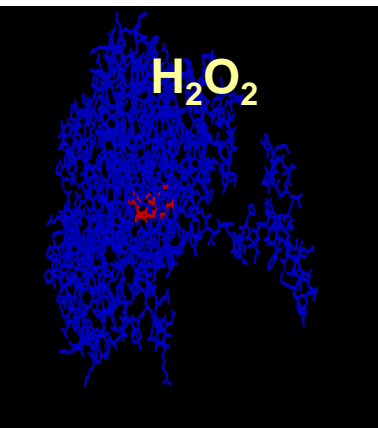
Présentes dans un grand nombre de tissus; particulièrement abondantes dans le foie et dans les GR

Elles sont localisées dans les peroxysomes

Elles éliminent le peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ )

La réaction se fait en deux étapes:

Substrat :  $\text{H}_2\text{O}_2$

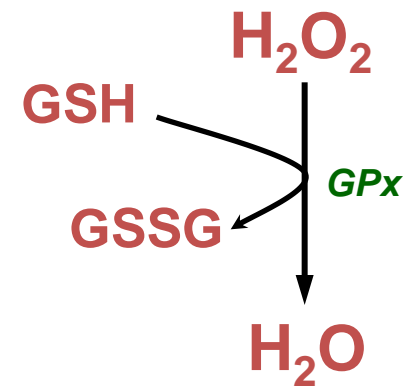


# Glutathion peroxydases

Cofacteur : sélénium

Enzymes capables de détoxifier  $\text{H}_2\text{O}_2$  et autres peroxydes d'origine lipidique

Réaction couplée avec l'oxydation d'un substrat réducteur (GSH)



Quatre types différents (1 à 3 → tétramérique)

**GPx1** : ubiquitaire, fortement exprimée → GR, reins foie -  
localisation cytosolique

**GPx2** : localisation cytosolique → cellules du tractus gastro-intestinal

**GPx3** : localisation plasmatique

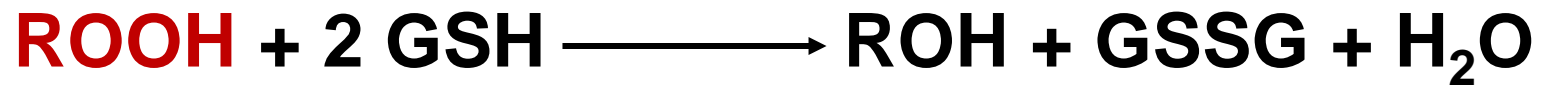
**GPx4** : monomérique. localisation interface MIN – cytoplasme.

Elle peut réduire directement les hydroxydes des PL et du Cht  
au niveau des Mb (**GSH 2<sup>ème</sup> substrat**)

