

UNIVERSITE DE LIMOGES
FACULTE DE PHARMACIE



ANNEE 1994

THESE N° 56

**RADICAUX LIBRES ET PATHOLOGIE
HUMAINE
ACTUALISATION ET PERSPECTIVES
D'AVENIR**

THESE

POUR LE

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement le 28 NOVEMBRE 1994

par

Sylvia CEROU

née le 26 Janvier 1970 à Brive (Corrèze)

EXAMINATEURS DE LA THESE

Monsieur Le Professeur BUXERAUD.....- PRESIDENT
Monsieur LAGORCE, Maître de conférences- JUGE
Monsieur TRONCHET, Pharmacien- JUGE

UNIVERSITE DE LIMOGES

FACULTE DE PHARMACIE

DOYEN DE LA FACULTE: Monsieur le Professeur RABY Claude

ASSESEURS: Monsieur le Professeur GHESTEM Axel
Monsieur DREYFUSS Gilles – Maître de Conférences

PROFESSEURS:

| | |
|---------------------------|---|
| BENEYTOUT Jean-Louis | BIOCHIMIE |
| BERNARD Michel | PHYSIQUE-BIOPHYSIQUE |
| BOSGIRAUD Claudine | BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE PARASITOLOGIE |
| BROSSARD Claude | PHARMACOTECHNIE |
| BUXERAUD Jacques | CHIMIE ORGANIQUE CHIMIE THERAPEUTIQUE |
| CHULIA Albert | PHARMACOGNOSIE |
| CHULIA Dominique | PHARMACOTECHNIE |
| DELAGE Christiane | CHIMIE GENERALE ET MINERALE |
| GHESTEM Axel | BOTANIQUE ET CRYPTOLOGIE |
| HABRIOUX Gérard | BIOCHIMIE FONDAMENTALE |
| LACHATRE Gérard | TOXICOLOGIE |
| LEFORT DES YLOUSES Daniel | PHARMACIE GALENIQUE |
| MOESCH Christian | HYGIENE |
| NICOLAS Jean-Albert | BACTERIOLOGIE ET VIROLOGIE PARASITOLOGIE |
| LOUDART Nicole | PHARMACODYNAMIE |
| PENICAUT Bernard | CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE |
| RABY Claude | PHARMACIE CHIMIQUE ET CHIMIE ORGANIQUE |

SECRETAIRE GENERAL DE LA FACULTE - CHEF DES SERVICES ADMINISTRATIFS

POMMARET Maryse

A mon Président de Thèse

Monsieur **Jacques BUXERAUD**,
Professeur de Chimie Organique et de Chimie Thérapeutique,

*Je suis très sensible à l'honneur que vous m'avez
fait en acceptant de présider ce Jury de soutenance.*

*Veillez trouver, ici, le témoignage de ma
gratitude pour la disponibilité et l'aide que vous
m'avez apportées, au cours de mes années d'études
en Pharmacie.*

A mon Directeur de thèse

Monsieur Jean François LAGORCE,
Maître de Conférences de Chimie Organique,

*Soyez vivement remercié pour le soutien et l'aide que
vous m'avez volontiers accordés dans l'élaboration de
ce travail.*

*Je tiens à vous exprimer toute ma gratitude et mon
profond respect.*

A mon Examineur

Monsieur **Jean TRONCHET**,
Pharmacien à limoges,

Vous avez accepté avec une grande gentillesse de consacrer une partie de votre temps pour siéger dans ce jury.

Veillez trouver ici le témoignage de ma profonde reconnaissance.

A ma mère,
A mon père,
A François,
A mon frère,
A toute ma famille,
A tous mes amis,

*qui ont su me soutenir et m'encourager tout au long
de mes études.*

*Recevez, par l'intermédiaire de ce travail, mes
sincères et chaleureux remerciements.*

PLAN

INTRODUCTION

PREMIERE PARTIE

1. GENERALITE SUR LES RADICAUX LIBRES

1.1. CHIMIE DES RADICAUX LIBRES

1.1.1. Définition

1.1.2. Oxygène de l'air

1.1.3. Formes actives de l'oxygène

1.1.4. Les radicaux libres oxygénés

1.2. ORIGINE DES RADICAUX LIBRES IN VIVO.

1.2.1. Les mécanismes physiologiques

1.2.1.1. la chaîne respiratoire mitochondriale

1.2.1.2. la phagocytose

1.2.1.3. la synthèse des prostaglandines

1.2.2. Les rayonnements

1.2.3. Le métabolisme

1.2.3.1. Les réactions de détoxification

1.2.3.2. Les réactions enzymatiques

2. LES SYSTEMES DE PROTECTION

2.1. PREMIERE LIGNE DE DEFENSE : LES SYSTEMES DE PROTECTION ENZYMATIQUES

2.1.1 Les enzymes de destruction des superoxydes

2.1.1.1. les SuperOxydes Dismutases : SOD

les SOD type Cu-Zn

- la Cu-Zn cytoplasmique

- la SOD extracellulaire

les SOD à manganèse

les SOD à fer

2.1.1.2. La céruloplasmine

2.1.1.3. La thiorédoxine réductase

2.1.1.4. L'indolamine 2,3-dioxygénase

2.1.2. Les enzymes de destruction des peroxydes

2.1.2.1. Les catalases

2.1.2.2. Les peroxydases

les Glutathion Peroxydases à Sélénium

les Glutathion Transférases

La thiorédoxine réductase

2.2. SECONDE LIGNE DE DEFENSE : LES SUBSTANCES BIOLOGIQUES NON ENZYMATIQUES, "SCAVENGERS" et "QUENCHERS" ENDOGENES.

2.2.1. L'alpha tocophérol ou vitamine E

2.2.2. Les caroténoïdes et la vitamine A

2.2.3. L'acide L-ascorbique

2.2.4. Le glutathion

2.2.5. L'acide urique

2.2.6. Les flavonoïdes

3. POUVOIR PATHOGENE DES RADICAUX LIBRES

3.1. LES MECANISMES DE L'AGRESSION RADICALAIRE

3.2. LES CIBLES BIOLOGIQUES

3.2.1. Radicaux libres et lipides : la peroxydation lipidique

3.2.1.1. structure des membranes cellulaires

3.2.1.2. la désorganisation structurale des membranes

- l'initiation

- la propagation

- la terminaison

3.2.1.3. les conséquences de la peroxydation lipidique membranaire

3.2.2 Radicaux libres et acides nucléiques

3.2.4. Radicaux libres et oses

DEUXIEME PARTIE

I. IMPLICATION DES RADICAUX LIBRES DANS LA PATHOLOGIE HUMAINE.1. RADICAUX LIBRES ET TROUBLES CARDIOVASCULAIRES.1.1. ISCHEMIE-REPERFUSION DU MYOCARDE.1.1.1. Sidération myocardique.

- ① accumulation de substances donneuses d'électrons
- ② accumulation de calcium intracellulaire
- ③ acidose
- ④ activation des polynucléaires neutrophiles
- ⑤ libération de fer
- ⑥ dépression des systèmes de protection

1.1.2. Reperfusion du myocarde ischémiq.

- ① les altérations de la chaîne respiratoire
- ② le système hypoxanthine- xanthine oxydase

1.1.3. Nécrose myocardique.1.1.4. Les arythmies de reperfusion.1.2. ATHEROSCLEROSE.1.3. HYPERAGREGATION PLAQUETTAIRE.1.4. VASOSPASME CEREBRAL.2. RADICAUX LIBRES ET VIEILLISSEMENT.2.1. RADICAUX LIBRES ET NEUROGERIATRIE.

2.1.1. La Maladie d'Alzheimer - modèle de la trisomie 21.

- ① altération membranaires de la maladie d'Alzheimer
- ② atteinte des enzymes et des antioxydants

2.1.2. La Maladie de Parkinson.

2.2. RADICAUX LIBRES ET VIEILLISSEMENT CUTANE.

3. RADICAUX LIBRES ET CANCEROLOGIE.

3.1. LES RADICAUX LIBRES SONT LA CAUSE DE CANCERS.

3.2. LES RADICAUX LIBRES SONT LA CONSEQUENCE DE CANCERS.

3.3. LES RADICAUX LIBRES SONT LA THERAPEUTIQUE DE CANCERS.

4. RADICAUX LIBRES ET DIABETOLOGIE.

5. RADICAUX LIBRES ET OPHTALMOLOGIE.

5.1. LA CATARACTE.

5.2. LES DEGENERESCENCES RETINIENNES.

5.2.1. Rétinopathies diabétique

5.2.2. Dégénérescence maculaire liée à l'âge

5.3. LES MALADIES INFLAMMATOIRES DE L'OEIL.

5.4. LA FIBROPLASIE RETROLENTALE.

6. RADICAUX LIBRES ET PEDIATRIE.

6.1. RADICAUX LIBRES ET PREMATURES.

6.2. LA MALADIE DU KWASHIORKOR.

- ① Baisse des défenses antiradicalaires
- ② éléments en faveur d'une surproduction radicalaire
- ③ agréssion oxydante

7. RADICAUX LIBRES ET PATHOLOGIES HEPATIQUES :

RADICAUX LIBRES ET MALADIE ALCOOLIQUE DU FOIE.

- ① rappels sur le métabolisme de l'éthanol
- ② relations entre maladie alcoolique du foie et radicaux libres
- ③ aspects épidémiologiques de l'alcool

8. RADICAUX LIBRES ET RHUMATOLOGIE.

9. RADICAUX LIBRES ET OTO-RHINO-LARYNGOLOGIE.

10. RADICAUX LIBRES ET PATHOLOGIES RESPIRATOIRES.

11. RADICAUX LIBRES ET GASTRO-ENTEROLOGIE.

12. RADICAUX LIBRES ET MALADIES AUTOIMMUNES.

12.1. THYROÏDITE AUTOIMMUNE DE HASHIMOTO.

12.2. POLYARTHRITE RHUMATOÏDE.

13. RADICAUX LIBRES ET IMMUNOSUPPRESSION.

RADICAUX LIBRES ET SIDA.

II. PERSPECTIVES D'AVENIR : STRATEGIE THERAPEUTIQUE ANTIRADICALAIRE.

1. CLASSES THERAPEUTIQUES.

1.1. UTILISATION D'ENZYMES.

1.1.1. Les superoxydes dismutases.

- ① SOD bovine
- ② SOD humaine
- ③ SOD modifiée
- ④ SOD synthétiques

1.1.2. La catalase.

1.1.3. La glutathion peroxydase.

1.2. DIMINUER LA PRODUCTION RADICALAIRE.

1.2.1. Le sélénium.

1.2.2. Le zinc.

1.2.3. Le cuivre.

1.2.4. Le glutathion.

1.3. PIEGER LES RADICAUX LIBRES FORMES.

1.3.1. Les vitamines.

1.3.1.1. La vitamine E ou alpha-tocophérol.

1.3.1.2. La vitamine C ou acide ascorbique.

1.3.1.3. La vitamine A et les caroténoïdes.

1.3.2. Les extraits de végétaux.

1.3.2.1. Les flavonoïdes.

1.3.2.2. L'extrait de Ginkgo Biloba.

1.3.3. Les médicaments de synthèse.

1.3.3.1. L'allopurinol.

1.3.3.2. Le diéthylthiocarbamate.

1.3.3.3. La N-acétyl-L-cystéine.

1.3.3.4. Les lazaroïdes.

1.3.3.5. La déféroxamine.

1.3.3.6. Autres molécules.

2. COMMENT PRESCRIRE LES ANTIRADICAUX LIBRES.

2.1. LA PREVENTION DES PATHOLOGIES CHRONIQUES.

2.2. LA PREVENTION DES PATHOLOGIES AIGUËS.

3. MODIFICATIONS ALIMENTAIRES.

CONCLUSION.

BIBLIOGRAPHIE.

SOMMAIRE.

INTRODUCTION

Depuis quelques années de nombreux biologistes et médecins s'intéressent aux radicaux libres. Ils constituent en effet un sujet prometteur dans de nombreux domaines médicaux dont la cardiologie. Mais le milieu médical n'est pas le seul à se préoccuper de ces molécules très réactives. L'industrie alimentaire est également concernée par le rancissement des matières grasses dont ils sont la cause. L'industrie cosmétique cherche à combattre leur action délétère sur la peau. L'industrie des matières plastiques se préoccupe de lutter contre leur effet oxydant sur les caoutchoucs.

La bonne compréhension des impacts radicalaires justifie un rappel général de ce qu'il faut savoir sur les radicaux libres : leur chimie, leur formation in vivo, les moyens de défense que possède l'organisme et les effets néfastes qu'ils peuvent avoir lorsque ces modes de protection sont dépassés.

Nous aborderons ensuite l'étude des implications cliniques des radicaux libres dans les différentes spécialités (la cardiologie nous retenant plus longtemps). Nous verrons que les radicaux libres sont source de pathologies variées dont plusieurs comme le cancer, l'athérosclérose et la cataracte sont liées au vieillissement.

Puis nous envisagerons une stratégie thérapeutique antiradicalaire. Cette voie de recherche est en effet très prometteuse, tant pour la prévention que pour le traitement des pathologies dans lesquelles le rôle des radicaux libres aura été mis en évidence.

PREMIERE PARTIE

LES RADICAUX LIBRES

1. GENERALITES SUR LES RADICAUX LIBRES

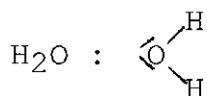
1.1. CHIMIE DES RADICAUX LIBRES

1.1.1. Définition. (58) (57) (21) (48)

Les radicaux libres sont des molécules ou atomes très instables possédant un électron célibataire non apparié sur leur couche externe. Les électrons sont des corpuscules chargés électriquement et qui, par un mouvement de rotation sur eux-mêmes, induisent un champ magnétique appelé "SPIN" (cette propriété est utilisée en résonance magnétique).

Une molécule ou un atome stable a un nombre pair d'électrons externes et ceux ci sont appariés entre électrons de SPINS opposés.

Un doublet électronique est plus stable que deux électrons isolés car l'appariement de deux électrons de SPINS opposés permet l'annulation de leurs champs magnétiques réciproques.



Dans la molécule d'eau, l'oxygène est entouré de 4 paires d'électrons (doublets), 2 paires liantes établissant les liaisons OH et 2 paires non liantes.

A l'inverse, un radical libre a un de ses électrons externes non apparié. Ce dernier développe un champ magnétique et cherche à tout prix une union avec un électron arraché à l'orbitale externe d'une autre molécule stable. Celle ci devient à son tour un radical libre. En effet, c'est la présence d'un électron célibataire sur la couche externe et de spin parallèle qui définit le radical libre et qui lui confère son extrême réactivité.

Les radicaux libres peuvent ainsi déclencher des réactions en chaîne souvent très rapides : la durée est de l'ordre de 10⁻⁴ secondes. La production d'un seul radical libre peut causer des lésions importantes dans une cellule.

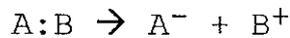
Le radical peut naître à partir de tout atome par gain d'un électron générant un radical chargé négativement (réduction) ou perte d'un de ses électrons avec création d'un radical à charge positive (oxydation).

Une molécule peut également générer des radicaux libres à l'occasion de sa dissociation, par scission homolytique d'une liaison covalente, dans laquelle chaque atome entraîne avec lui un électron (une liaison covalente est la mise en commun par les atomes réunis de 2 e⁻ de SPINS opposés):



où A· et B· sont deux radicaux libres.

Cette dissociation diffère de la scission hétérolytique classique qui produit deux substrats anioniques (ex. réactions ioniques): un des atomes reçoit les deux électrons de la liaison covalente et l'autre aucun.



A reçoit les deux électrons et par conséquent a un excès de charges négatives. A l'inverse B a un défaut de charges négatives (donc un excès de charges positives).

Les formes chimiques des radicaux libres sont nombreuses, mais ce sont les radicaux oxygénés qui sont les plus importants et les plus toxiques. En effet, dans le monde où nous vivons l'oxygène est partout (croûte terrestre, eau, air) et est indispensable à la vie aérobie. Cependant il peut être à l'origine de radicaux libres, normalement formés au cours du métabolisme cellulaire, mais qui peuvent devenir toxiques.

Parmi les radicaux oxygénés on distingue les "formes actives de l'oxygène", molécules de petite taille non carbonées, et les radicaux libres oxygénés proprement dits, molécules de grande taille.

H· Radical hydrogène

CH₃ - ·CH₂ Radical éthyle

·C Cl₃ Radical trichlorométhyle

(C₆H₅)₃C· Radical triphénylméthyle

·OH Radical hydroxyle

O₂⁻ Anion superoxyde

R - O· Radical alcoyle

R - OO· Radical hydroperoxyde

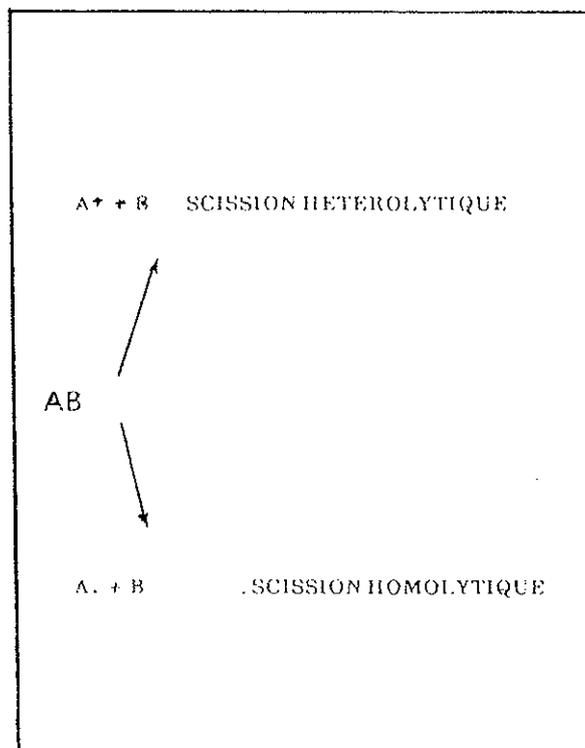
SCISSIONS DE LIAISON
COVALENTE

figure 1 (58)

1.1.2. Oxygène de l'air. (58) (45) (48)

L'oxygène moléculaire est un biradical formé de deux atomes présentant sur leurs orbitales électroniques externes deux électrons non appariés de SPINS parallèles; il est paramagnétique. Ces spins diminuent la réactivité des deux électrons impairs, ce qui explique que l'oxygène moléculaire soit peu réactif et ne se combine pas spontanément aux structures organiques. L'oxygène moléculaire ne peut accepter que deux électrons de même SPIN, donc ne peut accepter une paire.

La chimie de l'oxygène consiste essentiellement en des réactions avec des espèces paramagnétiques, avec des donneurs d'électrons ou avec la lumière.

L'oxygène est également un substrat d'enzymes comme les oxydases ou les oxygénases, ou le produit d'autres enzymes comme la Superoxyde Dismutase ou les catalases.

Le métabolisme normal de l'oxygène dans l'organisme se fait vers la production d'eau après une réduction tétravalente catalysée par les cytochromes oxydases. Les électrons échangés lors de cette réaction proviennent de la production d'ATP au cours de la respiration cellulaire.

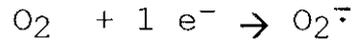


Cependant, dans certains cas interviennent des réductions mono- bi- et trivalentes donnant naissance respectivement à l'anion superoxyde (O_2^-), au peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et au radical hydroxyl ($\text{OH}\cdot$).

1.1.3. Les formes actives de l'oxygène.

1.1.3.1. l'ANION RADICAL SUPEROXYDE : $O_2^{\cdot -}$ (45) (21) (26)

C'est un monoradical chargé négativement. Il provient de la réduction monovalente de l'oxygène moléculaire qui capte un électron.

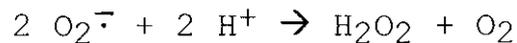


Cette réaction nécessite un apport en énergie et se fait essentiellement de façon enzymatique par :

- la NaDPH oxydase, lors de la phagocytose;
- la cytochrome oxydase mitochondriale, au cours de la respiration cellulaire;
- la xanthine oxydase et le cytochrome P₄₅₀, dans les phénomènes de détoxication;
- les corticosurrénales, lors du métabolisme de certaines molécules étrangères.

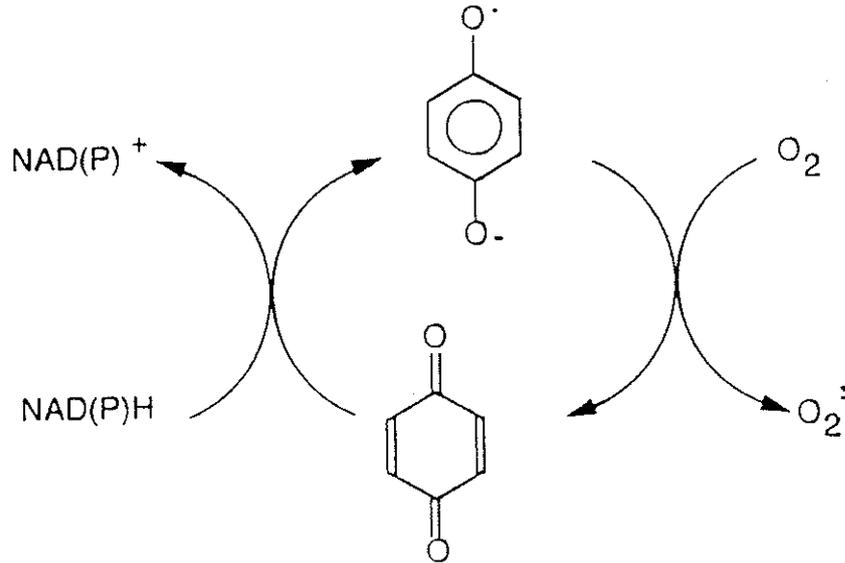
L'anion superoxyde est relativement peu réactif. Il réagit essentiellement avec des donneurs d'électrons comme les protons H^+ , ou avec des espèces paramagnétiques.

En présence d'ions H^+ , il subit une réaction de dismutation; c'est à dire qu'une molécule d'oxygène s'oxyde et l'autre se réduit:



Il se forme du peroxyde d'hydrogène et de l'oxygène. Cette réaction peut se produire spontanément, mais elle est augmentée en présence d'une enzyme: la Superoxyde Dismutase.

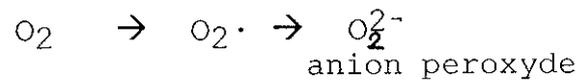
Certains médicaments quinoquines comme l'adriamycine, la dannomycine, la vitamine K et toutes les quinones peuvent donner $O_2^{\cdot -}$ en présence de NADPH et d'oxygène (conséquence de activité antitumorale).



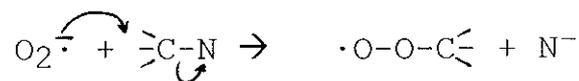
L'anion superoxyde peut intervenir dans quatre grands types de réactions:

❶ réactions d'oxydoréductions:

$O_2^{\cdot -}$ est à la fois un oxydant et un réducteur.

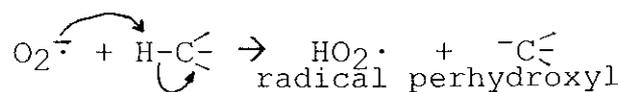


❷ réaction nucléophile:

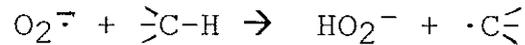


❸ réactions acide-base:

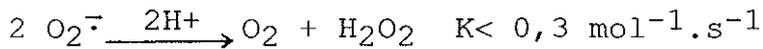
O_2^{\cdot} est une base.



④ réactions radicalaires



Le radical perhydroxyl formé par protonation de $\text{O}_2^{\cdot -}$ est beaucoup plus liposoluble que ce dernier. Mais en milieu aqueux sa dismutation est beaucoup plus rapide que celle de $\text{O}_2^{\cdot -}$.

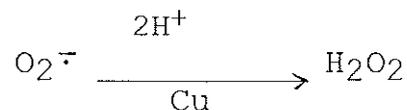


Le radical perhydroxyl peut réagir sur les liaisons C=N et les nitrones et peut arracher H· aux liaisons C-H allyliques et induire ainsi la peroxydation lipidique.

1.1.3.2. LE PEROXYDE D'HYDROGENE : H_2O_2

Le peroxyde d'hydrogène est formé secondairement par dismutation de l'anion superoxyde. Mais il peut être produit à partir de l'eau sous l'action de radiations ionisantes qui vont fournir l'énergie nécessaire.

La formation à partir de $\text{O}_2^{\cdot -}$ par réduction monoelectronique est catalysée par des ions métalliques :



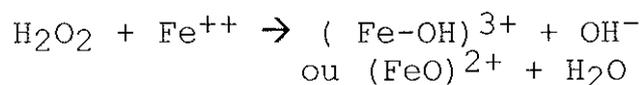
Le peroxyde d'hydrogène n'est pas un radical libre mais il est très réactif et a un fort pouvoir oxydant.

En présence d'ions ferreux, Fe^{++} , il se décompose, selon la réaction de FENTON, pour donner un radical hydroxyle $OH\cdot$ très agressif et un ion hydroxyle OH^- inoffensif.

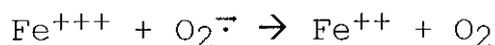
Réaction de FENTON:



D'autres espèces peuvent être produites, comme les ions ferryles:

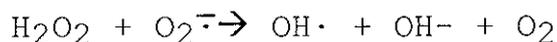


Quand le fer ferreux s'épuise, la réaction s'interrompt. Cependant l'anion superoxyde peut régénérer le fer Fe^{++} à partir du fer Fe^{+++} formé dans la réaction de FENTON; il entretient ainsi la réaction et accentue la production de $OH\cdot$.



De plus, le peroxyde d'hydrogène peut réagir lui même avec l'anion superoxyde, la réaction étant catalysée par le fer, pour aboutir au radical hydroxyle, selon la réaction d'HABER WEISS:

Réaction d'HABER WEISS:



Ainsi la présence simultanée d'anion superoxyde, de peroxyde d'hydrogène et de fer permet la production de radical hydroxyle.

Dans l'organisme, le peroxyde d'hydrogène est normalement formé à partir de l'ion superoxyde. Cette réaction est

catalysée par la SOD et considérée comme une défense naturelle contre la toxicité de cet ion. Il est ensuite dismuté en eau et oxygène dans des réactions catalysées par les catalases.

Cependant l'eau oxygénée est quand même considérée comme un toxique du fait de la réaction de FENTON.

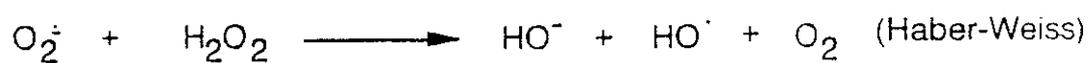
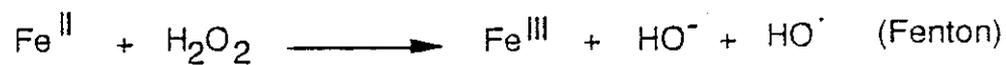
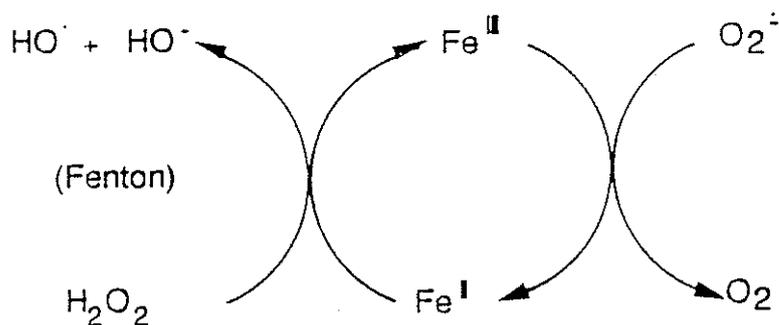
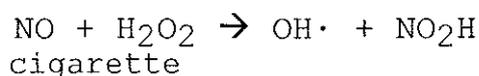


figure 2 (45)

1.1.3.3. LE RADICAL HYDROXYLE : OH·

Le radical hydroxyle est le plus instable des radicaux libres de l'oxygène, car il est le plus réactif.

Il peut être formé à partir du peroxyde d'hydrogène soit au cours de la réaction d'HABER WEISS précédemment décrite soit sous l'influence de la lumière U.V. .De plus de nombreux polluants peuvent induire directement ou indirectement sa formation comme l'amiante, CCl₄, le paraquat, la cigarette,...



Il peut être également produit par la décomposition de l'eau sous l'action des radiations ionisantes (rayons X, rayons γ).

Le radical hydroxyle est plusieurs milliers de fois plus réactif que l'anion superoxyde. Il réagit sur les lipides, les protéines, l'ADN et les oses, causant des dommages multiples. En cherchant à stabiliser son électron célibataire, il entraîne la formation de nouveaux radicaux libres par arrachement d'un atome d'hydrogène ou par transfert de son électron célibataire. Il peut également hydroxyler les noyaux aromatiques.

En l'absence d'oxygène, deux radicaux libres peuvent se dimériser ce qui arrête toute réaction.

En présence d'oxygène, les radicaux libres réagissent préférentiellement avec celui ci pour former des radicaux oxygénés instables et notamment des peroxydes et des tetroxydes. Le radical peroxyde peut se recombinaison en libérant un composé très oxydant de l'oxygène: l'oxygène singulet. L'oxygène en empêchant la recombinaison entre les radicaux formés favorise l'extension du phénomène.

1.1.3.4. L'OXYGENE SINGULET : $1O\cdot$ (45) (21)

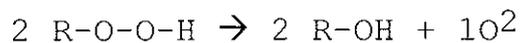
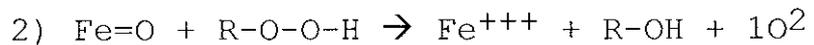
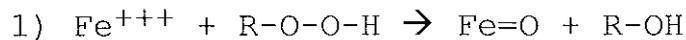
L'oxygène singulet n'est pas un radical libre mais une molécule en état d'excitation se comportant comme un radical libre.

Il peut réagir avec différents accepteurs d'électrons pour produire des peroxydes et de nouveaux radicaux libres.

Il se forme dans les milieux biologiques soit par des réactions photosensibilisées, le sensibilisateur étant un état électronique excité qui transfère de l'énergie à l'oxygène moléculaire (ex.les chromophores), soit par des réactions d'excitation chimiques qui n'impliquent pas d'excitation lumineuse.

exemple: au niveau du cytochrome P450

transfert d'oxène par l'intermédiaire de fer III héminique



1.1.4. Les radicaux libres oxygénés. (21)

Ils sont produits essentiellement à partir des acides gras insaturés comme l'acide arachidonique. Ce sont des formes intermédiaires instables.

Ils peuvent résulter de l'action d'un radical libre comme l'ion hydroxyle ou de la réponse à des stimuli membranaires spécifiques .

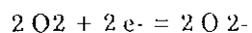
Les principaux radicaux libres oxygénés sont:

- les radicaux peroxydes $ROO\cdot$,
- les radicaux alcoxydes $RO\cdot$.

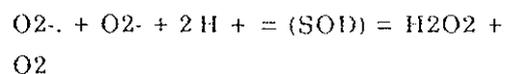
La formation d'un radical peroxyde à partir de l'action d'un radical libre correspond à la phase d'initiation d'une réaction en chaîne entraînant la désorganisation de la membrane cellulaire. En effet le radical $ROO\cdot$ va chercher à se stabiliser à son tour en arrachant un hydrogène à un autre acide gras insaturé. Il se forme alors un hydroperoxyde $ROOH$, également instable : c'est la phase de propagation .

En présence de fer et d'oxygène, les hydroperoxydes sont convertis en radicaux alcoxy $RO\cdot$ également très réactifs, qui peuvent relancer une autre chaîne de peroxydation . La réaction en chaîne s'arrête spontanément, en l'absence d'oxygène, lorsque deux radicaux libres s'associent. Elle peut être également bloquée lorsque le radical rencontre un "piègeur" comme l'alpha-tocophérol.

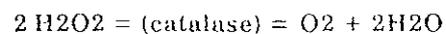
REACTION N° 1



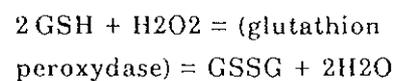
REACTION N° 2



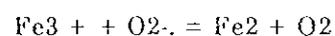
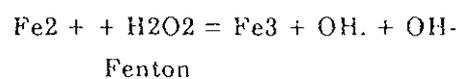
REACTION N° 3



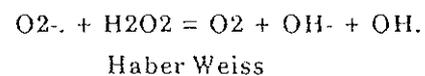
REACTION N° 4



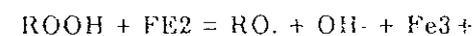
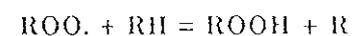
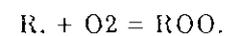
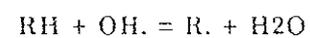
REACTION N° 5



REACTION N° 6



REACTION N° 7



REACTION N° 8

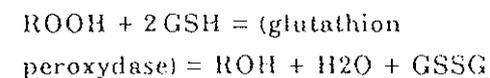


figure 3 (58): REACTIONS RADICALAIRES

| |
|--|
| <i>1 — Réactions d'auto-oxydation</i> |
| Flavines (FADH ₂ , FMNH ₂) Quinones Composés aromatiques nitrés Mélanine Groupements thiols Tétrahydroptéridines |
| <i>2 — Réactions enzymatiques et protéines</i> |
| Aldéhyde oxydase Cytochrome P450 Ferrédoxine (P 430) Hémoglobine Indolamine dioxygénase NADH — Cytochrome b 5 réductase NADH — Cytochrome P 450 réductase Peroxydase Tryptophane dioxygénase Xanthine oxydase |
| <i>3 — Origines cellulaires</i> |
| Chaîne respiratoire mitochondriale et microsomale Photosystème des chloroplastes Leucocytes et macrophages lors de la phagocytose |
| <i>4 — Facteurs environnementaux</i> |
| Ultra-violets Ultrasons Rayons X Rayons γ Ions métalliques Médicaments |

figure 4 (57) : DIFFERENTES SOURCES DE RADICAUX SUPEROXYDES

1.2. ORIGINE DES RADICAUX LIBRES IN VIVO. (22) (21) (58)

Des radicaux libres sont produits en permanence dans l'organisme, dans les mitochondries ou lors de phagocytose. Ils peuvent également se former au cours de mécanismes de détoxification après exposition à certaines espèces chimiques ou sous l'effet de radiations. Mais l'essentiel de leur production est associé au métabolisme cellulaire de l'oxygène et aux réactions d'oxydoréduction .

1.2.1. Les mécanismes physiologiques.

1.2.1.2. LA CHAINE RESPIRATOIRE MITOCHONDRIALE.

(22) (39)

Les mécanismes essentiels du catabolisme cellulaire des molécules biologiques comportent tous l'intervention de déshydrogénases spécifiques. Ces enzymes ont pour fonction principale d'arracher des électrons aux substrats de potentiel d'oxydoréduction négatif. Ces électrons, dans des conditions aérobies normales, sont transférés sur l'oxygène, à potentiel positif, grâce à un ensemble de systèmes transporteurs.

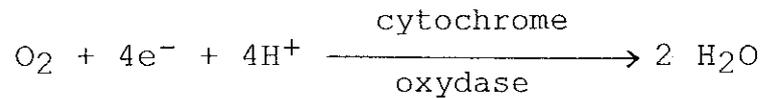
Ces derniers sont rassemblés dans des structures cellulaires hautement spécialisées, les mitochondries, et constituent la chaîne respiratoire.

Le fonctionnement de cette chaîne respiratoire a un double objectif:

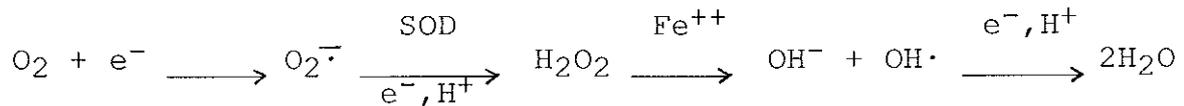
- le transfert d'électrons jusqu'à l'oxygène;
- la récupération de l'énergie libérée au cours de ce transfert, dans des structures chimiques à haut potentiel énergétique. Dans la majorité des cas, cette récupération met en oeuvre un processus de phosphorylation de l'adénosine diphosphate (ADP) en adénosine triphosphate (ATP).

