HAL
open science

Diabète insulino-dépendant et lipoperoxydation : données récentes sur le rôle antioxydant du zinc

Valérie Berthet

▶ To cite this version:

Valérie Berthet. Diabète insulino-dépendant et lipoperoxydation : données récentes sur le rôle antioxydant du zinc. Sciences pharmaceutiques. 1991. dumas-03660168

HAL Id: dumas-03660168
https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03660168v1

Submitted on 5 May 2022

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.

La propriété intellectuelle du document reste entièrement celle du ou des auteurs. Les utilisateurs doivent respecter le droit d'auteur selon la législation en vigueur, et sont soumis aux règles habituelles du bon usage, comme pour les publications sur papier : respect des travaux originaux, citation, interdiction du pillage intellectuel, etc.

Il est mis à disposition de toute personne intéressée par l'intermédiaire de l'archive ouverte DUMAS (Dépôt Universitaire de Mémoires Après Soutenance).

Si vous désirez contacter son ou ses auteurs, nous vous invitons à consulter en ligne les annuaires de l'ordre des médecins, des pharmaciens et des sages-femmes.

Contact à la Bibliothèque universitaire de Médecine Pharmacie de Grenoble :

bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr

2e exemplaire

UNIVERSITE JOSEPH FOURIER - GRENOBLE I

UFR de PHARMACIE

Domaine de la Merci, la Tronche

Année 1991 N° d'ordre : 7032

DIABETE INSULINO-DEPENDANT ET LIPOPEROXYDATION : DONNEES RECENTES SUR LE ROLE ANTIOXYDANT DU ZINC

BIBLIOTHÈQUE INTERUNIVERSITAIRE
GRENOBLE
MÉDECINE-PHARMACIE

Thèse présentée et soutenue publiquement le 23 septembre 1991
pour obtenir :

Le Grade de DOCTEUR en PHARMACIE

par

Valérie BERTHET
[Données à caractère personnel]

JURY : Président : Madame ROUSSEL A.M., Professeur
Membres : Monsieur FAURE P., Praticien hospitalier
Madame GUIGNARD M.J., Pharmacien.

UNIVERSITE JOSEPH FOURIER - GRENOBLE I

UFR de PHARMACIE

Domaine de la Merci, la Tronche

Année 1991 N° d'ordre :

DIABETE INSULINO-DEPENDANT ET LIPOPEROXYDATION : DONNEES RECENTES SUR LE ROLE ANTIOXYDANT DU ZINC

BIBLIOTHEQUE INTERUNIVERSITAIRE GRENOBLE MEDECINE-PHARMACIE

Thèse présentée et soutenue publiquement le 23 septembre 1991
pour obtenir :

Le Grade de DOCTEUR en PHARMACIE

par

Valérie BERTHET
[Données à caractère personnel]

JURY : Président : Madame ROUSSEL A.M., Professeur
Membres : Monsieur FAURE P., Praticien hospitalier
Madame GUIGNARD M.J., Pharmacien.

A mes parents,

à Jean-Louis,

à toute ma famille,

à Monique,

et à tous mes amis.

***A Madame le Professeur A.M. Roussel**, Président de thèse,*

Par votre compétence, la qualité de votre accueil et votre grande disponibilité, vous avez su, avec enthousiasme, nous transmettre vos connaissances tout au long de notre formation, puis nous guider dans ce travail.

Je suis très sensible à l'honneur que vous me faites de présider ce jury.

***A Monsieur P. Faure**, praticien hospitalier,*

Trouvez ici, Monsieur, l'expression de ma sincère gratitude pour l'écoute que vous m'avez toujours réservée, pour votre compétence, pour vos qualités humaines, pour vos conseils avisés et efficaces lors de l'exécution de ce travail.

***A Madame M.J. Guignard**, pharmacien,*

Trouvez ici, l'expression de ma profonde reconnaissance pour l'intérêt que vous m'avez toujours porté lors de mes séjours successifs au sein de votre officine et pour tout ce que vous m'avez appris de la profession de pharmacien. Merci d'avoir accepté de juger ce travail.

***Aux pharmaciens** qui m'accordent aujourd'hui leur confiance et me permettent d'exercer mon métier, je les remercie tout particulièrement.*

***A Gisèle et Véronique**, j'adresse mes sincères remerciements pour leur précieuse collaboration à la mise en forme et à la présentation de ce travail.*

SOMMAIRE

INTRODUCTION : 1

O PREMIERE PARTIE : **Les radicaux libres oxygénés. Généralités...** 3

Introduction : 5

I - Définition : 5

II - Différents types de radicaux libres oxygénés toxiques d'origine métabolique : 6

III - Caractéristiques des radicaux libres oxygénés : 8

IV - Principales productions physiologiques de radicaux libres oxygénés : 9

V - Base de la toxicité des radicaux libres oxygénés : 19

VI - Mécanismes protecteurs antiradicalaires : 26

Conclusion : 32

O DEUXIEME PARTIE : **Radicaux libres oxygénés et diabète** : 33

Introduction : 36

I - Diabète insulino-dépendant. Généralités : 36

II - Les radicaux libres chez les diabétiques : 41

Conclusion : 57

O TROISIEME PARTIE : **Le zinc : métabolisme et propriétés antioxydantes** : 58

Introduction : 60

I - Métabolisme du zinc : 60

II - Rôle biochimique et propriétés antioxydantes du zinc : 64

Conclusion : 70

O QUATRIEME PARTIE : **Statut en zinc et diabète** : 71

Introduction : 73

I - Etude du statut en zinc sur des modèles diabétiques animaux : 73

II - Etude du statut en zinc chez les diabétiques humains : 78

Conclusion : 84

O CINQUIEME PARTIE : **Premiers résultats d'un protocole clinique "statut en zinc et diabète insulino-dépendant"** : 85

Introduction : 87

I. Buts de l'étude : 87

II . Matériel et méthode : 91

III . Premiers résultats : 97

Conclusion : 98

CONCLUSION : 100

BIBLIOGRAPHIE : 102

INTRODUCTION

***

INTRODUCTION

***

Le zinc est un oligoélément dont le rôle dans le métabolisme glucidique intervient à plusieurs niveaux, soit de façon directe, soit de façon indirecte (métabolismes lipidiques et protéiques).

Ces dernières années le rôle du zinc comme anti-oxydant biologique a fait l'objet de nombreuses études et il semble que son rôle dans la lutte contre les radicaux libres soit important.

Dans ce domaine, le déficit en zinc du diabétique insulino-dépendant est peut-être associé à une hyperproduction de radicaux libres conduisant aux complications chroniques du diabéte (microangiopathie et rétinopathie).

Il nous a semblé intéressant de conduire une étude bibliographique concernant ce sujet afin de préciser les données récentes établissant les relations entre le statut en zinc du diabétique, son bilan de peroxydation et la survenue des complications chroniques.

Un protocole clinique étant actuellement en cours au CENTRE HOSPITALIER DE GRENOBLE, nous nous proposons dans la dernière partie de ce travail de le décrire.

1ère partie :

LES RADICAUX LIBRES OXYGENES

GENERALITES

***

PLAN DE LA PREMIERE PARTIE

LES RADICAUX LIBRES OXYGENES - GENERALITES

INTRODUCTION 5

I - Définition : 5

II - Différents types de Radicaux Libres oxygénés toxiques d'origine métabolique : 6

II. 1. Radicaux Libres produits par gains d'électrons 6
II. 2 .Radicaux Libres produits par gain d'énergie 7
II. 3 . Remarques 8

III - Caractéristiques des Radicaux Libres oxygénés : 8

IV - Principales productions physiologiques de Radicaux Libres oxygénés : 9

IV. 1. Lors des oxydoréductions mitochondriales 9
IV. 1.1. Réduction tétravalente de O_2 9
IV. 1.2. Réduction univalente de O_2 11

IV. 2 . Lors de la phagocytose 12
IV. 3. Lors de la synthèse des prostaglandines 14
IV. 4. Système xanthine/xanthine oxydase 17
IV. 5. Lors de l'irradiation 17

V - Base de la toxicité des Radicaux Libres oxygénés : 19

V. 1. La lipoperoxydation 20
V.1.1. Définition 20
V.1.2. Etapes 21

V. 2. Relation entre Radicaux Libres et agrégation plaquettaire 25

VI - Mécanismes protecteurs antiradicalaires : 26

VI. 1. Les enzymes 26

VI. 1.1. - SOD 26
VI. 1.2. Catalases et peroxydases 28

VI. 2. Systèmes protecteurs non enzymatiques 29

CONCLUSION 32

LES RADICAUX LIBRES OXYGENES - GENERALITES

INTRODUCTION :

L'oxygène fait partie de notre environnement depuis plusieurs milliards d'années, il a permis le développement des êtres multicellulaires organisés dont il est le principal élément énergétique, mais l'oxygène a deux facettes : une favorable et une défavorable. En effet, dans certaines conditions, ce gaz pourtant indispensable à la vie, a une grande toxicité.

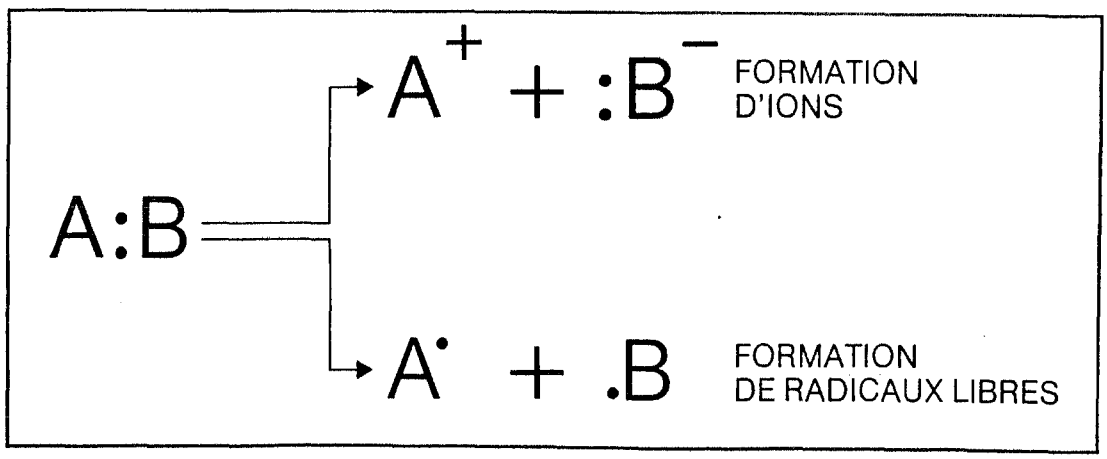
Le mécanisme de cette toxicité a été élucidé en 1954 par R. GERSCHMAN qui a montré que les lésions produites par les radiations et celles provoquées par l'oxygène étaient dues à la production de Radicaux Libres : c'est la théorie radicalaire de la toxicité de l'oxygène.

L'approche de ces radicaux libres est rendue difficile par leur très courte durée de vie et leur forte réactivité. Cependant, ils jouent un rôle important en physiologie (défense antibactérienne), mais aussi en pathologie (oxygénothérapie hyperbare, radiations ionisantes, ischémie aiguë, maladies inflammatoires chroniques, atherogénèse, vieillissement et diabète en particulier).

I - DEFINITION : (14), (22), (45).

La stabilité d'un composé chimique (atome, molécule ou ion) est liée à l'organisation de la couche d'électrons sur son orbitale externe. Dans un composé stable, les électrons sont tous appariés deux à deux.

Un radical libre peut se définir comme tout atome, groupe d'atomes ou molécule qui possède un électron non apparié (célibataire) sur sa couche externe.



En biologie on s'intéresse le plus souvent aux radicaux libres oxygénés.

II - DIFFERENTS TYPES DE RADICAUX LIBRES OXYGENES TOXIQUES D'ORIGINE METABOLIQUE : (42).

La molécule d'oxygène est normalement stable et donc peu réactive. Le métabolisme cellulaire peut l'activer soit par gain d'électrons au cours de réductions imparfaites, soit par gain d'énergie. Il est aujourd'hui admis qu'un certain nombre de molécules d'oxygène partiellement réduites sont produites en faible quantité lors du métabolisme normal et en quantité importante lors de diverses réactions pathologiques.

II. 1. RADICAUX OXYGENES PRODUITS PAR GAIN D'ELECTRONS :

. Parallèlement à la réduction tétravalente de l'oxygène,

$$O_2 + 4H^+ + 4e^- \longrightarrow 2H_2O$$

qui se produit lors de la respiration cellulaire, un certain nombre de réactions, enzymatiques ou non, peuvent aboutir à des transferts électroniques monovalents donnant naissance à des radicaux toxiques.

Il peut s'agir :

- d'un anion superoxyde :

$$O_2 + e^- \longrightarrow O_2^{\cdot-}$$

- d'un peroxyde d'hydrogène :

$$O_2 + 2H^+ + 2e^- \longrightarrow H_2O_2$$

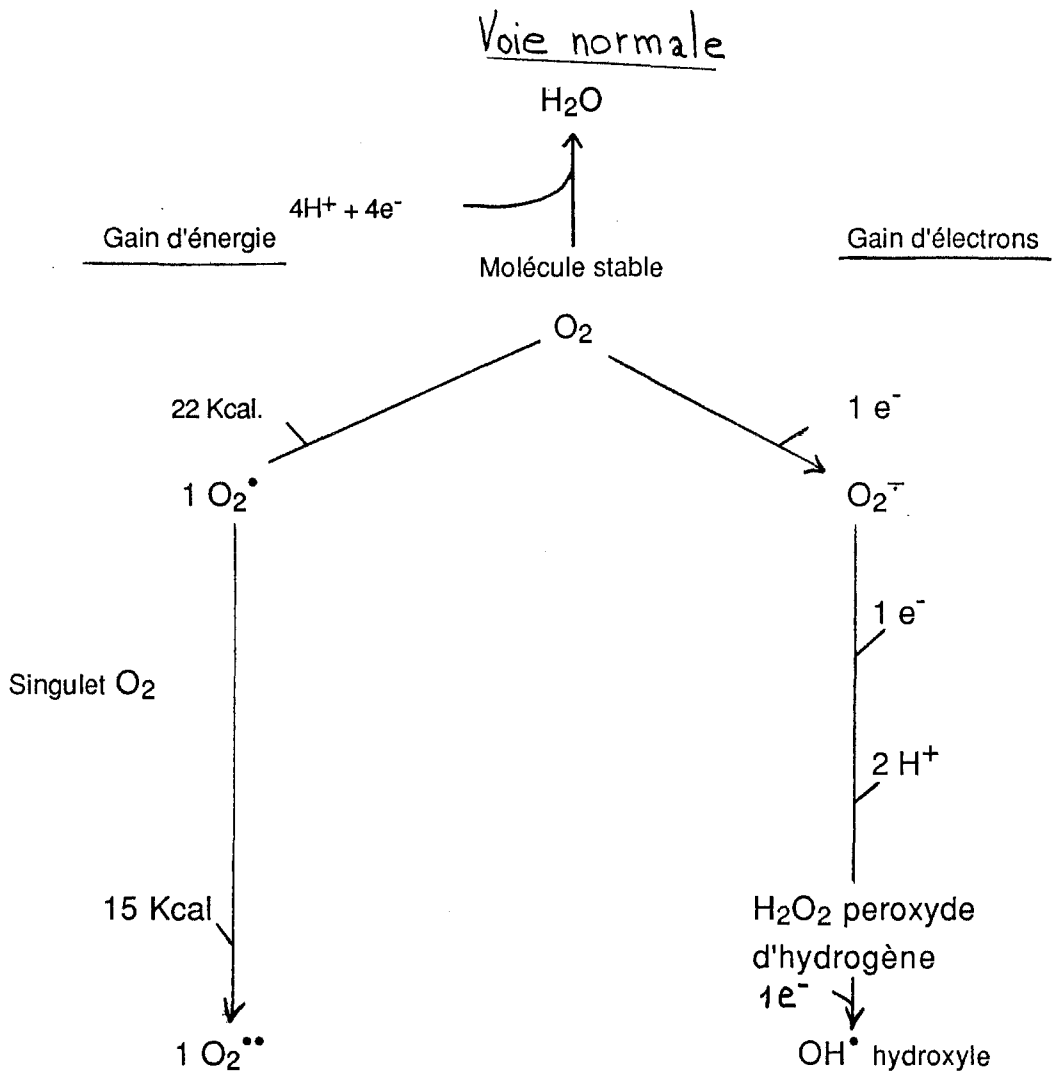
- d'un radical hydroxyle :

$$O_2^{\cdot-} + 2H_2O_2 \xrightarrow{Fe^{++}} 4OH^{\bullet} + O_2$$

II. 2. RADICAUX LIBRES OXYGENES PRODUITS PAR GAIN D'ENERGIE :

L'oxygène stable (à son plus faible état d'excitation) peut également accepter de l'énergie sous forme de chaleur ou de rayonnement et ainsi modifier sa configuration électronique.

