



**HAL**  
open science

## Intérêts potentiels de deux oligo-éléments, le vanadium et le sélénium, dans le traitement du diabète

Philippe Costa

► **To cite this version:**

Philippe Costa. Intérêts potentiels de deux oligo-éléments, le vanadium et le sélénium, dans le traitement du diabète. Sciences pharmaceutiques. 1994. dumas-01880367

**HAL Id: dumas-01880367**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01880367v1>**

Submitted on 25 Sep 2018

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



## AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il n'a pas été réévalué depuis la date de soutenance.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact au SID de Grenoble :  
[bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr](mailto:bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr)

## LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

<http://www.cfcopies.com/juridique/droit-auteur>

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>



115 014277 9

**Joseph FOURIER - GRENOBLE I**  
Sciences Technologie Médecine

**U.F.R. de PHARMACIE**  
Domaine de la Merci - LA TRONCHE

Année : 1994

N° d'ordre : 7057

**INTERETS POTENTIELS DE DEUX OLIGO-  
ELEMENTS, LE VANADIUM ET LE SELENIUM,  
DANS LE TRAITEMENT DU DIABETE**

**THESE**

Présentée à l'Université Joseph FOURIER - GRENOBLE I  
pour obtenir le grade de DOCTEUR EN PHARMACIE

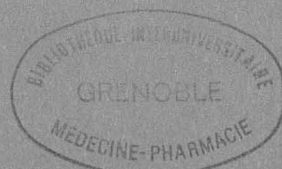
par :

**Philippe COSTA**

[Données à caractère personnel]

Cette thèse sera soutenue publiquement le 29 Novembre 1994 à 18h30

Devant : Monsieur le Professeur **A. FAVIER**, Président du jury  
Monsieur **P. FAURE**, Maître de conférences  
Monsieur **P.Y. BENHAMOU**, Maître de conférences  
Madame **M. BONNET-ORAND**, Pharmacien



**UNIVERSITE Joseph FOURIER - GRENOBLE I**  
Sciences Technologie Médecine

**U.F.R. de PHARMACIE**  
Domaine de la Merci - LA TRONCHE

Année : 1994

N° d'ordre : 7051

**INTERETS POTENTIELS DE DEUX OLIGO-  
ELEMENTS, LE VANADIUM ET LE SELENIUM,  
DANS LE TRAITEMENT DU DIABETE**

**THESE**

Présentée à l'Université Joseph FOURIER - GRENOBLE I  
pour obtenir le grade de DOCTEUR EN PHARMACIE

par :

**Philippe COSTA**

[Données à caractère personnel]

Cette thèse sera soutenue publiquement le 29 Novembre 1994 à 18h30

Devant : Monsieur le Professeur **A. FAVIER**, Président du jury  
Monsieur **P. FAURE**, Maître de conférences  
Monsieur **P.Y. BENHAMOU**, Maître de conférences  
Madame **M. BONNET-ORAND**, Pharmacien





*Je tiens à remercier  
Monsieur le Professeur A. Favier  
pour nous faire l'honneur de présider le jury.*

*Je remercie également  
Monsieur P. Faure  
pour m'avoir proposé ce sujet passionnant et  
m'avoir guidé tout au long de ce travail.*

*Enfin, j'adresse tous mes remerciements à  
Madame M. Bonnet-Orand  
et Monsieur P.Y. Benhamou  
pour avoir accepté de juger cette thèse.*

*A mes parents*

*A Catherine*

*A toute ma famille*

*A mes amis*

# SOMMAIRE

<b>INTRODUCTION</b>	11
<b>RAPPELS</b>	13
<b><u>I - Le diabète sucré</u></b>	13
<b><u>1 - Définition</u></b>	13
<b><u>2 - Classification</u></b>	14
2-1 Le diabète insulino-dépendant (DID)	14
2-2 Le diabète non insulino-dépendant (DNID)	14
<b><u>3 - Diagnostic</u></b>	15
3-1 Dosage de la glycémie	15
3-2 Epreuve d'hyperglycémie provoquée par voie orale	16
<b><u>4 - Complications du diabète</u></b>	19
4-1 Complications métaboliques	19
4-1-1 L'acidocétose	19
4-1-2 Le coma hyperosmolaire	19
4-2 Complications infectieuses	19
4-3 Complications dégénératives	20
4-3-1 Les complications liées à l'athérosclérose	20
4-3-2 Les complications dues à la microangiopathie	21
<b><u>II - Le récepteur de l'insuline</u></b>	21
<b><u>1 - Rappels sur les activités métaboliques         et enzymatiques de l'insuline</u></b>	21

<u>2 - Structure du récepteur</u>	23
<u>3 - Fonctions du récepteur</u>	23
3-1 Fixation de l'insuline	23
3-2 La tyrosine kinase	24
<u>4 - La transmission du signal</u>	25
<u>5 - Internalisation du récepteur</u>	27
<u><b>III - Le transport du glucose à travers la membrane cellulaire</b></u>	27
<u>1 - Les transporteurs du glucose</u>	27
<u>2 - Rôle de l'insuline dans le transport du glucose</u>	29

## Première partie

31

### Intérêts potentiels du vanadium dans le traitement du diabète

## LE VANADIUM : GENERALITES 32

<u>1 - Introduction</u>	32
<u>2 - Métabolisme du vanadium</u>	33
2-1 Les sources de vanadium	33
2-2 Les besoins en vanadium	35
2-3 Absorption	35
2-3-1 Par inhalation	35
2-3-2 Absorption digestive	35
2-4 Elimination	36
2-5 Répartition et métabolisme	36
<u>3 - Fonctions biochimiques et physiologiques du vanadium</u>	38
3-1 Régulation enzymatique	38

3-1-1 Action sur la Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> ATPase et la pompe à sodium	39
3-1-2 Action sur les autres ATPases	40
3-1-3 Action sur l'adényl-cyclase	40
3-1-4 Action sur les protéines kinases	41
3-1-5 Action sur les autres enzymes	41
<b>3-2 Effets sur les différents organes</b>	<b>42</b>
3-2-1 Le coeur	42
3-2-2 Le muscle lisse	42
3-2-3 L'estomac	43
3-2-4 Le rein	43
<b>3-3 Action sur le métabolisme des lipides</b>	<b>43</b>
<b>3-4 Action sur le métabolisme protéique</b>	<b>44</b>
<b>3-5 Action sur le métabolisme des glucides</b>	<b>44</b>
<b>3-6 Vanadium et stress oxydatif</b>	<b>44</b>
<b><u>4 - Toxicité du vanadium</u></b>	<b>45</b>
4-1 La toxicité aiguë	45
4-2 La toxicité subaiguë	45
4-3 La toxicité chronique	46
4-3-1 Les effets généraux	46
4-3-2 Les effets pulmonaires	46
4-3-3 Les autres effets	47
4-4 Traitement de l'intoxication	48

---

## **VANADIUM ET DIABETE** 49

---

### **I - Mécanisme d'action du vanadium** 50

#### **1 - Action du vanadium sur le métabolisme** 50

##### **des glucides**

1-1 Action sur l'hyperglycémie du diabétique 50

1-2 Effets sur les enzymes du métabolisme  
du glucose 52

1-2-1 La glycolyse	52
a) <i>Dans le foie</i>	52
⇒ <i>Glucokinase</i>	52
⇒ <i>Pyruvate kinase</i>	53
⇒ <i>6-Phosphofructo-2-kinase</i>	53
⇒ <i>Aldolase</i>	54
b) <i>Dans le rein</i>	54
c) <i>Dans le muscle squelettique</i>	56
1-2-2 La glycogénogénèse et la glycogénolyse	56
a) <i>Dans le foie</i>	56
b) <i>Dans le muscle squelettique</i>	57
c) <i>Dans l'adipocyte</i>	57
1-2-3 La néoglucogénèse	58
<b><u>2 - Autres actions insulino-mimétiques</u></b>	58
<b>2-1 Enzyme malique et glucose-6-phosphate         déshydrogénase hépatiques</b>	58
<b>2-2 L'amylase pancréatique</b>	61
<b>2-3 Le transporteur du glucose</b>	62
<b>2-4 L'absorption intestinale du glucose</b>	62
<b>2-5 Absence d'activité anabolisante</b>	63
<b>2-6 Métabolisme lipidique</b>	63
<b><u>3 - Action du vanadium au niveau de l'activation du récepteur de l'insuline</u></b>	64
<b>3-1 Action au niveau du récepteur</b>	64
3-1-1 Effet de "down-régulation"	64
3-1-2 Activité tyrosine kinase du récepteur	64
a) <i>Activation directe de la tyrosine kinase</i>	65
b) <i>Action indirecte</i>	65
<b>3-2 Action au niveau post-récepteur</b>	66
3-2-1 Augmentation du transport du glucose	66
3-2-2 Interférence avec le système de l'AMP cyclique	67

3-2-3 Action sur une tyrosine kinase cytosolique différente de celle du récepteur	68
<b><u>II - Les différentes formes d'utilisation du vanadium</u></b>	69
1 - <u>Le vanadate</u>	69
2 - <u>Le vanadyle</u>	70
3 - <u>Le bis (maltolato) oxovanadium</u>	71
4 - <u>Le pervanadate</u>	73
<b><u>III - Vanadium et sensibilité à l'insuline</u></b>	74
1 - <u>Potentialisation entre le vanadium et l'insuline</u>	74
2 - <u>Intérêt du vanadium chez les animaux insulino-résistants</u>	75
<b><u>IV - Conclusion</u></b>	77

## Deuxième partie 78

### Intérêts potentiels du sélénium dans le traitement du diabète

## LE SELENIUM : GENERALITES 79

1 - <u>Introduction</u>	79
2 - <u>Propriétés physico-chimiques</u>	80
3 - <u>Sources et besoins</u>	80
3-1 Distribution du sélénium	80
3-2 Les apports alimentaires	81
3-3 Les besoins en sélénium	83
4 - <u>Métabolisme du sélénium</u>	84
4-1 Absorption	84
4-2 Métabolisation et distribution	85
4-3 Elimination	86
5 - <u>Fonctions biochimiques</u>	87





<i>b) Les lipoprotéines</i>	104
2-2 Radicaux libres et protéines	106
2-3 Radicaux libres et acides nucléiques	106
<b><u>3 - Moyens naturels de défense contre les radicaux libres et les peroxydes</u></b>	107
<b>3-1 Les défenses enzymatiques</b>	107
3-1-1 La superoxyde dismutase (SOD)	107
3-1-2 La catalase	108
3-1-3 La glutathion peroxydase (GPx)	108
<b>3-2 Les substances antiradicalaires ou scavengers</b>	112
3-2-1 La vitamine E	112
3-2-2 La vitamine C	113
3-2-3 Le $\beta$ -carotène	114
3-2-4 Le glutathion réduit	114
<b>3-3 Conclusion</b>	114
<b><u>4 - Evaluation biochimique de l'attaque peroxydative</u></b>	115

## **DIABETE, RADICAUX LIBRES ET SELENIUM** 116

---

<b><u>1 - Production de radicaux libres lors du diabète</u></b>	116
<b>1-1 La glycation non enzymatique</b>	116
1-1-1 Réaction de Maillard	118
1-1-2 Réaction d'Amadori	118
1-1-3 Formation de radicaux libres	120
<b>1-2 Auto-oxydation du glucose</b>	121
<b>1-3 Conséquences</b>	123
1-3-1 Augmentation de la lipoperoxydation	123
1-3-2 Effet des radicaux hydroxyles sur la relaxation dépendante de l'endothélium	124

1-3-3 Effet des radicaux libres sur la down-régulation des récepteurs insuliniques	124
<b><u>2 - Défenses antiradicalaires lors du diabète</u></b>	125
2-1 Sélénium et activité glutathion peroxydase	125
2-2 Le glutathion réduit	126
2-3 La superoxyde dismutase	127
2-4 La catalase	127
2-5 La vitamine C	127
2-6 La vitamine E	127
<b><u>3 - Sélénium et diabète</u></b>	128
3-1 Arguments en faveur d'une supplémentation en sélénium chez le diabétique	128
3-1-1 Le statut en sélénium	128
3-1-2 Agrégation plaquettaire	129
3-1-3 Conclusion	129
3-2 Un déficit en sélénium peut-il favoriser l'apparition d'un diabète?	130
3-3 Effets insulino-mimétiques du sélénium	131
<b><u>4 - Conclusion</u></b>	132
 <b><u>CONCLUSION GENERALE</u></b>	 133
 <b><u>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</u></b>	 134

# INTRODUCTION

Avant la découverte de l'insuline, le diabète était responsable d'un taux élevé de mortalité en particulier à cause des complications métaboliques qu'il entraînait. Depuis, l'utilisation de l'insuline a permis un contrôle de la maladie et une augmentation de l'espérance de vie. Cependant, cette thérapeutique n'a pas réglé tous les problèmes, en particulier en ce qui concerne les complications dégénératives associées à la maladie et qui en font toute la gravité: maladies cardio-vasculaires, cécité, insuffisance rénale. L'insuline ne constitue pas non plus un médicament idéal car elle doit être injectée. De plus, on observe fréquemment, dans les diabètes insulino-dépendants à la suite de différents stress (métaboliques, infection, inflammation) des phénomènes de résistance à l'insuline; au cours du diabète non insulino-dépendant, le problème de la variabilité de la sensibilité à l'insuline peut rendre l'équilibre glycémique difficile à contrôler. Le diabète constitue donc encore un problème majeur de santé publique.

Dans ce contexte, la recherche de nouvelles alternatives ou compléments thérapeutiques à l'insulinothérapie ou aux antidiabétiques oraux prend toute sa signification.

L'objet de ce travail est d'examiner les intérêts potentiels de deux oligo-éléments, le vanadium et le sélénium dans le traitement du diabète.

Le vanadium est un agent insulino-mimétique faisant l'objet de nombreuses recherches expérimentales chez l'animal diabétique.

Cependant, il n'est toujours pas utilisé chez l'homme en raison de sa toxicité potentielle, mais la recherche de nouvelles formes d'administration pourrait, dans un avenir plus ou moins proche, ouvrir de nouvelles alternatives thérapeutiques chez l'homme.

Le sélénium est un oligo-élément bien connu pour ses propriétés antiradicalaires. Contrairement au vanadium, son utilisation chez l'homme est relativement répandue, par contre il y a peu de recherches consacrées à l'étude du rôle du sélénium dans la prévention des complications dégénératives du diabète bien que l'on sache que le stress oxydatif intervient dans l'apparition de ces complications.

Dans ce travail, nous montrerons donc quelles sont les voies d'avenir à l'utilisation du vanadium dans le but d'améliorer la sensibilité à l'insuline, et, malgré le peu de travaux existants directement dans ce domaine, nous essayerons de préciser ce que l'on peut attendre du sélénium dans la prévention des maladies dégénératives liées au diabète.

# RAPPELS

## I - Le diabète sucré [24, 63,91]

### 1 - Définition

D'après l'O.M.S., " en l'absence de traitement, le diabète sucré se reconnaît par l'élévation chronique de la concentration de glucose dans le sang (hyperglycémie). Celle-ci s'accompagne parfois de symptômes: soif intense, diurèse profuse, perte de poids, trouble de la conscience culminant en coma mortel en l'absence de traitement efficace. Le plus souvent, les symptômes sont beaucoup moins sévères et il n'y a pas de trouble de la conscience. Occasionnellement, les symptômes sont totalement absents.

L'hyperglycémie et les autres anomalies biochimiques résultent d'un déficit de production d'insuline ou d'une diminution de son action. La sévérité des symptômes dépend fortement du degré d'insuffisance d'activité de l'insuline.

De façon caractéristique, le diabétique court le risque à long terme de développer des lésions progressives de la rétine, des reins, des nerfs périphériques et d'aggraver les lésions d'athérosclérose au niveau du coeur, des jambes et du cerveau." [14]

## **2 - Classification**

### **2-1 Le diabète insulino-dépendant (DID)**

Le diabète insulino-dépendant (ou diabète de type I ou diabète maigre ou diabète juvénile) débute avant 40 ans et l'âge moyen d'apparition est 14 ans. La survenue peut être brutale avec sensation de soif, élimination excessive d'urine, augmentation de l'appétit et perte de poids s'installant sur une période de plusieurs jours. Dans quelques cas la maladie est annoncée par l'apparition d'une acidocétose lors d'une maladie intercurrente ou lors d'une intervention chirurgicale.

Ce type de diabète correspond à une carence en insuline. Le taux de glucagon est élevé mais peut être diminué par l'insuline. Lorsque les symptômes sont apparus, l'insulinothérapie est nécessaire.

### **2-2 Le diabète non insulino-dépendant (DNID)**

Le diabète non insulino-dépendant (ou diabète de type II ou diabète gras ou diabète de la maturité) débute aux âges moyens de la vie ou plus tardivement (généralement le sujet est obèse). Les symptômes s'installent progressivement et le diagnostic est souvent porté devant une hyperglycémie lors d'un examen de routine.

Dans ce type de diabète, le pancréas est fonctionnel et sécrète de l'insuline mais celle-ci est inefficace. On observe un phénomène de résistance à l'insuline. Le taux de glucagon est élevé et peu ou pas sensible à l'insuline.

Le traitement peut être uniquement le régime si l'on peut obtenir une perte de poids. La majorité des malades répondent aux traitements antidiabétiques oraux, mais pour beaucoup d'entre eux le traitement insulinique est nécessaire ou le devient par la suite.



## 3 - Diagnostic

### 3-1 Dosage de la glycémie

Par définition, le diabète sucré correspond à une augmentation de la glycémie. Le diagnostic est donc basé sur le dosage de la glycémie et la mise en évidence d'une hyperglycémie à jeun.

#### Remarques:

Valeurs normales de la glycémie: **3,8 - 5,1 mmol/l ou 0,68 - 0,92 g/l**

Facteurs de conversion: - glycémie en g/l x 5,55 = glycémie en mmol/l

- glycémie en mmol/l x 0,18 = glycémie en g/l

On parle d'hyperglycémie lorsque le glucose plasmatique est supérieur à 6 mmol/l.

On distingue différents cas de figures:

① Le sujet présente des signes évocateurs: soif, polyurie, fatigue, amaigrissement...

Le diagnostic de diabète doit être retenu jusqu'à preuve du contraire. Pour affirmer qu'il existe un diabète sucré franc, le médecin doit mettre en évidence une hyperglycémie franche (> 11,1 mmol/l) souvent associée à une glycosurie.

#### ② Le sujet n'a pas de symptôme

Le diagnostic est plus difficile. Le dosage de la glycémie à jeun peut être complété, si celle-ci est anormale ou dans des valeurs limites, par l'épreuve d'hyperglycémie provoquée par voie orale (HGPO).

### **3-2 Epreuve d'hyperglycémie provoquée par voie orale**

Le patient reçoit une dose de charge en glucose (75 g pour les adultes ou 1,75 g/kg pour les enfants) par voie orale. On effectue un dosage de la glycémie à jeun et deux heures après l'administration de la charge glucosée. Deux types de réponses sont observés correspondant au diabète et à l'anomalie de l'épreuve d'HGPO (cf.tableau 1).

L'attitude du médecin devant une anomalie de l'épreuve d'hyperglycémie provoquée sera différente en fonction des facteurs de risque de devenir diabétique du patient (cf.tableau 2).

En pratique clinique, trois grandes situations se rencontrent:

- Des symptômes caractéristiques gênent le patient dans sa vie quotidienne et la glycémie à jeun est franchement élevée: le diagnostic de diabète sucré s'impose.

- Le diagnostic de diabète peut être éliminé avec certitude: les glycémies sont absolument normales, ce qui n'exclue pas l'action médicale préventive chez les sujets à risque élevé de devenir diabétique.

- La troisième situation est celle des incertitudes glycémiques et des préoccupations cliniques; les glycémies sont limites, ni vraiment normales ni vraiment anormales, même aux épreuves d'HGPO; les facteurs de risque de diabète et/ou d'athérome pèseront lourds dans la décision médicale, de même que l'espérance de vie et les conditions socio-culturelles.

**Tableau 1** Valeur diagnostique de l'épreuve d'hyperglycémie provoquée par voie orale  
[14]

	Concentration en glucose			
	Sang veineux entier	Sang capillaire entier	Plasma du sang veineux	Plasma du sang capillaire
<b><u>Diabète sucré</u></b>				
<i>A jeun</i>	≥ 6,7 mmol/l ( ≥ 1,2 g/l )	≥ 6,7 mmol/l ( ≥ 1,2 g/l )	≥ 7,8 mmol/l ( ≥ 1,4 g/l )	≥ 7,8 mmol/l ( ≥ 1,4 g/l )
<i>2 heures après l'absorption de la dose de charge en glucose</i>	≥ 10,0 mmol/l ( ≥ 1,8 g/l )	≥ 11,1 mmol/l ( ≥ 2,0 g/l )	≥ 11,1 mmol/l ( ≥ 2,0 g/l )	≥ 12,2 mmol/l ( ≥ 2,0 g/l )
<b><u>Anomalie de l'épreuve d'hyperglycémie provoquée</u></b>				
<i>A jeun</i>	< 6,7 mmol/l ( < 1,2 g/l )	< 6,7 mmol/l ( < 1,2 g/l )	< 7,8 mmol/l ( < 1,4 g/l )	< 7,8 mmol/l ( < 1,4 g/l )
<i>2 heures après l'absorption de la dose de charge en glucose</i>	≥ 6,6 - < 10,0 mmol/l ( ≥ 1,2 - < 1,8 g/l )	≥ 7,8 - < 11,1 mmol/l ( ≥ 1,4 - < 2,0 g/l )	≥ 7,8 - < 11,1 mmol/l ( ≥ 1,4 - < 2,0 g/l )	≥ 8,9 - < 12,2 mmol/l ( ≥ 1,6 - < 2,0 g/l )

**Tableau 2** Facteurs de risque de devenir diabétique

[91]

**Facteurs de risque de devenir diabétique insulino-dépendant**

- Prédisposition génétique:
  - frère, soeur, jumeau diabétique, de type insulino-dépendant
  - surtout si phénotype HLA identique ou proche
- Anticorps anti-îlots de Langerhans (fixant le complément)
- Réponse insulinique diminuée lors de la surcharge glucosée IV

**Facteurs de risque de devenir diabétique non insulino-dépendant**

- Parent(s) diabétique(s) non insulino-dépendant(s)
- Obésité, surpoids
- Naissance d'un enfant de poids >4 kg (ou 4,5 kg dans les pays où le poids de naissance est particulièrement élevé)
- élévation transitoire de la glycémie lors:
  - d'une grossesse
  - de la prise d'une contraception oestroprogestative
  - d'un traitement corticoïde
  - d'une agression

## **4 - Complications du diabète**

### **4-1 Complications métaboliques**

#### **4-1-1 L'acidocétose**

Elle complique essentiellement le DID qu'elle peut révéler. Dans 15 % des cas environ, elle survient lors d'un diabète non insulino-traité à l'occasion d'une agression (infarctus du myocarde, stress chirurgical important...) responsable d'une insulino-résistance majeure.

Le tableau clinique est le suivant: anorexie, nausées, vomissement et polyurie, parfois douleurs abdominales; puis altération de la conscience.

#### **4-1-2 Le coma hyperosmolaire**

Il complique essentiellement le DNID du sujet âgé. Il s'agit souvent d'un diabète méconnu. Le tableau initial du coma hyperosmolaire est caractérisé par une hyperglycémie extrême, une hyperosmolarité plasmatique avec déplétion hydrique et insuffisance rénale fonctionnelle et des atteintes des fonctions cérébrales allant de la désorientation au coma.

### **4-2 Complications infectieuses**

Le déséquilibre du diabète favorise l'infection, et l'infection est une des principales causes de déséquilibre du diabète par l'insulino-résistance qu'elle induit. On observe fréquemment des infections cutanées et génitales, en particulier mycosiques, qui amènent parfois

à découvrir le diabète. Les infections urinaires sont également fréquentes. Le problème essentiel reste les infections des plaies des pieds. Celles-ci justifient une antibiothérapie systémique couvrant les staphylocoques, les streptocoques, les gram négatifs, et, en cas d'artérite, les anaérobies.

### **4-3 Complications dégénératives**

Quelle que soit la variété de diabète sucré, l'évolution est menacée par le développement insidieux des complications dégénératives. Un des points communs de ces complications est l'altération de la paroi des petits vaisseaux et notamment des membranes basales décrite sous le nom de *microangiopathie diabétique*. En outre, le diabète sucré est l'un des facteurs de risque de la maladie athéroscléreuse.

Actuellement, l'amélioration des traitements évite aux diabétiques de mourir des complications métaboliques aiguës, mais l'allongement de la durée de vie permet à ces complications dégénératives de se développer pleinement.

#### **4-3-1 Les complications liées à l'athérosclérose**

Elles ne sont pas spécifiques du diabète. On retrouve les atteintes habituelles des différents territoires: artères cérébrales et vertébro-basilaires, artères coronaires (insuffisance coronarienne, infarctus du myocarde) et celles des membres inférieurs avec risque de gangrène. Cependant, ces atteintes surviennent plus tôt et plus fréquemment chez les diabétiques.

### 4-3-2 Les complications dues à la microangiopathie

Elles peuvent être:

- Oculaires: cataracte et surtout rétinopathie diabétique (microanévrisme, exsudats, oblitération et rupture vasculaire, hémorragies) menacent la vision. La rétinopathie diabétique atteint plus de 95% des diabétiques insulino-dépendants après 20 ans de diabète.
- Nerveuses: neuropathies périphériques sensitivo-motrices, souvent à prédominance sensitive. Le mal perforant plantaire (ulcération peu ou pas douloureuse siégeant au point d'appui plantaire) s'observe en cas de neuropathie diabétique.
- Rénales: glomérulopathie diabétique avec protéinurie (parfois abondante et responsable d'un syndrome néphrotique). A cette atteinte glomérulaire s'ajoutent d'autres altérations rénales vasculaires (néphroangiosclérose due à l'hypertension artérielle) et interstitielle (néphropathies interstitielles infectieuses, nécrose papillaire).

## II - Le récepteur de l'insuline [63, 91]

L'insuline exerce ses actions cellulaires par l'intermédiaire d'un récepteur membranaire.

### 1 - Rappels sur les activités métaboliques et enzymatiques de l'insuline

Les activités de l'insuline sont résumées dans le tableau 3.



**Tableau 3** Activités métaboliques et enzymatiques de l'insuline [91]

Effets sur les substrats circulants	↓ Glycémie ↓ Acides gras non estérifiés ↓ Corps cétoniques ↓ Acides aminés	
Effets métaboliques tissulaires	<b>Augmentation</b>  Captation du glucose Synthèse de glycogène Glycolyse Synthèse d'acides gras Synthèse protéique	<b>Diminution</b>  Glycogénolyse Néoglucogénèse Lipolyse Cétogénèse Protéolyse
Modification des enzymes et des transporteurs	Translocation des transporteurs de glucose Glucokinase hépatique Glycogène synthétase musculaire Phosphofructokinase Pyruvate kinase Pyruvate déshydrogénase ATP-citrate lyase Acétyl-CoA carboxylase Synthétase des acides gras Activation du transport des acides aminés	Phosphorylase Glucose-6-phosphatase Phosphoénolpyruvate carboxykinase Triglycéride lipase adipocytaire Libération des acides aminés par les muscles

## 2 - Structure du récepteur

Le récepteur est une glycoprotéine insérée dans la membrane plasmique et retrouvée dans toutes les cellules de l'organisme. Il se compose de deux chaînes  $\alpha$  et deux chaînes  $\beta$ . Il est synthétisé sous la forme d'un précurseur de poids moléculaire 210 kDa, qui sera clivé en une chaîne  $\alpha$  et une chaîne  $\beta$ , chaque chaîne étant glycosylée par la suite.

La chaîne  $\alpha$  a une fonction de liaison à l'hormone, alors que la chaîne  $\beta$  a une fonction enzymatique de type tyrosine kinase, activée par la liaison de l'hormone. Cette dernière détermine également la phosphorylation de résidus tyrosyles présents sur la chaîne  $\beta$  elle-même.

## 3 - Fonctions du récepteur

### 3-1 Fixation de l'insuline

Une seule molécule d'insuline se lie avec une haute affinité à une chaîne  $\alpha$ . Les acides aminés de la molécule d'insuline formant le site de fixation sont connus mais le site complémentaire sur la molécule du récepteur reste à déterminer.