La respiration cellulaire est la principale source d'énergie des cellules vivant en aérobie, sous forme d'ATP. Elle comporte une réduction de l'oxygène en eau ; dans cette réaction les électrons sont déplacés par paire.

L'apparition de radicaux libres à ce niveau est due aux perturbations du transport des électrons. En effet, l'oxygène moléculaire est capable d'accepter quatre électrons pour être réduit en eau et ceci par le biais de la cytochrome oxydase mitochondriale.



Mais pour une faible part, 5%, l'oxygène fait l'objet d'une réduction partielle monovalente avec production de radicaux libres oxygénés superoxydes, de peroxyde d'hydrogène et d'ions hydroxyles.



Les radicaux libres sont donc des produits physiologiques, mais toxiques, de la respiration cellulaire.

1.2.1.3. LA PHAGOCYTOSE (21) (22) (58)

Une autre source de radicaux libres est la phagocytose. La phagocytose est la capacité de certaines cellules (macrophages, polynucléaires neutrophiles) à capturer et ingérer des particules solides inertes ou vivantes du milieu ambiant.

La production de dérivés actifs de l'oxygène est particulièrement importante au niveau des polynucléaires neutrophiles et des macrophages et constitue une des armes majeures de la défense antibactérienne.

La production de radicaux libres est déclenchée par l'activation de récepteurs membranaires du polynucléaire neutrophile:

- récepteurs d'oligosaccharides bactériens (mannose-glucose, β -glucane),
- récepteurs de peptides,
- récepteurs d'anticorps.

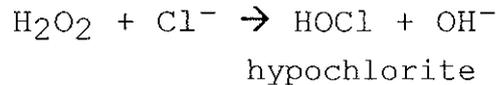
Les récepteurs du complément (Cr_1 et Cr_3) favorisent l'attachement des bactéries mais n'activent pas le métabolisme oxydatif.

La production de radicaux libres au niveau des macrophages est stimulée par l'interféron γ , dans le cadre d'une réponse immunitaire mettant en jeu les lymphocytes T. Le macrophage peut aussi être activé par des lipopolysaccharides bactériens. La stimulation de ces phagocytes constitue un des éléments principaux du phénomène inflammatoire.

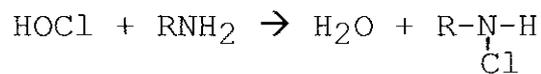
Cette stimulation s'accompagne d'une accélération de leur consommation d'oxygène appelée "choc respiratoire". Elle débute par l'activation du complexe NaDPH-oxydase qui réduit l'oxygène en anion superoxyde. Cette enzyme membranaire exige un apport important en coenzyme réduit, NaDPH, assuré par le cycle des pentoses.

Il y a ensuite production de peroxyde d'hydrogène par dismutation de $O_2\cdot$.

La myéloperoxydase des leucocytes polynucléaires, en présence d'ions Cl^- , transforme le peroxyde d'hydrogène en hypochlorite, produit très oxydant qui attaque les parois bactériennes.



L'hypochlorite réagit aussi avec des amines (glucosamine, taurine,...), présentes dans le sang, pour donner naissance à des chloramines et avec le peroxyde d'hydrogène pour former de l'oxygène singulet.



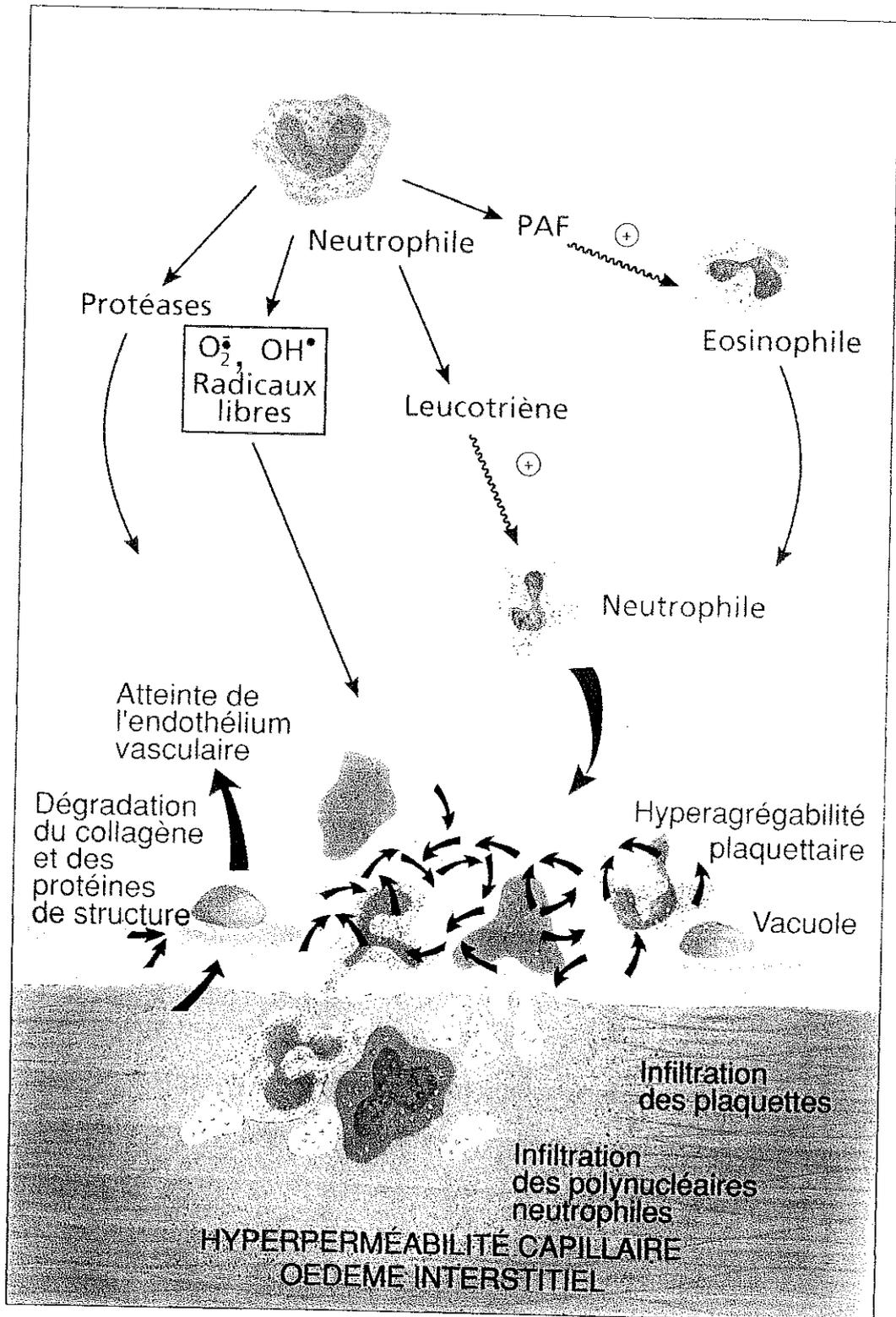
L'hypochlorite peut également former du chlorure d'amine en présence de l'ion NH_4^+ :



Le chlorure d'amine a une action oxydante importante notamment sur les fonctions thiols (-SH) en les transformant en sulfoxydes. Des molécules importantes dans les phénomènes antiradicalaires, comme le glutathion, peuvent être ainsi réduites.

Au bout du compte, les leucocytes activés produisent des composés très toxiques (l'ion superoxyde, le peroxyde d'hydrogène, l'hypochlorite et les chloramines) qui libérés dans les phagosomes vont détruire le matériel phagocyté. Cependant le phagocyte est souvent lui même détruit par le stress oxydatif avec formation de polynucléaires altérés en

Réaction inflammatoire : conséquences de la libération des radicaux libres



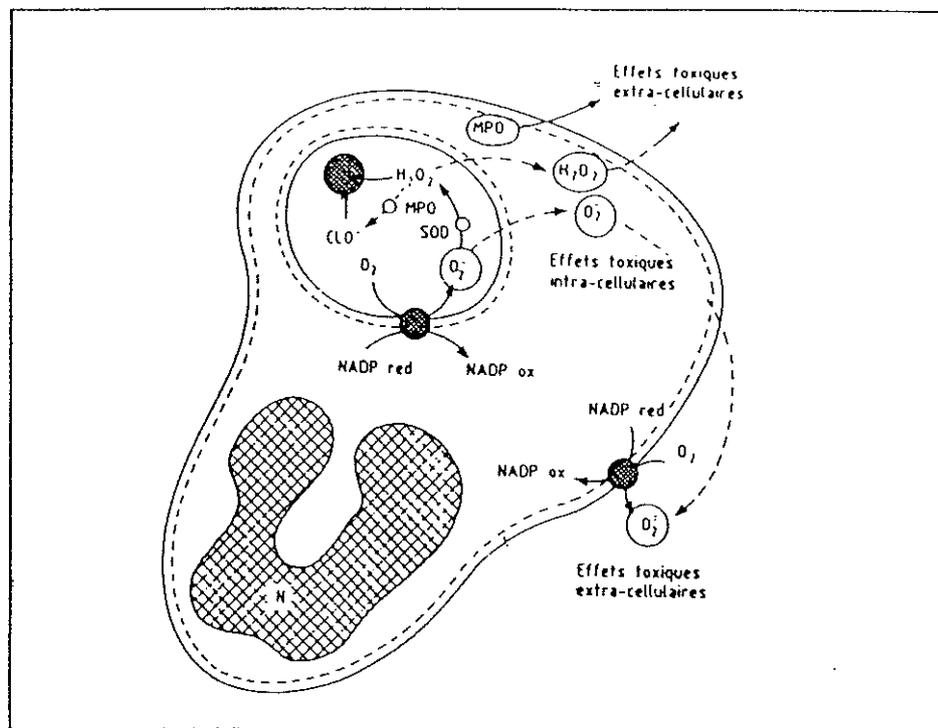
amas et présence de pus. Les mêmes mécanismes sont à l'origine de lésions tissulaires dans certaines maladies à complexes immuns comme les vascularites.

Remarque: l'incapacité des polynucléaires à synthétiser le radical superoxyde induit une résistance très diminuée aux infections par germes producteurs de catalases responsables de la mort des malades atteints de granulomatose septique chronique.

figure 6 (16) :

PRODUCTION D' O_2^- PAR LES PHAGOCYTES :

ELEMENT CLE DANS LE MECANISME DE DEFENSE CONTRE LES BACTERIES



⊙ = NADPH oxydase

MPO = Myeloperoxydase (neutrophiles, monocytes et macrophages)

SOD = Superoxyde - dismutase

1.2.1.3. LA SYNTHÈSE DES PROSTAGLANDINES (3) (22)

L'action de la phospholipase A₂ sur les phospholipides membranaires donne naissance à l'acide arachidonique, acide gras insaturé à 20 carbones et 4 doubles liaisons.

Le métabolisme de l'acide arachidonique peut suivre deux voies :

- la voie de la cyclooxygénase qui conduit à la formation des prostaglandines G, H, D et E et des thromboxanes TXA₂ et TXB₂,

- la voie de la lipoxygénase qui mène aux leucotriènes .

Ces deux enzymes sont situées au niveau de la membrane plasmique des cellules.

La prostaglandine E₂ intervient dans les réactions inflammatoires. Les thromboxanes A₂ et B₂ ont un rôle important dans l'agrégation plaquettaire. Les leucotriènes sont de puissants agents anti-inflammatoires.

Deux précurseurs participent à la biosynthèse des prostaglandines : l'acide arachidonique et l'oxygène.

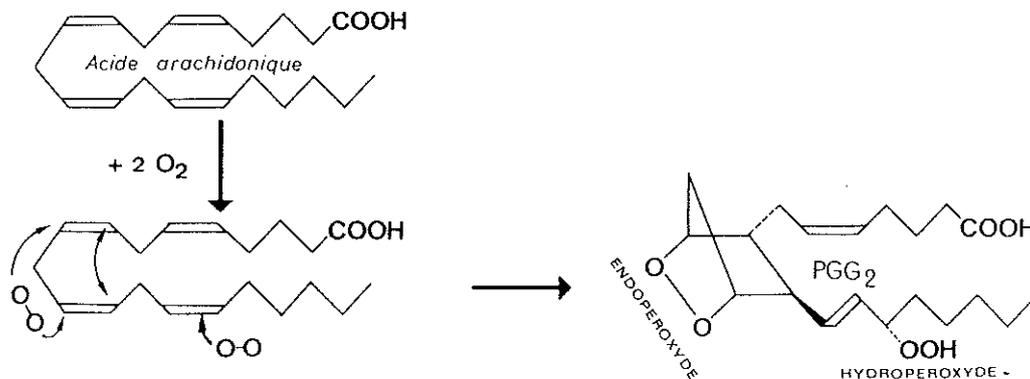
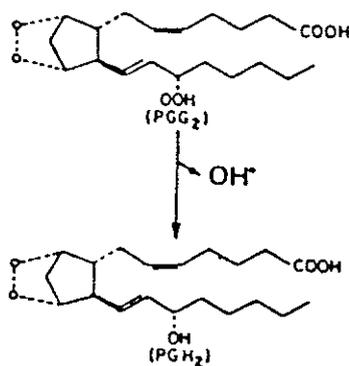


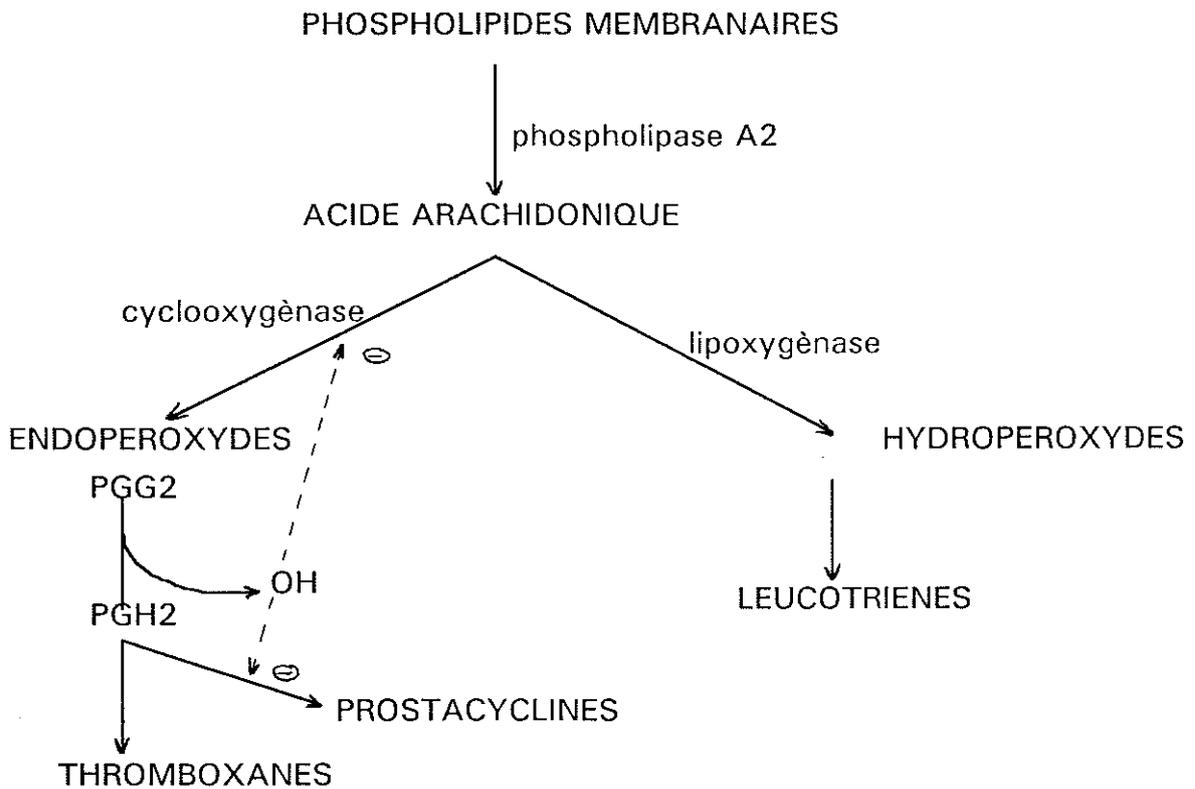
figure 7 (3) : biosynthèse de PGG₂ à partir de l'acide arachidonique et de 2 molécules d'oxygène.

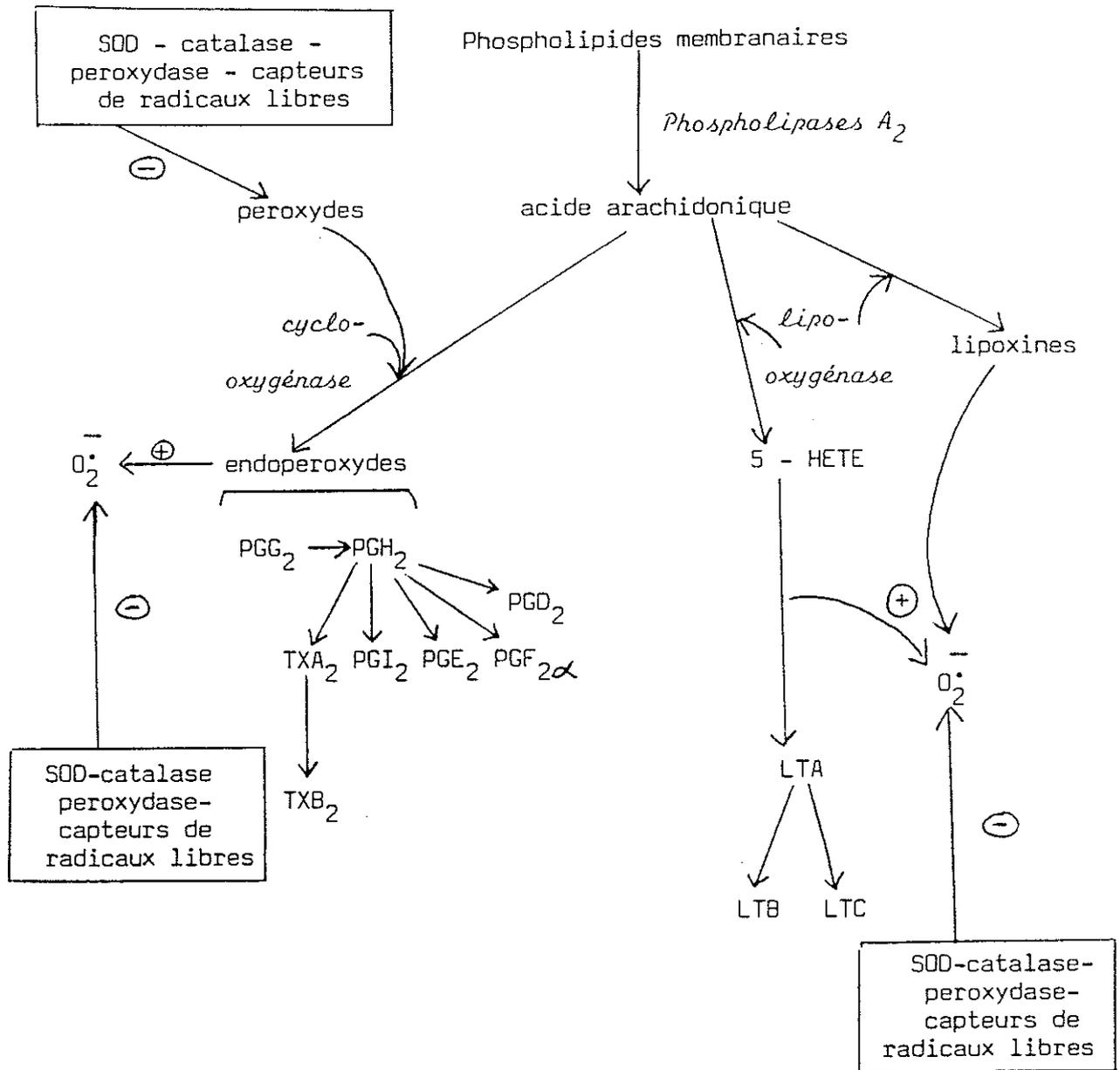
Il a été admis au début des recherches sur la biosynthèse des prostaglandines, que l'oxygène était utilisé sous la forme non activée, véhiculé par les hématies. Paradoxalement, divers travaux ont fait état d'une augmentation de la biosynthèse des prostaglandines au cours de l'hypoxie tissulaire; cette constatation a conduit certains auteurs à supposer que l'oxygène participant à cette biosynthèse est préalablement activé sous forme d'oxygène singulet pouvant provenir de la décomposition de peroxydes lipidiques préexistants. Ces auteurs estiment que le fonctionnement de la cyclo-oxygénase requiert un activateur qui n'est autre qu'un peroxyde lipidique : celui-ci pourrait intervenir en activant l'oxygène.

De plus, des radicaux hydroxyles $\text{OH}\cdot$ peuvent être produits au cours de la synthèse des prostaglandines. En effet la transformation de l'acide arachidonique en endoperoxydes cycliques sous l'effet de la cyclooxygénase s'accompagne d'une production de radicaux libres $\text{OH}\cdot$ (au niveau de la transformation de la prostaglandine G_2 en prostaglandine H_2).



Ces radicaux libres interviendraient secondairement sur le métabolisme de l'acide arachidonique en inhibant la cyclooxygénase et en privilégiant la voie du thromboxane A₂, ayant une action pro-agrégante, sur celle de la prostacycline (prostaglandine I₂) antiagrégante et vasodilatatrice.





HETE : Hydroxy - eicosa - tétraénoate

LT : Leucotriène

PG : Prostaglandine

TX : Thromboxane

figure 8 (57) : BIOSYNTHESE DES DERIVES DE L'ACIDE ARACHIDONIQUE

1.2.2. Les rayonnements. (11) (23) (37)

Les milieux biologiques sont constitués d'atomes de numéro atomique faible (C, H, O, ...) et les interactions que présentent les particules ionisantes sont essentiellement des collisions avec les électrons.

Selon l'énergie communiquée à l'électron, la molécule à laquelle il appartient est ionisée, excitée ou acquiert un supplément d'énergie thermique.

1.2.2.1. MODE D'ACTION DES RAYONNEMENTS.

DUTREIX et Coll. schématisent les cellules en les assimilant à une solution aqueuse. Les rayonnements peuvent avoir deux actions, directe et indirecte :

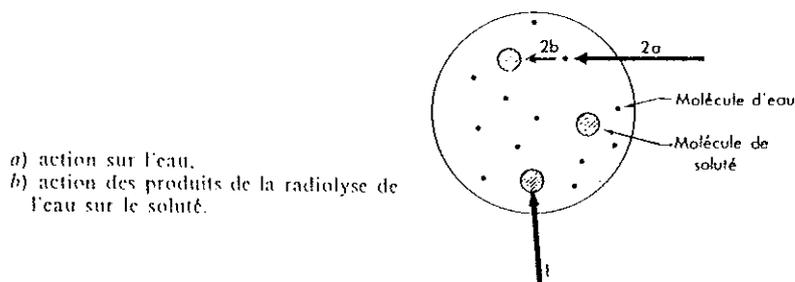


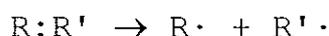
figure 9 (23) : MODE D'ACTION DES RAYONNEMENTS ; 1 = action directe du rayonnement sur le soluté, 2 = action indirecte.

- une action directe sur les molécules de soluté, provoquant des lésions au niveau de ces molécules;

- une action indirecte due à l'interaction avec les solutés des produits de la radiolyse de l'eau.

1.2.2.1.1. Action directe :

Les molécules excitées et ionisées ont un excédent d'énergie qui compromet leur stabilité. Cet excédent d'énergie peut être expulsé soit par émission de photons h.γ., de longueur d'onde inférieure à celle de la lumière excitatrice, on observe alors le phénomène de fluorescence, soit par rupture d'une liaison covalente et scission de la molécule en deux radicaux.



Nous pouvons citer deux exemples de l'action directe des rayonnements productrice de radicaux libres :

- la radiolyse de l'eau,
- la photolyse.

① LES RAYONNEMENTS IONISANTS : LA RADIOLYSE

La radiolyse est l'ensemble des transformations chimiques provoquées dans la matière par l'absorption de l'énergie d'un rayonnement ionisant.

L'exposition à des radiations à haute énergie (ex.: explosions atomiques) entraîne des coupures d'une ou plusieurs liaisons.

Qu'il s'agisse de particules chargées (α, β, protons, deutérons) ou non (neutrons), ou encore de rayonnements électromagnétiques, la radiolyse résulte d'un transfert d'énergie à des molécules ou à des atomes.

Plus le transfert d'énergie est grand, plus la production de radicaux libres est grande.

La radiolyse de l'eau est le résultat de l'action directe des rayonnements sur les molécules d'eau qui peuvent être soit ionisées soit excitées.

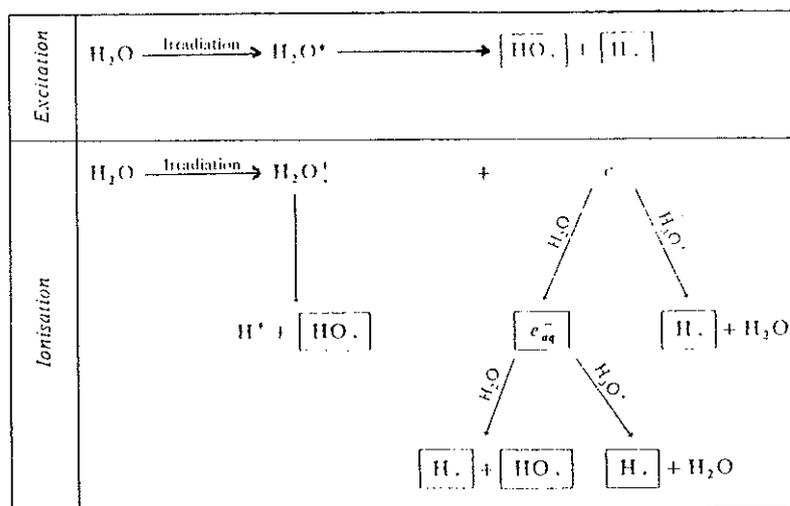


figure 10 : LA RADIOLYSE DE L'EAU (23)

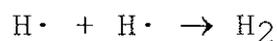
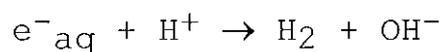
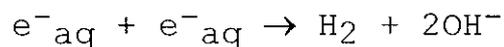
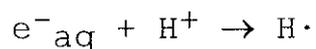
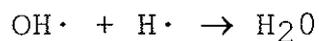
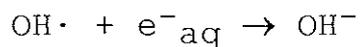
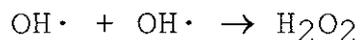
Au total, elle conduit à la formation de radicaux très réactifs :

$\text{OH}\cdot$: ion hydroxyle oxydant,

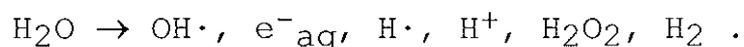
$\text{H}\cdot$: hydrogène naissant,

e_{aq}^- : électron aqueux réducteur. Ces électrons aqueux émis lors de l'ionisation de l'eau ont perdu leur énergie cinétique par collisions successives et finissent piégés par des molécules d'eau fortement polaires.

Les produits de la radiolyse peuvent ensuite se recombiner différemment entre eux :



Globalement, le bilan de la radiolyse de l'eau est :



② La photolyse.

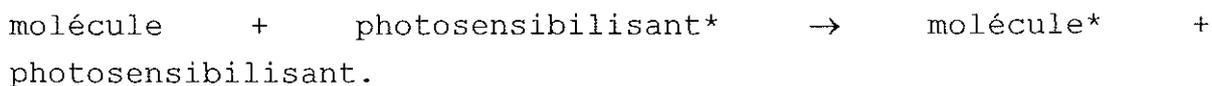
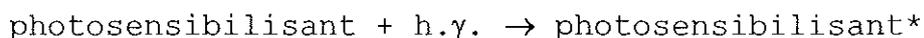
La photolyse est la coupure d'une ou plusieurs liaisons covalentes, dans une entité moléculaire, par suite de l'absorption de lumière, ou d'un processus dans lequel une telle coupure est essentielle.



L'absorption d'un photon $h\nu$ par un atome ou une molécule à l'état fondamental s_0 , va accroître son niveau d'énergie à un état supérieur, c'est à dire sur une orbitale plus externe.

Certaines molécules sont insensibles à la lumière excitatrice, mais d'autres substances photosensibilisantes sont

capables d'absorber les photons de la lumière excitatrice et de transmettre leur excitation à ces molécules :

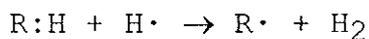
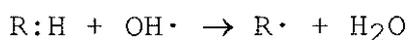


exemple de substances photosensibilisantes :

- chlorophylle,
- éosine Y,
- bleu de méthylène,
- hématoportoporphyrine, ...

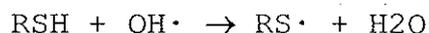
1.2.2.1.2. action indirecte.

L'action indirecte des rayonnements est due à l'interaction secondaire des produits de la radiolyse de l'eau. En effet, les radicaux formés vont diffuser et agir sur les molécules organiques R:H :



Il est à noter qu'en général, les radicaux libres provenant d'une radiolyse sont plus toxiques que ceux issus d'une simple réaction biochimique.

Il existe des composés radioprotecteurs qui peuvent diminuer l'effet de l'irradiation. Ils contiennent des groupements SH ou NH₂ (ex.: la cystéamine) qui captent les radicaux OH· et forment le radical RS· peu réactif :



Cependant, ils ne sont pas utilisés en pratique car ils sont toxiques.

1.2.2.2. ORIGINE DES RAYONNEMENTS.

La première source de rayonnements est le soleil. Il produit un rayonnement intense mais seule une partie arrive à la surface de la terre. En effet, grâce à la couche d'ozone stratosphérique, les rayons X et gamma, dangereux pour l'homme, sont arrêtés. En revanche, les radiations de longueur d'onde comprise entre 290 et 2500 nm passent : U.V.A., U.V.B., visibles, infrarouge.

Les U.V.B. (290-320 nm), bien qu'indispensables à la synthèse des vitamines D, sont les plus dangereux pour l'homme. Ils sont à l'origine des "coups de soleil" ou erythème actinique et des altérations de l'ADN. En effet, les U.V.B. réagissent avec la phéomélanine pour aboutir à la formation de radicaux libres.

Des peaux trop souvent exposées au soleil subissent un vieillissement plus rapide et plus précoce.

Les U.V.A sont également néfastes car ils potentialisent les cancers induits par les U.V.B.. En effet, les U.V.B. peuvent provoquer des cancers cutanés : les radicaux libres créés à partir de ces radiations (par rupture de liaison) vont entraîner des altérations de l'ADN induisant des mutagenèses létales sur les cellules saines.

1.2.3. Le métabolisme.

Les radicaux libres peuvent également être produits au cours de certains métabolismes comme les réactions de détoxification ou certaines réactions enzymatiques.

1.2.3.1. LES REACTIONS DE DETOXICATION

(9) (37) (44)

Les réactions oxydatives de détoxification sont également productrices de radicaux libres.

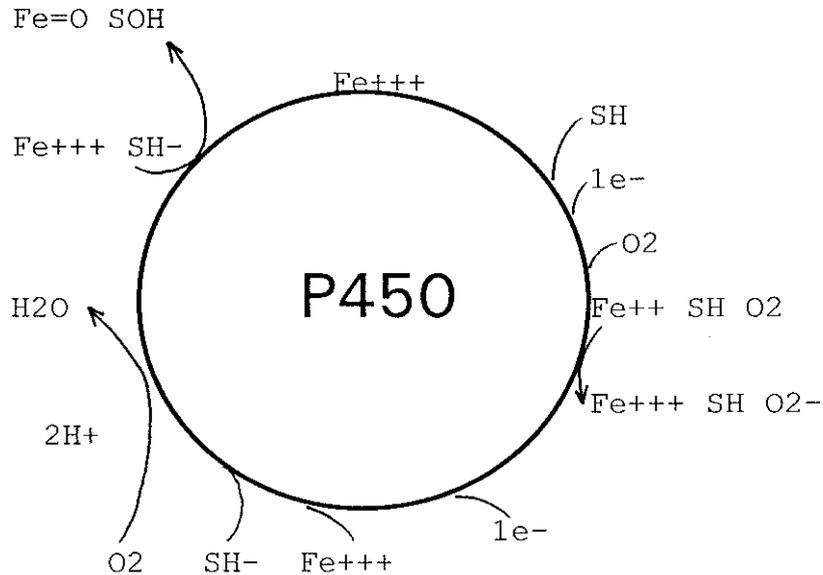
Les peroxysomes sont des organites cellulaires qui jouent un rôle important dans la détoxification de nombreuses molécules. Ils sont à l'origine d'une production radicalaire par transformation de l'oxygène moléculaire en anion superoxyde et en peroxyde d'hydrogène.

Les cytochromes P450 sont des protéines qui fonctionnent comme les oxydases par transferts monoélectroniques, à l'origine d'une production radicalaire, et qui participent également à la détoxification de certains produits (anesthésiques, pesticides, polluants,...) ainsi qu'à la biosynthèse de stéroïdes (cortisol, aldostérone...).

Le cytochrome P450 fonctionne de la façon suivante. La protéine reçoit dans l'ordre :

- le substrat,
- un premier électron,
- l'oxygène diatomique.

Le cytochrome P450 reçoit alors le deuxième électron, puis exerce l'hydroxylation proprement dite.



-étape n°1 : le cytochrome est à l'état oxydé

-étape n°2 : il reçoit successivement le substrat, un électron et l'oxygène. Le fer est réduit.

-étape n°3 : l'oxygène récupère l'élément réducteur, passant à l'état de superoxyde $\text{O}_2^{\cdot -}$.

-étape n°4 : arrivée du deuxième électron.

le superoxyde est de nouveau réduit pour passer au stade peroxyde.

-étape n°5 : la liaison entre les atomes d'oxygènes est rompue, éliminant une molécule d'eau et produisant une entité très oxydante appelée oxène (Fe=O).

Le cytochrome P450 est constitué de plusieurs isoenzymes possédant le même groupement hémique mais différentes apoprotéines. Ces isoenzymes différentes ont des activités différentes envers différents substrats. Le cytochrome P450

est capable de métaboliser un très grand nombre de substances exogènes et endogènes. Alors que certains médicaments sont transformés en métabolites stables, d'autres médicaments forment des métabolites réactifs. Ces intermédiaires réactifs peuvent être formés par trois types de réactions :

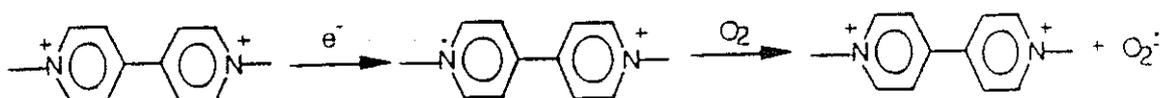
1) le cytochrome P450 peut oxyder le médicament en un métabolite réactif électrophile (ex. oxydation du paracétamol en une quinone-imine réactive ou formation d'époxydes instables à partir d'arènes ou d'alcènes).

2) le cytochrome P450 peut aussi catalyser la déshalogénéation de divers alcanes halogénés (tels que le tétrachlorure de carbone ou l'halothane) en radicaux libres.

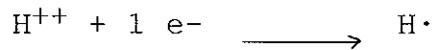
3) la NADPH-cytochrome P450 réductase, elle-même, peut réduire quelques médicaments en des radicaux libres (formation par exemple de radicaux semiquinones à partir de quinones, formation de radicaux nitro anions à partir de nitrarènes). Ces radicaux peuvent à leur tour réduire l'oxygène moléculaire en un anion superoxyde.

Un autre exemple de toxiques est les herbicides comme le paraquat et le diquat. En principe les herbicides agissent en inhibant le transport des électrons au niveau des chloroplastes des plantes ou en interférant avec la synthèse des caroténoïdes. Mais dans le cas de ces deux herbicides c'est différent. En effet, grâce à la résonance paramagnétique électronique, on a pu observer que le paraquat et le diquat produisaient des radicaux libres en acceptant des électrons des chaînes de transport électroniques.

Des herbicides du type DIQUAT ou PARAQUAT peuvent fournir des $O_2^{\cdot -}$:



1) formation de l'ion superoxyde :



2) régénération de l'herbicide :



Les chloroplastes possèdent des Superoxydes Dismutases qui vont produire du peroxyde d'hydrogène, mais n'ont pas de catalases c'est pourquoi ce dernier est pris en charge par le cycle ascorbate/glutathion rapidement oxydé : la photosynthèse est alors arrêtée.