On peut ainsi obtenir deux radicaux hautement réactifs, les "singulets d'oxygène", classés selon leur niveau énergétique. La première forme se trouve à 22 Kcal au-dessus de l'état stable et est notée O_2^* ; la seconde forme se trouve à 37 Kcal au-dessus de l'état stable et est notée O_2^{**}.



II. 3. REMARQUES :

Le terme générique de radicaux libres oxygénés regroupe les formes chimiques suivantes :

- le radical superoxyde $O_2^{\bar{\cdot}}$
- le peroxyde d'hydrogène H_2O_2
- le radical hydroxyle $HO^{\bullet}$
- les singulets d'oxygène O_2^{*} et O_2^{**}

Il est à noter que le peroxyde d'hydrogène ne répond pas à la définition chimique d'un radical : sa capacité de production de radical hydroxyle par réaction avec le radical superoxyde le fait figurer dans cette famille. Il en est de même pour les singulets d'oxygène : l'expression de leur toxicité étant la même que celle des formes radicalaires. On les regroupe donc ainsi sous l'appellation de radicaux libres.

Le terme de radicaux libres oxygénés regroupant ces quatre formes est une expression abusive, mais couramment utilisée dans les descriptions.

	FORMULE	DENOMINATION	STABILITE
	O_2	OXYGENE MOLECULAIRE	Stable
1	$O_2^{\bar{\cdot}}$	ION SUPEROXYDE	instable
2	HOOH	PEROXYDE D'HYDROGENE (eau oxygénée)	le moins instable
3	$^{\bullet}OH$	RADICAL HYDROXYLE	très instable
4	O^{*}	OXYGENE SINGULET	le plus instable

III - CARACTERISTIQUES DES RADICAUX LIBRES OXYGENES :

Il est maintenant bien connu que l'action toxique de l'oxygène dans les systèmes biologiques s'exerce par le biais des espèces radicalaires précédemment énoncées. L'effet nocif de ces radicaux n'est pas dû

exclusivement à leur réactivité à l'égard des molécules biologiques, mais également à leurs différentes capacités de diffusion (17), (18).

Par exemple, l'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$ possède la réactivité la plus faible, et par conséquent, la demi-vie la plus longue. De ce fait il peut pénétrer très loin à l'intérieur de la cellule pour se transformer ensuite en radical hydroxyle et exercer ainsi son action aux endroits où normalement, la production de radicaux libres est limitée.

IV - PRINCIPALES PRODUCTIONS PHYSIOLOGIQUES DE RADICAUX LIBRES OXYGENES :

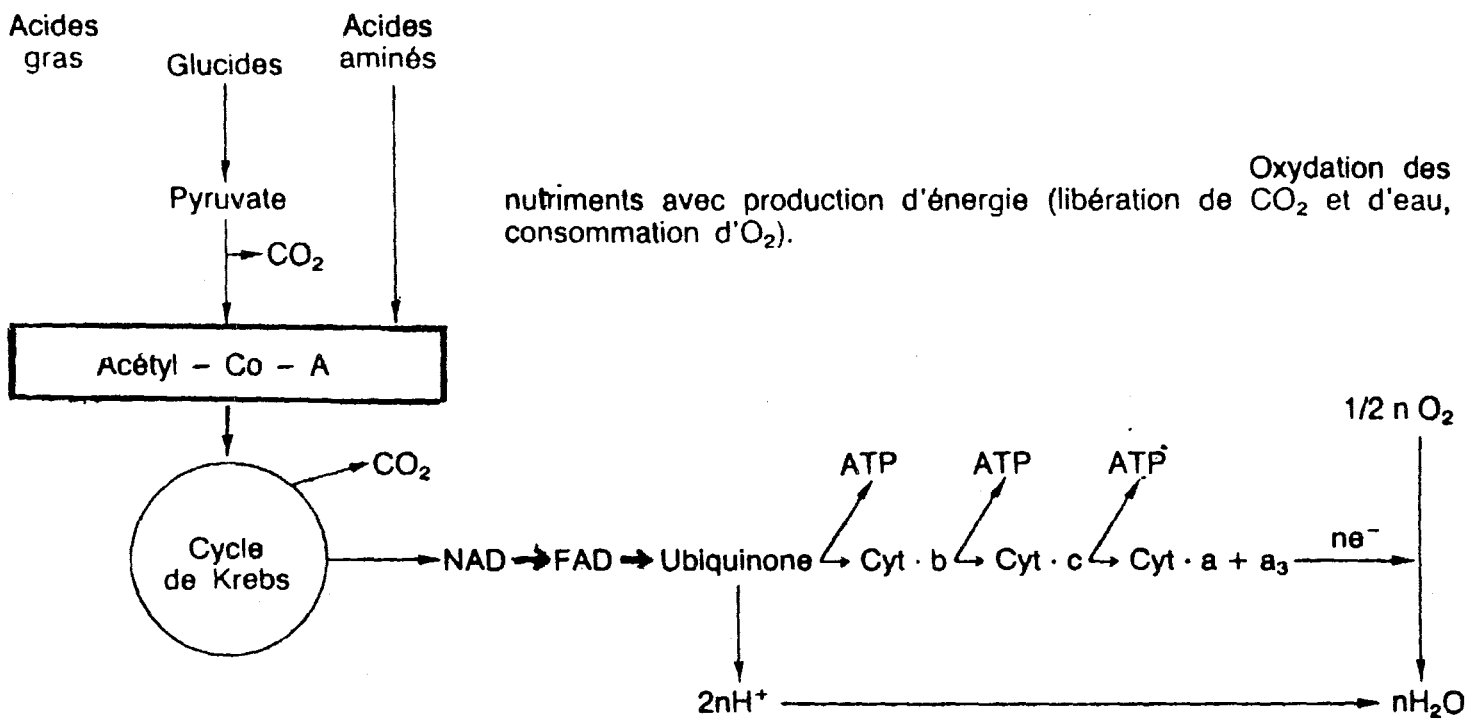
Depuis une vingtaine d'années, il a été démontré que, en dehors de toute irradiation, des radicaux libres sont produits spontanément au cours de divers processus biologiques.

IV. 1. LA PRODUCTION DE RADICAUX LIBRES OXYGENES LORS DES OXYDO-REDUCTIONS MITOCHONDRIALES : (42), (14).

IV. 1. 1. La réduction tétravalente de l'oxygène :

La principale source d'énergie des cellules aérobies est la respiration cellulaire ou oxydation enzymatique des nutriments. Les trois principaux nutriments (glucides, lipides, protides) sont oxydés dans les réactions du cycle de Krebs après avoir été transformés en Acétyl coenzyme A. Les électrons et les protons provenant de ces oxydations finissent par être acceptés par l'oxygène, ultime oxydant ou accepteur d'électron, dans le processus de la "chaîne respiratoire". (figure n° 1).

Figure n° 1 : Cycle de Krebs et chaîne respiratoire (42)



Oxydation des nutriments avec production d'énergie (libération de CO_2 et d'eau, consommation d'O_2).

L'énergie de ces réactions n'est pas dissipée sous forme de chaleur, mais est stockée par la cellule sous forme d'ATP.

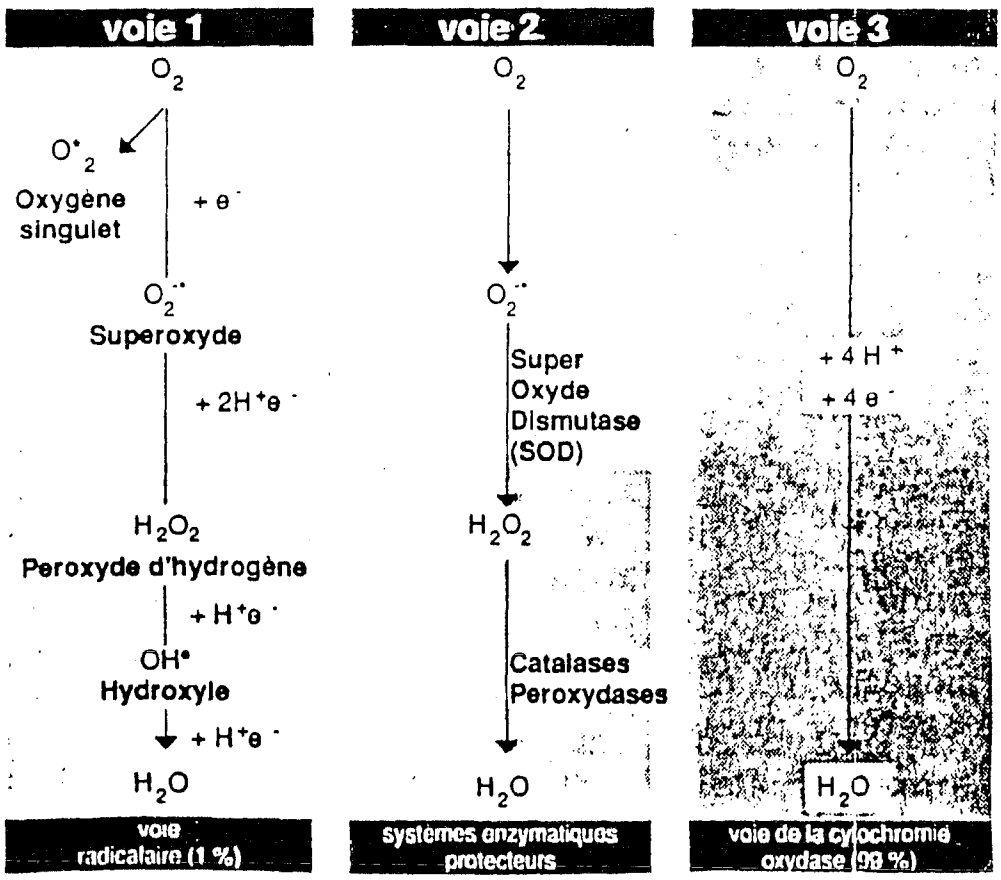
Ainsi, au cours de la respiration cellulaire, il y a d'une part production d'ATP et d'autre part production d'eau par réduction de l'oxygène. Dans cette réduction les électrons sont déplacés par paires.

IV. 1. 2. La réduction univalente de l'oxygène et la production de radicaux libres :

Au niveau des mitochondries, parallèlement à la réduction tétravalente de l'oxygène, on constate que 2 à 5% de l'oxygène est réduit par une voie monovalente (électron par électron). Cette réduction progressive aboutit à la formation de métabolites intermédiaires radicalaires : l'anion superoxyde, le peroxyde d'hydrogène et le radical hydroxyle.

Ces produits intermédiaires sont alors immédiatement éliminés par divers systèmes enzymatiques très efficaces.

Figure n° 2 : Devenir de l'oxygène moléculaire au cours de la respiration cellulaire (14)



Remarque : (44)

Le radical hydroxyle peut être obtenu directement par réaction d'un radical superoxyde et peroxyde d'hydrogène : c'est la réaction d'Haber-Weiss :

$$H_2O_2 + O_2^{\cdot-} \xrightarrow{+H^+} O_2 + H_2O + HO^{\bullet}$$

qui nécessite la présence de fer comme catalyseur. Le fer intervient par la séance suivante :

$$Fe^{3+} + O_2^{\cdot-} \longrightarrow Fe^{2+} + O_2$$

$$Fe^{2+} + H_2O_2 \xrightarrow{+H^+} Fe^{3+} + OH^{\bullet} + H_2O \text{ (réaction de FENTON)}$$

IV. 2. PRODUCTION DE RADICAUX LIBRES OXYGENES LORS DE LA PHAGOCYTOSE : (42), (17), (50), (60).

La phagocytose de microorganismes ou de particules inertes par les polynucléaires ou autres types cellulaires est suivie d'une augmentation de la consommation d'oxygène, d'une production d'agents bactéricides oxygénés et d'une augmentation de l'oxydation du glucose.

Lors de la phagocytose, la production massive de radicaux libres est liée à l'augmentation de la consommation d'oxygène et à l'action de deux enzymes, la NADPH oxydase et la myeloperoxydase. Les agents bactéricides produits par le phagocyte sont :

- l'anion superoxyde :

$$O_2 + NADPH \xrightarrow[\text{oxydase}]{\text{NADPH}} O_2^{\cdot-} + NADP$$

- le peroxyde d'hydrogène : produit de la réaction du superoxyde et d'une enzyme spécifique : la superoxyde dismutase :

$$2O_2^{\cdot-} + 2H^+ \xrightarrow{SOD} H_2O_2 + O_2$$

Le potentiel bactéricide de H_2O_2 est augmenté par les myéloperoxydases présentes lors de la phagocytose, qui aboutissent à la formation d'hypochlorites.

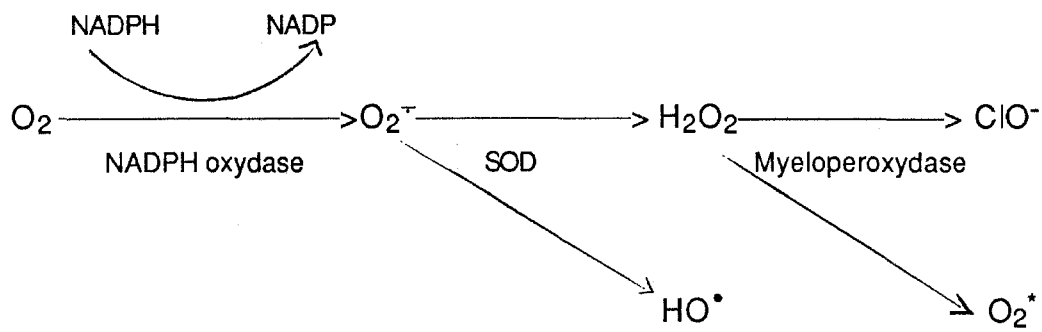
- le radical hydroxyle : il est produit par la réaction du superoxyde et du peroxyde d'hydrogène.

$$H_2O_2 + O_2^{\cdot-} \longrightarrow {}^{\bullet}OH + OH^- + O_2$$

Cette réaction serait catalysée par le système xanthine-xanthine oxydase.

- le singulet oxygène.

Figure n° 3 : Production de radicaux libres oxygénés lors de la phagocytose.



Ces agents : superoxyde, peroxyde d'hydrogène, hydroxyle, singulet d'oxygène et hypochlorites ont pour rôle de tuer les organismes ingérés alors que les enzymes des lysosomes les digèrent. Toutefois, ces éléments toxiques peuvent diffuser dans le milieu cellulaire et provoquer des lésions à la cellule qui les a produits.