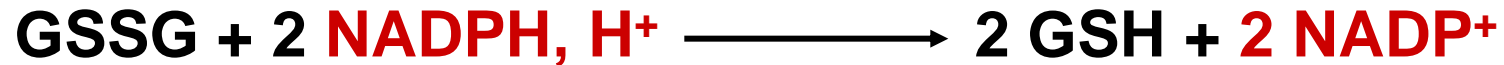
# Glutathion peroxydases

Substrats:  $\text{H}_2\text{O}_2$  et hydroperoxydes organiques de type ROOH

*Action de la Glutathion peroxydase*



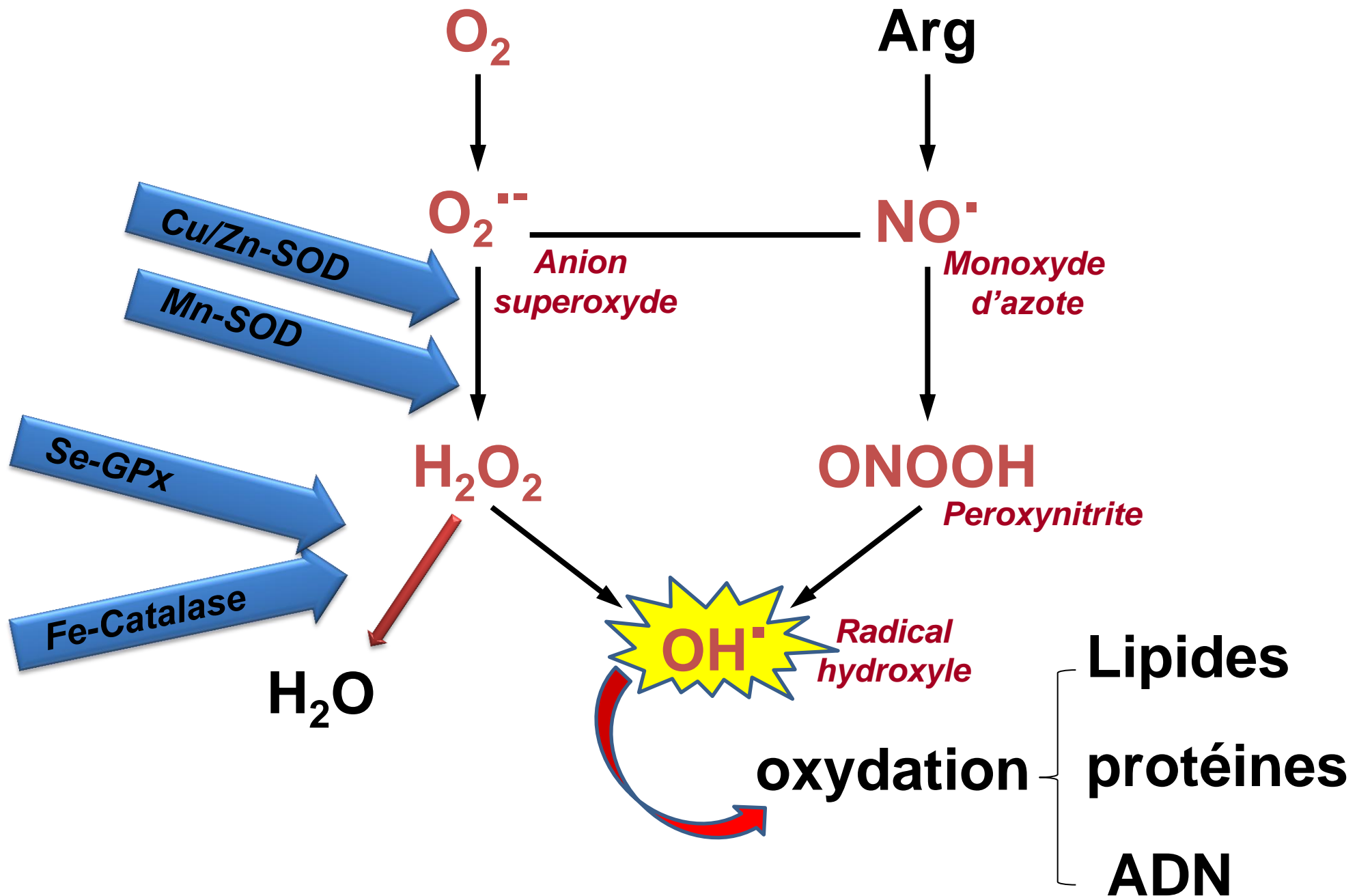
*Glutathion réductase*



**GPx** ne sont pas spécifiques de  $\text{H}_2\text{O}_2$  → peuvent agir sur hydroperoxydes des esters de Cholestérol ou des PL des Mb cellulaires

**GPx** sont spécifiques de GSH → toutes sont inhibées par les cyanures

GSH:  $\gamma$ -glutamyl-cystéinnyl-glycine (réduit) - GSSG: 2GSH reliées par un pont S-S (oxydé)



# Systemes de Défense

**Systemes non enzymatiques : pi geurs de radicaux libres**

## **Antioxydants liposolubles:**

- $\alpha$ -tocopherol
- carotène

## **Antioxydants hydrosolubles:**

- ascorbate

## **Oligoéléments:**

Sélénium (Gpx)

Cuivre (SOD)

Zinc (SOD)

Alimentation → apport de molécules anti oxydantes non synthétisées par l'organisme



# **Stress oxydant et résistance à l'insuline**

# Fonctions des RL

**Les RL de l'oxygène ou de l'azote → pas uniquement toxiques**

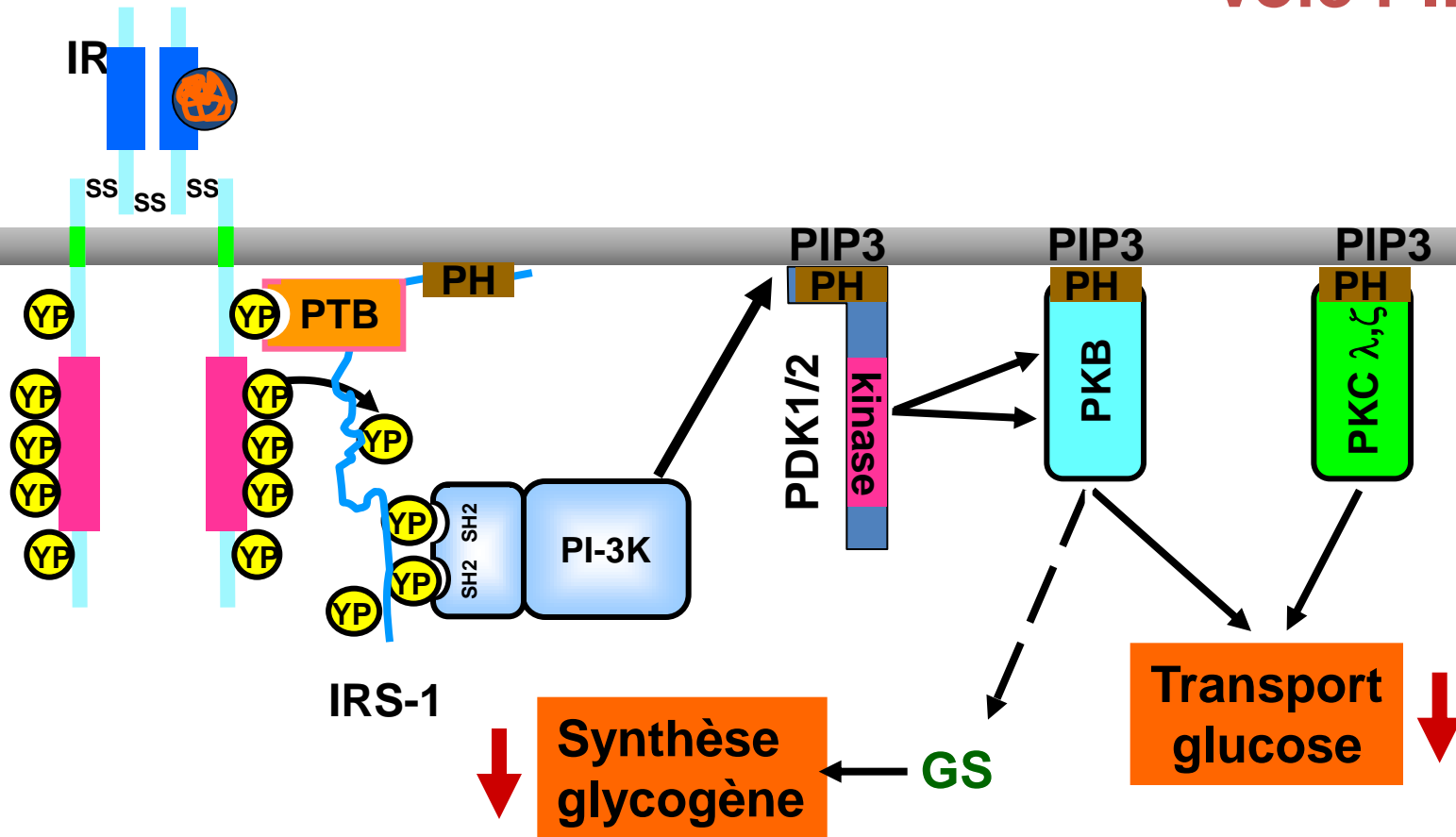
**RL produits par ≠ mécanismes physiologiques interviennent :**