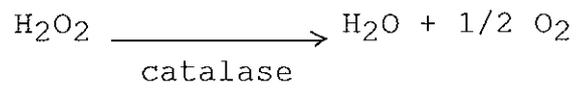
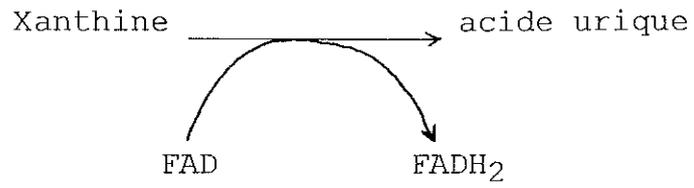
Ces herbicides sont également très toxiques pour les animaux et l'homme.

1.2.3.2. REACTIONS ENZYMATIQUES. (21) (23)

Diverses enzymes produisent des radicaux libres : c'est le cas des oxydases comme la xanthine oxydase. Les oxydases produisent en majorité du peroxyde d'hydrogène, mais elles libèrent également du superoxyde.

La xanthine oxydase ou déshydrogénase est une enzyme de dégradation des bases puriques, qui fonctionne avec deux FAD (coenzyme Flavine-Adénine-Dinucléotide) et deux atomes de fer par molécule d'apoenzyme (le fer change de valence au cours de la catalyse : $\text{Fe}^{++} \rightarrow \text{Fe}^{+++}$).

Les hydrogènes fixés sur le FAD de la xanthine oxydase seront directement transmis à l'oxygène. Il se forme du peroxyde d'hydrogène :



I. Formes actives de O₂

A. Mécanismes enzymatiques : → O_2^-

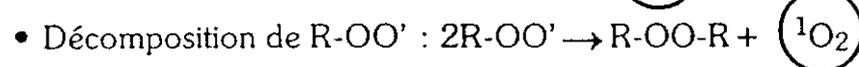
- Activation de la NADPH oxydase (PMN, monocytes-macrophages, éosinophiles, plaquettes, mastocytes)



- Réduction monoélectronique de O₂ : mitochondries, Cyt P450 (foie) cs, xanthine oxydase

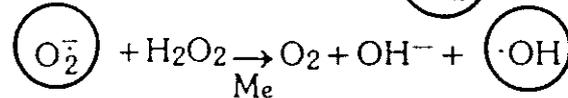
B. Mécanismes non enzymatiques

- Activation photochimique de O₂ (→ $^1\text{O}_2$)



- Radiolyse de l'eau (→ $\cdot\text{OH}$)

- Réaction secondaire de O_2^- (réaction d'Haber Weiss)



II. Radicaux libres oxygénés (R-O·, R-OO·)

A. Formation *contrôlée* de R-OO· : activités des cyclo-oxygénase et lipoxygénases

B. Formation *non contrôlée* de R-O·, R-OO·, secondaire :

- à la production de O_2^-
- au métabolisme de certains xénobiotiques

figure 11 (21) : MECANISMES DE FORMATION DES RADICAUX LIBRES

| FACTEURS AUGMENTANT LE TAUX DE RADICAUX LIBRES (d'après A Favier (27 avril 1986) Radicaux libres et oligo-éléments : 4 ^{es} Journées de médecine fonctionnelle, Paris) | | |
|--|--|--|
| Augmentation de la formation intracellulaire | Augmentation de la production extracellulaire | Augmentation intra- et extracellulaire |
| <ul style="list-style-type: none"> - Hyperoxygénation : oxygène hyperbare, hyperoxygénation par trou, hyperplasie rétrolentale, dysplasie pulmonaire du nouveau-né, reperfusion (arrêt cardiaque, transplantation) - Hypo-oxygénation : choc cérébral, infarctus du myocarde - Chimique : paraquat C Cl₄, benzopyrène, nitrofurantoïne - Anémie hémolytique médicamenteuse : phénylhydrazine - Déficit en vitamines E et A, Se, Zn - Vieillesse | <ul style="list-style-type: none"> - Inflammation : aiguë : brûlures, infections chronique : arthrite rhumatoïde, colites ulcératives, vascularites - Troubles immunologiques : maladies autoimmunes | <ul style="list-style-type: none"> - Rayonnement : UV, radiothérapie, mal des rayons - Carcinogènes chimiques : polluants atmosphériques, ozone NO NO₂, tabac |

figure 12 (21)

2. LES SYSTEMES DE PROTECTION

En dehors des états pathologiques ou du vieillissement, la toxicité des radicaux libres ne s'exerce pas: il existe donc des systèmes protecteurs.

L'organisme dispose, en effet, de moyens efficaces pour défendre les cellules, de systèmes de limitation de la production radicalaire à un niveau raisonnable dans les tissus mais aussi de mécanismes de réparation et d'adaptation rapide à une surproduction endogène ou exogène brutale, appelée "Choc Oxydant".

Les moyens de défense sont de nature très variée selon les compartiments cellulaires. Ces protecteurs peuvent être séparés en deux catégories:

- les systèmes de défense ENZYMATIQUES: Superoxyde Dismutase (SOD), Catalase (CAT), Glutathion Peroxydase (GPx), Thioredoxine réductase,...

- les substances biologiques non enzymatiques: la vitamine E, le glutathion,...

| FORMATION DES RADICAUX LIBRES OXYGÉNÉS ET SYSTÈMES NATURELS DE PROTECTION | | |
|--|--|---|
| Oxydant | Mécanisme de formation | Système protecteur |
| O_2^- (anion superoxyde) | Enzymatiques : NADPH oxydase, réduction monoélectronique de O_2 , mitochondries, cytochrome P450, xanthine oxydase | Superoxyde dismutase |
| H_2O_2 (peroxyde d'hydrogène) | Dismutation de O_2^- (spontanée ou par la SOD) | Catalase, Se-glutathion peroxydase (glutathion, réductase, G-6 PDG) |
| OH^\cdot (radical hydroxyle) | Radiolyse de l'eau par réaction de H_2O_2 et O_2^- | Acide urique, vitamine C, glutathion, taurine |
| 1O_2 (oxygène singulet) | Activation photochimique de O_2 | Caroténoïdes |
| ROO^\cdot (radical peroxy) | Formation contrôlée de ROO^\cdot : activité des cyclo-oxygénases et lipoxygénases | Vitamine E (couplée à la vitamine C), ubiquinones |
| RO^\cdot (radical alcoxy) | Formation non contrôlée de RO^\cdot et ROO^\cdot : secondaire à la production de O_2^- | |
| $ROOH^\cdot$ (radical hydroperoxy) | - | Se-glutathion peroxydase et glutathion |

figure 13 (21)

2.1. PREMIERE LIGNE DE DEFENSE : LES SYSTEMES DE PROTECTION ENZYMATIQUES. (7) (22) (26) (44)

2.1.1. Les enzymes de destruction des superoxydes.

2.1.1.1. Les SUPEROXYDES DISMUTASES :SOD

Une superoxyde dismutase est une métallo enzyme contenant selon les cas du fer, du cuivre, du manganèse ou du zinc. Elle transforme le radical superoxyde $O_2\cdot$ en eau oxygénée et en oxygène moléculaire sans consommer ni d'énergie ni de cofacteur.

Cette réaction d'oxydoréduction s'appelle une dismutation car elle donne un composé oxydé et un composé réduit dans la même réaction :



Cette réaction peut se produire spontanément à pH 7, mais elle est accélérée d'un facteur 10 en présence de SOD.

Nous connaissons actuellement trois sortes de SOD:

- les SOD type Cu-Zn (plasma),
- les SOD à Mn (bactéries, mitochondries),
- les SOD à Fe (périplasma des bactéries).

Leur mode d'action est similaire: le métal du site actif est oxydé ou réduit lors de sa rencontre avec l'anion superoxyde.

Il oscille entre l'état +II et l'état +III pour la FeSOD et la MnSOD et entre l'état +I et l'état +II pour la CuSOD.

① les SOD type Cu-Zn.

• la Cu-ZnSOD cytoplasmique :

C'est une protéine de masse moléculaire égale à 35000 daltons et contenant 0,38% de cuivre. Elle comporte deux sous unités identiques, contenant chacune un atome de cuivre et un atome de zinc liés au même groupement imidazole du site actif.

Elle est codée par un gène situé sur le chromosome 21 (21q22).

Le cuivre est absolument nécessaire à son activité, alors que le zinc ne semble pas participer à la réaction mais stabilise l'enzyme.

• la SOD extra cellulaire :

Elle est sécrétée dans les liquides biologiques (plasma, lymphe, liquide synovial), mais la majeure partie se trouve dans les tissus.

Elle contient également du cuivre et du zinc mais à la différence de la SOD cytoplasmique, elle est tétramérique. Cette enzyme se présente elle même sous trois formes A, B et C, qui se distinguent par leurs différence d'affinité pour l'héparine et les glucosaminoglycanes en général.

La forme C qui constitue la quasi totalité de la SOD extra cellulaire est sécrétée par les fibroblastes et les cellules gliales, puis se lie de façon réversible aux protéoglycanes des membranes cellulaires et de la matrice interstitielle. Elle pourrait protéger ainsi les cellules et les protéines de soutien sans interférer avec le système de défense contre les micro-organismes qui ne fixent pas la SOD extra cellulaire.

② Les SOD à Manganèse

La SOD humaine mitochondriale est un tétramère dont chaque monomère contient un atome de manganèse. Elle est codée par un gène situé sur le chromosome 6.

Cette enzyme d'une masse moléculaire supérieure est beaucoup plus sensible à la dénaturation que la SOD Cu-Zn très résistante.

③ Les SOD à fer

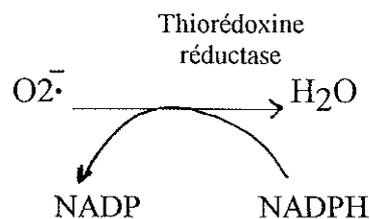
Cette enzyme est présente chez les bactéries et les végétaux mais n'est retrouvée dans aucun tissu animal.

2.1.1.2. La céruloplasmine.

La céruloplasmine est une protéine sérique jouant un rôle dans l'inflammation. Elle peut également catalyser la dismutation de l'ion superoxyde mais avec moins d'efficacité que les SOD.

2.1.1.3. La thiorédoxine réductase.

Elle semble active sur $O_2^{\cdot-}$, mais également sur H_2O_2 .



2.1.1.4. L'indolamine 2,3 dioxygénase.

Cette enzyme utilise l'anion superoxyde pour oxyder le L-tryptophane en formyl-cynurénine, dans le cytosol des kératinocytes.

L'action de la SOD doit obligatoirement être couplée à celle des catalases et peroxydases afin d'éviter l'accumulation du peroxyde d'hydrogène.

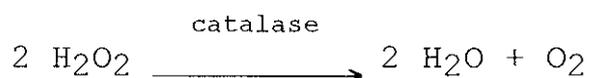
2.1.2. Les enzymes de destruction des peroxydes.

Bien que le peroxyde d'hydrogène ne soit pas un radical libre, il est extrêmement réactif et s'il n'est pas dégradé à temps il va pouvoir générer le radical hydroxyl (le plus réactif des radicaux libres de l'oxygène).

La cellule dispose de plusieurs moyens pour l'éliminer.

2.1.2.1. LES CATALASES

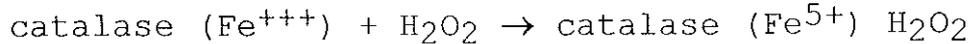
Les catalases sont des enzymes ferriporphyriniques catalysant la libération d'oxygène moléculaire à partir du peroxyde d'hydrogène :



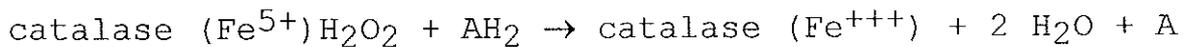
Elles sont présentes dans un grand nombre de tissus mais sont particulièrement abondantes dans le foie et les globules rouges. Elles se localisent dans des organites cellulaires, les peroxysomes (inclusions cytoplasmiques) jouant un rôle important dans la détoxification de divers produits. Les cellules sans peroxysomes et donc sans catalase seront les plus sensibles à la peroxydation, c'est le cas des cellules nerveuses.

Ce sont des molécules composées de quatre sous unités identiques. Chaque sous unité renferme un ion Fe^{III} , logé dans un noyau héminique identique à celui de l'hémoglobine (protoporphyrine IX) et une molécule de NADPH.

Elles agiraient par le mécanisme suivant:



La catalase peut également catalyser l'oxydation d'autres substrats exogènes, comme l'hydroxylamine, l'acide formique, le méthanol et l'éthanol :



Tous les organismes aérobies possèdent une catalase mais son absence, suite à un accident d'ordre génétique, peut être compensé, au moins partiellement, par la glutathion peroxydase. De plus les catalases sont relativement peu efficaces à faibles concentration de peroxydes, alors que les peroxydases peuvent agir sur de faibles doses de H_2O_2 ; quand la concentration en peroxydes est importante, c'est la catalase qui agit plus rapidement.

2.1.2.2. LES PEROXYDASES

① Les glutathions peroxydases à sélénium : Se-GPx

Ce sont des enzymes cytosoliques et intramitochondriales. Elles sont constituées par quatre sous unités identiques contenant chacune un atome de Sélénium. Cet atome de sélénium fixé à la chaîne peptidique et incorporé sous forme de sélénocystéine dans la séquence primaire par un mécanisme complexe :

l'ARNt (ARN de transfert) de la sérine porte un anti-codon inhabituel phosphorylé. Le phosphore est ensuite échangé contre du sélénure d'hydrogène par des mécanismes enzymatiques. Ainsi la sélénocystéine est incorporée à une place précise de la séquence primaire et non à celle de n'importe quelle cystéine.

Au cours du fonctionnement de l'enzyme, le sélénium passe par plusieurs degrés d'oxydation différents.

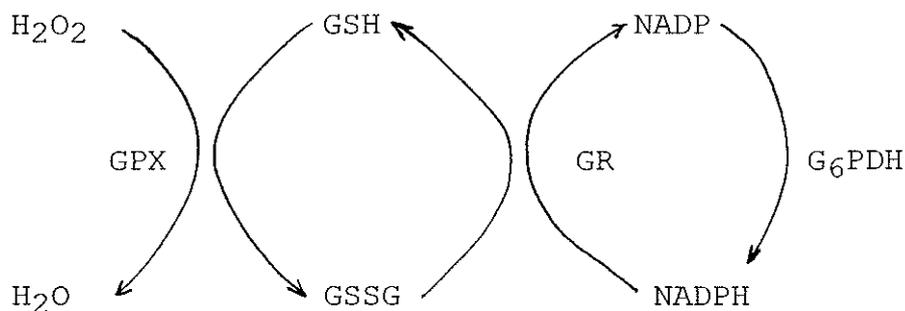
Cette enzyme dégrade la plus grande partie du peroxyde d'hydrogène en le transformant, en présence de glutathion réduit, en eau et en glutathion oxydé.



Contrairement à l'action des SOD, énergétiquement "neutres", l'activité de la Se-GPx est métaboliquement "coûteuse". En effet, le fonctionnement de l'enzyme nécessite un flux de glutathion recyclé et la régénération du glutathion réduit, dont les cellules n'ont qu'un capital limité, se fait aux dépens du glucose-6-phosphate.

Le glutathion oxydé est réduit par la glutathion réductase. Cette réduction consomme du NADPH qui est lui même régénéré grâce à la glucose 6-phosphate déshydrogénase alimentée par la voie des pentoses phosphates.

Le rôle de la glutathion peroxydase à sélénium est très importante dans la plupart des tissus où elle réalise la quasi totalité de l'élimination de H_2O_2 , comme dans les globules rouges ou les plaquettes. Dans le foie elle participe pour 70% de la réduction des peroxydes organiques et plus de 94% de H_2O_2 .



GR: glutathion reductase, G6PDH: glucose-6-phosphate déshydrogénase, GSH: glutathion réduit, GSSG: glutathion oxydé

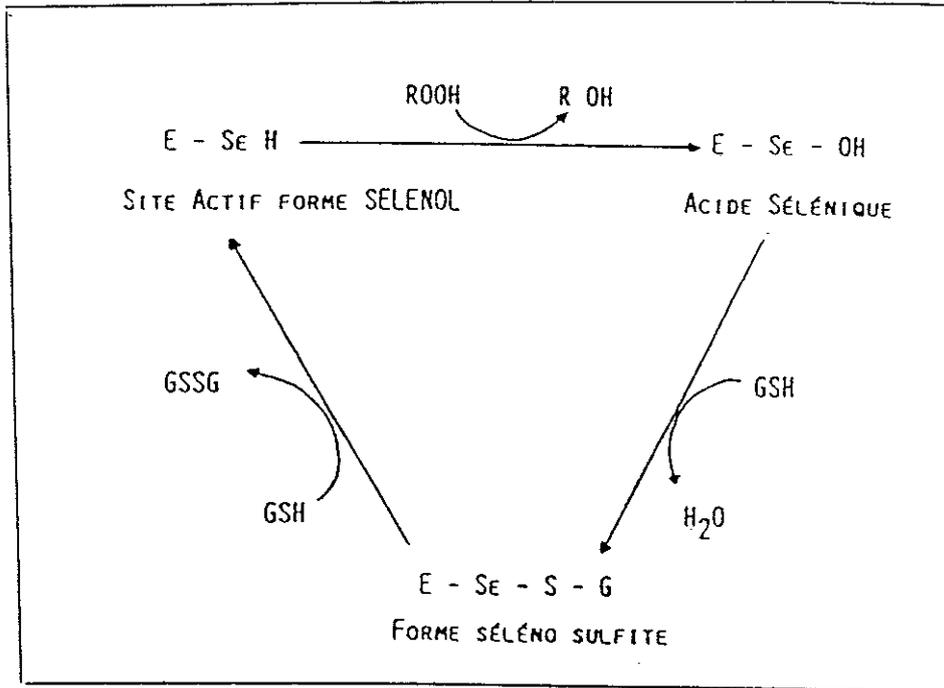


figure 14 (57): Mécanisme d'action
de la glutathion peroxydase

② Les glutathions transférases : GTr

Les glutathion transférases ont un rôle de détoxification d'un grand nombre de composés électrophiles (médicaments, agents cancérigènes...). Elles les conjuguent au glutathion réduit selon la réaction suivante :



Les conjugués du glutathion formé sont ensuite métabolisés par coupure du glutamate et du glycolle et acétylation du groupe thiol libre de la cystéine. Les dérivés acides mercapturiques résultant sont excrétés.

Les glutathion transférases ont également une activité peroxydasique mais vis à vis des peroxydes organiques uniquement : elles n'agissent pas sur H_2O_2 .

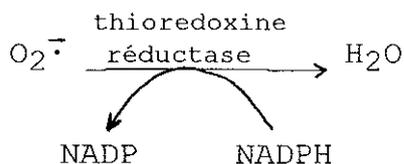


Dans la carence en Sélénium, il y a une baisse d'activité de la Se-GPx et augmentation de l'activité GTr.

③ La thiorédoxine réductase

Cette enzyme est localisée au niveau des membranes des cellules épidermiques.

Elle a une structure proche de la glutathion réductase et consomme également du NADPH et a un cofacteur, le FAD. Elle semble active sur le peroxyde d'hydrogène et sur l'anion superoxyde.



La lutte contre les radicaux libres passe par un effet complémentaire des SOD et des peroxydases.

En effet, le radical superoxyde n'est pas très agressif pour les milieux biologiques, alors que le peroxyde d'hydrogène formé par l'action des SOD à partir de ce radical est très cytotoxique surtout en présence de fer. Ainsi l'action complémentaire des glutathion oxydases est très importante pour poursuivre les transformations vers la molécule d'eau.

Les SOD et Se-GPx exercent un effet protecteur mutuel. La SOD, Cu-ZN en particulier, est inactivée par H_2O_2 , tandis que les catalases, les peroxydases héminiques et la Se-GPx sont inactivées par $O_2^{\cdot-}$.

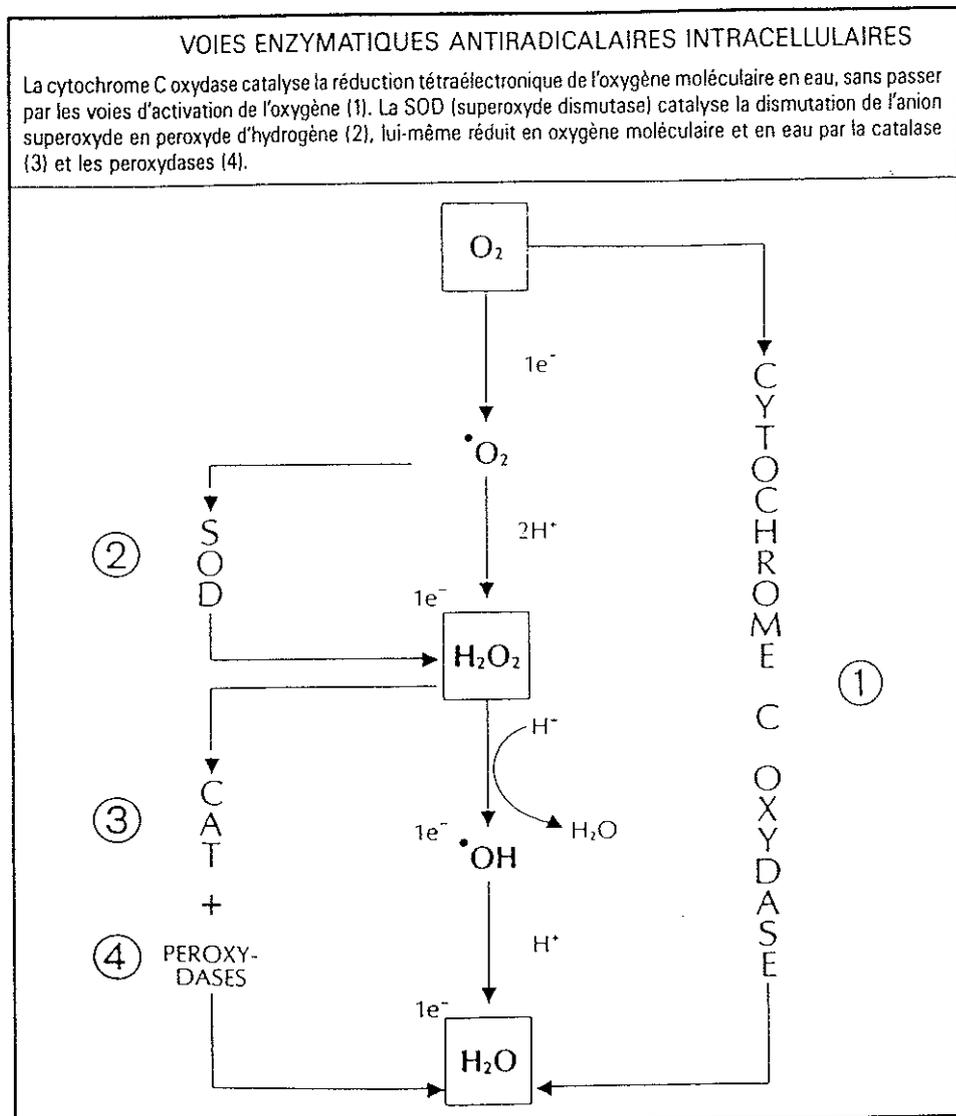


figure 15 (21)

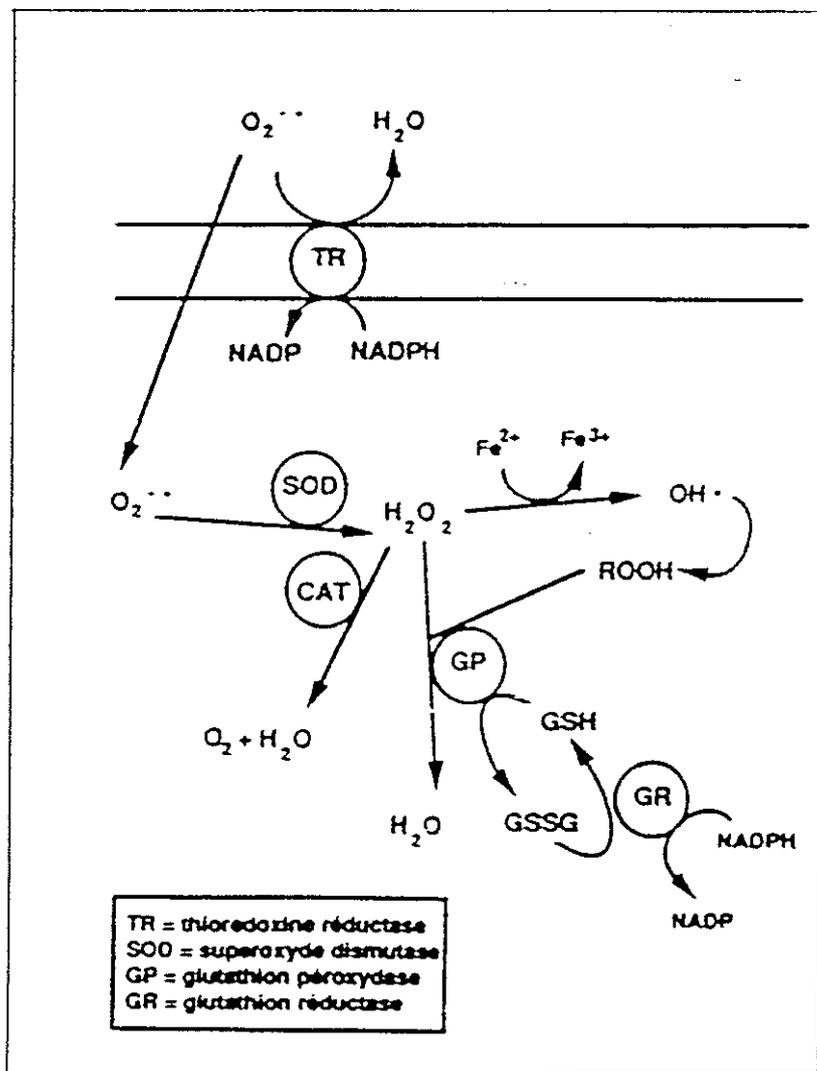
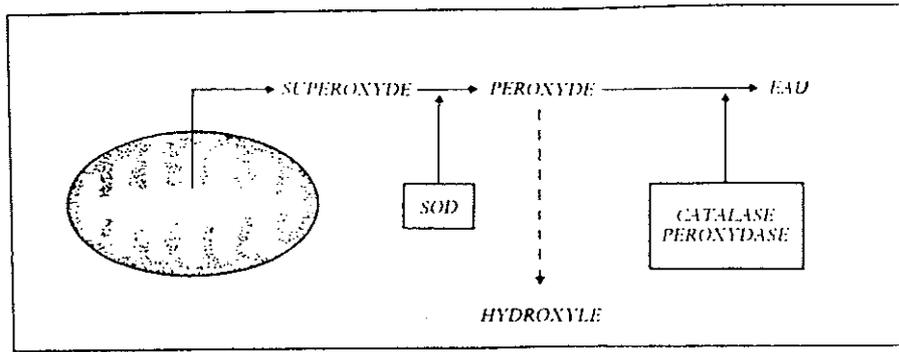


figure 16 (57): LES SYSTEMES ENZYMATIQUES DE DEFENSE ANTIRADICALAIRE

2.2. SECONDE LIGNE DE DEFENSE : LES SUBSTANCES BIOLOGIQUES
NON ENZYMATIQUES. (7) (21) (22) (26) (38)

"SCAVENGERS" et "QUENCHERS" endogènes

Si l'activité enzymatique est insuffisante, les ions superoxydes et le peroxyde d'hydrogène s'accumulent, des radicaux hydroxyles apparaissent, entraînant des peroxydations en chaîne des lipides membranaires. L'organisme ne possède pas d'enzyme contre les radicaux peroxydes et alcoxydes, mais les réactions de lipidoperoxydation peuvent être stoppées par des "piégeurs de radicaux libres".

Les "SCAVENGERS" (terme anglais qui signifie nettoyeurs) sont des molécules facilement oxydables, présentes dans le cytosol (gluthation, acide ascorbique) ou dans les membranes cellulaires (α -tocophérol, vitamine A) et qui forment avec les radicaux libres très réactifs des composés stables.

Les "QUENCHERS" (amortisseurs) neutralisent l'oxygène singulet $1O_2$; c'est une des activités de la vitamine E.

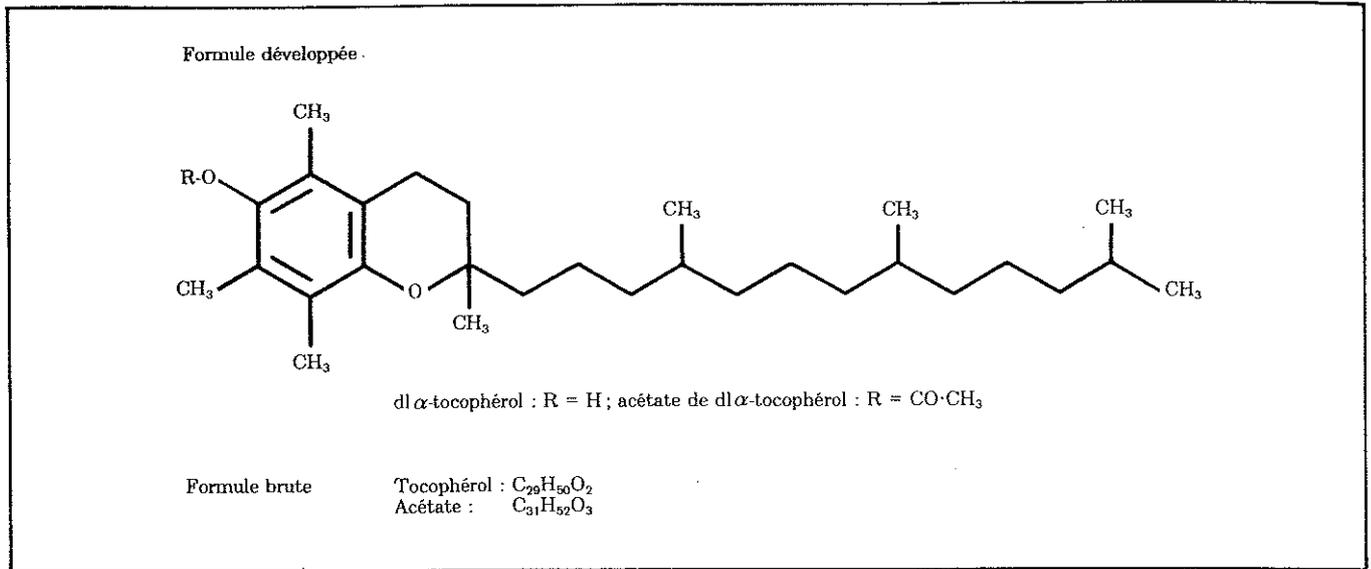
2.2.1. L'alpha-tocophérol ou vitamine E. (38)

figure 17 (38)

La vitamine E est un composé liposoluble présent dans la double couche phospholipidique des membranes cellulaires et mitochondriales, ainsi que dans les lipoprotéines.

Son rôle antioxydant est connu depuis longtemps puisqu'elle est utilisée comme additif alimentaire (ex. : E306, E307, E308, E309) pour éviter le rancissement des graisses insaturées.

Elle agit en bloquant la lipidoperoxydation en chaîne en captant les radicaux peroxydes ROO· à l'endroit même de leur formation pour donner un radical tocophéryle plus stable et de faible réactivité. Elle réagit également avec O₂, O₂·, OH·.



Les hydroperoxydases (ROOH) formées pourront être dégradées par la glutathion peroxydase en dérivés hydroxylés non toxiques.

Le tocophérol est régénéré par la vitamine C qui joue ainsi un rôle d'antioxydant indirect et par le glutathion.

Remarque : ils protègent du cancer du poumon et leur teneur est très abaissée dans la mucoviscidose, maladie qui s'accompagne d'une lipoperoxydation accrue.

2.2.3. L'acide L-ascorbique ou vitamine C. (47)

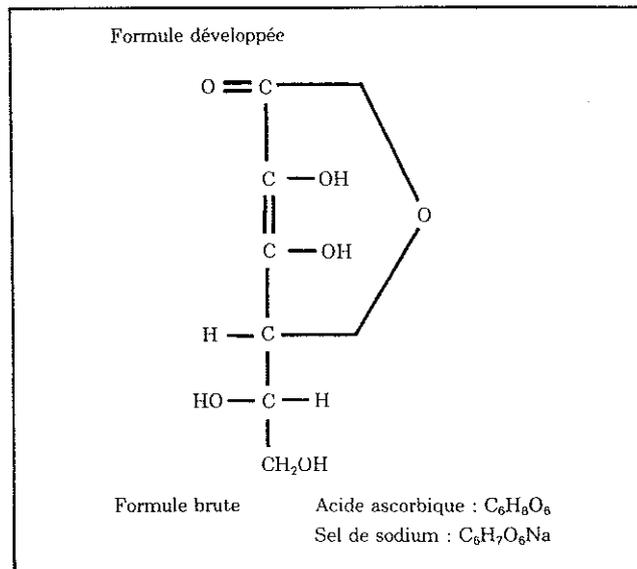


figure 19 (38)

La vitamine C est un composé liposoluble qui a un rôle de vecteur d'hydrogène dans l'organisme.

La destruction des radicaux libres oxygénés représente une fonction biologique importante de l'acide ascorbique. C'est un puissant agent réducteur qui réagit avec l'ion superoxyde, le radical hydroxyle, tous les peroxydes et les radicaux thiyls ou tocophéryls pour produire le radical délocalisé semi-déhydroascorbate.

Ce radical peut être réduit par réaction entre deux molécules :



Il peut également être réduit par les enzymes déhydroascorbate réductases à glutathion ou à NADH :



De plus, nous avons vu que la vitamine C peut régénérer le tocophérol.

Cependant, l'action de la vitamine C est très controversée quant à son effet protecteur vis à vis de la toxicité de de l'oxygène. En effet, en présence de cuivre ou de fer elle réalise un système pro-oxydant très puissant en donnant lieu à l'ion hydroxyle et au peroxyde d'hydrogène.

Ainsi son emploi en temps qu'antioxydant reste limité.

2.2.4. Le glutathion.

Le glutathion agit comme cofacteur d'un grand nombre d'enzymes antioxydantes (SeGPx, ascorbate réductase, glutathion peroxydase, ...), mais il a aussi sa propre action de protection directe.



Le radical GS· formé est moins réactif que OH·, mais n'est cependant pas inerte. Il pourra être réduit par l'acide ascorbique.

2.2.5. L'acide urique.

Produit du catabolisme de la purine, l'acide urique est à l'origine d'une maladie inflammatoire, la goutte.

L'acide urique piège l'ion hydroxyle en formant un urate peroxy non inerte, pouvant activer l'alpha-antitrypsine et l'alcool déshydrogénase.

Cependant, le rôle de l'acide urique n'est pas clairement prouvé d'autant plus que les sujets atteints de déficits héréditaires en xanthine oxydase (enzyme catalysant l'oxydation

de la xanthine en acide urique), donc n'ayant pas d'acide urique, ne souffrent d'aucune manifestation clinique.

2.2.6. Les flavonoïdes.

Les flavonoïdes sont des antioxydants d'origine végétale. Ils libèrent spontanément un atome d'hydrogène au contact d'un radical libre pour le neutraliser.

Parmi les plantes médicinales contenant des flavonoïdes antioxydants, nous pouvons citer :

- le gingko biloba,
- l'hamamélis,
- le chardon marie.

