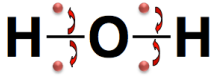


Le stress oxydant

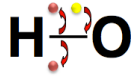
I. Les radicaux libres

A. Définition

- Un radical libre est une espèce chimique qui possède un électron non apparié sur sa couche périphérique (la plus externe). L'électron non apparié est **l'élément réactif de la molécule**.
 - Ils ont des durées de vies extrêmement courtes (mili ou micro seconde).



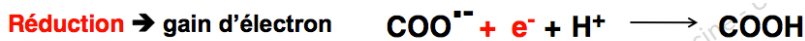
électrons de la liaison H₂O



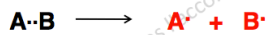
électrons célibataire du radical hydroxyle

B. Réactivité

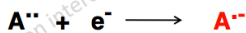
- Ils pourront se comporter grâce à la **présence de l'électron libre**.
 - comme un oxydant (en prenant un électron d'une autre molécule)
 - comme un réducteur (en donnant l'électron à une autre molécule)
- Les ERO (espèces réactives de l'oxygène) et plus particulièrement les radicaux libres sont donc des molécules hautement réactives (ils peuvent être oxydants ou réducteurs).



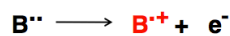
Scission homolytique d'une liaison covalente → Radicaux neutres + e⁻



Réduction monoélectronique → Radical négatif



Oxydation monoélectronique → Radical positif



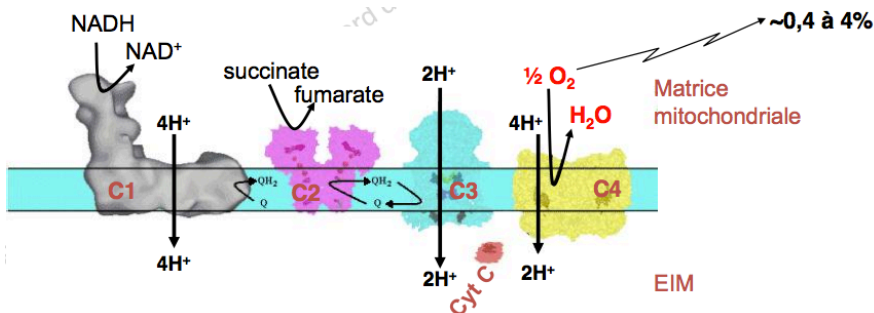
D. Stress oxydant

Ce sont ces radicaux libres, et surtout ceux produits par l'O₂ moléculaires, qui **gènèrent le stress oxydant**. Leur particularité est leur réactivité très forte grâce à l'électron célibataire. N'importe quelle cellule peut les produire in vivo, on peut les produire in vitro. Ils sont indispensables à la survie ou au déroulement de certaines fonctions importantes (mobilité, phagocytose, souplesse des muscles lisses des vaisseaux).

Ils seront utilisés comme **messagers secondaires** ou comme agent **sur-activant** telle ou telle voie de signalisation.

Ce sont des molécules physiologiques, seule leur dysrégulation deviendra pathologique.

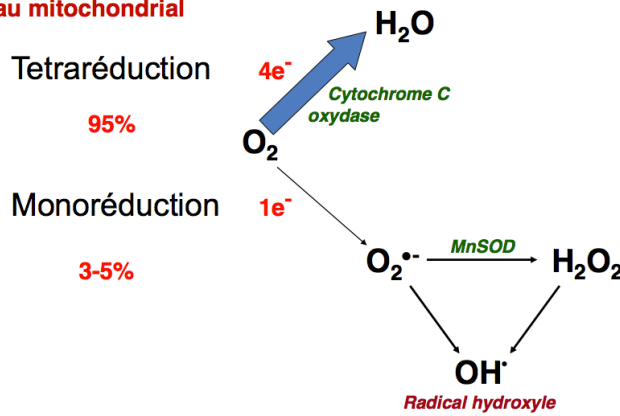
E. CRM



In vivo, ils peuvent être générés en faible quantité lors du métabolisme normal de l'oxygène (Chaine respiratoire mitochondriale). L'oxygène moléculaire est l'accepteur final de la CRM (complexe 4), il prend **4 électrons**, cette réduction se fait en une seule étape pour former 2 molécules d'H₂O. Ces 4 électrons sont stockés par les atomes de cuivre du complexe 4. La chaine respiratoire est assurée par des complexes protéiques et a pour objectif la réoxydation du NADH et FADH₂.

Au cours du déroulement de toutes les étapes (depuis la réoxydation du NADH par le C1 jusqu'à la réduction de l'O₂ moléculaire au C4), on aura **entre 0, 4 et 4 % des électrons qui transitent qui vont d'échapper, en s'échappant ils gènèrent des espèces réactives de l'oxygène.**

Au niveau mitochondrial



II. Les espèces réactives de l'oxygène

A. Généralités

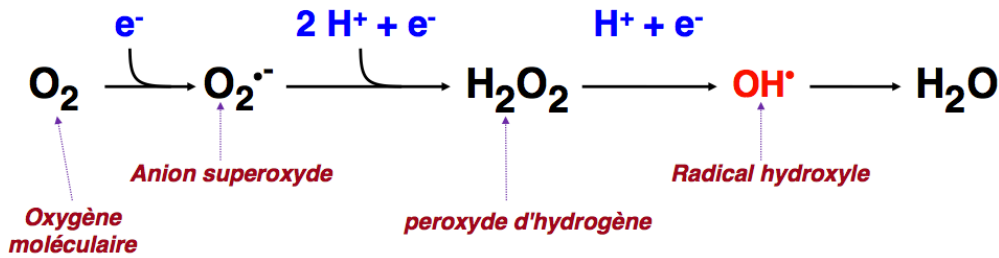
- $O_2^{\cdot-}$ L'anion super oxyde : Une molécule d'O2 + un électron célibataire
- H_2O_2 Le peroxyde d'hydrogène : eau oxygénée
- OH^{\cdot} Le radical hydroxyle

Ces 3 ERO sont **indissociables les unes des autres, toxiques ou non, utiles ou non.**

Il existe d'autres ERO avec d'autres atomes que l'hydrogène et l'oxygène,

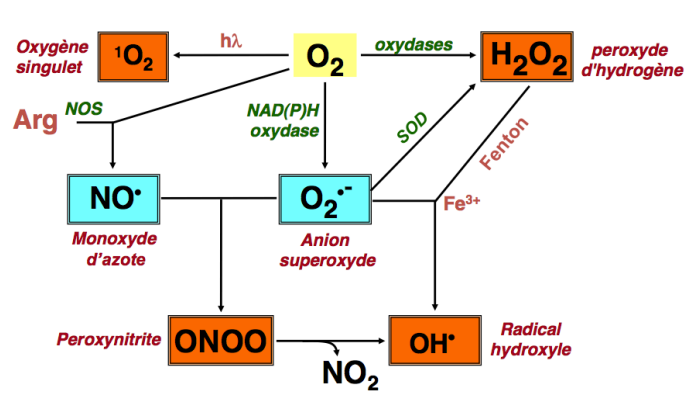
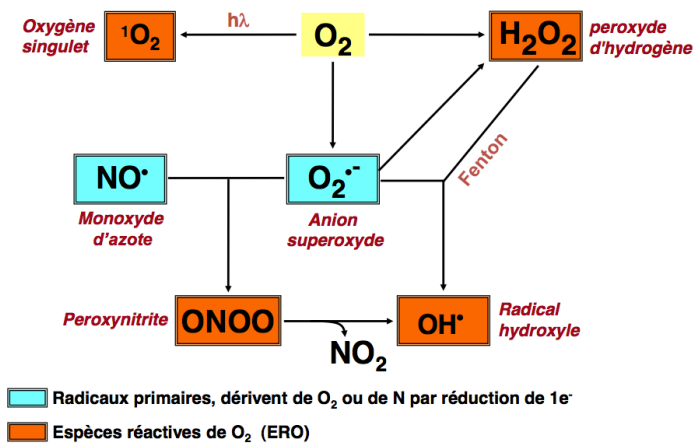
- L'azote qui donne **le monoxyde d'azote** (messager secondaire essentiel à d'autres fonctions cellulaires),
- les **radicaux Peroxydes ou alkoxydes** (RO2 ou RO).