L'affinité de l'insuline pour son récepteur est relativement constante dans les différents tissus, mais le nombre de sites varie de quelques centaines à plus de cent mille sites par cellule.

Il semblerait qu'il existe un phénomène de coopérativité négative, c'est à dire que l'affinité de l'insuline pour son récepteur diminuerait avec l'augmentation de l'occupation des sites. Ceci serait lié à des modifications de structure de la chaîne  $\alpha$  observées après fixation de l'hormone.

La liaison insuline/récepteur est très spécifique. Toutefois, il n'y a pas de spécificité d'espèce puisque les différences d'affinité pour un récepteur donné sont faibles entre les insulines d'espèces différentes.

Si on compare les phénomènes de liaison hormone/récepteur aux effets biologiques de l'hormone, on remarque que certains effets biologiques maximaux sont obtenus pour une occupation minimale des sites de liaison (environ 10%).

### **3-2 La tyrosine kinase**

La fixation de l'insuline sur la chaîne  $\alpha$  induit en quelques secondes l'activation de la tyrosine kinase portée par la partie intracellulaire de la chaîne  $\beta$ . La source de phosphate est l'ATP. L'activité enzymatique est potentialisée par les ions divalents tels que le magnésium et le manganèse. Cette activation est consécutive à une augmentation de la vitesse de la réaction ( $V_{max}$  5 à 20 fois supérieure), sans modification du  $K_m$ , c'est à dire de l'affinité pour les substrats.

La tyrosine kinase joue un rôle primordial en se situant au carrefour conduisant à l'ensemble des actions cellulaires de l'insuline. Le ou les substrats de cette enzyme sont encore inconnus. On n'a toujours pas identifié la protéine cytosolique ou membranaire dont l'activation par la phosphorylation sur des résidus tyrosyles aurait une importance majeure sur l'un ou plusieurs des sites d'actions connus de l'insuline. Il semble que le meilleur substrat (affinité) de la tyrosine kinase est le récepteur lui-même.

## 4 - La transmission du signal

La liaison de l'insuline à la chaîne  $\alpha$  entraîne la phosphorylation de résidus tyrosyles sur la chaîne  $\beta$ . Il s'agit d'une autophosphorylation puisque l'enzyme responsable est la tyrosine kinase du récepteur (cf. figure 1). A côté de cette autophosphorylation portant sur les résidus tyrosyles, il existe une phosphorylation de résidus séryles et thréonyles qui serait due à la protéine kinase C et la protéine kinase AMPc-dépendante. Ceci a un effet inhibiteur sur l'activité kinase du récepteur.

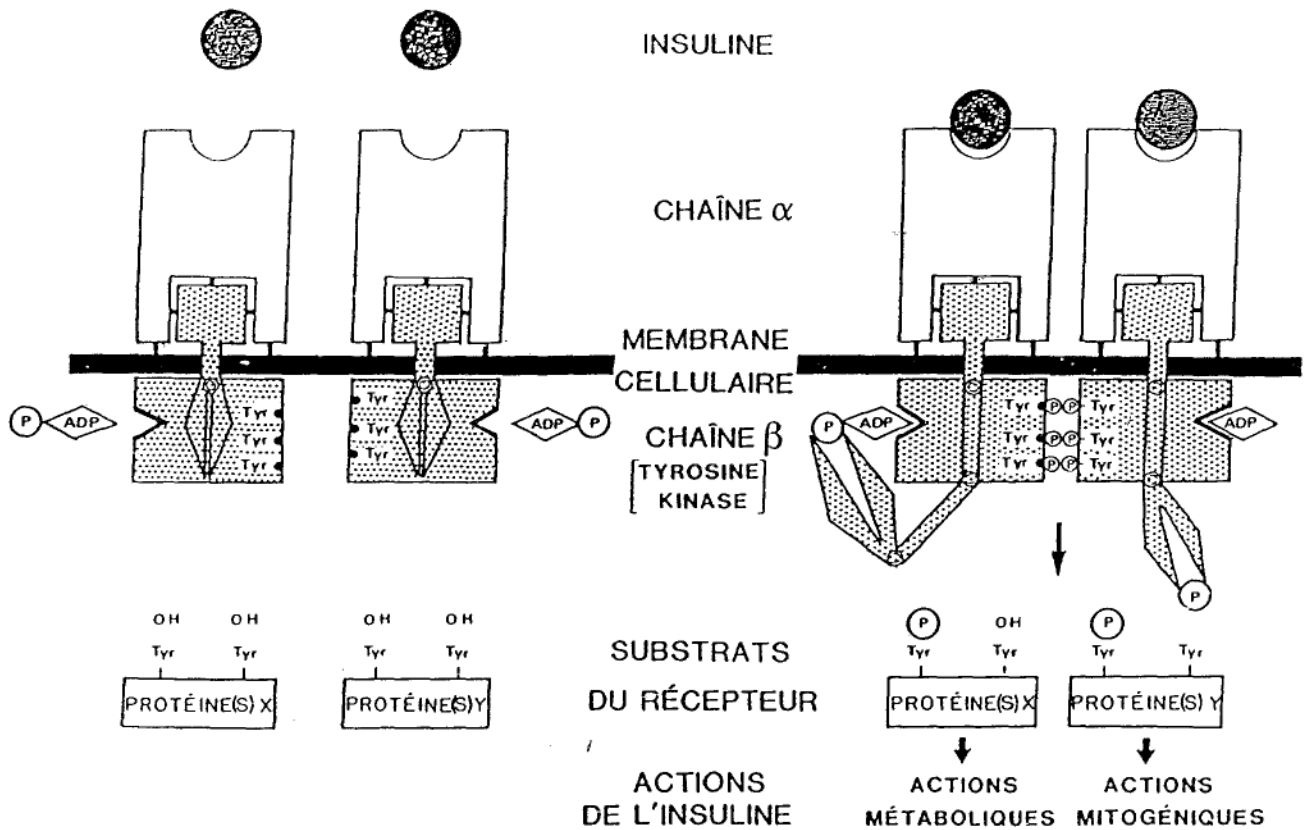
L'ensemble des actions mitogéniques et métaboliques de l'insuline passe par son récepteur membranaire et l'activation de la tyrosine kinase.

Les effets mitogéniques semblent être la conséquence de la phosphorylation de substrats cytosoliques par la tyrosine kinase et peuvent être indépendants de l'autophosphorylation du récepteur.

Les effets métaboliques seraient la conséquence de la séquence suivante d'événements: l'activation de la kinase phosphorylerait des sites tyrosines spécifiques du récepteur lui-même, permettant l'agrégation du récepteur indispensable à la transduction en favorisant peut-être le couplage à une autre protéine membranaire telle qu'une protéine G et une phospholipase C spécifique.

Cette hypothèse est confortée par les démonstrations que deux produits de l'hydrolyse d'un phospholipide membranaire auraient des actions insulino-mimétiques distinctes: le diacylglycérol agirait sur le transport du glucose, alors qu'un inositolphosphate glycanne stimule les effets lipolytiques ainsi que l'ensemble des actions de phosphorylation et de déphosphorylation de l'hormone dans l'adipocyte. Le diacylglycérol et l'inositolphosphate glycanne agirait comme des seconds messagers de l'insuline.

## Figure 1 Mode d'action cellulaire de l'insuline à travers son récepteur [91]



Représentation schématique du mode d'action cellulaire de l'insuline à travers son récepteur.

*A gauche :* l'insuline (en hachuré horizontalement) n'est pas liée à son récepteur qui est au repos; les tyrosines (Tyr) du récepteur ne sont pas phosphorylées, la tyrosine kinase est inactive, ne peut phosphoryler ses substrats hypothétiques X et Y sur des résidus tyrosyls et ne peut lier l'ATP (ADP-P). Les unités  $\alpha\beta$  sont éloignées les unes des autres.

*A droite :* l'insuline s'est liée à la chaîne  $\alpha$  (surface blanche) de son récepteur. Cela détermine l'activation de la tyrosine kinase, une phosphorylation P de certains résidus tyrosyls de la chaîne  $\beta$  (surface en pointillé) et une agrégation des complexes  $\alpha\beta$ . Cela se traduit par la liaison de l'ATP (ADP-P) et le transfert de phosphates sur les substrats X et Y, premiers intermédiaires hypothétiques des actions respectivement métaboliques et mitogéniques de l'insuline.

## 5 - Internalisation du récepteur

Après s'être liés à l'insuline, les récepteurs s'agrègent et se réunissent au niveau "d'invaginations mantelées" ou "coated pits" de la membrane cellulaire. Il s'agit de zones riches en clathrine qui vont s'internaliser. Les vésicules internalisées fusionnent avec des vésicules lysosomiales et leur contenu s'acidifie, conduisant à la dissociation de l'insuline puis à sa dégradation par les enzymes lysosomiales. Le récepteur est en partie recyclé.

L'insuline régule ces phénomènes d'internalisation. En effet, l'intensité de l'internalisation dépend de la concentration en insuline dans le milieu extracellulaire. L'insuline en diminuant le nombre de récepteurs de surface exerce un effet dit de "down régulation" sur son récepteur.

## III - Le transport du glucose à travers la membrane cellulaire [1, 26, 91]

### 1 - Les transporteurs du glucose

Trois mécanismes faisant intervenir une protéine de transport ou transporteur du glucose assurent l'entrée du glucose dans les cellules:

- le transport actif sodium-dépendant nécessitant de l'énergie, dans les membranes apicales de l'intestin et du rein
- la diffusion facilitée ne nécessitant ni énergie ni transport concomitant d'ions, dans les cellules sanguines, le cerveau, les cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans, le foie et les membranes basolatérales de l'intestin et du rein

- la diffusion facilitée répondant à l'insuline, dans les muscles et le tissu adipeux

Les premiers transporteurs étudiés sont ceux des érythrocytes humains, des hépatocytes, du cerveau de rat et du muscle foetal. Ce sont des transporteurs non insulino-dépendants. Ils se présentent sous la forme d'une protéine glycosylée de poids moléculaire de 45 - 55 kDa. La connaissance de la séquence en acides aminés permet de déduire l'existence de douze domaines transmembranaires qui pourraient intervenir dans la constitution d'un pore, et d'un site potentiel de glycosylation situé sur la face externe de la membrane cellulaire. L'extrémité C-terminale est située coté cytoplasmique.

L'étude de tissus insulino-dépendants (muscle, tissu adipeux) montre l'existence d'un autre transporteur du glucose de poids moléculaire de 43 kDa. Cette protéine n'est exprimée dans les préparations de membrane plasmique d'adipocyte qu'en présence d'insuline. En l'absence d'insuline, on la retrouve dans la fraction microsomale de l'adipocyte.

Le transporteur du glucose de l'adipocyte et des muscles présente une grande analogie de structure avec celui de l'érythrocyte et du cerveau, mais il se distingue par son extrémité C-terminale cytoplasmique différente. Il existe donc de façon certaine un transporteur différent dans les tissus insulino-dépendants. Il pourrait intervenir dans certains phénomènes d'insulino-résistance.



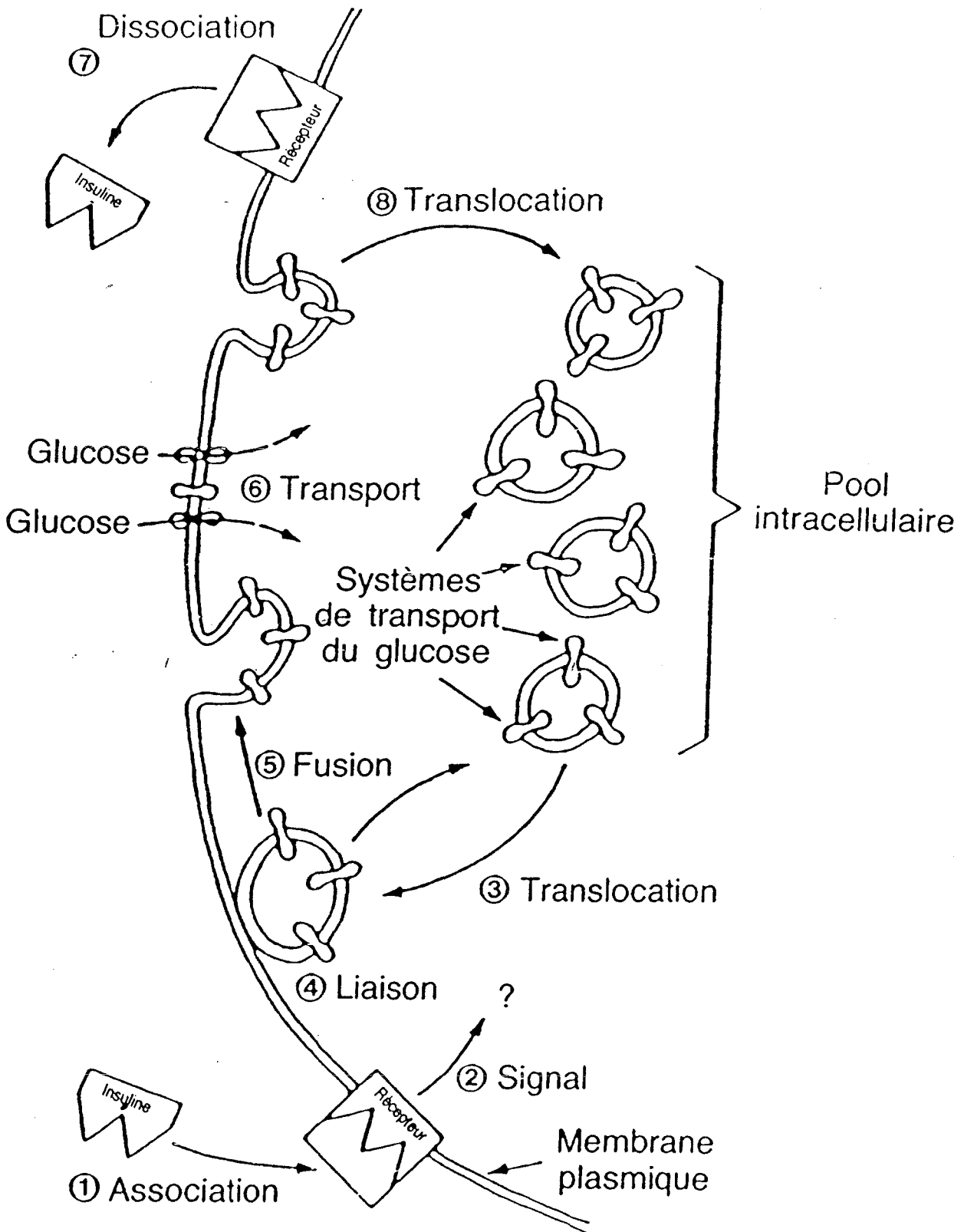
## 2 - Rôle de l'insuline dans le transport du glucose

La plupart des études ont été effectuées, pour des raisons pratiques, sur des préparations d'adipocytes isolés. L'effet de l'insuline se traduit par une augmentation modeste de l'affinité du transporteur pour le glucose, mais surtout par une augmentation importante des capacités maximales de transport.

Des études ont montré que l'effet principal de l'insuline est d'entraîner la translocation de transporteurs du glucose d'une fraction membranaire intracellulaire (réticulum transgolgien) vers la membrane plasmique, ce phénomène étant réversible (cf. figure 2). Cette translocation ne nécessite pas de néosynthèse protéique, elle est maximale 3 à 4 minutes après l'addition d'insuline dans le milieu, et consomme de l'énergie.

Le phénomène de translocation pourrait expliquer d'une part l'augmentation des capacités maximales de transport du système, d'autre part l'augmentation de l'affinité pour le glucose, les transporteurs intracellulaires stimulés par l'insuline ayant une plus grande affinité pour le glucose que les transporteurs constitutifs de la membrane plasmique. Toutefois, le phénomène de translocation ne permet pas d'expliquer la totalité des effets de l'insuline sur le transport du glucose. En effet, le facteur de stimulation du transport de glucose par l'insuline peut être de 5 à 10 alors que le nombre de transporteurs dans la membrane plasmique n'est multiplié que par 2 ou 3. Il semblerait qu'il existe une étape d'activation des transporteurs dans la membrane plasmique après leur translocation.

**Figure 2** Action de l'insuline sur le transport du glucose [91]



## Première partie

**Intérêts potentiels du vanadium  
dans le traitement du diabète**

# LE VANADIUM : GENERALITES

## 1 - Introduction

Découvert au 19<sup>e</sup> siècle, le vanadium de symbole V est un métal de transition appartenant au groupe Vb de la classification de Mendeleev. Sa masse atomique est 50,94 et son numéro atomique 23. Il peut exister sous différents états d'oxydation: +2, +3, +4 et +5. Au pH physiologique (7,35), la forme qui prédomine dans les fluides biologiques est le vanadate  $\text{VO}_3^-$  (degré d'oxydation +5). Ce vanadate, par un système de transport d'anions, peut entrer dans certaines cellules et être réduit en vanadyle  $\text{VO}^{2+}$  (degré d'oxydation +4) par le glutathion, les catécholamines, le NADPH ou l'acide ascorbique. [55] C'est essentiellement sous forme de vanadyle que le vanadium est présent dans les cellules.

Le vanadium est considéré comme un oligo-élément essentiel, cependant cette essentialité n'a jamais été clairement démontrée. Les études de privation chez l'animal donnent des résultats incohérents. Le déficit en vanadium n'entraîne aucune diminution constante et reproductible d'une fonction biologique chez l'animal. Les différences rapportées entre les animaux privés de vanadium et les animaux supplémentés en vanadium seraient la conséquence d'une supplémentation élevée (0,5 à 3,0  $\mu\text{g}$  de vanadium/g de nourriture) entraînant des réactions de type pharmacologique. De plus, il semble que la composition de l'alimentation peut affecter la réponse des rats à des taux non toxiques de vanadium alimentaire, notamment le contenu en acides aminés soufrés (cystine, méthionine), en fer ferreux, en

cuiivre, en mercure et en acide ascorbique. Chez l'homme, il existe de grandes difficultés à déterminer des taux "normaux" du fait d'une variabilité des résultats obtenus par les différents auteurs (variation de 1 à 1000). [59] Les taux sanguins varient du ng au  $\mu\text{g/l}$ . Au niveau tissulaire les taux varient, selon les organes, du ng au  $\mu\text{g/g}$  avec des taux généralement plus élevés dans le rein (lieu d'élimination), l'os (stockage par échange avec les ions phosphates) et les phanères (formation de complexes avec les acides aminés soufrés). Les résultats des dosages varient aussi en fonction de la technique utilisée et de l'exposition des sujets.

## 2 - Métabolisme du vanadium

### 2-1 Les sources de vanadium

Le vanadium est présent dans les espèces animales et végétales à des concentrations variables. La plupart des aliments (fruits, légumes frais, huiles et graisses) en contiennent moins de 1 ng/g. Les épinards, les champignons, le persil, le foie, le poisson, le riz, les fruits de mer, la farine, le vin et la bière renferment par contre des quantités appréciables de vanadium. [102] D'après Pennington, [62] les repas apportent de 6,2 à 18,3  $\mu\text{g}$  de vanadium par jour. Ces apports alimentaires peuvent varier dans des limites plus larges selon les régimes et le type d'alimentation (cf. tableau 4).

L'air atmosphérique est une source non négligeable de vanadium. La teneur moyenne est d'environ quelques dizaines de  $\text{ng/m}^3$ , mais elle peut atteindre le  $\mu\text{g/m}^3$  dans les grandes villes. Le vanadium provient essentiellement de la combustion du charbon, du mazout et des huiles résiduelles, mais également des poussières naturelles puisque la croûte

**Tableau 4** Teneur moyenne en vanadium des aliments  
(en ng/g poids humide) [9]

Ail, Oignon	0,6	Noisette	3,7
Chou-fleur	0,8	Steak de boeuf	0,4
Carotte	2,3	Foie de boeuf	7,3
Chou	0,2	Maquereau	3,5
Epinard	35	Thon	10,3
Pomme de terre	1,6	Jaune d'oeuf	2,8
Tomate	0,3	Sucre	0,9
Maïs	0,7	Farine	15-40
Riz	12-30	Vin rouge	3,5-32
Pomme, Poire	0,3	Bière	8,4
Orange	0,9	Lait de vache	0,2

**Tableau 5** Teneur moyenne en vanadium des tissus humains  
(en ng/g poids humide) [9]

Rein	5	Muscles	0,5
Foie	10	Poumon	19-140
Cerveau	0,7	Tissu adipeux	0,7
Thyroïde	3,1	Os	3,4
Coeur	1,1	Cheveux	12-87

terrestre en contient 135 mg/kg. Un homme de 70 kg inhale quotidiennement entre 0,05 et 4  $\mu\text{g}$  de vanadium.

## **2-2 Les besoins en vanadium**

Il est difficile de parler de besoin chez l'homme, dans la mesure où le caractère essentiel de cet élément n'a jamais été formellement démontré selon les critères habituels.

S'il y a un besoin en vanadium, celui-ci est probablement très faible. Si on se réfère aux valeurs des besoins minima chez l'animal, la valeur calculée des besoins quotidiens chez l'homme serait de l'ordre de 10 à 25  $\mu\text{g/j}$ . Dans ces conditions et d'après l'étude de Pennington [62], l'apport alimentaire quotidien serait correct chez les adolescents et les hommes (10,6 à 18,3  $\mu\text{g/j}$ ), par contre, il serait insuffisant chez les très jeunes enfants, les adolescentes et les femmes (6,2 à 8,1  $\mu\text{g/j}$ ).

## **2-3 Absorption**

### **2-3-1 Par inhalation**

Il existe une absorption pulmonaire du vanadium. Cette absorption est très rapide et, peut être responsable de phénomènes d'intoxication dans l'industrie.

### **2-3-2 Absorption digestive**

L'absorption au niveau du tractus gastro-intestinal est lente et beaucoup plus réduite que par voie pulmonaire. Les études sur l'animal indiquent que le taux d'absorption du vanadium ingéré est inférieur à 1% avec cependant des variations en fonction de la composition des

aliments. L'état d'oxydation du vanadium joue aussi un rôle dans son absorption, son métabolisme et sa distribution dans l'organisme: la teneur des tissus est beaucoup plus élevée lorsque l'animal est supplémenté en orthovanadate de sodium plutôt qu'en sulfate de vanadium. [102]

## 2-4 Elimination

La majorité du vanadium est excrétée par les fèces, celles-ci contiennent probablement essentiellement du vanadium non absorbé. D'après des études dans lesquelles le vanadium est administré par voie parentérale, l'élimination rénale est la voie principale d'excrétion du vanadium absorbé. Cette élimination par le rein est rapide. [102]

## 2-5 Répartition et métabolisme

D'après les travaux réalisés par Sabbioni et coll. [76], chez le chat, en administrant une dose intraveineuse unique de 10  $\mu\text{g}$  de vanadate marqué ( $^{48}\text{V}$ ), le vanadium est présent essentiellement dans le plasma (pour plus de 90%). Il présente donc une faible affinité pour les hématies. Sa clairance s'effectue en trois périodes correspondant à trois composantes plasmatiques:

- la première composante qui diminue rapidement ( $T_{1/2} = 15 \text{ mn}$ ) est constituée de macroglobulines et de lipoprotéines de haute densité;
- la seconde ( $T_{1/2} = 14 \text{ h}$ ) se compose de globulines;
- la troisième composante ( $T_{1/2} = 8,5 \text{ j}$ ) est constituée d'albumine et de  $\beta$ -globulines telles que la transferrine.



Initialement, seule une petite quantité de vanadium est associée aux protéines dans le plasma, mais après 96 heures, il n'est présent que sous forme de complexe vanadyle-transferrine. Il n'existe probablement pas chez les mammifères de métallo-protéine spécifique du vanadium.

La distribution plasmatique est indépendante de l'état d'oxydation. Harris et coll. [30] ont montré chez le chien que quel que soit le degré d'oxydation (+4 ou +5) lors de l'injection, le vanadium se retrouve au niveau plasmatique sous forme de vanadyle (+4), complexé à la transferrine. Il existe une interconversion *in vivo* entre le vanadate et le vanadyle aboutissant finalement à une distribution commune des différents états d'oxydation.

Au niveau tissulaire, la majeure partie du vanadium est rapidement retrouvée dans le foie et les reins (respectivement 7,2% et 4,7%, 1,5 heure après administration). Progressivement après l'injection, les os et dans certains cas la rate et le foie deviennent des sites majeurs de rétention du vanadium. 4 à 12 jours après l'injection, les os, la rate et le foie contiennent des taux en  $^{48}\text{V}$  nettement supérieurs au taux rénal. Les testicules accumulent également une faible quantité de vanadium (cf. tableau 5).

Au niveau intracellulaire, le vanadium est localisé principalement dans le noyau puis par ordre d'importance décroissante, dans les mitochondries, le cytosol et les microsomes.

Sabbioni et Marafante [75] ont montré que la transferrine et la ferritine possèdent la capacité de lier *in vivo* le vanadium alors que les hémoprotéines ferriques telles que la myoglobine, les cytochromes et l'hémoglobine ne fixent pas significativement le vanadium. Il reste à déterminer si la ferritine est un moyen de stockage du vanadium dans le foie comme pour le fer, et si le complexe vanadyle-transferrine peut

transférer du vanadium aux cellules par l'intermédiaire du récepteur de la transferrine.

Des études *in vitro* suggèrent que le vanadium sous forme de vanadate entre dans les cellules à travers les systèmes de transport des phosphates ou d'autres anions. Ceci n'est pas surprenant car le vanadate possède une analogie de structure avec les ions phosphates.

On a également montré *in vitro* que dans les érythrocytes et dans les cellules adipeuses, le vanadium est réduit progressivement en vanadyle par le glutathion. Dans les érythrocytes le vanadyle se lie à l'hémoglobine. Dans les adipocytes, le vanadyle se complexe avec la glutathionine. On peut concevoir que la liaison du vanadyle au glutathion réduit empêche sa réoxydation en vanadate, phénomène compatible au pH intracellulaire. [81]

Administré par voie sous-cutanée, intramusculaire, intrapéritonéale ou intratrachéale, le vanadium semble être métabolisé de la même façon que lorsqu'on l'administre par voie intraveineuse. [59]

### **3 - Fonctions biochimiques et physiologiques du vanadium**

#### **3-1 Régulation enzymatique**

Le vanadium exerce une action inhibitrice ou activatrice sur de nombreuses enzymes.

### 3-1-1 Action sur la Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase et la pompe à sodium

Le vanadium est un puissant inhibiteur de la Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase. C'est essentiellement le vanadate qui inhibe la Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase membranaire commandant l'activité de la pompe à sodium cellulaire. Sous forme de vanadyle, il est 12 fois moins efficace. Les agents réducteurs tels que l'acide ascorbique et le glutathion préviennent l'inhibition due au vanadate, alors que les agents oxydants, au contraire, l'augmentent fortement.

On a émis l'hypothèse selon laquelle le vanadium pourrait agir, *in vivo*, comme un régulateur physiologique de l'activité de la pompe à sodium. [102]

L'enzyme fait partie du groupe des ATPases possédant deux états intermédiaires E<sub>1</sub> et E<sub>2</sub>. Dans la conformation E<sub>1</sub>, elle accepte de façon réversible un phosphate de l'ATP et fixe le Na<sup>+</sup>, tandis que dans la conformation E<sub>2</sub>, elle accepte un analogue du phosphate inorganique et fixe le K<sup>+</sup>. Le vanadate inhibe la Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase en se fixant sur le site de phosphorylation, ce qui bloque l'enzyme dans l'état E<sub>2</sub>. [102]

Cependant, la forme prédominante du vanadium dans les tissus est le vanadyle, ce qui remet en cause l'éventualité d'un rôle dans la régulation de la pompe à sodium. Un tel rôle pourrait être conforté par la découverte d'un mécanisme *in vivo* par lequel le vanadyle serait converti en vanadate dans les tissus.