① Primaires : (Contre $O_2^{\cdot-}$)

$$2 O_2^{\cdot-} \xrightarrow[-(SOD)]{2 H^+} H_2O_2 + O_2$$

Les superoxyde-dismutases (SOD)

- (Mn) SOD - Matrice des mitochondries d'eucaryotes
- (Cu-Zn) SOD - Espace intermembranaire des mitochondries
 - Cytosol des eucaryotes
 - Erythrocytes

② Secondaires :

- Contre H_2O_2 :
- $2 H_2O_2 \rightarrow 2 H_2O + O_2$: Catalase (Peroxisomes, hématies)
- Contre H (R) -OOH : Se-GPx

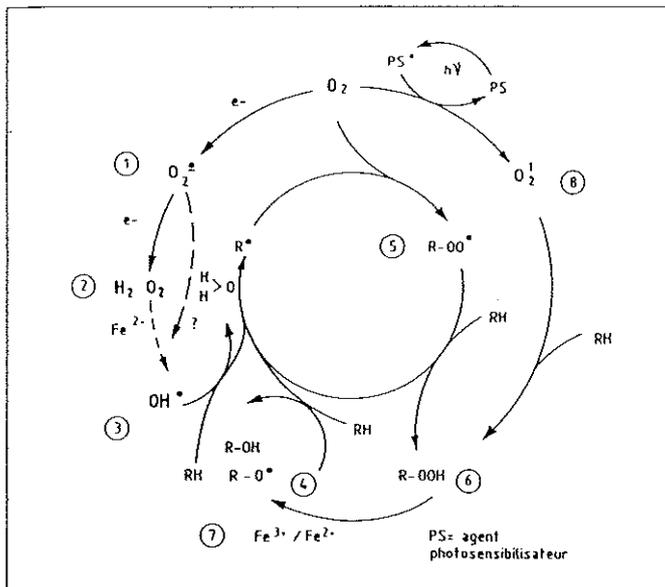
Peroxydases : ① = Glutathion peroxydase Se Dépendante (Se-GPx)

$$\begin{array}{c}
 H(R) - OOH \quad 2 GSH \quad NADP_{ox} \quad G - 6P \\
 \downarrow \quad \downarrow \quad \downarrow \quad \downarrow \\
 \text{①} \quad \text{②} \quad \text{③} \\
 \downarrow \quad \downarrow \quad \downarrow \\
 H(R) - OH \quad G - SS - G \quad NADP_{red} \quad 6P \text{ GLUCONATE}
 \end{array}$$

② = Glutathion réductase
③ = Glucose 6 phosphate deshydrogénase (G-6-PDH)

- Contre R-OO - Vitamine E (couplé à vitamine C)
 - Ubiquinones
- Contre $\cdot OH$: Acide urique, vitamine C, Glutathion, Taurine
- Contre $\cdot O_2$: Caroténoïdes

Formes actives de l'oxygène et systèmes de protection



Systèmes de protection

- 1) Superoxyde Dismutases : SOD (Cu - Zn) SOD (Mn)
- 2) Glutathion Peroxydase : Se - GPx - (Catalase???)
- 3) Piégeurs de radicaux ·OH (Acide urique, Vit. C, Glutathion, Taurine)
- 4) Vit. E ?
- 5) Vit. E
- 6) Se-GPx, PL-Se-GPx, Non - Se-GPx (Glutathion-S-transférases) ?
- 7) Chélateurs/Transporteurs de Fe²⁺, Fe³⁺ (Cu²⁺) : (Transferrine, ceruloplasmine) ?
- 8) Piégeurs d'oxygène singulet (caroténoïdes ?, cholestérol ??)

figure 20 (16)

3. POUVOIR PATHOGENE DES RADICAUX LIBRES

(7) (12) (16) (21) (22) (57)

Il arrive que les systèmes physiologiques de défense antiradicalaires (enzymes et "piègesurs") soient dépassés. En effet, il peut y avoir une surproduction de radicaux libres due à une exposition à des rayonnements ultra-violetts ou à des radiations ionisantes, ou suite à des états pathologiques. De même, les systèmes enzymatiques peuvent perdre de leur activité suite à un déficit ou au vieillissement.

Il en résulte une attaque radicalaire s'exerçant sur des cibles biologiques multiples comportant, notamment, l'acide hyaluronique, le collagène, les phospholipides des membranes cellulaires et l'ADN (acide désoxyribonucléique).

3.1. LES MECANISMES DE L'AGRESSION RADICALAIRE.

L'agressivité d'un radical libre oxygéné, vis à vis des molécules biologiques, s'exerce par arrachement d'électrons orbitaux externes aux atomes qui constituent ces molécules et sous l'effet du champ électrique développé par l'électron célibataire. L'électron arraché vient s'apparier avec cet électron célibataire et stabilise ainsi le radical libre. A l'inverse, la molécule, ayant un électron externe en moins, devient à son tour un radical libre instable.

Ce processus, parce qu'il fonctionne comme une réaction en chaîne, dénature de nombreuses molécules biologiques. Il altère leurs propriétés physiologiques et entraîne des désorganisations du métabolisme cellulaire pouvant être importantes.

3.2. LES CIBLES BIOLOGIQUES.

L'agressivité radicalaire touche principalement les lipides membranaires, les protéines et les acides nucléiques.

3.2.1. Les radicaux libres et lipides : la peroxydation lipidique.

Les radicaux libres sont très actifs sur les lipides. En agissant sur les triglycérides, ils entraînent le rancissement des graisses alimentaires.

Ils agissent également sur l'acide arachidonique et donnent naissance à des peroxydes.

Cependant leur cible principale est les acides gras insaturés des phospholipides membranaires. Leur oxydation entraîne une profonde altération des membranes, une perte de composants intracellulaires et la formation d'aldéhydes et de complexes lipoprotéiques (lipofuscine).

En attaquant les acides gras polyinsaturés les radicaux superoxydes et hydroxyles créent des radicaux libres organiques instables à leur tour.

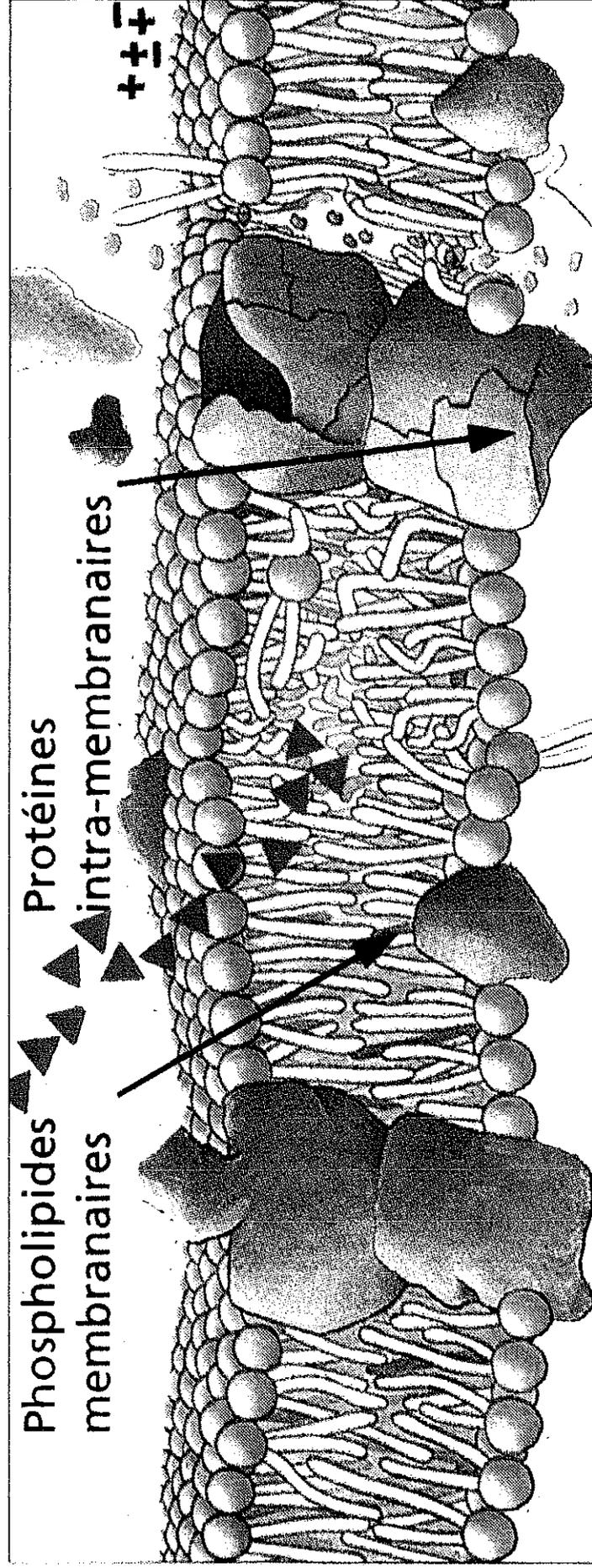
3.2.1.1. Structure des membranes cellulaires.

Les membranes cellulaires sont formées d'une double couche de phospholipides.

Les phospholipides sont des molécules constituées par deux pôles : un pôle hydrophile et un pôle hydrophobe. Le pôle hydrophobe est formé de deux chaînes d'acides gras insaturées possédant plusieurs doubles liaisons carbone-carbone. Les pôles hydrophiles délimitent la surface externe de la membrane, et les pôles hydrophobes la surface interne .

Au milieu de ce double feuillet se trouvent les protéines à l'origine des fonctions d'échange et de transmission d'informations assurées par la membrane.

Destruction membranaire sous l'effet des radicaux libres (▲).

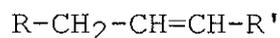


L'un des impacts lipidiques les plus significatif des radicaux libres est leur effet oxydant sur ces acides gras polyinsaturés.

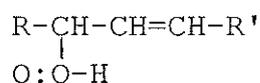
3.2.2.2. La désorganisation structurale des membranes.

En 1943, PAQUOT a été l'un des premier à montrer que l'oxydation des composés éthyléniques conduisait à deux peroxydes, l'un dénommé hydroperoxyde et l'autre époxyperoxyde; c'est ainsi que cet auteur proposait les formules suivantes :

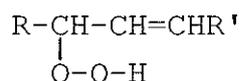
- pour un corps gras insaturé :



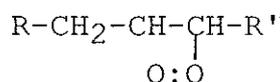
- pour les hydroperoxydes :



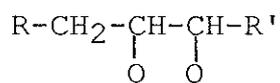
ou



-pour les époxyperoxydes :



ou



La peroxydation lipidique est une réaction radicalaire, elle comporte trois étapes classiques :

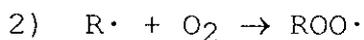
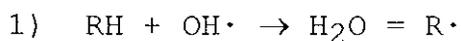
- l'initiation,
- la propagation,
- la terminaison.

① L'INITIATION

L'initiation de la réaction en chaîne se fait au niveau de la structure divinyl-méthane d'une double liaison présente dans les acides gras insaturés.

Le radical libre capte alors un atome d'hydrogène pour se stabiliser. Dans le cas du radical hydroxyle $\text{OH}\cdot$, il se transforme en eau.

Il y a alors production d'un radical de l'acide gras polyinsaturé. Ce dernier subit un réarrangement de ses doubles liaisons et, en présence d'oxygène, forme un radical peroxy $\text{ROO}\cdot$ responsable de la propagation de la réaction.



② LA PROPAGATION

Le radical peroxy formé va se transformer en un hydroperoxyde lipidique ROOH instable, par arrachement d'un hydrogène sur une chaîne insaturée voisine intacte. Le radical $\text{R}\cdot$ formé fixe une molécule d'oxygène et peut recommencer à son tour un nouveau cycle.

- 1) $\text{ROO}\cdot + \text{RH} \rightarrow \text{ROOH} + \text{R}\cdot$
- 2) $\text{R}\cdot + \text{O}_2 \rightarrow \text{ROO}\cdot$
- 3) $\text{ROO}\cdot + \text{RH} \rightarrow \text{ROOH} + \text{R}\cdot \quad \dots$

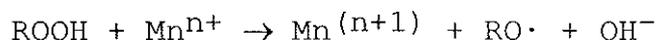
C'est cette réaction qui constitue la lipidoperoxydation.

Les hydroperoxydes lipidiques ROOH formés peuvent subir différentes voies de dégradation.

Ils sont peu réactionnels, mais en présence de fer, Fe^{++} (contaminant biologique universel), ils subissent une forte réaction de FENTON qui les convertit en radicaux alkoxydes $\text{RO}\cdot$ susceptibles de relancer comme $\text{OH}\cdot$ une nouvelle chaîne :



D'une manière générale, les ions métalliques vont favoriser la dégradation des hydroperoxydes selon la réaction :



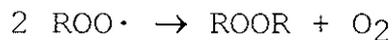
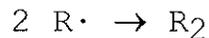
Les hydroperoxydes peuvent également être dégradés en alcanes ou en aldéhydes. Un des produits de dégradation est le dialdéhyde malonique. Il peut réagir avec les groupements thiols (SH) ou amines (NH_2) des protéines, en donnant naissance à des pigments fluorescents appelés lipofuscine, dont l'accumulation caractérise les cellules siège de peroxydations lipidiques répétées. Ces lipopigments s'accumulent linéairement avec l'âge et dans certaines pathologies (SIDA), principalement dans les cellules nerveuses du cerveau, et empêchent les cellules de fonctionner normalement. Ces pigments fluorescents apparaissent en jaune aux ultraviolets, ils ont été découverts en 1842 par HANNOVER.

La lipofuscine n'est pas la cause du vieillissement des cellules mais elle en est simplement le produit, l'expression biologique.

③ LA TERMINAISON

La réaction en chaîne s'arrête quand :

- deux radicaux libres, appartenant ou non à la même molécule, se réunissent, créant entre eux des ponts,



- un radical libre rencontre une molécule "piège" (ex. α -tocophérol),

-le dialdéhyde malonique réagit avec les protéines membranaires, établissant des pontages.

3.2.1.3. Les conséquences de la peroxydation lipidique.

La lipidoperoxydation entraîne une désorganisation profonde de l'architecture membranaire. en effet, les liaisons carbone-carbone ont subi des réarrangements et des pontages inter et intracellulaires ont été créés.

Ceci a pour conséquence une perte de la souplesse et de la solidité de la membrane cellulaire, avec au plan fonctionnel, un retentissement sur ses fonctions de barrière et d'information :

- formation de brèches ioniques,

- troubles de la perméabilité,
- relations recepteurs- ligands perturbées.

A — Changement de la bicouche phospholipidique

Diminution de la fluidité
 Augmentation de la charge négative de surface
 Apparition d'une conductivité pour les protons
 Perte de la stabilité électrique et accroissement non spécifique de perméabilité.

*B — Changement des membranes
 et des organites cellulaires*

Inactivation des enzymes membranaires
 Oxydation des groupes thiol et accroissement de perméabilité
 Edème et gonflement des mitochondries
 Découplage oxydation-phosphorylation
 Perte de cytochrome C et inhibition de la chaîne respiratoire mitochondriale
 Perturbation du système d'hydroxylation hépatique
 Décharge d'enzymes lysosomiales
 Activation des phospholipases membranaires

C — Changement dans le métabolisme et le comportement

Destruction des tocophérols, des thiols, des stéroïdes et de la thyroxine
 Redistribution des ions
 Inhibition de la motilité cellulaire et ralentissement de la division cellulaire.

figure 22 (57)

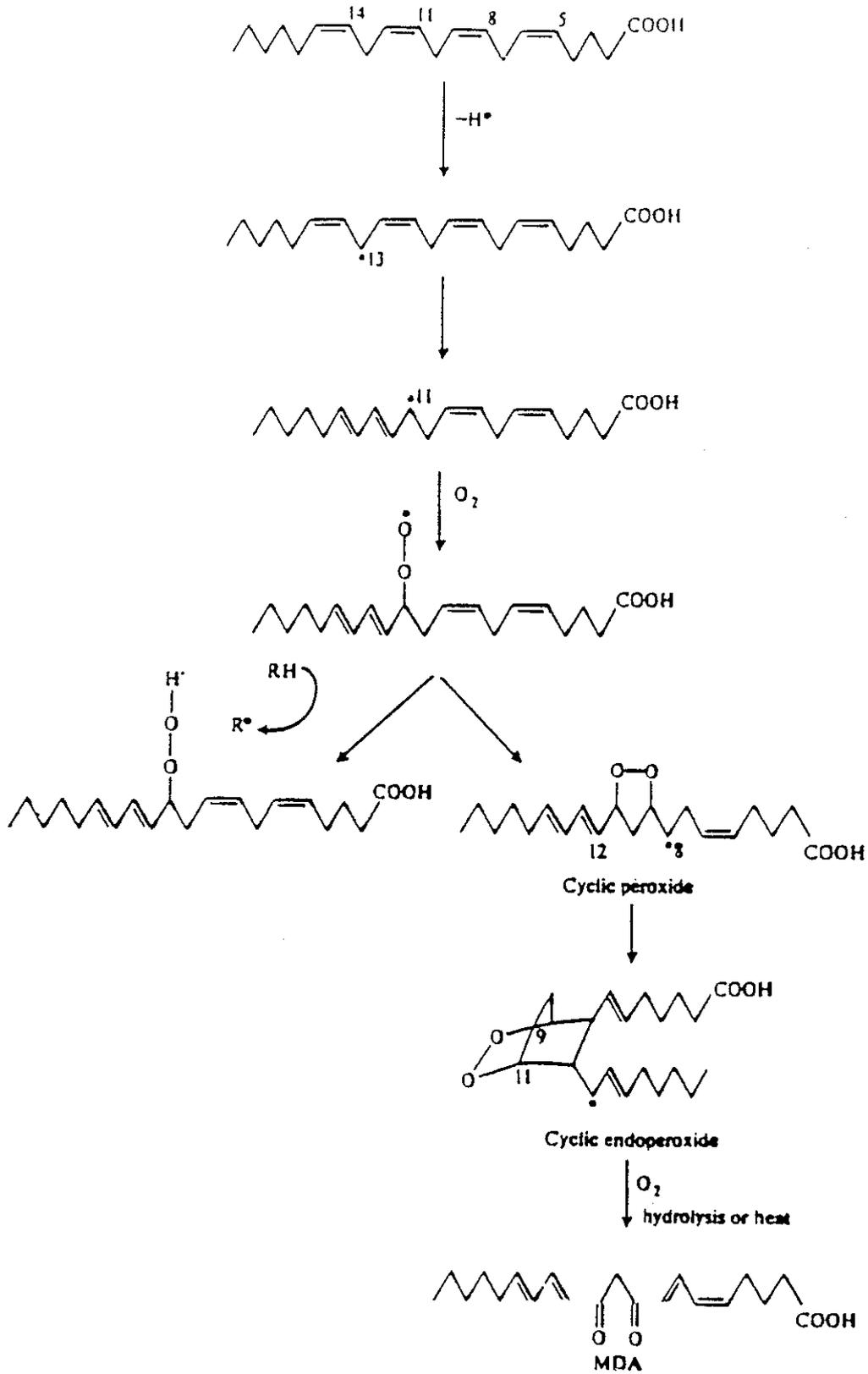


figure 23 (26) : PEROXYDATION LIPIDIQUE.

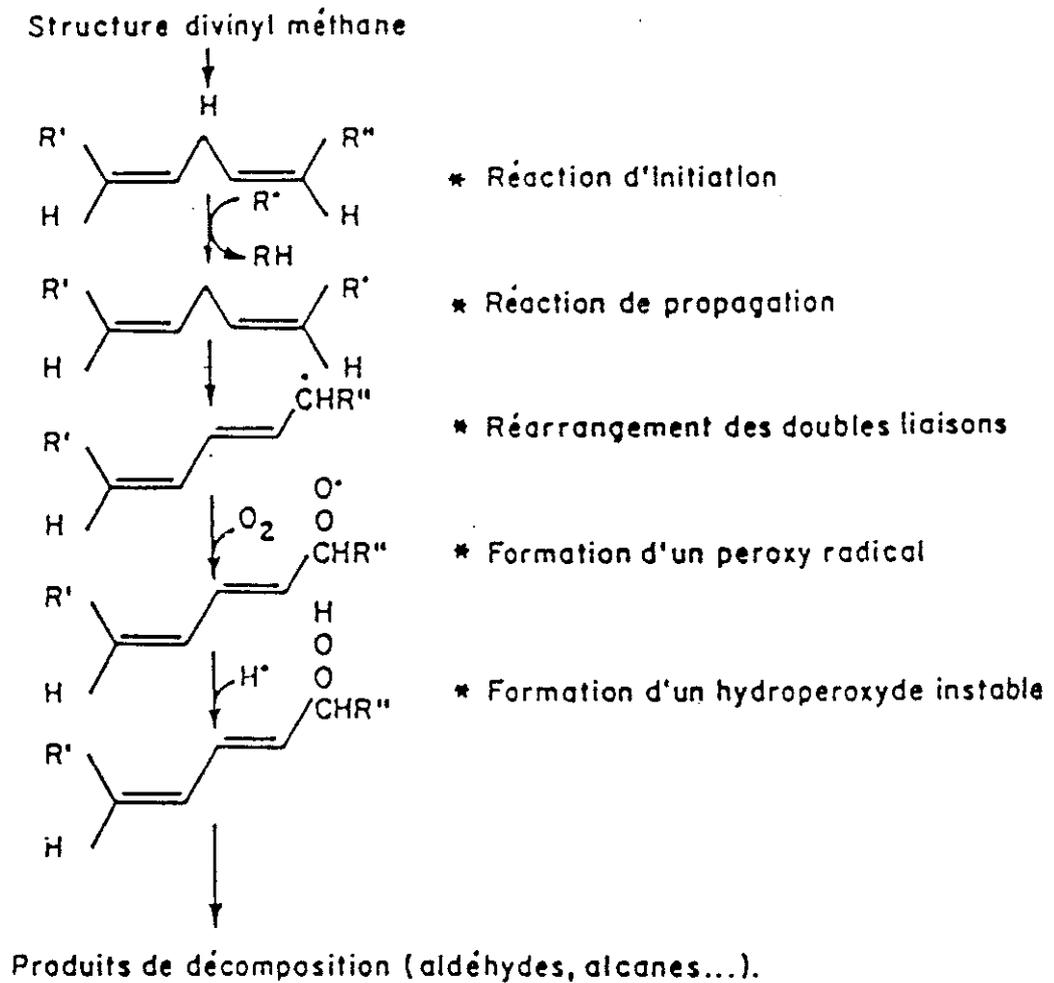


figure 24 (57) : LES DIFFERENTES ETAPES DE LA PEROXYDATION LIPIDIQUE DES ACIDES GRAS POLYINSATURES.

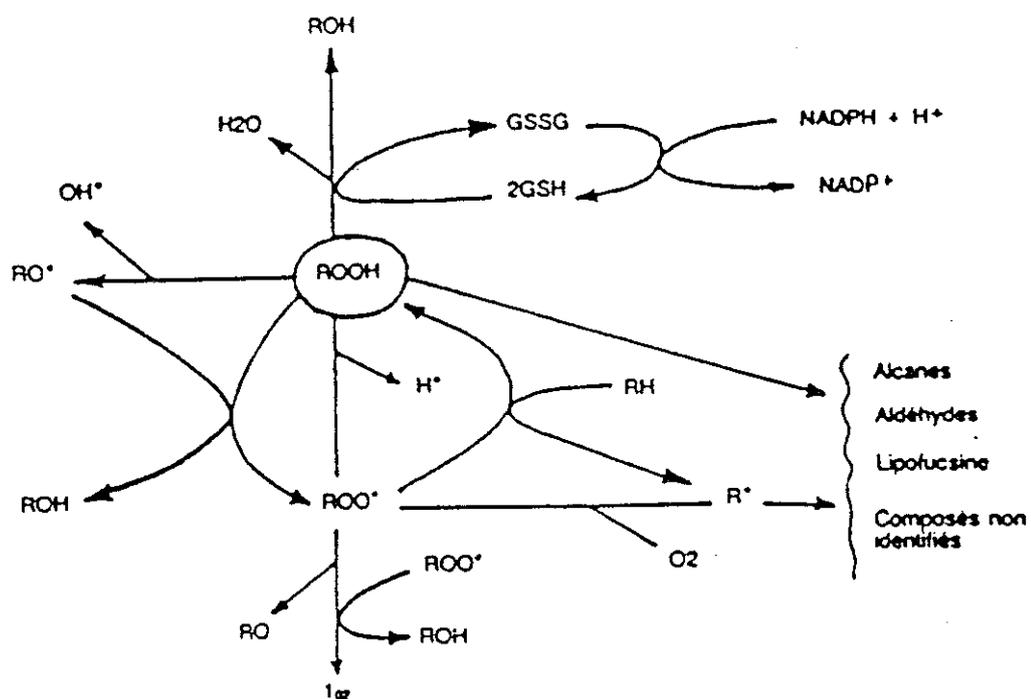


figure 25 (57) : VOIES DE DECOMPOSITION DES HYDROPEROXYDES LIPIDIQUES (ROOH).

3.2.2. Radicaux libres et protéines.

Les radicaux libres ont également pour cible les protéines et notamment les protéines qui ont un groupement sulfhydryle (SH). C'est le cas de nombreuses enzymes cellulaires (ex. celle de la glycolyse) qui vont être oxydées et inactivées. Ils oxydent les fonctions thiols de la cystéine qui a un rôle important au niveau de la peau et des phanères.

De cette attaque radicalaire des protéines résulte d'importants troubles métaboliques cellulaires.

Les radicaux libres s'attaquent aussi aux protéines de structures qui constituent le tissu conjonctif, comme les microfibrilles du collagène ou l'acide hyaluronique, entraînant une sclérose ou une fibrose du tissu.

Par contre, les radicaux libres peuvent conduire à une activation de certaines enzymes comme la cyclooxygénase ou la phospholipase A2 qui interviennent dans la synthèse des prostaglandines inflammatoires à partir de l'acide arachidonique.

3.2.3. Radicaux libres et acides nucléiques. (29)

L'acide désoxyribonucléique, ou ADN, constituant quasi universel de la matière vivante, est hautement sensible à l'action des radicaux libres.

Le radical superoxyde est capable de provoquer des cassures ou des mutations chromosomiques et induire des échanges de chromatides soeurs. En effet, les radicaux libres agissent au niveau des bases puriques et pyrimidiques de l'ADN produisant ainsi des ruptures de brins d'ADN. De plus, la

réparation de ces lésions se fait avec plus ou moins d'erreurs car les enzymes responsables de ces réparations peuvent être elles mêmes la cible des réactions radicalaires, ceci conduit à des mutations.

Ces dénaturations de l'ADN peuvent avoir de graves conséquences sur la transmission ou la répllication du message génétique, et donc sur la synthèse des protéines. De plus, les radicaux libres pourraient diminuer le contenu en 5-méthylcytosine, substance qui semble importante dans la différenciation cellulaire.

Les lésions chromosomiques sont la conséquence de l'action de facteurs libérés sous l'action de l'oxygène activé, ils sont appelés "facteurs clastogènes". Ce sont des produits de la lipidoperoxydation tels que le 4-hydroxynonenal et des nucléotides tels que l'inosine di- et triphosphate.

Ils endommagent l'ADN de façon indirecte en inactivant des sites fonctionnels des ADN polymérase ou en interférant avec les sites de liaison entre isomérase et ATP.

Ces facteurs ont été mis en évidence dans le plasma de malades atteints d'arthrite rhumatoïde.

Remarque : l'attaque du désoxyribose par l'ion peroxyde $\text{OH}\cdot$ donne lieu à des produits dosables par l'acide thiobarbiturique, méthode permettant d'objectiver et de mesurer l'intensité de l'agression radicalaire.

3.2.4. Les radicaux libres et les oses.

Le radical superoxyde attaque l'acide hyaluronique, constituant essentiel de la substance fondamentale du conjonctif dermique, et provoque la fragmentation de cette macromolécule polyosidique.

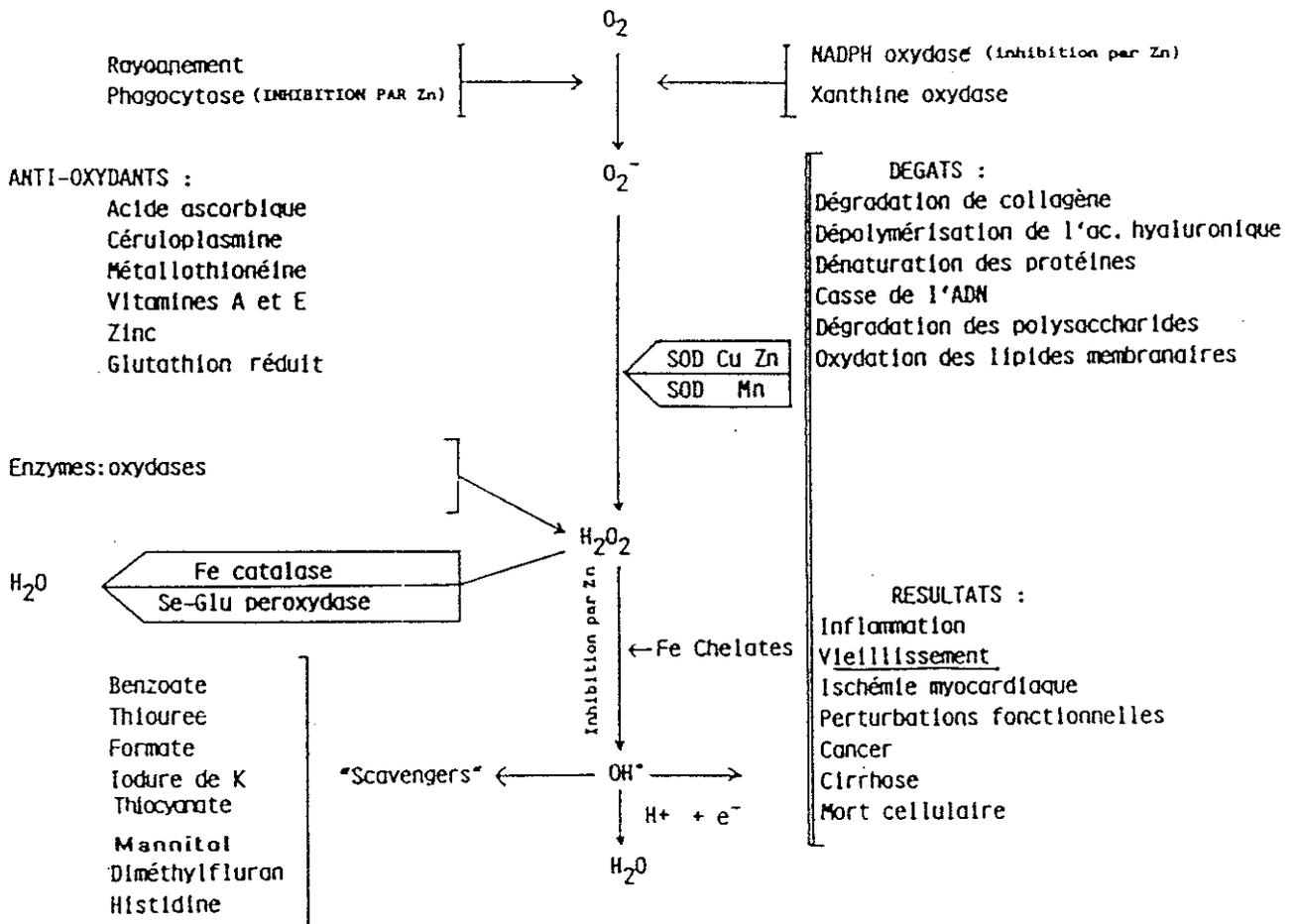


figure 26 (57) : PRODUCTION DE RADICAUX LIBRES -ACTION et CONSEQUENCES.

DEUXIEME PARTIE

IMPLICATION DES RADICAUX LIBRES DANS
LA
PATHOLOGIE HUMAINE

PERSPECTIVES D'AVENIR

I. IMPLICATION DES RADICAUX LIBRES DANS LA PATHOLOGIE HUMAINE.

Comme nous venons de le voir dans la première partie, normalement la production endogène de radicaux libres est contrebalancée par tous les systèmes de défense et l'organisme ne souffre pas d'une atteinte par ces composés toxiques. De plus, la formation de dérivés actifs de l'oxygène peut être bénéfique pour lutter contre les infections.

Cependant, une production excessive de radicaux libres, suite à certaines situations, entraîne une destruction des constituants cellulaires et l'apparition de nombreuses maladies. Ces situations sont :

- une exposition intense au soleil,
- la ré-oxygénation brutale de tissus préalablement privés d'oxygène,
- l'intoxication par certains produits (le paraquat, le tétrachlorure de carbone) ou par certains médicaments,
- une diminution des défenses (immaturité des systèmes enzymatiques, vieillissement).

Leur action prépondérante et leur participation a été avancée dans de nombreuses affections. Mais les preuves de leur rôle sont difficiles d'obtention. En effet, la mise en évidence directe des radicaux libres in vivo est extrêmement difficile voir même impossible du fait de leur forte réactivité et donc de leur demi-vie très courte.

C'est pourquoi, leur implication dans une pathologie donnée est fondée sur plusieurs critères :

- la mise en évidence de produits de leurs réactions au sein de la lésion,
- des agressions diverses produisant des radicaux libres dans un même tissu doivent créer les mêmes lésions,
- les agents anti-radicalaires doivent avoir un rôle protecteur sur la maladie étudiée.

C'est ainsi que la participation des radicaux libres a été reconnue dans de nombreuses pathologies dont la majorité sont liées à des phénomènes du vieillissement (athérosclérose, cancer, cataracte,...) ou à des phénomènes inflammatoires (polyarthrite rhumatoïde, thyroïdite auto-immune d'Hashimoto...).

Nous allons étudier successivement leur implication dans différentes maladies.

| ÉTATS PATHOLOGIQUES OU SITUATIONS PHYSIOLOGIQUES ASSOCIÉS À UN DÉSÉQUILIBRE DE PRODUCTION/DESTRUCTION RADICAUX LIBRES (d'après A Crastes de Paulet (1991)) | |
|---|---|
| Pathologies chroniques | Pathologies aiguës |
| Athérosclérose | Lésions de reperfusion post-ischémique |
| Cancer | Hyperoxygénation (O ₂ hyperbare) |
| Emphysème | Brûlures étendues |
| Cirrhose éthylique | Choc septique |
| Diabète | Inflammation |
| Cataracte | Allergie |
| Dystrophie musculaire | Arthrite |
| Trisomie 21 | Fibroplasie rétrodentale |
| Maladie de Crohn | - |
| Arthrose | - |
| Maladie d'Alzheimer | - |
| Maladie de Parkinson | - |
| Vieillesse cellulaire | - |

figure 27 (21)

1. RADICAUX LIBRES ET TROUBLES CARDIO-VASCULAIRES.

(4) (10) (18) (21) (22) (41) (58)

La participation des radicaux libres a été avancée dans certaines pathologies cardio-vasculaires.

En effet, au cours de l'évolution du processus ischémique, il a été suggéré qu'une partie des altérations cellulaires pourrait résulter de la production de radicaux oxygénés. Par ailleurs, la reperfusion du tissu ischémique qui semble exercer parfois des effets néfastes et accélérer les phénomènes de nécrose pourrait également être à l'origine d'une production exacerbée de ces espèces radicalaires de part la restauration du débit coronaire et de l'apport en oxygène résultant.

Il semble également que ces espèces interviennent dans des phénomènes toxiques dus à la ré-oxygénation du tissu ischémique et qui sont les arythmies de reperfusion.

De plus, les radicaux libres semblent avoir un rôle important dans la déclenchement des mécanismes de l'athérome du fait de leur action sur l'agrégation plaquettaire et de l'oxydation qu'ils réalisent sur les lipides infiltrants le sous endothélium.

1.1. ISCHEMIE-REPERFUSION DU MYOCARDE

1.1.1. sidération myocardique

Le tissu myocardique a, entre autre, une fonction d'oxydation sur des substrats exogènes apportés par la circulation coronaire.

Ces substrats sont principalement le glucose, les acides gras libres et le lactate. Cette oxydation aboutit à la production d'énergie sous forme d'ATP, servant à maintenir la fonction contractile, les pompes membranaires assurant l'homéostasie ionique et tous les systèmes cellulaires qui nécessitent de l'énergie.

Les besoins en oxygène du tissu cardiaque représente 10% de la consommation en oxygène totale de l'organisme. Ainsi, toute perturbation de l'apport en oxygène va avoir des conséquences métaboliques plus ou moins importantes sur les différentes fonctions nécessitant un apport énergétique.

L'ischémie est une diminution ou un arrêt de la circulation artérielle dans un territoire localisé, comme par exemple lors de l'infarctus du myocarde.