B. Génération des ERO



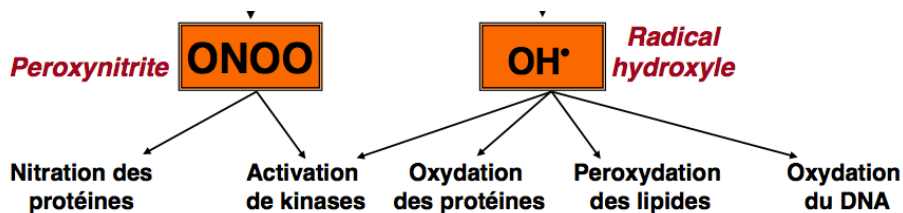
La première espèce générée est toujours l'anion superoxyde (non toxique), il fixe ensuite un électron et 2 protons pour donner du peroxyde d'hydrogène (H2O2) peu toxique, mais est **très fortement diffusible** et ça peut être nuisible : c'est comme ça que se propagent les radicaux libres. Le toxique est **le radical hydroxyle** dont la neutralisation va donner la molécule d'H2O.

Radicaux libres		
Anion superoxyde	$O_2^{\cdot-}$	Faible action oxydative : peu toxique. Formé dans la mitochondrie dans la CRM (à 95%). Si il n'est pas immédiatement neutralisé, il génère des radicaux secondaires toxiques
Radical hydroxyle	OH^{\cdot}	Très réactif, à la base de l'essentiel de la toxicité des ERO
Oxyde nitrique	NO^{\cdot}	Essentiel à la vie de certaines cellules et au déroulement des fonctions cellulaires car c'est un messager secondaire . Il doit être tout de suite neutralisé, car il peut donner un peroxyde nitrite,
Espèces réactives de l'oxygène		
peroxyde nitrite	$ONOO^-$	Réagit avec la SOD (Super Oxyde Dysmutase) pour nitrater les tyrosines. C'est un toxique TRES FORT, rend les cellules apoptotiques.
Oxygène singulet	1O_2	Durée de vie très limitée, atome d'oxygène seul, très réactif. Il n'est pas associé aux autres ERO (produit de façon particulière). Pouvoir carcinogène significatif
Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2	Non toxique



- L'anion super oxyde peut donner par 2 manières différentes le PH qui propage les ERO. Le PH peut donner le radical hydroxyle en réagissant avec l'anion superoxyde. L'ASO peut aussi réagir avec le monoxyde d'azote pour donner le **peroxynitrite**. La toxicité correspond à la propagation du peroxynitrite et du radical hydroxyle.
- Associé à ces ERO, on rencontre certaines enzymes,
 - de la famille **NOS** qui à partir de l'O₂ moléculaire génèrent de façon physiologique le NO (messager secondaire),
 - l'anion superoxyde est généré par la CRM mais il y a une autre voie, c'est la **NADPH oxydase**, qui a une action physiologique de production de l'anion superoxyde.
 - La transformation de l'anion en peroxyde d'H₂ par la superoxyde dismutase (**SOD**), c'est la première étape de détoxification des ERO de l'organisme.

2 molécules sont **supports de la toxicité** : **peroxynitrites** (nitration des protéines) et les **radicaux hydroxyles** (formation de résidus cétones ou la peroxydation des lipides, l'oxydation du DNA, et de protéines, ou l'activations de kinases associées au stress).

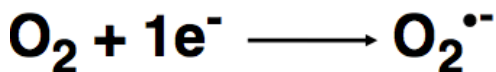


C. Les ERO en détail

1. L'oxygène singulet

Généré à partir d'un atome d'Oxygène seul, très réactif, durée de vie très courte, il est produit par transfert d'énergie lumineuses par des protéines telles que la riboglabine. => OSF

2. L'anion superoxyde

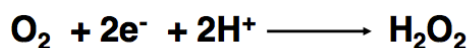


Produit majoritairement par la CRM, il possède un électron sur sa couche périphérique, il peut être produit par la NADPH oxydase (enzyme membranaire), **dans les 2 cas sa production est physiologique**.

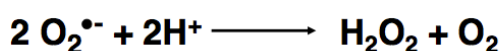
Il intervient dans la modulation des voies de signalisation (comme de celle de l'insuline). C'est **celui qui est le moins toxique, il est l'élément de base de la production d'autres espèces toxiques**. Il n'a aucun effet sur les acides nucléiques et les fonctions de la cellule.

3. Le peroxyde d'hydrogène

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



Par dismutation de l'anion superoxyde :



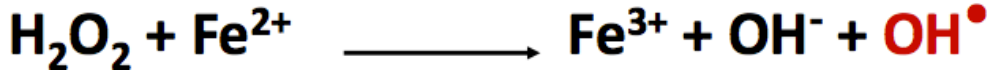
Il est généré par réduction bivalente de l'oxygène moléculaire ($O_2 + 2 e^- + 2 H^+$) ou par dismutation à partir de l'anion superoxyde. (fixation de 2 protons).

Il est électriquement neutre, de très petite réactivité **mais diffuse très facilement au travers des membranes cellulaires, et peut générer les autres ERO toxiques.**

Ce PH est très fortement oxydant, et en présence de Fer, se met en place la **réaction de Fenton** qui génère l'anion hydroxyle (support de la toxicité).

3. Radical hydroxyle

C'est le support de la toxicité, il peut être produit via la réaction de Fenton à partir du H_2O_2 si il est dans un compartiment où il y a assez de Fer.



4. Le monoxyde d'azote

Il est produit grâce à une molécule d'arginine, **c'est un radical libre di-atomique** : O + N, l'électron célibataire est sur l'oxygène.

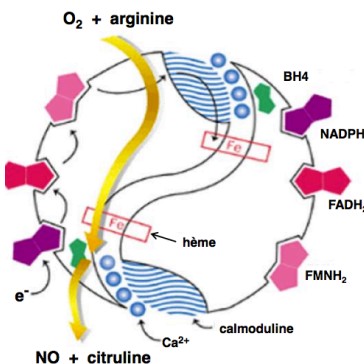
Ce monoxyde d'azote :

- à faible concentration (5nM à 4uM) est peu toxique et il sera utilisé comme effecteur secondaire. Il est caractérisé par une grande capacité à diffuser, une réactivité limitée et une durée du vie qui n'excède pas quelques secondes.
- Si il dépasse 4uM, **il réagit avec d'autres ERO, et donne des espèces toxiques**, ou réagit avec les thiols ou les métaux.

Le NO est synthétisé à partir de l'arginine, l'enzyme qui permet sa production est la **NOS** (Nitric Oxyde Synthase).