IV. 3. PRODUCTION DE RADICAUX LIBRES OXYGENES LORS DE LA SYNTHESE DES PROSTAGLANDINES : (19).

Après une lésion ou une atteinte cellulaire, une enzyme, la phospholipase A2, catalyse la transformation des phospholipides membranaires avec libération d'acide arachidonique.

L'acide arachidonique est à son tour métabolisé selon plusieurs voies qui conduisent à la formation :

- des leucotriènes
- des thromboxanes
- des prostacylines
- des protaglandines

La production de radicaux libres survient uniquement lors de la synthèse des prostaglandines. L'acide arachidonique subit plusieurs transformations catalysées par la cyclooxygénase : on obtient successivement des endoperoxydes, la prostaglandine G_2 et la prostaglandine H_2. Cette PGH_2 subit alors trois voies métaboliques différentes qui conduisent :

- au thromboxane
- aux protacyclines
- aux protaglandines ppd.

La transformation de la PGG_2 en PGH_2 peut s'effectuer par réaction du radical superoxyde sur la PGG_2. Cette voie permet la poursuite du métabolisme, mais produit des radicaux hydroxyles qui sont les plus réactifs. On peut qualifier cette réaction de secondaire, car elle nécessite la présence du radical superoxyde dans le milieu.

Donc, après un stress cellulaire, le métabolisme de l'acide arachidonique produit plusieurs éléments qui ont des propriétés chimiotactiques et vasodilatatrices. La conjugaison de ces deux propriétés fait que le milieu est rapidement envahi par des phagocytes producteurs d'agents bactéricides oxygénés radicalaires.

La présence de radicaux libres oxygénés a un effet rétroactivateur sur la production de prostaglandine H_2 ce qui fait que cette réaction une fois déclenchée a la propriété de s'auto-entretenir.

Figure n° 4 : Production de radicaux libres lors de la synthèse des prostaglandines.

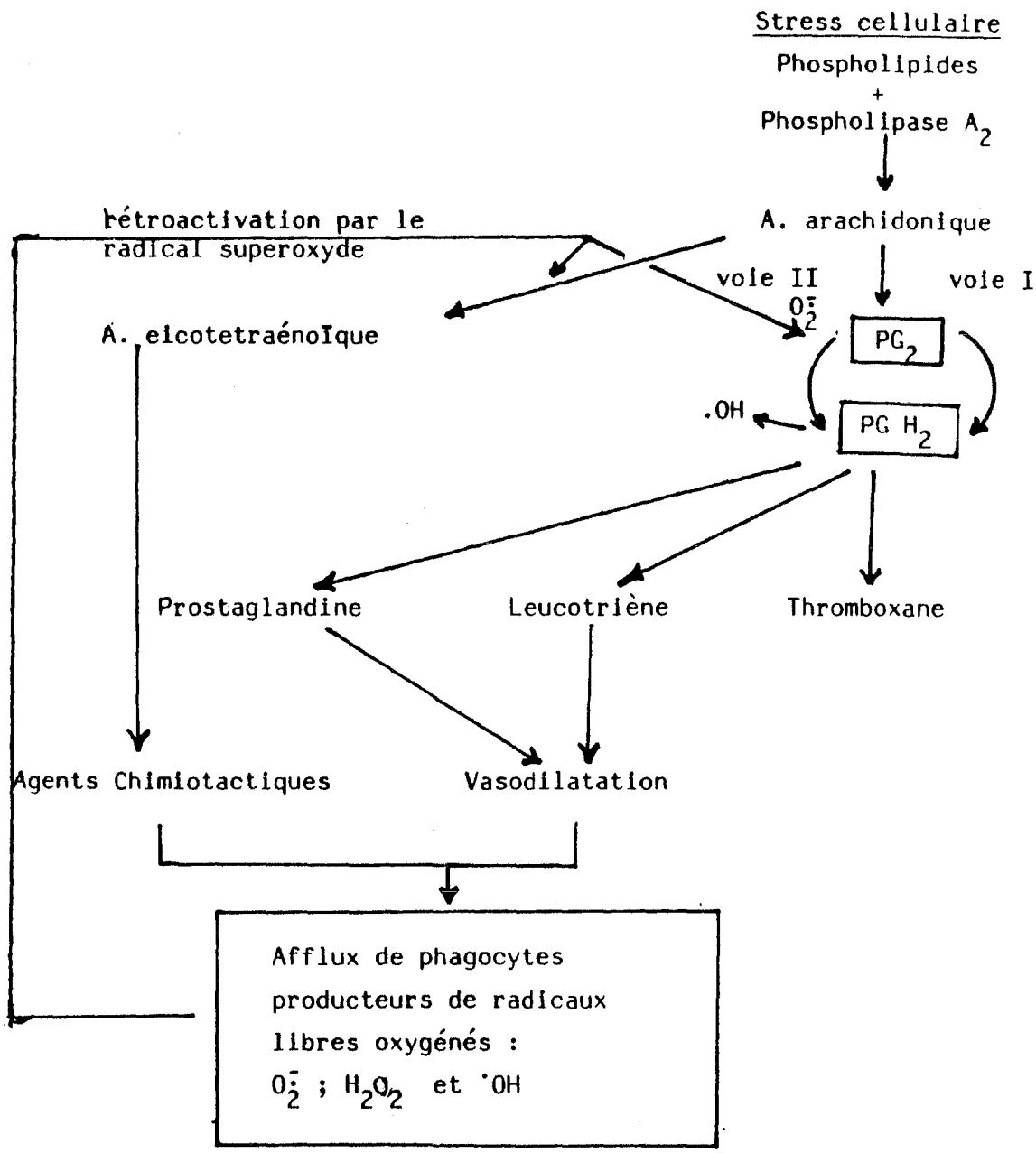
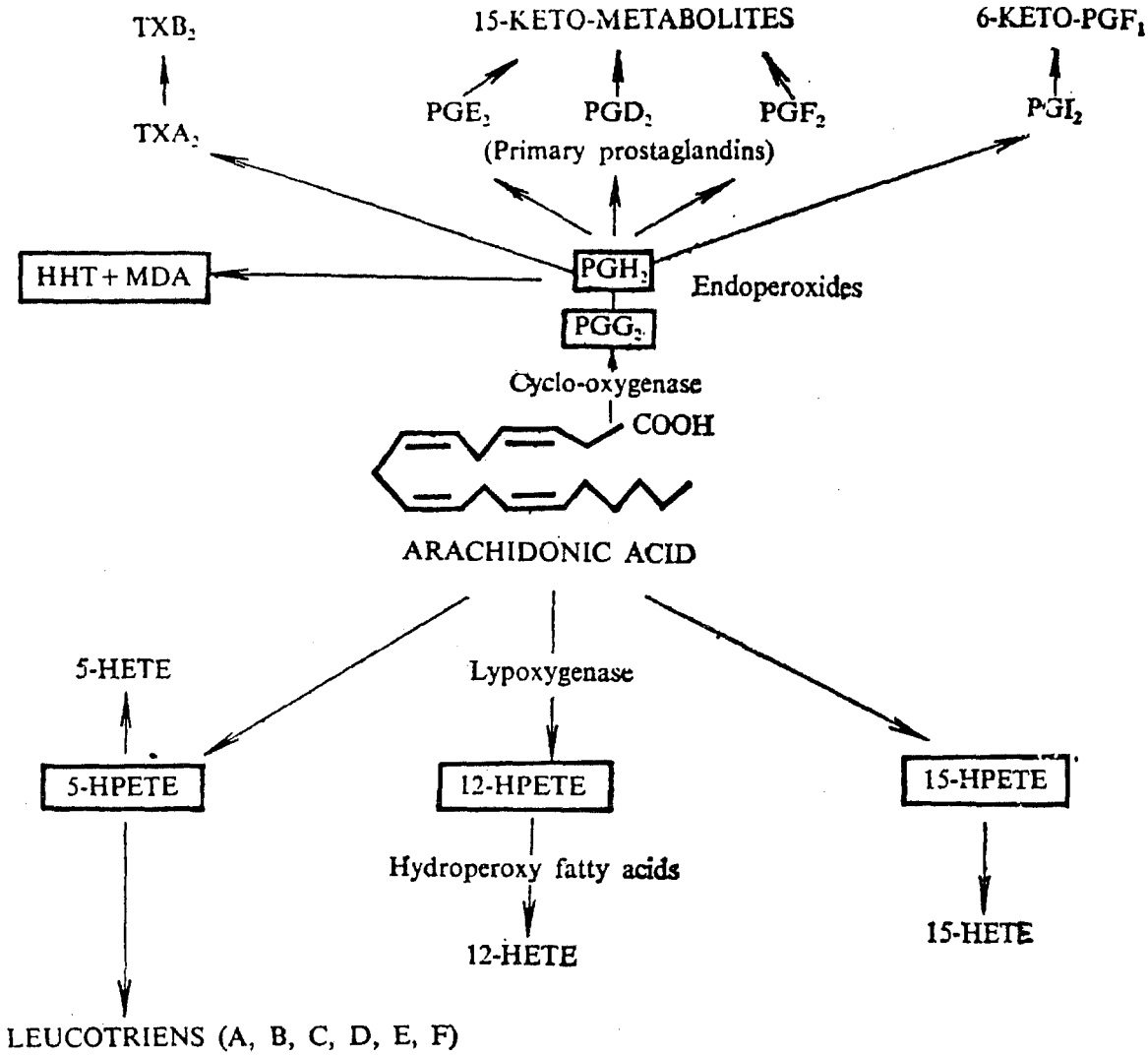


Figure n° 5 : Arachidonate oxygenation pathways (49)



The so-called TBA reactive materials (lipid peroxides) included mainly endoperoxides and their derivates (about 60%) and hydroperoxy fatty acids. These products are encircled on the scheme

Abbreviations:

PGG_2 — Prostaglandin G_2
PGH_2 — Prostaglandin H_2
MDA — Malondialdehyde
HHT — Hydroxy-heptadecatrienoic acid
TXA_2, TXB_2 — Thromboxane A_2 and B_2
PGI_2 — Prostacyclin
5-HPETE; 12-HPETE; 15-HPETE — 5-,12- and 15-hydroperoxy-eicosatetraenoic acids
5-HETE; 12-HETE; 15-HETE — 5-,12- and 15-hydroxy-eicosatetraenoic acids

IV. 4. SYSTEME XANTHINE-XANTHINE OXYDASE : (17), (60).

La xanthine oxydase est une enzyme qui catalyse l'oxydation par l'oxygène de l'hypoxanthine en xanthine et de la xanthine en acide urique. Elle catalyse aussi l'oxydation de différents aldéhydes en leurs acides correspondants. une fraction importante de l'oxygène ainsi consommé passe par la forme intermédiaire du radical superoxyde O_2.

$$\text{Hypoxanthine} + H_2O + 2O_2 \longrightarrow \text{xanthine} + 2O_2^{\cdot-} + 2H^+$$
$$\text{Xanthine} + H_2O + 2O_2 \longrightarrow \text{acide urique} + 2O_2^{\cdot-} + 2H^+$$

Certains métaux de transition tel que le cuivre et le fer en particulier, interviendraient dans la production de $O_2^{\cdot-}$ par la xanthine oxydase. Cette enzyme serait essentiellement présente au niveau des cellules endothéliales des capillaires. Elle est en grande partie responsable de la production de radicaux libres oxygénés dans la microcirculation sanguine (26), (40).

IV. 5. PRODUCTION DE RADICAUX LIBRES OXYGENES LORS DE L'IRRADIATION : (24).

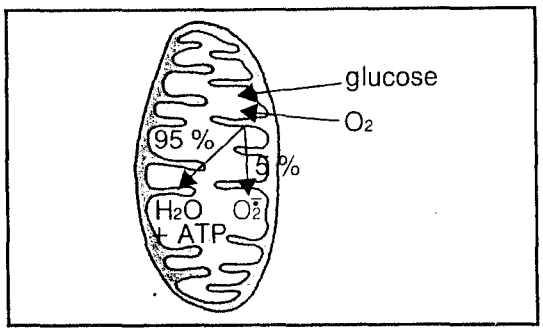
Les radicaux libres peuvent apparaître sous l'action des radiations ionisantes, de la lumière U.V. et même de la lumière du spectre visible. La plupart des réactions radicalaires initiées par des radiations dans les milieux biologiques le sont en milieu aqueux.

L'eau est ainsi dissociée :

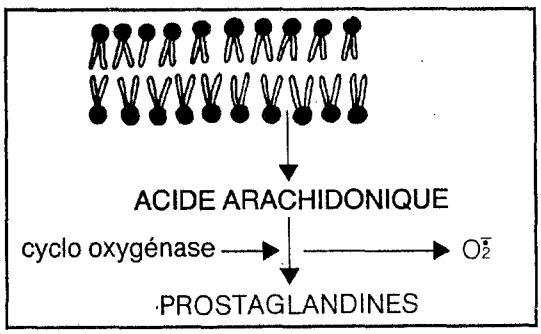
$$H_2O \xrightarrow{\lightning} H_2O^{\bullet} + e^- \longrightarrow H^+ + HO^{\bullet} + e^-\ aq.$$

Cette réaction produit donc des radicaux hydroxyles sans passage par les intermédiaires précédemment décrits (superoxyde et peroxyde d'hydrogène). Ce type de réaction peut avoir lieu au niveau de la peau où il entraîne le vieillissement prématuré, et surtout au niveau de l'oeil (cristallin avec apparition de cataracte, et rétine).

Figure n° 6 : Principales synthèses physiologiques de radicaux libres oxygénés (24)

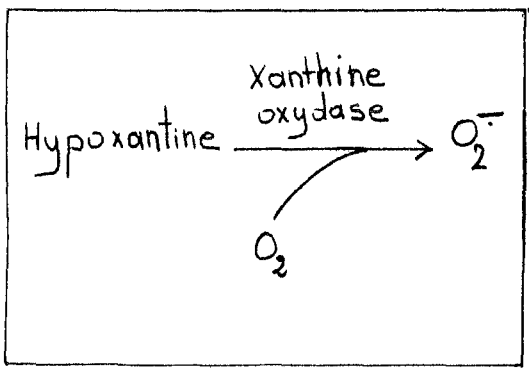


1. lors des oxydoréductions mitochondriales

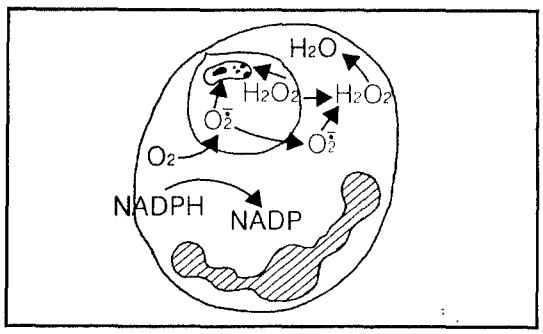


2. Lors de la synthèse des prostaglandines

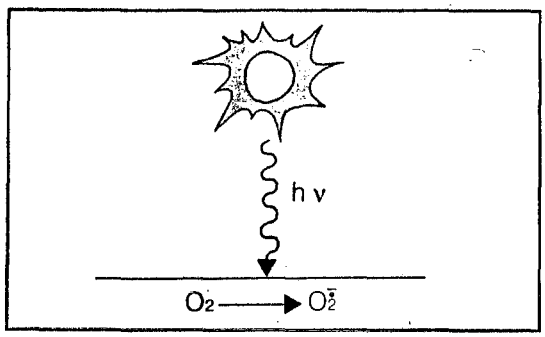
3. Par le système xanthine-xanthine oxydase



4. Lors de la phagocytose



5. Lors d'irradiations



V - BASE DE LA TOXICITE DES RADICAUX LIBRES OXYGENES : (14), (17), (22), (60).

La pathologie des radicaux libres est basée sur le fait que les molécules clefs de la structure membranaire et d'autres macromolécules vitales, telles que les acides nucléiques, sont susceptibles d'être détruites ou inactivées.