Au cours de l'ischémie myocardique, l'apport en oxygène et en substrat métabolisable est réduit de façon plus ou moins importante selon la sévérité de celle ci et la zone tissulaire marquée est plus ou moins large selon le caractère régional ou global de l'ischémie. La conséquence métabolique immédiate de la réduction de l'apport en oxygène est le ralentissement des phosphorylations oxydatives mitochondriales. L'ATP cellulaire dérive alors des oxydations résiduelles et de la voie glycolytique anaérobie fournissant 2 ATP contre 36 en aérobie. De plus, l'oxydation des acides gras libres est considérablement freinée voire bloquée et les dérivés de ce métabolisme (acétylcoenzyme A et acylcarnitine) s'accumulent exerçant des effets inhibiteurs sur certains systèmes

enzymatiques essentiels comme les pompes à calcium et à sodium-potassium.

En outre, les déchets du catabolisme cellulaire s'accumulent dans le même temps (lactates, protons, dioxyde de carbone) aboutissant à une acidose progressive du milieu cellulaire.

Ainsi, les conséquences principales d'une ischémie sévère sont la baisse importante du niveau énergétique cellulaire et l'acidose tissulaire.

L'ischémie d'un tissu va inhiber la réduction tétravalente de l'oxygène au profit de la réduction univalente, grande productrice de radicaux libres. En effet, un tissu ischémique est rarement totalement anoxique et, pour des pressions basses en oxygène, de faibles variations se traduisent par une augmentation importante de la production radicalaire.

Dans la plupart des cas, la pression partielle en oxygène est suffisante pour permettre une production de radicaux oxygénés dans le tissu cardiaque ischémique, ceux-ci participant à l'évolution de la lésion ischémique.

Différents mécanismes interviennent dans la production de radicaux libres.

① accumulation de substances donneuses d'électrons:

- lactates, provenant de la glycolyse anaérobie,
- NADH,
- catécholamines,
- flavoprotéines,

peuvent réagir directement avec l'oxygène pour produire des anions superoxydes.

- acide arachidonique, dont la libération est accrue au cours de l'ischémie. Il fournit des électrons et produit des endoperoxydes et des leucotriènes eux-mêmes donneurs

d'électrons, ce qui peut également aboutir à la formation d'anions superoxydes.

② accumulation du calcium intracellulaire:

En anaérobie 2 molécules d'ATP sont produites à partir d'une molécule de glucose contre 36 en aérobie. L'hypoxie persistante induit donc une faillite énergétique de la pompe Na-K-ATPase membranaire avec intrusion de sodium et de calcium dans la cellule.

- le calcium entraîne des lésions des mitochondries limitant ainsi la réduction tétravalente de l'oxygène en eau, et donc augmentant le taux d'oxygène libre pour une réduction univalente.

- l'action conjuguée du calcium et de la calmoduline en situation d'hypoxie produit la xanthine oxydase par modification de la xanthine déshydrogénase.

Au cours de l'ischémie, la dégradation des nucléotides adényliques entraîne l'accumulation d'hypoxanthine dans le tissu myocardique.

Normalement, la xanthine déshydrogénase transforme l'hypoxanthine en xanthine puis en acide urique en présence de NADH. En situation d'hypoxie, c'est la xanthine oxydase qui réagit sur l'hypoxanthine produisant des radicaux libres et notamment l'anion superoxyde.

- d'autre part, par son action sur la phospholipase A₂, le calcium peut activer indirectement la production de radicaux libres par une stimulation du métabolisme de l'acide arachidonique.

③ acidose:

Elle conduit à une baisse d'activité de la catalase et à une accélération de la dismutase des superoxydes.

Ceci, associé à l'activation des réactions de FENTON et d'HABERWEISS, semble conduire à une accélération de la production des radicaux hydroxyles.

④ activation des polynucléaires neutrophiles:

Les polynucléaires neutrophiles, activés par les leucotriènes dérivés de l'acide arachidonique, s'accumulent en zone d'ischémie.

L'activation des polynucléaires entraîne encore une libération d'acide arachidonique déjà accumulé durant l'anoxie et produisant des radicaux libres.

De plus, ils produisent des ions superoxydes en quantité importante lors de la phagocytose.

⑤ libération de fer:

La libération de fer à partir des hématies lysées localement va catalyser la formation de radicaux hydroxyles.

⑥ dépression des systèmes de protection:

La production intense de radicaux libres va submerger les mécanismes de défense de la cellule, ceci d'autant plus facilement que ces derniers sont altérés du fait du ralentissement métabolique par la même ischémie.

Sur un modèle de coeur isolé et perfusé de rat soumis à diverses périodes d'hypoxies, GUARNIERI et coll. ont observé après 60 minutes d'hypoxie sévère, une chute de l'activité de la SOD et de la glutathion peroxydase, respectivement de 47% et 30%, ainsi qu'une chute du taux de glutathion réduit.

Sur un modèle analogue, JULICHER et coll. ont observé, après 60 minutes d'hypoxie ou ischémie totale, une chute d'activité de la SOD, sans modification de l'activité de la glutathion peroxydase.

Par ailleurs, une étude sur le coeur isolé de lapin menée par FERRARI et coll., a montré qu'après 90 minutes d'ischémie à bas débit (1ml/mn) l'activité de ces enzymes n'a pratiquement pas été modifiée, alors que le taux de glutathion réduit apparaît diminué de 30%.

Les perturbations cellulaires au moment de l'ischémie sont encore réversibles mais, au moment de la reperfusion, les cellules ischémiées vont être soumises à un stress oxydatif qui va accélérer leur destruction.

1.1.2. Reperfusion du myocarde ischémique.

L'afflux d'oxygène apporté au cours de la reperfusion vient fournir le réactif aux différents donneurs d'électrons accumulés lors de l'ischémie.

Ainsi, des radicaux libres oxygénés pourraient être brutalement produits en quantité importante§.

Cette agression cellulaire soudaine fut décrite en premier par HEARSE sous le nom de "paradoxe de l'oxygène".

Deux mécanismes principaux sont mis en jeu :

① les altérations de la chaîne respiratoire

L'ischémie a déjà entraîné une altération des fonctions cellulaires privées d'oxygène.

Les altérations de la chaîne respiratoire vont être encore aggravées lors de la réoxygénation du tissu.

La disponibilité de l'oxygène dans les compartiments cellulaires est augmentée, de plus il y a eut accumulation de donneurs d'électrons lors de l'ischémie, tout ceci favorise la réduction univalente de l'oxygène productrice de radicaux

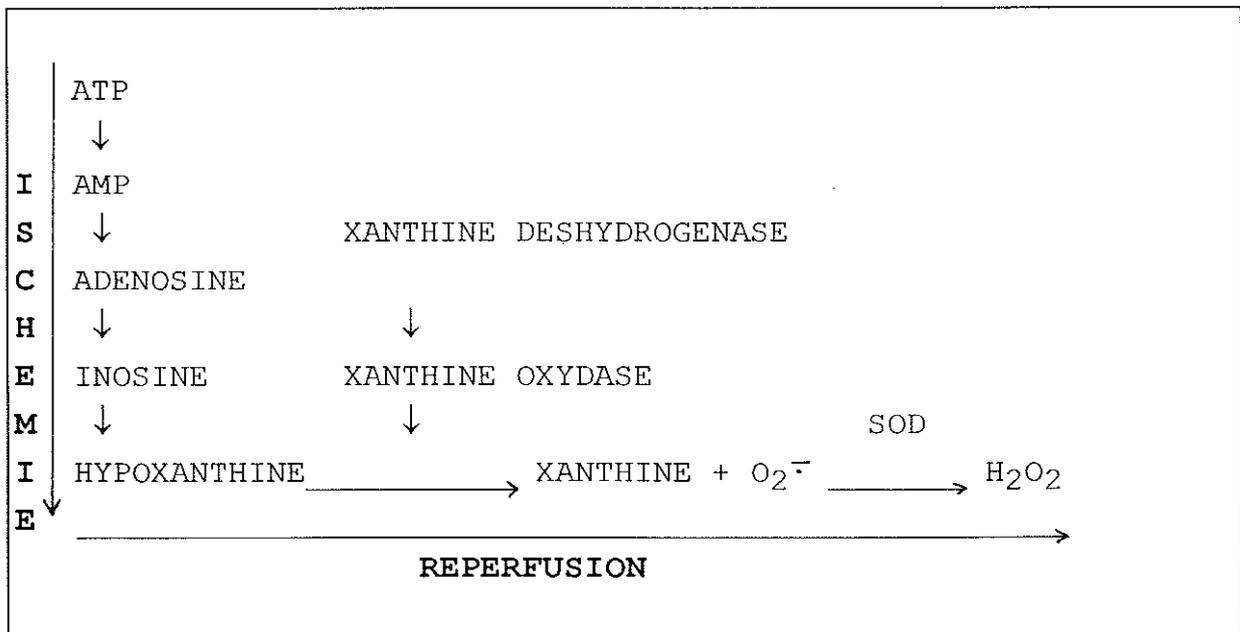
② le système hypoxanthine - xanthine oxydase

Nous avons vu que lors de l'ischémie, il y a accumulation d'hypoxanthine et production d'anions superoxydes par action de

la xanthine oxydase. Cette xanthine oxydase provient de la conversion de la xanthine déshydrogénase sous l'effet de la calmoduline et du calcium.

Cependant, le catabolisme de l'hypoxanthine en xanthine et anion superoxyde est catalysé par la xanthine oxydase en présence d'oxygène et non plus de NADH comme pour la xanthine déshydrogénase. Ainsi lors de la reperfusion, l'apport brutal et important d'oxygène entraîne une forte production de radicaux libres.

Remarque : cette hypothèse doit être envisagée avec prudence où des espèces comme le lapin, le porc et l'homme n'ont pas ou pratiquement pas d'activité xanthine oxydase.



L'usage de l'allopurinol, inhibiteur spécifique de la xanthine oxydase, sera donc tout indiqué dans la recherche sur l'inhibition de ces radicaux libres.

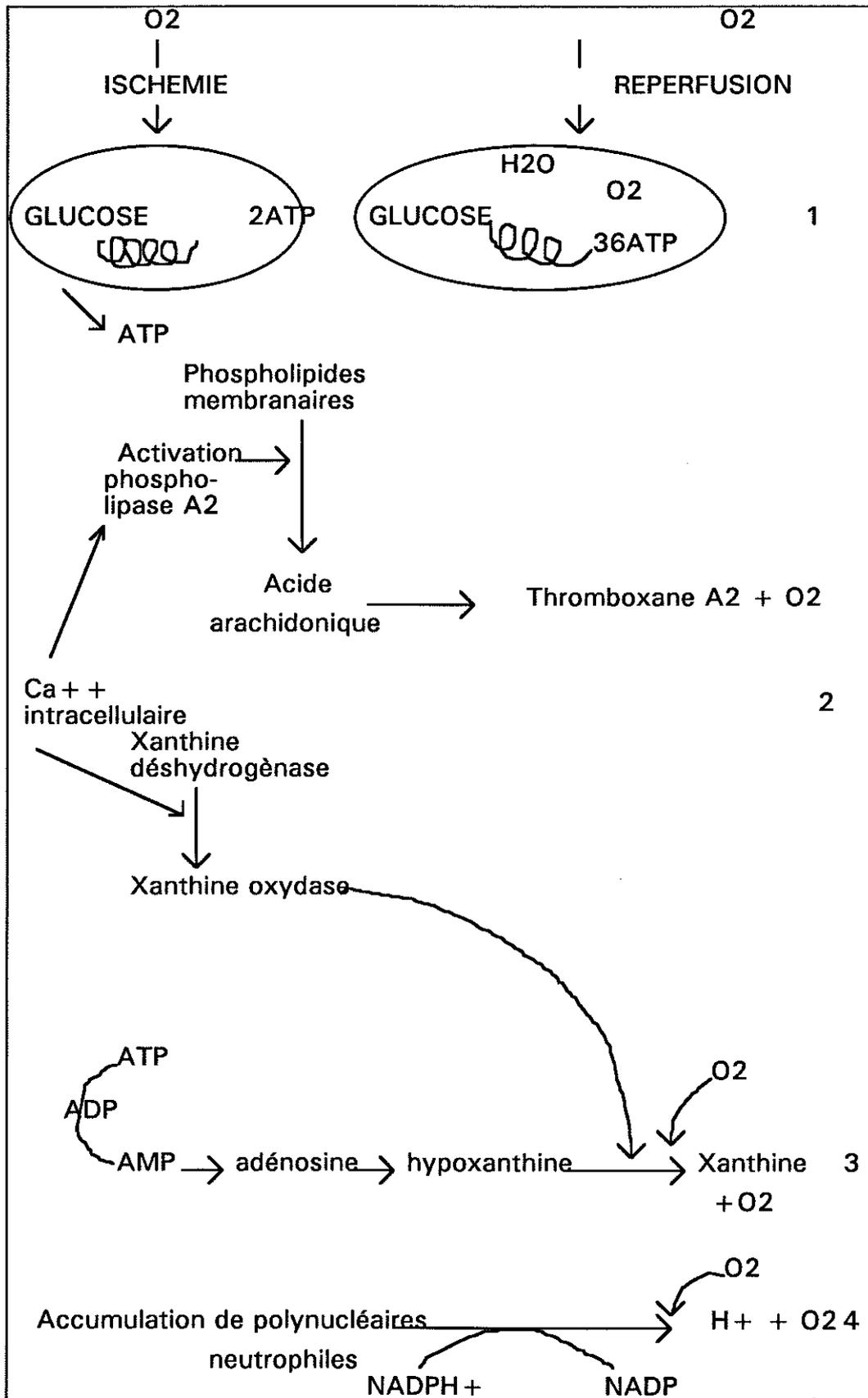


figure 28 (22) : LES 4 VOIES DE LA PRODUCTION RADICALE AU COURS DE L'ISCHEMIE-REPERFUSION DU MYOCARDE.

1.1.3. La nécrose myocardique.

Lorsque l'ischémie myocardique est sévère et prolongée, elle entraîne progressivement le développement d'un processus de nécrose dans la zone sous perfusée. Les radicaux libres pourraient bien être impliqués dans ce processus, mais leur responsabilité reste tout de même discutée. En effet, de nombreuses études ont été faites sur des modèles expérimentaux différents. Les durées d'ischémie sont très variables d'une étude à l'autre. Un traitement antioxydant enzymatique ou médicamenteux est appliqué, mais les résultats sont soit positifs soit négatifs.

Ainsi, l'intérêt de traitements anti-radicalaires reste encore hypothétique. Il est nécessaire de pouvoir mesurer quantitativement les teneurs cellulaires en radicaux libres au cours de ce processus pour confirmer ou à l'inverse infirmer leur rôle.

1.1.4. Les arythmies de reperfusion.

Durant la reperfusion du myocarde ischémique, on peut observer des arythmies dans lesquelles le rôle des radicaux libres serait impliqué. Les radicaux s'attaquent en effet aux membranes cellulaires et perturbent les pompes ioniques et la polarisation de la cellule : ceci provoque une émergence des troubles du rythmes.

Bernier et coll. ont enregistré une baisse des arythmies ventriculaires sur coeurs de rats reperfusés soumis à une protection par SOD, catalase et piègeurs non enzymatiques comme le mannitol et le glutathion. Ils ont également observé une augmentation de ces arythmies lors de l'introduction d'un substrat produisant des radicaux libres.

Un stress oxydant crée expérimentalement des arythmies de reperfusion que les substances antiradicalaires sont suceptibles de prevenir.

Ce phénomène n'intervient que sur des cellules myocardiques dont l'atteinte est réversible; c'est dire l'importance de la durée de l'ischémie. Lorsque celle-ci est de faible durée, de l'ordre de 15 min., le stress oxydant joue, expérimentalement, un rôle indiscutable dans ces arythmies.

Le mécanisme en est discuté. La surcharge calcique interviendrait. La peroxydation des lipides membranaires est vraisemblablement à l'origine de la désorganisation des pompes ioniques qui est susceptible d'augmenter la surcharge calcique et de modifier les potentiels de membrane.

1.2. ATHEROSCLEROSE

Les radicaux libres auraient un rôle important dans la lésion endothéliale qui initialise le processus athéromateux. La cellule endothéliale va être en effet exposée à l'action des radicaux libres provenant des éléments sanguins, de sa propre activité ou d'une synthèse par les macrophages et les cellules musculaires lisses de la paroi vasculaire.

Cette agression va pouvoir porter sur les organites internes de la cellule ou sur sa membrane, ou la rendre anormalement perméable par lésions membranaires ou encore perturber ses fonctions sécrétoires.

Ils oxydent ainsi les lipoprotéines VLDL infiltrées sous les cellules endothéliales. Cette oxydation des VLDL agit sur tous les facteurs de l'athérogénèse :

- création d'une lésion endothéliale (toxicité des VLDL oxydées),
- agrégation plaquettaire,
- chémoattractisme et activation des polynucléaires (production radicalaire surajoutée),
- activation de la biosynthèse des dérivés de l'acide arachidonique par les plaquettes et les cellules endothéliales (augmentation du TXA₂).

Il y a de plus modification des lipides circulants :

- peroxydation des VLDL,
- dégradation par une voie différente du récepteur aux VLDL, l'ApoB étant modifiée également et donc non reconnue par le récepteur,
- phagocytose par les macrophages porteurs d'un récepteur reconnaissant les VLDL peroxydées et l'ApoB modifié.

Le macrophage se charge en lipides pour donner naissance aux cellules spumeuses qui vont s'accumuler dans le sous endothélium : ceci va initialiser la lésion athéromateuse.

Les cellules spumeuses peuvent libérer des facteurs chimiotactiques qui vont attirer de nouveaux monocytes dans le

sous endothélium et réduire la mobilité de ces cellules : il y aura accumulation locale et évolution du processus.

1.3. HYPERAGREGATION PLAQUETTAIRE .

Les radicaux libres sont des agents chemotactiques vis à vis des plaquettes et des polynucléaires neutrophiles.

De plus, les radicaux produits au cours du métabolisme de l'acide arachidonique (synthèse des prostaglandines) peuvent intervenir secondairement sur ce métabolisme en inhibant la cyclooxygénase et en privilégiant la voie du TXA₂ ayant une action pro-agrégante, sur celle de la prostacycline (PGI₂) anti-agrégante et vasodilatatrice.

1.4. VASOSPASME CEREBRAL .(2)

Les vasospasmes cérébraux, qui font la gravité des hémorragies sous arachnoïdiennes, sont secondaires à la présence d'hémoglobine, donc de fer, dans l'espace sous arachnoïdien.

La production de radicaux libres qui en résulte induit une lipidoperoxydation en chaîne des acides gras membranaires avec augmentation des taux de 5-HETE, précurseur des leucotriènes, dans le liquide céphalorachidien (LCR).

Il y a épuisement progressif des systèmes de défense antiradicalaires : baisse rapide des taux de glutathion peroxydase et d'alpha-tocophérol dans le LCR. Les radicaux libres sont également des agents chemotactiques pour les plaquettes et les polynucléaires neutrophiles. Ils induisent ainsi une activation plaquettaire avec libération de substances vasoconstrictrices.

Les lipidoperoxydations sont à l'origine de lésions de l'endothélium artériel, lesquelles stimulent l'agrégation plaquettaire et la libération de TXA2. Au niveau des cellules endothéliales, les radicaux libres orientent le métabolisme de l'acide arachidonique vers la synthèse de TXA2.

Cette libération de substances vasoconstrictrices et pro-agrégantes provoque un spasme artériel "stable" dont les conséquences ischémiques dominent le pronostic neurologique des hémorragies sous-arachnoïdiennes.

2. RADICAUX LIBRES ET VIEILLISSEMENT. (12) (16)

2.1. RADICAUX LIBRES ET NEUROGERIATRIE.

2.1.1. LA MALADIE D'ALZHEIMER - MODELE DE LA TRISOMIE 21. (5) (32) (52) (53) ((54)

La maladie d'Alzheimer, selon le dictionnaire de médecine Flammarion, est une atrophie cérébrale progressive, présénile, entraînant l'apparition d'une démence lentement évolutive avec aphasie (altération du langage), agnosie (trouble de la reconnaissance) et apraxie (trouble du mouvement volontaire).

Une légère atrophie du cerveau est tout à fait normale chez les personnes âgées. Une atrophie sévère est habituellement associée à une perte des fonctions mentales et on parle alors de démence sénile.

Dans la maladie d'Alzheimer, la pathologie est similaire, mais les changements apparaissent plus tôt dans la vie.

Depuis le début du siècle, les progrès dans la connaissance de la maladie d'Alzheimer suivent pas à pas ceux de la technique. La biochimie, puis la microscopie électronique et maintenant la biologie cellulaire ont décrit les lésions et une partie des dysfonctionnement nerveux associés. Ces travaux ne cessent d'être approfondis, avec des moyens toujours plus efficaces comme l'imagerie cérébrale. D'importantes trouvailles se font chaque année et c'est ainsi que plusieurs modèles ont été proposés pour expliquer l'étiologie de cette maladie :

- modèle neurochimique,
- modèle toxique,
- modèle infectieux,
- modèle psychique,
- modèle génétique,
- modèle radicalaire.

La maladie d'Alzheimer est souvent considérée comme un vieillissement accéléré de certaines structures cérébrales. Parmi les mécanismes invoqués pour expliquer cette accélération du vieillissement, celui qui fait référence aux effets néfastes des radicaux libres tient une place de choix.

L'accumulation de réactions nocives, débordant progressivement les mécanismes de défense mis en jeu par l'organisme, de même la plus grande sensibilité du cerveau, de part sa teneur élevée en lipides, corrèlent bien avec les observations faites sur la dégénérescence progressive du système nerveux.

Cependant, les radicaux libres ne peuvent être qu'un des facteurs de l'apparition des altérations centrales, associés à une fragilité dépendant de caractères héréditaires. On peut se demander s'il n'existe pas une relation directe entre la génétique et l'accroissement radicalaire.

En effet, dans certaines familles frappées par cette maladie, on a pu isoler un gène situé sur le chromosome 21. Ce gène transmet de génération en génération, sinon la maladie, du moins une prédisposition à la maladie. Or, comme nous l'avons vu dans la première partie, le chromosome 21 est également porteur du gène codant pour la SOD (Super Oxyde Dismutase).

Afin de mieux comprendre l'implication des radicaux libres dans cette maladie nous pouvons essayer de rapprocher les altérations membranaires et enzymatiques qu'ils induisent de celles observées dans les démences de type Alzheimer.

① altérations membranaires de la maladie d'Alzheimer:

- il a été observé une altération de la structure de la membrane accompagnée d'une dégradation des capacités de transport au cours de la maladie.

- les lipides les plus sensibles à l'attaque radicalaire sont l'acide arachidonique, l'acide linoléique et surtout l'acide docosahexanoïque. Or, dans la maladie d'Alzheimer, l'acide docosahexanoïque est activement concentré soit sous

forme libre, soit sous forme de triglycérides, dans les phospholipides membranaires : ceci plaide en faveur d'une peroxydation importante de ces derniers. De plus, sa concentration membranaire plus importante chez la femme que chez l'homme a été rapprochée de l'incidence supérieure de la maladie d'Alzheimer et des démences séniles chez cette dernière.

- il a été décrit, de même, une altération du métabolisme du glutathion qui joue un rôle dans le transport transmembranaire des acides aminés, avec des enzymes liées à la membrane plasmique telles que la gamma-glutamyltranspeptidase.

- la peroxydation lipidique membranaire conduit à une accumulation de lipofuscines et de plaques séniles en plus grand nombre que chez le sujet sain d'âge comparable.

② atteinte des enzymes et des antioxydants.

Certains auteurs, comme Jeandel et coll., ont lié étroitement la maladie d'Alzheimer à la maladie de Down, ou trisomie 21, dans laquelle le taux de SOD cérébrale est élevé. Ils ont émis l'hypothèse que les anomalies du chromosome 21 pourraient être à l'origine d'Alzheimer.

La trisomie 21 est caractérisée par un phénotype particulier, un retard mental variable, certains signes de vieillissement prématuré et, fait remarquable, l'apparition précoce (15-20 ans) des lésions cérébrales caractéristiques de la maladie d'Alzheimer.

Le vieillissement accéléré qui caractérise la trisomie 21 pourrait dépendre d'un excès de l'enzyme SOD, résultant d'une malformation génétique. Cet excès de SOD induit une formation croissante de peroxyde d'hydrogène puis de radical hydroxyle qui vont aboutir à des réactions de peroxydation en chaîne et finalement à des altérations cellulaires.

La maladie d'Alzheimer semble avoir des points en commun avec le syndrome de Down, sur le plan neuropathologique, neurochimique et génétique.

Ces points en commun et le fait que la trisomie 21 soit accompagnée de défauts dans les systèmes de protection anti-radicalaires peut être un argument en faveur de l'implication des radicaux libres dans la maladie d'Alzheimer.

Plusieurs études ont montré que les taux de SOD-Cu-Zn et SOD-Mn étaient augmentés nettement. Cette augmentation peut être un signe de priorité donné par la cellule à la synthèse de systèmes protégeant contre les peroxydations.

L'autre système majeur est celui formé par le glutathion et ses enzymes associées (ex. glutathion peroxydase). Un certain nombre d'études ont été menées pour savoir si leur taux était modifié dans la maladie d'Alzheimer. En ce qui concerne la glutathion peroxydase, deux évolutions contraires peuvent être envisagées :

- une augmentation correspondant à un renforcement des systèmes protecteurs (c'est ce que l'on constate dans la trisomie 21 pour compenser l'excès de peroxyde d'hydrogène résultant de l'hyperactivité de la SOD).

- une diminution correspondant à un épuisement des mécanismes de défense et qui laisse le champ libre aux effets néfastes des radicaux libres.

Les résultats des études menées ne sont pas toujours concordants. En effet certains auteurs n'ont trouvé aucune différence entre des sujets atteints de la maladie et des sujets témoins, alors que d'autres ont rapporté une augmentation d'activité de la glutathion peroxydase. Ces divergences peuvent être attribuées au fait que cette enzyme dépend étroitement des taux de sélénium, son principal cofacteur. Des études sont en cours pour savoir si le taux de sélénium intra-érythrocytaire est modifié dans la maladie d'Alzheimer.

Au moment où la cellule approche de la dégénérescence, on a constaté que les taux de glutathion peroxydase s'effondrent alors que ceux du glutathion augmentent fortement, ce qui peut être interprété comme une tentative de protection de la cellule contre les dégradations causées par les radicaux libres.

2.1.2. LA MALADIE DE PARKINSON. (33) ((52) (54)

La maladie de Parkinson est une affection dégénérative du système extrapyramidal, atteignant généralement l'homme après 50 ans.

Elle se manifeste par un tremblement de repos, des troubles du tonus et une akinésie, diversement associés.

Deux éléments dominent la pathologie de la maladie de Parkinson : une raréfaction neuronale et la présence de corps de Lewy.

Les lésions ont une distribution caractéristique, en effet, elles prédominent dans la substance noire. Les neurones dopaminergiques pigmentés, dont la couleur noire est due à la présence de neuromélanine, sont particulièrement vulnérables et disparaissent progressivement dans la pars compacta de la substance noire et dans la substance réticulée voisine.

Les phénomènes biochimiques conduisant à la mort neuronale sont complexes et intriqués, et il est difficile de démêler causes et conséquences. Les travaux récents mettent l'accent sur "l'agression oxydative" subie par la substance noire et sur l'hypothèse d'une surproduction radicalaire.

En effet, il est possible que les radicaux libres jouent un rôle dans la mort neuronale au cours de la maladie de Parkinson. Il a été montré que la substance noire des parkinsonniens est le siège d'une production radicalaire

excessive et d'une faillite des systèmes de défense antioxydants.

Une autre constatation est les anomalies de la chaîne mitochondriale respiratoire. Un toxique comme le MPTP (1-méthyl 4-phényl 1,2,3,6-tétrahydropyridine) peut être responsable de la maladie de Parkinson. Il est transformé en MPP+ par la MAOB (monoamine oxydase B) qui s'accumule dans les neurones dopaminergiques où il bloque le complexe enzymatique I de la chaîne respiratoire mitochondriale. Ce déficit nigral en complexe I pourrait aussi bien être l'une des conséquences que l'une des causes de surproduction de radicaux libres.

La vulnérabilité particulière des neurones dopaminergiques pourrait être due à la cytotoxicité de certains métabolites de la dopamine et à la surcharge en fer de substance noire.

Les neurones les plus atteints au cours de cette maladie sont les neurones dopaminergiques mélanisés, situés surtout dans la pars compacta de substance noire. Au début de l'affection, l'organisme compense ce déficit en augmentant le métabolisme de la dopamine. Ce dernier pourrait jouer un rôle dans la genèse des lésions. En effet, sous l'action de la MAOB et par auto-oxydation la dopamine conduit à la formation de radicaux libres. De plus, le catabolisme de la dopamine produit des dérivés (tétrahydroisoquinoine et β -carbolines) pouvant bloquer la chaîne respiratoire mitochondriale.

La substance noire des parkinsonniens, particulièrement la pars compacta et les neurones mélanisés, contient une quantité anormalement élevée de fer. Or celui ci catalyse plusieurs réactions biochimiques produisant des radicaux libres, en particulier la production du très cytotoxique radical hydroxyl $\text{OH}\cdot$. De plus, le fer se lie à la mélanine ce qui, par plusieurs mécanismes, augmente la production de radicaux libres. Cependant, les causes de la surcharges en fer dans la substance noire sont encore mal connues. Elle pourrait être la conséquence de la dégénérescence neuronale.

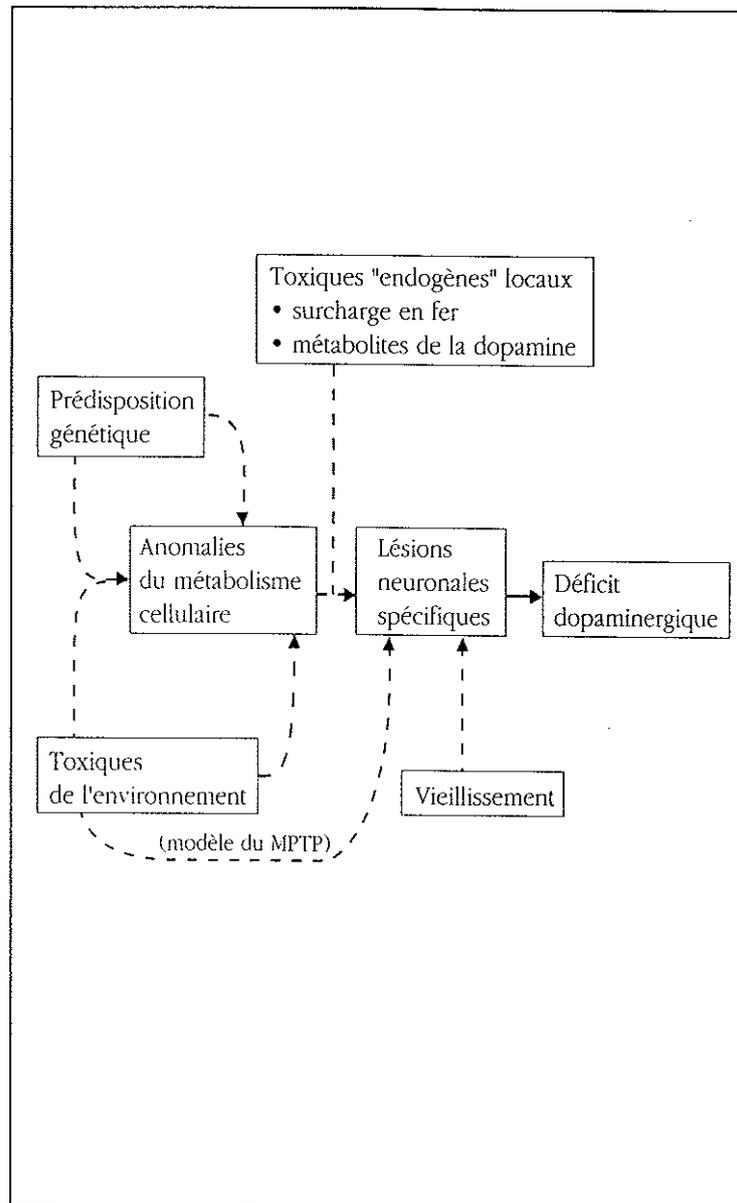


figure 29 (32) : PRINCIPALES HYPOTHESES SUR LA CAUSE DE LA MALADIE DE PARKINSON.

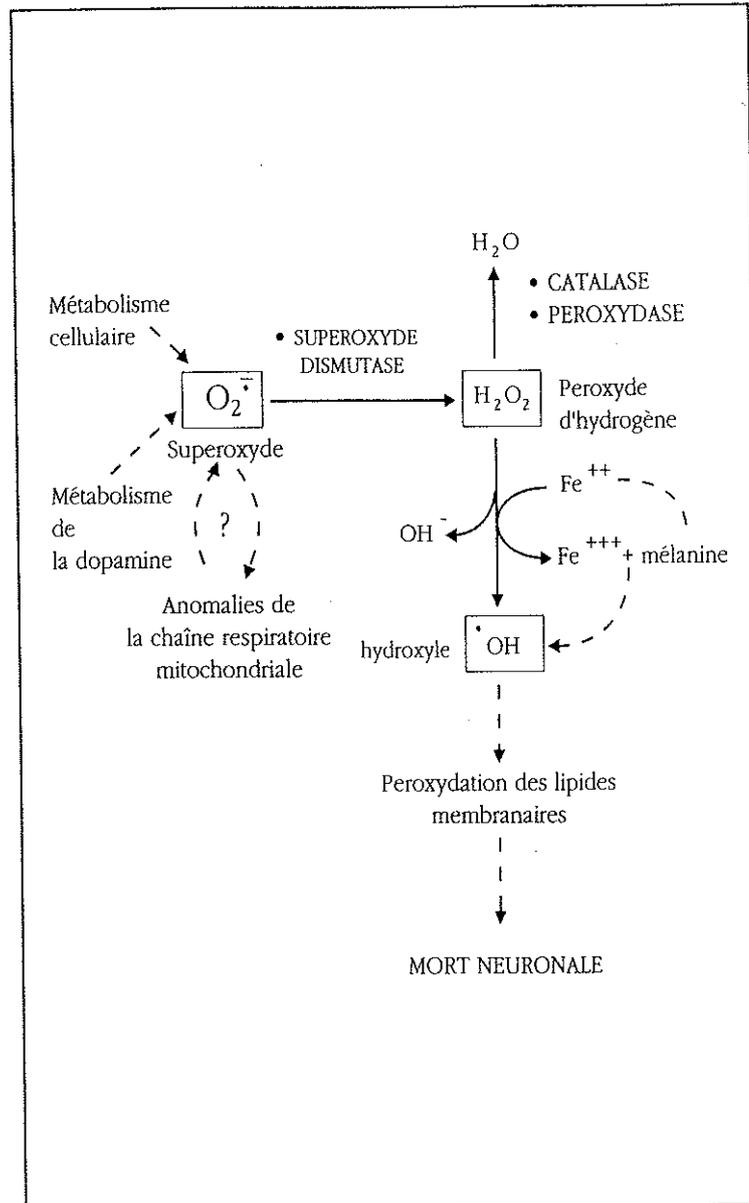


figure 30 (32) : PRINCIPALES REACTIONS BIOCHIMIQUES POUVANT
 CONDUIRE A L'AGRESSION OXYDATIVE DANS LES NEURONES
 DOPAMINERGIQUES DE LA SUBSTANCE NOIRE.

2.2. RADICAUX LIBRES ET VIEILLISSEMENT CUTANE. (57)

Parmi les nombreuses théories invoquées pour essayer d'expliquer les mécanismes biologiques du vieillissement, reviennent plus souvent : le contrôle génétique, la détérioration des systèmes immunologiques, la polymérisation des macromolécules, enfin les altérations liées à l'action des radicaux libres. En fait, il est très probable que dans la plupart des cas une action conjointe de plusieurs de ces mécanismes soit mise en jeu pour aboutir à la sénescence des tissus et de leurs fonctions.

Le risque d'agression radicalaire au niveau cutané est maximal, en raison de l'exposition quasi permanente de la peau aux stimuli photobiologiques (radiations ultra-violettes, spectre visible,...) générateurs de radicaux libres.

L'attaque radicalaire s'exerce sur des cibles biologiques multiples comportant, notamment, l'acide hyaluronique, le collagène, les phospholipides membranaires et l'ADN. Ces impacts multiples des radicaux libres vont être une des causes du vieillissement cutané.