**Régulation des fonctions cellulaires**

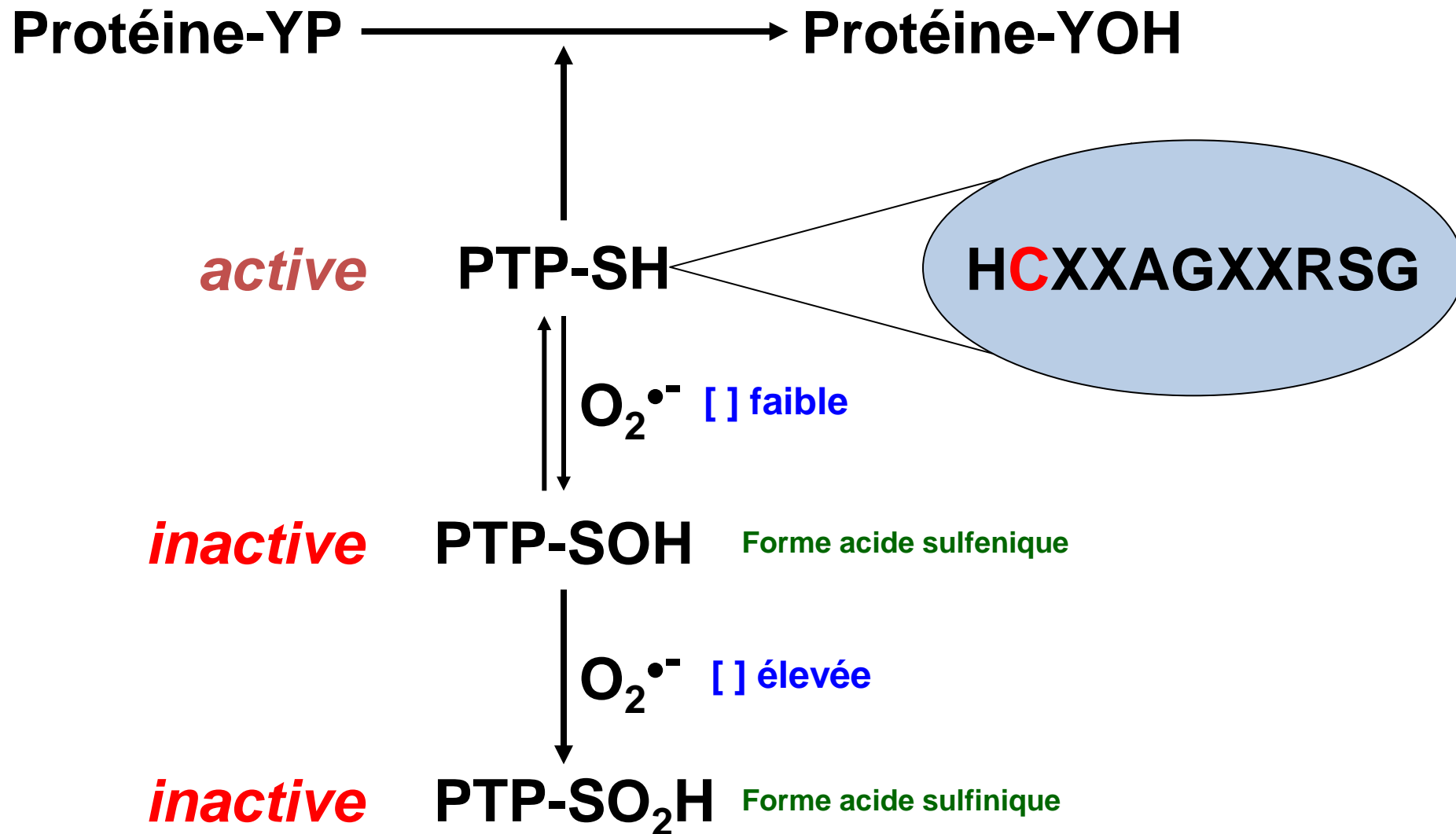
- **Apoptose**
- **Prolifération cellulaire**
- **Cycle et différenciation cellulaire**
- **Dilatation capillaire (NO)**
- **Fécondation de l'ovule**
- **Régulation des gènes en particulier induction de gènes antioxydant :  
Mn-SOD, Catalase, Ferritine...**