Les NOSynthases sont sous forme de dimères. Chaque monomère possède 2 domaines : réductase et oxydase.

Cette NOS utilise les coenzymes FAD et FNM et un atome d'hème. D'autres cofacteurs seront impliqués : BH2 et la calmoduline.



D. LA NOSynthase

Formé de 2 monomères tête bêche, l'oxygène et l'arginine arrivent et de proche en proche s'effectuent des échanges pour aboutir à la **production de NO et de citrulline à partir d'arginine.**

En absence de calmoduline-Ca, l'enzyme est inactive.

Elle sera donc réellement activée que par production de calcium (activation de voies de signalisations utilisant l'AMPC ou la phospholipase C).

Il existe 4 NO synthase.

- **NOS-I : nNOS** dans les neurones.
- **NOS-II : iNOS** inductible (En présence de forte concentration de NO, elle sera active)
- **NOS III : eNOS** dans les cellules endothéliales, elle permet aux muscles lisses qui entourent les vaisseaux de se dilater pour permettre la circulation du sang.
- **mtNOS : mNOS**. C'est le premier élément de défense contre la circulation des ERO.

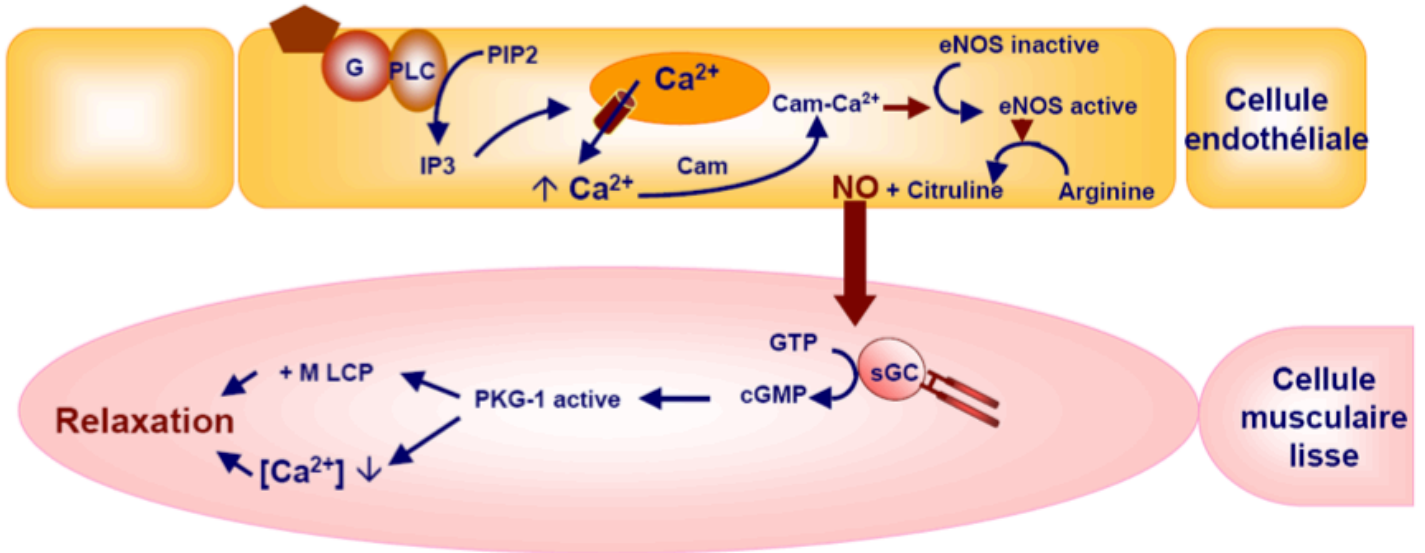
Réaction globale



Toute déplétion en NADPH (produit par la voie des pentoses phosphates) -> blocage de la production du NO.

- NOSI et III sont exprimées de façon constitutive, activées par le calcium intracellulaire et **produisent des concentrations nanomolaires de NO. Ce sont des homodimères**
- **mtNOS est activée par la variation du Ca intracellulaire, elle régule la quantité d'ASO (anion super oxyde) produit par la cellule, et de générer le NO indispensable aux voies de signalisation mitochondriales.**
- NOSII ou iNOS est exprimée de façon constitutive à de faibles concentrations et **inductible** par les cytokines : possible stimulation par les RCPG via Gβgamma. **produit des concentrations micromolaires de NO : à la base de la toxicité portée par le NO.**

Application physiologique d'une ERO : La relation des cellules musculaires lisses des vaisseaux



Les cellules musculaires lisses doivent exercer des mouvements de relaxation pour assurer la mobilité du sang, la CE en réponse à un messenger primaire active la production d'IP3 qui permet au niveau du RE l'export du Ca qui se fixe sur la calmoduline. La calmoduline se fie sur la NO synthase pour la rendre active. Il y a une concentration nanomolaire de NO. Le NO sort des cellules endothéliale et rend dans la cellule musculaire lisse. Il active une voie de signalisation qui produit du GMPc pour aboutir à la relaxation. Un déficit de NADPH freine la relaxation par freinage de la voie de production du NO.

Quand le NO est généré par la iNOS (à des concentrations importantes >4uM), l'excédent de NO va pouvoir

- être oxydé en ion nitrosonium
- être réduit en anion nitroxyde (toxique).

Le NO peut réagir avec un anion superoxyde pour donner une molécule de peroxy-nitrite ONOO⁻ très fortement toxique.

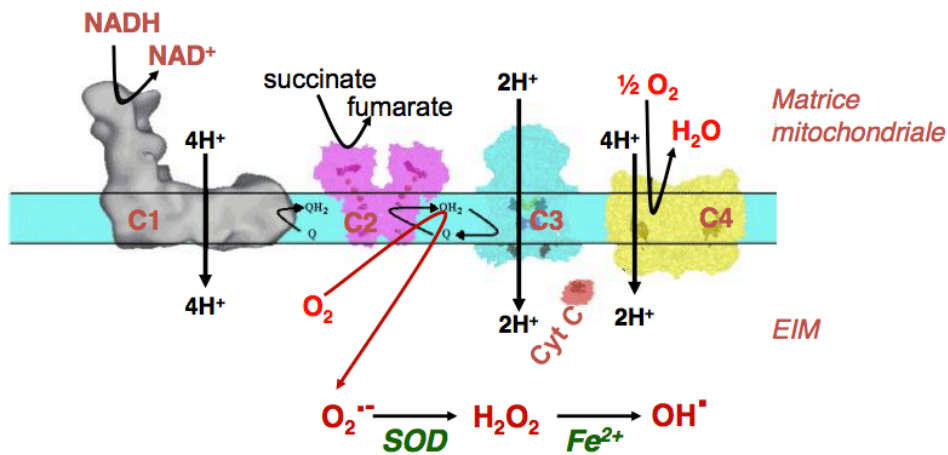


Un excédent de production de NO peut aboutir à la mise en apoptose de la cellule par la production anormalement élevée de peroxy-nitrite. Chez les diabétique cette augmentation participe à la résistance à l'insuline.