Remarque: Chez les malades atteints de psychose maniaco-dépressive, il a été proposé qu'un défaut, probablement d'origine génétique, inhibe la production de nouvelle pompe à sodium en réponse à une concentration cellulaire en sodium élevée. De ce fait, les maniaco-dépressifs seraient très sensibles aux facteurs affectant la pompe à sodium et notamment au vanadium. [59]

### 3-1-2 Action sur les autres ATPases

Le vanadium inhibe également d'autres ATPases [59]:

- les  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPases de la membrane plasmique et du réticulum endoplasmique, ce qui perturbe le fonctionnement de la pompe à calcium
- la  $\text{H}^+/\text{K}^+$ -ATPase de la muqueuse gastrique et de l'épithélium colique
- la  $\text{H}^+$ -ATPase fundique
- la myosine-ATPase
- les dynéines-ATPases

### 3-1-3 Action sur l'adényl-cyclase

Le vanadium stimule la synthèse de l'AMP cyclique (AMPC) au niveau des membranes de nombreuses cellules en activant l'adényl-cyclase. Cette activation serait selon Grupp et coll. responsable de l'activité inotrope positive du vanadium. [25]

On a également rapporté que le vanadate augmente le taux d'AMPC et active la protéine kinase AMPC dépendante sur l'hépatocyte isolé. [59] Ce phénomène peut permettre d'expliquer l'effet paradoxal glycogénolytique, non insulino-mimétique du vanadate observé *in vitro* sur l'hépatocyte isolé.

Toutefois, on peut mettre en doute le fait que le vanadium ait un rôle physiologique dans la régulation de l'activité de l'adényl-cyclase car la concentration nécessaire pour affecter l'enzyme est relativement élevée. De plus, comme c'est le cas pour l'ATPase, la régulation de l'adényl-cyclase nécessiterait un mécanisme par lequel le vanadyle serait converti en vanadate *in vivo*.

### **3-1-4 Action sur les protéines kinases**

Plusieurs auteurs ont montré que le vanadate est capable d'augmenter l'activité des protéines kinases avec une spécificité pour les résidus tyrosine. Ainsi, la stimulation de l'activité kinase entraîne une augmentation du contenu en phosphotyrosine sans aucune modification du contenu en phosphosérine.

Parallèlement à la stimulation de l'activité tyrosine kinase, on a observé une inhibition de la phosphotyrosine phosphatase. Le vanadium interviendrait en formant un état de transition analogue du phosphate dans l'intermédiaire phosphoryle-enzyme. Il s'agit ici aussi d'une action sélective puisque des concentrations micromolaires de vanadate inhibent fortement la déphosphorylation des histones contenant de la phosphotyrosine mais n'inhibent pas la déphosphorylation des histones contenant de la phosphosérine ou de la phosphothréonine. [59]

Ces découvertes suggèrent que le vanadium pourrait avoir une fonction cellulaire qui régulerait la phosphorylation des résidus tyrosine.

### **3-1-5 Action sur les autres enzymes**

Le vanadium entraîne l'inhibition de nombreux systèmes enzymatiques dont les ribonucléases, les phosphatases acides et alcalines, les nitrogénases et les nitrates réductases. [102]

## 3-2 Effets sur les différents organes

### 3-2-1 Le coeur

Le vanadium entraîne une augmentation de la force contractile du muscle cardiaque. Cet effet inotrope positif dû au vanadate (ortho- ou méta-) a été attribué par Grupp et coll. [25] à une stimulation de l'adenyl-cyclase.

Testé sur des cellules cardiaques isolées, le vanadate a induit une augmentation de la fréquence. On pense que cette activité est due à une inhibition de la  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase, et à une stimulation insulino-mimétique du transport du potassium. [59]

Ce mécanisme de type antagoniste pourrait être dû à la réduction du vanadate en vanadyle; le vanadate favoriserait l'activité inhibitrice ouabaine-like (inhibition de la  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase), tandis que le vanadyle serait responsable de l'activité stimulatrice insulino-mimétique.

*Remarque:* Chez les diabétiques, le vanadium empêcherait les altérations des performances cardiaques propres à cette pathologie. [33]

### 3-2-2 Le muscle lisse

L'administration intraveineuse de vanadate provoque, chez le rat, une augmentation de la pression artérielle liée à une vasoconstriction.

Une alimentation riche en vanadium ou une perfusion de vanadate induisent une hypertension artérielle, une augmentation de la résistance vasculaire périphérique et une diminution notable des débits sanguins coronariens, rénaux et viscéraux. Les grosses artères (carotides, fémorales) échappent à ce phénomène. [59]

### **3-2-3 L'estomac**

Le vanadate inhibe la  $H^+/K^+$ -ATPase des microsomes de la muqueuse gastrique et réduit la sécrétion acide des glandes gastriques. [59]

### **3-2-4 Le rein**

Le vanadate provoque une vasoconstriction de l'artère rénale chez les animaux testés. Le débit urinaire est augmenté chez le rat après une perfusion de vanadate. Parallèlement, l'excrétion urinaire du sodium croît jusqu'à atteindre la concentration plasmatique, probablement en raison d'une inhibition de la réabsorption sodique. L'effet diurétique du vanadium semble être dû à une vasoconstriction systémique induisant une hypertension transitoire et secondairement une augmentation du flux sanguin rénal. [89]

Cependant, cette activité n'est pas retrouvée avec d'autres espèces animales: chez le chat, la diurèse est diminuée et l'activité du furosémide est inhibée.

## **3-3 Action sur le métabolisme des lipides**

On a observé *in vivo*, chez l'homme et l'animal, une inhibition de la synthèse du cholestérol par le vanadium à des doses élevées. L'inhibition est accompagnée par une diminution des taux de phospholipides et de cholestérol plasmatiques et par une réduction des concentrations de cholestérol aortique. [59] Ceci a pu être observé chez les ouvriers exposés au vanadium.

En fonction de la dose, les études pharmacologiques, toxicologiques ou *in vitro* montrent que le vanadium déprime, augmente ou n'a pas

d'effet sur la biosynthèse ou le métabolisme de divers composés lipidiques.

Le vanadium semble donc avoir une influence sur le métabolisme lipidique, mais davantage d'études sont nécessaires afin de clarifier ce rôle.

### **3-4 Action sur le métabolisme protéique**

Le vanadium ne semble pas affecter, du moins directement, le métabolisme des protéines.

### **3-5 Action sur le métabolisme des glucides**

Les études concernant le vanadium portent surtout sur son action sur le métabolisme glucidique. Globalement, le vanadium est un agent insulino-mimétique.

Ce rôle du vanadium dans le métabolisme du glucose sera étudié en détail dans le chapitre "vanadium et diabète".

### **3-6 Vanadium et stress oxydatif**

Certains auteurs ont montré un effet pro-oxydant du vanadium chez l'animal. On observe une augmentation de la production de TBARS (thiobarbituric acid reactive substance = substances réactives à l'acide thiobarbiturique) dans le foie et le rein corrélée avec la concentration cellulaire en vanadium. [60, 93] Ceci traduirait une augmentation de la lipoperoxydation. Cependant, selon Thompson et McNeill [93] le dosage des TBARS est un mauvais témoin de la lipoperoxydation *in vivo* et donc du stress oxydatif. Ils ont même



montré que le vanadyle administré à des rats diabétiques pouvait avoir des effets antioxydants se traduisant par la prévention partielle du déficit en glutathion réduit induit par le diabète ainsi que la prévention de l'apparition de cataracte.

## **4 - Toxicité du vanadium** [102]

Chez l'homme, les intoxications dues au vanadium sont essentiellement de nature industrielle. En effet, le vanadium est très utilisé en métallurgie (fabrication d'alliages spéciaux en raison de leur élasticité et leur résistance au choc et à l'usure, les supraconducteurs), en photographie (catalyseur, révélateur, sensibilisateur), en teinturerie...

### **4-1 La toxicité aiguë**

Elle peut s'observer après inhalation de poussières lors de fortes expositions professionnelles.

Elle se traduit sous forme d'une broncho-pneumopathie aiguë avec bronchospasme et oedème pulmonaire dans les cas les plus sévères.

Chez l'animal, l'administration de doses létales entraîne la mort par défaillance respiratoire.

### **4-2 La toxicité subaiguë**

C'est la forme la plus fréquemment rencontrée, surtout lors d'inhalation accidentelle de poussières de vanadium.

Elle se traduit tout d'abord par des phénomènes irritatifs au niveau du tractus respiratoire avec éternuements, rhinite, rhinorrhée, congestion nasale, épistaxis, toux sèche ou productive, dyspnée avec râles bronchiques témoignant de l'atteinte des muqueuses rhinopharyngée et trachéo-bronchique. Ces troubles sont réversibles en quelques semaines.

On observe également des irritations cutanéomuqueuses avec conjonctivite, larmoiements, prurit, érythème, urticaire généralisé, lésions eczémateuses; des troubles digestifs avec goût métallique, nausées, vomissements, diarrhée. Une gastro-entérite parfois hémorragique peut survenir avec hypovolémie et chute du sodium, potassium et chlore plasmatiques.

Des signes généraux réversibles peuvent être présents avec asthénie, hyperthermie et céphalées.

### **4-3 La toxicité chronique**

#### **4-3-1 Les effets généraux**

Il apparaît une coloration vert foncé de la langue qui peut être le premier signe d'une exposition excessive, et des gastro-entérites.

#### **4-3-2 Les effets pulmonaires**

Les manifestations pulmonaires sont assez fréquentes surtout lors d'expositions professionnelles.

On peut observer:

- une bronchite chronique
- un asthme
- des affections des voies respiratoires supérieures

- une irritation oculaire

### 4-3-3 Autres effets

- Toxicité rénale:

On peut observer un syndrome du tube contourné proximal avec protéinurie, amino-acidurie et hyperphosphaturie. Ces troubles sont réversibles.

- Effets cardiaques:

Il y a tendance à la bradycardie et une fréquence accrue d'extra-systoles.

- Effets neurologiques:

On observe un syndrome neurasthénique avec vertiges et parfois tremblements.

- Toxicité hépatique:

On peut observer une dysprotéinémie et une dégénérescence graisseuse du foie.

*Remarque:* Aucun effet carcinogène ne semble avoir été rapporté pour le vanadium et ses dérivés. Toutefois, le vanadium est un puissant mitogène de plusieurs types cellulaires en culture. Ses effets sont comparables à ceux produits par les facteurs de croissance. En outre, il modifie l'expression des gènes impliqués dans la promotion des tumeurs et inactive les gènes suppresseurs. [87]

D'une façon générale, la toxicité est grande lorsque le vanadium est administré par voie intraveineuse, lente par voie orale et intermédiaire par voie pulmonaire. Elle varie avec la nature du

composé et augmente lorsque la valence croît: la forme pentavalente du vanadium est 5 à 10 fois plus toxique que la forme tétravalente. [35]

#### 4-4 Traitement de l'intoxication

L'utilisation d'agent chélateurs permet de diminuer la toxicité du vanadium et de ses composés.

L'EDTA et le BAL ont été utilisés chez l'animal avec succès. L'EDTA calcique à la dose de 100 mg/kg procure une protection presque totale contre les effets létaux chez le rat et le chien.

Le mésylate de desferroxiamine et l'acide 4,5-dihydro-1,3-benzodisulfonique ou Tiron ont été expérimenté chez la souris après injection intrapéritonéale de métavanadate de sodium. Le premier augmente l'élimination fécale du vanadium, alors que le second augmente l'élimination urinaire. L'importance de cette élimination diminue si le temps entre l'injection du vanadium et l'administration du chélateur augmente.

Récemment, Domingo et coll. [16] ont montré que l'administration intrapéritonéale de Tiron (300 ou 600 mg/kg) permet de diminuer l'accumulation tissulaire du vanadium et les effets toxiques de celui-ci sans modifier ses effets bénéfiques sur le diabète. L'administration concomitante de Tiron et de métavanadate pourrait être intéressante dans le traitement du diabète.

# VANADIUM ET DIABETE

L'intérêt pour le vanadium porté par les chercheurs en diabétologie date de la démonstration en 1979, par Tolman et ses collaborateurs, que le vanadate mime différents effets de l'insuline *in vitro*. [94]

En 1985, Heyliger et coll. ont démontré une activité antidiabétique du vanadate sur des rats rendus diabétiques insulino-dépendant par injection de streptozotocine (rats STZ-D). [33] L'administration d'orthovanadate de sodium dans l'eau de boisson à la concentration de 0,8 mg/ml permet de contrôler l'hyperglycémie et l'affaiblissement de la fonction cardiaque chez les animaux diabétiques traités, et ce, sans augmentation du taux plasmatique d'insuline.

Depuis, de nombreux chercheurs se sont consacrés à l'étude des effets du vanadium sur l'homéostasie glucidique en vue d'une utilisation éventuelle de cet oligo-élément dans la thérapeutique du diabète.

De nombreux diabétiques contrôlent leur diabète par des injections quotidiennes d'insuline associées ou non à un régime ou à des antidiabétiques oraux. Le remplacement de l'insuline endogène est la méthode la plus simple pour contrôler un diabète, mais l'insuline n'est pas active *per os* et doit donc être injectée, ce qui constitue une contrainte importante pour le patient. Il existe donc un grand intérêt pour les agents insulino-mimétiques actifs par voie orale et en particulier pour le vanadium et ses dérivés.

# **I - Mécanisme d'action du vanadium**

## **1 - Action du vanadium sur le métabolisme des glucides**

Le vanadium possède une activité insulino-mimétique sur le métabolisme du glucose. Les études *in vitro* ont montré qu'il stimule la synthèse du glycogène et la glycolyse et qu'il inhibe la néoglucogénèse dans les hépatocytes. Dans les muscles, le vanadium augmente le transport du glucose, son métabolisme (glycolyse et oxydation), ainsi que la synthèse du glycogène. Dans les adipocytes, il accélère le transport et l'oxydation du glucose et active la glycogène synthétase.

*In vitro*, le vanadium favorise donc une meilleure utilisation du glucose.

### **1-1 Action sur l'hyperglycémie du diabétique**

Les études *in vivo* sur des modèles animaux de diabètes ont confirmé les résultats obtenus *in vitro*. Dans toutes les études, l'administration orale de vanadium à des rats diabétiques entraîne une diminution de l'hyperglycémie avec généralement normalisation du taux de glucose plasmatique. Cet effet se poursuit durant toute la durée du traitement.

Certains auteurs ont montré une variabilité de la réponse au traitement par le vanadium. Ils distinguent d'une part, des rats "bons répondeurs", chez qui ils observent la normalisation de la glycémie, d'autre part, des rats "mauvais répondeurs", qui malgré une diminution de la glycémie restent hyperglycémiques. Il semble que la sévérité du diabète influence la réponse des rats puisque les "mauvais

répondeurs" présentait une hyperglycémie plus importante avant le début du traitement. [10, 92]

Sekar et coll. [12,18] ont montré que l'administration d'orthovanadate de sodium dans l'eau de boisson (0,3 mg/dl) réduit le taux d'hémoglobine A<sub>1</sub> glycosylée traduisant un meilleur équilibre de la glycémie chez des rats STZ-D.

L'effet du vanadium est réversible: lorsque l'on arrête l'administration, l'hyperglycémie réapparaît après un certain délai variant, selon les auteurs, de quelques jours à plusieurs semaines.

Le maintien de la glycémie à des valeurs proches de la normale pendant plusieurs semaines après l'arrêt du traitement vanadique pourrait provenir d'un effet du vanadium sur le pancréas. On a montré que l'arrêt prolongé de l'administration de vanadium peut se traduire, chez les rats STZ-D, par une restauration du taux plasmatique d'insuline qui atteint une valeur similaire à celle des témoins sains. [24, 69] L'étude histologique du pancréas des rats STZ-D traités montre des cellules  $\beta$  morphologiquement normales. Cela suggère que le vanadium ne mime pas seulement certaines des actions tissulaires de l'insuline mais prévient et/ou traite, du moins partiellement, les lésions induites par la streptozotocine. [53] On pourrait penser que l'action insulino-mimétique du vanadium n'est liée qu'à la prévention des effets cytotoxiques de la streptozotocine sur les cellules  $\beta$  pancréatiques. Néanmoins, le vanadyle reste efficace même si on débute le traitement 10 ou 17 jours après l'injection de streptozotocine, c'est à dire une fois que celle-ci a pu agir pleinement. [10] Le vanadium possède donc une activité insulino-mimétique à laquelle pourrait s'ajouter une action sur les cellules  $\beta$  pancréatiques.

L'action hypoglycémisante du vanadium apparaît en l'absence de toute augmentation du taux plasmatique d'insuline, la plupart du temps on observe même une diminution de l'insulinémie. Ceci montre que le vanadium possède une activité insulino-mimétique qui lui est

propre. Il est intéressant de noter que chez les animaux témoins non diabétiques, le vanadium ne modifie pas les valeurs des glycémies. Certains auteurs notent une diminution de l'insulinémie chez les témoins traités, sans modification de la glycémie. [48, 71, 77] Il est possible que ceci soit dû à une augmentation de la sensibilité des tissus à l'insuline comme cela a été suggéré par Pugazhenti et Khandelwal. [66]

## 1-2 Effets sur les enzymes du métabolisme du glucose

### 1-2-1 La glycolyse

#### a) Dans le foie

##### **⇒ Glucokinase**

Le foie est un organe insulino-dépendant. Il a besoin d'insuline pour la phosphorylation du glucose et l'entrée du glucose-6-phosphate dans les voies métaboliques.

Chez les rats diabétiques, les hexokinases (isoenzymes type I et II) sont significativement diminuées et la glucokinase (enzyme de phosphorylation du glucose en glucose-6-phosphate) est pratiquement épuisée. Le traitement par le vanadate permet de normaliser les activités de ces enzymes. [77]

L'augmentation de l'activité glucokinase est due à une augmentation de son ARNm. [51, 80]



### ⇒ *Pyruvate kinase*

La pyruvate kinase catalyse la réaction de transformation du phosphoénolpyruvate en pyruvate ce qui a pour conséquence d'activer la glycolyse.

L'activité L-type pyruvate kinase est connue pour être diminuée chez les rats diabétiques et pour être normalisée sous traitement par l'insuline. L'administration de vanadate permet également de rétablir une activité L-type pyruvate kinase normale.

Le vanadate, tout comme l'insuline, est capable de stimuler l'expression du gène de la pyruvate kinase hépatique mais avec une importance différente. [50] Cette stimulation se fait par un mécanisme d'action indirect car le glucose est indispensable.

Rodriguez-Gil et coll. [72] ont étudié *in vitro* l'effet du vanadate sur des hépatocytes de rats diabétiques isolés. Ils n'ont pas observé de modification de l'activité basale de la pyruvate kinase. Par contre, ils ont montré que le vanadate neutralise l'effet inhibiteur du glucagon sur cette enzyme.

Contrairement à l'insuline, le vanadate augmente le taux basal de pénétration des hexoses dans les hépatocytes.

### ⇒ *6-Phosphofructo-2-kinase*

La 6-phosphofructo-2-kinase ou phosphofructokinase 2 (PFK 2) est une enzyme qui catalyse la réaction fructose-6-phosphate / fructose-2,6-biphosphate.

Le diabète entraîne une diminution de l'activité de cette enzyme dans le foie (elle n'est plus que de 40% de celle des témoins) ainsi qu'une diminution de son ARNm et du contenu en 6-phosphofructo-2-kinase par rapport à la fructose-2,6-biphosphatase.

Le vanadate normalise l'activité phosphofructokinase 2 en 5 à 7 jours alors que l'insuline le fait en 60 heures. Il entraîne une augmentation lente et progressive du contenu en ARNm de la PFK 2

par rapport à la fructose-2,6-biphosphatase. Une valeur normale est atteinte après 15 jours de traitement. Le mécanisme de ce phénomène nécessite également la présence de glucose. [50]

L'action du vanadium se traduit donc par une augmentation du taux de fructose-2,6-biphosphate. Cet intermédiaire de régulation stimule la glycolyse en activant la phosphofructokinase et inhibe la néoglucogénèse en agissant sur la fructose-1,6-biphosphatase.

### ⇒ *Aldolase*

L'aldolase catalyse la transformation du fructose-1,6-biphosphate en deux trioses phosphates : le glycéraldéhyde-3-phosphate et le dihydroacétone phosphate.

Sekar et coll. [80] ont montré que l'activité de l'aldolase est augmentée chez le rat STZ-D. Chez les animaux diabétiques traités par le vanadate, cette activité est ramenée à un niveau proche de la normale.

### *b) Dans le rein*

Contrairement au foie, le rein est un organe non insulino-dépendant qui ne nécessite pas d'insuline pour le transport du glucose. Lors d'une hyperglycémie persistante, le rein va surconsommer du glucose. Il apparaît alors une hypertrophie rénale accompagnée par une augmentation des activités enzymatiques notamment des hexokinases et de la pyruvate kinase.

L'administration de vanadium à des rats rendus diabétiques par l'injection d'alloxane permet de quasiment normaliser les activités enzymatiques élevées dans le rein. [77]

La normalisation de l'hexokinase par le vanadate est d'une importance capitale car l'enzyme régule l'entrée du glucose dans les tissus, la formation de glucose-6-phosphate et également l'entrée du glucose dans les voies métaboliques alternatives. Ces voies métaboliques suractivées lors du diabète pourraient causer une accumulation de glycogène, l'épaississement de la membrane basale rénale, la formation de cataracte...etc. [77]

Les rats diabétiques présentent une hypertrophie rénale associée à une accumulation de sorbitol du fait d'une augmentation de l'activité de l'aldose réductase. Au lieu d'être essentiellement oxydé dans la voie de la glycolyse, le glucose est réduit dans la voie des polyols : l'excès de glucose qui a franchi la membrane cellulaire est réduit en sorbitol sous l'effet de l'aldose réductase; le sorbitol est ensuite réduit en fructose par la sorbitol déshydrogénase. L'accumulation de sorbitol serait responsable de complications dégénératives du diabète.

Le traitement de rats diabétiques par le vanadate prévient l'accumulation de sorbitol au niveau de la médullaire rénale et freine l'augmentation du poids du rein. Il normalise les activités enzymatiques rénales notamment l'aldose réductase. Le vanadium a un effet antidiabétique sur la voie des polyols et permet d'améliorer l'hypertrophie rénale qui apparaît lors du diabète. [10, 43, 78, 93]

*Remarque* : Le sulfate de vanadyle prévient l'apparition de cataracte chez les rats diabétiques traités. [71] Ceci pourrait être lié à une diminution de la voie des polyols au niveau du cristallin.

Le vanadium joue donc un rôle antidiabétique dans le rein, organe non insulino-dépendant. Ce rôle pourrait être décisif dans la prévention de certaines complications liées au diabète. [13, 77]

Il est intéressant de noter que le vanadium entraîne la normalisation des activités enzymatiques glycolytiques dans le foie et

le rein - ces activités étant différemment altérées par le diabète -, et ce, dans des conditions de sécrétion d'insuline très faible.

### **c) Dans le muscle squelettique**

Le vanadium ne semble pas être actif sur les enzymes glycolytiques musculaires.

Cependant, Cros et coll. [13] ont émis l'hypothèse que dans le muscle squelettique, sans avoir un effet direct sur le métabolisme du glucose, le vanadium pourrait augmenter la sensibilité des cellules à l'insuline.

## **1-2-2 La glycogénogénèse et la glycogénolyse**

### **a) Dans le foie**

L'activité glycogène synthétase est défectueuse chez le rat STZ-D. Celle-ci est associée à une activité glycogène phosphorylase augmentée. Il apparaît donc une diminution du taux de glycogène hépatique par déficit de sa synthèse et excès de son catabolisme.

L'administration de vanadium permet d'inverser ce tableau: il y a stimulation de la synthèse du glycogène (par stimulation de la glycogène synthétase) et inhibition de la glycogénolyse (par inhibition de la glycogène phosphorylase) chez les animaux diabétiques traités. [4, 42, 66, 80]

On peut noter que certains auteurs ont observé *in vitro* une stimulation de la glycogène phosphorylase et une inactivation de la glycogène synthétase. [72] Ces résultats posent le problème de la validité des modèles *in vitro*.

Comme on l'a vu plus haut, le vanadium stimule la synthèse de la glucokinase. Dans le foie, la glucokinase oriente le glucose-6-phosphate vers la voie de synthèse du glycogène alors que l'hexokinase démarre la voie de la glycolyse. De part son action sur la glucokinase, le vanadium stimule également la synthèse du glycogène en favorisant l'entrée du glucose dans cette voie.

### ***b) Dans le muscle squelettique***

L'activité de synthèse du glycogène musculaire est très diminuée chez les rats diabétiques.

La phlorizine, un inhibiteur de la réabsorption du glucose au niveau du tubule rénal, permet de corriger l'hyperglycémie mais est dépourvue de propriété insulino-mimétique. De ce fait, elle permet aux chercheurs de distinguer les effets qui résultent de la correction de l'hyperglycémie de ceux provenant d'une action spécifique du vanadium. [12] Conformément à cela, Rosseti et Lauglin ont montré que le vanadate et, pas la phlorizine, augmente *in vivo* la synthèse du glycogène et *in vitro* l'activité glycogène synthétase dans le muscle squelettique. [73, 95]

### ***c) Dans l'adipocyte***

Le vanadate stimule la glycogène synthétase. Il inhiberait également la phosphoglucomutase, responsable de la conversion du glucose-1-phosphate en glucose-6-phosphate, bloquant ainsi la voie de la glycogénolyse.

Le vanadium favorise donc la formation et l'accumulation du glycogène dans l'adipocyte. [11]

### 1-2-3 La néoglucogénèse

Le vanadium a globalement une action inhibitrice sur la néoglucogénèse car il stimule la glycolyse.

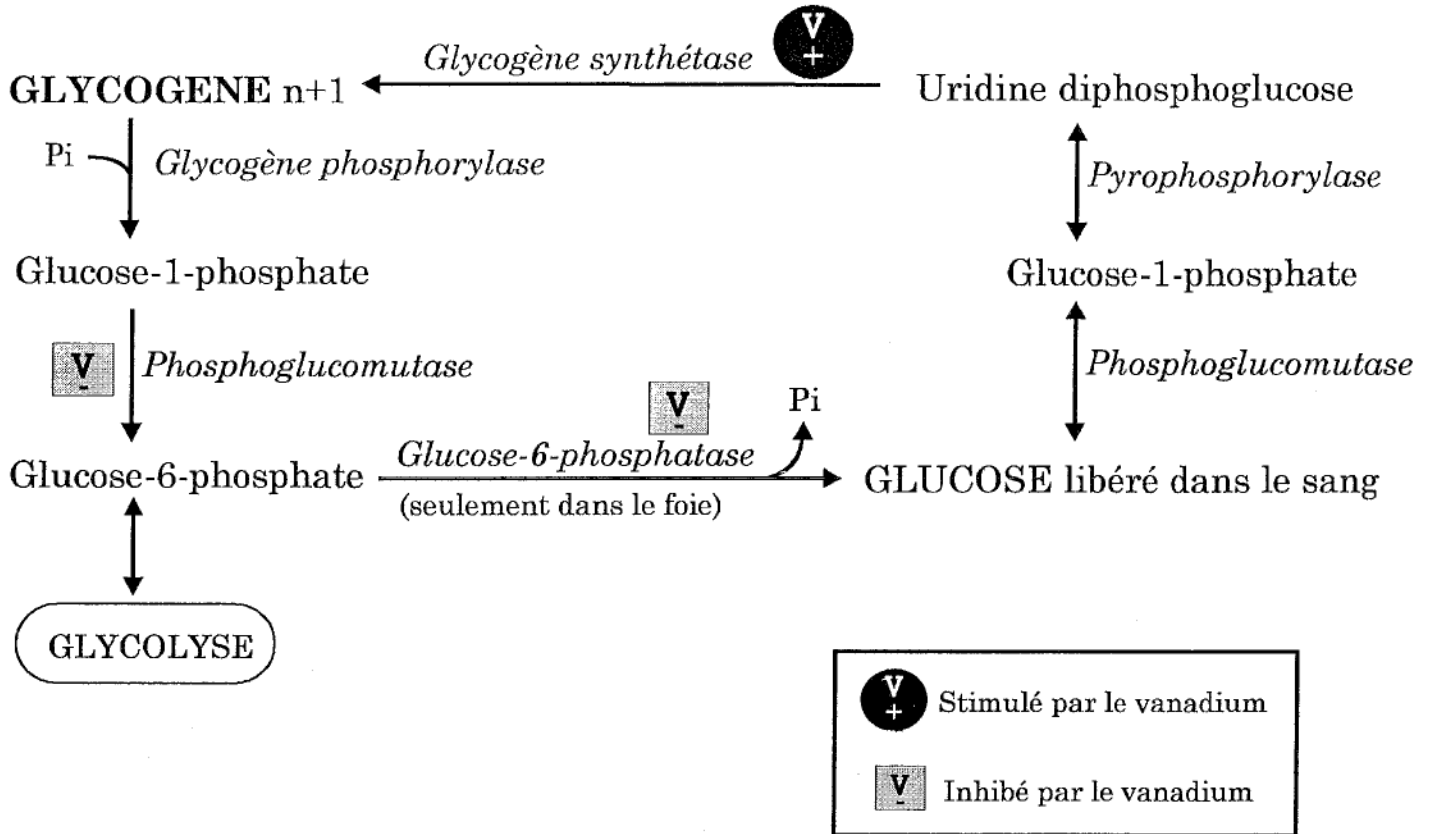
**En résumé**, l'activité du vanadium sur les enzymes du métabolisme glucidique se traduit par une activation de la glycolyse par stimulation de la glycogène synthétase au niveau de l'adipocyte, du muscle squelettique et du foie, et une inhibition de la glycolyse au niveau de l'adipocyte par inhibition de la phosphoglucomutase, et au niveau hépatique par inhibition de la glycogène phosphorylase. Elle se traduit également par une activation de la glycolyse, essentiellement au niveau du foie, par inhibition de la glucose-6-phosphatase, normalisation de l'hexokinase, augmentation du fructose-2,6-biphosphate et stimulation de l'expression du gène de la L-type pyruvate kinase (cf. figures 3 et 4).