La réaction des radicaux libres et des molécules environnantes se fait selon une réaction en chaîne. Ceci a pour conséquence que les dégats ne sont pas ponctuels mais s'étendent à un large territoire.

Lorsque les moyens de défense sont débordés, les radicaux libres oxygénés en excès vont attaquer trois grandes cibles cellulaires :

- les acides nucléiques
- les protéines
- les lipides essentiellement membranaires.

❑ Les acides nucléiques :

Surtout ceux situés au niveau des chromosones. Il y a dénaturation de l'ADN, entraînant des cassures chromosomiques avec de graves conséquences sur la multiplication, la transmission ou la réplication du message génétique et donc sur la synthèse des protéines.

❑ Les protéines :

Ce sont surtout les protéines avec un groupement sulfhydryle (SH) qui sont modifiés par les radicaux libres. C'est le cas de nombreuses enzymes cellulaires. Il s'ensuit une perturbation majeure des réactions biochimiques réglées par ces enzymes. Comme autres protéines très sensibles aux radicaux libres, il faut citer les microfibrilles de collagène et l'acide hyaluronique, constituant essentiel de la substance fondamentale du tissu conjonctif, à l'origine des phénomènes de sclérose et de fibrose.

❑ Les membranes :
Tant pericellulaires, qu'intracellulaires (mitochondries, lysosomes.....).Les phospholipides des membranes contiennent des acides gras insaturés ; extrêmement vulnérables vis-à-vis des radicaux libres au niveau de leurs doubles liaisons. Au début il n'y a qu'une simple désorganisation, puis un défaut de fluidité et des perturbations de plus en plus marquées allant jusqu'à la lyse complète de la membrane.

Nous décrivons maintenant plus en détail, les réactions radicalaires qui altèrent les structures lipidiques, pour essayer d'expliquer des dégats spécifiques et des processus pathologiques, tels que les complications observées au cours du diabète, notamment les complications oculaires. A ce titre un intérêt tout particulier est porté à la relation pouvant exister entre les radicaux libres et l'hyperagrégalité plaquettaire.

V. 1 LA LIPOPEROXYDATION :

V. 1. 1. Définition :

La bicouche de phospholipides constituant l'armature de toute membrane cellulaire est très riche en acides gras polyinsaturés. Les doubles liaisons carbone-carbone confèrent une structure spatiale déterminée aux chaînes d'acide gras d'où découle la solidité de l'ensemble de l'édifice membranaire. Mais ces doubles liaisons carbone-carbone rendent extrêmement vulnérables les acides gras polyinsaturés car elles affaiblissent les liaisons carbone-hydrogène de l'atome voisin (42), (60).

Le processus biologique de lipoperoxydation correspond en fait à l'oxydation de ces acides gras polyinsaturés par les radicaux libres oxygénés et à la formation secondaire de dérivés toxiques tels que : (22)

- des hydroperoxydes
- des époxydes
- des aldéhydes.

Ces dérivés sont considérés comme des marqueurs de la lipoperoxydation et on a souvent recours à leur dosage pour suivre l'importance du phénomène de peroxydation lipidique lors d'expériences

biologiques *in vivo* ou *in vitro.* L'un d'entre eux est le plus souvent dosé : le malondiadéhyde ou M.D.A. D'une manière générale il est admis que les peroxydes lipidiques sont décomposés et sont transformés en différents intermédiaires qui conduisent tous au M.D.A. (49)

V. 1. 2. Etapes de la peroxydation lipidique : (45).

Le processus de lipoperoxydation peut se présenter de la façon suivante, en trois étapes :

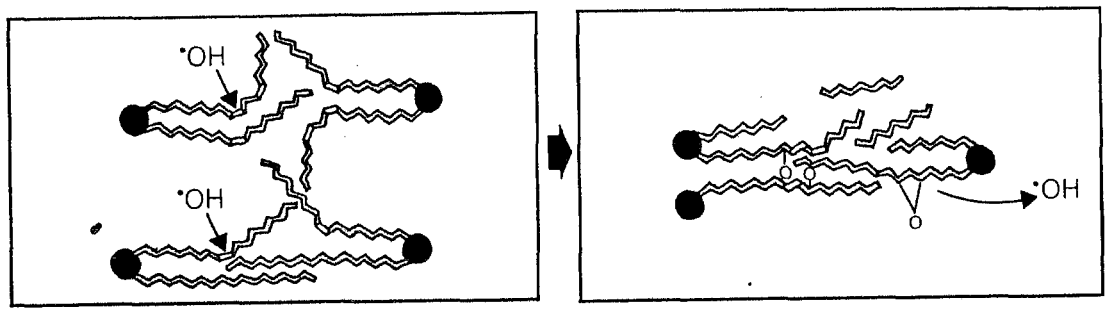
- L'initiation :

Cette étape se produit en deux phases :

- production de radicaux libres oxygénés
- réaction d'un radical libre oxygéné avec une molécule environnante qui va devenir le radical initiateur.

- La propagation :

Ce radical attaque la double liaison d'un acide gras en capturant un atome d'hydrogène. Puis il passe au phospholipide voisin : il y a une réaction en chaîne qui est le fait d'une autooxydation. Chaque radical libre, après avoir profondément remanié une chaîne lipidique, s'attaque à la chaîne voisine sans rien perdre de son pouvoir destructeur et ainsi de suite 10 à 12 fois. Il s'ensuit une modification majeure de la structure de la membrane : les radicaux libres en modifiant ces doubles liaisons carbone-carbone entraînent des réarrangements, soit des cassures de fragments, soit des angulations différentes.



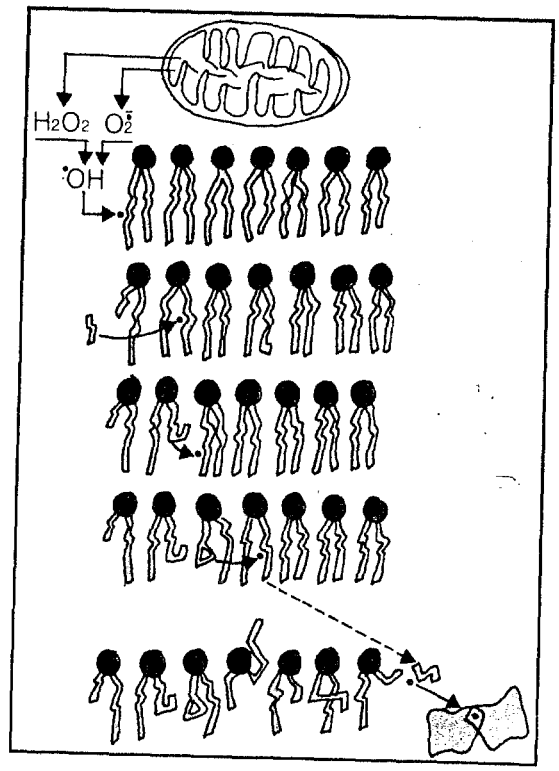
Du fait de la réaction en chaîne comme un jeu de quilles, la membrane perd sa disposition architecturale. Elle est moins solide, moins souple. Il se crée de véritables brèches ioniques. Les protéines réceptrices et transporteurs sont indirectement atteintes alors que leurs groupements SH peuvent faire l'objet d'une atteinte directe par les radicaux libres.

- La terminaison :

Le radical libre rencontre un autre radical libre, ou une molécule capable de le piéger et de le garder telle que la vitamine E, le glutathion ou bêta-carotène.

Figure n° 7 : Comment les radicaux libres modifient la membrane ? (24)

On distingue 3 stades principaux :



1 - initiation
Il y a d'abord échappement d'un radical libre hors du "système de sécurité" (SOD, CAT, GPx).

2 - propagation
Ce radical attaque la double liaison d'un premier acide gras. Puis il passe au phospholipide voisin (réaction en chaîne).

3 - terminaison
Le radical libre rencontre un autre radical libre ou une molécule capable de le piéger et de le garder

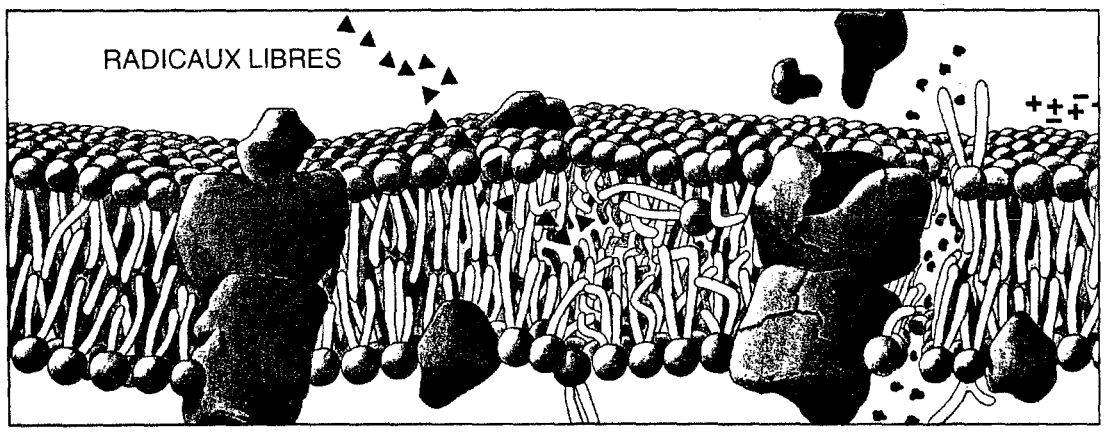
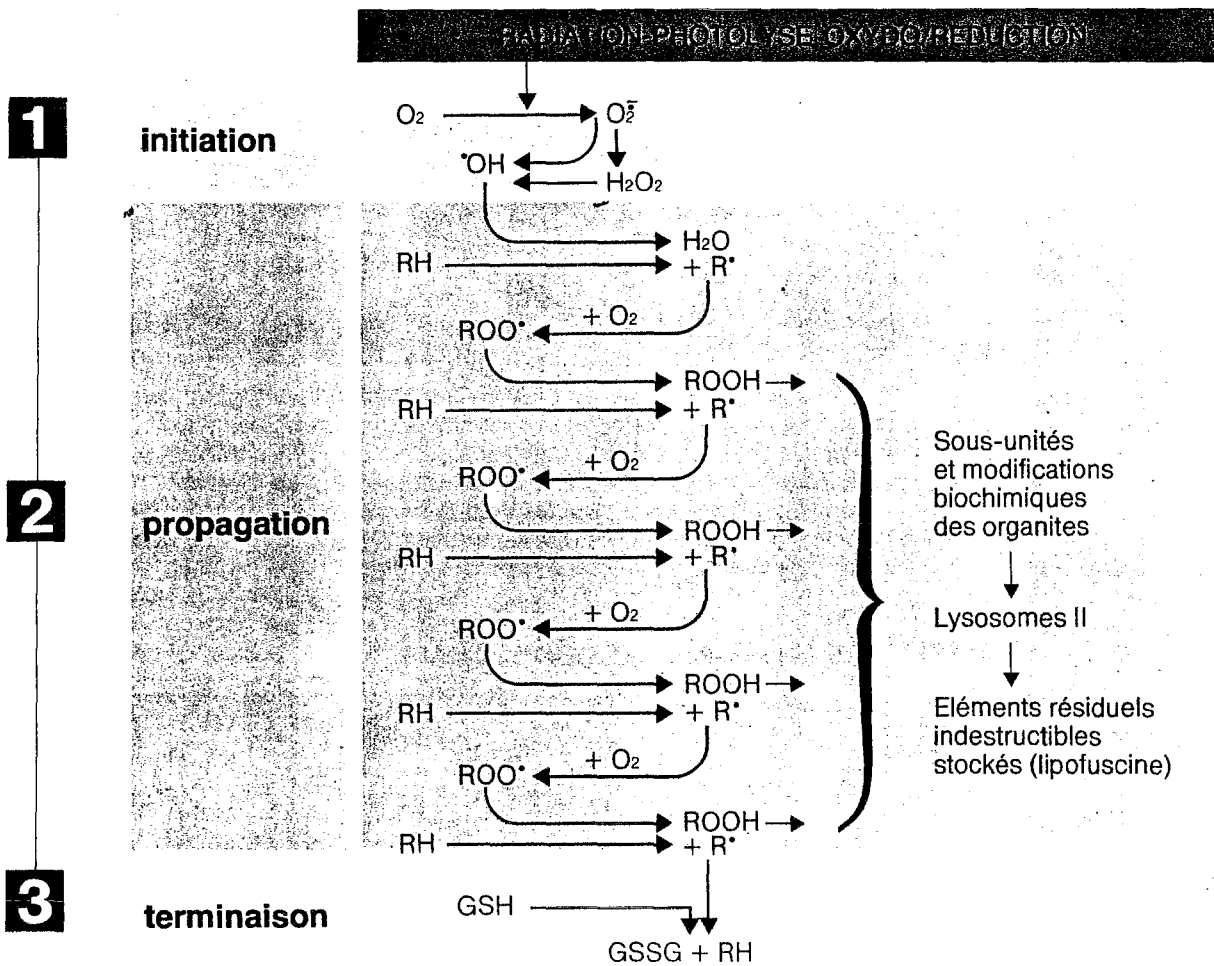


Figure n° 8 : L'auto-oxydation des membranes (24)

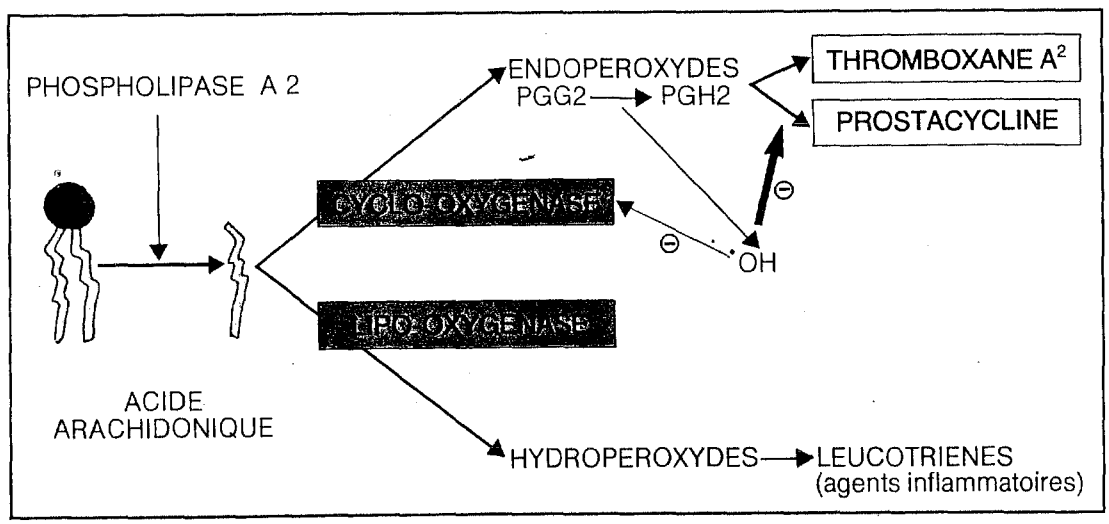


Ainsi tout radical émis dans un système cellulaire cherchera dans son environnement un électron pour compléter son orbitale externe. Cet électron est dans la majorité des cas fourni par les structures lipidiques membranaires, ce qui déclenche une réaction en chaîne. Cette réaction en chaîne ou lipoperoxydation est responsable d'une grande part de la pathologie radicalaire et elle a pour cible principale les membranes cellulaires (membrane plasmique, membrane du réticulum endoplasmique, des mitochondries et des organites). Les radicaux libres par atteinte des membranes cellulaires diminuent toutes les capacités de la cellule.