L'agression par les radicaux oxygénés procède par une réaction en chaîne, dénaturant les molécules biologiques et les transformant en nouveaux radicaux libres, eux-mêmes agressifs pour d'autres molécules biologiques.

L'augmentation de l'âge est caractérisée par l'accumulation de substances pigmentaires fluorescentes (lipofuscine), conséquence de l'action des radicaux libres sur les lipides. Ces pigments sont un indice significatif de la responsabilité des radicaux dans le vieillissement cutané.

Au fur et à mesure que le temps passe, les cellules ont accumulé la lipofuscine, et notre organisme a de plus en plus de mal à se débarrasser de ce déchet qui empêchent alors les tissus de fonctionner normalement.

La lipofuscine n'est pas la cause de la sénescence mais elle en est le produit, c'est une expression biologique du vieillissement.

Les radicaux libres exercent sur la peau des impacts multiples : au niveau du derme conjonctif et de l'épiderme. Ils agissent sur les protéines de soutien qui constituent le derme conjonctif et sur ses cellules spécifiques qui assurent son renouvellement, les fibroblastes. Le tissu conjonctif est ainsi atteint dans sa substance fondamentale. De même, la désorganisation des membranes cellulaires, associée aux altérations des activités métaboliques de l'épiderme, vont altérer ce dernier.

Tous ces phénomènes progressifs et limités par les mécanismes de défense endogènes vont représenter des facteurs de la sénescence cutanée irréversible.

3. RADICAUX LIBRES ET CANCEROLOGIE

(7) (58) (21) (37) (22) (51)

Les radicaux libres sont impliqués dans la genèse des processus tumoraux dont ils peuvent être à la fois cause, conséquence et thérapeutique.

Une tumeur cancéreuse est due à la prolifération à la fois anarchique et indéfinie d'un clone cellulaire (dit cancéreux) conduisant à la destruction du tissu originel. Cette tumeur peut s'étendre et devient alors maligne en émettant des tumeurs secondaires appelées métastases.

3.1. LES RADICAUX LIBRES SONT LA CAUSE DE CANCERS. (29)

Il existe des substances cancérigènes, mais une faible dose d'une telle substance ne peut provoquer de cancer que si elle est accompagnée d'un autre produit, non cancérigène, mais qui potentialise la carcinogenèse de l'autre : le promoteur. On a mis en évidence que les cellules cancéreuses, humaines ou animales, contenaient des gènes, dits oncogènes, qui, transférés dans des cellules de cultures, y induisaient une cancérisation.

Les oncogènes diffèrent des gènes normaux par le changement d'un nucléotide. Il semblerait que toute substance capable de réagir avec l'ADN pourrait conduire à la formation d'oncogènes, potentiellement cancérogènes. Ainsi les radicaux libres semblent impliqués dans de nombreux processus cancéreux. Ces composés étant très réactifs peuvent agir comme initiateurs et/ou comme promoteurs vis à vis des cancers.

L'effet carcinogène des radicaux libres résulte du pouvoir oxydant qu'ils exercent sur :

- les chaînes d'ADN, en induisant des mutagenèses,
- les protéines, en provoquant des dysfonctionnements enzymatiques et notamment les enzymes antioxydantes,

- les acides gras polyinsaturés; certains produits de lipidoperoxydation auraient une action carcinogène directe.

Les mécanismes des lésions de l'ADN induites par les radicaux libres peuvent faire intervenir des mutations ou des perturbations de la réplication cellulaire sans qu'il y ait mutation. Certaines lésions pourraient contribuer à diminuer la synthèse protéique. Ce phénomène pourrait être particulièrement important dans les cellules différenciées ne se répliquant pas. Enfin les radicaux libres pourraient diminuer le contenu en 5-méthylcytosine, substance qui semble importante dans la différenciation cellulaire.

L'effet carcinogène des radicaux libres produits lors de l'activation des polynucléaires neutrophiles expliquerait le développement préférentiel des cancers au niveau des tissus présentant une inflammation chronique.

Certaines substances toxiques comme le paraquat ou le tétrachlorure de carbone agiraient en déclenchant une production massive de radicaux libres. Ce même mécanisme expliquerait l'effet antitumoral de certaines chimiothérapies.

3.2. LES RADICAUX LIBRES SONT LA CONSEQUENCE DE CANCERS.

Les cellules tumorales sont elles mêmes productrices de radicaux libres. En effet, les systèmes antioxydants cellulaires sont modifiés au cours de la carcinogenèse et, en particulier, la superoxyde dismutase dont les taux ont été retrouvés abaissés dans les cellules dédifférenciées.

3.3. LES RADICAUX LIBRES SONT LA THERAPEUTIQUE DES CANCERS.

La cytotoxicité préférentielle des radicaux libres pour les cellules tumorales, en raison, peut être, du déficit de ces dernières en SOD, est utilisée dans les traitements anticancéreux.

De nombreux médicaments anticancéreux produisent des radicaux libres : adriamycine, bléomycine, mitomycine C.

La production radicalaire intense et contrôlée obtenue au cours des irradiations en hyperoxie permet des destructions cellulaires dirigées, utiles dans le traitement de certaines tumeurs. En effet, les radiations peuvent arracher un électron à l'oxygène et créer ainsi des radicaux libres. Les rayons X et gamma, ainsi que les U.V., vont être à l'origine de ces radicaux, ce qui explique pour partie l'effet antitumoral des radiations mais aussi leur action mutagène. Les rayonnements de haute énergie induisent la radiolyse de l'eau contenue dans les cellules exposées avec production radicalaire.

Le facteur de nécrose des tumeurs (TNF) est l'une des principales cytokines de la réaction inflammatoire ayant également une activité antitumorale. La synthèse de TNF par les monocytes stimulés par des lipopolysaccharides bactériens est accrue en présence d'oxydants (H_2O_2 , perchlorate) mais totalement bloquée par addition d'antioxydants tels que le butyl hydroxyanisole (BHA).

Le TNF induit lui-même la production de dérivés réactifs de l'oxygène (anion superoxyde, peroxyde d'hydrogène et radicaux hydroxyles) par différentes cellules sur lesquelles il exerce son activité. Ce mécanisme explique l'activité antitumorale du TNF : seules les cellules tumorales à faible capacité antioxydante sont sensibles à cette cytokine. Il a été également constaté que le TNF, produit lors de traitements anticancéreux par l'interleukine-2, met en jeu les mêmes mécanismes effecteurs que les radiations ionisantes. Il est théoriquement possible, en fonction des résultats obtenus sur

des cellules en culture, d'amplifier l'activité antitumorale du TNF et des rayons X ou γ en augmentant le stress oxydatif (respiration dans une atmosphère enrichie en oxygène) ou en diminuant les défenses antioxydantes de l'organisme. Malheureusement ces méthodes demeurent sans intérêt thérapeutiques car les effets secondaires (syndrome inflammatoire) augmentent parallèlement à l'activité antitumorale.

Dans tous les cas, les radicaux libres créés vont pouvoir léser l'ADN induisant des modifications de fonctionnement de celui-ci, bénéfiques dans le cas d'une tumeur, mais létal ou carcinogène sur des cellules saines.

4. RADICAUX LIBRES ET DIABETOLOGIE (31) (56)

Le diabète s'accompagne d'une production accrue de radicaux libres (anion superoxyde, peroxyde d'hydrogène, radical hydroxyle,...) parallèle au déséquilibre glycémique. Cette production serait secondaire à une "auto oxydation du glucose", à la glycation protéique, et à la production de prostaglandines. De plus, il existerait une diminution des anti-oxydants endogènes piègeurs de radicaux libres chez les sujets diabétiques : superoxyde dismutase, vitamine C, vitamine E, et surtout glutathion réduit. Une des causes essentielles de ce défaut serait la modification du potentiel rédox cellulaire par consommation excessive du NADPH par l'aldose réductase (voie des polyols). On peut donc proposer que l'effet des inhibiteurs de l'aldose réductase est dû à une épargne du NADPH permettant une restauration des réserves en agents protecteurs permettant aux cellules de faire face aux stress oxydatifs.

De ce fait, les radicaux libres entraînent des dommages protéiques et sont toxiques pour les cellules endothéliales et plaquettaires par l'intermédiaire de la lipoperoxydation. Les cellules endothéliales lésées pourraient synthétiser moins d'héparine-sulfates, ce qui peut entraîner une fuite protéique, moins de prostacycline, qui est puissant agent antiagrégant plaquettaire et vasodilatateur. De plus l'effet des radicaux libres au niveau plaquettaire favorise l'activation de la phospholipase A₂ et la synthèse de thromboxane A₂, puissant agent vasoconstricteur et agrégant plaquettaire. Ainsi pourrait s'expliquer certaines anomalies observées dans le diabète, anomalies des cellules endothéliales (diminution de la production d'héparine-sulfates, diminution de la production de prostacycline, augmentation de la production du facteur VIII, diminution de l'activation du plasminogène - donc diminution des possibilités de fibrinolyse - , augmentation de l'enzyme de conversion), anomalies des plaquettes (augmentation de thromboxane A₂), qui toutes concourent à la formation d'un état microthrombotique.

L'auto-oxydation du glucose est de découverte récente. Le glucose peut subir une "oxydation de transition à catalyse métallique", par l'intermédiaire de sa forme ène-diol, générant de l'eau oxygénée, des intermédiaires réactifs comme le radical hydroxyl, et des céto-aldéhydes, qui peuvent ensuite se fixer sur des protéines sous forme de céto-aminométhylol qui peut s'oxyder et produire un radical libre hydroxyl. Ces radicaux hydroxyls seraient responsables de l'attaque des protéines et des dommages cellulaires.

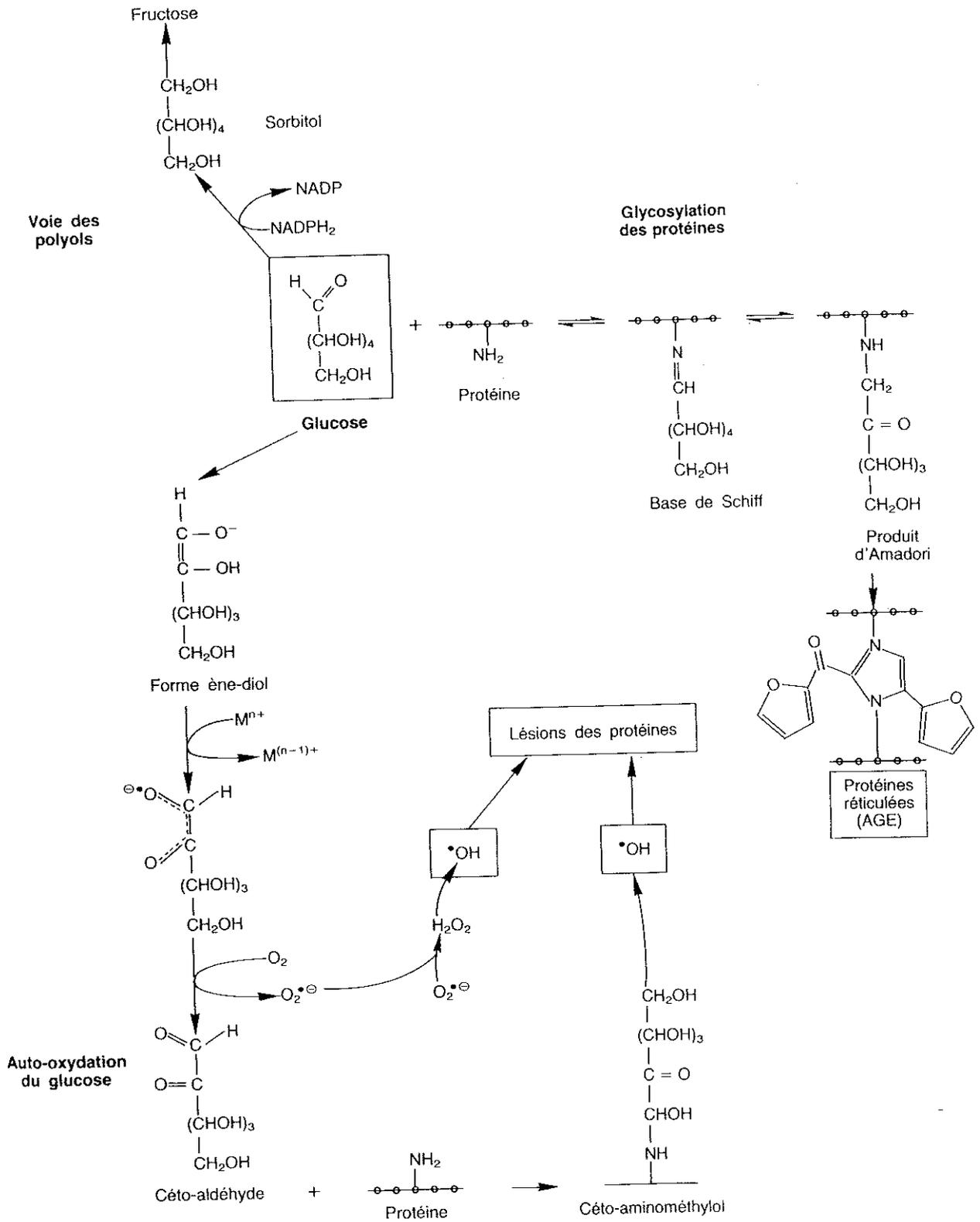


figure 31 (56) : REACTIVITE CHIMIQUE DU GLUCOSE

5. RADICAUX LIBRES ET OPHTALMOLOGIE (22) (25)

L'oeil est l'une des structures de l'organisme les plus sensibles à l'agression radicalaire car il dispose à la fois :

- d'un métabolisme réunissant toutes les conditions pour générer des radicaux libres (très actif, grand consommateur d'oxygène et faisant intervenir des transferts électroniques).

- d'une multitude de membranes, cibles idéales de lipidoperoxydation (membranes endocellulaires des cellules neurosensorielles, cônes et bâtonnets).

De plus, l'oeil est sans cesse exposé aux rayonnements directs du soleil : spectre visible, U.V., irradiations. Les lipofuscines et autres pigments visibles à l'examen du fond d'oeil traduisent la lipidoperoxydation radicalaire intense des structures oculaires au niveau desquelles ils s'accumulent.

Comme nous l'avons déjà dit, la démonstration directe des radicaux libres dans les tissus est difficile à cause de leur demi-vie brève. Les preuves de leur intervention dans des processus physiologiques et dans l'inflammation sont surtout indirectes.

L'une d'elles est la démonstration in situ des enzymes qui participent à la production et au catabolisme des dérivés de l'oxygène et qui constituent des moyens de défense contre l'attaque des tissus par les radicaux libres. Leur présence dans différents tissus et humeurs de l'oeil, a été étudiée par plusieurs auteurs. L'activité superoxyde dismutase a été démontrée dans différentes parties de l'oeil : la SOD-Cu-Zn est localisée dans les épithéliums de la cornée, postérieur de l'iris, non pigmenté du corps ciliaire, du cristallin, pigmenté de la rétine, et dans les segments internes des photorecepteurs. Son rôle serait particulièrement important

dans la protection des structures membranaires des disques des photorécepteurs contre l'ion superoxyde qui est produit sous l'effet de la lumière. La catalase est présente dans les mêmes cellules, ce qui suggère une coopération de ces deux enzymes. L'oeil contient aussi différentes substances qui fonctionnent comme anti-oxydants, en particulier le glutathion, l'acide ascorbique (qui est présent dans l'humeur aqueuse à une concentration vingt fois supérieure à celle du plasma) et la vitamine E. Une inhibition de la formation des radicaux libres par les larmes humaines a été démontrée in vitro. La lactoferrine serait principalement responsable de la protection exercée par les larmes contre l'effet toxique de l'hydroxyle sur la surface oculaire.

Le rôle des radicaux libres dans l'inflammation ovulaire a été prouvé par différents modèles d'inflammation : introduction directe de ces produits dans l'oeil, ou action indirecte par l'effet anti-inflammatoire des antioxydants dans les uvéites expérimentales.

L'injection dans le vitré d'un système producteur de superoxyde, xanthine + xanthine oxydase provoque en quelques heures une forte inflammation avec afflux de polynucléaires venant des vaisseaux rétiniens, et des lésions rétiniennes. L'injection de H_2O_2 donne un résultat analogue. Ces expériences sont démonstratives de la production de facteurs chimiotactiques induite par les radicaux libres oxygénés.

Dans un modèle d'inflammation oculaire induite chez le lapin, on a montré que le taux d'acide ascorbique de l'humeur aqueuse baisse en fonction de l'infiltration par les neutrophiles : in vitro, les neutrophiles activés baissent la concentration de cette vitamine dans le milieu. On peut alors penser que la concentration très élevée d'acide ascorbique dans l'humeur aqueuse représente un moyen de protection contre l'attaque radicalaire provoquées par l'inflammation.

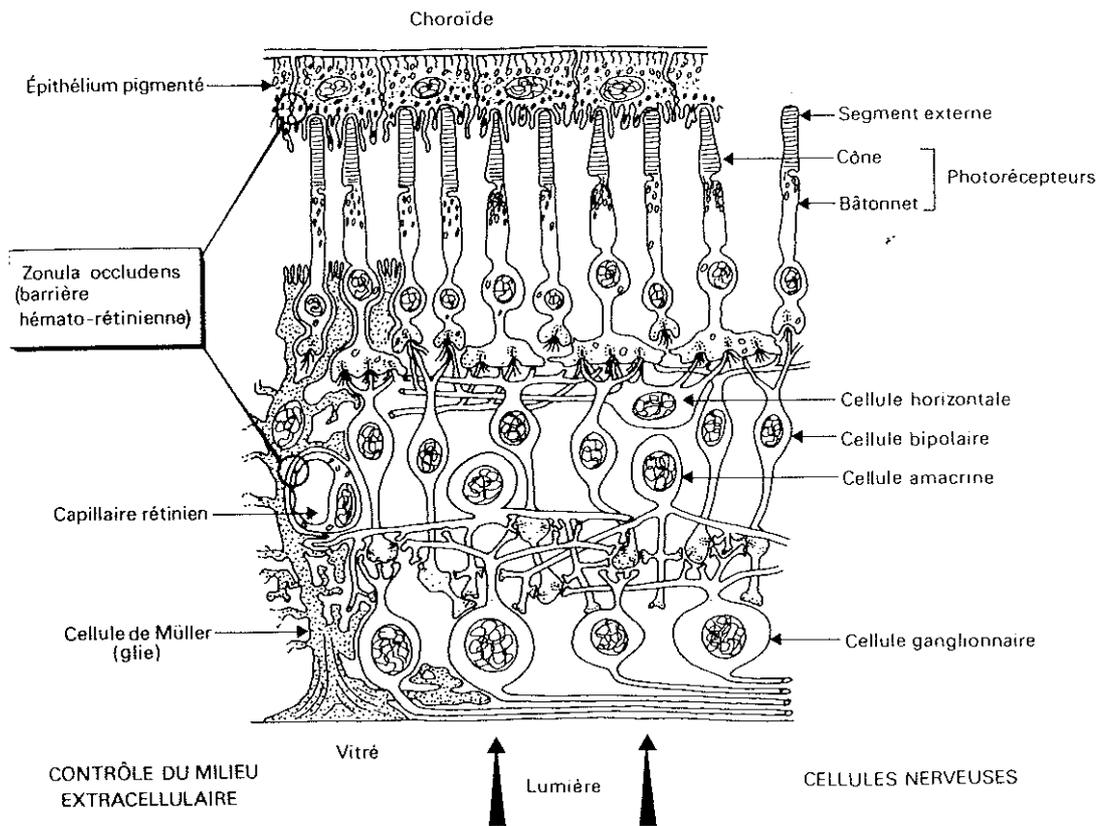
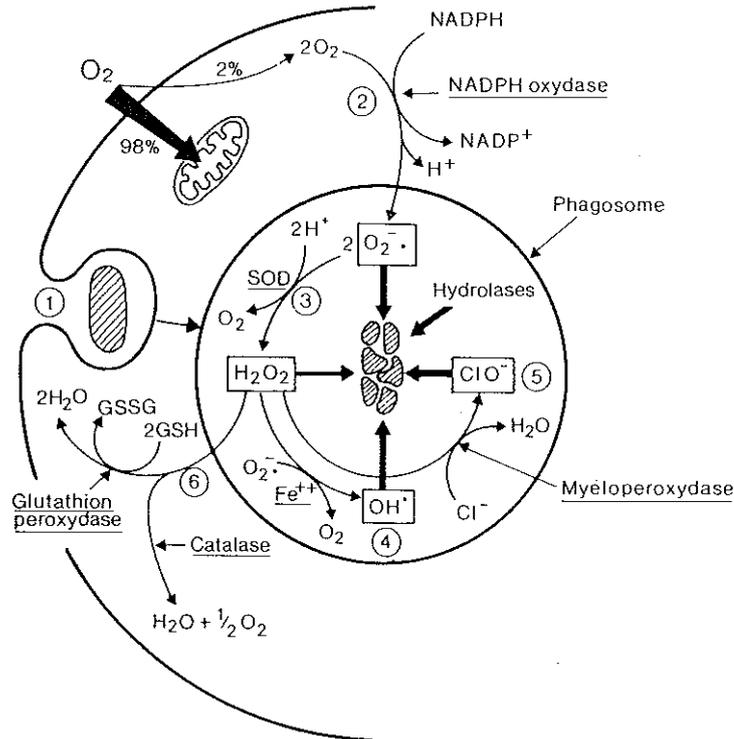


figure 32 (25) : SCHEMA FONCTIONNEL DE LA RETINE

Mécanismes et médiateurs de l'inflammation oculaire



L'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) et ses dérivés. La phagocytose des particules étrangères (bactéries...) par le neutrophile (1) active la NADPH oxydase (2), d'où consommation d'oxygène (« respiratory burst »). Au moins 98 % de l'oxygène consommé est destiné à la phosphorylation oxydative dans les mitochondries, 2 % de l'oxygène produit l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$). La particule est dégradée dans le phagosome par des hydrolases et plusieurs métabolites de l'oxygène : superoxyde, peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (3) (qui provient de l'action de la superoxyde dismutase (SOD) sur le superoxyde), radical hydroxyle (OH^{\bullet}) (4), hypochlorite (ClO^-) (5). L' H_2O_2 est dégradé par la glutathion peroxydase (GSH : glutathion) et la catalase (6). Les dérivés de l'oxygène sont toxiques pour les bactéries dans les phagosomes, mais peuvent aussi attaquer les cellules de l'hôte lorsqu'ils sont libérés dans le milieu extracellulaire.

figure 33 (25) : MECANISMES ET MEDIATEURS DE L'INFLAMMATION OCULAIRE

5.1. LA CATARACTE.

La cataracte est une opacité congénitale ou acquise du cristallin. Elle traduit une dégénérescence des fibres cristalliniennes, avec perte de transparence par modifications métaboliques. La cataracte est souvent d'origine obscure et rattachée alors à la simple sénescence du cristallin.

Le cristallin est une structure avasculaire dont tous les échanges (nutriments, électrolytes,...) ont pour condition la parfaite intégrité des membranes cellulaires. De nombreux travaux ont montré qu'il existait une relation entre la dégradation des lipides membranaires du cristallin par les radicaux libres et le développement d'une cataracte. Le mécanisme actuellement retenu fait intervenir la libération de radicaux libres par les macrophages activés : en effet, l'incubation in vitro du cristallin avec de tels macrophages activés entraîne une altération progressive de ses capacités de transport résultant de la lipidoperoxydation radicalaire. Ceci facilite les dépôts d'agrégats de haut poids moléculaire qui précèdent de peu l'opacification du cristallin.

5.2. LES DEGENERESCENCES RETINIENNES.

5.2.1. Rétinopathie diabétique.

La rétinopathie diabétique est la première cause de cécité de l'adulte dans les pays industrialisés. Il a été démontré expérimentalement que les dégénérescence rétiniennes de diabétiques (diabète induit à l'alloxane) et hémorragiques (présence de fer hémoglobinique dans le corps vitré) étaient liées à une lipidoperoxydation de la rétine avec dégradation progressive des disques. Sur le plan fonctionnel, la lipidoperoxydation de la rétine altère sa réponse à des stimulations lumineuses répétées. La réponse électrique de la

rétine à la peroxydation, mesurée au cours de l'electrorétinogramme, se traduit par une diminution de l'amplitude de l'onde b et de la durée de survie. Les piègeurs de radicaux libres confirment la responsabilité de ces derniers dans les dégénérescences rétiniennes observées, car leur administration augmente significativement l'amplitude de l'onde b ainsi que la durée de survie de la rétine pré-traitée.

5.2.2. Dégénérescence maculaire liée à l'âge.

La dégénérescence maculaire sénile est une dégénérescence rétinienne circonscrite à la macula, zone centrale du pôle postérieur de la rétine responsable de la vision précise : acuité visuelle centrale de la lecture et de l'écriture. Il s'agit d'une inflammation chronique granulomateuse dirigée contre des composants de la membrane de Bruch (les fibres de collagène) qui sépare l'épithélium pigmentaire de la rétine et la choroïde. C'est la première cause de perte de l'acuité visuelle chez les sujets de plus de 60 ans. Les modifications précoces de la dégénérescence maculaire sénile pourraient être liées à une accumulation de lipofuscine et d'autres matériaux anormaux dans et sous les cellules de l'épithélium pigmentaire, avec épaissement anormal de la membrane de Bruch. L'attaque radicalaire des photorécepteurs compte ainsi parmi les facteurs probablement à l'origine de la dégénérescence maculaire sénile.

5.3. LES MALADIES INFLAMMATOIRES DE L'OEIL.

Les radicaux libres oxygénés sont également impliqués dans les maladies inflammatoires de l'oeil : uvéites, kératites infectieuses, rétinites,.... En effet, dans ce milieu riche en phospholipides membranaires, les radicaux oxygénés produits par les polynucléaires neutrophiles au cours de la réaction inflammatoire vont avoir une action très toxique. On a démontré expérimentalement que ces atteintes inflammatoires sont

considérablement atténuées si les animaux sont neutropéniques ou traités par des agents anti-oxydants.

5.4. LA FIBROPLASIE RETROLENTALE.

La fibroplasie rétrolentale correspond au stade final de la rétinopathie des prématurés. Elle est liée à l'exposition de la rétine à de hautes concentrations en oxygène alors que son système anti-oxydant de défense est immature : il semble qu'il s'agit d'une affection iatrogène créée ou favorisée par une oxygénothérapie intempestive et prolongée. En effet, le système anti-oxydant rétinien en aérobie se met en place au cours de la gestation et prépare le passage entre un système un système nutritif in utéro à basse tension d'oxygène et un système en air ambiant à haute tension d'oxygène.

L'immaturité du système anti-oxydant rétinien de l'enfant prématuré explique que la survenue d'une fibroplasie rétrolentale soit possible, même en l'absence d'oxygénothérapie, chez le très grand prématuré (moins de 1000 g).

L'exposition à une concentration élevée en oxygène induit une production de radicaux libres oxgénés et, par oxydation, une destruction des cellules fusiformes de la rétine temporale. Ces cellules sont les précurseurs des capillaires rétiniens. La libération de facteurs angiogéniques est à l'origine d'une néovascularisation de "compensation". Les lésions rétiniennes, bilatérales, comportent donc une zone temporale avasculaire séparée de la rétine vascularisée par un bourrelet de néovaisseaux. Une prolifération fibreuse peut atteindre le corps vitré et exercer des tractions à l'origine de décollements rétiniens. Les conséquences fonctionnelles sont une myopathie d'emblée importante, fréquemment compliquée de nystagmus, de strabisme, de glaucome,...

6. RADICAUX LIBRES ET PEDIATRIE.

Bien qu'il semble que les radicaux libres soient rattachés essentiellement à des pathologies liées au vieillissement, il arrive que des enfants ou des nourrissons aient une maladie où sont impliqués ces dérivés actifs. En effet, les nouveaux nés prématurés sont très sensibles à l'attaque radicalaire, nous venons de voir un exemple avec la fibroplasie rétrolentale du prématuré, mais il existe une autre pathologie infantile où l'attaque radicalaire est mise en cause : la maladie du Kwashiorkor.

6.1. RADICAUX LIBRES ET PREMATURES. (58)

Les nouveaux nés prématurés sont très sensibles à l'attaque radicalaire. En effet, leurs systèmes enzymatiques, et notamment les systèmes antioxydants, sont immatures, et leur organisme est plus fragile. De plus, ces enfants doivent souvent subir une oxygénothérapie permettant leur ventilation. C'est ainsi que la production de radicaux libres est favorisée par l'utilisation de cet oxygène. Tout comme la fibroplasie rétrolentale, la dysplasie broncho-pulmonaire du prématuré est également attribuée à la production radicalaire (voir chapitre 10."radicaux libres et pathologies respiratoires").

6.2. LA MALADIE DU KWASHIORKOR. (2) (30)

Le Kwashiorkor est une maladie qui survient chez les jeunes enfants durant ou après le sevrage. C'est une forme sévère de malnutrition protéino-énergétique se caractérisant par des troubles psychiques, des lésions cutanées, un arrêt de la croissance et surtout par un déficit pondéral et la présence d'oedèmes.

Le Kwashiorkor est différent du marasme nutritionnel qui se caractérise également par une perte de poids mais encore plus important et sans oedème.

Cette maladie survient quand l'apport alimentaire a un faible rapport protéine/énergie, et est pauvre en vitamines et sels minéraux. Cette carence entraîne donc un état pathologique de plus en plus profond, le Kwashiorkor en serait la phase finale.

Cependant, depuis 1985, Golden propose une hypothèse radicalaire dans l'étiologie de cette maladie. En effet, il a observé que chez les enfants atteints par le Kwashiorkor les défenses antiradicalaires étaient diminuées. De plus, leur environnement les expose à diverses infections et toxines qui déclencheraient une surproduction de radicaux libres dans leur organisme. Il en résulterait une agression oxydante.

① Baisse des défenses antiradicalaires .

Pour appuyer son hypothèse, Golden a constaté que les piègeurs de radicaux libres sont en quantité diminuée dans le sang de ces enfants malades. Il a en effet observé une diminution des concentrations plasmatiques de Vitamine E, de carotènes et de sélénium, et une baisse de la teneur en Glutathion dans le sang total.

Cependant, cette baisse de protection peut également être attribuée à un apport alimentaire insuffisant.

② Eléments en faveur d'une surproduction radicalaire.

Il est encore impossible de mettre en évidence la production de radicaux libres dans l'organisme. C'est pourquoi Golden a basé son hypothèse à partir d'éléments allant dans le sens d'une surproduction de radicaux libres :

- la malnutrition protéino-énergétique entraîne la survenue d'infections, la prolifération bactérienne intestinale et l'ingestion de toxines. Or ceci provoque un phénomène inflammatoire, stimulant les neutrophiles, et comme nous l'avons vu, générant des radicaux libres.

- chez les enfants souffrant de Kwashiorkor, la teneur en sidérophiline (protéine transportant le fer) est diminuée alors

que la concentration en fer est normale. Cette protéine est donc fortement saturée et le taux de fer libre est augmenté. Or nous avons vu que le fer libre, et notamment à l'état réduit, est un puissant catalyseur des réactions de peroxydation.

③ Agression oxydante.

- Le Kwashiorkor élève le rapport $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$ dans le globule rouge, et Golden pense que l'agression oxydante en serait vraisemblablement la cause.

- par ailleurs, cet auteur a remarqué une forte excrétion urinaire de mercapturates et en conclut que leur origine vient des produits terminaux de la peroxydation des lipides après conjugaison avec le glutathion réduit.

Cependant, d'autres auteurs comme Albrecht R. et coll., proposent une autre origine en accord toujours avec l'hypothèse radicalaire : davantage de mercapturates signifie une forte exposition à des xénobiotiques électrophiles.

- Albrecht R. a également constaté que, chez le rat, le déficit protéique augmente :

- la lipidoperoxydation microsomique enzymatique in vitro, dans le foie,
- des indices de la peroxydation in vivo, chez l'animal,
- la concentration de lipoperoxydes dans l'intestin grêle.

Cependant ces animaux ne souffraient ni d'oedèmes ni de déficit vitaminique ou minéral.

A l'heure actuelle, on ne dispose pas de preuves réelles d'une production excessive de radicaux libres ou d'un dommage oxydatif des macromolécules chez les enfants atteints de Kwashiorkor. L'hypothèse de l'étiologie de cette maladie que propose Golden peut être possible mais reste tout de même à prouver.

7. RADICAUX LIBRES ET PATHOLOGIES HEPATIQUES :
MALADIE ALCOOLIQUE DU FOIE (17) (37) (13)

La consommation d'alcool entraîne différents types de lésions au niveau du foie dont le mécanisme est mal connu. L'hyperproduction de radicaux libres est un des mécanismes potentiels évoqué. Darmoni et coll. ont étudié les relations pouvant exister entre les maladies alcooliques du foie et une hyperproduction de radicaux libres ou une diminution des mécanismes protecteurs vis à vis des effets toxiques de ces radicaux.

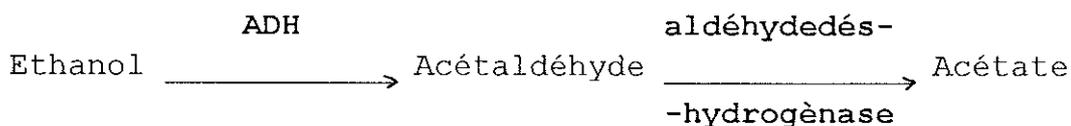
Il est encore très difficile d'évaluer la production radicalaire dans l'organisme. Seuls les effets toxiques des radicaux libres sur les lipides et les inhibiteurs de la lipidoperoxydation peuvent être appréciés en biologie clinique courante :

- inhibiteurs de la lipidoperoxydation :
 - piègeurs de radicaux libres,
 - glutathion.
- marqueurs de la lipidoperoxydation :
 - malondialdéhyde (MDA),
 - lipofuscine,
 - diènes conjugués,
 - alcanes (éthane et pentane).

De nombreuses recherches ont été réalisées chez l'homme et l'animal pour étudier les effets de l'alcool et des radicaux libres sur le foie. L'ensemble des études chez l'homme ont montré une augmentation des marqueurs de la lipoperoxydation au cours des maladies alcooliques du foie, tandis que chez l'animal certains résultats sont divergents.

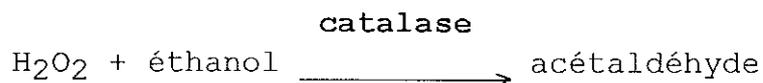
① Rappels sur le métabolisme de l'éthanol.

La principale voie d'oxydation de l'éthanol est la biosynthèse de l'acétaldéhyde par l'alcool déshydrogénase, enzyme se trouvant dans le cytosol des hépatocytes. L'acétaldéhyde formé est bien plus toxique que l'éthanol et est oxydé en acétate par l'aldéhyde déshydrogénase.



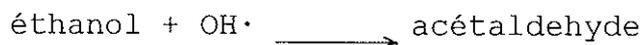
L'éthanol peut être également oxydé en acétaldéhyde par deux autres voies : la voie de la catalase et la voie du MEOS (Microsomal Ethanol Oxydising System).

La catalase est une enzyme présente dans les peroxysomes. C'est une voie mineure de l'oxydation de l'éthanol :



Le MEOS est un système microsomal oxydant l'éthanol grâce à une oxygénase, au NADPH et à l'oxygène moléculaire.

Il a été montré in vitro que l'éthanol peut être également oxydé en acétaldéhyde par l'intervention du radical hydroxyl, OH·.



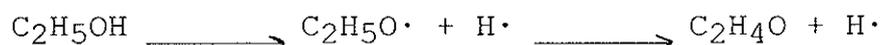
En effet, l'addition de fer-EDTA, molécule entraînant une augmentation du radical hydroxyle, favorise l'oxydation de l'éthanol. De plus, en présence de piègeurs de ce radical l'oxydation alcoolique est diminuée.

L'éthanol peut être considéré comme un agent antiradicalaire. En effet, il piège le radical hydroxyl et la réaction avec la catalase diminue la production d'eau oxygénée.

L'oxydation de l'éthanol par les radicaux libres pourrait impliquer également la xanthine oxydase dont la synthèse à partir de la xanthine déshydrogénase est favorisée par l'alcool.

Le mécanisme de la production de radicaux libres par l'éthanol est encore hypothétique. Il existe actuellement quatre théories pour expliquer cette hyperproduction.