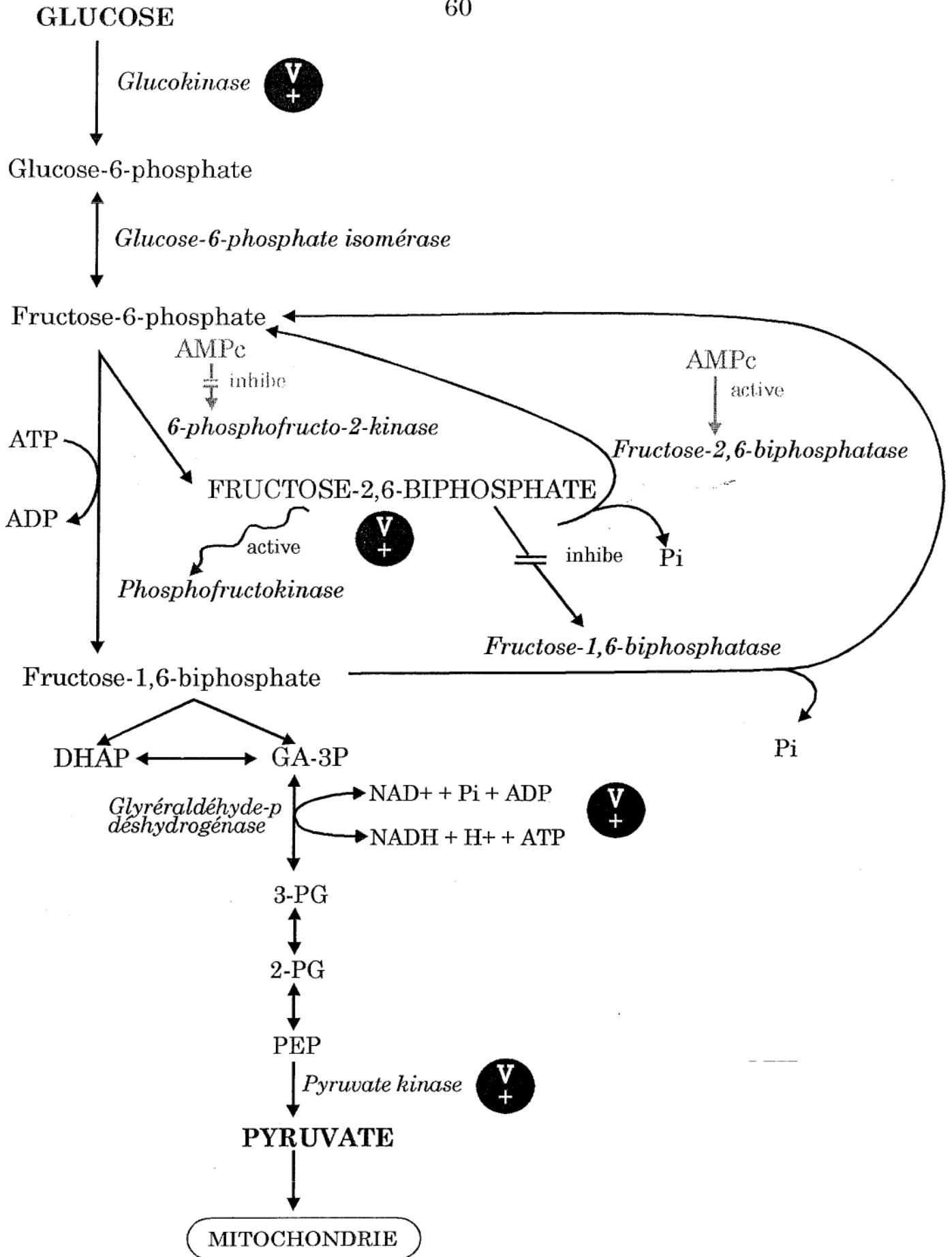
## 2 - Autres actions insulino-mimétiques

### 2-1 Enzyme malique et glucose-6-phosphate déshydrogénase hépatiques

La glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PD) est la première enzyme de la voie des pentoses phosphate aboutissant à la formation de NADPH (Nicotinamide Adénosine Dinucléotide Phosphate réduit) et de ribose à partir du glucose cytoplasmique. La voie des pentoses phosphate et l'enzyme malique sont les seuls voies de formation de NADP réduit, élément indispensable à la biosynthèse des acides gras et du cholestérol.

**Figure 3** Actions du vanadium sur la glycogénogénèse et la glycogénolyse





**Figure 4** Actions du vanadium sur la glycolyse



Chez les rats rendus diabétiques par injection de streptozotocine, les activités de l'enzyme malique et de la glucose-6-phosphate déshydrogénase sont significativement diminuées dans le foie. [77, 67]

L'administration de vanadium permet la normalisation des activités de l'enzyme malique et de la G6PD chez les rats STZ-D, mais n'a pas d'effet chez les rats témoins. Le mécanisme de cette action est encore inconnu.

Le rôle de l'insuline dans l'induction des enzymes hépatiques lipogéniques est bien connu. Pour l'enzyme malique et la G6PD, les concentration en ARNm sont diminuées dans le foie de diabétique et le traitement par l'insuline les ramène à la normale. [67]

Le vanadium exerce donc une action insulino-mimétique sur l'enzyme malique et la glucose-6-phosphate déshydrogénase chez le diabétique. Ceci suggère que le vanadium, tout comme l'insuline, puisse stimuler la lipogénèse à partir du glucose. [77]

## 2-2 L'amylase pancréatique

Thomas et coll. [39] ont étudié l'effet du vanadate sur l'amylase pancréatique. Dans le pancréas de rats diabétiques (rats STZ-D), l'activité de l'amylase et la quantité d'ARNm sont réduites à moins de 1% des valeurs normales observées chez des rats témoins. Des taux normaux d'ARNm peuvent être rétablis par l'administration d'insuline. La réponse à l'insuline est dépendante d'un élément de l'extrémité 5' du gène de l'amylase. L'induction de l'ARNm de l'amylase est un des effets les plus importants de l'insuline sur un ARNm spécifique.

Le traitement des animaux diabétiques par le vanadate restaure l'activité de l'amylase en induisant la synthèse de son ARNm qui atteint alors un taux normal. L'administration de vanadate aux rats témoins ne modifie pas l'activité de l'amylase pancréatique. Le

vanadate est capable de remplacer l'insuline dans la régulation de l'amylase pancréatique. Cet effet est un autre exemple lié au métabolisme du glucose car l'amylase catalyse la première étape de la digestion de l'amidon alimentaire en glucose.

### **2-3 Le transporteur du glucose**

Le diabète est responsable de la diminution de l'expression du transporteur du glucose sensible à l'insuline dans le muscle squelettique (expression réduite d'environ 70% chez les rats STZ-D). [88]

Le traitement par le vanadate ramène l'expression du transporteur du glucose du muscle au même niveau que celui obtenu par la thérapie par l'insuline. L'analyse des taux d'ARNm montre que le vanadate augmente l'ARNm du transporteur de 319%, celui-ci atteint alors un niveau nettement supérieur à la normale (187%). Le traitement par le vanadate des animaux témoins produit une augmentation du taux d'ARNm de même intensité mais ce groupe ne présente pas d'augmentation de l'expression du transporteur.

### **2-4 L'absorption intestinale du glucose**

Chez les rats diabétiques, l'absorption intestinale du glucose est augmentée du fait notamment d'une augmentation du nombre de transporteurs de glucose intestinaux, aggravant l'hyperglycémie.

Madsen et coll. [44] ont montré que le vanadate prévient l'apparition des modifications du transport intestinal du glucose observées chez les rats STZ-D. L'administration orale de vanadate conduit à une diminution de l'absorption du glucose dépendante de  $\text{Na}^+$  dans le jéjunum et l'iléon. Le vanadate agirait directement au

niveau cellulaire. Cet effet du vanadium participe à la réduction de la glycémie.

### **2-5 Absence d'activité anabolisante**

Si le vanadium est capable de mimer de nombreuses actions de l'insuline *in vivo*, essentiellement sur le métabolisme glucidique, il est par contre dépourvu d'activité anabolisante.

Dans toutes les études, l'administration de vanadium à des rats diabétiques n'entraîne pas d'amélioration du déficit pondéral. Certains auteurs ont même décrit une perte de poids à la fois chez les diabétiques et chez les rats témoins traités. [67, 95] Seule une étude montre un effet anabolisant du vanadate mais avec un gain de poids correspondant seulement à 33% de celui d'un rat non diabétique en bonne santé. [81]

Cette absence d'effet anabolisant sera peut-être un des éléments qui limitera l'utilisation du vanadium chez le diabétique.

### **2-6 Métabolisme lipidique**

L'administration de vanadium à des rats STZ-D entraîne la normalisation des taux plasmatiques de triglycérides et de cholestérol. Dans l'adipocyte, le vanadium inhibe la lipolyse et active la lipogénèse. [10, 82]

### **3 - Action du vanadium au niveau de l'activation du récepteur de l'insuline**

Vue la similitude entre les propriétés du vanadium et celles de l'insuline, les chercheurs se sont surtout intéressés à l'action possible du vanadium au travers du récepteur de l'insuline. Deux types de mécanismes ont été mis en évidence, l'un au niveau du récepteur, l'autre à un niveau situé au-delà du récepteur.

#### **3-1 Action au niveau du récepteur de l'insuline**

##### **3-1-1 Effet de "down-régulation"**

L'insuline, en diminuant le nombre de ses récepteurs à la surface des cellules, exerce un effet dit de "down-régulation". L'exposition de lymphocytes humains avec du vanadate entraîne également une diminution, dose-dépendante, du nombre de récepteurs. Cependant, contrairement à l'insuline pour laquelle la down-régulation est associée à la dégradation du récepteur, le vanadium entraîne l'accumulation intracellulaire des récepteurs et inhibe leur dégradation. [87]

##### **3-1-2 Activité tyrosine kinase du récepteur**

L'activité de la kinase du récepteur de l'insuline joue un rôle essentiel dans la plupart des actions intracellulaires de l'insuline. De ce fait, il a été proposé que le vanadium puisse exercer ses effets insulino-mimétiques en agissant sur cette tyrosine kinase de façon directe ou indirecte.

***a) Activation directe de la tyrosine kinase***

Certains auteurs ont montré que le vanadium était capable d'augmenter l'activité tyrosine kinase en augmentant la phosphorylation du récepteur de façon directe. [12, 90]

***b) Action indirecte***

L'activité de la phosphotyrosine phosphatase est augmentée chez le rat diabétique. [2] Plusieurs auteurs pensent que le vanadium augmente l'activité tyrosine kinase du récepteur de l'insuline à travers l'inhibition de la phosphotyrosyle phosphatase, empêchant ainsi la déphosphorylation du récepteur et donc son inactivation. [65, 82]

Néanmoins, bon nombre d'auteurs ont montré une absence de corrélation entre l'activité insulino-mimétique du vanadium et la phosphorylation des sites tyrosine du récepteur. Il semble actuellement, que les chercheurs s'orientent plutôt vers une action du vanadium située au-delà du récepteur insulinique. [3] Cette hypothèse est confortée par l'observation d'effets insulino-mimétiques sur des adipocytes traités par trypsine afin de diminuer la concentration en récepteur insulinique de 95%. [95] De plus, certains n'ont pas observé d'augmentation de l'activité tyrosine kinase malgré un effet insuline-like. [81]

## 3-2 Action au niveau post-récepteur

### 3-2-1 Augmentation du transport du glucose

Shechter [81] suggère qu'il existe une voie alternative, indépendante de l'insuline, capable d'entraîner les mêmes effets que celle-ci, en particulier une augmentation du transport et du métabolisme du glucose.

L'augmentation du transport du glucose est, du moins en partie, liée à un phénomène d'exocytose de transporteurs contenus dans des organelles intracellulaires. Or, les phénomènes d'exocytose nécessitent quatre éléments:

- l'ion  $\text{Ca}^{2+}$
- une protéine de fixation du calcium
- un promoteur de la fusion membranaire (fusogène)
- une modification du pH intravésiculaire par

rapport au pH cytoplasmique.

L'ion  $\text{Ca}^{2+}$  et la protéine de fixation du calcium sont nécessaires à l'agrégation de la vésicule avec la membrane plasmique. Le fusogène facilite la fusion (*ex*: acide gras insaturé *cis*). Une diminution du pH intravésiculaire intervient dans ce processus mais son mécanisme est encore mal connu.

Le vanadium peut intervenir dans ce schéma à différents niveaux :

- il peut augmenter la concentration cytoplasmique en ions  $\text{Ca}^{2+}$ .
- il peut modifier le pH intracellulaire et intravésiculaire.

Un effet possible du vanadium sur le métabolisme du glucose *via* la régulation du pH intracellulaire et intravésiculaire peut être envisagé. Certaines observations sont en accord avec cette hypothèse. La stimulation du métabolisme du glucose par le vanadate est

nettement diminuée dans des adipocytes de rats maintenus dans une solution tampon. L'effet stimulant est retrouvé lors de l'addition d'ions bicarbonates. [81]

### 3-2-2 Interférence avec le système de l'AMP cyclique

L'étude des cibles de phosphorylation sur des adipocytes isolés montre une augmentation de phosphorylation des substrats de la kinase AMPc dépendante chez les animaux diabétiques.

Le traitement par le sulfate de vanadyle induit une diminution des phosphorylations AMPc dépendantes au niveau adipocytaire, suggérant la possibilité d'une interférence du vanadium avec le système de l'AMP cyclique. [70, 71]

Rodriguez et coll. ont montré sur adipocytes isolés de rats diabétiques, que le vanadate est capable de s'opposer aux effets du glucagon sur les activités phosphofruktokinase 2 et pyruvate kinase. Ces effets sont probablement dus à une neutralisation par le vanadate du pic d'AMPc et par conséquent de l'activation de la protéine kinase AMPc dépendante induits par le glucagon. Les résultats obtenus quand on traite les cellules avec de la colforsine (qui active l'adénylcyclase par un mécanisme indépendant d'un récepteur) ou de l'AMPc exogène et du vanadate suggèrent que le vanadium agisse à un niveau situé au-delà de l'adénylcyclase. [72]

Ces mêmes auteurs ont observé un effet glucagono-mimétique du vanadate sur les hépatocytes isolés de rats diabétiques avec inactivation de la glycogène synthétase et activation de la glycogène phosphorylase. Selon eux, le vanadate agit sur le métabolisme glucidique dans l'hépatocyte d'au moins quatre manières différentes:

- Par un mécanisme calcium et AMPc indépendant responsable de l'augmentation du taux de fructose-2,6-biphosphate.

- Par un second mécanisme agissant à un niveau situé au-delà de l'adénylcyclase, capable de contrecarrer les effets du glucagon ainsi que d'autres effets médiés par l'AMPc.

- Par un autre mécanisme calcium indépendant qui provoque des effets contraires à ceux de l'insuline sur l'activité glycogène synthétase. Cette action serait probablement reliée à une activation d'une protéine kinase calcium et AMPc indépendante.

- Par un mécanisme calcium dépendant responsable des effets du vanadate sur l'activité glycogène phosphorylase. [72]

### **3-2-3 Action sur une tyrosine kinase cytosolique différente de celle du récepteur**

La phosphorylation de résidus tyrosyles est un élément essentiel à l'activation de l'entrée du glucose dans la cellule et de son métabolisme.

Shechter et Shisheva [82] ont envisagé l'existence d'une enzyme tyrosine kinase, différente de celle du récepteur insulinique, qui pourrait être impliquée dans les actions insulino-mimétiques du vanadium. Dans le cytosol d'adipocytes, ils ont isolé une enzyme soluble. L'incubation des adipocytes avec du vanadate active significativement cette tyrosine kinase, alors qu'un inhibiteur de cette enzyme empêche l'action sur le métabolisme glucidique du vanadate, mais pas de l'insuline.

Le vanadate pourrait donc agir, du moins en partie, *via* une voie alternative, indépendante de l'insuline, utilisant une protéine soluble à activité tyrosine kinase.



Malgré le nombre d'études consacrées à l'action insulino-mimétique du vanadium, son mode d'action reste encore inconnu. Les différents auteurs obtiennent des résultats qui sont parfois en contradiction. Il semble à l'heure actuelle que l'on est plutôt en faveur d'un mécanisme d'action situé à distance du récepteur de l'insuline. Le fait que le vanadium soit, contrairement à l'insuline, sans activité sur le métabolisme des protides, constitue un argument supplémentaire en faveur d'un site d'action distant du récepteur. Il est également possible que le vanadium agisse par plusieurs mécanismes distincts. Cordera et coll. [12] suggèrent que le mécanisme des actions à long terme du vanadate *in vivo* puisse différer de celui de ses effets à court terme.

Hamel et coll. [28] pensent que le vanadium pourrait être un cofacteur important dans l'action ou la formation du ou des second(s) messenger(s) de l'insuline. Cette hypothèse est confortée par l'observation d'une diminution du contenu en vanadium dans le foie de rats diabétiques. Selon eux, le contenu en vanadium du foie serait directement ou indirectement contrôlé par l'insuline et pourrait être impliqué dans l'action de l'insuline.

Il apparaît évident que des études supplémentaires doivent être entreprises afin de déterminer plus clairement par quel(s) mécanisme(s) le vanadium et ses dérivés sont capables d'exercer des effets insulino-mimétiques favorables chez les diabétiques.

## **II - Les différentes formes d'utilisation du vanadium**

### **1 - Le vanadate**

Les premières études ont pour la plupart étudié le rôle du vanadium administré sous forme de vanadate (degré d'oxydation +5). Il

s'agissait de sels de sodium : l'orthovanadate de sodium ( $\text{Na}_3\text{VO}_4$ ) ou le métavanadate de sodium ( $\text{NaVO}_3$ ).

C'est sous ces formes que l'on a démontré la plupart des propriétés décrites précédemment. Cependant, comme on a pu le voir, la toxicité du vanadium dépend du degré d'oxydation de celui-ci: elle augmente lorsque la valence croît. Le vanadate de sodium entraîne notamment une intolérance digestive (diarrhée) provoquant une déshydratation chez les animaux diabétiques, ce qui nécessite l'addition systématique de chlorure de sodium dans l'eau de boisson. [17]

De plus, sur le plan biochimique, il a été montré que la pénétration intracellulaire du vanadate est associée à sa réduction en vanadyle. Il est probable que la forme active du vanadium soit le vanadyle.

Ces deux arguments d'ordre toxicologique et biochimique ont conduit certains auteurs à étudier les dérivés du vanadyle dans le diabète expérimental. [13]

## 2 - Le vanadyle

Le vanadyle ( $[\text{V}=\text{O}]^{2+}$ ), administré sous forme de sulfate de vanadyle ( $\text{VOSO}_4$ ), permet un contrôle de l'état diabétique avec normalisation de la glycémie, réduction de la consommation hydrique et prévention de la cataracte chez le rat STZ-D.

Le traitement par ce sel semble moins toxique que par le vanadate de sodium, notamment il ne nécessite pas l'adjonction concomitante de chlorure de sodium. [13, 71]

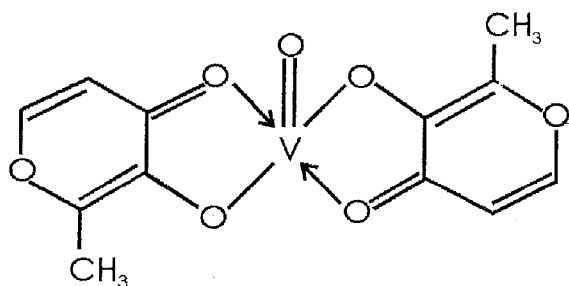
La correction du diabète est concentration dépendante et non dose dépendante. En effet, l'amélioration du diabète entraîne une diminution de la consommation de liquide et donc une diminution de la quantité de principe actif ingéré (le sulfate de vanadyle étant administré dans l'eau de boisson). Les effets antidiabétiques sont

meilleurs avec des concentrations élevées (0,5 à 0,75 mg/ml) alors que la quantité totale de vanadyle est identique pour tous les groupes. [13] Ceci suggère que l'absorption du sulfate de vanadyle augmente quand la concentration dans l'eau de boisson augmente.

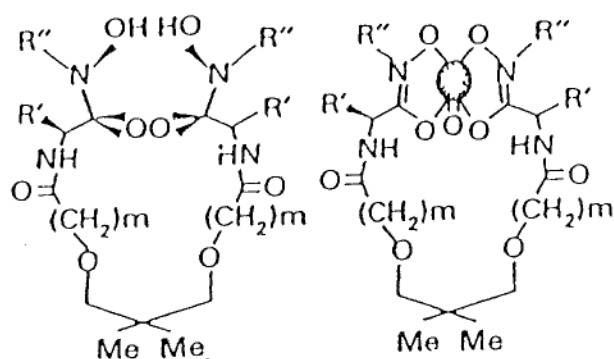
Tout comme le vanadate, le vanadyle corrige un grand nombre d'anomalies associées au diabète à l'exception du déficit de croissance. Il est également faiblement absorbé au niveau digestif.

Pour agir, le vanadyle doit pénétrer à l'intérieur de la cellule. Or il s'agit d'un ion chargé positivement qui franchit difficilement la double couche lipidique membranaire. Pour remédier à cela, certains chercheurs ont imaginé un chélateur du vanadyle qui enferme l'ion hydrophile à l'intérieur d'une structure hydrophobe capable de traverser plus facilement la membrane plasmique. Ce chélateur organique appelé RL-252 augmente de façon spectaculaire l'efficacité du vanadyle (cf. figures 5 et 6). Il agit comme une navette amenant de nombreux ions vanadyle à l'intérieur des cellules. De ce fait, la dose de vanadyle peut être diminuée, minimisant ainsi le risque de toxicité. [82]

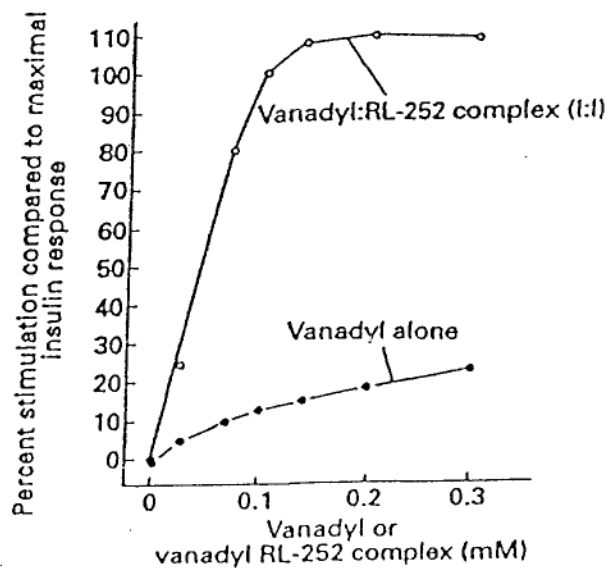
### 3 - Le bis (maltolato) oxovanadium



Le bis (maltolato) oxovanadium est un composé dans lequel le vanadium se trouve à un degré d'oxydation +4. Il résulte d'un essai de

**Figure 5**

Formule schématique du chélateur de vanadyle (RL-252) avant (gauche) et après (droite) fixation de l'ion vanadyle [82].

**Figure 6**

Effet du chélateur de vanadyle (RL-252) sur la stimulation dépendante du vanadyle de l'incorporation du glucose dans les cellules adipeuses [82].

modification de la forme chimique du vanadium afin d'améliorer son absorption digestive.

Son administration à des rats diabétiques entraîne des résultats similaires à ceux obtenus avec le sulfate de vanadyle, sans phénomène toxique apparent. [48, 100, 101] Il prévient notamment la défaillance cardiaque apparaissant chez les rats STZ-D. [101] Une dose de 0,37 mmol/kg est comparable à une dose de 0,6 mmol/kg de sulfate de vanadyle trihydraté. L'efficacité du bis (maltolato) oxovanadium est meilleure d'environ 50% par rapport au sulfate de vanadyle. [48]

## 4 - Le pervanadate

Le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) est un agent insulino-mimétique qui stimule la phosphorylation des résidus tyrosyles du récepteur de l'insuline. Le mélange de peroxyde d'hydrogène et de vanadate possède une activité insulino-mimétique très puissante qui est conservée même si on expose le mélange à la catalase (enzyme qui dégrade le peroxyde d'hydrogène). Ceci suggère que ce soit la formation d'un nouveau composé, un peroxyde de vanadate de formule encore inconnue, qui soit responsable de l'effet du mélange et non la simple action synergique du vanadium et du peroxyde d'hydrogène.

Ce composé appelé pervanadate par Fantus et coll. [19] s'avère être 100 à 1000 fois plus puissant que le vanadate. De plus, contrairement au vanadate, le pervanadate est capable de stimuler la synthèse des protéines.

L'injection intrapéritonéale d'une dose unique de pervanadate correspondant à 700  $\mu g$  de vanadium/kg à des rats STZ-D entraîne une diminution de la glycémie. L'effet commence un quart d'heure après l'injection, atteint son maximum après 3 heures et persiste pendant 24

heures. On observe également un effet hypoglycémiant chez les rats témoins traités.

Le mécanisme d'action du pervanadate diffère de celui des sels de vanadium. Il a un pouvoir inhibiteur puissant sur une phosphotyrosyle phosphatase spécifique, empêchant ainsi la déphosphorylation du récepteur de l'insuline.

Le pervanadate est le premier agent, autre que l'insuline, qui, pour une dose unique très faible, peut restaurer l'homéostasie glucidique. Toutefois, comme l'insuline, il doit être injecté. En effet, si on l'administre dans l'eau de boisson, il s'avère inefficace. [83]

### **III - Vanadium et sensibilité à l'insuline**

#### **1 - Potentialisation entre le vanadium et l'insuline**

L'administration de vanadium à des rats STZ-D entraîne une amélioration de l'hyperglycémie sans augmentation du taux d'insuline plasmatique. De plus, bon nombre d'auteurs ont observé que le taux d'insuline plasmatique des rats témoins traités est significativement diminué par rapport aux rats témoins non traités, sans toutefois modification de la glycémie. Ces résultats suggèrent que le vanadium soit susceptible de remplacer et/ou de potentialiser l'insuline endogène.

L'administration de faibles doses d'insuline (0,25 ou 0,50 U/kg), peu efficaces chez le rat diabétique, induit chez les rats STZ-D traité par des concentrations non efficaces de sulfate de vanadyle (0,25 ou 0,50 mg/ml) un abaissement effectif de la glycémie à des valeurs proches de l'euglycémie et ce, même après un à deux jours d'arrêt du traitement. [70] Ceci suggère que le vanadyle augmente la sensibilité à

l'insuline des tissus périphériques et qu'il rend possible et efficace la réponse à de faibles quantités d'insuline endogène ou exogène.