E. Génération de l'anion superoxyde

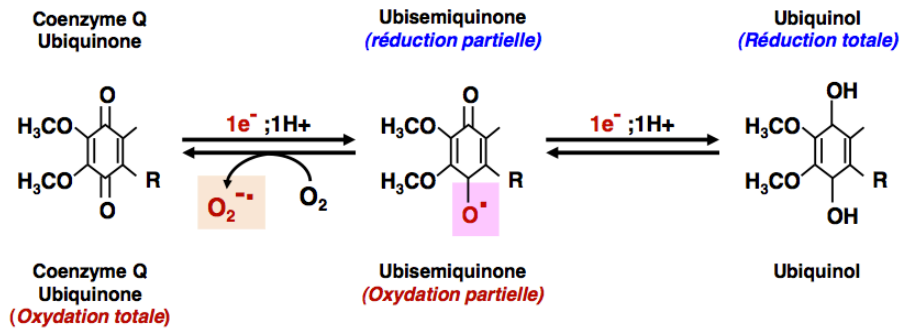
1. Au niveau de la CRM

L'anion superoxyde source principale des autres ERO, est généré dans la CRM, au niveau d'un encombrement entre l'ubiquinone et le complexe 3 de la CRM.



L'ubiquinone possède 2 électrons et 2 protons. Les électrons devraient tous être transférés au C3, mais sont transférés à une molécule de cytochrome qui ne peut prendre qu'un des 2 électrons.

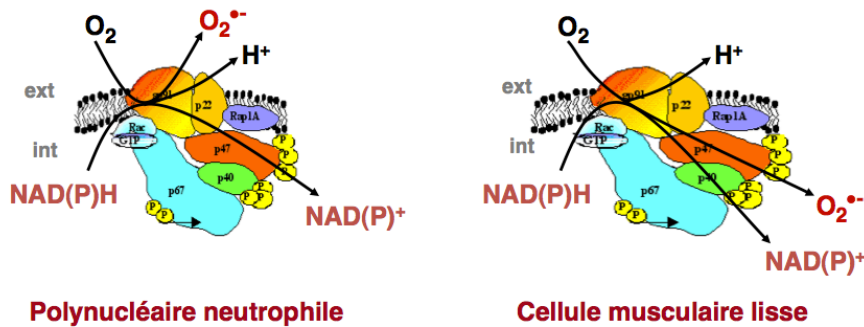
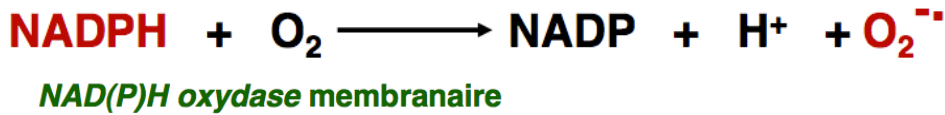
Un cycle futile se met en place (tous les électrons sont pris en charge par le C3), au niveau de ce cycle s'échappent les électrons qui se fixent sur l'O2 moléculaire. L'anion super oxyde généré sera pris en charge par la SOD et le neutralise en peroxyde d'hydrogène pour empêcher la production de radicaux hydroxyles.



L'ubiquinol réduit est celle qui vient taper à la porte du cytochrome c pour donner les 2 électrons, une fois qu'il a déposé ses électrons, il devient ubiquinone qui correspond au **coenzyme Q**. On passe par un intermédiaire : Ubisemiquinone où on a une oxydation partielle, l'électron aura tendance à s'échapper pour aller se fixer sur l'Oxygène moléculaire pour redonner la molécule stable : le coenzyme Q. En présence d'O₂ on peut éliminer l'électron célibataire et produire l'anion superoxyde. Cette réaction est à la base de la production de 95 % des ERO. Chez les diabétiques, il y a un travail anormal des voies métaboliques (catabolisme du glucose), donc il y aura une hyper activité de la CRM, qui se traduira par une augmentation significative de la production de l'anion superoxyde.

2. Sur la membrane plasmique

Autre possibilité de production de l'anion superoxyde : sur la membrane plasmique des cellules qui ont des capacités de phagocytose, se trouve la NADPH oxydase capable de générer en présence de NADPH et d'oxygène l'anion superoxyde. Cet anion sera utile pour les réactions de détoxification et de lutte contre les agents pathogènes.



La NADPH oxydase est un complexe multiprotéique :

- Dans les PNN, la production se fera à l'extérieur de la cellule, dans la vésicule de phagocytose (PNN : dégradation de l'agent pathogène) => *nouvel exemple d'utilisation physiologique des ERO.*
 - Dans la cellule musculaire lisse La NADPH oxydase agit de façon à générer l'ASO **dans le cytosol**
- Dans les 2 cas, ceci se fait au prix de la consommation d'un NADPH (voie des pentoses phosphates).

La production des ERO sera dans des compartiments différents en fonction du tissu.

Mitochondries	microsome	peroxysome	cytosol
45%	20%	30%	5%
Exception pour le foie, où les microsomes sont les principaux producteurs			
Mitochondries	microsome	peroxysome	cytosol
15%	45%	35%	5%

- Dans les cellules classiques : 45 % des ROS seront générées dans les mitochondries, 20 % les microsomes, 30 % les peroxysomes (dégradation des AG à très longue chaîne), 5% dans le cytosol.
- Dans le foie, **les microsomes sont les principaux producteurs (45%) car au niveau de la fraction microsomiale se met en place les systèmes de detoxifications des toxiques de l'environnement** (phase 1 et phase 2) où on a besoin de la production d'ASO pour neutraliser les agents toxiques ensuite glucoconjugués et éliminés.

III. Le stress oxydant

A. Paradoxe des ERO

Le stress oxydant est présent quand il y a un déséquilibre entre la production et la neutralisation des ERO.

Les radicaux selon leur concentration, auront une double vie, favorable et défavorable à la cellule.

- **A faible concentration** ce seront des médiateurs cellulaires, impliqués dans les voies de transduction du signal de plusieurs Ho et Facteurs de Croissance. En faible concentration ils sont bénéfiques, diffusent rapidement, et ont une demi vie courte ce sont des **parfaits médiateurs, problème : Ils doivent rester à faible concentration.**
- **A forte concentration**, les capacités de neutralisation sont dépassées, on a une **toxicité dose et durée dépendante**. Une des cellules les plus sensible à cette toxicité sont **les cellules β pancréatiques**, le stress oxydant participe à la dégradation de ces cellules et à l'apparition du diabète. Les cibles sont diverses : ADN, ARN, protéines, lipides et/ou glucides. Ce seuil est dépendant des capacités de défense de l'organisme v-à-v de ces espèces.

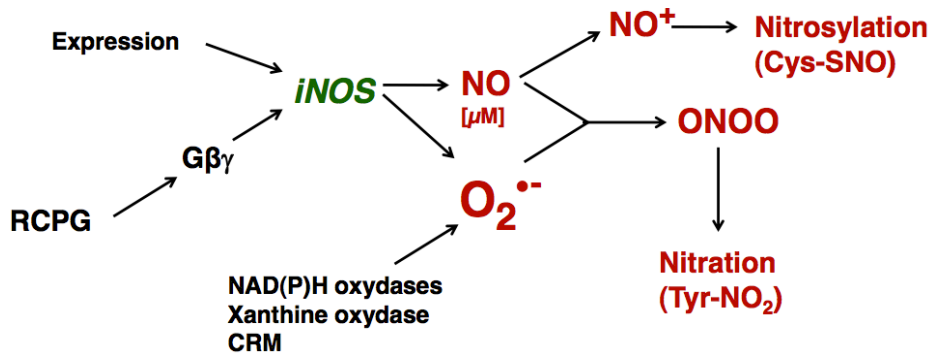
A faibles concentrations, elles (les espèces réactives de l'oxygène) seront actives (le NO intervient au niveau de l'activation de facteurs de transcription (important dans la réoxygénation)). Elles interviennent dans de nombreuses enzymes : elle diminuent la synthèse de l'hème par blocage de l'hème oxydase. Le problème c'est qu'à forte concentration, elles produisent des doses toxiques, augmentation des réactions inflammatoires, des problèmes d'infections, d'ischémie, hypoxie .. diabète ...