# ERO et action l'insuline

## Voie PIP3

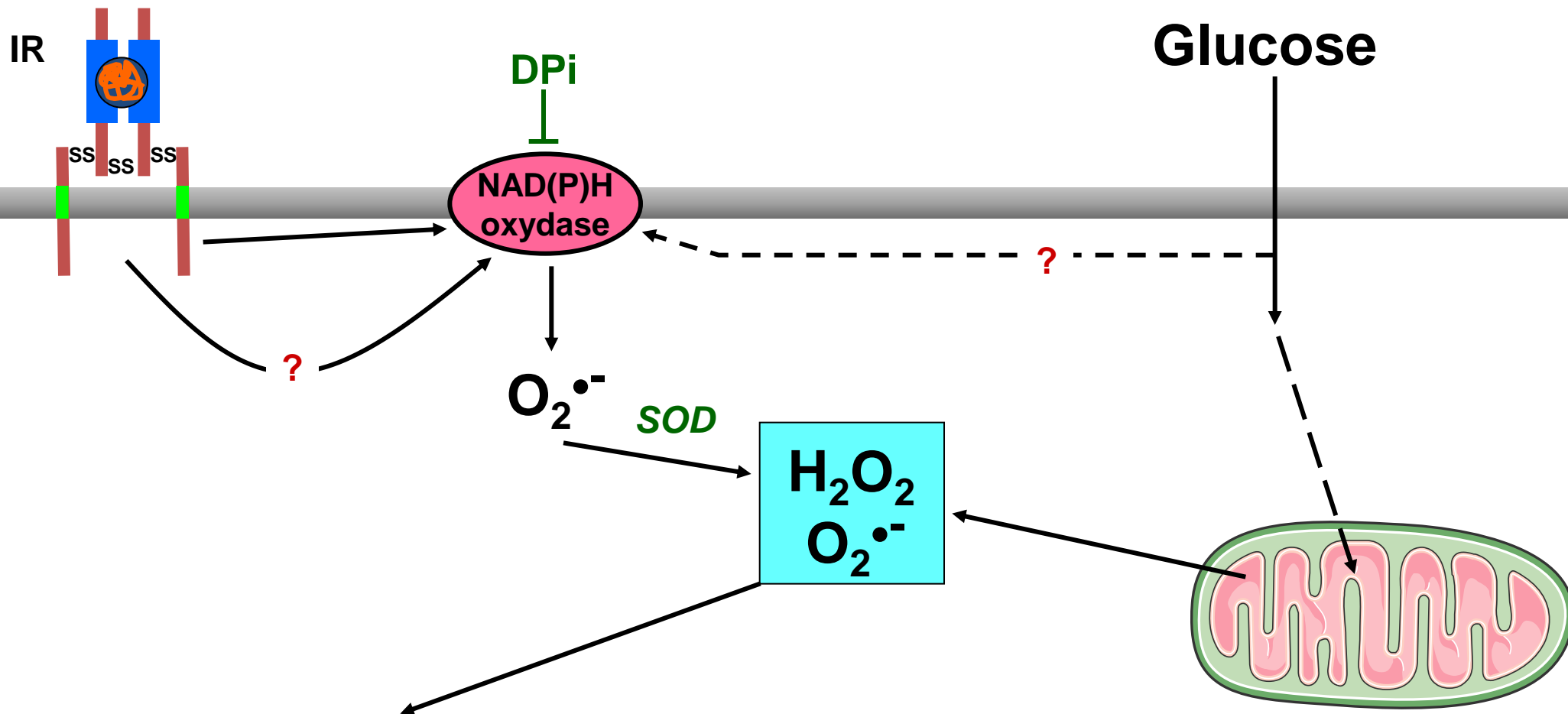


# ERO et action l'insuline



*PTP: phospho tyrosine phosphatase*

# ERO et action l'insuline



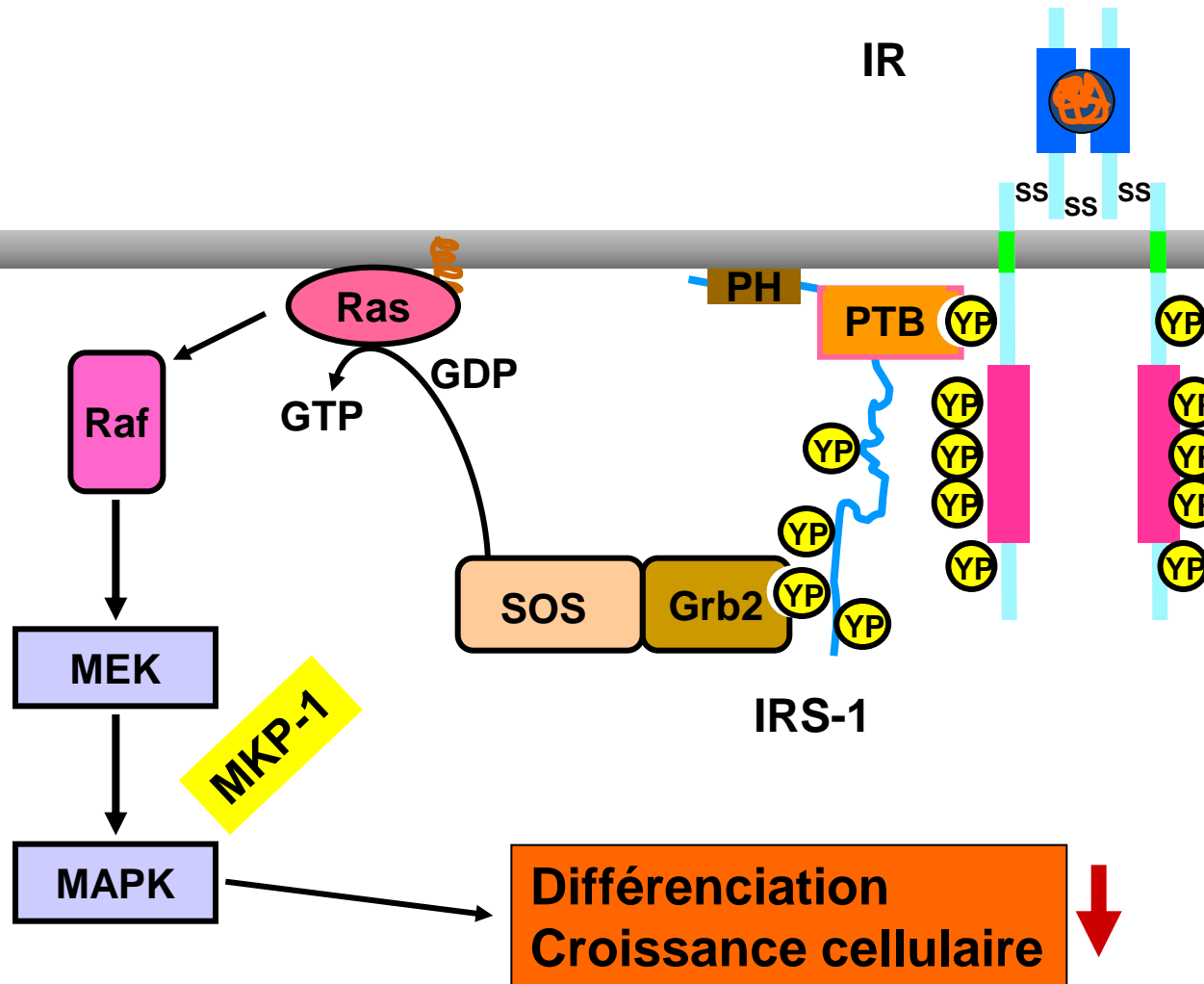
Inhibition des PTPases  
ou autre(s) intervenant(s) thiol

↑ de YP de IR et IRS  
(48% et 43%)