Pour confirmer ceci, Ramanadham et coll. [70] ont étudié l'effet d'une administration simultanée d'insuline et de sulfate de vanadyle chez des rats STZ-D. Administrés séparément ni le vanadyle à la concentration de 0,50 mg/ml dans l'eau de boisson, ni l'insuline à la dose de 1U/kg/j n'influencent la glycémie. Par contre, l'association des deux traitements réduit significativement l'hyperglycémie et favorise la croissance.

Un résultat comparable est observé chez le rat diabétique de souche BB wistar, totalement insulino-dépendant (modèle comparable au diabète humain de type I). Ceci suggère une possibilité d'utilisation du vanadium dans le diabète de type I.

Il existe donc une potentialisation entre le vanadium et l'insuline pour ce qui est de l'activité hypoglycémiant.

## **2 - Intérêt du vanadium chez les animaux insulino-résistants**

Les souris db/db et ob/ob, génétiquement diabétiques (modèles de diabète non insulino-dépendant), sont caractérisées par une obésité, une hyperglycémie et une insulino-résistance. Le vanadate est efficace chez ces animaux: il entraîne la normalisation de la glycémie et une diminution de l'insulinémie et du poids avec réduction de la consommation de nourriture. Cet effet est considéré comme bénéfique plutôt que toxique car ces souris présentent une hyperphagie. L'effet du vanadate sur l'hyperinsulinémie est probablement dû à une diminution de la sécrétion d'insuline causée par une amélioration de la sensibilité des tissus à l'insuline. [65]

Des études effectuées sur le rat fa/fa, connu pour développer une obésité avec hyperinsulinémie (il présente une insulino-résistance sévère), hyperlipémie et hyperphagie tout en restant normoglycémique [91], montrent que le vanadium diminue l'hyperinsulinémie, la prise de nourriture et la croissance pondérale. [5, 6]

Brichard et coll. [6] ont montré que le vanadate n'a pas ou peu d'effet spécifique sur les principales hormones de régulation de l'insuline (glucagon, corticostérone et adrénaline). De ce fait, d'après les auteurs, les effets bénéfiques de l'oligo-élément chez le rat fa/fa seraient principalement liés à une correction de l'insulino-résistance au niveau des tissus périphériques.

Selon Pugazhenti et coll. [65], la réversibilité partielle de l'insulino-résistance chez les animaux traités pourrait être due à l'effet stimulant du vanadate sur la tyrosine kinase du récepteur de l'insuline.

Toutefois, il n'y a pas de preuve concluante quant à l'augmentation de la sensibilité à l'insuline par le vanadate. [5] Les effets favorables observés chez les animaux insulino-résistants pourraient être dus à la capacité du vanadium à contourner les anomalies cellulaires responsables de l'insulino-résistance. Le vanadium n'augmenterait pas la sensibilité des tissus à l'insuline mais agirait directement sur les tissus par un mécanisme d'action différent de celui de l'insuline. Le vanadium aurait également un effet indirect sur les cellules  $\beta$  pancréatiques en prévenant l'épuisement des réserves en insuline. L'action insulino-mimétique du vanadium diminue le besoin en insuline endogène, les stocks de celle-ci sont alors préservés. De plus, la diminution de la glycémie pourrait atténuer les effets néfastes d'une hyperglycémie prolongée sur la capacité de libération d'insuline des cellules  $\beta$  pancréatiques. [5]



## IV - Conclusion

Par ses différentes propriétés enzymatiques et surtout par son rôle "insulino-mimétique", le vanadium a un intérêt potentiel dans le diabète non insulino-dépendant en permettant d'augmenter les effets de l'insuline. Cependant, il peut avoir un rôle également dans le diabète insulino-dépendant qui, au cours de situations aiguës, peut s'accompagner d'une résistance à l'insuline.

Chez l'homme, à notre connaissance, aucune étude de supplémentation systématique en vanadium n'a été réalisée à ce jour, sans doute par crainte d'effets toxiques. Certains auteurs suggèrent l'utilisation de complexes de sels de vanadium (*ex*: bis (maltolato) oxovanadium) permettant une diminution de la dose utilisée, ce qui nous semble une perspective d'avenir intéressante. De plus la toxicité réelle du vanadium n'est pas encore établie à ce jour. Des études plus approfondies chez l'animal sont donc nécessaires, ce qui permettrait de mieux connaître les critères biologiques du suivi d'un traitement par le vanadium au long cours.

## Deuxième partie

**Intérêts potentiels du sélénium  
dans le traitement du diabète**

# LE SELENIUM : GENERALITES

## 1 - Introduction

Le sélénium a été découvert en 1817 par le chimiste suédois J.J. Berzelius dans les sous-produits de la fabrication de l'acide sulfurique. Son nom lui a été donné en hommage à la lune (du grec selene) par analogie au tellure (du latin tellus, terre).

Son rôle essentiel a été démontré en 1957 par Schwarz et Foltz qui l'utilisèrent pour prévenir chez l'animal diverses maladies de carence d'origine nutritionnelle: la dystrophie musculaire, l'atrophie du pancréas, la nécrose du foie...

En 1973, le rôle du sélénium chez les mammifères a été clairement établi par la mise en évidence de sa présence dans le site actif de l'enzyme glutathion peroxydase.

Enfin, au début des années 80, son essentialité chez l'homme a été prouvée par la prévention avec succès d'une cardiomyopathie endémique fatale appelée maladie de Keshan affectant les enfants et les jeunes femmes en Chine et pratiquement simultanément par le traitement avec le sélénium d'une dystrophie musculaire chez un patient sous alimentation parentérale prolongée. [56, 58]

Actuellement, un grand nombre de travaux porte sur les potentialités de cet élément dans la prévention et le traitement d'affections chroniques et/ou susceptibles de diminuer l'espérance de vie humaine.

## 2 - Propriétés physico-chimiques

Le sélénium (symbole chimique Se) appartient au groupe VIb de la classification périodique des éléments, c'est à dire à la famille de l'oxygène : O, S, Se, Te, Bi. Ses propriétés physico-chimiques sont proches de celles du soufre et du tellure.

Son numéro atomique est 34 et sa masse atomique 78,96.

On le trouve sous différents degrés d'oxydation :

- -2 dans le séléniure d'hydrogène  $H_2Se$
- 0 sélénium cristallisé
- +4 forme la plus stable dans l'acide sélénieux  $H_2SeO_3$  et les sélénites
- +6 dans l'acide séléinique  $H_2SeO_4$  et les séléniates

Le sélénium est présent dans les milieux biologiques sous forme de composés organiques qui sont des analogues des composés sulfurés par remplacement de l'hétéro-atome de soufre par un atome de sélénium.

## 3 - Sources et besoins

### 3-1 Distribution du sélénium [58]

Le sélénium est largement distribué dans la croûte terrestre (0,05 à 0,09  $\mu g/g$ ). Dans le sol, il se trouve généralement sous forme inorganique sauf dans les sols sélinifères où la dégénérescence du matériel végétal riche en sélénium est responsable de la présence de formes organiques et inorganiques solubles.

Certaines sources hydrothermales, comme les eaux de La Roche-Posay en France, contiennent des quantités de sélénium appréciables,

de l'ordre de 50  $\mu\text{g/l}$ . Dans les eaux potables, sa teneur est généralement très faible, inférieure ou égale à 1  $\mu\text{g/l}$ .

Dans l'air, le sélénium est également très peu concentré, avec des teneurs comprises entre 0,1 et 10  $\text{ng/m}^3$ . Cependant, certaines activités industrielles peuvent accroître la dissémination du sélénium, notamment les industries d'extraction, de traitement et de raffinage des matériaux contenant du sélénium (minerais, ciments, pétrole...) et les industries de transformation.

Le sélénium a en effet de nombreuses utilisations industrielles: électricité et électronique (cellules photoélectriques...), production de verre et de céramique (pigments), fabrication de caoutchouc, de plastiques, de pigments, de lubrifiants, de cosmétiques...(additif ou catalyseur). Le sélénium est extrait des sous-produits du raffinage du cuivre.

### **3-2 Les apports alimentaires [57, 58]**

Le sélénium se trouve dans les aliments principalement sous forme organique notamment sous forme d'acides aminés séléniés: sélélocystéine et sélénométhionine (où le sélénium se substitue au soufre). Ce sont donc les aliments riches en protéines qui sont les meilleures sources de sélénium.

L'apport dû aux aliments protéiques d'origine animale (viandes, poissons, oeufs, lait) oscille entre 40 et 80% de l'apport alimentaire total en sélénium dans divers pays, et celui dû aux céréales et aux légumes entre 20 et 50%.

Les protéines végétales, c'est à dire les céréales apportent essentiellement de la sélénométhionine. Parmi les céréales, le blé, l'avoine et les muëslis sont riches en sélénium. Il faut savoir que le raffinage des aliments diminue leur teneur en sélénium. Parmi les légumes et les fruits, les poivrons rouges, l'ail et l'oignon, ainsi que

certains champignons (lépiotes et bolets) en contiennent le plus. Les légumes secs possèdent en moyenne une teneur six fois plus élevée en sélénium que les légumes verts après cuisson.

Les protéines animales apportent plutôt de la sélénocystéine sous forme de glutathion peroxydase. Les viandes les plus riches en sélénium sont le foie, les rognons de veau et le lapin. Les poissons comme la sole et le saumon, ainsi que les fruits de mer comme les moules et les crevettes sont assez riches en sélénium. [74]

Le jaune d'oeuf contient une quantité non négligeable de sélénium. Par contre, le lait, les matières grasses et les boissons en sont pauvres. Le lait de vache et les laits reconstitués ne contiennent qu'environ 70% de la ration contenue dans le lait maternel.

La biodisponibilité du sélénium est variable selon les aliments. Elle est faible pour les produits de la mer (20 à 50%), alors qu'elle est excellente pour les céréales, la levure de bière et la plupart des produits végétaux (80 à 100%).

Il faut noter qu'il existe une grande variabilité dans les apports alimentaires des différents pays. En effet, la teneur en sélénium des aliments est directement liée à la teneur du sol, or, il existe de grandes différences entre diverses régions du globe. On distingue des régions particulièrement dépourvues en sélénium - régions sélénoprives - (Finlande, Danemark, Nouvelle-Zélande, Chine et certains pays européens comme l'Italie) alors que d'autres ont des apports élevés - régions sélénifères - (Etats-Unis, Canada et Japon).

Certains pays sélénoprives ont mis en place des méthodes afin d'améliorer l'apport en sélénium (utilisation d'engrais, applications foliaires...).

### 3-3 Les besoins en sélénium

On ne connaît pas actuellement de façon précise le besoin physiologique en sélénium. Dans les années 80, on l'estimait entre 50 et 200  $\mu\text{g}/\text{jour}$  à partir de données recueillies chez l'animal. En fait, ces limites semblent trop rigides. Le besoin physiologique dépend du poids corporel. Il serait également fonction de l'exposition habituelle du sujet et donc plus faible chez les individus vivant dans les zones sélénoprives. Lorsque l'apport usuel en sélénium est faible, l'organisme tend à conserver le sélénium en diminuant son excrétion urinaire. Le besoin minimal en dessous duquel des symptômes cliniques de carence sévère apparaissent a été évalué entre 15 et 20  $\mu\text{g}/\text{j}$  en Chine et 30  $\mu\text{g}/\text{j}$  en Nouvelle-Zélande. [58]

Pour déterminer le statut en sélénium plusieurs paramètres peuvent être utilisés. *Le dosage du sélénium plasmatique* est un des paramètres les plus utilisés. Il reflète assez bien la prise de sélénium. Les taux usuels varient entre 20 et 30  $\mu\text{g Se/l}$  dans les pays pauvres en sélénium (Chine, Nouvelle-Zélande...) et entre 100 et 200  $\mu\text{g Se/l}$  dans les pays riches en sélénium (Etats-Unis, Canada, Norvège, Japon...). La majorité des Européens ont des taux normaux de l'ordre de 50 à 110  $\mu\text{g Se/l}$ . Des valeurs inférieures à 30  $\mu\text{g Se/l}$  sont généralement associées à des syndromes cliniques de déficit tels que des dystrophies musculaires et des cardiomyopathies. La prise alimentaire de sélénium dans les différentes régions du globe est de 25 à 150  $\mu\text{g Se/j}$ . Pour les pays Européens, elle est de 30 à 60  $\mu\text{g Se/j}$ . [56]

Une autre approche plus récente de l'estimation du statut et des besoins en sélénium semble plus satisfaisante : il s'agit de *la mesure de l'activité glutathion peroxydase (GPx)*. Cette activité enzymatique dépendante du sélénium donne une indication directe du statut en sélénium. Quand la prise de sélénium est basse, l'activité GPx est directement corrélée au statut en sélénium; l'activité atteint la

saturation avec l'augmentation de la prise de sélénium pour des niveaux de sélénium pouvant être considérés comme adéquate pour les fonctions sélénium-dépendantes.

Il a été montré que le taux plasmatique optimal dans certains pays d'Europe est de l'ordre de 110 à 135  $\mu\text{g Se/l}$  alors que les concentrations plasmatiques usuelles dans ces pays ne sont que de 60 à 85  $\mu\text{g Se/l}$ . Ces données montrent que le besoin physiologique en sélénium n'est pas atteint par l'alimentation. Pour résoudre ce problème étant donné que la carence en sélénium peut entraîner de sérieuses conséquences pour la santé, certains pays ont introduit systématiquement des suppléments de sélénium à différents niveaux de la chaîne alimentaire. [56]

## 4 - Métabolisme du sélénium

### 4-1 Absorption [57, 58]

Le sélénium est absorbé principalement au niveau du duodénum et, dans une moindre mesure, de l'iléon antérieur. Les mécanismes de l'absorption ne sont pas totalement élucidés, mais ils dépendent de la forme chimique. Ainsi, les formes organiques telles que la sélénométhionine sont mieux résorbées que les formes inorganiques. La sélénométhionine est transportée de façon active par un mécanisme identique à celui de la méthionine. Le sélénite pourrait réagir dans la lumière intestinale avec la cystéine ou le glutathion et donner des composés de type sélénosulfures (R-S-Se-S-R) qui seraient résorbés après intervention d'un système enzymatique.

Des recherches *in vivo* ont montré que le pool en sélénium de l'organisme dépend de l'apport en acide ascorbique (vitamine C). Un régime pauvre en acide ascorbique entraîne une diminution de la



disponibilité du sélénite de 30%. On pourrait supposer que les groupements thiols réduits (-SH) importants pour l'absorption du sélénium, sont diminués lors d'un déficit en ascorbate. [34]

Il semble que l'activité protectrice du sélénium est supérieure lorsque celui-ci est administré sous des formes naturelles. [58]

## 4-2 Métabolisation et distribution

Le sélénium résorbé est pris en charge par le foie ou par les globules rouges pour subir une réduction conduisant à la formation de sélénopersulfures et de séléniures qui sont des intermédiaires nécessaires à la synthèse des dérivés physiologiquement actifs.

La sélénométhionine alimentaire est incorporée au hasard dans les protéines à la place de la méthionine, tandis que la sélélocystéine est incorporée dans un acide ribonucléique de transfert (ARNt) spécifique.

La glutathion peroxydase est constituée de quatre sous-unités identiques contenant chacune un atome de sélénium sous forme de sélélocystéine. Son incorporation dans l'enzyme est le résultat d'un mécanisme particulier élucidé par Stadman. [86] Un sérinyl-ARNt est d'abord phosphorylé par une kinase spécifique. Puis, le résidu phosphate est échangé soit spontanément, soit de manière enzymatique, avec le séléniure conduisant à la formation d'un sélélocystéinyl-ARNt qui sera spécifiquement incorporé dans un peptide de base aboutissant à la glutathion peroxydase. Il a été mis en évidence chez les bactéries un codon spécifique pour le sélélocystéinyl-ARNt: le codon UGA différent du codon UGU de la cystéine.

Dans le plasma, le sélénium est lié de façon non spécifique à des protéines, principalement les  $\alpha$  et  $\beta$ -globulines et l'albumine. Chez l'homme, on ne connaît pas de protéine porteuse de sélénium spécifique.

Le sélénium est stocké dans différents organes. Le muscle squelettique renferme environ 47% du contenu total en sélénium de l'organisme, il est suivi du foie, des reins, du plasma et des os. Il semble qu'en cas de déficit d'apport alimentaire des mécanismes de régulation orientent préférentiellement le sélénium vers certains organes comme le cerveau, les organes reproducteurs et les glandes endocrines. Ceci signifie que le sélénium a des fonctions vitales dans ces organes.

Le stockage du sélénium dépend également de la forme chimique. Les formes organiques seraient déposées en quantité plus importante dans les tissus, particulièrement le muscle, par rapport aux formes inorganiques.

#### **4-3 Elimination** [57, 58]

Le sélénium est éliminé principalement sous forme de dérivés méthylés provenant de l'activité de méthyltransférases sur le séléniure.

Le diméthylséléniure, composé volatile est éliminé par les poumons, tandis que l'ion triméthylsélénonium, hydrosoluble, est éliminé dans les urines.

L'élimination du sélénium se fait essentiellement par la voie urinaire (environ 60%) sous forme de triméthylsélénonium, sélénite, sélénite...; puis par la voie fécale (environ 35%). L'élimination par la salive, la sueur et l'haleine est minime. Cependant, en cas d'apport excessif l'élimination par la voie pulmonaire augmente et donne à l'haleine une odeur d'ail caractéristique des personnes intoxiquées.

## **5 - Fonctions biochimiques**

### **5-1 La glutathion peroxydase (GPx)**

La glutathion peroxydase est une enzyme formée de quatre sous-unités identiques contenant chacune un atome de sélénium sous forme de sélénocystéine. Elle est localisée dans le cytosol et la matrice mitochondriale des cellules ainsi que dans certains fluides de l'organisme. Son rôle est de réduire le peroxyde d'hydrogène et les hydroperoxydes respectivement en eau et en alcools.

L'activité de la glutathion peroxydase sera étudiée en détail dans le chapitre consacré aux radicaux libres.

### **5-2 Modulation métabolique**

A coté de son activité principale au sein de la glutathion peroxydase, le sélénium joue d'autres rôles biochimiques importants.

Le métabolisme de certains composés exogènes organiques et inorganiques est influencé par le statut en sélénium. En cas de déficit en sélénium, la toxicité de plusieurs xénobiotiques est augmentée, par exemple des médicaments, des insecticides ou des hydrocarbures halogénés qui agissent en produisant des dérivés toxiques de l'oxygène dans l'organisme.

De façon similaire, la supplémentation en sélénium adoucit les effets toxiques des médicaments, des antibiotiques (tétracycline, gentamycine...) et de la plupart des carcinogènes chimiques. Un tel effet pourrait être médié par la GPx ou par une activité plus générale sur les enzymes hépatiques de métabolisation des xénobiotiques en particulier celles renfermant des groupements thiols, ainsi que par un effet régulateur sur le métabolisme du glutathion réduit. [58]

### **5-3 Modulation de la toxicité de certains minéraux**

Le sélénium est très efficace dans la prévention des manifestations toxiques dues à l'exposition aux dérivés du cadmium (Cd), du mercure (Hg), de l'arsenic (As), du plomb (Pb) ou du platine (Pt).

Par exemple, il permet de prévenir les atteintes rénales induites par le platine utilisé dans le traitement du cancer.

Il prévient également les atteintes testiculaires et réduit la mortalité, la tératogénicité, la cardiotoxicité et l'effet hypertenseur du cadmium.

Parmi les mécanismes proposés, on trouve la formation de séléniures biologiquement inactifs (avec Cd, Pb, Pt, Ag, Hg) qui s'accumulent sous forme de granules dans certains organes. Le sélénium pourrait dévier les métaux toxiques de la fixation sur des protéines vitales vers la fixation sur des protéines de moindre importance après formation de sélénotrisulfures actifs (avec Hg, Cd) ou il pourrait agir par interférence métabolique (avec As).

Ces interactions sont observées avec des taux physiologiques de sélénium et peuvent donc être présentées comme un mécanisme physiologique de défense contre certains métaux lourds. [56]

### **5-4 Sélénium et immunité**

Le sélénium est capable de moduler la réponse immune et inflammatoire chez l'animal.

Le chimiotactisme, la migration, l'ingestion et l'activité fongicide des cellules phagocytaires sont dépendants du statut en sélénium. Une carence en sélénium augmente la réaction inflammatoire chez

l'animal, alors que la supplémentation a des effets bénéfiques sur cette réponse.

Le sélénium est impliqué dans la régulation du système immunitaire. Il modifie favorablement les réponses immunitaires humorales et cellulaires. Chez l'animal, la supplémentation entraîne une augmentation significative des immunoglobulines aussi bien dans le cas d'infections que de tumeurs.

L'action du sélénium se fait par l'intermédiaire de la glutathion peroxydase contre les dérivés oxygénés susceptibles d'endommager les microtubules et les microfilaments, la membrane lipidique, les récepteurs et les groupements thiols de la membrane. Il peut également agir en modulant la synthèse des leucotriènes. [58]

## **5-5 Les autres rôles biologiques du sélénium**

### **5-5-1 Métabolisme de l'acide arachidonique** [58]

Le sélénium est impliqué dans le métabolisme de l'acide arachidonique à différents niveaux.

Dans la voie de la cyclo-oxygénase, il régule la balance entre le métabolite proagrégant et vasoconstricteur: thromboxane  $A_2$  et l'antiagrégant et vasodilatateur: prostacycline ( $PGI_2$ ) avec des conséquences importantes pour l'agrégation plaquettaire.

Dans les plaquettes, la conversion du 12HPETE en 12HETE dépend de la glutathion peroxydase et donc directement du statut en sélénium.

Le sélénium a également un effet au niveau de la synthèse des prostaglandines.

### 5-5-2 Sélénium et spermatozoïdes

Des sélénoprotéines kératinoïdes ont été identifiées dans les spermatozoïdes humains. Elles sont nécessaires au maintien de l'intégrité du flagelle. Des cas de stérilité liée à un déficit en sélénium ont été observés. Ce rôle du sélénium pourrait expliquer le fait que le besoin soit plus important pour l'homme que pour la femme. [58]

### 5-5-3 Sélénium et cancers [57,58]

Le sélénium possède des propriétés antiprolifératives vis-à-vis des cellules tumorales. Ces propriétés sont en partie dues à un métabolite inhibiteur de la synthèse protéique : le sélénodiglutathion (G-S-Se-S-G) formé lorsque le sélénium est en quantité importante (doses pharmacologiques).

Le sélénium agit également en potentialisant le système immunitaire, en régulant la division et la différenciation cellulaire, ainsi que par divers mécanismes chimiques faisant intervenir des groupements thiols (glutathion...).

De plus, comme on l'a vu, l'apport de sélénium peut diminuer les effets toxiques de certains protocoles chimiothérapeutiques à base de platine.

## 6 - Les carences en sélénium

### 6-1 La carence vraie [57,58]

Des carences vraies ont été observées chez des habitants de régions séléniprives, chez les sujets malnutris ou encore chez des

sujets soumis à un régime particulier (alimentation parentérale ou entérale non supplémentée).

Un des signes cliniques de carence les plus précoces est la dystrophie musculaire avec douleurs musculaires et sensation de faiblesse dans les jambes. On observe également des anomalies des ongles (ongles blancs, affaiblis), une dépigmentation de la peau et des cheveux et une cardiomyopathie congestive (maladie de Keshan en Chine) d'issue généralement fatale. Ces anomalies, excepté la cardiomyopathie établie, sont réversibles avec l'administration de sélénium à la dose de 100 à 500  $\mu\text{g}/\text{j}$ . On peut prévenir le risque de survenue de carence chez les sujets particulièrement exposés (nutrition parentérale totale...) par une supplémentation avec 50 à 100  $\mu\text{g}$  Se/j. En Chine, la maladie de Keshan est prévenue par l'administration de 150 à 300  $\mu\text{g}$  de sélénium par semaine aux sujets prédisposés.

Sur le plan biochimique, on observe une réduction des indices de statut en sélénium (taux de sélénium, activité GPx), une incapacité de certaines cellules à métaboliser le peroxyde d'hydrogène, une tendance à la macrocytose et à l'hémolyse, et des modifications de l'activité des enzymes reflétant les fonctions hépatiques et musculaires (ASAT, ALAT, CPK).

## **6-2 Les carences marginales [56, 58]**

Les états de déficit marginal en sélénium sont assez fréquents. Un statut faible en sélénium a été observé dans certains désordres neurologiques ainsi que chez les sujets âgés. L'élément pourrait être actif dans la prévention de la défaillance progressive du système immunitaire et de l'accumulation de peroxydes et de radicaux libres lors du vieillissement.

Dans la trisomie 21, maladie caractérisée par un vieillissement prématuré, on observe une augmentation de l'activité GPx afin de lutter contre la production massive de peroxydes par la superoxyde dismutase. Il apparaît alors un déficit en sélénium limitant l'activité peroxydase.

Dans la maladie rhumatismale inflammatoire, un faible taux de sélénium sanguin est significativement corrélé avec le nombre d'articulations atteintes.

Il existe une corrélation entre des taux de sélénium bas et la mortalité cardio-vasculaire. Le taux de sélénium est d'autant plus faible que la sévérité de l'atteinte coronarienne est grande.

D'autres pathologies sont associées à de faibles concentrations plasmatiques en sélénium :

- alcoolisme
- pancréatite chronique
- maladie de Crohn et maladie coeliaque
- sclérose en plaque
- insuffisance rénale
- cancer
- maladies inflammatoires

## **7 - La supplémentation**

La supplémentation avec des doses modérées de sélénium (50 à 100  $\mu\text{g/j}$ ) est bénéfique pour la santé et devrait être recommandée aux sujets exposés à un déficit marginal. [56]

Dans certaines régions particulièrement pauvres en sélénium, la supplémentation est effectuée à grande échelle par l'enrichissement des aliments sous contrôle des autorités gouvernementales.



D'autre part, il existe des spécialités à base de sélénium permettant un apport complémentaire à l'alimentation.

Des doses supérieures, de plusieurs centaines de microgrammes de sélénium, par jour ont montré une activité dans la prévention et le traitement de cancers et d'autres maladies liées aux radicaux libres. Bien que non toxiques pour l'homme, de telles doses ne devraient pas être utilisées pendant une période prolongée sans un contrôle médical et biologique. [56, 58]

## **7-1 Dérivés séléniés utilisés en thérapeutique [57]**

### **7-1-1 Le sélénite de sodium ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ) ou l'acide sélénieux**

Le sélénite de sodium et l'acide sélénieux sont des composés bien résorbés, facilement disponibles pour la synthèse de la glutathion peroxydase. Ils ne s'accumulent pas dans l'organisme.

Les doses employées sont généralement supérieures à 100  $\mu\text{g}$  Se/j.

### **7-1-2 Le sélérate de sodium ( $\text{Na}_2\text{SeO}_4$ )**

Le sélérate de sodium est un dérivé stable ne s'accumulant pas dans l'organisme. S'il est assez utilisé en alimentation animale et comme adjuvant des engrais, on ne dispose que de peu de données en alimentation humaine. Les réponses biologiques obtenues avec ce dérivé montrent qu'il induit rapidement la synthèse de glutathion peroxydase.

### **7-1-3 La DL ou L-sélénométhionine**

La sélénométhionine est plus efficace que les dérivés inorganiques dans l'accroissement des taux sanguins de sélénium après un apport alimentaire, mais son effet sur l'activité GPx est équivalent à celui des formes minérales. Elle est également mieux résorbée et peut être utilisée à des doses moindres (d'environ 50 µg/j).

### **7-1-4 La levure enrichie en sélénium ou sélénolevure**

L'enrichissement du milieu de croissance de la levure de bière (*Saccharomyces cerevisiae*) à l'aide de dérivés séléniés permet d'obtenir un produit fini où le sélénium a été assimilé par la levure et transformé en composés organiques. La forme prédominante de sélénium dans ces micro-organismes est la sélénométhionine (50%), tandis que les formes inorganiques sont en concentration très faible (quelques %). Le reste est constitué de séléno glutathion, séléno diglutathion, séléno cystéine et autres composés organiques non identifiés.