L'élément à la base de ce seuil est **une molécule : le NADPH.**

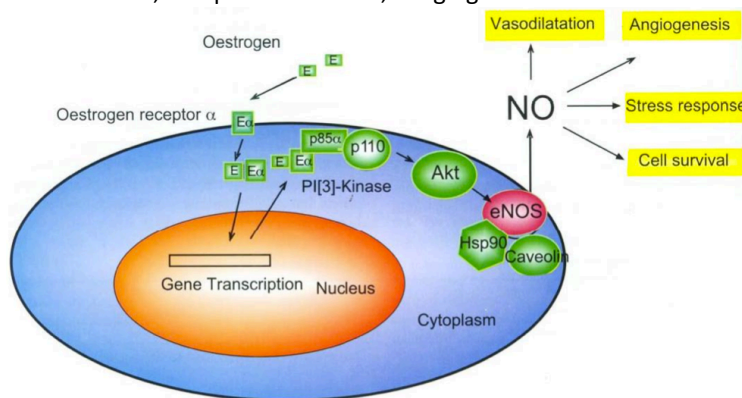
A faible concentration, effets **biologiques** après activation des NOS physiologiques



Dans des conditions anormales, il y a activation de iNOS, on produit l'anion superoxyde et on génère l'ion nitrosonium et l'oxyde nitrique.

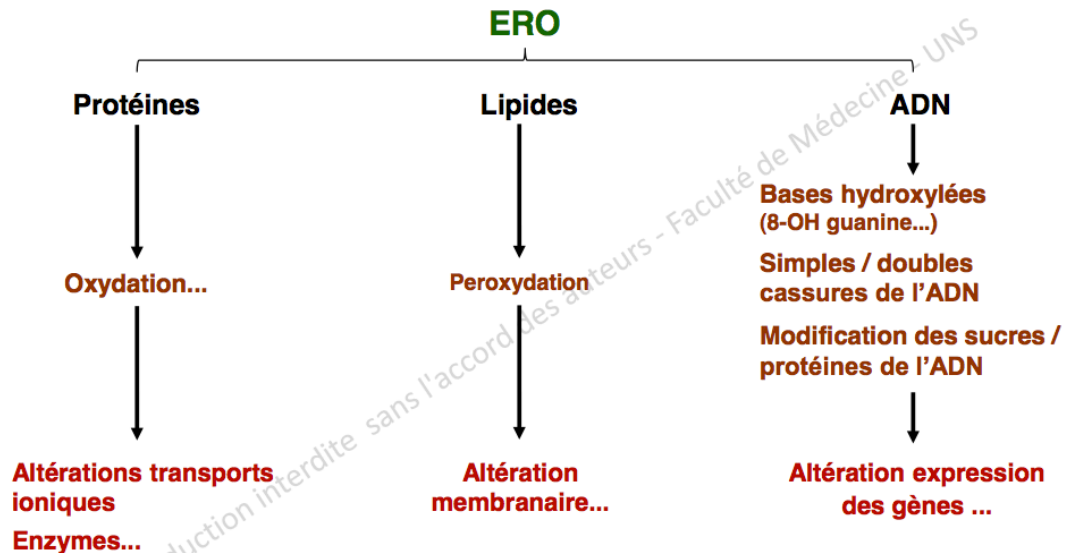


Exemple : En réponse aux oestrogènes on a activation d'une cascade de signalisation qui permet l'activation de eNOS qui permet la formation de NO qui permet la vasodilatation, la réponse au stress, l'angiogenèse et la survie cellulaire.



B. Conséquences du stress oxydant

Modification de lipides, de glucides, de protéines ou d'ADN, elles sont à la base de nombreuses pathologies et du vieillissement.



Les pathologies associées sont les pathologies associées à l'âge et au vieillissement.

Les causes initiales du stress oxydant sont : le cancer, la cataracte, les scléroses...

Le stress oxydant aussi intervenir comme **potentialisateur (aggravateur) d'un phénomène initial déjà mis en route** (maladies cardiovasculaires, diabète, alzheimer, rhumatismes...).

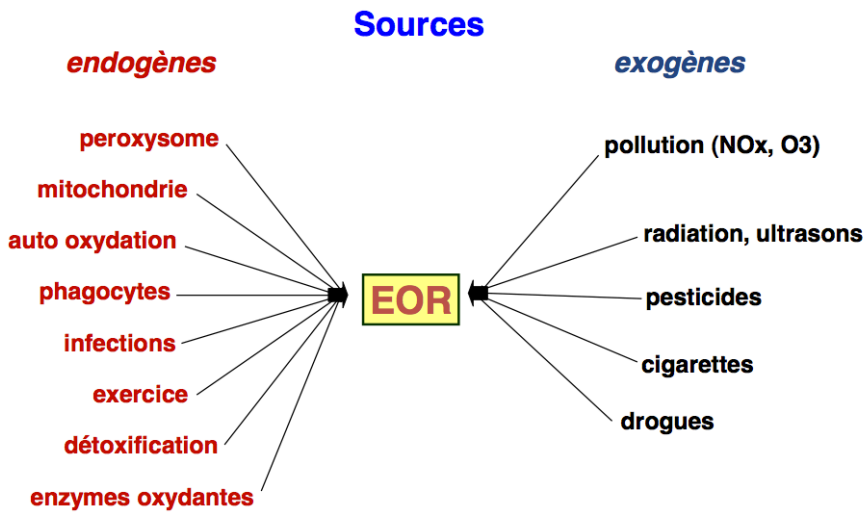
Exemple : Le SIDA

SIDA : Cause initiale : Infection virale

→ induction d'un stress oxydant (répression gènes SOD Gpx)

→ facilite mort lymphocytes T par apoptose

C. Origines du stress oxydant



D. Fonctions des ERO

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

IV. Les systèmes de défense

A. Généralités

Ils sont très simples et sont basés sur **une seule molécule : Le NADPH.**

Il existe **2 systèmes de défense, un enzymatique, un non enzymatique. Leur objectif est :**

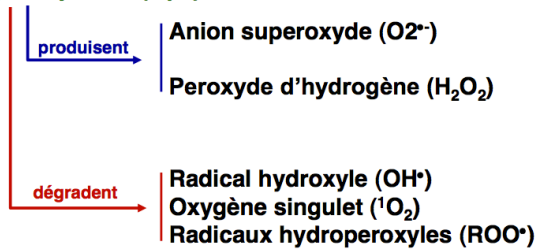
- Empêcher la formation des Radicaux libres
- Eliminer les radicaux libres
- Réparer les tissus et les cellules

Systèmes enzymatiques

Superoxyde dismutases (SOD)

Catalase

GSH peroxydases (Gpx)



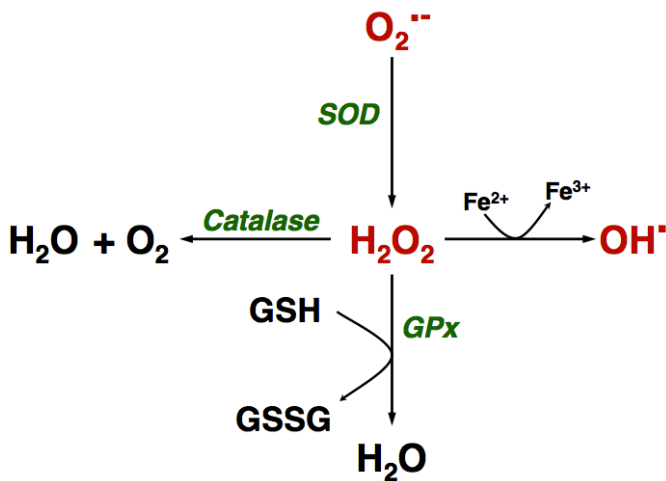
Il existe plusieurs systèmes enzymatiques :

- Couple Glutathion oxydase / Glutathion reductase
- Les Superoxydes dismutases dans les mitochondries et le cytosol
- La catalase

Ces enzymes agissent ensemble pour neutraliser les ERO.