V. 2. RELATION ENTRE RADICAUX LIBRES ET AGREGATION PLAQUETTAIRE : IMPLICATION DANS L'ATHEROSCLEROSE (22).

Un excès de formes radicalaires modifie les orientations métaboliques de la synthèse des prostaglandines. Les métabolites de cette famille, appelées eicosanoïdes, sont de véritables médiateurs intra et intercellulaires et l'on comprend que le déséquilibre induit par l'excès de radicaux libres, perturbe entre autres, l'agrégation plaquettaire étroitement dépendante de la balance PGI_2/TXA_2.

Les radicaux libres inhibent la cyclooxygénase des membranes et ils diminuent ainsi essentiellement la synthèse de la prostacycline : puissant agent antiagrégant. L'agrégation plaquettaire est ainsi augmentée.

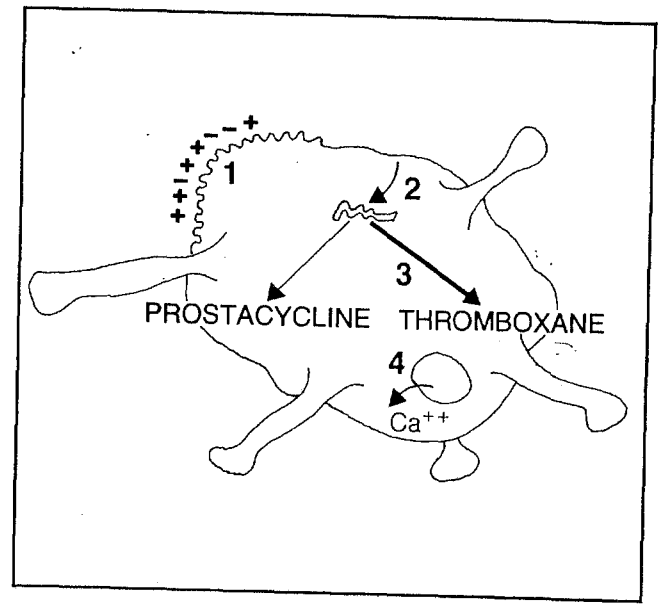


Mais l'intervention des radicaux libres sur le comportement des éléments circulants du sang et de la paroi vasculaire se fait à plusieurs niveaux :

1 Déformation et altération de la membrane cellulaire, perte d'élasticité, modification électrique des plaquettes et de l'endothélium vasculaire par exemple, phase d'appel de l'agrégation (adhésivité).

2 Libération à partir de la membrane par la phospholipase A2 d'un acide arachidonique modifié.

3 Modification des flux transmembranaires, en particulier du calcium au niveau des granules et du système tubulaire dense.



Ces modifications ont pour conséquence l'altération de la circulation dans les vaisseaux qui est responsable à son tour de lésions des tissus, alors mal irrigués.

VI - MECANISMES PROTECTEURS ANTIRADICALAIRES : (42), (60).

Ces mécanismes protecteurs antiradicalaires sont d'une part la compartimentation des tissus (qui empêche la diffusion des radicaux libres de la cellule au secteur extra cellulaire), d'autre part les systèmes antioxydants (qui les transforment en oxygène moléculaire par oxydation ou en eau par réduction).

VI. 1. - IL S'AGIT PRINCIPALEMENT DE TROIS SORTES D'ENZYMES :

VI. 1. 1. Les superoxydes dismutases (SOD) : (17), (36).

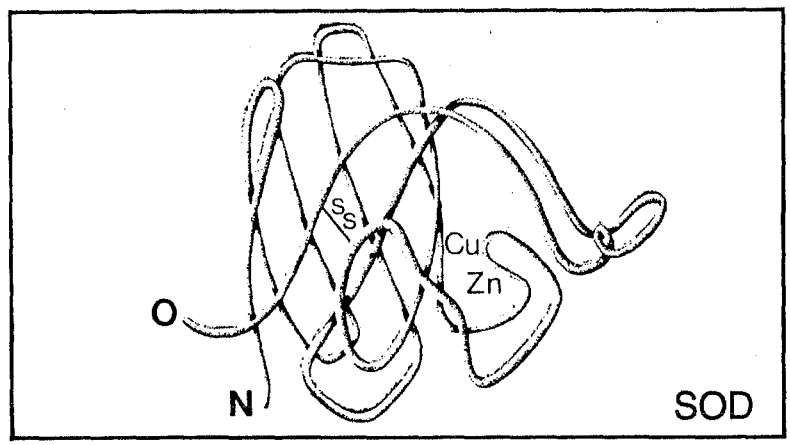
Il s'agit de métalloprotéines qui réagissent catalytiquement sur l'ion superoxyde en produisant le peroxyde d'hydrogène. Elles catalysent donc la réaction :

$$2O_2^{\cdot -} + 2H^+ \xrightarrow{SOD} H_2O_2 + O_2$$

D'abord extraites de globules rouges, il a finalement été montré que ces enzymes étaient présentes dans toutes les cellules.

En fait, il y a chez l'homme deux superoxydes dismutases :

- dans le cytoplasme SOD_1, l'ancienne erythrocupréine, formée de deux sous-unités contenant chacune un atome de cuivre et un atome de zinc liés tous deux au même groupement imidazole.



- dans les mitochondries SOD_2, comprenant quatre sous-unités avec chacune un atome de manganèse.

Ces enzymes en accélerant la dismutation des radicaux superoxydes, permettent leur élimination avant qu'ils n'agissent directement sur les constituants cellulaires ou qu'ils ne se combinent au peroxyde d'hydrogène pour former des radicaux plus toxiques (hydroxyles et singulets oxygènes).

VI. 1. 2. Les catalases et peroxydases : (42).

Ces enzymes catalysent la transformation de peroxyde d'hydrogène en eau. Les peroxydases ont un champ d'action plus étendu : elles peuvent avoir pour substrats d'autres radicaux, comme les peroxydes lipidiques. La plus importane des peroxydases est la gluthation peroxydase, comportant du sélénium, qui agit en synergie avec la SOD et la vitamine E.

$$2H_2O_2 \xrightarrow{\text{catalase}} 2H_2O + O_2$$

$$2GSH + H_2O_2 \xrightarrow[\text{peroxydase}]{\text{glutathion}} GSSG + 2H_2O$$

$$\text{et } GSH + R^{\bullet} \longrightarrow GS^{\bullet} + RH$$

$$2GS^{\bullet} \longrightarrow GSSG$$

Il est important que les catalases et les peroxydases prennent le relais de la SOD, afin d'éviter l'accumulation de superoxyde et de peroxyde et en conséquence l'apparition d'hydroxyle ($OH^{\bullet}$) qui n'est pas physiologique et pour lequel aucun système de défense naturel n'est prévu.

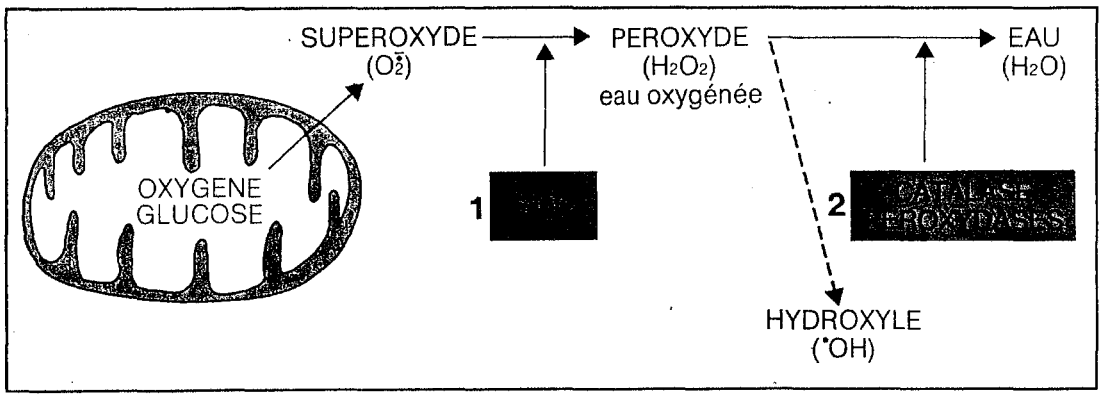
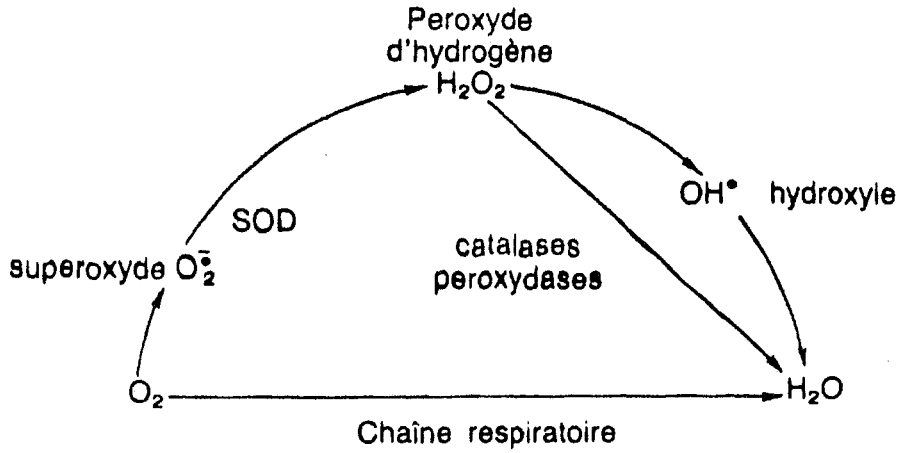


Figure n° 9 : Réductions intracellulaires de l'oxygène (mécanisme normal de la respiration, systèmes enzymatiques protecteurs) (42)



VI.2. IL EXISTE DES SYSTEMES PROTECTEURS NON ENZYMATIQUES : (45).

Ce sont des capteurs ou des intercepteurs de radicaux libres, encore appelés free radical scavengers. Présentes dans les cellules, ces substances ont la propriété de bloquer et de détruire les R.L. oxygénés en étant elles-mêmes modifiées ou détruites.

Il peut s'agir :

- du glutathion
- de la vitamine E (alpha tocophérol) (50), (22) (MALLIWELL 89)
- de la vitamine C (acide ascorbique)
- des bêta-carotène.

En ce qui concerne les vitamines précitées, elles sont d'origine exogène, apportées par l'alimentation végétale ou par une thérapeutique. Elles interviennent en interrompant la cascade des chaînes radicalaires.

Le tableau suivant résume l'ensemble des processus qui aboutissent à l'élimination des radicaux toxiques oxygénés (Arch. Fr. Pediatr **1983**, *40* : 585-595) :

TABLEAU I - Principaux systèmes anti-oxydants - (42)

Radicaux	Systèmes anti-oxydants		Produits
	Dénomination	Localisation	
$O_2^{\cdot-}$ Superoxyde	Superoxyde-dismutases	Mitochondries Cytosol	$H_2O_2 + O_2$
	Ascorbate : (Vit. C)	ubiquitaire	H_2O_2
	Glutathion réduit (GHS)	ubiquitaire	H_2O_2
H_2O_2 peroxyde d'hydrogène	Catalase	peroxysomes	$H_2O_2 + O_2$
	GHS-peroxydase	mitochondries, cytosol	H_2O
	Glutathion réduit (GHS)	ubiquitaire	H_2O
$OH^{\bullet}$ hydroxyle	Formate	ubiquitaire	$H_2O + O_2^{\cdot-}$
	Ac. Gras insaturés	membranes	peroxyde lipidiques
	Sucres	ubiquitaire	sucres oxydés
$1\ O_2^{\bullet}$ singulet	Bêta-carotène : (Vit. A)	membranes	O_2
	Ac. gras insaturés	membranes	peroxydes lipidiques
	Glutathion réduit (GHS)	ubiquitaire	sulfones ou acide cystéique Vit. E oxydée. Ac. aminés oxydés
	Alpha-tocophérol (Vit.E)	membranes	
	Ac. aminés.	cytosol	
$1\ O_2^{\bullet\bullet}$ singulet	H_2O	ubiquitaire	$1\ O_2^{\bullet}$

Figure n° 10 : Les trois types d'antioxydants (24)

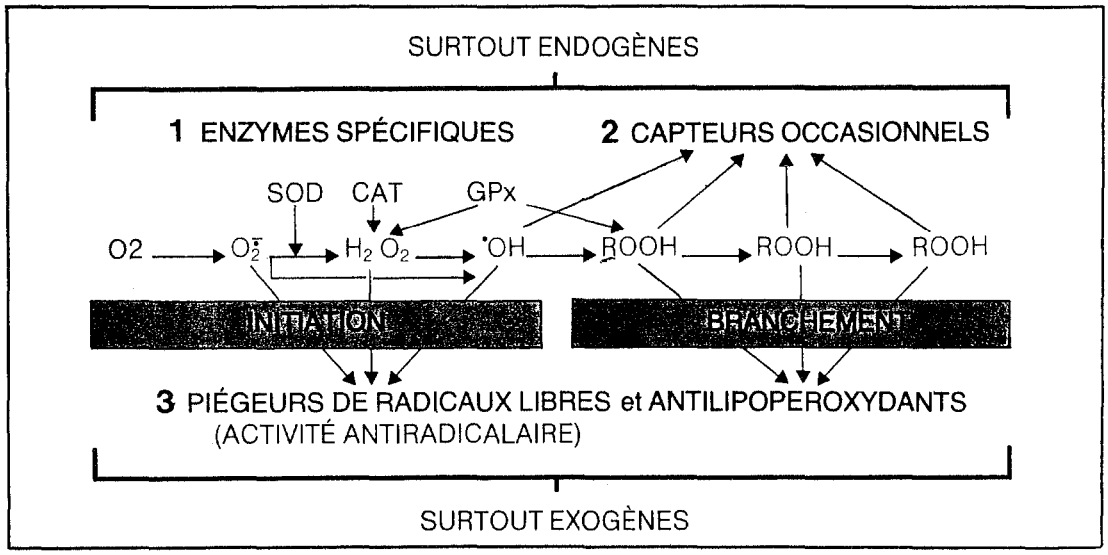
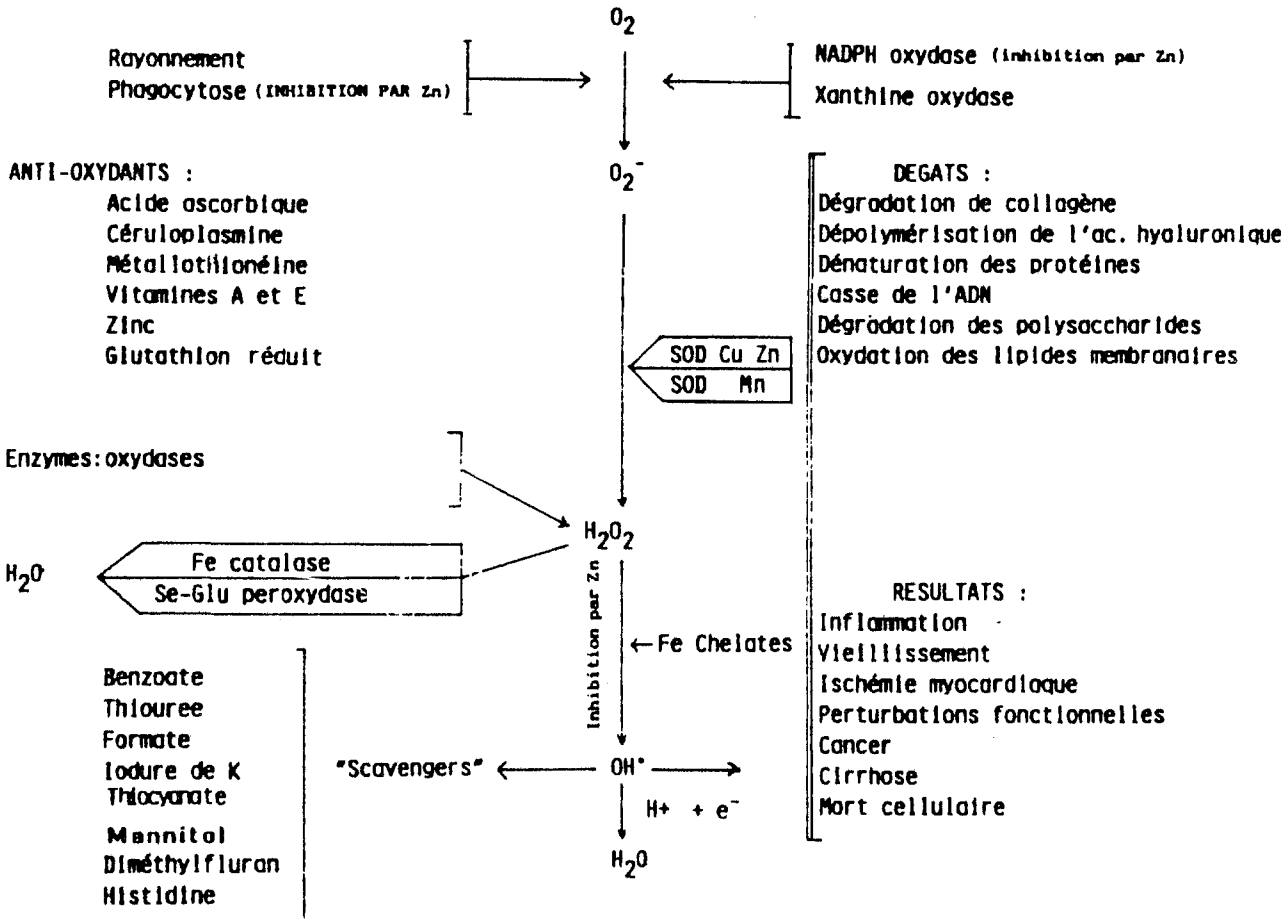


Figure n° 11 : Production, élimination et effets délétères des radicaux libres.