## **7-2 Les spécialités** [18, 96]

### **7-2-1 Spécialités destinées à la voie orale**

(cf. tableau 6)

*Remarques:* ① La spécialité GRANIONS DE SELENIUM<sup>®</sup> (ampoules buvables dosées à 960 mg) semble beaucoup trop dosée et risque d'entraîner des intoxications en cas de prise continue. De plus, aucune durée de traitement ni mise en garde particulière sur le risque

<p><b>CELNIUM®</b> Laboratoire Millot-Solac</p>	Capsules	Sélénolevure apportant <b>50 µg de Se par capsule</b>	<p><i>Adulte:</i> 50 à 200 µg/j (1 à 4 caps/j) <i>Adolescent:</i> 50 à 100 µg/j (1 à 2 caps/j)</p> <p>Ne pas dépasser 200 µg/j (4 caps/j)</p>	Avant les repas
<p><b>BIO-SELENIUM®</b> Laboratoire HERBAXT</p>	Capsules	30 mg de sélénolevure apportant <b>35 µg de Se par capsule</b> associé à 1,80 mg d' $\alpha$ -tocophérol	<p><i>Adulte:</i> 70 à 105 µg/j (2 à 3 caps/j) <i>Enfant:</i> 35 µg/j (1 caps/j)</p> <p>Ne pas dépasser 210 µg/j (6 caps/j)</p>	Capsules à avaler sans croquer avec un peu d'eau avant les repas
<p><b>SELENIUM MICROSOL®</b> Laboratoire HERBAXT</p>	Solution buvable en flacons unidose de 1 ml	Sélénite de sodium correspondant à un apport de <b>40 µg de Se par unidose</b>	<p>40 à 100 µg/j (1 à 3 unidose/j)</p> <p>Ne pas dépasser un mois de traitement</p>	
<p><b>GRANIONS DE SELENIUM®</b> Laboratoire des Granions</p>	Solution buvable en ampoules de 2 ml	<b>960 µg de Se par ampoule</b>	960 µg/j (1 ampoule/j)	Absorber le contenu des ampoules dilué dans un demi verre d'eau en dehors des repas

**Tableau 6** Spécialités à base de sélénium (voie orale) [18, 96]

de toxicité ne figurent sur la notice. Cette spécialité ne devrait être délivrée que sur prescription médicale.

② Il existe d'autres spécialités renfermant du sélénium en association avec d'autres oligo-éléments et/ou des vitamines. Celles-ci ne figurent pas dans le tableau (PLENYL<sup>®</sup>, NONAN<sup>®</sup>).

### 7-2-2 Spécialité injectable

Une seule spécialité injectable renferme uniquement du sélénium: SELENIUM INJECTABLE AGUETTANT<sup>®</sup>. Il s'agit de flacons de 10 ml de solution injectable de sélénite de sodium apportant 100  $\mu\text{g}$  de sélénium élément (10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ). Cette spécialité est réservée à l'usage hospitalier.

## 8 - Toxicité du sélénium [56,58]

Avant la découverte de son caractère essentiel, le sélénium était connu pour ses effets toxiques. La dose létale ( $DL_{50}$ ) pour l'homme est située entre 0,5 et 1 g de sélénium sous forme minérale. La dose journalière la plus basse entraînant des signes de toxicité est d'environ 1000  $\mu\text{g}$  mais pour un apport continu sur une période de deux ans. C'est pourquoi les doses élevées ne doivent être utilisées que sous un contrôle médical. L'automédication dans le domaine des oligo-éléments étant fréquente, le pharmacien devra s'assurer lors de la délivrance de spécialités à base de sélénium que le patient respecte les posologies recommandées et qu'il ne s'expose pas au risque

d'intoxication par la prise de doses trop importantes pendant une période prolongée.

*L'intoxication aiguë* accidentelle ou suicidaire est très rare. Les symptômes de l'intoxication aiguë associent une nécrose hépatique, une cécité, des hémorragies puis la mort par asphyxie due aux lésions pulmonaires.

Les signes de *l'intoxication chronique* au sélénium sont relativement caractéristiques :

- Irritation du cuir chevelu avec des cheveux secs et cassants
- Atteinte des ongles qui deviennent cassants et se couvrent de taches blanches
- Irritation cutanée avec une peau rouge, inflammée et éruptive
- Goût métallique
- Odeur alliagée de l'haleine, de la sueur et des urines due au diméthylsélénide
- Élévation des phosphatases alcalines et des transaminases
- A long terme on peut observer des anomalies du système nerveux conduisant à des convulsions, des troubles moteurs, des paralysies et des douleurs des extrémités
- Augmentation possible du risque d'avortement

Les effets toxiques du sélénium sont importants mais disparaissent en huit à dix jours si le sujet est écarté du risque. Lors d'une intoxication aiguë, le traitement est simplement symptomatique. Les sulfates et la méthionine augmentent l'élimination urinaire du sélénium, par contre, les chélateurs sont

inefficaces. Le traitement de l'intoxication chronique serait la vitamine E et la méthionine.

Même si le sélénium est toxique, il joue un rôle biologique important en tant qu'oligo-élément essentiel. Un apport quotidien modéré (50 à 100  $\mu\text{g}$ ) éventuellement associé à d'autres antioxydants (vitamine E, vitamine C,  $\beta$ -carotènes) permet de réaliser une protection antiradicalaire efficace sans risque de toxicité.

# LES RADICAUX LIBRES OXYGENES

Les cellules produisent en permanence des dérivés oxygénés très actifs qu'elles utilisent dans de nombreux processus physiologiques comme l'oxydation des acides gras et des alcools, la formation de dérivés de l'acide arachidonique... Ces intermédiaires oxygénés interviennent également dans la phagocytose.

Toutefois, lorsque leur concentration intracellulaire n'est pas contrôlée, les radicaux libres oxygénés se révèlent très dangereux pour la cellule et ses constituants essentiels (protéines, lipides, acides nucléiques...)

## 1 - Définition

Les radicaux libres sont caractérisés par une disposition particulière de leurs électrons ou encore par la présence d'électrons supplémentaires, faisant apparaître un électron célibataire sur l'orbitale externe. On apparente aux radicaux libres de l'oxygène les peroxydes.

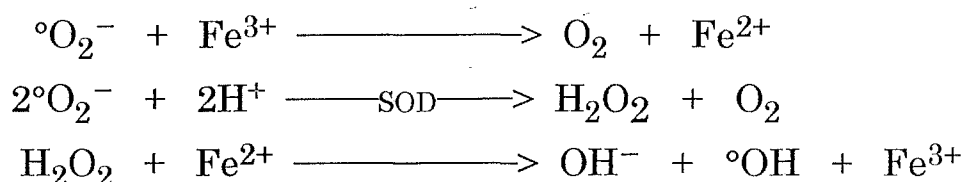
Les radicaux libres oxygénés sont:

- l'anion superoxyde  $^{\circ}\text{O}_2^-$
- le radical hydroxyle  $^{\circ}\text{OH}$
- le peroxyde d'hydrogène  $\text{H}_2\text{O}_2$
- les hydroperoxydes  $\text{ROOH}$



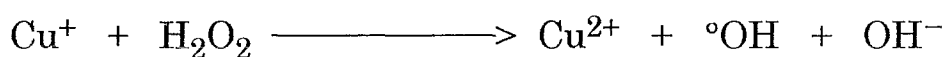
Ce sont des espèces chimiques très réactives, dont la durée de vie est extrêmement courte. [23] Les différentes espèces n'ont pas la même réactivité. L'ion superoxyde et le peroxyde d'hydrogène représentent une première classe peu active, le radical hydroxyle constituant une seconde classe beaucoup plus réactive. Il va agir avec diverses molécules se trouvant dans la cellule (acides aminés, phospholipides, acides nucléiques...). Ces réactions donnent naissance aux radicaux secondaires de réactivité variable. [23]

Les radicaux libres oxygénés peuvent se transformer les uns dans les autres. Ces réactions sont appelées Réaction d'Haber-Weiss:



Ces réactions nécessitent la présence de fer.

Le cuivre (ion cuivreux  $\text{Cu}^+$ ) réagit aussi avec  $\text{H}_2\text{O}_2$  pour former le radical hydroxyle :



Le taux de cuivre est augmenté chez les diabétiques et les sujets âgés favorisant la formation du radical hydroxyle. [36]

D'autres ions métalliques ( $\text{Mn}^{2+}$ ) peuvent jouer le même rôle.

L'effet nocif des radicaux libres n'est pas dû exclusivement à leur réactivité vis à vis molécules biologiques, mais également à leur capacité de diffusion. L'anion superoxyde possédant la réactivité la plus faible, et par conséquent la demi-vie la plus longue, peut pénétrer très loin à l'intérieur de la cellule pour se transformer ensuite en



radical hydroxyle et exercer une action aux endroits où, normalement, la production de radicaux libres est limitée.

## **2 - L'agression radicalaire et ses cibles biologiques**

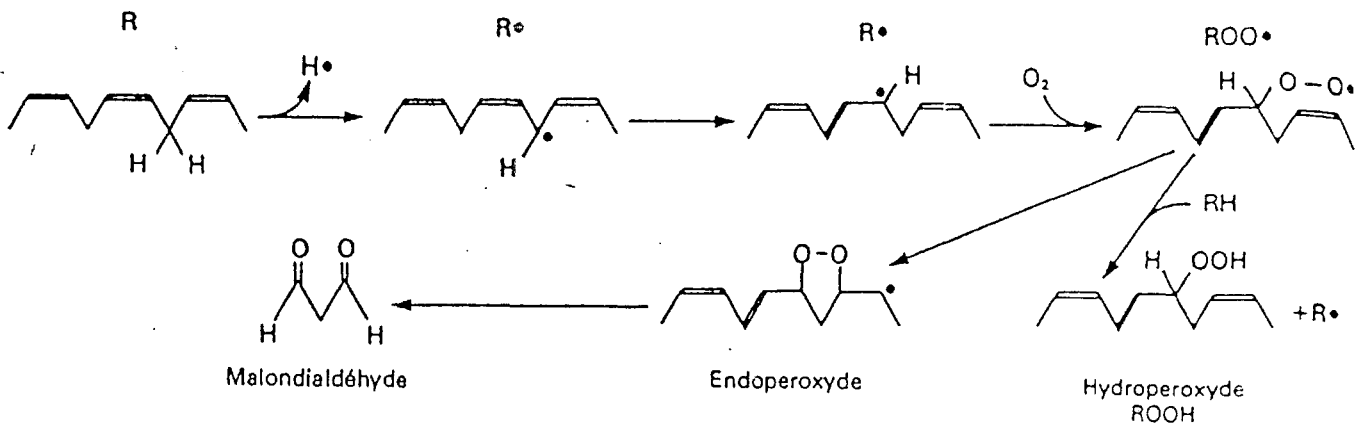
Les radicaux libres entraînent des réactions en chaîne. Ils réagissent avec les molécules biologiques et les transforment en nouveaux radicaux libres, eux-mêmes agressifs envers d'autres molécules.

### **2-1 La lipoperoxydation**

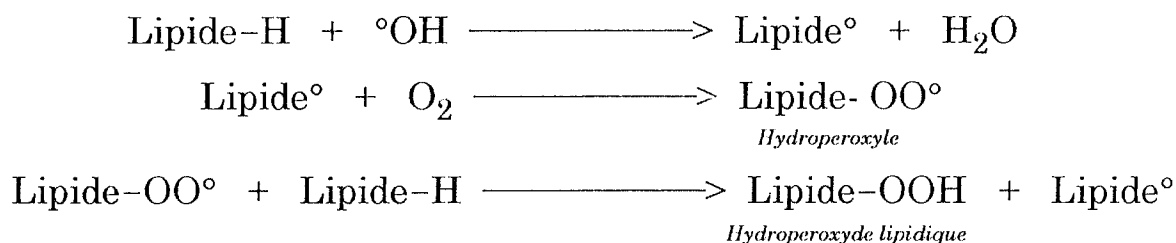
#### **2-1-1 Mécanisme**

L'attaque radicalaire d'un acide gras entraîne l'arrachement d'un atome d'hydrogène. Le radical de carbone formé va, dans un acide gras polyinsaturé, chercher à se stabiliser par des réarrangements moléculaires. Il se forme alors des diènes conjugués qui réagissent rapidement avec l'oxygène moléculaire pour former le radical hydroperoxyle. Ce radical va à son tour extraire un atome d'hydrogène d'une autre molécule lipidique et donner un hydroperoxyde lipidique plus un nouveau radical de carbone. [29]

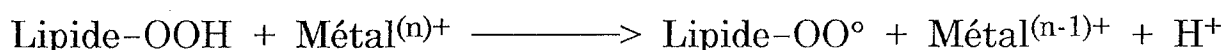
*Remarque:* L'atome d'hydrogène peut provenir du même acide gras aboutissant à la formation d'un endoperoxyde et à la coupure de la longue chaîne carbonée (cf. figure 7).

**Figure 7** Peroxydation des lipides [29]

Le dialdéhyde malonique n'est formé que par les acides gras ayant trois doubles liaisons ou plus et il est utilisé comme une mesure de la peroxydation des lipides, conjointement avec l'éthane provenant des deux carbones terminaux des acides gras de la série  $\omega 3$  et le pentane provenant des cinq carbones terminaux des acides gras de la série  $\omega 6$ .



La décomposition des hydroperoxydes lipidiques est catalysée par les métaux de transition.



L'action des radicaux libres sur les lipides entraîne la fragmentation des chaînes carbonées avec libération de produits aldéhydiques, notamment le malondialdéhyde ( $\text{O}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{O}$  MDA). Le MDA, dosé par réaction colorée avec l'acide thiobarbiturique, permet d'évaluer l'importance de la lipoperoxydation. Cependant, pour que la réaction soit valable, le MDA doit être séparé du milieu complexe par chromatographie liquide à haute pression. [23]

### 2-1-2 Conséquences

La peroxydation des acides gras polyinsaturés entraîne de nombreux désordres du métabolisme lipidique. Les plus importants sont des modifications des membranes biologiques et du métabolisme des lipoprotéines.

#### a) Les membranes biologiques

L'atteinte lipidique des membranes biologiques aboutit à des changements profonds de la bicouche phospholipidique touchant

toutes ses fonctions biologiques et enzymatiques et responsables ultérieurement de la mort cellulaire. [49]

Ces effets sont résumés dans le tableau 7.

### ***b) Les lipoprotéines***

Les lipoprotéines sont constituées d'une partie lipidique pouvant subir une peroxydation et d'une partie apoprotéine pouvant subir une attaque par les radicaux libres ou les dérivés de la lipoperoxydation. [40]

La structure chimique et les propriétés physico-chimiques des LDL (lipoprotéines de faible densité) sont modifiées par l'oxydation. Leur densité et leur mobilité électrophorétique sont augmentées; leur contenu en esters de cholestérol et en acides gras polyinsaturés est diminué et l'hydrolyse des phospholipides induit des lysophospholipides.

L'apoprotéine B peut subir également plusieurs types de transformations (fixation d'aldéhydes, fragmentation, dégradation...).

Les lipoprotéines modifiées ne sont plus reconnues par le récepteur apo B/E, mais sont captées par les macrophages par l'intermédiaire des récepteurs des acétyl-LDL. Le macrophage dégrade rapidement les LDL oxydées et stocke les constituants lipidiques (cholestérol, acides gras) sous forme de vacuoles cytoplasmiques donnant au macrophage l'aspect de cellule spumeuse.

On pense que les LDL oxydées jouent un rôle important dans la formation de la plaque d'athérome. [54]

**Tableau 7** Effets cellulaires de la lipoperoxydation  
des membranes [49]

**MODIFICATION DE LA BICOUCHE PHOSPHOLIPIDIQUE**

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

**MODIFICATION DES MEMBRANES ET DES ORGANITES  
CELLULAIRES**

Inactivation des enzymes membranaires  
 Oxydation des groupements thiols et accroissement de la perméabilité  
 Oedème 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

**CHANGEMENT DANS LE METABOLISME ET LE  
COMPORTEMENT**

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

## 2-2 Radicaux libres et protéines

Les protéines naturelles soumises aux radicaux libres hydroxyles *in vitro* sont dégradées en peptides de masse moléculaire plus faible.

La fragmentation intervient par formation de radicaux peroxyles ( $\text{ROO}^\circ$ ) en présence d'oxygène. Le site de clivage est déterminé par les séquences primaires en acides aminés. Il y aurait coupure spécifique des protéines au niveau des résidus proline qui s'ouvrent et deviennent des radicaux libres d'acide glutamique.

Cette hypothèse est confirmée par le traitement de peptides synthétiques contenant de la proline par le réactif de Fenton ( $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{CuSO}_4$ ): certains résidus de proline sont transformés en acide glutamique. [23]

## 2-3 Radicaux libres et acides nucléiques

L'ion superoxyde peut se transformer en peroxyde d'hydrogène qui subsiste plus longtemps et pénètre dans les cellules en traversant les membranes plasmiques comme l'eau. Dans la cellule, le peroxyde d'hydrogène peut être détruit par la catalase ou par la glutathion peroxydase qui a besoin de glutathion ou de thiols pour agir. Lorsque le glutathion ou les substances réductrices viennent à manquer dans les cellules, le peroxyde d'hydrogène s'accumule. Il est doublement toxique pour les cellules: il abîme la membrane plasmique et il provoque des coupures des brins d'ADN.

La dénaturation des brins d'ADN par les radicaux libres constitue l'un des mécanismes de la sénescence cellulaire si les lésions de l'ADN ne sont pas immédiatement réparées et l'agression radicalaire enrayée. [23]

Les radicaux libres oxygénés ont donc des effets néfastes très variés touchant des structures vitales pour les cellules et entraînant des modifications cellulaires responsables à la longue de pathologies dites peroxydatives ou de la mort des cellules. Cependant, il existe des mécanismes de défense endogène pour limiter ces phénomènes.

### 3 - Moyens naturels de défense contre les radicaux libres et les peroxydes

#### 3-1 Les défenses enzymatiques

##### 3-1-1 La superoxyde dismutase (SOD)

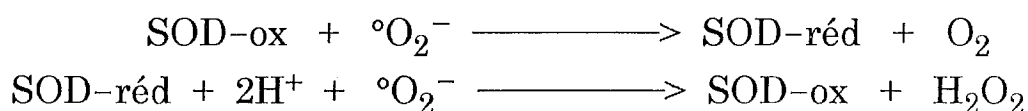
La superoxyde dismutase est un dimère formé de deux sous-unités identiques renfermant chacune des métaux :

- du zinc et du cuivre pour l'enzyme cytosolique (CuZn-SOD)

- du zinc et du manganèse pour l'enzyme mitochondriale (MnZn-SOD)

Il semble que c'est le cuivre (ou le manganèse) qui joue le rôle de catalyseur, le zinc ayant principalement un rôle dans le maintien de la structure de l'enzyme.

La SOD catalyse la dismutation du superoxyde en dioxygène et en peroxyde d'hydrogène par le mécanisme suivant :



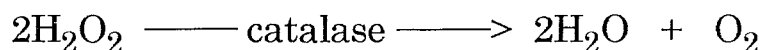
Dans cette réaction, le superoxyde est à la fois un oxydant et un réducteur. [29]

La SOD est une enzyme protectrice car elle détruit le superoxyde. Cependant, comme on l'a déjà vu, le peroxyde d'hydrogène peut, en présence d'ions  $\text{Fe}^{2+}$ , se transformer en radical hydroxyle, beaucoup plus destructeur, selon la réaction d'Haber-Weiss. [23]

Heureusement, il existe des systèmes de défense contre le peroxyde d'hydrogène et les hydroperoxydes.

### **3-1-2 La catalase**

La catalase est une hémoprotéine contenant quatre groupements hème. Elle détruit le peroxyde d'hydrogène selon la réaction suivante:



Dans cette réaction, une molécule de peroxyde d'hydrogène intervient comme un donneur de protons et d'électrons. Cependant, dans certaines situations le taux de  $\text{H}_2\text{O}_2$  est particulièrement réduit et des donneurs d'électrons sont présents (par exemple des alcools), la catalase peut alors se comporter comme une peroxydase.

Dans les cellules, la catalase se trouve dans des microcorpuscules cytoplasmiques, appelés peroxysomes, qui n'existent en quantité importante que dans certains tissus comme le foie. [29]

### **3-1-3 La glutathion peroxydase (GPx)**

La glutathion peroxydase est un tétramère de masse moléculaire voisine de 90 000 Daltons. Les quatre sous-unités sont identiques.



Elles contiennent chacune un atome de sélénium sous forme de sélénocystéine au niveau du site actif.

La GPx est localisée dans le cytosol et la matrice mitochondriale des cellules ainsi que dans certains fluides de l'organisme. [58]

Le rôle de la GPx est de réduire le peroxyde d'hydrogène et les hydroperoxydes organiques présents dans la cellule respectivement en eau ou en alcool selon le cycle biologique présenté dans la figure 8.

C'est la seule enzyme capable de réduire les hydroperoxydes organiques dont les hydroperoxydes lipidiques.

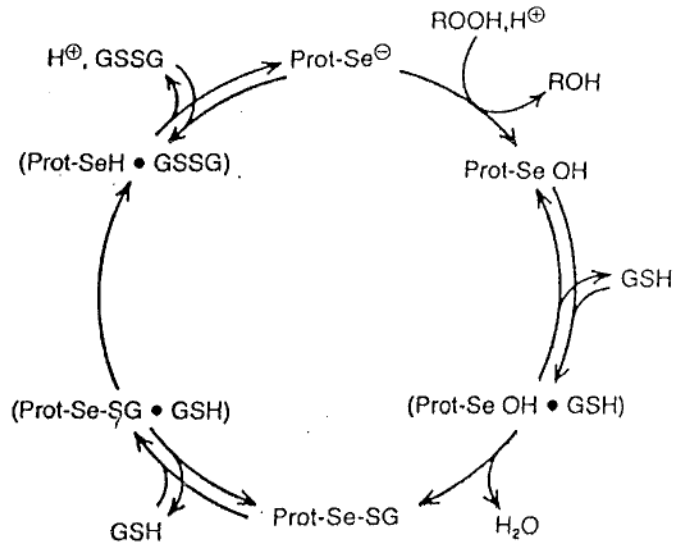
Remarques: La GPx ne peut pas utiliser comme substrats les hydroperoxydes d'acides gras estérifiés en phospholipides. L'action de la phospholipase A<sub>2</sub> est nécessaire pour fournir des hydroperoxydes d'acides gras qui pourront être métabolisés par la GPx.

Il existe cependant, une autre enzyme sélénodépendante de structure monomérique isolée par Ursini et coll. dans le cytosol d'hépatocytes, qui possède une activité glutathion peroxydase. Elle a été désignée phospholipide hydroperoxyde glutathion peroxydase (PLGPx) car elle peut métaboliser les hydroperoxydes d'acides gras estérifiés en phospholipides. [8]

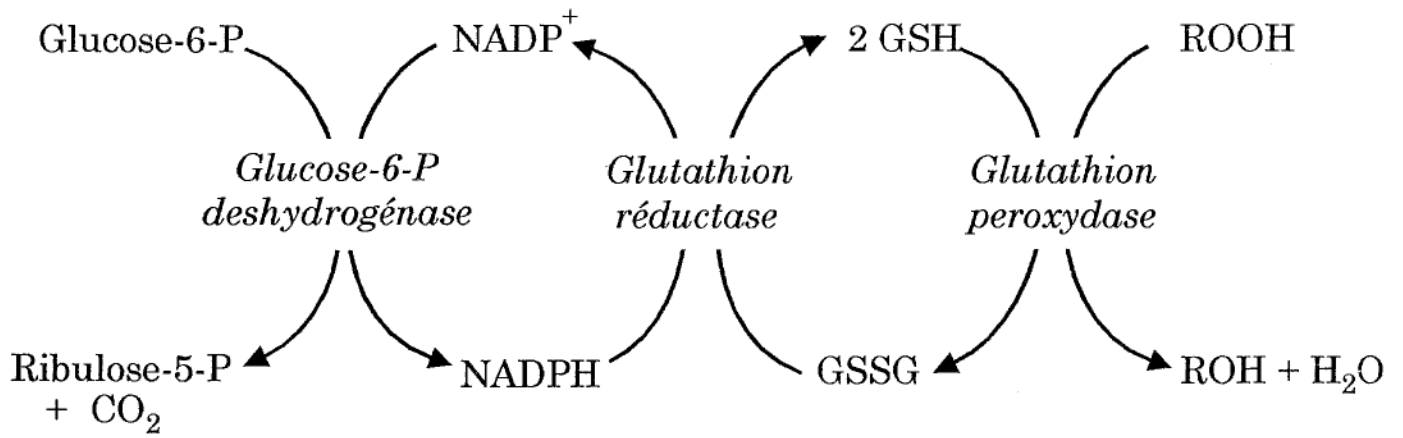
La GPx a besoin d'un cofacteur réducteur: le glutathion réduit. Celui-ci doit être recyclé *via* la glutathion réductase. Cette enzyme utilise le NADPH comme cofacteur réducteur. Le maintien de la fonction réductrice du glutathion implique un apport continu de NADPH *via* la voie des pentoses phosphates (cf. figure 9).

L'activité de la glutathion peroxydase est en général dépendante de l'apport alimentaire en sélénium. Un déficit en sélénium entraîne une chute de l'activité GPx se traduisant par une élévation du taux de dérivés oxygénés actifs.

**Figure 8** Cycle catalytique du sélénium dans la glutathion peroxydase [58]



**Figure 9** Recyclage du glutathion réduit par la voie des pentoses phosphates



L'activité GPx est diminuée dans un certain nombre de situations pathologiques comme l'anémie hémolytique, l'hyperbilirubinémie du nouveau-né, l'artériosclérose, les cancers, les cirrhoses et hépatites alcooliques, le diabète, l'autisme, le paludisme et l'hémochromatose. A l'opposé, la trisomie 21, la thalassémie et certaines pathologies pulmonaires entraînent une élévation de son activité. [58]

### **3-2 Les substances antiradicalaires ou scavengers**

Les scavengers sont des molécules présentes dans les cellules dont le rôle est d'éliminer les radicaux libres.

Du fait de leur localisation endocellulaire, les scavengers sont peu efficaces pour la défense extracellulaire.

#### **3-2-1 La vitamine E**

La vitamine E ou  $\alpha$ -tocophérol est une vitamine liposoluble ayant une activité antioxydante puissante. Sa localisation au niveau de la partie hydrophobe des membranes cellulaires fait qu'elle se situe en première ligne pour lutter contre la peroxydation des phospholipides membranaires.

Elle agit en transférant son atome d'hydrogène phénolique sur un radical peroxyde, la vitamine E devenant alors elle-même radicalaire.



La vitamine E radicalaire, stabilisée par résonance, est très peu réactive, excepté envers d'autres radicaux peroxydes, et permet ainsi de stopper la lipoperoxydation membranaire. [29]

Cependant, même en présence de vitamine E, il y a formation de peroxydes. La glutathion peroxydase fournit une seconde ligne de défense permettant la destruction des hydroperoxydes avant qu'ils causent des dommages à la membrane. Les actions de la vitamine E et du sélénium sont donc complémentaires. [29]

Les métabolismes du sélénium et de la vitamine E semblent étroitement liés. Chez l'animal, la carence en sélénium reproduit la plupart des effets de carence en vitamine E et inversement, les effets de la carence en vitamine E sont en partie compensés par une supplémentation en sélénium. [27]

### **3-2-2 La vitamine C**

La vitamine C ou acide ascorbique est une vitamine hydrosoluble présente en concentration élevée dans la plupart des tissus. *In vivo*, il s'agit d'un inhibiteur puissant de la lipoperoxydation. Ses propriétés antioxydantes lui permettent de piéger aussi bien les ions superoxydes, le radical hydroxyle que divers radicaux peroxydes.

L'acide ascorbique facilite l'action de la SOD, soit comme effecteur agoniste de la SOD, soit en réduisant directement une partie des ions superoxyde.