AUGMENTATION DE LA REPONSE BIOLOGIQUE

# ERO et action l'insuline

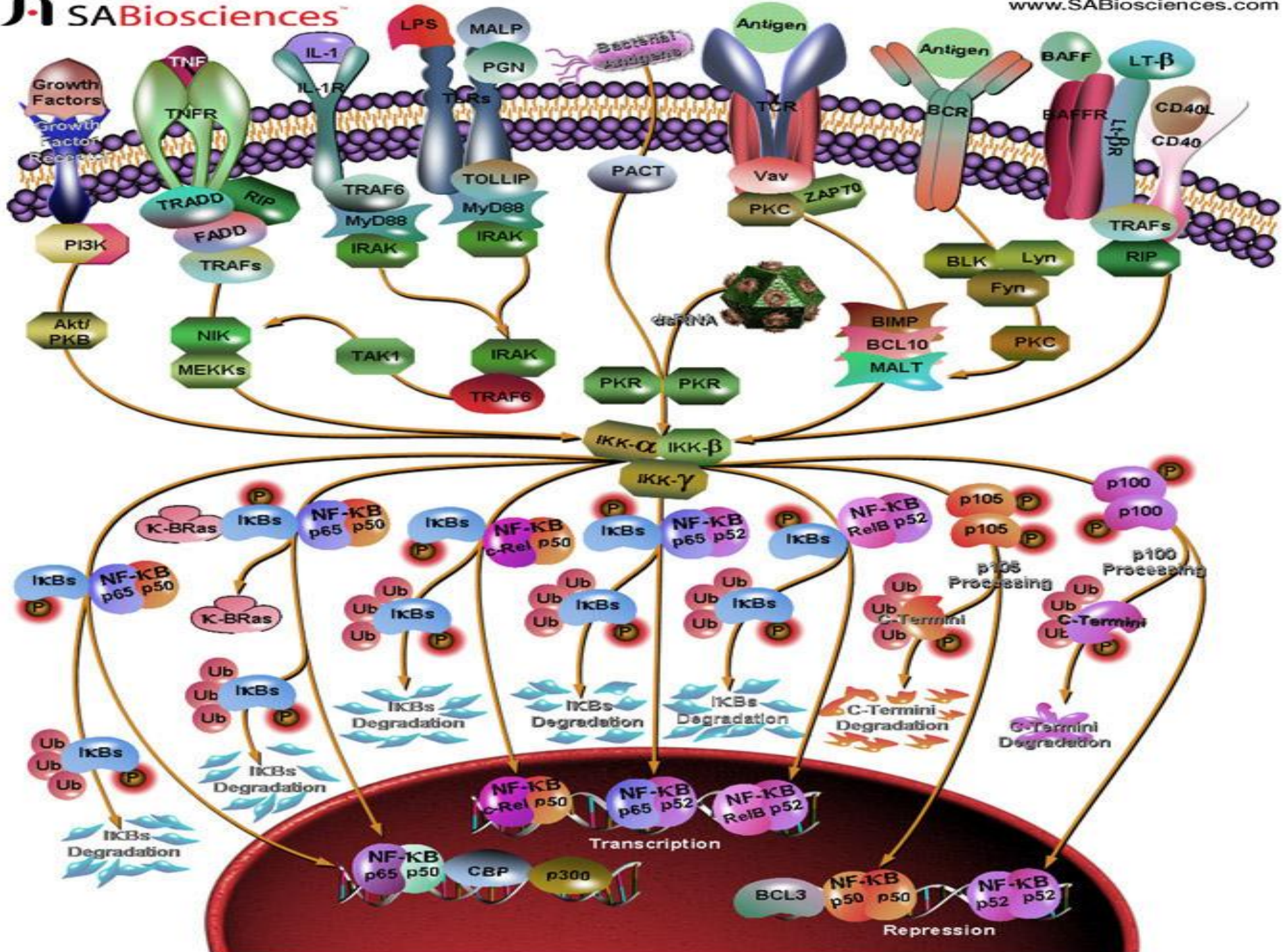
## Voie MAPK



## stress oxydant / Diabète

**Voie métabolique obligatoire impliquée très précocement dans l'évolution du diabète et responsable de l'ensemble des complications par interaction avec les autres voies.**

hypothèse unifiante de *Brownlee (Nature 2001)*



t

K

J

# ERO médiateurs cellulaires

ERO sont des médiateurs cellulaires qui activent de nombreuses voies sensibles au stress oxydant → dommages cellulaires

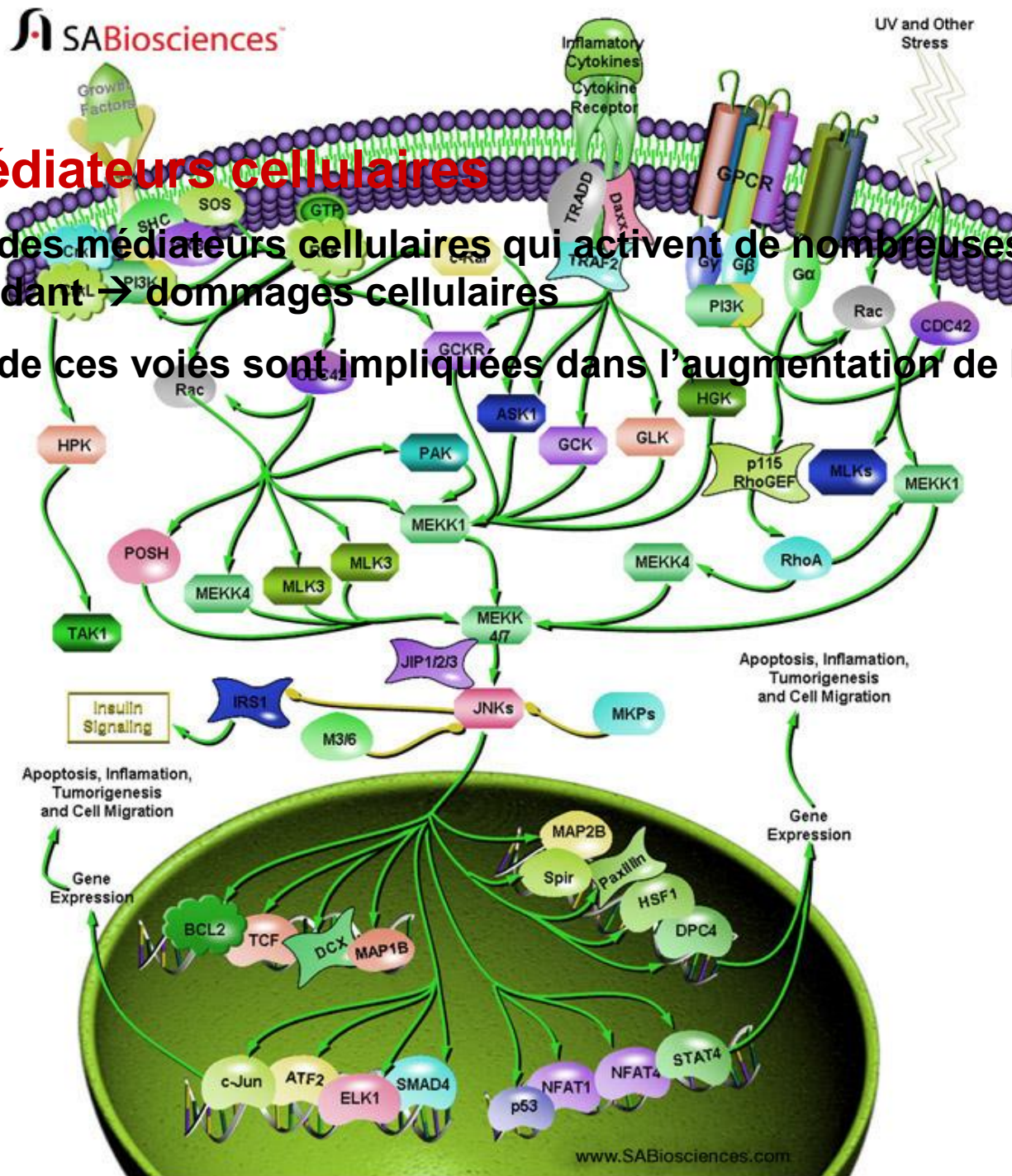
Certaines de ces voies sont impliquées dans l'augmentation de la RI