CONCLUSION :

Au terme de cette première partie, il apparaît que les radicaux libres sont ubiquitaires, et que leurs effets néfastes sont jugulés par des mécanismes protecteurs. Toutefois, l'insuffisance ou l'absence de certains mécanismes protecteurs antioxydants, l'accroissement métabolique excessif déclenché par de nombreux stimuli, l'excès d'apport d'oxygène peuvent perturber le bon fonctionnement des systèmes biologiques et aboutir à l'apparition de désordres pathologiques graves.

2ème partie :

RADICAUX LIBRES OXYGENES ET DIABETE SUCRE

***

PLAN DE LA DEUXIEME PARTIE

RADICAUX LIBRES OXYGENES ET DIABETE SUCRE

INTRODUCTION 36

I- **Diabète sucré - Généralités** 36

I. 1 Définition 36

I. 2 Classification des diabètes 37

I. 2.1 Le diabète de type I 37

I. 2.2 Le diabète de type II 37

I. 2.3 Autres formes de diabète 37

I. 2.4 Les intolérants aux glucides 38

I. 3 Complications du diabète 38

I. 4 Etiologie des complications dégénératives 39

I. 4.1 La microangiopathie 39

I. 4.2 La macroangiopathie 39

I. 4.3 Autres facteurs 39

I. 5 Classification anatomique des complications vasculaires du diabétique 40

I. 5.1 Complications cardiovasculaires 40

I. 5.2 Complications rénales 41

I. 5.3 Complications neurologiques 41

I. 5.4 Complications oculaires : la rétinopathie diabétique 41

II- **Les Radicaux Libres chez les diabétiques** : 41

II. 1. Radicaux Libres et les marqueurs de la lipoperoxydation chez les diabétiques 42

II. 1.1 Travaux de GODIN et coll.1988 42

II. 1.2 Travaux de UZEL et coll.1987 42

II. 1.3 Travaux de CHOPRA et coll.1989 43

II. 2 .Radicaux Libres et marqueurs de la glycémie 44

II. 2.1 Etude *in vitro* : HICHS et coll. 1988 44

II. 2.2 Etude clinique chez des diabétiques :
JAIN et coll. 1989 45
II. 3 . Enzymes antioxydantes dans l'état diabétique 47
II. 3.1 Diabète expérimental induit chez le rat 47
II. 3.2 Travaux réalisés chez les sujets diabétiques 48
II. 4 Radicaux Libres et agrégation plaquettaire
chez le diabétique 53
II. 4.1 Expérience conduite sur des rats (SAMOVA
et coll. 1988) 53
II. 4.2 Expérience sur des sujets diabétiques
(CHOPRA et coll. 1989) 56

CONCLUSION 57

RADICAUX LIBRES ET DIABETE

INTRODUCTION :

Malgré les progrès acquis dans la surveillance du diabète et dans l'équilibre de la glycémie, la première cause de mortalité chez les diabétiques reste les maladies cardiovasculaires. Car le diabète sucré prédispose aux complications athéromateuses. Ces complications constituent une des causes majeures de morbidité et de mortalité au long cours et conditionnent le pronostic fonctionnel et vital des sujets diabétiques.

Dans ces conditions, le diabète n'est pas seulement une maladie affectant l'équilibre glycémique, mais aussi une pathologie où interviennent des complications dégénératives. Récemment, le rôle nocif des radicaux libres dans de tels processus a été mis en évidence et l'hypothèse radicalaire semble particulièrement intéressante, comme en témoigne la littérature très abondante sur ce sujet. Avant de faire un tour d'horizon des publications récentes sur le problème des radicaux libres chez le diabétique et de leur implication dans les complications dégénératives, nous ferons quelques rappels concernant le diabète.

I - DIABETE SUCRE ET LESIONS DEGENERATIVES (41).

I.1 DEFINITION :

Le diabète sucré est une maladie due à une déficience pancréatique se traduisant par la diminution de la sécrétion d'insuline par les cellules bêta des ilots de Langerhans qui entraîne une hyperglycémie.

La carence absolue en insuline, par déficit sécrétoire entraîne une évolution vers la cétoacidose.

Le déséquilibre à long terme provoque le développement d'une microangiopathie, d'une néphropathie et d'une neuropathie.

I.2 CLASSIFICATION DES DIABETES :

La distinction classique, schématique, entre diabète "gras" de la maturité et "maigre", juvénile, basée sur des critères séméiologiques, a laissé la place à une classification qui se veut davantage nosologique. Est diabétique tout sujet dont la glycémie dépasse 1,4 g/l à jeûn et/ou 2 g/l à la 120ème minute après un repas.

I.2.1 Le diabète de type I lié à une destruction virale et/ou autoimmune des cellules β des îlots de Langerhans : 87 % de ces sujets sont porteurs des antigènes HLA DRW3 ou DRW4. La destruction progressive du pancréas aboutit à un diabète lorsque plus de 90 % des cellules bêta sont lésées. Ce diabète est en général insulino-dépendant (rejoignant le classique diabète "maigre" juvénile) mais pourrait parfois rester très longtemps non-insulino-dépendant ("slowtype I"). Un traitement immunomodulateur (cyclosporine) ou un équilibre glycémique strict à la pompe à insuline peuvent faire régresser temporairement la maladie à son début. Un dépistage précoce à un stade préclinique pourrait permettre d'envisager une prévention.

I.2.2 Le diabète de type II : le plus fréquent (85 % des diabétiques) ; les patients sont typiquement en surpoids, l'insulinémie y est souvent élevée. L'insulino-résistance jouerait un rôle essentiel dans cette maladie, et cette résistance proviendrait notamment de l'intolérance du muscle au glucose. Le type II est fortement lié à une prédisposition génétique (il apparaît simultanément chez deux jumeaux homotygotes). C'est généralement un "diabète de la maturité", mais on a suggéré récemment que certains diabétiques de type II débuteraient entre 20 et 40 ans et deviendraient insulino-dépendants après épuisement progressif des îlots β de LANGERHANS.

I.2.3 D'autres formes de diabètes sont incluses dans ces nouvelles classifications :

- le diabète gestationnel (se déclenchant pendant la grossesse).
- les diabètes secondaires à des lésions pancréatiques, à des endocrinopathies, à des problèmes iatrogènes.
- les syndromes congénitaux avec insulino-résistance, ou sécrétion d'une insuline chimiquement anormale.

I.2.4 De plus, entre le groupe des sujets "normaux" et les diabétiques "stricto-sensu" existe le groupe des "intolérances aux glucides", ensemble intermédiaire exposé à un risque accru de maladies vasculaires athéromateuses.

I.3 LES COMPLICATIONS DU DIABETE :

Les complications du diabète peuvent se classer en complications aiguës et chroniques.

* des complications aiguës ou métaboliques :

- cétoacidose
- hypoglycémie
- hyperosmolarité

que nous n'étudierons pas ici.

* des complications chroniques dégénératives :

Ces complications sont en principe des conséquences plus ou moins tardives de la maladie diabétique et surviennent après une évolution plus ou moins longues des troubles métaboliques.

Leur mécanisme est vasculaire (microangiopathies, macroangiopathies), et aboutit à plus ou moins long terme à des hypoperfusions tissulaires.

Le désordre glucidique est en partie responsable des complications dégénératives. Certaines d'entre elles sont favorisées par des facteurs génétiques et d'autres par des facteurs associés. Il faut noter l'importance des complications rénales et des complications oculaires.

Les complications dégénératives font le pronostic du diabète : le pronostic à long terme dépend du nombre et de l'importance de ces complications.

La principale possibilité thérapeutique aussi bien dans un but préventif que curatif consiste à équilibrer le mieux possible le diabète ; les thérapeutiques spécifiques des complications dégénératives étant souvent décevantes.

I.4 - ETIOLOGIE DES COMPLICATIONS DEGENERATIVES :

Les mécanismes expliquant les atteintes dégénératives au cours du diabète sont essentiellement vasculaires. Certains de ces mécanismes sont spécifiques de la maladie diabétique, d'autres n'ont que des rapports indirects avec l'affection génétique. On distingue essentiellement parmi ces facteurs vasculaires, la microangiopathie et la macroangiopathie.

I.4.1 LA MICROANGIOPATHIE correspond à l'atteinte des petits vaisseaux (artérioles, veinules, capillaires) qui est hautement spécifique de la maladie diabétique.

Cette pathologie se caractérise par l'épaississement de la membrane basale des capillaires et de la sous-endothéliale des artérioles. Cette microangiopathie lèse essentiellement les capillaires de la rétine, du rein et des fibres nerveuses.

I.4.2 LA MACROANGIOPATHIE ne présente, à l'inverse, aucune spécificité de la maladie diabétique. Cette atteinte des gros vaisseaux n'est autre que l'athérosclérose qui, chez le diabétique, survient plus précocement que chez le sujet normal ; l'accélération des processus d'athérosclérose chez le diabétique est en partie liée à la fréquence accrue des autres facteurs de risques vasculaires et à l'hypertension artérielle, ainsi qu'aux anomalies lipidiques dont les effets athérogènes se potentialisent. La dégénérescence athéromateuse du diabétique ne revet aucune originalité, ni dans sa localisation, ni dans sa gravité. Cependant, elle semble être l'évolution naturelle du diabète, même équilibré. Les troubles métaboliques paraissent jouer un rôle prépondérant dans le développement de cette macroangiopathie qui touche essentiellement les grosses artères (cérébrales, viscérales et périphériques) ainsi que les artères coronaires.

I.4.3 A coté de ces deux mécanismes vasculaires fondamentaux, il convient d'insister sur <u>certains facteurs</u> qui peuvent favoriser l'apparition de complications dégénératives ou accélérer leur évolution. Citons :

- Les infections notamment urinaires, volontiers récidivantes
- la consommation éthylique, par son action toxique sur la fibre nerveuse
- les autres "facteurs de risque" de l'athérosclérose (tabac, hyper-lipoproteinémies, sédentarité...)

L'hypertension artérielle (HTA) et le diabète sont étroitement liés. Près de 30 % de la population diabétique est hypertendue. L'HTA joue un rôle sur les complications micro et macroangiopathique mais l'observance du traitement antihypertenseur chez le diabétique est souvent médiocre en raison des contraintes supplémentaires et des effets indésirables possibles.

La présence simultanée au niveau de chaque appareil de lésions de microangiopathie et de macroangiopathie, l'intervention de facteurs extra-vasculaires, conduisent à étudier les complications, non en fonction de leur mécanisme étiologique, mais en fonction de leur traduction clinique au niveau des différents appareils.

REMARQUE :

Sur le plan thérapeutique :

- en corrigeant les troubles métaboliques, on ne prévient qu'incomplètement l'apparition des complications dégénératives.
- si ces complications ne sont pas proportionnelles à l'importance du trouble glucidique, elles sont toutefois plus fréquentes lorsque le diabète est mal équilibré.

I.5 CLASSIFICATION ANATOMIQUE DES COMPLICATIONS VASCULAIRES DU DIABETIQUE :

I.5.1 Complications cardio-vasculaires

Elles viennent en tête par leur fréquence et constituent la première cause de mortalité du diabétique.

Elles sont les témoins d'une athérosclérose précoce qui lèse surtout les artères cérébrales et périphériques, la vascularisation myocardique, et retentit sur les résistances vasculaires périphériques.

Il s'agit de :

- l'HTA
- l'insuffisance coronarienne
- l'insuffisance cardiaque
- les atteintes artérielles

I.5.2 Les complications rénales

Elles tiennent une large place dans l'évolution et la sévérité du diabète. Elles sont constituées d'une association de :

- lésions de microangiopathie qui touchent essentiellement le glomérule
- lésions de macroangiopathie qui lèsent l'artère rénale
- d'agressions infectieuses répétées qui détruisent progressivement les tissus interstitiels.

I.5.3 Les complications neurologiques

- neuropathies périphériques
- atteinte du système nerveux végétatif

I.5.4. Les complication oculaires

L'œil est un organe cible, la complication la plus importante est la rétinopathie diabétique qui peut aboutir à la cécité. La rétinopathie diabétique se caractérise au début par des dilatations veineuses, des microanévrismes, puis par des hémorragies ponctuées accompagnées de petits exsudats brillants, plus tard par l'apparition d'exsudats denses, profonds, par une néovascularisation et par un voile de rétinite proliférante.

II - RADICAUX LIBRES ET DIABETE :

Les radicaux libres, en initiant la dégradation oxydative des acides gras polyinsaturés circulants et cellulaires, engendrent la destruction des membranes péricellulaires et intracellulaires et jouent ainsi un rôle déterminant dans les pertubations de la rhéologie sanguine et dans l'altération de la paroi des vaisseaux. Pour cette raison, ils sont impliqués dans les complications atheromateuses et microvasculaires du diabète. Nombreuses sont les publications qui rapportent des travaux s'intéressant au problème des radicaux libres chez les diabétiques. Voyons quelles modifications sont observées et ce qu'elles apportent dans la compréhension des complications dégénératives du diabète, et en particulier de la rétinopathie diabétique.

II.1 LES RADICAUX LIBRES ET LES MARQUEURS DE LA LIPOPEROXYDATION CHEZ LES DIABETIQUES :

II.1.1 GODIN et coll. 1988 (20) ont mis en évidence une augmentation de la production de MDA (marqueur indirect de la lipoperoxydation) en réponse à une exposition *in vitro* au peroxyde d'hydrogène, par des globules rouges de diabétiques de type I et de type II (tableau II).

Peroxide-induced MDA production in red cells from control subjecs and Type I or Type II diabetic patients with varying degrees of diabetic complications. [MDA levels resulting from exposure of red cells to hydorgen peroxide (7.5 mM) are given in units of nanomoles/gram hemoglobin and are expressed as mean ± SD].