Les vitamines C et E agissent en synergie. La vitamine C est capable de régénérer la vitamine E en transférant un électron et un proton sur le radical tocophéryle. [97]

### **3-2-3 Le $\beta$ -carotène**

Le  $\beta$ -carotène est un capteur efficace de l'oxygène singulet. Il peut fonctionner comme antioxydant. C'est un précurseur de la vitamine A; cependant, celle-ci ne peut piéger l'oxygène singulet et ne possède qu'une faible capacité d'élimination des radicaux libres. [85]

### **3-2-4 Le glutathion réduit**

Le glutathion est un tripeptide capable de capter les radicaux libres.

La présence de glutathion réduit est indispensable à l'action de la glutathion peroxydase.

## **3-3 Conclusion**

Les actions des enzymes intervenant dans la lutte contre les radicaux libres oxygénés et les peroxydes sont complémentaires. Ces enzymes ont des fonctions spécifiques et des localisations cellulaires différentes. Elles ne peuvent se substituer l'une par l'autre. L'activité de ces enzymes est complétée par celle des scavengers.

La lutte contre les radicaux libres et les peroxydes est indispensable à la survie des cellules. Une des conditions de la production abusive de dérivés oxygénés actifs est la perturbation du fonctionnement de la glutathion peroxydase consécutive à une carence en sélénium. Ceci va se traduire cliniquement par des maladies dites peroxydatives ou maladies dues aux radicaux libres. [58]

## 4 - Evaluation biochimique de l'attaque peroxydative

Au niveau biochimique, l'attaque peroxydative peut être évaluée par un certain nombre de paramètres:

- une élévation de la concentration sérique du malondialdéhyde produit par la dégradation oxydative des acides gras insaturés

- un accroissement de la concentration en hydrocarbures (éthane, pentane, hexane) dans l'air expiré, hydrocarbures libérés par la scission des chaînes d'hydrocarbures lipidiques

- la mesure directe du peroxyde d'hydrogène ou du glutathion réduit

- la présence en quantité accrue de substances fluorescentes solubles dans le chloroforme principalement des pigments du type céroïde et lipofuscine, reflets directs du processus d'auto-oxydation des lipides *in vivo*.

# DIABETE, RADICAUX LIBRES ET SELENIUM

Le diabète est une maladie entraînant un vieillissement prématuré. Les pathologies associées à l'âge comme l'athérosclérose et la cataracte, et les expressions du vieillissement comme l'épaississement des membranes basales et l'altération de la fonction immune sont retrouvées chez les diabétiques à un jeune âge. [46]

Les radicaux libres, en particulier ceux de l'oxygène, sont des espèces très réactives responsables en partie du phénomène de vieillissement (dégradation des protéines, lipoperoxydation, atteinte des membranes cellulaires...) et des complications du diabète.

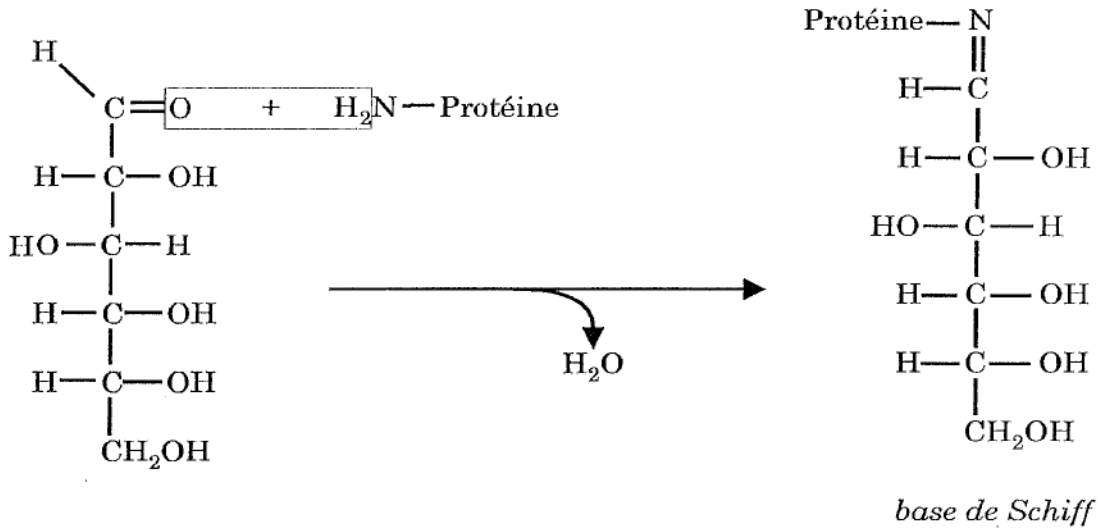
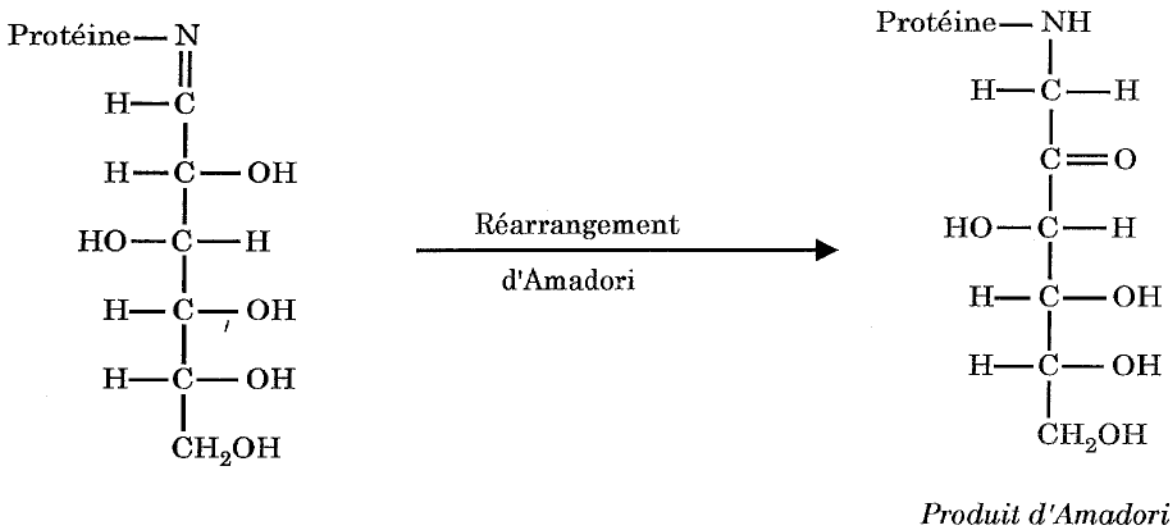
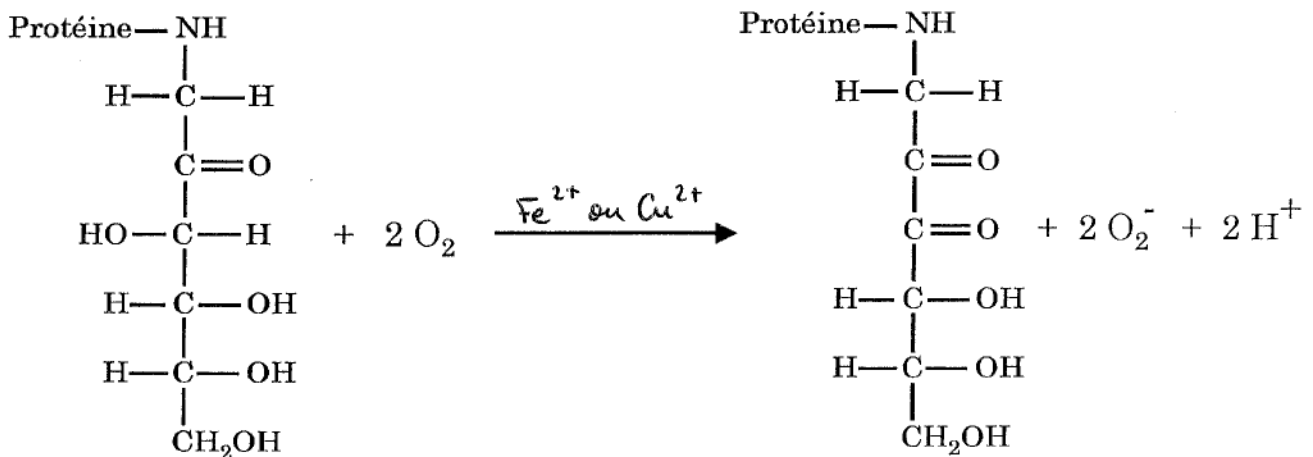
Le sélénium, du fait de son rôle au sein de la glutathion peroxydase pourrait intervenir dans la prévention des complications du diabète.

## 1 - Production de radicaux libres lors du diabète

### 1-1 La glycation non enzymatique (cf. figure 10)

Le glucose peut, par un mécanisme non enzymatique appelé glycation non enzymatique, se fixer sur les protéines et former des protéines glyquées. Ce phénomène est à l'origine de la dénaturation de



**Figure 10** La glycation non enzymatique1 - Réaction de Maillard2 - Réaction d'Amadori3 - Production de superoxyde

la protéine et de la production de radicaux libres oxygénés. Il existe déjà chez l'individu normal mais il est plus intense chez le sujet diabétique car il dépend de la concentration sanguine en glucose.

### **1-1-1 Réaction de Maillard**

Une fonction aldéhyde peut réagir avec une fonction amine primaire pour former un composé d'addition appelé base de Schiff. Ainsi, les oses et en particulier le glucose, peuvent réagir avec une fonction amine des protéines et former une base de Schiff. Cette fonction amine peut être soit l'extrémité N-terminale des chaînes polypeptidiques, soit sur les chaînes latérales de lysine. [46]

Ces réactions sont fréquentes dans les espaces extracellulaires et les tissus conjonctifs parce que le glucose circule librement dans ces espaces et que les protéines de ces régions comme les collagènes, la fibronectine et l'élastine ont des durées de vie relativement longues. [23] L'hémoglobine, avec ses 120 jours de vie dans les cellules directement en contact avec le glucose sanguin, est une des protéines les plus facilement glyquées. Son dosage est utile pour le suivi de la glycémie à long terme.

### **1-1-2 Réaction d'Amadori**

Les bases de Schiff sont instables et peuvent soit s'hydrolyser en restituant les produits de départ, soit se stabiliser par migration interne d'atomes d'hydrogènes dans la réaction d'Amadori. [23]

Le produit d'Amadori formé peut, dans le cas de protéines à durée de vie longue, subir des modifications chimiques complexes et progressives conduisant à des structures réactives appelées produits terminaux de la glycation qui peuvent subsister indéfiniment ou réagir entre eux avec formation de pontages entre les molécules

(liaisons croisées stables). Ces substances appelées produit de Maillard ou AGE (Advanced Glycation Endproduct), du fait de la présence de doubles liaisons conjuguées, acquièrent des propriétés nouvelles: brunissement et fluorescence.

On a observé chez les diabétiques une augmentation de la fluorescence associée au collagène (excitation 370 nm, émission 440 nm) considérée comme résultant de la réaction *in vivo* du glucose avec le collagène. [98]

Le phénomène de glycation non enzymatique des protéines (à distinguer des réactions de glycosylation faisant intervenir des enzymes spécifiques) entraîne des modifications d'activité, notamment une inhibition plus ou moins intense de l'activité enzymatique si la glycation intervient sur des résidus de lysine présents sur le site actif de l'enzyme, des anomalies de structure d'ensembles plurimoléculaires ou encore une résistance à l'action d'enzymes protéolytiques entraînant un allongement de la durée de vie. [23]

Ce phénomène a été évoqué à propos du fibrinogène et de la fibrine pour expliquer certains troubles de la coagulation sanguine du diabétique. [23]

La fixation de radicaux glucidiques sur les protéines introduit des motifs antigéniques nouveaux qui risquent de susciter l'apparition d'anticorps. Ceci a été établi pour les lipoprotéines plasmatiques [7] et pourrait également intervenir au niveau des protéines des membranes basales, en particulier celle du glomérule rénal, avec formation d'anticorps se fixant *in situ* accompagnés par le complément, avec les anomalies qui en découlent habituellement. [23]

Le mécanisme de l'albuminurie chez le diabétique dépend également de la glycation. L'albumine glyquée filtre dans l'urine primitive avec l'albumine non glyquée. Normalement, l'albumine filtrée est réabsorbée par le tubule. Dans le cas de l'albumine glyquée, la présence de groupements glucidiques bloquant les fonctions amines

rend la réabsorption plus difficile et entraîne l'apparition d'une albuminurie. [23]

Quand on incube *in vitro* des LDL (lipoprotéines de faible densité) avec du glucose, elles deviennent faiblement reconnaissables pour les fibroblastes et s'accumulent préférentiellement dans les macrophages. On a suggéré que ceci contribue à l'accumulation dans le plasma des LDL et à l'athérosclérose chez le diabétique. [98]

Le cristallin est également glyqué *in vivo*, ce qui pourrait expliquer en partie le risque élevé de cataracte chez les diabétiques. [98]

### 1-1-3 Formation de radicaux libres

Il a été démontré que les substances organiques contenant un radical cétole (fonction cétole et fonction alcool secondaire portées par deux carbones voisins) sont capables de réagir avec le dioxygène pour former l'anion superoxyde. [52]

La glycation des protéines suivie du réarrangement d'Amadori fait apparaître une fonction cétole qui va réagir avec l'oxygène pour former des radicaux libres oxygénés. Cette réaction nécessite la présence de métaux de transition comme les ions  $Fe^{2+}$  ou  $Cu^{2+}$ .

La glycation non enzymatique des groupes amino réactifs des protéines augmente la production de radicaux libres, *in vitro* au pH physiologique, d'environ cinquante fois par rapport aux protéines non glyquées. Les mesures de résonance paramagnétique ont confirmé la formation de superoxyde. Mullarkey et coll. ont montré que les produits d'Amadori mais également les bases de Schiff génèrent des radicaux libres. Toutefois, la réactivité relative des produits d'Amadori est 1,5 fois meilleure que celle des bases de Schiff. [54]

## 1-2 Auto-oxydation du glucose

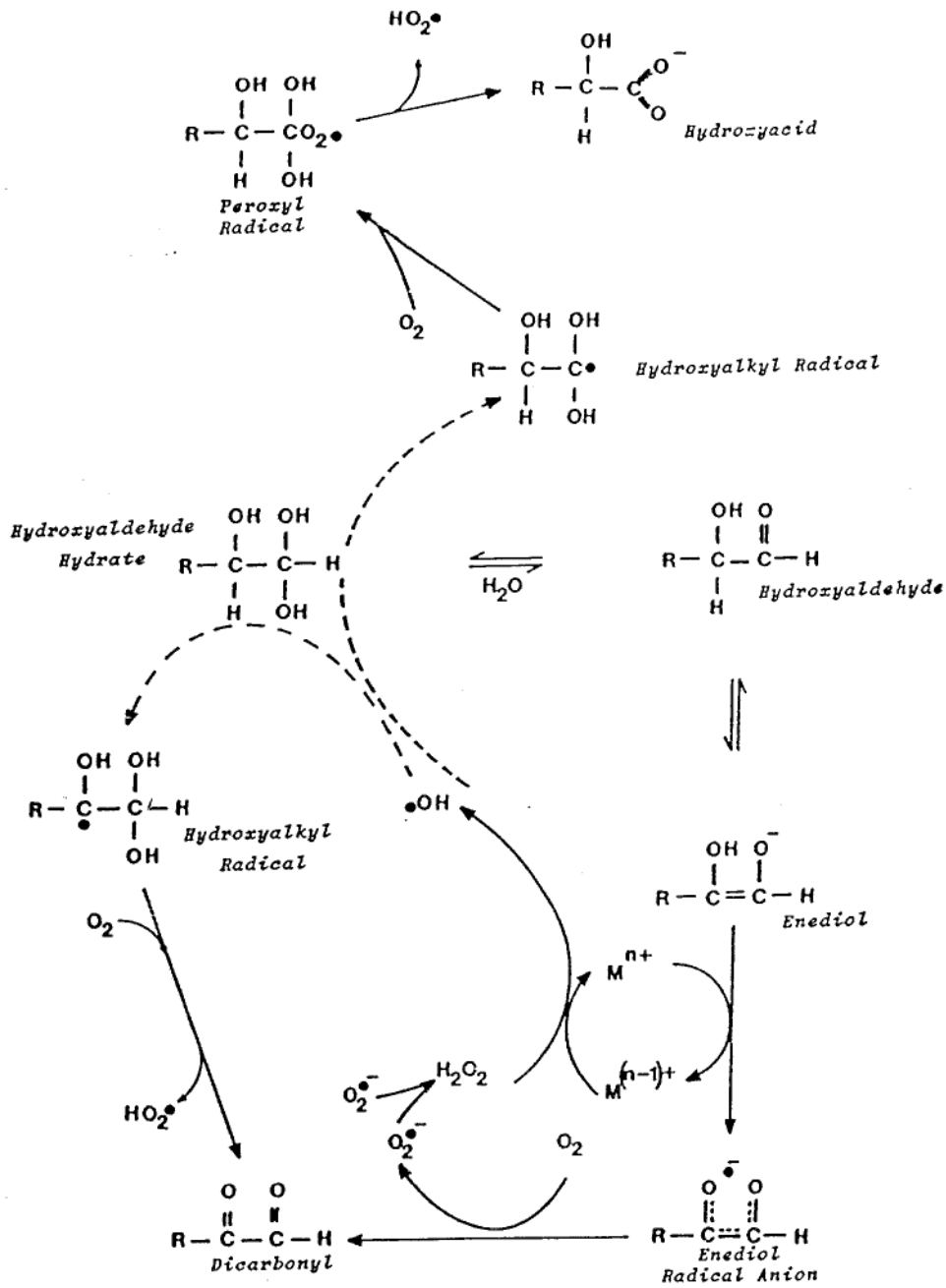
On a longtemps supposé que les altérations protéiques survenaient essentiellement *via* la voie traditionnelle d'Amadori. Toutefois, le glucose est sujet à des oxydations, catalysées par des métaux de transition, générant du peroxyde d'hydrogène, des radicaux hydroxyles et des cétoaldéhydes réactifs sur les protéines (cf. figure 11). [36, 54, 98]

Les radicaux libres et le peroxyde d'hydrogène produits lentement par l'auto-oxydation du glucose seraient une cause importante des lésions apparaissant *in vitro* lorsqu'on expose les protéines au glucose. En effet, la fragmentation protéique est inhibée, *in vitro*, en présence de catalase ou de substances ayant une activité contre le radical hydroxyle comme le sorbitol.

La présence de métaux de transition, comme le cuivre, est indispensable à l'auto-oxydation du glucose. Ce cuivre peut être soit en solution, soit fixé aux protéines. Ceci explique le fait que la fragmentation protéique induite par le glucose soit spécifique d'un site. En effet, l'auto-oxydation apparaît sur des résidus histidine fixant du cuivre, ce qui localise les lésions oxydatives. [36, 98]

On a montré que le taux de cuivre est augmenté chez les sujets âgés et les diabétiques. [36]

Hunt et Wolf [36] ont montré que la liaison du glucose, que ce soit *via* la voie oxydative ou *via* la voie d'Amadori, est toujours accompagnée de l'oxydation de la protéine. La combinaison de ces deux voies pourrait expliquer la grande variété de lésions structurales et fonctionnelles associées à l'exposition des protéines et autres macromolécules au glucose. Cependant, l'accumulation de produits d'Amadori, d'AGE et l'augmentation de la fluorescence ne peuvent pas expliquer de façon adéquate la pathogénèse des complications

**Figure 11** Auto-oxydation des monosaccharides [98]

diabétiques. Toutefois, il y a des preuves suggérant le rôle important du stress oxydatif systémique dans la pathogénèse du diabète.

### **1-3 Conséquences**

Certaines complications du diabète, notamment la microangiopathie et la neuropathie, semblent directement liées à la toxicité du glucose. La gravité des lésions dépend de la durée et de l'intensité de l'hyperglycémie. L'attaque des protéines et la formation de radicaux libres semblent être le point de départ de ces complications.

#### **1-3-1 Augmentation de la lipoperoxydation**

Chez les diabétiques on observe une lipoperoxydation importante comparé au sujet sain. Les concentrations plasmatiques en malondialdéhyde (MDA) et en hydroperoxydes organiques sont élevées. [21, 34]

Le traitement par l'insuline de diabétiques insulino-dépendants en état de coma acido-cétosique entraîne la normalisation de la glycémie, ainsi qu'une diminution significative de la concentration plasmatique en MDA qui était particulièrement importante. On observe également une tendance à la baisse des hydroperoxydes plasmatiques. Ces données suggèrent que la lipoperoxydation soit augmentée durant un état de déséquilibre glycémique avec hyperproduction de corps cétoniques et que le traitement insulinique ait un effet bénéfique sur le stress peroxydatif. [21] Ceci confirme le rôle joué par le glucose dans l'apparition d'un état de stress oxydatif.

On a montré que le stress peroxydatif augmente l'incidence de rétinopathie diabétique et de complications vasculaires de type athérosclérose. [54, 84]

### **1-3-2 Effet des radicaux hydroxyles sur la relaxation dépendante de l'endothélium**

On a montré des anomalies de la relaxation à l'acétylcholine dépendante de l'endothélium dans les vaisseaux sanguins de diabétiques.

L'exposition au système xanthine plus xanthine oxydase générant des radicaux libres, abolit totalement la relaxation à l'acétylcholine de l'aorte de rat diabétique mais pas de témoin. Pieper et coll. [64] ont montré que les radicaux hydroxyles jouent un rôle important dans l'apparition des lésions endothéliales dans l'aorte de rat diabétique.

L'abolition de la relaxation dépendante de l'endothélium chez un patient diabétique pourrait augmenter significativement le risque de développer l'incidence d'un vasospasme et potentiellement l'incidence de la mortalité notamment après une période d'ischémie puisque l'on sait que lors de la reperfusion, des radicaux libres oxygénés sont libérés. [64]

### **1-3-3 Effet des radicaux libres sur la down-régulation des récepteurs insuliniques**

Malorni et coll. [45] ont étudié l'effet d'un agent oxydant, la ménadione, inducteur de radicaux libres sur le phénomène de down-régulation des récepteurs de l'insuline des érythrocytes. Leurs résultats montrent qu'il y a diminution du processus de down-régulation insulino-induit. Cet effet est accompagné d'altérations du



cytosquelette et de l'ultrastructure de la membrane plasmique avec augmentation de la rigidité membranaire. Il est possible que les dommages membranaires induisent une modification de l'homéostasie du calcium.

## **2 - Défenses antiradicalaires lors du diabète**

Chez l'individu sain, les radicaux libres sont rapidement éliminés par les systèmes physiologiques de défense antiradicalaire. Chez le diabétique, non seulement la production de radicaux libres est majorée, mais en plus il semble que ces systèmes de protection sont altérés.

### **2-1 Sélénium et activité glutathion peroxydase**

Holler et coll. [34] ont évalué le statut en sélénium et l'activité GPx de sujets diabétiques avec ou sans rétinopathie comparé à un groupe témoin en bonne santé. Ils n'ont pas observé de différences entre les différents groupes pour les taux sériques de sélénium et l'activité GPx. Par contre, la concentration en sélénium dans les érythrocytes, un indicateur à long terme de la prise de sélénium et de l'activité GPx, est significativement inférieure chez les diabétiques. Le faible taux de sélénium dans les érythrocytes spécialement dans le groupe de diabétiques souffrant de rétinopathie suggère que le système antioxydant puisse jouer un rôle dans le développement de la rétinopathie diabétique.

D'autres auteurs ont également montré une diminution de l'activité GPx érythrocytaire chez les diabétiques. [21, 52] Parallèlement à la diminution du sélénium et de l'activité GPx

érythrocytaire, on observe chez les sujets diabétiques une augmentation significative de la lipoperoxydation. [34]

Hermegildo et coll. ont mesuré l'activité GPx du nerf sciatique chez des souris rendues diabétiques par un traitement à l'alloxane. Ils ont montré une diminution significative de l'activité enzymatique. De plus, la perte d'activité GPx est corrélée avec l'augmentation de la glycémie. [32]

## 2-2 Le glutathion réduit

Lors d'une hyperglycémie, on observe une diversion du métabolisme du glucose. Au lieu d'être essentiellement oxydé dans la voie de la glycolyse, il est réduit dans la voie des polyols: le glucose est réduit en sorbitol sous l'effet de l'aldose réductase, le sorbitol étant ensuite réduit en fructose par la sorbitol déshydrogénase. La voie des polyols consomme du NADPH. Or, le recyclage du glutathion réduit par la glutathion réductase nécessite la présence de NADPH. Une carence en NADPH, consécutive à une augmentation importante de la voie des polyols, est responsable d'un déficit en glutathion réduit. [91]

On peut également observer un déficit en NADPH chez le diabétique insulino-dépendant lors d'un état cétosique. En effet, dans cet état, le shunt des pentoses phosphates, voie principale de formation du NADPH, est bloqué entraînant une diminution du taux de NADPH et par conséquent du glutathion réduit. Ceci pourrait expliquer l'augmentation de la lipoperoxydation lors d'un coma acido-cétosique. [21]

L'activité de la glutathion réductase serait également diminuée chez le diabétique. [60]

Le glutathion réduit étant indispensable à l'action de la GPx, en cas de déficit, on va observer une accumulation de peroxyde d'hydrogène dans les cellules.

### **2-3 La superoxyde dismutase**

Il semble que l'activité de la CuZn-SOD est altérée chez le diabétique. [60, 61] Lorsque l'on expose *in vitro* la SOD au glucose, celle-ci perd son activité du fait de sa glycation. Des doses élevées de SOD glyquée ont été mesurées dans les érythrocytes de sujets diabétiques. [52, 98] Il est donc fort probable que l'activité SOD soit insuffisante chez le diabétique. Cependant, certains auteurs n'ont pas observé de diminution de cette activité chez les diabétiques.

### **2-4 La catalase**

Comme pour les autres systèmes de défense enzymatique, l'activité de la catalase est diminuée chez les diabétiques. [36]

### **2-5 La vitamine C**

Les dosages effectués chez des diabétiques comparés à des témoins en bonne santé montrent des taux sériques d'acide ascorbique significativement inférieurs. [34, 91] Selon Holler et coll. [34], de faibles taux sériques d'acide ascorbique pourraient influencer le statut en sélénium.

### **2-6 La vitamine E**

Le taux de vitamine E est également diminué chez le diabétique entraînant une baisse de la protection contre la peroxydation et donc une "surcharge de travail" pour la glutathion peroxydase. [91, 98]

La supplémentation en vitamine E s'est montrée efficace dans la réduction du stress oxydatif et de la glycation protéique. De plus, Paolisso et coll. [61] ont montré que l'apport quotidien de vitamine E peut augmenter l'action de l'insuline chez des patients diabétiques non insulino-dépendants. La vitamine E pourrait agir chez le diabétique en réduisant le stress oxydatif, limitant la lipoperoxydation et améliorant ainsi les caractéristiques physiques membranaires et les activités de transport du glucose qui en dépendent.

Il apparaît donc que les principales défenses antiradicalaires sont diminuées chez le diabétique. Cette diminution des défenses associée à la production excessive de radicaux libres fait que ceux-ci vont pouvoir exercer leurs effets délétères sur les cellules et les constituants cellulaires entraînant certaines complications du diabète et le vieillissement prématuré des tissus.

### **3 - Sélénium et diabète**

#### **3-1 Arguments en faveur d'une supplémentation en sélénium chez le diabétique**

##### **3-1-1 Statut en sélénium**

Les études ne montrent pas de déficit en sélénium chez les diabétiques. [21, 34] Les valeurs observées se situent à l'intérieur des valeurs de référence. Toutefois, on peut noter que les concentrations sont relativement faibles, de l'ordre de  $70 \pm 20 \mu\text{g/l}$ . [34] On est loin du taux plasmatique optimal estimé à  $110 - 135 \mu\text{g/l}$ . [56] De plus, les taux de sélénium érythrocytaire sont diminués chez les diabétiques.

Ceci pourrait être le reflet d'un léger déficit en sélénium dans certains organes, se traduisant par une diminution de l'activité glutathion peroxydase.