1) le cytochrome P450 et le radical hydroxyl interagissent avec l'éthanol pour former le radical éthoxyl $C_2H_5O\cdot$. Ce radical serait produit lors de l'oxydation de l'éthanol en acétaldéhyde :



2) le cytochrome P450 et la NADPH cytochrome c réductase peuvent générer $O_2\cdot$ et H_2O_2 qui sont des composants du MEOS inductible par l'éthanol lors d'un alcoolisme chronique.

3) la NADPH microsomale génératrice de $O_2\cdot$ est augmentée chez le rat après administration aiguë et chronique d'éthanol.

4) la xanthine oxydase pourrait générer le radical superoxyde lors de l'oxydation de l'acétaldéhyde en acétate.

② relations entre maladies alcooliques du foie et radicaux libres.

Chez l'animal, les résultats de dosage des marqueurs et des inhibiteurs de la lipoperoxydation, après administration aiguë ou chronique d'alcool, sont divergents.

Comporti et coll. ont montré que 12 heures après administration aiguë d'alcool, les taux de MDA hépatique sont augmentés in vivo et in vitro.

D'autres études portant sur des doses variées d'éthanol ont également confirmé l'augmentation de MDA.

A l'inverse, plusieurs études chez le rat, in vivo et in vitro, n'ont pas trouvé d'augmentation des marqueurs de la lipoperoxydation après administration aiguë d'alcool.

Par contre, après administration chronique, le MDA est augmenté comme le montre les travaux de Bloom et Westerfeld entre autres.

De même, le dosage des diènes conjugués et des alcanes est révélateur de la lipoperoxydation. Certaines études chez le babouin et chez le rat ont montré une augmentation des diènes et des alcanes après administration aiguë et chronique d'alcool, alors que d'autres n'ont pas observé de modifications des diènes conjugués.

Show et coll. ont montré qu'il existait une baisse du glutathion hépatique chez des babouins après administration aiguë d'alcool, baisse plus importante chez l'animal préalablement traité de façon chronique. Mais ces auteurs n'ont pas trouvé de modifications chez le rat.

De même, les études mesurant chez le rat l'activité des différentes enzymes hépatiques épuratrices de radicaux libres sont contradictoires : l'activité de la glutathion peroxydase est augmentée dans l'étude de Mac Donald et n'est pas modifiée dans celle de Valenzuela et coll.

La divergence des résultats obtenus chez l'animal peut être expliquée par les variations des doses d'alcool administrées, mais aussi par les différentes méthodologies utilisées d'une expérimentation à l'autre et notamment les temps de latence entre administration et mesure de la lipidoperoxydation.

- Chez l'homme, l'ensemble des études ont montré une augmentation des marqueurs de la lipoperoxydation au cours des

maladies alcooliques du foie. Cependant, il n'a pas été démontré si cette augmentation était la cause ou la conséquence de la toxicité de l'alcool sur le foie. En effet, ces deux hypothèses sont possibles : le toxique peut altérer les cellules entraînant la production de radicaux libres et causant la mort cellulaire, ou bien le toxique altère les cellules qui finissent par être détruites ce qui a pour conséquence la formation de radicaux libres.

- les radicaux libres sont la conséquence de la toxicité de l'éthanol.

Moscarella et coll. ont dosé le taux de pentane chez des patients atteints de cirrhose alcoolique, d'autres atteints d'hépatite alcoolique aiguë et d'autres encore de stéatose (où il n'y a pas de lyse cellulaire) : le taux de pentane était élevé chez les deux premiers groupes de malades alors qu'il était normal chez le groupe stéatose.

Suematsu et coll. ont également remarqué que le MDA était augmenté chez les malades atteints d'hépatite alcoolique aiguë chez lesquels la lyse cellulaire est très importante.

- les radicaux libres sont la cause de la toxicité de l'alcool.

Dans une autre étude Moscarella et coll. ont comparé des malades cirrhotiques alcooliques et non alcooliques. Le taux de pentane était plus élevé dans le groupe cirrhose alcoolique.

Suematsu et coll. ont remarqué que le taux de MDA sérique était plus élevé chez des patients atteints de stéatose par rapport à des témoins.

Ces deux études doivent cependant être interprétées avec prudence car d'une part il n'est pas certain que l'intensité de la nécrose dans les deux groupes cirrhotiques soit comparable, et d'autre part l'élévation du MDA sérique peut être due à des lésions des organites intracellulaires lors de la stéatose.

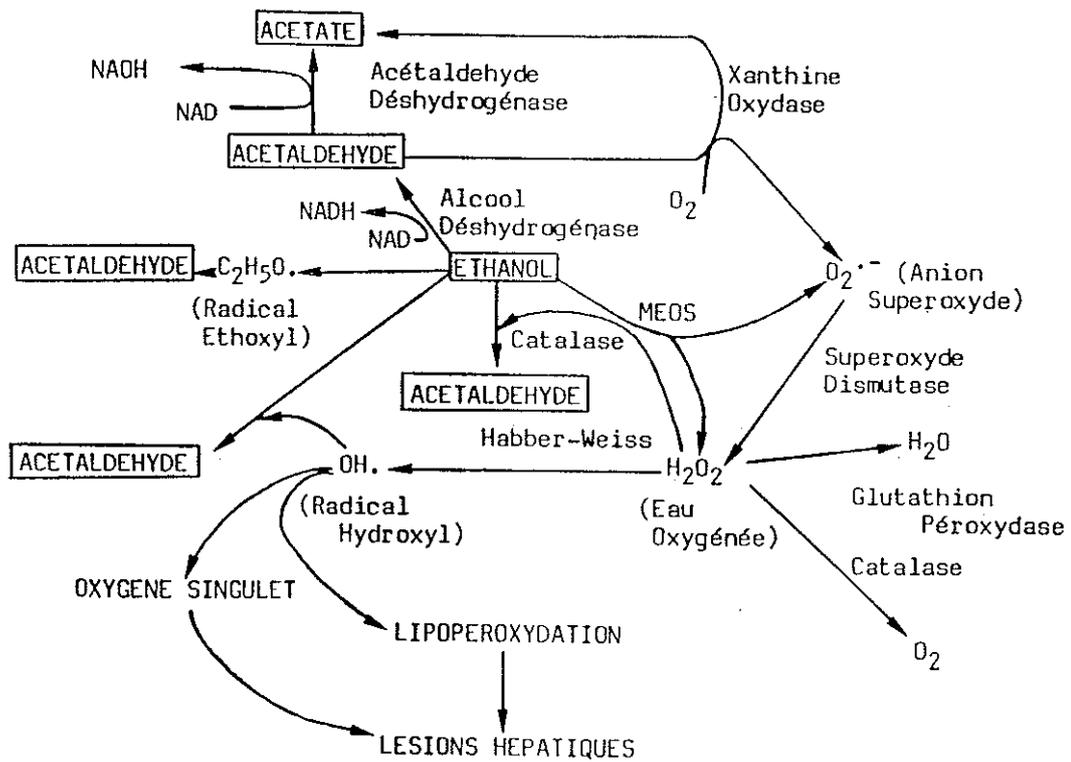


figure 34 (17) : METABOLISME DE L'ETHANOL ET RADICAUX LIBRES

8. RADICAUX LIBRES ET RHUMATOLOGIE. (58)

Dans tout mécanisme inflammatoire, des radicaux libres vont être libérés localement dans les tissus par les polynucléaires et les macrophages et vont participer aux destructions cellulaires observées. Ces mécanismes sont stimulés par l'activation du complément avec libération de C3 et C5. C'est le "respiratory burst" correspondant à une augmentation de la consommation d'oxygène par les cellules stimulées. Les radicaux libres formés vont augmenter la perméabilité vasculaire et donc favoriser l'afflux de nouvelles cellules inflammatoires, attirées par des facteurs chimiotactiques dont certains sont activés par ces mêmes radicaux libres.

Les radicaux libres peuvent léser les cellules directement, mais aussi altérer les protéines de structures des tissus, par exemple au niveau du cartilage.

Cette action inflammatoire radicalaire a donc été évoquée dans les processus arthritiques en rhumatologie : ARTHRITE et ARTHROSE. Les radicaux libres participent à la réaction inflammatoire et l'amplifie ; ils aident à la destruction du collagène et du cartilage.

9. RADICAUX LIBRES ET OTO-RHINO-LARYNGOLOGIE. (22)

Les symptômes ORL tels que les vertiges mais aussi les hypoacusies et les acouphènes reconnaissent souvent une étiologie vasculaire ischémique pour laquelle nous avons déjà souligné le rôle pathogène des radicaux libres.

De plus, les pathologies de la sphère ORL sont souvent liées à des phénomènes inflammatoires (otites, sinusites,...) dans lesquels les radicaux libres sont impliqués.

10. RADICAUX LIBRES ET PATHOLOGIES RESPIRATOIRES. (58)

Les pathologies respiratoires attribuées à la production de radicaux libres sont essentiellement liées à des phénomènes toxiques : intoxication par des médicaments, par des herbicides, par la cigarette, oxygénothérapie.

Les radicaux libres sont impliqués dans certaines pneumopathies toxiques sous paraquat, bléomycine ou nitrofurantoïne, ainsi que dans les lésions observées après ventilation artificielle prolongée avec des pressions d'oxygène trop élevées.

Chez le nouveau né prématuré, la dysplasie broncho-pulmonaire est également attribuée à la production de radicaux libres par agression d'un parenchyme immature au dépend de l'oxygène utilisé pour ventiler ces enfants.

La participation des radicaux libres à la physiopathologie du syndrome de détresse respiratoire aiguë de l'adulte a été également avancée avec des preuves solides. De même, ils semblent participer au développement de l'emphysème observé chez les fumeurs.

11. RADICAUX LIBRES ET GASTRO-ENTEROLOGIE.

(58) (22) (21) (27)

Les poussées inflammatoires de rectocolite hémorragique ou de maladie de Crohn correspondent à une importante infiltration de la muqueuse digestive par des polynucléaires neutrophiles.

La rectocolite hémorragique est une maladie au long cours, atteignant le côlon en partie ou en totalité et évoluant par poussées successives entrecoupées de remissions, caractérisée au moment des poussées par un syndrome muco-hémorragique.

La maladie de Crohn est une entérite segmentaire pouvant atteindre n'importe quelle partie du tube digestif. Cette pathologie d'évolution chronique, avec une tendance scléro-ulcéro-nécrotique, concerne surtout les jeunes adultes (30-40 ans). Sa pathogénie est mal connue.

Les lésions oedémateuses, ulcéreuses et nécrotiques induites par la production radicalaire des leucocytes activés sont reproduites expérimentalement en instillant dans le côlon des substances chemotactiques pour les polynucléaires neutrophiles. L'association de SOD et de déféroxamine (chélateur du fer trivalent) permet d'obtenir 80% de bons résultats à long terme dans le traitement de la maladie de Crohn.

12. RADICAUX LIBRES ET MALADIES AUTOIMMUNES. (22)

La présence d'anticorps contre un constituant normal de l'organisme et le conflit antigène-anticorps qui en résulte déclenchent une importante activation leucocytaire et une production massive de radicaux libres. On retrouve cette agression radicalaire au niveau articulaire avec la polyarthrite rhumatoïde et au niveau thyroïdien avec la thyroïdite autoimmune de Hashimoto.

12.1. THYROIDITE AUTOIMMUNE DE HASHIMOTO. (40) (6) (55)

La thyroïdite autoimmune se caractérise par une infiltration lympho-plasmocytaire de la glande thyroïdienne, des auto-anticorps anti-thyroïdiens, dirigés notamment contre l'auto-antigène majeur : la thyroglobuline. L'étiologie de la maladie est encore mal connue mais on pense qu'elle nécessite une conjonction de facteurs favorables, endogènes et exogènes : prédisposition génétique, infections virales, iode, radicaux libres,...

L'implication des radicaux libres dans la thyroïdite autoimmune a été envisagée grâce à l'observation d'inclusions de lipofuscine dans les thyrocytes et les macrophages au microscope électronique. Or la présence de lipofuscine est le résultat d'un phénomène de peroxydation lipidique et d'une production radicalaire excessive. De plus, le rôle des radicaux libres dans la maladie de Hashimoto a été appuyé lors d'expérimentations sur le poulet : un traitement par des anti-oxydants diminue de façon significative la sévérité de la thyroïdite auto-immune chez l'animal (infiltration et auto-Ac antithyroglobuline), lorsqu'il est administré avant le début de la maladie. La formation de radicaux libres semble donc impliquée dans les étapes pathogénétiques précoces chez le poulet.

La thyroïde contient des systèmes de production de l'ion superoxyde par les enzymes xanthine oxydase et NADPH-oxydase. Le peroxyde d'hydrogène, formé à partir de cet ion, pourrait

participer à la génération de formes oxydées réactives dans les thyroïdes provoquant ainsi des lésions tissulaires.

La migration de leucocytes et leur sensibilisation aux antigènes thyroïdiens s'opérerait dans ces sites lésionnels, et initierait la réaction auto-immune sur un terrain susceptible.

L'iode, molécule très présente dans cette glande, en interagissant avec des intermédiaires réactifs oxygénés, produirait des formes oxydées hautement réactives : l'iode serait converti en acide hypoiodéux, puissant agent cytolytique, de la même façon que l'acide hypochloreux à partir du chlore, en présence de peroxyde d'hydrogène et de myéloperoxydase. De plus, en présence de H_2O_2 et de peroxydase, l'iode provoque l'iodation des protéines membranaires créant ainsi des intermédiaires oxygénés réactifs qui augmentent la cytotoxicité de l'iode.

Les cellules phagocytaires présentes dans la glande, participeraient à ces mécanismes cytotoxiques par leur production endogène de composés radicalaires. La thyroïde a pour fonction spécifique de synthétiser et de sécréter les hormones thyroïdiennes et notamment la thyroglobuline, glycoprotéine iodée. Cette hormone subit une iodation qui, quand l'apport d'iode est important, pourrait conduire à la formation de radicaux $I\cdot$ et $TYR\cdot$.

Ainsi, il semblerait que la thyroïde soit particulièrement sensible à cette agression radicalaire médiée par l'iode, ceci par une anomalie intrinsèque ou une sensibilisation métabolique à l'iode. L'autoimmunité serait engendrée suite à cette attaque radicalaire et sur un terrain déjà favorable.

12.2. LA POLYARTHRITE RHUMATOÏDE. (50) (22)

La polyarthrite rhumatoïde est une maladie inflammatoire de l'ensemble du tissu conjonctif à prédominance synoviale, d'origine inconnue. Elle atteint préférentiellement la femme. Cette affection s'accompagne de nombreuses anomalies

immunologiques. Elle est considérée par certains comme une maladie auto-immune.

Certains auteurs proposent une implication des radicaux libres dans la polyarthrite rhumatoïde. Au cours de cette maladie inflammatoire chronique, on a observé une libération de radicaux oxygénés agressifs pour les constituants articulaires et une activation des dérivés de l'acide arachidonique. Ces mécanismes vont entretenir et amplifier la réaction inflammatoire. Le liquide synovial présente les caractéristiques de l'agression radicalaire : faible viscosité par dépolymérisation de l'acide hyaluronique, richesse en polynucléaires et en fer (réaction de Haber-Weiss), diminution de l'activité enzymatique SOD et catalase.

Parmi les traitements proposés pour cette pathologie, est utilisée la salazosulfapyridine (sulfamide anti-infectieux). Son mode d'action est mal connu, mais à côté de son activité antibactérienne, ce produit est susceptible d'agir sur la cascade de l'acide arachidonique. In vitro, la salazosulfapyridine diminue le chimiotactisme des polynucléaires, ainsi que la production d'ions superoxydes par ces cellules et la réponse lymphocytaire aux mitogènes.

13. RADICAUX LIBRES ET IMMUNOSUPPRESSION. (21)

Les radicaux libres exerceraient une activité immunosuppressive, notamment dans le cas du Syndrome d'Immuno-Déficiences Acquis (SIDA).

L'agression oxydative induit, d'une part, la synthèse de médiateurs lipidiques, en particulier la prostaglandine PGE₂ qui a des propriétés immunosuppressives, et, d'autre part, l'activation d'endonucléases qui fragmentent l'ADN et provoquent la mort cellulaire.

Lors d'un stress oxydatif répété, ce sont les lymphocytes à longue durée de vie (lymphocytes T) qui, par effet cumulatif, sont préférentiellement atteints. On s'interroge actuellement sur le rôle du stress oxydatif (par irradiation, toxicité chimique ou d'origine nutritionnelle) comme l'une des causes du déficit immunitaire lié au vieillissement. On recherche aussi dans quelle mesure le stress oxydatif associé à des infections chroniques (VIH, paludisme, parasitoses) pourrait contribuer à diminuer les mécanismes de défense spécifiques mettant en jeu les lymphocytes T.

RADICAUX LIBRES ET SIDA. (21) (27) (43) (1)

La production de dérivés actifs de l'oxygène moléculaire par les macrophages et les polynucléaires est l'un des principaux mécanismes de défense contre les infections bactériennes et parasitaires. Récemment, le rôle des radicaux libres dans les infections virales a été envisagé suite à l'étude d'un groupe japonais (Oda T. et coll., Akaike T. et coll.) montrant que dans l'infection expérimentale par un virus Influenza chez la souris, la mortalité était associée à la production excessive d'anion superoxyde par les macrophages pulmonaires et pouvait être évitée par l'administration d'un polymère de superoxyde dismutase.

Plusieurs travaux cliniques ont apporté des arguments en faveur de l'existence d'un stress oxydatif ou d'un déficit des défenses anti-oxydantes chez les malades infectés par le

Virus de l'Immunodéficience Humaine (VIH). Les taux plasmatiques et intracellulaires de glutathion réduit sont diminués et il existe, même chez les sujets séropositifs asymptomatiques, une augmentation de malonyldialdéhyde plasmatique, témoignant d'une peroxydation des lipides sous l'action des radicaux libres. Ce stress oxydatif participe très probablement à la progression de l'infection VIH.

De plus, la réplication du VIH in vitro est bloquée par la N-acétyl-L-cystéine, molécule anti-oxydante qui augmente le taux de glutathion cellulaire et qui est utilisée depuis plusieurs années avec une excellente tolérance clinique dans le traitement de certaines infections respiratoires.

Le stress oxydatif est actuellement l'un des premiers cofacteurs identifiés dans l'infection VIH. Cette découverte va conduire à évaluer l'effet thérapeutique de molécules anti-oxydantes, en association avec la chimiothérapie antirétrovirale.

II. PERSPECTIVES D'AVENIR : STRATEGIE THERAPEUTIQUE ANTIRADICALAIRE.

(21) (22) (26) (33)

Il est actuellement possible d'envisager une nouvelle classe thérapeutique, celle des médicaments antiradicalaires ou antioxydants. L'ensemble des molécules susceptibles d'inhiber directement la production, de limiter la propagation ou de détruire les espèces actives de l'oxygène, peuvent être regroupées sous cette "classe".

En fonction de leur mode d'action nous pouvons les rassembler en sous classes : ils peuvent agir en réduisant ou dismutant les radicaux libres, en les piégeant pour former un composé stable, en séquestrant le fer libre, en générant du glutathion.

Par contre, il convient de trouver une limite raisonnable à cette famille thérapeutique, car tout médicament agissant en inhibant l'agrégation plaquettaire, en diminuant l'inflammation, le nombre de polynucléaires, en modifiant l'oxygénation..., va indirectement diminuer la production de radicaux oxygénés.

1. CLASSES THERAPEUTIQUES.

La lutte contre l'excès radicalaire peut être envisagé par de nombreuses modalités.

1.1. UTILISATION D'ENZYMES.

Les enzymes représentent les premières défenses naturelles contre les radicaux libres. On a donc cherché à en produire, par extraction ou recombinaison génétique.

1.1.1. Les superoxydes dismutases.

L'enzyme la plus connue en thérapeutique est la Superoxyde Dismutase (SOD) qui a été utilisée sous forme de SOD bovine (Cu-Zn) libre avec une certaine efficacité dans le traitement de cystites induites par radiothérapie, dans la maladie de la Peyronie et dans les ostéoarthrites.

De même, dans l'ischémie du myocarde, divers travaux ont montré l'effet protecteur de la SOD. L'administration expérimentale de SOD avant reperfusion a montré un effet bénéfique sur la taille de l'infarctus final mais aussi sur la fonction ventriculaire gauche.

① SOD bovine

Une SOD d'origine bovine a été initialement utilisée en médecine vétérinaire pour traiter les problèmes articulaires des chevaux. Les premiers essais de la SOD bovine en médecine humaine ont été réalisés pour traiter la polyarthrite rhumatoïde et l'arthrose. Une SOD bovine, obtenue par extraction à partir des érythrocytes, est commercialisée en Allemagne et en Suisse par les laboratoires Grünenthal. Ce produit n'est pas commercialisé en France, où des essais cliniques ont lieu néanmoins avec une SOD bovine fournie soit

par la pharmacie centrale des hôpitaux et préparée par les laboratoires Allerbio, soit par des groupes de chercheurs.

La SOD bovine a été testée dans les maladies rhumatoïdes, par voie intra-articulaire. Son activité a également été démontrée dans la prévention des dysplasies pulmonaires chez les prématurés par voie sous-cutanée. Mais son utilisation dans cette indication ne s'est pas développée du fait de la réticence à administrer à des nourrissons un produit d'origine bovine.

La SOD bovine a été testée dans d'autres indications, mais sur des séries limitées de malades :

- maladie de Crohn,
- pancréatite aiguë,
- ischémie intestinale,
- anémie de Fanconi,
- maladie de la Peyronie.

Un groupe de malades atteints de la maladie d'Alzheimer a été traité pendant trois mois avec une SOD liposomale (par les équipes du Dr Tissot à Genève et de Guy Jadot à Marseille). Les malades, qui ne parlaient plus, se sont remis à balbutier et à tenter de s'alimenter.

Un autre groupe de chercheurs testent actuellement une association de SOD et de Catalase dans la prévention des lésions de reperfusion après infarctus du myocarde.

② SOD humaine.

Afin d'éviter le risque lié à l'administration de protéine hétérologue (bien que la SOD bovine se soit révélée de bonne innocuité), les chercheurs se sont surtout intéressés à la production de SOD humaine recombinante, issues du génie

génétique. Des essais cliniques de ces SOD recombinantes sont en cours, dans différentes indications :

- colite ulcérationnelle,
- dysplasie bronchopulmonaire des prématurés,
- arthrite rhumatoïde,
- prévention des lésions de reperfusion.

Cependant, aucun résultats n'a encore été publié.

③ SOD modifiée

Un des problèmes posés par l'utilisateur de la SOD en thérapeutique est sa demi-vie très brève (4 à 8 min.) liée à son faible poids moléculaire. C'est pourquoi, afin d'améliorer sa biodisponibilité et sa durée d'action, il a été tenté de modifier la SOD par différentes approches :

- par enrobage de la SOD Cu-Zn dans des liposomes, qui pourrait permettre sa pénétration à l'intérieur des cellules et étendre ses sites d'action,
- par couplage à des polymères tels que le polyéthylène glycol, le pyrane (acide divinyléther maléique) ou le dextran, ou à l'albumine,
- par amidation, conférant des charges cationiques à la SOD qui garde ainsi son activité catalytique et qui est éliminée plus lentement,
- par recombinaison génétique : c'est la production de deux monomères reliés par une séquence d'IgA, augmentant la demi-vie chez l'animal.

④ SOD synthétiques.

D'autres recherches ont pour but la mise au point de molécules de faible masse moléculaire, ayant une activité SOD. Des complexes organométalliques, à atomes de cuivre, de manganèse ou de fer, qui miment le site actif de la SOD, ont été proposés depuis longtemps. Ainsi, des complexes de cuivre avec de petites molécules organiques, telles que la penicillamine, le salicylate ou l'acetylsalicylate, ont révélé in vitro une activité catalytique.

Remarque : les SOD d'origine végétale, pourtant utilisées (ex. en cosmétologie), n'ont aucune activité chez l'homme.

| SOCIÉTÉS IMPLIQUÉES DANS LA R&D SUR LA SUPEROXYDE DISMUTASE | | |
|---|--|---|
| Société | Produit/Source | Étapes de développement |
| SOD NATIVE | | |
| DDI Pharmaceuticals (États-Unis) | CuZnSOD bovine (extraction) | Commercialisée |
| CarlbioTech (Groupe Carlsberg, Danemark) | CuZnSOD de levure (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) | Commercialisée pour la cosmétique chez l'animal dans l'ischémie/reperfusion (Rigshospitalet, Copenhague) |
| Héliosynthèse (Groupe CEA, France) | Fe- et MnSOD de microalgues (<i>Porphyridium cruentum</i>) | Biomasse utilisée en cosmétique |
| BTG (Biotechnology General Corp. New York, États-Unis) | MnSOD humaine recombinante (<i>Escherichia coli</i>) CuZnSOD humaine recombinante (<i>Escherichia coli</i>) | Essais chez l'animal - Deux essais pilotes en cours dans la colite ulcéraive (UK et Pays-Bas) - Essai clinique dans la dysplasie pulmonaire du prématuré (États-Unis) - Essai clinique dans l'arthrite rhumatoïde (UK) (travaux fondamentaux de l'Institut Weizmann, Israël) |
| Allelix Biopharmaceuticals (Canada) | SOD humaine recombinante (<i>Aspergillus nidulans</i>) | Accords avec DDI Pharmaceuticals |
| Chiron (Californie) | SOD humaine recombinante (bactérie, levure) | Essais cliniques en cours : transplantations rénales, reperfusion (Allemagne, États-Unis) |
| Symbicom (Suède) | ZnCuSOD extracellulaire humaine recombinante | Essais précliniques (ischémie/reperfusion) (travaux du Pr SL Marklund, Umea) |
| Sibia (Californie) | SOD humaine recombinante (<i>Pichia pastoris</i>) | Sibia cherche à céder les droits d'exploitation de son brevet |
| Nippon Kayaku (Japon) | CuZnSOD recombinante humaine (<i>Escherichia coli</i>) | Recherche clinique menée par l'université de Okoyama : prévention des lésions de reperfusion après chirurgie et après ischémie cardiaques et après ischémie cérébrale |
| Ube Industries/Fujisawa Pharmaceuticals (Japon) | CuZnSOD recombinante humaine | Essais cliniques depuis 1989 : indications non précisées |
| SOD MODIFIÉE | | |
| Chiron Chiron/Pharmacia (États-Unis/Suède) | PEG-SOD CuZnSOD humaine recombinante modifiée par génie génétique Chaîne formée de 2 sous-unités identiques de SOD 2 sous-unités reliées par une séquence d'IgA humaine (<i>Escherichia coli</i>) | Pharmacia s'est retiré |
| Toyo Jozzo (Japon) | Dérivé de la CuZnSOD humaine (la cystéine en 111 est remplacée par une sérine (<i>E coli</i>)) | Expérimentation animale |
| Takeda Pharmaceuticals (Japon) | MnSOD purifiée couplée au polyéthylène glycol (PEG-SOD) | Expérimentation animale |
| Kuraray (Japon) | SOD humaine d'extraction combinée à un polymère styrène acide maléique (SMA-SOD) | Essais chez l'animal : reperfusion cardiaque, lésions de la muqueuse gastrique. Travaux en collaboration avec le Pr Inoué, université de Kamamoto |
| Suntory (Japon) | Dérivé recombinant de la CuZnSOD | Préparation d'une SOD hybride par attachement à sa partie C-terminale d'un peptide à haute affinité pour l'héparane sulfate. Collaboration avec le Pr Inoué. |
| Ajinomoto (Japon) | SOD humaine (extraction) conjuguée au polyéthylène-glycol (PED-SOD) | Essais chez l'animal (reperfusion cardiaque) |
| Toso (Japon) | SOD bovine purifiée incluse dans des liposomes (L-SOD) | Brevet de la SOP liposomale acheté à M. Michelson (France) : travaux interrompus |

figure 35 (21)

1.1.2. La catalase.

La catalase est moins étudiée que la SOD. Elle a été testée il y a longtemps comme anticancéreux. Actuellement cette enzyme présente un regain d'intérêt en traitement simultané avec la SOD. En effet, elle complète l'action de la SOD et une action synergique de ces deux enzymes a été observée in vitro dans l'inhibition de phénomènes inflammatoires.

EPUROX[®] est un mélange de SOD et de catalase commercialisé en Roumanie pour le traitement de maladies rhumatismales, inflammatoires et allergiques (par injections locales). Les résultats sont cependant contestés par certains auteurs.

Des applications locales de catalase sur la peau d'enfants atteints de Xeroderma pigmentosum ont entraîné une stabilisation du développement des tumeurs cutanées.

La catalase a également un effet protecteur vis à vis de l'ischémie myocardique. On a pu observer une très nette diminution des troubles du rythme ventriculaires sur coeurs de rats reperfusés soumis à une protection par catalase et SOD.

1.1.3. La glutathion peroxydase.

La glutathion peroxydase est instable donc difficile à purifier en thérapeutique. C'est pourquoi les recherches s'orientent vers des molécules synthétiques à activité similaire, et portent sur des composés à base de sélénium (EBSELEN[®]) de faible masse moléculaire. L'EBSELEN[®], synthétisé par le groupe allemand Nattermann et développé actuellement par Rhône-Poulenc, est en cours d'essais cliniques (phase II).

L'institut Henri-Beaufour teste chez l'animal deux dérivés séléniés, un inhibiteur du système de l'acide arachidonique dans les allergies et le bronchospasme, et un captodateur à activité anti-PAF et anti-lipidoperoxydante dans le traitement de l'ischémie.

1.2. DIMINUER LA PRODUCTION RADICALE.

Une autre façon de lutter contre la production radicalaire est de renforcer les mécanismes de défenses endogènes enzymatiques en apportant des cofacteurs déficitaires. Ces cofacteurs sont des oligoéléments en déficit souvent important chez les malades où on soupçonne un excès de radicaux libres (cancer, polyarthrite, diabète, cirrhose).

L'apport de l'oligoélément à des doses nutritionnelles ou supérieures normalise l'activité enzymatique.

1.2.1. Le sélénium.

Le sélénium est un oligoélément minéral essentiel, qui se trouve dans l'organisme à des concentrations très faibles. Il joue un rôle nutritionnel important grâce à son action antioxydante. En effet, l'une des enzymes les plus importante contre l'oxydation cellulaire est la glutathion peroxydase. Or, la GPX est une séléno-enzyme : elle contient du sélénium, sous forme de sélénocystéine, à chacun de ses quatre sites catalytiques.

Un déficit en sélénium ne permet plus à la glutathion peroxydase cellulaire de faire face aux attaques radicalaires.

Pour éviter une accumulation de radicaux libres suite à un déficit en sélénium, il convient de rétablir le taux de glutathion peroxydase par l'apport de sélénium organique. Il existe une forme commercialisée de sélénium organique assimilable : CELNIUM 50[®].

Dans la maladie d'Alzheimer, le taux de glutathion peroxydase est modifié. Un maintien de taux relativement élevé de sélénium pourrait permettre une meilleure activité de la GPase, et peut être un effet protecteur plus efficace contre les radicaux libres.

Il est à noter que le sélénium organique donne de meilleurs résultats quand il est associé à des vitamines (vitamine E par exemple) car les effets sont synergiques : par

exemple BIO-SELENIUM[®], association de sélénium et de vitamine E.

Le sélénium semble exercer un effet protecteur contre les cancers et les maladies cardiovasculaires. On lui reconnaît de plus, des propriétés anti-inflammatoires, immunostimulantes et cosmétodynamiques pour la peau.

1.2.2. Le zinc.

Le zinc participe à la défense antiradicalaire de l'organisme en tant que métallo-enzyme, par l'intermédiaire de la superoxyde dismutase. Il joue un rôle fondamental dans la défense immunitaire. Son déficit peut favoriser la cancérisation et l'athérogénèse.

Il possède un effet anti-inflammatoire, qui pourrait provenir de son action préventive sur la formation des radicaux libres.

1.2.3. Le cuivre.

Un déficit en cuivre favorise les maladies cardiovasculaires. Le cuivre possède lui aussi une action anti-inflammatoire.

1.2.4. Le glutathion.

Le glutathion et les médicaments favorisant la production endogène de ce peptide peuvent agir à plusieurs niveaux, en facilitant le fonctionnement endogène des glutathion peroxydases et glutathion transférases, mais aussi par un effet piègeur direct.

1.3. PIEGER LES RADICAUX LIBRES FORMES.

De nombreuses molécules naturelles ou synthétiques peuvent piéger les radicaux libres.

1.3.1. Les vitamines. (47) (48)

Les vitamines sont déjà utilisées depuis longtemps dans des indications variées. De nombreux chercheurs essaient de mettre en évidence leur activité de piéneur radicalaire au sein de pathologies où sont impliqués les radicaux libres. C'est ainsi que les résultats d'une étude américaine ont montré qu'une supplémentation vitaminique diminuait le risque de cataracte.

1.3.1.1. La vitamine E ou alpha-tocophérol.

La vitamine E a été la plus utilisée comme piéneur de radicaux libres. Elle semble avoir une efficacité dans la prévention du risque d'athérome.

Ses propriétés antioxydantes sont largement utilisées en cosmétologie pour protéger l'épiderme ou améliorer son état lorsqu'il a subi des altérations. L'alpha-tocophérol inhibe, de façon significative, la peroxydation des lipides cutanés, entraînée notamment par les U.V.B. Elle améliore la microcirculation cutanée grâce à son effet stabilisateur de membrane qui permet aux vaisseaux de retrouver leur motricité naturelle.

On la retrouve ainsi dans de nombreux produits cosmétiques comme les produits antisolaires, les produits destinés à lutter contre le vieillissement cutané,...

Des essais ont été menés, dans le cadre de la maladie d'Alzheimer, prouvant qu'une diminution de l'apport en vitamine E augmentait les taux de lipofuscine du système nerveux central. Des tentatives d'apport augmenté de vitamine E ont été faites, sans que les résultats apparaissent concluants, en raison de sa demi-vie extrêmement courte.

Plusieurs groupes universitaires américains étudient la vitamine E et ses dérivés dans le traitement de la maladie de Parkinson.

1.3.1.2. La vitamine C ou acide ascorbique. (48)

La vitamine C est très largement utilisée mais sans beaucoup de preuves d'efficacité. En effet, son action est très controversée : la vitamine C est un puissant agent réducteur qui réagit avec tous les radicaux peroxydes et qui désactive l'ion superoxyde et le radical hydroxyle, mais, en ce qui concerne les ascorbates de sodium ou de calcium, ils peuvent donner lieu à des radicaux libres en présence de fer et d'oxygène.

La destruction des radicaux libres oxygénés représente tout de même une fonction biologique importante de l'acide ascorbique. Ces réactions éliminant les radicaux libres ont une grande importance au niveau oculaire, au niveau du liquide intersticiel pulmonaire où elles assurent une protection contre d'autres agents oxydants comme l'ozone. In vitro, divers dommages oxydatifs tels que la peroxydation lipidique, la production de peroxyde d'hydrogène, l'altération de l'ADN et la mutagénicité, ont été attribués à la vitamine C, en présence d'ions métalliques. Ces dommages oxydatifs ont disparu avec le retrait des ions métalliques du milieu. In vivo, ces processus destructifs sont freinés sous l'effet d'enzymes protectrices (SOD, CAT, glutathion oxydase) de même que par la vitamine E.

1.3.1.3. La vitamine A et les caroténoïdes.

La vitamine A joue un rôle de régulateur dans la croissance et l'activité des cellules épithéliales. Elle agit surtout en prévention du cancer par le biais de son métabolite l'acide rétinoïque.

Près d'une dizaine de sociétés pharmaceutiques vendent du β -carotène. Les β -carotènes semblent particulièrement intéressantes dans la protection contre le cancer du poumon, où de larges études de population montrent leur efficacité.

1.3.2. Les extraits de végétaux.

Les végétaux possèdent de nombreux composés capables de piéger les radicaux libres (les polyphénols) mais aussi de diminuer l'absorption du fer.

1.3.2.1. les flavonoïdes.

Les flavonoïdes sont des polyphénols d'origine naturelle possédant des propriétés antioxydantes (ils ont la propriété de libérer un atome d'hydrogène au contact d'un radical libre pour le neutraliser). Ils font également l'objet d'études dans des pathologies variées.

Parmi les plantes médicinales contenant des flavonoïdes antioxydants puissants, nous pouvons citer : le gingko biloba, la myrtille, l'hamamélis, le chardon marie.