Certaines produisent les anions superoxyde et les peroxyde d'hydrogène pour amener les radicaux hydroxyle, l'oxygène singulet et les radicaux hydroperoxydes au niveau des **GSH** qui les dégradent.

B. Première ligne de défense : Le système enzymatique



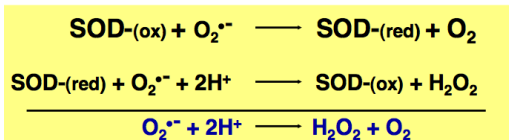
Dans la mitochondrie se trouve une SOD mitochondriale qui neutralise l'anion superoxyde en Peroxyde d'hydrogène. Il est alors immédiatement neutralisé en eau, soit par la catalase, soit par les glutathions peroxydases. Si ces 2 enzymes sont déficientes le PH va diffuser et va donner par la réaction de Fenton le radical hydroxyle.

le couple Catalase GPx fait en sorte de neutraliser l'H2O2 en molécule d'eau. La cellule se prémunit au mieux pour neutraliser l'anion super oxyde pour éviter toute formation de radical hydroxyle.

1. Les Super-Oxyde Dismutases

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

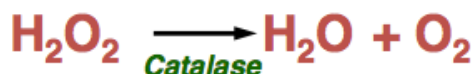
Les SOD sont essentielles, et se trouvent dans la mitochondrie ou dans le cytosol. La réaction est toujours la même qui réduit l'anion super-oxyde. Il existe différents isoformes, qui se distinguent par leur cofacteur.



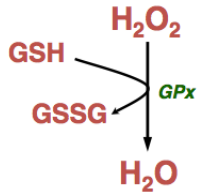
2. Les catalases

Elles sont très importantes et permettent de neutraliser le peroxyde d'hydrogène. On les retrouve dans un grand nombre de tissus et essentiellement dans le foie et les GR. Elles se trouvent **dans les peroxysomes**. Leur substrat est le PH elles le neutralisent en molécules d'eau et oxygène moléculaire.

Elle utilise le NADPH qui sera **le facteur limitant.**



3. Les glutathions peroxydases

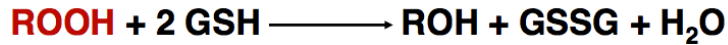


Il en existe plusieurs isoformes mais fonctionnent de la même manière. Elles neutralisent une molécule de peroxyde d'hydrogène en oxydant 2 glutathions réduits en un glutathion oxydé (homodimère de glutathion réunit par un pont disulfure).

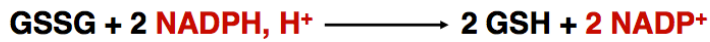
La concentration en glutathion peroxydase est très faible, et ce qui compte c'est le turn over du glutathion oxydé en glutathion réduit.

La glutathion réductase est capable de réduire la glutathion peroxydase oxydée grâce à 2 molécules de NADPH.

Action de la Glutathion peroxydase

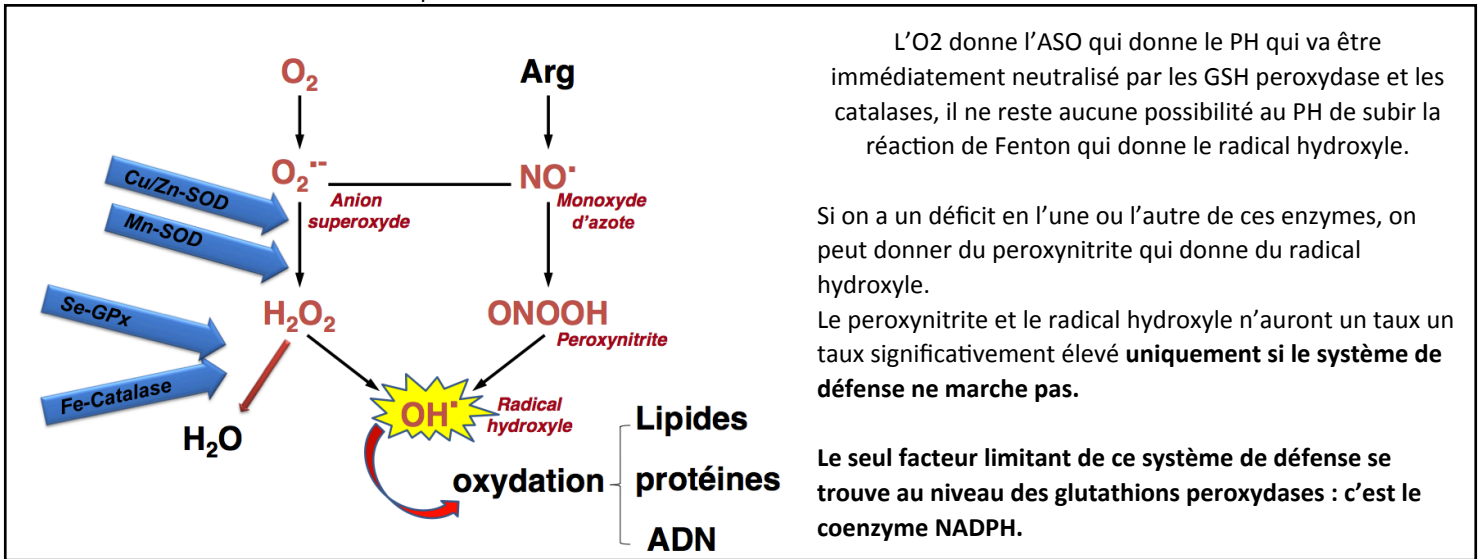


Glutathion réductase



Pour neutraliser un radical libre il faut 2 molécules de GSH REDUIT ET 2 MOLECULES DE NADPH.

Le système de dépense ne sera effectif que si la voie des pentoses phosphates marche normalement et que la production de NADPH est localisée vers la détoxification et pas vers des voies annexes.



L'O2 donne l'ASO qui donne le PH qui va être immédiatement neutralisé par les GSH peroxydase et les catalases, il ne reste aucune possibilité au PH de subir la réaction de Fenton qui donne le radical hydroxyle.

Si on a un déficit en l'une ou l'autre de ces enzymes, on peut donner du peroxynitrite qui donne du radical hydroxyle.

Le peroxynitrite et le radical hydroxyle n'auront un taux significativement élevé **uniquement si le système de défense ne marche pas.**

Le seul facteur limitant de ce système de défense se trouve au niveau des glutathions peroxydases : c'est le coenzyme NADPH.