	Controls (n = 19)	Diabetics	
		Type I (n = 17)	Type II (n = 22)
MDA level	305 ± 94	345 ± 117*	383 ± 112*
	Diabetic complications		
	None (n = 7)	Moderate (n = 17)	Severe (n = 10)
MDA level	302 ± 60	366 ± 124*	433 ± 99*

De plus il existe une corrélation positive entre l'importance de l'oxydation des lipides des globules rouges et la sévérité des complications secondaires du diabète.

II.1.2 UZEL et coll. 1987 (57) se sont eux aussi intéressés à la lipoperoxydation chez des diabétiques avec et sans rétinopathie en mesurant différents paramètres tels que :

- le taux de peroxydes lipidiques erythrocytaires
- le taux de glutathion erythrocytaire
- l'activité de la glutathion peroxydase
- le taux de peroxydes lipidiques dans le plasma

Les résultats regrougés dans le tableau IV révèlent globalement une augmentation de la lipoperoxydation plasmatique et erythrocytaire, accompagnée d'un effondrement du système de défense dépendant du glutathion chez les diabétiques étudiés. Cette étude permet également d'observer que le taux plasmatique de lipoperoxydes est plus élevé chez les individus diabétiques porteurs d'une rétinopathie que chez les patients diabétiques non atteints.

Tableau III Characteristics of subjects

Subjects	n	Age (years)	Duration years)	Fasting plasma glucose (mg/dl)	HbA_{1c} (%)	Plasma cholesterol (mg/dl)	Plasma triglyceride (mg/dl)
Controls	25	50.7 ± 10.2	–	92.7 ± 7.3	6.9 ± 1.2	215.8 ± 50.2	127.5 ± 67.2
Diabetics	40	52.4 ± 13.1	11.2 ± 4.5	191.2 ± 74.2[a]	11.5 ± 1.9[a]	253.6 ± 56.1[b]	177.8 ± 89.6[c]
without retinopathy	25	51.5 ± 14.9	10.5 ± 4.1	185.5 ± 66.1[a]	11.2 ± 1.9[a]	241.4 ± 53.8	160.7 ± 81.1
with retinopathy	15	54.6 ± 7.2	12.3 ± 5[£]	194.3 ± 87.0[a,£]	11.7 ± 1.9[a,£]	274.2 ± 55.7[a,£]	206.7 ± 98.9[b,£]

Values represent means ± S.D.; in comparison with controls; [a]p < 0.001, [b]p < 0.01, [c]p < 0.02; in comparison between those with and without retinopathy; [£]p > 0.05

Tableau IV Erythrocyte lipid peroxide and glutathione levels and glutathione peroxidase activities as well as plasma lipid peroxide levels in patients with diabetes mellitus

	Erythrocyte lipid peroxide (nmol MDA/g Hb/h)	Erythrocyte glutathione (mg/100 ml)	Glutathione peroxidase (units/mg Hb)	Plasma lipid peroxide (nmol MDA/ml)
Controls (n = 25)	559.3 ± 98.4	62.2 ± 8.7	14.8 ± 2.8	3.0 ± 0.43
Diatetics (n = 40)	760.3 ± 132.2*	53.9 ± 10.7 **	11.0 ± 3.4*	4.4 ± 0.99*
without retinopathy (n = 25)	725.8 ± 117.3*	55.8 ± 10.1***	12.2 ± 3.6**	4.0 ± 0.77*
with retinopathy (n = 15)	818.0 ± 163.9*,[c]	50.6 ± 9.8*,[d]	9.0 ± 3.2*,[b]	5.2 ± 0.84*,[a]

Values represent means ± S.D. ; in comparison with controls : *p < 0.001, **p < 0.01, ***p < 0.02 ; in comparison between those with and without retinopathy : [a]p < 0.001, [b]p < 0.01, [c]p < 0.05, [d]p > 0.05

II.1.3 Des résultats similaires ont été obtenus par l'équipe de CHOPRA en 1989 (7). Cette étude s'intéresse à des patients diabétiques ayant une rétinopathie, à des patients diabétiques n'ayant pas de rétinopathie et à des témoins appariés. Entre les patients diabétiques et les témoins, cette étude met en évidence :

- une augmentation significative de l'activité des radicaux libres et du MDA (reflet de l'importance de la peroxydation lipidique) (9,9±2,6 versus 8,3±1,8 nm/ml p < 0,02) mais pas d'augmentation des diènes conjugués (0,62±0,18 versus 0,56±0,05).

- une diminution significative du statut réducteur à la fois extracellulaire (groupements thiols de l'albumine plasmatique : 435±49 versus

481±35 µmol/l p < 0,01) et intracellulaire exprimé par l'activité de la SOD (35±9 versus 44±9 µg/ml p < 0,01)

Ainsi, l'activité des radicaux libres est majorée dans l'état diabétique et il est suggéré que l'augmentation des peroxydes lipidiques formés participe implicitement à la rétinopathie diabétique observée chez des diabétiques.

II.2 RADICAUX LIBRES ET MARQUEURS DE LA GLYCEMIE CHEZ LES DIABETIQUES :

II.2.1 Etude *in vitro*

HICKS et coll. en 1988 (23) ont étudié la catalyse par le glucose et le collagène glycosylé, de la lipoperoxydation, de vésicules préparées à partir d'acide linoléique et d'acide arachidonique.

Pour suivre la cinétique de production des hydroperoxydes, ils ont utilisé des concentrations croissantes de glucose et de collagène glycosylé.

Figure n° 12 : Résultats (23)

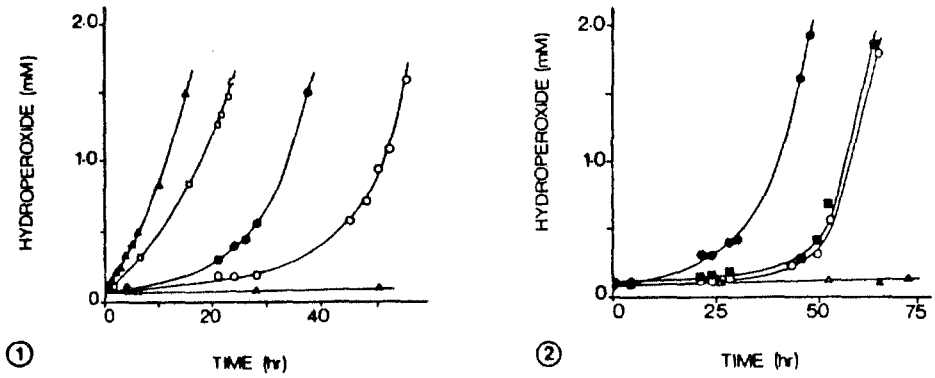


Figure 1 Kinetics of glucose-induced hydroperoxide production in linoleic/arachadonic acid membranes at 40°C. Bulk fatty acid concentration, 7.2mM. (△) no, (○) 2mM, (●) 5mM, (□) 13mM, (▲) 19mM glucose added at t=0.

Figure 2 Kinetics of hydroperoxide production in linoleic/arachadonic acid membranes induced by collagen glycosylated to varying extents. Temperature, 40°C. Bulk fatty acid concentration, 7.2mM. (△) no collagen, (○) 5.3mg control collagen (3.8mg HMF/mg collagen), (■) 2.3mg and (●) 5.3mg nonenzymically glycosylated collagen (7.4 nmol HMF/mg collagen) added at t=0.

En l'absence de glucose, aucune augmentation des hydroperoxydes n'est observée pendant la durée de l'étude. Quand le glucose est apporté, il y a un temps de latence, puis une rapide progression de la synthèse des peroxydes lipidiques. La durée de la période de latence est inversement proportionnelle à la quantité de glucose ajoutée. Le taux maximal de peroxydes lipidiques est lui, par contre, indépendant de la quantité de glucose utilisée pour initier la réaction.

Des cinétiques similaires sont observées avec les vésicules incubées avec du collagène glycosylé. La durée de la période de latence est inversement propotionnelle à l'importance de la glycosylation et non pas à la quantité totale de glycogène apportée. Dans tous les cas le taux final de peroxydes lipidiques est indépendant de l'importance de la glycosylation.

De plus une lyse des vésicules est objectivée ainsi qu'une décomposition des hydroperoxydes.

Il existerait une oxydation réciproque entre les hydrates de carbone ou les protéines glycosylées et les hydroxydes lipidiques.

Les hydroperoxydes lipidiques qui existent en faible quantité au départ, sont capables de réagir en présence de glucose ou de glycogène glycosylé respectivement sous forme enolisée. Il y a alors production de formes capables d'entraîner à leur tour une réaction de peroxydation en chaîne aboutissant à une forte production d'hydroperoxydes. Quand environ 3 % de la quantité totale des lipides contenus dans les vésicules se retrouvent sous forme d'hydroperoxydes, les vésicules commencent à se lyser.

D'après les auteurs, une augmentation similaire des hydroperoxydes au niveau des membranes des cellules endothéliales pourrait être responsable de l'augmentation de la perméabilité capillaire observée dans la microangiopathie diabétique.

II.2.2 Etude clinique chez des diabétiques

JAIN et coll. en 1989 (25) se sont eux aussi intéressés à une éventuelle corrélation entre hyperglycémie et peroxydation lipidique, en travaillant cette fois sur des globules rouges de diabétiques.

Ils se sont livrés :

* à une évaluation quantitative de la peroxydation lipidique de membranes de globules rouges provenant d'échantillons frais de sang de sujets diabétiques.

* à la recherche d'une corrélation entre cette peroxydation lipidique et le taux d'hémoglobine glycosylée (HbA_{1c}) qui est un bon reflet de la glycémie au cours des 3 à 4 mois précédant le dosage.

Ils ont obtenu les résultats suivants :

→ une augmentation significative de la quantité de MDA, produit final de la peroxydation lipidique, au niveau des globules rouges appartenant aux sujets diabétiques en regard du taux de MDA des globules rouges de sujets témoins non diabétiques.

→ l'analyse chromatographique des lipides extraits de la membrane des globules rouges de diabétiques révèle la présence d'un lipide particulier absent dans les globules rouges de non diabétiques. Ce même lipide a été obtenu *in vitro*, en traitant des globules rouges de sujets non diabétiques par du MDA. Ceci suggère que les globules rouges de diabétiques subissent *in vivo*, une peroxydation lipidique importante.

→ une corrélation positive et significative entre le taux de MDA des globules rouges provenant de patients diabétiques et le taux de HbA_{1c}. Ceci suggère que le degré de peroxydation lipidique de la membrane des globules rouges est directement lié à l'importance de l'hyperglycémie chez les diabétiques.

Au total le degré de l'hyperglycémie est corrélé avec l'accumulation de MDA, et donc à la peroxydation lipidique des membranes des globules rouges des patients diabétiques. Et, selon les auteurs la peroxydation lipidique, des membranes pourrait jouer un rôle dans :

- l'augmentation de la coagulabilité
- l'altération de l'organisation des phospholipides
- la réduction de la demi-vie des globules rouges des patients diabétiques
- les dommages cellulaires qui surviennent dans différents tissus des patients diabétiques.

Toutes ces perturbations contribueraient aux troubles de la microcirculation et aux complications diabétiques.

II.3 ENZYMES ANTIOXYDANTES DANS L'ETAT DIABETIQUE

Partant de l'hypothèse du rôle nocif des radicaux libres oxygénés dans les complications du diabète, différentes études ont été conduites, études relatives aux mécanismes antioxydants de défense contre ces radicaux libres. Elles portent essentiellement sur les systèmes enzymatiques de défense, principalement composés de :

- la superoxyde dismutase (SOD)
- la catalase (CAT)
- la glutathion peroxydase (GPX) dont l'action est couplée à la glutathion réductase (GRD)

II.3.1 Travaux réalisés sur des rats

Dans le diabète expérimental induit chez le rat par la streptozocine ou l'alloxane, l'activité des enzymes est différemment perturbée selon les tissus.

→ un abaissement d'activité de la SOD a été rapporté par CROUCH et coll. 1978 (12) dans les erythrocytes et dans la rétine et par LOVEN et coll. 1986 (30) dans le foie, les reins et les erythrocytes.

→ GODIN et coll. 1988, (20) ont trouvé une augmentation de la SOD et de la CAT dans le pancréas et une diminution dans les reins et le foie. Ils ont en outre observé une augmentation de l'activité de la GPX dans les reins et une diminution dans le foie, tandis que celle de la GRD était augmentée dans le pancréas et le coeur.
Les perturbations observées sont identiques chez les rats rendus diabétiques (et ceci quel que soit l'agent chimique utilisé : streptozocine ou alloxane) et chez les rats spontanément diabétiques (rats BB Wistar). Ceci suggère que les changements observés sont caractéristiques de l'état diabétique non contrôlé.

Tableau V (20) :

Activities of catalase (CAT), Cu,Zn superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-PX) and glutathione reductase (GSSG-RD) in control (C), diabetic (D) and insulin-treated diabetic (T) rats. [All values are given as mean ± SD, with n = 7 in each experimental group].

	CAT[1]			SOD[2]			GSH-PX[3]			GSSG-RD[3]		
	C	D	T	C	D	T	C	D	T	C	D	T
Pancreas	0.12 (±0.05)	0.65* (±0.28)	0.08 (±0.05)	678 (±115)	884* (±188)	675 (±213)	5.61 (±1.32)	6.63 (±1.83)	5.76 (±1.71)	1.67 (±0.17)	2.01* (±0.25)	1.58 (±0.16
Heart	0.09 ±0.03	0.87* ±0.61	0.06 ±0.02	745 (± 62)	698 (±113)	768 (±105)	3.72 (±0.99)	3.69 (±0.36)	4.23 (±1.02)	0.50 (±0.08)	0.67* (±0.04)	0.47 (±0.04
Kidney	2.64 (±0.47)	1.70* (±0.36)	2.37 (±0.76)	1668 (±344)	1301* (±113)	1381 (±182)	4.41 (±0.78)	6.15* (±0.78)	4.32 (±1.35)	5.04 (±0.33)	5.12 (±0.43)	4.93 (0.36)
Liver	22.93 ±2.87	14.63* ±6.96	19.30 ±3.58	3392 (±680)	2585* (±306)	3055 (±342)	29.88 (±3.69)	19.80* (±8.67)	29.58 (±3.48)	3.03 (±0.26)	2.97 (±0.52)	2.82 (±0.25

*P<0.05, significantly different from control value (one way analysis of variance); [1] K/g wet wt; [2] Units/g wet wt; [3] μmol NADPH/min/g wet wt.

II.3.2 Travaux portant sur l'activité des enzymes antioxydantes chez le sujet diabétique

Les études récentes sur l'activité de la SOD, GPX, CAT chez des sujets atteints de diabète ont elles aussi donné des résultats divergents (27), (7), (53), (57), (37), (21), (20).

* THO et coll. 1988 (53) ont constaté chez 32 sujets diabétiques un abaissement de l'activité de la SOD et de la GPX dans les erythrocytes et l'existence d'une corrélation négative entre le degré d'équilibre du diabète et l'activité de la SOD. Ils n'ont pas trouvé de relation avec la durée d'évolution du diabète.

* Des résultats comparables ont été obtenus par HÄGGLOF et coll 1983 (21) qui, dans une étude portant sur 9 sujets de 8 à 16 ans, ont observé un abaissement des activités de SOD et GPX dans les erythrocytes mais pas dans les lymphocytes.

Tableau VI (21)

Enzyme analysis in erythrocytes.

CuZn superoxide dismutase U/mg haemoglobin	Catalase U/mg haemoglobin	Glutathione peroxidase U/mg haemoglobin
Juvenile diabetes		
51.1 ± 2.5	146 ± 20	16 ± 4.5
(n = 9)	(n = 9)	(n = 9)
Controls		
57.6 ± 4.1	153 ± 14	20.6 ± 6.0
(n = 21)	(n = 21)	(n = 17)
$P < 0.001$	n. s.	$P < 0.05$

The means and the standard deviations are given. The figures on the lowest line give the results of statistical analysis of the mean values of the patients compared to the means of the controls by double-tailed Student's *t*-test. n. s. = not significant.