Voie de J

Jnk / P38

Jnk acti  
proinflam

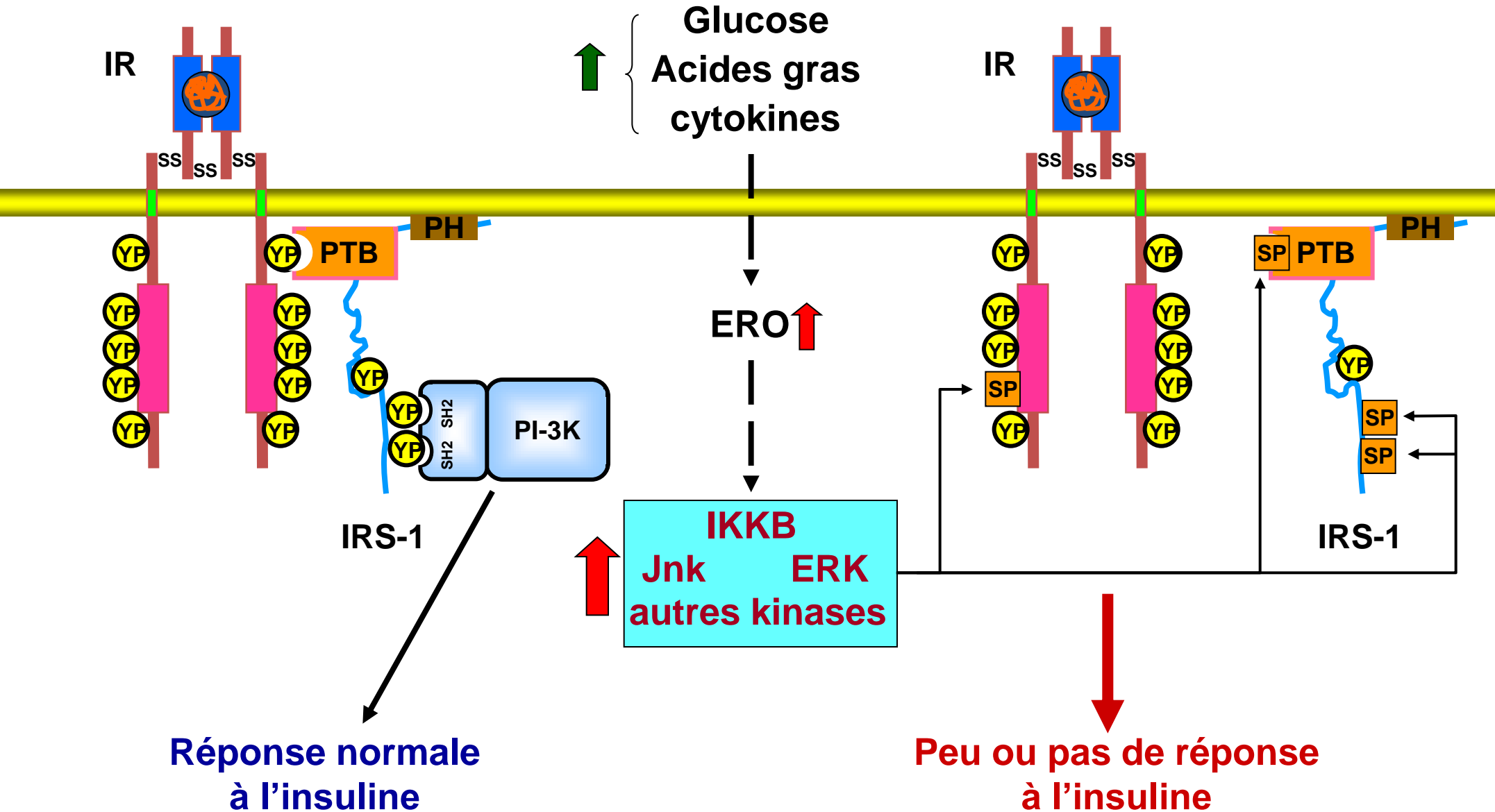
Jnk activ



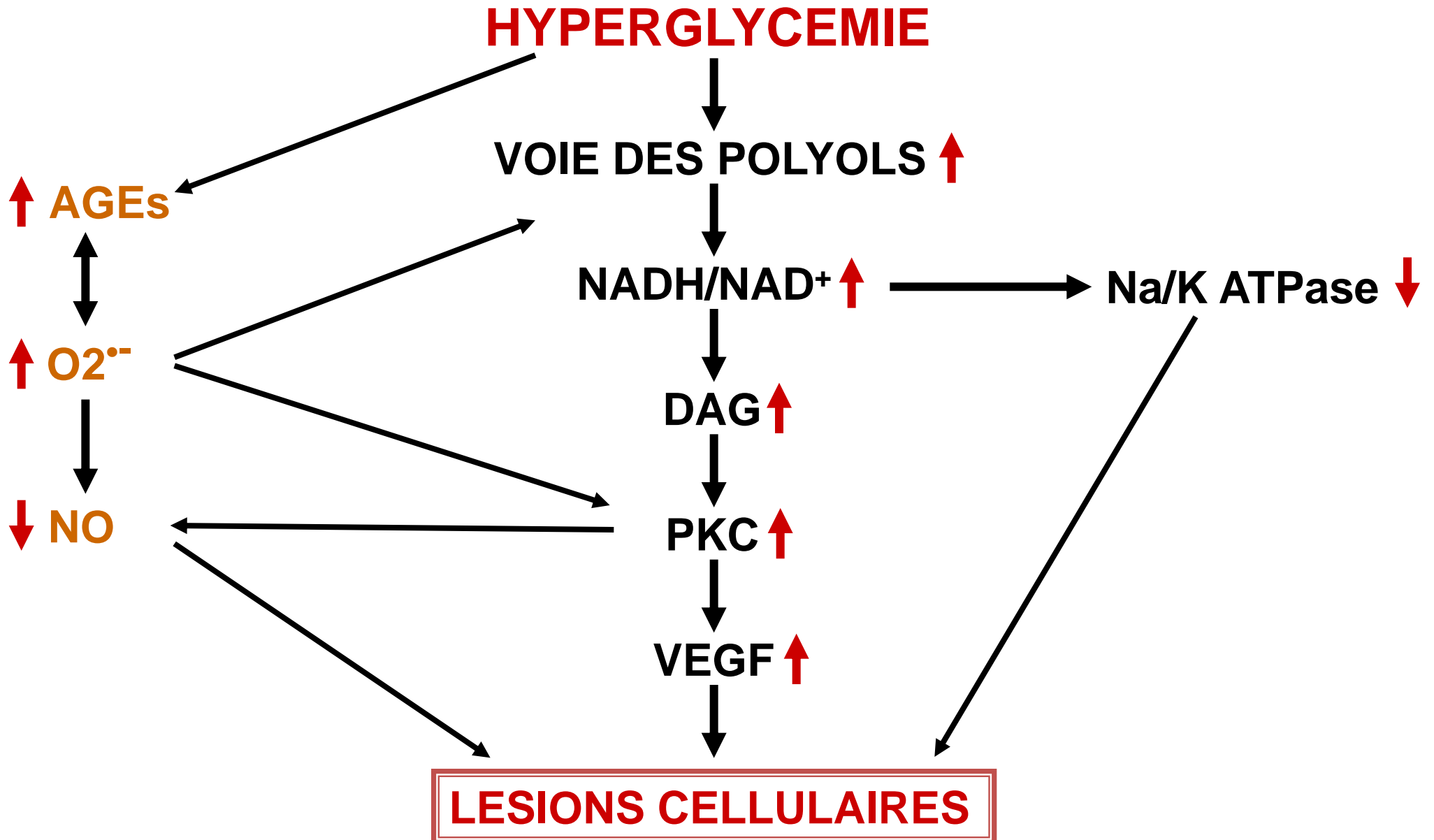
otique, cytokines



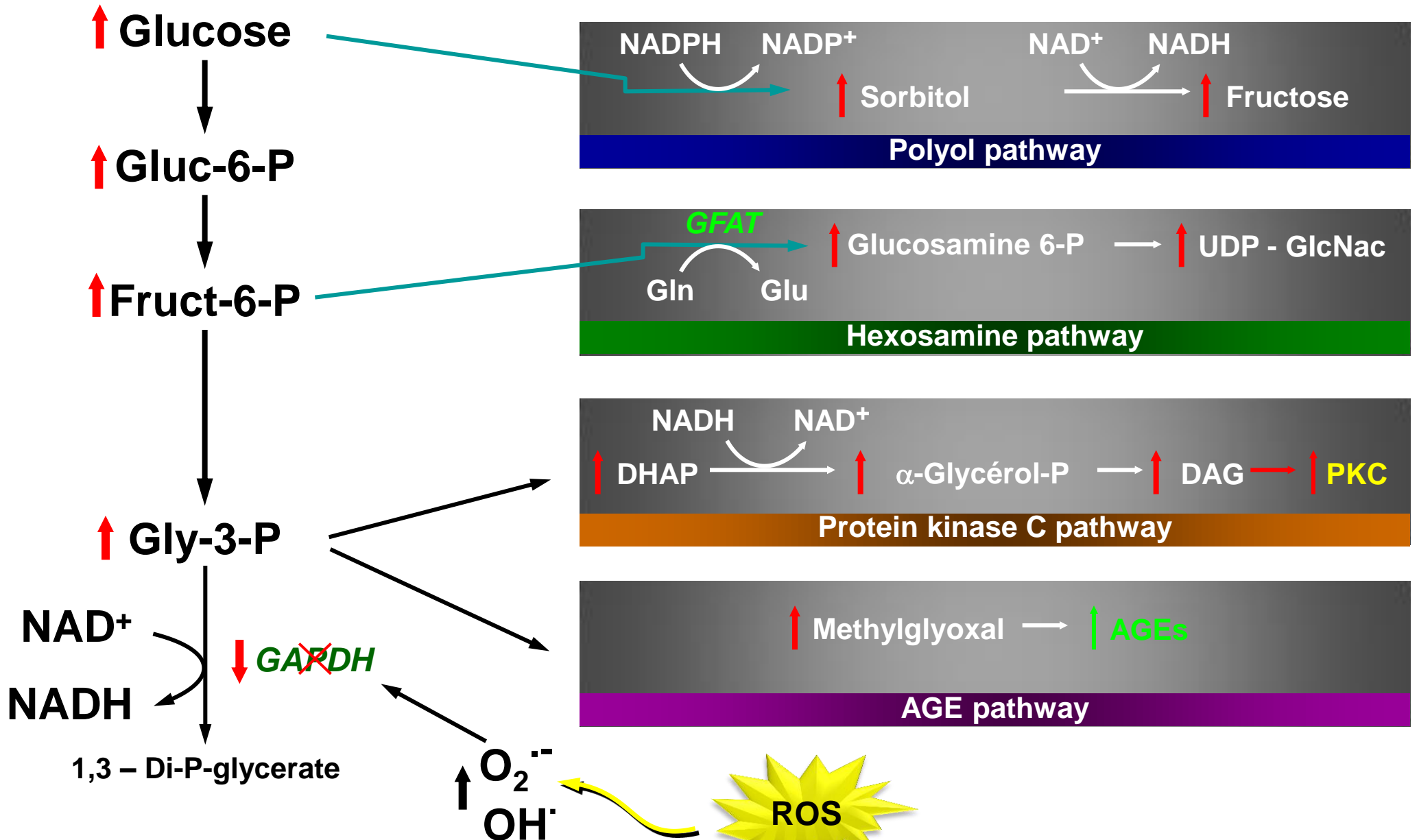
# ERO et résistance à l'insuline



# CASCADE D'ÉVÉNEMENTS MÉTABOLIQUES



# THEORIE DES MECANISMES UNIFIES



*GAPDH: Glyceraldehyde 3-P dehydrogenase*

Adaptée de M. Brownlee, (Nature 2005)