C. Deuxième ligne de défense : Le système non enzymatique

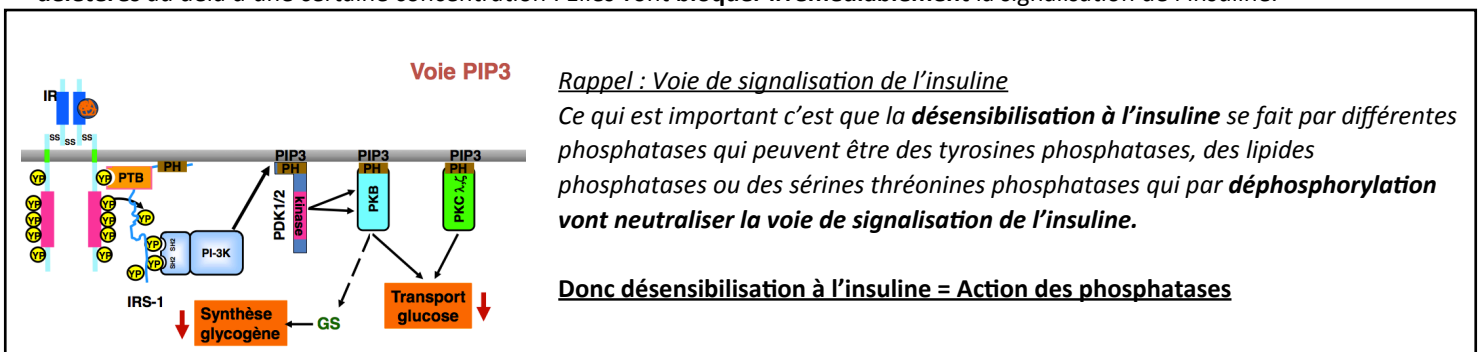
Il existe d'autres molécules exogènes qui sont des piègeurs de radicaux libres :

- Certains **oligoéléments** qui interviennent dans l'activation des enzymes de neutralisation du stress oxydant
- Des **antioxydants liposolubles** qui vont réagir avec les ERO et diminuer de façon artificielle la concentration des ERO. Le tocopherol se trouve dans le vin rouge et neutralise le stress oxydant

V. Stress oxydant et résistance à l'insuline

Certaines ERO vont être

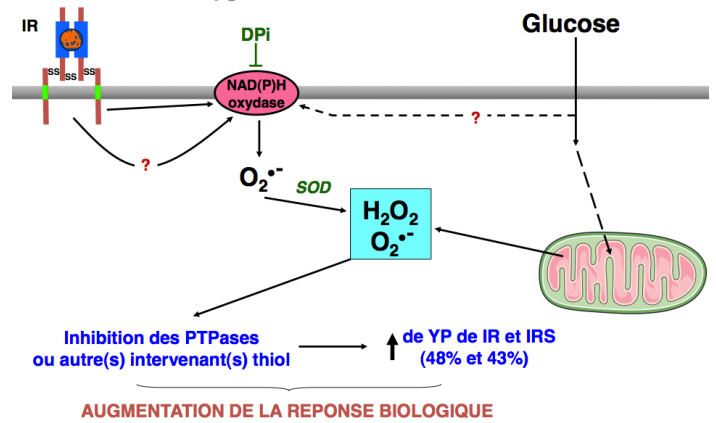
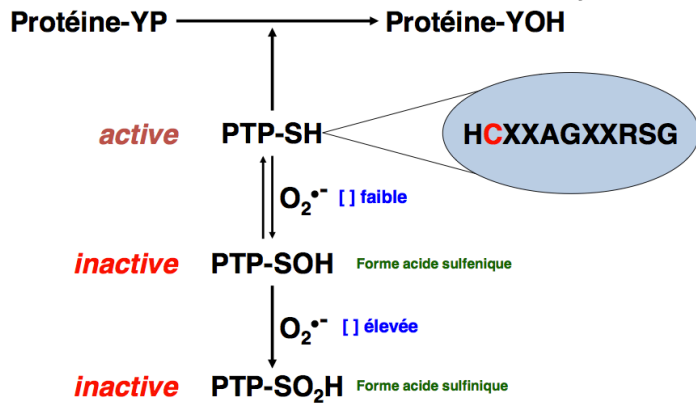
- **bénéfiques** pour la signalisation de l'insuline à faible concentration
- **délétères** au delà d'une certaine concentration : Elles vont **bloquer irrémédiablement** la signalisation de l'insuline.



Rappel : Voie de signalisation de l'insuline

Ce qui est important c'est que la **désensibilisation à l'insuline** se fait par différentes phosphatases qui peuvent être des tyrosines phosphatases, des lipides phosphatases ou des sérines thréonines phosphatases qui par **déphosphorylation** vont neutraliser la voie de signalisation de l'insuline.

Donc désensibilisation à l'insuline = Action des phosphatases



Les PTP (protéines tyrosines phosphatases) présentent toutes dans leur site actif (site catalytique) une **cystéine** qui par son **composant SH** participe à la **déphosphorylation des molécules tyrosines (cibles)**. Tant que ce SH est libre, la cystéine sera libre et pourra déphosphoryler des protéines.

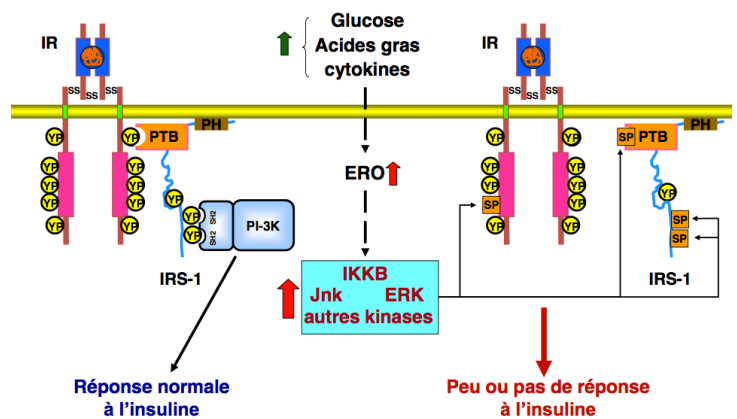
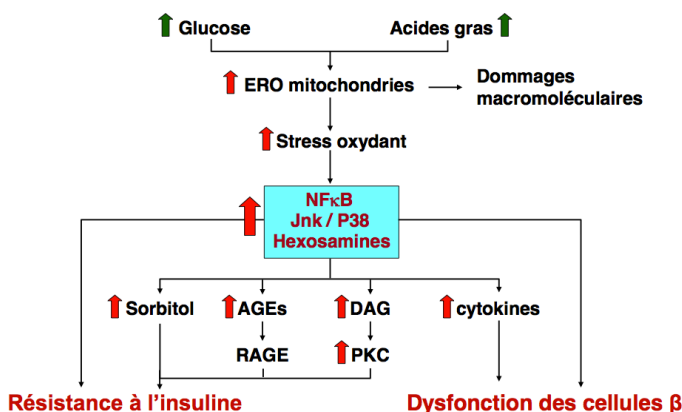
Effet bénéfique	Effet Délétaire
Certaines cellules retardent l'effet de l'insuline par production d'ERO . Faibles production = Effet bénéfiques - Activation de la NADH membranaire - Production de l'anion superoxyde - Fixation de l'ASO sur la cystéine des phosphatases - Formation de la forme <u>acide sulfénique</u> - <u>Inhibition REVERSIBLE</u> de la PTP - <u>Activation maintenue</u> de l'action de l'insuline	- Trop d'anion superoxyde (on est dans une situation de stress) - Forme acide sulfinique - Inhibition irréversible -> la phosphatase sera inactive. - Le récepteur n'est plus déphosphorylé - lors du tri dans les endosomes précoces (cycle du recyclage du récepteur à l'insuline), le récepteur partira vers la dégradation. Donc lors d'un excédent d'anion superoxyde , le récepteur ne sera plus recyclé et on a participé à l' augmentation de la résistance à l'insuline par diminution du nombre de récepteur à la membrane.