1.3.2.2. L'extrait de gingko biloba.

L'extrait de gingko biloba, contenu dans TANAKAN®, contient des flavonoïdes, des terpènes et des substances organiques.

Les propriétés pharmacologiques de cet extrait sont nombreuses et complémentaires, et se situent au niveau vasculaire (maintient d'une pression de perfusion tissulaire efficace et contrôle de la perméabilité capillaire), au niveau plaquettaire (contrôle de l'agrégation des plaquettes) et au niveau métabolique (préservation du rendement énergétique des cellules et notamment des neurones cérébraux et des cellules neuro-sensorielles).

En clinique, l'extrait de ginkgo biloba connaît trois domaines essentiels d'application thérapeutique :

- au niveau cérébral, il permet la prise en charge des symptômes du déficit intellectuel du sujet âgé (troubles de la mémoire et de l'attention),

- dans les troubles vasculaire périphériques, dans l'atérite des membres inférieurs et dans les troubles microcirculatoires,

- dans le domaine neurosensoriel, dans toute pathologie sous-tendue par un processus ischémique, vertiges, acouphènes, hypoacusies mais aussi certains déficits rétiniens.

1.3.3. Les médicaments de synthèse.

De nombreuses molécules utilisées, jusqu'à ce jour, à d'autres finalités thérapeutiques se sont révélées être dotées d'une action scavenger.

1.3.3.1. L'allopurinol.(14)

L'allopurinol, commercialisé pour le traitement de la goutte (ZYLORIC®, XANTURIC®), est un inhibiteur de la xanthine oxydase. Il piège l'ion hydroxyle et semble intéressant en perfusion préopératoire notamment en chirurgie cardiaque. En effet, de nombreuses recherches montrent une diminution du stress oxydant per-opératoire chez les patients sous allopurinol.

1.3.3.2. Le diéthylldithiocarbamate.

C'est un dérivé soufré hydrosoluble doué de propriétés antioxydantes à la fois directes et indirectes. Cette molécule, initialement sélectionnée par G. Renoux parmi les dérivés du lévamisole comme immunostimulant, est en fait essentiellement antioxydante, protégeant contre les radiations ionisantes et contre le déficit immunitaire induit par l'exposition à l'oxygène.

Développée par Pasteur Mérieux Sérums et Vaccins, cette molécule a fait l'objet de trois études cliniques contrôlées dans l'infection VIH en France, en Allemagne et aux Etats Unis, montrant une diminution significative de la progression de l'infection VIH et de la survenue d'infections opportunistes. La procédure d'agrément, obtenue en Nouvelle Zélande, est soumise dans plusieurs pays européens et nord-américains.

1.3.3.3. La N-acétyl-L-cystéine.

La N-acétyl-L-cystéine, fluidifiant bronchique, a une activité antioxydante. Elle augmente le taux de glutathion cellulaire et bloque la réplication du VIH in vitro.

1.3.3.4. Les lazaroides.

Nouvelle classe médicamenteuse développée par la société américaine Upjohn, les lazaroides sont des amino-21 stéroïdes qui ont été initialement utilisés pour le traitement des traumatismes du système nerveux central. Il s'est avéré qu'ils inhibent la peroxydation lipidique dépendante du fer, à des concentrations très faibles (de l'ordre de la micromole), et stabilisent les membranes cellulaires. L'un d'entre eux a montré une bonne activité dans les modèles d'ischémie-reperfusion, d'asthme, de brûlures thermiques, d'irradiation, de choc septique et hémorragique. Certains analogues se sont montrés actifs dans des modèles de tumeurs du cerveau, d'hépatite virale et d'ischémie rénale. Le Meylate trilazad est en cours d'essais cliniques de phase II chez des malades souffrant de traumatismes crâniens, d'hémorragies subarachnoïdes et d'ischémie cérébrale.

1.3.3.5. La déféroxamine. (14)

La déféroxamine, dérivée de l'acide hydroxamique, est actuellement le seul agent chélateur commercialisé. Elle est

produite par Ciba-Geigy (DESFERAL®) et prescrite pour les indications d'intoxications au fer et d'hémochromatose.

Les chélateurs du fer empêchent la réaction d'Haber Weiss qui aboutit à la formation d'ions hydroxyles.

Elle a été utilisée en association avec la SOD dans le traitement de la maladie de Crohn.

De même, certains auteurs ont montré qu'elle inhibe la lipidoperoxydation induite chez l'homme par le stress oxydant au cours de chirurgie cardiaque.

1.3.3.6. Autres molécules.

- anti-inflammatoire à groupements thiols : penicillamine. Le groupement -SH confère, aux composés qui le contiennent, des propriétés antioxydantes. L'importance des groupes thiols intervient à tous les niveaux de l'organisme. De telles substances jouent un rôle fondamental dans les phénomènes d'oxydo-réduction : les thiols (R-SH), comme le glutathion (G-SH), en perdant un H⁺, forment des liaisons disulfides -S-S- et participent à la réduction des métabolites oxydés.

- salicylés : la sulfasalazine.

- le propranolol (β bloquant).

- la trimétazidine.

L'évaluation thérapeutique des piègeurs radicalaires nécessite la mise au point de moyens de détection des radicaux libres plus précis et d'emploi plus aisé en particulier in vivo.

De plus, les preuves de leur efficacité sont maintenant assez solides sur le plan expérimental chez l'animal, la démonstration nette chez l'homme n'est pas toujours évidente et manque encore.

2. COMMENT PRESCRIRE LES ANTIRADICAUX LIBRES.

2.1. LA PREVENTION DES PATHOLOGIES CHRONIQUES.

L'installation de pathologies aussi graves que les maladies cardiovasculaires ou le cancer semblent favorisée par la production excessive de radicaux libres.

Dans ce cas la thérapeutique préventive ne peut consister qu'en l'apport de molécules ne présentant aucun risque potentiel.

La supplémentation en vitamines E,C, β -carotènes, zinc et sélénium semble logique à des doses raisonnables destinées à normaliser la nutrition. Elle peut se faire par des suppléments, des aliments diététiques ou par une intervention des pouvoirs publics et de l'industrie agro-alimentaire améliorant la teneur de notre alimentation. Ce dernier mode d'intervention a été choisi par les pays à haut risque comme la Finlande ou la Chine.

Dans les maladies chroniques, l'hyperproduction radicaire existe ainsi que la lipoperoxydation longtemps avant le diagnostic. Il pourra s'agir de maladies où les radicaux libres créent la majeure partie des signes cliniques :

- inflammation,
- asthme bronchique,
- vieillissement cutané et cérébral.

Mais aussi de maladies ayant une origine très différente, mais où la peroxydation participe au risque de complications dégénératives, telles que les complications vasculaires du diabète ou de l'insuffisance rénale :

- cirrhose,
- diabète,
- mucoviscidose,
- insuffisance pulmonaire,
- insuffisance rénale.

Dans ces pathologies la thérapeutique antiradicalaire sera surtout efficace dans le premier type d'affection, dans le second elle devra être préventive et généralement de type nutritionnel.

Enfin, dans ces affections on devra être très vigilant à éviter les interactions possibles avec les autres médicaments destinés à agir sur les autres mécanismes pathogènes en cause.

2.2. LA PREVENTION DE PATHOLOGIES AIGUES.

Dans un certain nombre de cas il est possible de prévoir qu'un malade va se trouver, dans un délai plus ou moins court, soumis à une production massive de radicaux oxygénés, c'est le cas :

- des interventions chirurgicales nécessitant le dompage de gros vaisseaux sanguins donc l'ischémie temporaire d'un organe,
- des greffes cardiaques, pulmonaires ou de peau,
- des techniques interventionnistes sur infarctus provoquant une libération de radicaux à la reperfusion.
- des troubles de l'oxygénothérapie (prématurés, caisson hyperbare...),
- des traitements anticancéreux; les effets secondaires de la radiothérapie ou de la chimiothérapie semblent pouvoir être limités (cystites, cardiopathies...) en protégeant le sujet contre les radicaux libres.

Dans ces situations, on choisira des traitements par les molécules à effet rapide pour tout ce qui relève d'une action urgente (ischémies...). Dans ce cas on pourra utiliser la SOD,

le zinc, la déféroxamine ou des piègeurs. Les inducteurs d'enzymes comme le sélénium nécessitent plusieurs mois de traitement pour normaliser les GPX.

Lors de situations plus longues (SIDA, chimiothérapie) des molécules à toxicité peu élevée (sélénium, vitamine E, immunithiol...) seront préférables.

Actuellement, plus de deux cents organismes sont impliqués dans la recherche, le développement ou la production de traitements antiradicalaires. Cette voie de recherche est en effet très prometteuse, tant pour la prévention que pour le traitement de pathologies dans lesquelles le rôle des radicaux libres aura été mis en évidence.

3. MODIFICATIONS ALIMENTAIRES. (44)

Aujourd'hui, il est clairement établi que certains nutriments ont un rôle préventif dans les processus de vieillissement et de cancérisation. Certains oligoéléments et vitamines sont indispensables non seulement au bon fonctionnement cellulaire, mais aussi, comme nous venons de le voir, à la lutte antiradicalaire (vitamines E, A et C, sélénium, ...).

Des déficiences en vitamines et oligoéléments sont responsables de nombreuses maladies comme par exemple le cancer. C'est pourquoi, ils sont souvent prescrits en supplémentation pour prévenir certaines maladies, voire à forte dose pour guérir.

Dans la maladie d'Alzheimer des essais de protection contre les effets néfastes des radicaux libres ont été réalisés par modification alimentaire : des essais de réduction de la proportion de protéines dans la ration alimentaire, chez l'animal, ont été menés. Cette modification alimentaire conduirait à une moindre utilisation de l'oxygène par les cellules et donc à une diminution des réactions de peroxydation. Cependant les possibilités pratiques apparaissent très limitées. De la même façon le taux d'acide docosahéxanoïque incorporé dans les membranes cellulaires peut être modulé par le régime alimentaire.

La maladie du Kwashiorkor apparaît quand la ration alimentaire a un faible rapport protéine/énergie avec peu de vitamines et de sels minéraux. Un apport alimentaire supplémentaire en vitamine E, carotènes et sélénium, dont les concentrations plasmatiques sont diminuées, pourrait rétablir le déficit pondéral et les concentrations hormonales qui étaient modifiées par un tel régime.

De nombreuses études épidémiologiques ont analysé les risques de survenue de cancers et les apports alimentaires en vitamines, glutathion et autres éléments nutritifs. Certaines ont montré que de faibles apports alimentaires en vitamine C sont corrélés à une augmentation du risque d'apparition de certains cancers.

De même, le glutathion (GSH) protégerait les cellules contre les processus carcinogénétiques. Toutes les cellules animales sont capables de synthétiser du glutathion à partir d'acides aminés. Mais de nombreux aliments contiennent également du GSH comme la viande, les fruits frais et les légumes. De plus, il a été prouvé que la cuisson abaissait la concentration en GSH.

La fréquence des cancers de la vessie, du tube digestif ou du sein sont dans certaines études inversement proportionnelles à la consommation de vitamine A.

Ainsi, il y a plusieurs moyens de réduire la densité des radicaux libres dans l'organisme, soit par exemple avec des enzymes (SOD, GPX), soit par l'apport de vitamines et d'oligoéléments antioxydants. Cependant, nous ne connaissons pas encore les conséquences à long terme d'une supplémentation systématique. Mieux vaut donc les consommer en leur état naturel dans notre alimentation.

CONCLUSION

Les radicaux libres, omniprésents dans l'organisme, sont des espèces chimiques hautement réactives qui sont impliquées dans de nombreux processus pathologiques.

Ils constituent donc un axe de recherche nouveau encore en pleine évolution et dont les retombées pratiques sont potentiellement importantes dans diverses spécialités médicales. La protection myocardique notamment lors de greffes, et la revascularisation des infarctus thrombolysés constituent des modèles d'ischémie où les bénéfices d'une intervention anti-radicalaire semblent prometteurs et méritent une poursuite des études en cours.

Les traitements antiradicalaires sont donc en pleine expansion, mais il est difficile en revanche de prédire quelle sera l'approche thérapeutique la plus profitable : enzymes ou piègeurs de radicaux libres ? Enzymes naturelles ou analogues synthétiques ? Y aura-t-il un traitement adapté à chaque pathologie, ou bien aura-t-on des médicaments communs à l'asthme, à l'arthrose ou à l'ischémie ? Va-t-on réserver les enzymes au traitement des pathologies aiguës, et les vitamines et oligo-éléments à la prévention ?

Autant de questions auxquelles seules des recherches fondamentales et de longues études cliniques pourront répondre. De plus, si les expérimentations animales semblent prometteuses, la preuve d'une efficacité en thérapeutique humaine reste à faire.

Pour cela une évolution des techniques de dosage doit être envisagée afin de permettre la mesure des radicaux libres in vivo. En effet, la mise en évidence directe des radicaux libres in vivo est encore difficile.

BIBLIOGRAPHIE

1. Akaike T.,
Dependence on O₂ generation by xanthine oxidase of pathogenesis
of influenza virus infection in mice.
J Clin. Invest., 1990, 85: 739- 745

2. Albrecht R., Pelissier M.A.,
l'hypothèse radicalaire dans l'étiologie du Kwashiorkor.
Cah Nutr Diet, 1994, XXIX, 1: 12-15

3. Amy J.J.,
Les prostaglandines. La gynécologie et l'obstétrique.
Ed. Flammarion, 1979 : 10-12

4. Artigou J.Y.,
Coeur et radicaux libres.
Cardiologie pratique, 1992, 219: 1-4

5. Aupetit H.,
La maladie d'Halzheimer au quotidien.
Santé-Ed. Odile Jacob, 1991.

6. Bagghi N., Brown T.R., Herdegen M., Dhar A., Sundick R.S.,
Antioxidants delay the onset of thyroiditis in obse strain
chickens.
Endocrinology, 1990, 127: 1590

7. Bagrel A.,
Radicaux libres et systèmes antioxydants.
Revue française des laboratoires, 1992, 233: 107-111

8. Balazs T., Ferrans V.J., Hanig J., Herman E.,
Cardiac toxicity.

Target Organ Toxicity, Vol II: 19-43

9. Benhamou J.P., Bircher J., Mc Intyre N., Rizetto M., Rodés
J.,

Hépatologie clinique.

Méd. Sciences Ed. Flammarion, 1993: 802-909

10. Bernier M., Hearse D.J., Manning A.S.,

Reperfusion induced arrhythmias and oxygen derived free
radicals : studies with "anti-free radical" interventions and
free radical generating system in the isolated perfused rat
heart.

Circ Res, 1986, 58: 331-340

11. Bienvenu P.,

Radiolyse- Photolyse.

Club d'étude des Radicaux Libres en biologie, mars 1991

12. Bermond P.,

Radicaux libres et vieillissement.

Cah Nutr Diet, 1991, XXVI, 6: 403-407

13. Bloom R.J., Westerfeld W.W.,

The thiobarbituric acid reaction in relation to fatty livers.

Arch. Biochem. Biophys., 1971, 145: 669-675

14. Bouchet F., Leiris J.,

La reperfusion du myocarde ischémique : un modèle expérimental de production de radicaux libres dérivés de l'oxygène.

Laboratoire de physiologie Cellulaire Cardiaque, Université Fourier J. Grenoble, 1-12

15. Crastes De Paulet A.,

Les radicaux libres : mécanismes de formation, systèmes de défense, rôle physiopathologique. Radicaux libres et physiopathologie oculaire.

Ed. Bonne et AM Milhaud, Sauramps/Médical, 1991: 1-13

16. Crastes De Paulet A.,

Radicaux libres et vieillissement.

Cah Nutr Diet, 1992,XXVI, 2: 137-143

17. Darmoni S.J., Lindenbaum A., Poynard T., Naveau S., Chaput J.C.,

Lipoperoxydation, radicaux libres et maladie alcooliques du foie.

Gastroentérol Clin Biol, 1986, 10: 752-759

18. De Leiris J., Charlon V.,

Perturbations métaboliques engendrées par l'ischémie myocardique : implication des radicaux libres de l'oxygène.

Ann de cardiologie et d'angéologie, 1986, 35, 7bis:427-431

19. Deneff J.F., Ovaert C., Many M.C.,
La goitrogenèse expérimentale.
Annales d'endocrinologie, 1989, 50: 1-15

20. Dictionnaire de médecine Flammarion
Ed. Flammarion, 1991

21. Dodet B.,
La chasse aux radicaux libres oxygénés.
Biofutur, mai 1991, 23-34

22. Droy-Lefaix M.T., Ferradini C., Gardes-Albert M.,
Les radicaux libres en dix questions.
Ed. IPSEN,

23. Dutreix J., Desgez A., Bok B., Chevalier C.,
Bases de l'utilisation médicale et biologique des radiations.
Physique et biophysique, Ed. Masson, tome 4: 163-202

24. Emerit J.,
Pancréatite aiguë traitée par les antioxydants.
Lyon Chir, 1990, 86: 424-425

25. Faure J.P., Bloch-Michel E., Le Hoang P., Vadot E.,
Immunopathologie de l'oeil.
Ed. Masson, 1988: 100- 237

26. Favier A.

Défense de l'organisme contre les radicaux libres.

Club d'étude des radicaux libres en biologie, mars 1991.

27. Frexinos J., Escourrou J., Lazorthes F., Pascal J.P.,

Fourtanier G., Suduca P., Lemozy J., Duffaut M., Vinel J.P.,

Balas D., Bomme Laer G., Voigt J.J.,

Hepato-gastro-entérologie clinique.

Simep, 1992, 4ème Ed.: 211-216

28. Getzoff E.D., Cabelli D. E., Fisher C.L., Parge H.E.,

Viezzoli M.S., Banci L., Hallewell R.A.,

Faster superoxide dismutase mutants designed by enhancing electrostatic guidance.

Letters of nature, 1992, vol. 358: 347-351

29. Godard Ph., Bousquet J., Clauzel A.M., Terral C., Michel

F.B.,

Le suivi thérapeutique de l'asthmatique.

9ème journée internationale de pneumo-allergologie - Montpellier

Ed. Ellipses, 1989 : 14-17.

30. Golden M.H.N., Ramdath D.,

free radicals in the pathogenesis of Kwashiorkor.

Proc Nutr Soc, 1987, 46: 53-68

31. Grimaldi A., Sachon C., Bosquet F.,

Les diabètes, comprendre pour traiter.

Ed. Médicales Internationales, 1993: 261-262

32. Guard O., Michel B.,
La maladie d'Alzheimer.
Ed. Medsi Mc Graw Hill, 1989: 231-236
33. Guillard A., Fenelon G., Mahieux F., Petit H., Ziegler M.,
La maladie de Parkinson.
Pil, 1993: 31-33
34. Jeandel C., Nicolas M.B., Dubois F., Nabet-Belleville F.,
Penin F., Cunny G.,
Lipid peroxydation and free radical scavengers in Alzheimer
disease.
Gerontology, 1989, 35: 275-282
35. Gey K. F., Puska P., Jordan P., Moser U. K.,
Inverse correlation between plasma vitamin E and mortality from
ischemic heart disease in cross-cultural epidemiology.
Am. J. Clin. Nutr., 1991, 53: 326S-334S
36. Greenwald R.A.,
Superoxide dismutase and catalase as therapeutic agents for
human disease.
A critical review. Free Rad Biol Med 8, 201-209
37. Lafond S.,
Actualité des radicaux libres, leur detection par résonance
paramagnétique électronique. Application aux produits
alimentaires ionisés par rayonnement gamma.
Thèse D.E. Pharm, Limoges, 1992

38. Leboulanger J.,

Les vitamines - Mode d'action - Interêt thérapeutique.

Laboratoires Roche.

39. Louisot P.,

Catabolismes énergétiques cellulaires, biosynthèse hormones.

Ed. Simep, 4, 1983

40. Mahmoud I., Colin I., Many M.C., Deneff J.F.,

Direct toxic effect of iodide excess on iodine-deficient thyroid glands : epithelial necrosis and inflammation associated with lipofuscin accumulation.

Exp. Mol. Pathol., 1986, 44: 259

41. Menasché Ph.,

Deux sources de radicaux libres en chirurgie cardiaque.

Cardio Plus, 1992, 45: 1-2

42. Munnich A., Ogier H., Saudubray J.M.,

Les vitamines - Aspects métaboliques, génétiques, nutritionnels et thérapeutiques.

Ed. Masson, 1987 : 336-337

43. Oda T,

Oxygen radicals in influenza-induced pathogenesis and treatment with pyran polymer-conjugated SOD.

Sciences, 1989, 244: 974-976

44. Pelmont J.,

Enzymes.

Presses Universitaires de Grenoble, 1989: 497-498

45. Pierre J.L.,

Chimie de l'oxygène.

Club d'étude des Radicaux libres en biologie, mars 1991: 1-18

46. Pryor W.A.,

Free radicals in biology.

Ed. Academic Press, VI, 1984

47. Révillard J.P.,

Oxydative stress and HIV infection. Retrovirus of human AIDS and related animal diseases.

"Cent gardes", Ed. M Girard et L Valette, 1991.

48. Rybak B.,

Biologie de l'oxygène.

Ed. Maloine, 1974.

49. Sambuichi E. J., M.S., Shizuka F., Kishi K and Ph.D., M.D.,
The influence of dietary protein on lipid peroxide formation in
old, food restricted rats.

Nutrition research, vol.11: 1415-1426

50. Sany J., Clot J.,

Immunorhumatologie.

Med. Sciences Flammarion, 1989: 68,172,312

51. Seraly L.,
Cancer et alimentation.
Thèse D.E. : Pharm, Limoges, 1994.
52. Signoret J.L., Hauw J.J.,
Maladie d'Halzeimer et autres démences.
Medecine sciences-Ed. Flammarion, 1991: 177-184
53. Sinet P.M.,
Metabolism of oxygen derivatives in Down's syndrome.
Ann NY Acad Sci, 1982, 396: 561-568
54. Sinet P.M., Carmagnol F., Jérôme H.,
Abords moléculaires du vieillissement et de la maladie
d'Alzheimer modèle de la trisomie 21.
In.: Maladie de type Alzheimer et autres démences séniles.
Ed. Fondation Nationale de Gérontologie, 1984: 88-96
55. Sre-Kumar K., Walls R.W., Hochstein P.,
Lipid peroxydation and hemolysis induced by lactoperoxidase and
thyroid hormone.
Arch. Biochem. Biophys., 1977, 180 :514
56. Tchobroutsky G., Slama G., Assan R., Freychet P.,
Traité de diabétalogie.
Ed. Pradel, 1990: 452-831

57. Terrail F.,

Radicaux libres et vieillissement cutané.

Thèse D.E. n°302: Pharm, Limoges, 1992

58. Tison E., Millaire A., Degroote P., Ducloux G.,

Les radicaux libres en pathologie cardiovasculaire.

Lille médical, 1989, XXIX, 7: 295-307

59. Werns S. W., Lucchesi B.,

Free radicals and ischemic tissue injury.

T.I.P.S., april 1990, Vol. II: 161-167

60. Wolman M.,

Pigments in pathology.

Ed. Academic Press, 1969



SOMMAIRE

SOMMAIRE

| | Pages |
|----------------------------|-------|
| <u>REMERCIEMENTS</u> | 2 |
| <u>PLAN</u> | 6 |
| <u>INTRODUCTION</u> | 15 |

PREMIERE PARTIE

| | |
|---|----|
| 1. <u>GENERALITE SUR LES RADICAUX LIBRES</u> | 17 |
| 1.1. <u>CHIMIE DES RADICAUX LIBRES</u> | 17 |
| 1.1.1. Définition | |
| 1.1.2. Oxygène de l'air | |
| 1.1.3. Formes actives de l'oxygène | |
| 1.1.4. Les radicaux libres oxygénés | |
| 1.2. <u>ORIGINE DES RADICAUX LIBRES IN VIVO</u> | 31 |
| 1.2.1. Les mécanismes physiologiques..... | 31 |
| 1.2.1.1. la chaîne respiratoire mitochondriale | |
| 1.2.1.2. la phagocytose | |
| 1.2.1.3. la synthèse des prostaglandines | |
| 1.2.2. Les rayonnements..... | 41 |
| 1.2.3. Le métabolisme..... | 47 |

| | |
|---|----|
| 1.2.3.1. Les réactions de détoxication | |
| 1.2.3.2. Les réactions enzymatiques | |
| 2. <u>LES SYSTEMES DE PROTECTION</u> | 54 |
| 2.1. <u>PREMIERE LIGNE DE DEFENSE : LES SYSTEMES DE PROTECTION ENZYMATIQUES</u> | 56 |
| 2.1.1 Les enzymes de destruction des superoxydes..... | 56 |
| 2.1.1.1. les SuperOxydes Dismutases : SOD | |
| les SOD type Cu-Zn | |
| - la Cu-Zn cytoplasmique | |
| - la SOD extracellulaire | |
| les SOD à manganèse | |
| les SOD à fer | |
| 2.1.1.2. La céruloplasmine | |
| 2.1.1.3. La thiorédoxine réductase | |
| 2.1.1.4. L'indolamine 2,3-dioxygénase | |
| 2.1.2. Les enzymes de destruction des peroxydes..... | 59 |
| 2.1.2.1. Les catalases | |
| 2.1.2.2. Les peroxydases | |
| les Glutathion Peroxydases à Sélénium | |
| les Glutathion Transférases | |
| La thiorédoxine réductase | |

| | |
|---|-----|
| 2.2. <u>SECONDE LIGNE DE DEFENSE : LES SUBSTANCES BIOLOGIQUES NON ENZYMATIQUES, "SCAVENGERS" et "QUENCHERS" ENDOGENES..</u> | 67 |
| 2.2.1. L'alpha tocophérol ou vitamine E..... | .68 |
| 2.2.2. Les caroténoïdes et la vitamine A..... | .69 |
| 2.2.3. L'acide L-ascorbique..... | .70 |
| 2.2.4. Le glutathion..... | .71 |
| 2.2.5. L'acide urique..... | .71 |
| 2.2.6. Les flavonoïdes..... | .72 |
| 3. <u>POUVOIR PATHOGENE DES RADICAUX LIBRES</u> | 74 |
| 3.1. <u>LES MECANISMES DE L'AGRESSION RADICALAIRE</u> | .74 |
| 3.2. <u>LES CIBLES BIOLOGIQUES</u> | .75 |
| 3.2.1. Radicaux libres et lipides : la peroxydation lipidique..... | .75 |
| 3.2.1.1. structure des membranes cellulaires | |
| 3.2.1.2. la désorganisation structurale des membranes | |
| - l'initiation | |
| - la propagation | |
| - la terminaison | |
| 3.2.1.3. les conséquences de la peroxydation lipidique membranaire | |
| 3.2.2. Radicaux libres et protéines..... | .85 |

| | |
|--|-----|
| 3.2.3. Radicaux libres et acides nucléiques..... | 85 |
| 3.2.4. Radicaux libres et oses..... | .86 |

DEUXIEME PARTIE

I. IMPLICATION DES RADICAUX LIBRES DANS LA PATHOLOGIE HUMAINE.....

| | |
|--|-----|
| 1. <u>RADICAUX LIBRES ET TROUBLES CARDIOVASCULAIRES...</u> | 92 |
| 1.1. <u>ISCHEMIE-REPERFUSION DU MYOCARDE.....</u> | 93 |
| 1.1.1. <u>Sidération myocardique.....</u> | 93 |
| ① accumulation de substances donneuses d'électrons | |
| ② accumulation de calcium intracellulaire | |
| ③ acidose | |
| ④ activation des polynucléaires neutrophiles | |
| ⑤ libération de fer | |
| ⑥ dépression des systèmes de protection | |
| 1.1.2. <u>Reperfusion du myocarde ischémiq.ue.....</u> | 97 |
| ① les altérations de la chaîne respiratoire | |
| ② le système hypoxanthine- xanthine oxydase | |
| 1.1.3. <u>Nécrose myocardique.....</u> | 100 |
| 1.1.4. <u>Les arythmies de reperfusion.....</u> | 100 |
| 1.2. <u>ATHEROSCLEROSE.....</u> | 102 |
| 1.3. <u>HYPERAGREGATION PLAQUETTAIRE.....</u> | 103 |

| | |
|---|------|
| 1.4. <u>VASOSPASME CEREBRAL</u> | .104 |
| 2. <u>RADICAUX LIBRES ET VIEILLISSEMENT</u> | 105 |
| 2.1. <u>RADICAUX LIBRES ET NEUROGERIATRIE</u> | .105 |
| 2.1.1. <u>La Maladie d'Alzheimer - modèle de la trisomie 21</u> | .105 |
| ① <u>altération membranaires de la maladie d'Alzheimer</u> | |
| ② <u>atteinte des enzymes et des antioxydants</u> | |
| 2.1.2. <u>La Maladie de Parkinson</u> | .109 |
| 2.2. <u>RADICAUX LIBRES ET VIEILLISSEMENT CUTANE</u> | .113 |
| 3. <u>RADICAUX LIBRES ET CANCEROLOGIE</u> | 115 |
| 3.1. <u>LES RADICAUX LIBRES SONT LA CAUSE DE CANCERS</u> ... | .115 |
| 3.2. <u>LES RADICAUX LIBRES SONT LA CONSEQUENCE DE CANCERS</u> | .116 |
| 3.3. <u>LES RADICAUX LIBRES SONT LA THERAPEUTIQUE DE CANCERS</u> | .117 |
| 4. <u>RADICAUX LIBRES ET DIABETOLOGIE</u> | 119 |
| 5. <u>RADICAUX LIBRES ET OPHTALMOLOGIE</u> | 122 |
| 5.1. <u>LA CATARACTE</u> | .126 |
| 5.2. <u>LES DEGENERESCENCES RETINIENNES</u> | .126 |

| | |
|---|------|
| 5.2.1. <u>Rétinopathies diabétique</u> | .126 |
| 5.2.2. <u>Dégénérescence maculaire liée à l'âge</u> | 127 |
| 5.3. <u>LES MALADIES INFLAMMATOIRES DE L'OEIL</u> | .127 |
| 5.4. <u>LA FIBROPLASIE RETROLENTALE</u> | .128 |
| | |
| 6. <u>RADICAUX LIBRES ET PEDIATRIE</u> | 129 |
| 6.1. <u>RADICAUX LIBRES ET PREMATURES</u> | .129 |
| 6.2. <u>LA MALADIE DU KWASHIORKOR</u> | .129 |
| ❶ Baisse des défenses antiradicalaires | |
| ❷ éléments en faveur d'une surproduction radicalaire | |
| ❸ agréssion oxydante | |
| | |
| 7. <u>RADICAUX LIBRES ET PATHOLOGIES HEPATIQUES :</u> | |
| <u>RADICAUX LIBRES ET MALADIE ALCOOLIQUE DU FOIE</u> | 132 |
| ❶ rappels sur le métabolisme de l'éthanol | |
| ❷ relations entre maladie alcoolique du foie et radicaux libres | |
| ❸ aspects épidémiologiques de l'alcool | |
| | |
| 8. <u>RADICAUX LIBRES ET RHUMATOLOGIE</u> | .138 |
| 9. <u>RADICAUX LIBRES ET OTO-RHINO-LARYNGOLOGIE</u> | 138 |
| 10. <u>RADICAUX LIBRES ET PATHOLOGIES RESPIRATOIRES</u> | 139 |
| 11. <u>RADICAUX LIBRES ET GASTRO-ENTEROLOGIE</u> | 140 |

| | | |
|-------|--|------|
| 12. | <u>RADICAUX LIBRES ET MALADIES AUTOIMMUNES</u> | 141 |
| 12.1. | <u>THYROÏDITE AUTOIMMUNE DE HASHIMOTO</u> | .141 |
| 12.2. | <u>POLYARTHRITE RHUMATOÏDE</u> | .142 |
| 13. | <u>RADICAUX LIBRES ET IMMUNOSUPPRESSION</u> | 144 |

RADICAUX LIBRES ET SIDA.

**II. PERSPECTIVES D'AVENIR : STRATEGIE THERAPEUTIQUE
ANTIRADICALAIRE**..... .146

| | | |
|--------|---|------|
| 1. | <u>CLASSES THERAPEUTIQUES</u> | .147 |
| 1.1. | <u>UTILISATION D'ENZYMES</u> | .147 |
| 1.1.1. | <u>Les superoxydes dismutases</u> | .147 |
| | ❶ SOD bovine | |
| | ❷ SOD humaine | |
| | ❸ SOD modifiée | |
| | ❹ SOD synthétiques | |
| 1.1.2. | <u>La catalase</u> | .152 |
| 1.1.3. | <u>La glutathion peroxydase</u> | .152 |
| 1.2. | <u>DIMINUER LA PRODUCTION RADICALAIRE</u> | .153 |
| 1.2.1. | <u>Le sélénium.</u> | |
| 1.2.2. | <u>Le zinc.</u> | |
| 1.2.3. | <u>Le cuivre.</u> | |

| | |
|--|------|
| 1.2.4. <u>Le glutathion.</u> | |
| 1.3. <u>PIEGER LES RADICAUX LIBRES FORMES</u> | .155 |
| 1.3.1. <u>Les vitamines</u> | .155 |
| 1.3.1.1. La vitamine E ou alpha-tocophérol. | |
| 1.3.1.2. La vitamine C ou acide ascorbique. | |
| 1.3.1.3. La vitamine A et les caroténoïdes. | |
| 1.3.2. <u>Les extraits de végétaux</u> | .157 |
| 1.3.2.1. Les flavonoïdes. | |
| 1.3.2.2. L'extrait de Gingko Biloba. | |
| 1.3.3. <u>Les médicaments de synthèse</u> | .158 |
| 1.3.3.1. L'allopurinol. | |
| 1.3.3.2. Le diéthylldithiocarbamate. | |
| 1.3.3.3. La N-acétyl-L-cystéine. | |
| 1.3.3.4. Les lazaroïdes. | |
| 1.3.3.5. La déféroxamine. | |
| 1.3.3.6. Autres molécules. | |
| 2. <u>COMMENT PRESCRIRE LES ANTIRADICAUX LIBRES</u> | 161 |
| 2.1. <u>LA PREVENTION DES PATHOLOGIES CHRONIQUES</u> | .161 |

2.2. LA PREVENTION DES PATHOLOGIES AIGUËS..... .162

3. MODIFICATIONS ALIMENTAIRES.....164

CONCLUSION..... .167

BIBLIOGRAPHIE..... .169

SOMMAIRE..... .180



CEROU (Sylvia). - Radicaux libres et Pathologie humaine- Actualisation et perspectives d'avenir. - (Thèse ; Pharm. ; Limoges ; 1994).

RESUME :

Les radicaux libres sont des espèces chimiques qui apparaissent dans l'organisme au cours de divers métabolismes (ex. synthèse des prostaglandines) ou sous l'influence de certains facteurs et en particulier du rayonnement solaire. Ces molécules sont très réactives et cherchent à apparier leur électron célibataire ; de ce fait elles vont détruire de nombreuses molécules biologiques (protéines, ADN, phospholipides membranaires...).

En situation physiologique, la production radicalaire n'est pas toxique car elle est immédiatement dégradée par des processus de défense (systèmes enzymatiques, vitamines,...). Cependant, ces systèmes protecteurs peuvent être débordés ou diminués dans certaines situations (vieillesse, intoxication par certains produits, ré-oxygénation brutale de tissus préalablement privés d'oxygène,...). C'est ainsi que la participation des radicaux libres a été reconnue dans de nombreuses pathologies dont la majorité est liée à des phénomènes du vieillissement (cancer, athérosclérose, cataracte, maladie d'Alzheimer,...) ou à des phénomènes inflammatoires (polyarthrite rhumatoïde, arthrite, inflammations ORL, thyroïdite auto-immune de Hashimoto...).

Il est actuellement possible d'envisager une nouvelle classe thérapeutique, celle des médicaments antiradicalaires. De nombreux organismes sont impliqués dans la recherche, le développement et la production de ces traitements antiradicalaires. Cette voie de recherche est en effet très prometteuse, tant pour la prévention que pour le traitement de pathologies dans lesquelles le rôle des radicaux libres aura été mis en évidence.

MOTS CLES : - Radicaux libres
- Antioxydants
- Pathologie humaine
- Anti-radicalaire
- Ischémie-Reperfusion

JURY : Président : Monsieur Le Professeur BUXERAUD.

Juges : Monsieur LAGORCE.
Monsieur TRONCHET.