Il apparaît donc que, chez le diabétique, la concentration en sélénium, bien que se situant dans une fourchette de valeurs dites normales, est insuffisante. Si chez l'individu sain de telles valeurs sont suffisantes pour éviter l'apparition de complications (du moins à moyen terme), chez le diabétique qui est soumis à un stress oxydatif important, on peut supposer que le besoin en sélénium devrait être plus élevé pour pouvoir fournir l'activité GPx nécessaire à la réduction du peroxyde d'hydrogène produit en grande quantité.

### **3-1-2 Agrégation plaquettaire**

Lors du diabète, on observe une tendance à l'augmentation de l'agrégation plaquettaire. La synthèse du thromboxane A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>) est augmentée chez le diabétique. Ceci peut provenir d'une stimulation de l'enzyme cyclo-oxygénase (enzyme intervenant dans la synthèse du TXA<sub>2</sub> à partir de l'acide arachidonique) par l'accumulation de peroxydes. Le sélénium, par l'intermédiaire de la GPx, pourrait empêcher l'accumulation des peroxydes. On a aussi montré que la vitamine E est capable de diminuer la synthèse du TXA<sub>2</sub>. [91]

### **3-1-3 Conclusion**

Le principal argument en faveur d'une supplémentation en sélénium du diabétique est l'existence d'un taux plasmatique de sélénium inférieur au taux optimal, associée à une diminution du taux de sélénium et de l'activité GPx érythrocytaire. Or, chez le diabétique, le besoin en activité antiradicalaire et en scavengers est supérieur à

celui de l'individu sain en raison d'une production importante de radicaux libres et de peroxydes. Une supplémentation en sélénium pourrait améliorer l'activité GPx qui n'est apparemment pas à son niveau maximal chez le diabétique.

Kahler et coll. [41] ont confirmé l'intérêt d'une supplémentation en sélénium chez le diabétique. Chez les patients diabétiques recevant 100  $\mu\text{g}$  Se/j pendant trois mois, ils ont observé une diminution significative de la concentration sérique en MDA et des taux d'excrétion urinaire d'albumine. Des effets similaires ont été observés avec d'autres antioxydants comme la vitamine E. Ces résultats prouvent que le stress oxydatif joue un rôle dans la promotion des complications tardives du diabète et qu'une thérapie à base d'antioxydants et notamment de sélénium peut conduire à une diminution de ces complications.

### **3-2 Un déficit en sélénium peut-il favoriser l'apparition d'un diabète?**

Les radicaux libres oxygénés sont considérés comme participant aux tout premiers stades du diabète [52] Ils seraient la principale cause de destruction des cellules  $\beta$  pancréatiques. Néanmoins, l'administration de scavengers ne protège pas contre la destruction des cellules  $\beta$  chez des modèles animaux de diabète de type I. Seul l'ebesen, un composé sélénié doué d'une activité enzymatique GPx-like, fournit une certaine protection qui dépend du taux de glutathion réduit dans les cellules des îlots de Langerhans. [22]

Une étude a été réalisée chez des patients de Madras (Inde) et de Manchester (Angleterre). A Madras, on observe une prévalence plus élevée de pancréatite chronique avec un âge de déclaration plus jeune, une évolution accélérée et une tendance aux calculs pancréatiques et

au diabète. Il a été proposé qu'un déficit en sélénium puisse expliquer ces différences. Cependant, les taux sériques de sélénium sont identiques chez les patients de Madras et de Manchester. Les conclusions de cette étude indiquent qu'il n'y a pas de relation entre le statut en sélénium et le développement de diabète, qu'il soit primaire ou en association avec une pancréatite chronique. [99]

### **3-3 Effets insulino-mimétiques du sélénium**

Des études *in vitro* ont montré que le sélérate de sodium possédait des propriétés insulino-mimétiques. Ceci a conduit McNeill et coll. à tester l'effet d'un traitement par le sélérate de sodium de rats STZ-D. [47]

Le sélérate entraîne une diminution du glucose sérique chez les rats diabétiques. Les animaux diabétiques ont diminué leur consommation de nourriture et de boisson. Le traitement par le sélérate augmente le gain de poids des rats diabétiques. Le sélérate diminue les taux d'insuline chez les témoins traités. Les besoins en insuline semblent donc diminués du fait des effets insuline-like de l'oligo-élément.

Ces résultats sont similaires à ceux obtenus après l'administration de vanadyle à des rats STZ-D. Comme pour le vanadium, le mécanisme d'action insulino-mimétique n'est pas connu. L'effet n'est pas dû à la stimulation du récepteur de l'insuline. Le sélénium, comme le vanadium, pourrait entraîner la translocation du transporteur du glucose d'un compartiment intracellulaire vers la membrane plasmique. [47]

D'autres auteurs ont également montré un effet insulino-mimétique du sélénium administré sous forme de sélénite chez des rats STZ-D. [37]

## **4 - Conclusion**

Si le rôle théorique du sélénium sur l'activité de la glutathion peroxydase est bien documenté, il manque à ce jour des études randomisées permettant de démontrer les effets protecteurs d'une dose nutritionnelle dans la prévention des maladies cardio-vasculaires. Plus spécifiquement, l'étiopathogénèse des maladies cardio-vasculaires du diabétique étant particulière par le rôle du glucose, des études de supplémentation de ces patients sont nécessaires.

L'évaluation des effets ne pouvant se faire qu'après des années de supplémentation, seule une étude au long cours, type SUVIMAX, réalisée chez des patients diabétiques pourrait apporter des réponses significatives quant au rôle du sélénium dans la prévention des maladies dégénératives accompagnant le diabète.



# CONCLUSION GENERALE

En définitive, il est certain que si les grandes règles de nutrition concernant les lipides, les protides et les glucides ont pu améliorer l'équilibre glycémique du diabétique, elles n'ont pas pu résoudre le problème des complications accompagnant le diabète.

Dans l'avenir, il semble donc intéressant de se préoccuper des apports nécessaires en micronutriments chez ces patients, afin d'en adapter l'utilisation aux particularités métaboliques de cette maladie.

Si quelques notions de recommandations nutritionnelles existent pour le sélénium, il n'en est pas de même pour le vanadium, sans doute parce que son caractère essentiel n'a toujours pas été démontré.

# REFERENCES

## BIBLIOGRAPHIQUES

1. Assimacopoulos-Jannet F., Jeanrenaud B., Contrôle du transport du glucose par l'insuline. *Médecine/sciences*, 1989, **5**: 33-41.
2. Begun N., Sussman K.E., Draznin B., Differential effects of diabetes on adipocyte and liver phosphotyrosine and phosphoserine phosphatase activities. *Diabetes*, 1991, **40** (12): 1620-1629.
3. Blondel O., Simon J., Chevalier B., Portha B., Impaired insulin action but normal insulin receptor activity in diabetic rat liver: effect of vanadate. *Am. J. Physiol.*, 1990, **258**: E459-E467.
4. Bollene M., Miralpeix M., Ventura F., Toth B., Bartrons R., Stalmans W., Oral administration of vanadate to streptozotocin diabetic rats restores the glucose-induced activation of liver glycogen synthetase. *Biochem. J.*, 1990, **267**:269-271.
5. Brichard S.M., Bailey C.J., Henquin J.C., Marked improvement of glucose homeostasis in diabetic ob/ob mice given oral vanadate. *Diabetes*, 1990, **39** (11): 1326-1332.
6. Brichard S.M., Ongemba L.N., Kolanowski J., Henquin J.C., The influence of vanadate on insuline counter-regulatory hormones in obese fa/fa rats. *J. Endocrinol.*, 1991, **131** (2): 185-191.
7. Brownlee M., Vlassara M., Cerami A., Nonenzymatic glycosylation products on collagen covalency trap low density lipoprotein. *Diabetes*, 1985, **34**: 938-941.
8. Burk R.F., Protection against free radical injury by selenoenzymes. *Pharmacol. Ther.*, 1990, **45** (3): 383-385.

9. Byrne A.R., Kosta L., Vanadium in foods and human body fluids and tissues. *Sci. Total Environ.*, 1978, **10**: 17-30.
10. Cam M.C., Pederson R.A., Brownsey R.W., McNeill J.H., Long-term effectiveness of oral vanadyl sulphate in streptozotocin-diabetic rats. *Diabetologia*, 1993, **36** (3): 218-224.
11. Carreras M., Bassols A.M., Carreras J., Climent F., Effect of vanadate on the glucose-1,6-biphosphate synthetase activities of phosphoglucomutase. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1988, **264**: 155-159.
12. Cordera R., Andraghetti G., De Fronzo R.A., Rosseti L., Effect of in vivo vanadate treatment on insulin receptor tyrosine kinase activity in partially pancreatectomized diabetic rats. *Endocrinology*, 1990, **126** (4): 2177-2183.
13. Cros G., Mongold J.J., Serrano J.J., Ramanadham S., McNeill J.H., Effects of vanadyl derivatives on animal models of diabetes. *Mol. Cell. Biochem.*, 1992, **109** (2): 163-166.
14. Diabetes mellitus. Report of WHO study. Technical report series n°727. Geneva: World Health Organisation, 1985. Arnette diffuseur.
15. Domingo J.L., Gomez M., Llobet J.M., Corbella J., Keen C.L., Improvement of glucose homeostasis by oral vanadyl or vanadate treatment in diabetic rats is accompanied by negative side effects. *Pharmacol. Toxicol.*, 1991, **68** (4): 249-253.
16. Domingo J.L., Gomez M., Sanchez D.J., Llobet J.M., Keen C.L., Tiron administration minimizes the toxicity of vanadate but not its insulin mimetics properties in diabetics rats. *Life Sci.*, 1992, **50** (18): 1311-1317.
17. Domingo J.L., Llobet J.M., Corbella J., Toxic effects of vanadium in streptozotocin-treated rats after administration of vanadate to normalize blood glucose levels. *Diabetologia*, 1990, **33** (1): 62-63.
18. Dorosz P., Guide pratique des médicaments. 1994 - Editions Maloine

19. Fantus G., Deragon G., Posner B.I., Effet insulino-mimétique du vanadate et du pervanadate: potentiel thérapeutique dans le diabète sucré. *Médecine/sciences*, 1991, 7:255-258.
20. Faure P., Corticelli P., Richard M.J., Arnaud I., Coudray C., Halimi S., Favier A., Roussel A.M., Lipid peroxidation and trace element status in diabetic ketotic patients: influence of insulin therapy. *Clin. Chem.*, 1993, 39 (5): 789-793.
21. Faure P., Roussel A.M., Halimi S., Favier A., Zinc status and lipid peroxydation in IDDM with or without retinopathy: response to an oral zinc supplementation. *In Trace Elements in Man and Animals*. 1993 - Editions Anke, Meissner, Mills.
22. Flechner I., Maruta K., Burkart V., Kawai K., Kolb H., Kiesel U., Effects of radical scavengers on the development of experimental diabetes. *Diabetes Res.*, 1990, 13 (2): 67-73.
23. Gillery P., Monboisse J.C., Maquart F.X., Borel J.P., Mécanismes de vieillissement des protéines. *Diabète Métab.*, 1991, 17 (1): 1-16.
24. Grimaldi A., Sachon C., Bosquet F., Les diabètes: comprendre pour traiter. 1993 - Editions médicales internationales.
25. Grupp G., Grupp I., Johnson C.L., Effect of vanadate on cardiac contraction and adenylate cyclase. *Biochem. Biophys. Commun.*, 1979, 88: 440-447.
26. Guerre-Millo M., Haimault I., Lavau, Données récentes sur la régulation du transport et des transporteurs du glucose dans les tissus insulino-sensibles. *Diabète et métabolisme*, 1989, 15: 211-223.
27. Guillard J.C., Lequeu B., Les vitamines, du nutriment au médicament. 1992 - Editions médicales internationales.
28. Hamel F.G., Solomon S.S., Jespersen A.S., Blotcky A., Rack E., Duckworth W.C., Alteration of tissue vanadium content in diabetes. *Metabolism.*, 1993, 42 (12): 1503-1505.

29. HARPER, Précis de biochimie., Granner D.K., Mayes P.A., Murray R.K., Rodwell V.W., 1989 - Editions ESKA.
30. Harris W.R., Friedman S.B., Silberman D., Behavior of vanadate and vanadyl ion in canine blood. *Journal of inorganic Biochemistry*, 1984, **20**: 157-169.
31. Henquin J.C., Brichard S.M., Place du vanadium dans le traitement du diabète. Données expérimentales et applications cliniques. *Presse Méd.*, 1992, **21** (24): 1100-1101.
32. Hermenegildo C., Raya A., Roma J., Romero F.J., Decreased glutathione peroxydase activity in sciatic nerve of alloxan-induced diabetic mice and its correlation with blood glucose levels. *Neurochem. Res.*, 1993, **18** (8): 893-896.
33. Heyliger C.E., Tahiliani A.G., McNeill J.H., Effect of vanadate on elevated blood glucose and depressed cardiac performance of diabetic rats. *Science*, 1985, **227**: 1474-1477.
34. Holler C., Ulberth F., Osterode W., Irsigler K., Selenium-status and serum levels of the antioxydant vitamins *all-trans* retinol, ascorbic acid and alpha-tocopherol in diabetic patients with and without retinopathy. *Bioavailability*, 1993: 235-238.
35. Hudson T.G.F., Vanadium: toxicology and biological signifiante. *In Elsevier monographs on toxic agents*. 1964 - Ed. Elsevier publishing company.
36. Hunt J.V., Wolff S.P., Oxidative glycation and free radical production: a causal mechanism of diabetic complications. *Free Radic. Res. Commun.*, 1991, **12-13** Pt. 1: 115-123.
37. Iizuka Y., Sakurai E., Hikichi N., [Effects of selenium on the serum glucose and insulin levels in diabetic rats. (article en japonais)]. *Nippon Yakurigaku Zasshi*, 1992, **100** (2): 151-156.
38. Janeczko D., Czyzyk A., Kopczynski J., Krzyzanowski M., Risk factors of cardiovascular death in diabetic patients. *Diabet. Med.*, 1991, **8** spec. n°: S100-S103.

39. Johnson T.M., Meisler M.H., Bennett M.I., Willsky G.R., Vanadate induction of pancreatic amylase mRNA in diabetic rats. *Diabetes*, 1990, **39** (6): 757-759.
40. Jurgens G., Hoff H.F., Chisolm G., Esterbauer H., Modification of human serum LDL by oxidation, characterization and pathophysiological implications. *Chem. Phys. Lip.*, 1987, **45**: 315-336.
41. Kahler W., Kuklinski B., Ruhlmann C., Plotz C., [Diabetes mellitus - a free radical associated disease - Results of adjuvant antioxydant supplementation. (article en allemand)]. *Z. Gesamte. Im. Med.*, 1993, **48** (5): 223-232.
42. Kanthasamy A., Sekar N., Govindasamy S., Vanadate substitute insuline role in chronic experimental diabetes. *Indian Journal of Experimental Biology*, 1988, **26**: 778-780.
43. Lohr J.W., Bennett M.I., Pochal M.A., McReynolds J., Acara M., Willsky G.R., Effect of vanadate on renal hypertrophy and sorbitol accumulation in streptozotocin induced diabetes in rats. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.*, 1991, **72** (2): 1991-202.
44. Madsen K.L., Porter V.M., Fedorak R.N., Oral vanadate reduces  $\text{Na}^+$ -dependent glucose transport in rat small intestine. *Diabetes*, 1993, **48** (8): 1126-1132.
45. Malorni W., Masella R., Santini M.T., Iosi F., Samoggia P., Cantafora A., Merrell D., Peterson W., Human erythrocyte insulin receptor is affected by the oxidizing agent menadione. *Exp. Cell. Res.*, 1993, **206**: 195-203.
46. Masoro E.J., McCarter R.J., Aging as a consequence of fuel utilisation. *Aging Milano.*, 1991, **3** (2): 117-128.
47. McNeill J.H., Delgatty H.L., Battell M.L., Insulinlike effects of sodium selenate in streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetes*, 1991, **40** (12): 1675-1678.

48. McNeill J.H., Yuen V.G., Hoveyda H.R., Orvig C., Bis (maltolato) oxovanadium (IV) is a potent insuli mimic. *J. Med. Chem.*, 1992, **35** (8): 1489-1491.
49. Mead J.F., Free radical mechanisms of lipid damage and consequences for cellular membranes. In Pryor W.A., Free radicals in biology. Academic Press, 1976, **1** (2): 51-68.
50. Miralpeix M., Carballo E., Bartrons R., Crepin K., Hue L., Rousseau G.G., Oral administration of vanadate to diabetic rats restores liver 6-phosphofructo-2-kinase content and mRNA. *Diabetologia*, 1992, **35** (3): 243-248.
51. Miralpeix M., Decaux J.K., Kahn A., Bartrons R., Vanadate induction of L-type pyruvate kinase mRNA in adult rat hepatocytes in primary culture. *Diabetes*, 1991, **40**: 462-464.
52. Monboisse J.C., Gillery P., Maquart F.X., Borel J.P., Production of superoxide anion by glycated proteins: involvement in complications of diabetes mellitus. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 1990, **264**: 551-554.
53. Mongold J.H., Cros G.H., Vian L., Tep A., Ramanadham S., Siou G., Diaz J., McNeill J.H., Serrano J.J., Toxicological aspects of vanadyl sulphate on diabetic rats: effects on vanadium levels and pancreatic B-cells morphology. *Pharmacology and Toxicology*, 1990, **67**: 192-198.
54. Mullarkey C.J., Edelstein D., Brownlee M., Free radical generation by early glycation products: a mechanism for accelerated atherogenesis in diabetes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1990, **173** (3): 932-939.
55. Nechay B.R., Mechanism of action of vanadium. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 1984, **24**: 501-524.
56. Neve J., Physiological and nutritional importance of selenium. *Experientia*, 1991, **47** (2): 187-193.
57. Neve J., Henry M., Peretz A., Mareschi J.P., L'importance nutritionnelle du sélénium. *Cah. Nutr. Diet.*, 1987, **22** (2): 145-162.

58. Neve J., Therond P., Le sélénium. *In* Les oligoéléments en médecine et biologie. 1991 - Editions médicales internationales.
59. Nielsen F.H., Vanadium. *In* Mertz W.(Ed.) Trace elements in human and animal nutrition - Fifth edition - Academic Press Inc., London: 275-300.
60. Oster M.H., Llobet J.M., Domingo J.L., German J.B., Keen C.L., Vanadium treatment of diabetic Sorague-Dawley rats results in tissue vanadium acculation and pro-oxidants effects. *Toxicology*, 1993, **83** (1-3): 115-130.
61. Paolisso G., D'Amore A., Giugliano D., Ceriello A., Varricchio M., D'Onofrio F., Pharmacologic doses of vitamin E improve insulin action in healthy subjects and non-insulin-dependent diabetic patients. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1993, **57**: 650-656.
62. Pennington J.A., Jones J.W., Molybdenum, nickel, cobalt, vanadium and strontium in total diets. *J. Am. Diet. Ass.*, 1987, **87**: 1644-1650.
63. Perlemuter L., Collin de L'Hortet G., Diabétologie. 1987 - Editions Masson.
64. Pieper G.M., Langenstroer P., Gross G.J., Hydroxyl radicals mediate injury to endothelium-dependent relaxation in diabetic rat. *Mol. Cell. Biochem.*, 1993, **122** (2): 139-145.
65. Pugazhenti S., Angel J.F., Khandelwal R.L., Long-terme effects of vanadate treatment on glycogen metabolizing and lipogenic enzymes of liver in genetically diabetic (db/db) mice. *Metabolism*, 1991, **40** (9): 941-946.
66. Pugazhenti S., Khandelwal R.L., Insulinlike effects of vanadate on hepatic glycogen metabolism in non-diabetic and streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetes*, 1990, **39**: 821-827.

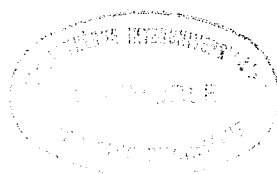


67. Pugazhenth S., Khandelwal R.L., Angel J.F., Insulin-like effect of vanadate on malic enzyme and glucose-6-phosphate dehydrogenase activities in streptozotocin-induced diabetic rat liver. *Biochem. Biophys. Acta.*, 1991, **1083** (3): 310-312.
68. Pugazhenth S., Mantha S.V., Khandelwal R.L., Decrease of liver protein kinase C in streptozotocin-induced diabetic rats and restoration by vanadate treatment. *Biochem. Int.*, 1990, **21** (4): 651-657.
69. Ramanadham S., Brownsey R.W., Cros G.H., Mongold J.J., McNeill J.H., Sustained prevention of myocardial and metabolic abnormalities in diabetic rats following withdrawal from oral vanadyl treatment. *Metabolism*, 1989, **38**: 1022-1028.
70. Ramanadham S., Cros G.H., Mongold J.J., Serrano J.J., McNeill J.H., Enhanced in vivo sensitivity of vanadyl-treated diabetic rats to insulin. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 1990, **68**: 486-491.
71. Ramanadham S., Mongold J.J., Brownsey R.W., Cros G.H., McNeill J.H., Oral vanadyl sulfate in treatment of diabetes mellitus in rats. *Am. J. Physiol.*, 1989, **257**: H904-H911.
72. Rodriguez-Gil J.E., Gomez-Foix A.M., Fillat C., Bosch F., Guinovart J.J., Activation by vanadate of glycolysis in hepatocytes from diabetic rats. *Diabetes*, 1991, **40** (10): 1355-1359.
73. Rosseti L., Laughlin M.R., Correction of chronic hyperglycemia with vanadate, but not with phlorizin normalizes in vivo glycogen repletion and in vitro glycogen synthetase activity in diabetic skeletal muscle. *J. Clin. Invest.*, 1989, **84**: 892-899.
74. Rueff D., *Forme et santé, une révolution: la médecine orthomoléculaire*. 1991 - Editions du Rocher.
75. Sabbioni E., Marafante E., Relation between iron and vanadium metabolism: in vivo incorporation of vanadium into iron proteins of the rat. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 1981, **8**: 419-429.

76. Sabbioni E., Marafante E., Amantini L., Ubertalli L., Birattari C., Similarity in metabolic patterns of different chemical species of vanadium in the rat. *Bioinorg.*, 1978, **8**: 503-515.
77. Saxena A.K., Srivastava P., Baquer N.Z., Effect of vanadate on glycolytic enzymes and malic enzyme in insulin-dependent and -independent tissues of diabetic rats. *Eur. J. Pharmacol.*, 1992, **216**: 123-126.
78. Saxena A.K., Srivastava P., Kale R.K., Baquer N.Z., Effect of vanadate administration on polyol pathway in diabetic rat kidney. *Biochem. Int.*, 1992, **26** (1): 59-68.
79. Sekar N., Govindasamy S., Insulin mimetic role of vanadate on plasma membrane insulin-receptors. *Biochem. Int.*, 1991, **23** (3): 461-466.
80. Sekar N., Kanthasamy A., William S., Subramanian S., Govindasamy S., Insulinic actions of vanadate in diabetic rats. *Pharmacol. Res.*, 1990, **22** (2): 207-217.
81. Shechter Y., Insulin-mimetic effects of vanadate. Possible implications for future treatment of diabetes. *Diabetes*, 1990, **39** (1): 1-5.
82. Shechter Y., Shisheva A., Vanadium salts and future treatment of diabetes. *Endeavour.*, 1993, **17** (1): 27-31.
83. Shisheva A., Ikononov O., Shechter Y., The protein tyrosine phosphatase inhibitor, pervanadate, is a powerful antidiabetic agent in streptozotocin-treated diabetic rats. *Endocrinology*, 1994, **134** (1): 507-510.
84. Soska V., Krusova D., Podrouzkova B., Lojek A., Zechmeister A., [Free oxygen radicals in patients with diabetes mellitus. (article en tchèque)]. *Unitr. Lek.*, 1993, **39** (6): 569-574.
85. Spallholz J., Selenium and glutathione peroxydase: essential nutrient and antioxydant component of the immune system. *In* Advances and experimental medicine and biology. Ed. by Bendich, Philips, Tengardy, 1989, **262**: 145-167.

86. Stadman T.C., Specific occurrence of selenium in enzymes and amino acid t-RNAs. *Faseb. J.*, 1987, **1**: 375-379.
87. Stern A., Yin X., Tsang S.S., Davison A., Moon J., Vanadium as a modulator of cellular regulatory cascades and oncogene expression. *Biochem. Cell. Biol.*, 1993, **71** (3-4): 103-112.
88. Strout H.V., Vicario P.P., Biswas C., Saperstein R., Brady E.J., Pilch P.F., Berger J., Vanadate treatment of streptozotocin diabetic rats restores expression of the insulin-responsive glucose transporter in skeletal muscle. *Endocrinology*, 1990, **126** (5), 2728-2732.
89. Susic D., Kentera D., Dependence of the hypertensive effect of chronic vanadate administration on renal excretory function in the rat. *Journal of hypertension*, 1988, **6**: 199-204.
90. Tamura S., Brown T.A., Whipple J.H., Fujita-Yamaguchi Y., Dubler R.E., Cheng K., Larner J., A novel mechanism for the insulin-like effect on glycogen synthetase in rat adipocytes. *J. Biol. Chem.*, 1984, **259**: 6650-6658.
91. Tchobrowsky G., Slama G., Assan R., Freychet P., *Traité de diabétologie*. 1990 - Editions Pradel.
92. Thompson K.H., Leichter J., McNeill J.H., Studies of vanadyl sulfate as a glucose-lowering agent in STZ-diabetic rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1993, **193** (3): 1549-1555.
93. Thompson K.H., McNeill J.H., Effect of vanadyl sulfate feeding on susceptibility to peroxydative change in diabetic rats. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.*, 1993, **80** (2): 187-200.
94. Tolman E.L., Barris E., Burns M., Pansini A., Partridge R., Effects of vanadium on glucose metabolism in vitro. *Life Sci.*, 1979, **25**: 1159-1164.
95. Venkatesan N., Avidan A., Davidson M.B., Antidiabetic action of vanadyl in rats independent of in vivo insulin-receptor kinase activity. *Diabetes*, 1991, **40** (4): 492-498.

96. Vidal 1994 - Editions du Vidal
97. Vilkas M., Vitamines: Mécanismes d'action chimique. 1994 - Editions Hermann.
98. Wolff S.P., Jiang Z.Y., Hunt J.V., Protein glycation and oxydative stress in diabetes mellitus and ageing. *Free Radic. Biol. Med.*, 1991, **10** (5): 339-352.
99. Yadav S., Day J.P., Mohan V., Snehalatha C., Braganza J.M., Selenium and diabetes in tropics. *Pancreas*, 1991, **6** (5): 528-533.
100. Yuen V.G., Orvig C., McNeill J.H., Glucose-lowering effects of a new organic vanadium complex, bis (maltolato) oxovanadium (IV). *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 1993, **71** (3-4): 263-269.
101. Yuen V.G., Orvig C., Thomson K.H., McNeill J.H., Improvement in cardiac dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats following chronic oral administration of bis (maltolato) oxovanadium (IV). *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 1993, **71** (3-4): 270-276.
102. Zawislak R., Le vanadium. *In* Les oligo-éléments en médecine et biologie. 1991 - Editions médicales internationales.



AUTORISATION D'IMPRESSION  
ET DE  
SOUTENANCE

De la Thèse dont l'intitulé est :

INTERETS POTENTIELS DE DEUX OLIGO-ELEMENTS,  
LE VANADIUM ET LE SELENIUM, DANS LE TRAITEMENT  
DU DIABETE.

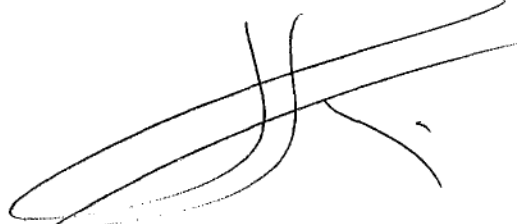
CANDIDAT : M Philippe COSTA

Vu

GRENOBLE, le 27 Octobre 94

Le Président du Jury

P<sup>r</sup> FAVIER Alain



Vu

GRENOBLE, le 3. M. 1994 P/ Le Président de l'Université  
Joseph FOURIER - GRENOBLE I  
Sciences. Technologie. Médecine

Le Directeur de l'U.F.R.  
Pharmacie

J. ROCHAT