# Hypothèse de la mitochondrie

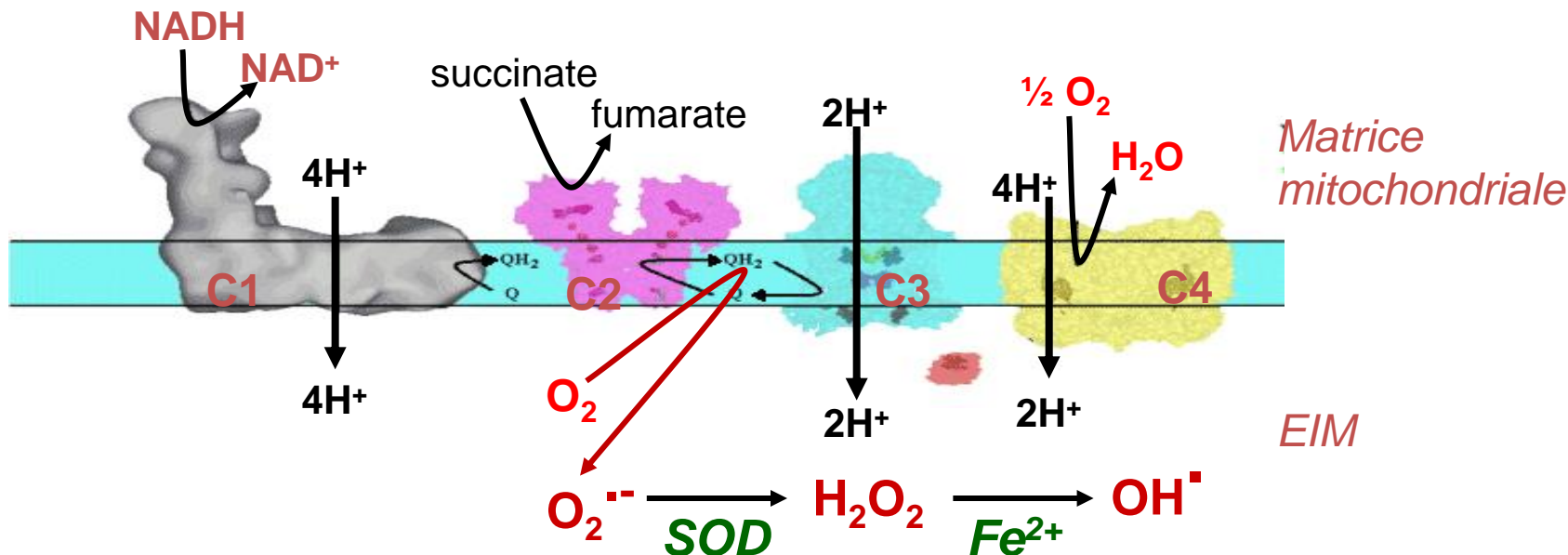
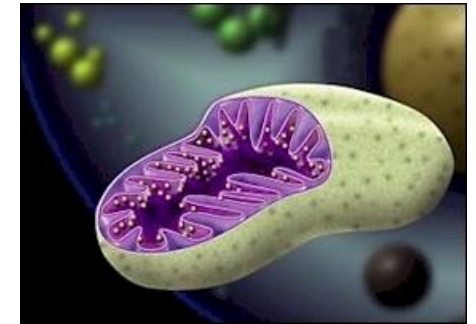
La source des ERO semble être la mitochondrie, sous l'effet de l'hyperglycémie :

Si on induit la Mn SOD (mitochondrie) :

*La voie des polyol n'est pas activée,*

*Pas de formation des AGEs*

*PKC n'est pas activée*



# Approches thérapeutiques

Inhibiteurs de l'aldose réductase (neuropathie diabétique) mais toxicité

Inhibiteurs AGEs : "pyridoxamine" - "AGE breakers" (microangiopathie diabétique)

Inhibiteurs spécifiques de PKC $\beta$  (LY33531) (microangiopathie diabétique)

Vitamines antioxydantes : vit E (inhibiteur de la voie PKC) et vit C → efficaces pour néphropathie / neuropathie → mais résultats cliniques décevants

Inhibiteurs du VEGF → traitement précoce de la rétinopathie

# Approches thérapeutiques

## Chez les diabétiques

Baisse de l'ensemble des systèmes enzymatiques (animal + homme)

Augmentation de **Cu, Zn-SOD glyquée** dans les érythrocytes

⇒ Activité **Cu,Zn-SOD** réduite de 60 %

⇒ Activité **catalase** réduite de 50 %

Résultats hétérogènes pour les systèmes non-enzymatiques

Résultats très hétérogènes suivant les études pour la **Vit E** et **Vit C**

Résultats très homogènes par contre pour le taux de glutathion

# Approches thérapeutiques

## Exemple de la vitamine B1 ou thiamine

Taux sanguin de vitamine B1 diminué chez le diabétique

Implication vit B1 : cofacteur de la *transcétolase*, enzyme qui convertit le **G 3-P** et le **F 6-P** en pentoses **5-P**

**Benfotiamine** (dérivé liposoluble de la thiamine) inhibe l'activation des voies (AGE, PKC et héxosamines) et l'activation de NFkB

Efficacité clinique sur la neuropathie et la néphropathie

Efficacité expérimentale sur la rétinopathie

Innocuité à doses pharmacologiques restant à démontrer

# CONCLUSIONS

- La connaissance des **mécanismes moléculaires liés à l'hyperglycémie chronique impliqués dans les complications dégénératives** ouvre de nouvelles perspectives thérapeutiques
- Les **voies d'endommagement glycémique** alimentent la production radicalaire mitochondriale, responsable du **stress oxydant**



**La recherche s'oriente vers des thérapeutiques ayant une action synergique sur toutes les voies ou luttant contre le stress oxydant**

# Mentions légales

**L'ensemble de ce document relève des législations française et internationale sur le droit d'auteur et la intellectuelle.**

**Tous les droits de reproduction de tout ou partie sont réservés pour les textes ainsi que pour l'ensemble des documents iconographiques, photographiques, vidéos et sonores.**

**Ce document est interdit la vente ou la location par un tiers autre que l'Université de Nice-Sophia Antipolis.**

**La diffusion, la duplication, la mise disposition du public (sous quelque forme ou support que ce soit), la mise en réseau, de tout ou partie de ce document, sont strictement réservées à l'Université de Nice-Sophia Antipolis.**

**L'utilisation de ce document est strictement réservée l'usage des étudiants inscrits aux cours et au tutorat organisés par l'UFR de Médecine de l'Université de Nice-Sophia Antipolis, et non destinée toute autre utilisation privée ou collective, gratuite ou payante.**