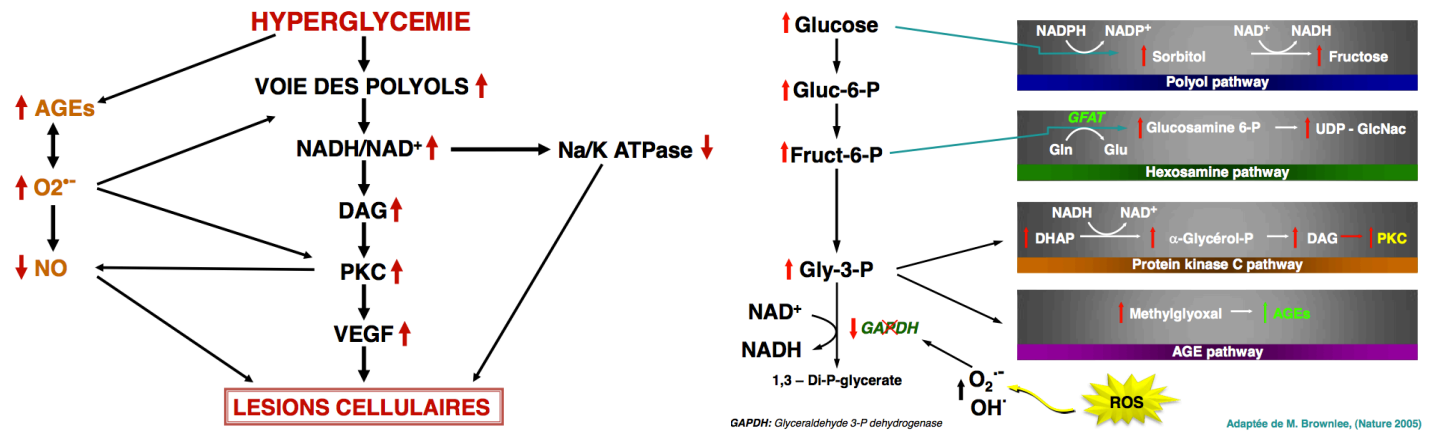
Donc faible concentration = Effet bénéfique et forte concentration = Effet Délétaire.

En 2001, repris en 2005, est émise une hypothèse à la **base de l'explication des mécanismes de complication micro et macro vasculaire associées au diabète**, ces mécanismes sont associés à l'**augmentation de la résistance à l'insuline**. C'est **L'hypothèse unifiante**.

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

La voie de signalisation prise en compte est celle de l'insuline, la voie métabolique prise pour expliquer les complications est la **glycolyse**.





La première phase de la glycolyse aboutit à la **formation du Fructose-6-phosphate**.

Chez l'insulino-résistant, on a une hyperglycémie chronique ou qui dure dans le temps.

Toutes les cellules possèdent le **transporteur GLUT1**, toutes ces cellules vont être confrontées à l'augmentation de la concentration de glucose.

Une cellule musculaire simple, en hyperglycémie,

- GLUT1 travaille à l'équilibre, et pompe le glucose vers la cellule
- **activation continue de la voie glycolytique**
- **hyperactivation de la CRM + une hyperproduction des ERO.**

Ces ERO vont être neutralisés, mais qu'une partie, donc une partie des ERO **va exercer ses effets toxiques**. Cet effet toxique se fait **surtout au niveau de l'ADN** → La machinerie de réparation de l'ADN se met en place.

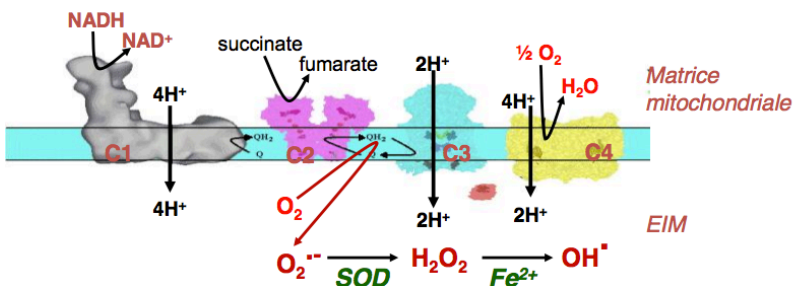
△ Problème : Au cours de la réparation, est produite une molécule diffuse dans le cytosol et est un inhibiteur de la Glyceraldéhyde-3-Phosphate-Deshydrogénase (GAPDH)

En inhibant la GAPDH, tous les mécanismes de complication associés au diabète se mettent en place.

- Augmentation des concentrations de tout ce qui est en amont : Glucose, Glucose-6-P, Fructose 6-P
- **Activation de la voie des polyols** pour neutraliser le Glucose en excès
 - Production de **sorbitol** -> Choc osmotique et augmentation du stress
 - Production de Fructose -> Sucre très facilement glycosylé
 - Le glucose qui prend la voie des polyols **pompe tout le NADPH** : On lève les possibilités de neutralisation des ERO
 - Tout s'aggrave.
 - Le fructose-6-P par la voie des **Hexosamine produit de l'UDP-GlucoseNac**
 - Augmentation du **methylglyoxal** qui entraîne une augmentation de la glycation intracellulaire qui aggrave la résistance à l'insuline.

Par un excédent de production des ERO par emballement de la CRM les mécanismes de défense génèrent une molécule : Le DARP : inhibiteur de la GAPDH, vont se mettre en place **4 voies** qui normalement ne doivent jamais se mettre en place dans des conditions physiologiques, et ces 4 voies vont dans un premier temps dépler la cellule en NADPH et neutraliser les possibilités de défense, augmenter la résistance par activation des PKC et induire une cytotoxicité intracellulaire par production des facteurs nucléaires (mét hylglyoxal).

Si on induit une hyper-expression de la **SOD mitochondriale** chez des souris dans des conditions d'hyperglycémie, on **n'active plus la voie des polyols**, on a **plus de déplétion en NADPH**, car l'excédent d'anion super-oxyde est neutralisé par la SOD et par les catalases et la glutathion peroxydase.



Approches thérapeutiques : (le prof est passé super vite alors je copie colle les diapos)

On a essayé de nombreux inhibiteurs, mais dans certains cas, on induisait des néphropathies, donc les essais ont été arrêtés. Donc on prend des molécules qui ciblent telle ou telle protéine et on essaie les anti-oxydant.

- Inhibiteurs de l'aldose réductase (neuropathie diabétique) mais toxicité
- Inhibiteurs AGEs : "pyridoxamine" - "AGE breakers" (microangiopathie diabétique)
- Inhibiteurs spécifiques de PKC β (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

- **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

- **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 NF κ B

Efficacité clinique sur la neuropathie et la néphropathie Efficacité expérimentale sur la rétinopathie Innocuité à doses pharmacologiques restant à démontrer

VI. Conclusion

- **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