Tableau VII (21)

Superoxide dismutase analysis in lymphocytes.

	CuZn superoxide dismutase U/mg protein	Mn superoxide dismutase U/mg protein
Juvenile diabetes	138 ± 40	3.9 ± 2
	(n = 8)	(n = 8)
Controls	143 ± 30	4.4 ± 1.4
	(n = 21)	(n = 21)
	n. s.	n. s.

The means and the standard deviations are given. The figures on the lowest line give the results of statistical analysis of the mean values of the patients compared to the means of the controls by double-tailed Student's *t*-test. n. s. = not significant.

* NATH et coll. 1984 (37) et GODIN et coll. 1988 (20) ont rapporté également une diminution de l'activité de SOD. En revanche, ces auteurs n'ont trouvé aucune variation de la GPX erythrocytaire, contrairement à MATKOVICS et coll. (33) qui ont noté une augmentation de l'activité de cette enzyme.

* D'autre part ASAYAMA et coll. (1) ont décrit, chez 21 jeunes diabétiques, dont les âges ne sont pas précisés, une augmentation isolée de l'activité de la CuZn-SOD dans les erythrocytes sans modification de la CAT, ni de la GPX.

* JOS et coll. 1990 (27) a mesuré les activités de la SOD, de la GPX et de la GRX dans les globules rouges de 214 jeunes diabétiques et 37 sujets témoins. Les malades ont été répartis en groupes et sous-groupes en fonction du sexe, de l'âge, de la durée de la maladie, de l'existence de complications du diabète et d'antécédents familiaux de risques athérogènes. L'analyse des données a porté sur les variations des activités enzymatiques selon l'équilibre du diabète et le taux plasmatique des diverses fractions lipidiques.

Dans cette étude, les résultats montrent que les activités de la SOD, de la GPX et de la GRX chez les jeunes diabétiques sont comparables à celle du groupe témoin. Au surplus, dans la population des malades étudiés, aucune corrélation significative n'a été observée entre les activités enzymatiques et le degré de contrôle métabolique ou la durée d'évolution du DID.

La seule anomalie constatée est la diminution de la GPX chez les sujets porteurs d'une rétinopathie.

Tableau VIII (27)

– Activités enzymatiques érythrocytaires en fonction de l'âge et du sexe

	N	*SOD (unités/mg Hb)*	*GRD (nmol/min/mg Hb)*	*GPX (nmol/min/mg Hb)*
A. Sujets témoins				
Filles de 2 à 12 ans	10	1,69 ± 0,14	4,28 ± 0,46	6,64 ± 2,04
Garçons de 2 à 12 ans	7	1,88 ± 0,20	5,15 ± 1,70	5,92 ± 0,74
Filles + garçons de 2 à 12 ans	17	1,76 ± 0,19	4,64 ± 1,18	6,34 ± 1,64
Sujets féminins de 12 à 25 ans	14	1,65 ± 0,15	4,07 ± 0,85	8,08 ± 1,81
Sujets masculins de 12 à 25 ans	6	1,54 ± 0,13	3,58 ± 0,93	6,86 ± 0,36
Ensemble des sujets de 12 à 25 ans	20	1,63 ± 0,15	3,93 ± 0,88	7,72 ± 1,61
B. Sujets atteints de diabète insulino-dépendant				
Filles de 2 à 12 ans	35	1,71 ± 0,26	4,58 ± 0,77	6,66 ± 1,39
Garçons de 2 à 12 ans	41	1,73 ± 0,19	4,00 ± 0,86	6,23 ± 1,72
Sujets féminins de 12 à 25 ans	75	1,63 ± 0,17	4,09 ± 0,93	7,45 ± 1,80
Sujets masculins de 12 à 25 ans	63	1,62 ± 1,16	4,03 ± 1,74	6,72 ± 1,92

Tableau IX (27)

– Activités enzymatiques érythrocytaires en fonction de divers paramètres

A) Antécédents familiaux de diabète ou de maladies athérogènes					
Antécédents	N	Age (m ± D.S.)	SOD (unités/mg Hb)	GRD (nmol/min/mg Hb)	GPX (nmol/min/mg Hb)
Néant	102	14,3 ± 6,8	1,65 ± 0,19	3,90 ± 0,83	7,04 ± 1,75
DID	68	14,1 ± 3,6	1,66 ± 0,22	4,33 ± 0,75	6,72 ± 1,97
Autres maladies athérogènes *	44	14,6 ± 6,1	1,65 ± 0,17	4,32 ± 0,91	6,75 ± 1,78
* Hypertension artérielle, diabète non-insulino-dépendant, hyperlipidémies					
B) Durée du diabète					
de 0,1 à 1 an	32	10,8 ± 5,5	1,76 ± 0,26	4,24 ± 0,92	6,40 ± 1,91
de 1 à 5 ans	91	14,1 ± 7,2	1,63 ± 0,16	4,06 ± 0,87	6,72 ± 1,83
de 5 à 20 ans	91	15,5 ± 3,4	1,65 ± 0,18	4,19 ± 0,81	7,18 ± 1,71
C) Equilibre métabolique					
HbA1c < 7 %	49	14,0 ± 6,6	1,67 ± 0,22	3,86 ± 0,69	6,71 ± 1,76
7 < HbA1c < 9 %	69	13,6 ± 5,1	1,65 ± 0,17	4,16 ± 0,86	6,90 ± 1,76
HbA1c > 9 %	96	14,7 ± 3,4	1,66 ± 0,19	4,28 ± 0,89	6,94 ± 1,88

Tableau X (27)

– Activités enzymatiques érythrocytaires chez les sujets diabétiques insulino-dépendants porteurs d'une rétinopathie

Sujets DID	N	Age (m ± D.S.)	SOD (unités/mg Hb)	GRD (nmol/min/mg Hb)	GPX
+ rétinopathie	7	17,2 ± 2,8	1,68 ± 0,16	4,08 ± 1,27	5,70 ± 2,10 *
sans rétinop.	8	17,7 ± 2,2	1,64 ± 0,19	3,90 ± 0,97	8,70 ± 2,03

* $p < 0,02$

* Ce résultat de JOS et coll. est à rapprocher de celui de UZEL et coll. 1987 (57). Ces auteurs ont trouvé un abaissement de la GPX chez 40 sujets atteints de diabète de type II avec une réduction maximale dans le groupe des malades porteurs d'une rétinopathie. Cette dernière observation pourrait suggérer l'existence d'une relation entre le développement des complications microangiopathiques et la présence en excès des radicaux libres et des lipides peroxydés.

Tableau XI (57)

Characteristics of subjects

Subjects	n	Age (years)	Duration years)	Fasting plasma glucose (mg/dl)	HbA_{1c} (%)	Plasma cholesterol (mg/dl)	Plasma triglyceride (mg/dl)
Controls	25	50.7 ± 10.2	–	92.7 ± 7.3	6.9 ± 1.2	215.8 ± 50.2	127.5 ± 67.2
Diabetics	40	52.4 ± 13.1	11.2 ± 4.5	191.2 ± 74.2[a]	11.5 ± 1.9[a]	253.6 ± 56.1[b]	177.8 ± 89.6[c]
without retinopathy	25	51.5 ± 14.9	10.5 ± 4.1	185.5 ± 66.1[a]	11.2 ± 1.9[a]	241.4 ± 53.8	160.7 ± 81.1
with retinopathy	15	54.6 ± 7.2	12.3 ± 5[£]	194.3 ± 87.0[a,£]	11.7 ± 1.9[a,£]	274.2 ± 55.7[a,£]	206.7 ± 98.9[b,£]

Values represent means ± S.D.; in comparison with controls; [a]$p < 0.001$, [b]$p < 0.01$, [c]$p < 0.02$; in comparison between those with and without retinopathy; [£]$p > 0.05$

Tableau XII (57)

Erythrocyte lipid peroxide and glutathione levels and glutathione peroxidase activities as well as plasma lipid peroxide levels in patients with diabetes mellitus

	Erythrocyte lipid peroxide (nmol MDA/g Hb/h)	Erythrocyte Glutathione (mg/100 ml)	Glutathione peroxidase (units/mg Hb)	Plasma lipid peroxide (nmol MDA/ml)
Controls (n = 25)	559.3 ± 98.4	62.2 ± 8.7	14.8 ± 2.8	3.0 ± 0.43
Diabetics (n = 40)	760.3 ± 132.2*	53.9 ± 10.7**	11.0 ± 3.4*	4.4 ± 0.99*
without retinopathy (n = 25)	725.8 ± 117.3*	55.8 ± 10.1***	12.2 ± 3.6**	4.0 ± 0.77*
with retinopathy (n = 15)	818.0 ± 163.9*,c	50.6 ± 9.8*,d	9.0 ± 3.2*,b	5.2 ± 0.84*,a

Values represent means ± SD; in comparison with controls; *$p < 0.001$, **$p < 0.01$, ***$p < 0.02$; in comparison between those with and without retinopathy; [a]$p < 0.001$, [b]$p < 0.01$, [c]$p < 0.05$, [d]$p > 0.05$

* **REMARQUE** :

Toutes ces discordances appellent certains commentaires. Dans la plupart des travaux, les études ont porté sur des échantillons de dimension réduite comprenant des sujets d'âges très différents et mêlant souvent enfants, adolescents, adultes. De plus, l'hétérogénéité de ces groupes est accentuée par l'absence habituelle de distinction en fonction de la durée du diabète, de l'équilibre métabolique et de l'existence éventuelle de complications.

II.4 RADICAUX LIBRES ET AGREGATION PLAQUETTAIRE CHEZ LE DIABETIQUE

II.4.1 Etudes conduites sur des rats

SAMOVA et coll. 1988 (49) ont réalisé une étude à différents stades de diabètes induits par la streptozocine chez des rats, à la recherche d'un lien entre :

- d'une part le déséquilibre du rapport TxA_2/Prostacycline et les peroxydes lipidiques
- d'autre part le déséquilibre du rapport TxA_2/Prostacycline et l'agrégation plaquettaire anormale chez ces mêmes animaux.

* L'expérience a été conduite sur des rats âgés de 2 mois au départ de l'étude. Les animaux ont été divisés en quatre groupes :

- I : 12 rats âgés de 4 mois, témoins
- II : 12 rats âgés de 4 mois, avec un diabète évoluant depuis 2 mois
- III : 12 rats âgés de 8 mois, témoins
- IV : 12 rats âgés de 8 mois, avec un diabète évoluant depuis 6 mois.

Différents paramètres ont été mesurés (tableau XIII)

Tableau XIII (49)

Lipid peroxides, TXB_2, 6-keto $PGF_{1\alpha}$ and thrombocyte-aggregation changes during early (2 months) and late (6 months) stage of streptozotocin-induced diabetes in rats

	Controls 4 months old	Diabetics 4 months old and 2 months diabetes	Controls 8 months old	Diabetics 8 months old 6 months diabetes
Body weight (g)	340±3.99	252±8.24 $p<0.001$+	406±6.33	358±9.75 $p<0.001$+
Water intake (ml/24 h/100 g b. w.)	8±0.59	19±1.86 $p<0.001$	10±0.86	16±0.88 $p<0.001$
Diuresis (ml/24 h/100 g b. w.)	7±0.54	16.7±1.19 $p<0.001$	8±1.29	15±0.61 $p<0.001$
Serum glucose (mmol/l)	6.75±0.37	18.36±1.17 $p<0.001$	6.0±0.26	18.64±1.01 $p<0.001$
Urine glucose (mmol/24h/100g b. w.)	—	1.57±0.26	—	2.04±0.49
Immunoreactive insulin (mU/l)	31.02±4.85	7.46±1.27 $p<0.001$	30.27±5.62	3.0±1.22 $p<0.001$
Lipid peroxides (nmol/ml	3.78±0.32	18.21±0.98 $p<0.001$	4.77±0.73	20.37±0.96 $p<0.001$
Plasma TXB_2 (pg/ml)	313±35.69	353±42.42 $p>0.10$	284±36.21	404±41.51 $p<0.05$
6-keto $PGF_{1\alpha}$ (pg/ml)	148±15.99	123±36.70 $p>0.10$	121±27.28	103±12.51 $p>0.10$
TXB_2/6-keto $PGF_{1\alpha}$	2.1±0.25	2.9±0.24 $p=0.05$	2.3±0.32	3.9±0.55 $p<0.05$
Thrombin-induced aggregation (%)	44±3.44	62±10.09 $p<0.05$	45±3.49	68±8.98 $p<0.05$
ADP-induced aggregation (%)	45±3.46	47±12.12 $p>0.10$	46±3.69	53±9.22 $p>0.10$

The results are presented as Mean ± SEM.
+Compared to the respective controls.
There was no statistical difference between control animals at the age of 4 and 8 months.

REMARQUE :

PGI et TxA_2 sont estimés par l'intermédiaire de leurs métabolites : 6-kéto-PGT_1 et TxB_2 respectivement.

* Les résultats montrent :

- un déséquilibre significatif entre le thromboxane et la prostacycline : le rapport TxA_2 sur PGI_2 étant augmenté de 38 % au stade I et de 69 % au stade II du diabète.
- une augmentation significative du taux sérique de peroxydes lipidiques aux 2 stades du diabète.
- l'existence d'une très bonne corrélation entre l'augmentation des peroxydes lipidiques et l'augmentation du rapport TxA_2 sur PGI_2 chez les rats diabétiques.
- une augmentation marquée de l'agrégation plaquettaire induite par la thrombine, compatible avec l'augmentation de la peroxydation lipidique.
- tous les changements décrits sont corrélés avec la durée de la maladie.

* Toutes ces données reflètent une anomalie intrinsèque des plaquettes des rats rendus diabétiques. Avec cette étude, les auteurs confirment l'existence d'un lien de causalité entre le comportement anormal des plaquettes et les changements du métabolisme de l'acide arachidonique au niveau des plaquettes, comme l'augmentation de la production de TxA_2.

Pour expliquer cette augmentation de la productionde TxA_2 dans les plaquettes de diabétiques, les auteurs émettent l'hypothèse suivante : la régulation de la phospholipase est altérée dans les plaquettes de diabétiques. L'augmentation des peroxydes lipidiques conduit à une augmentation de l'activité de la phospholipase A_2. L'activité des plaquettes est contrôlée par le taux intracellulaire d'AMP cyclique. Un taux bas d'AMP_c dans les plaquettes de diabétiques et la faible sensibilité de l'adénylate synthétase des plaquettes pour la prostacycline, comme l'avaient observé auparavant BETTERIDGE et coll. en 1982 (2) seraient en faveur d'une augmentation de l'activité de la phospholipase et par voie de conséquence d'une plus grande disponibilité de l'acide arachidinique pour la formation de dérivés de la cyclooxygénase et de la thromboxane synthétase.

* Pour conclure, toujours selon les auteurs, il y aurait deux altérations des plaquettes chez les diabétiques qui contribueraient à l'état d'hyperagrégabilité plaquettaire :

→ une augmentation de la synthèse de produits proagrégants par la lipooxygenase (peroxydes lipidiques, endoperoxydes, TxA_2)

→ une faible sensibilité de l'adénylate cyclase qui est le reflet d'une diminution des capacités de protection des plaquettes contre l'attaque radicalaire.

II.4.2 Etude chez des individus diabétiques

CHOPRA et coll. 1989 (7) se sont intéressés à l'implication possible des radicaux libres dans la maladie microvasculaire chez les diabétiques. Il reprend l'hypothèse que l'augmentation de l'activité radicalaire peut contribuer à la thrombose par l'intermédiaire de ses effets sur l'agrégation plaquettaire et sur la balance des prostanoïdes.

CHOPRA a conduit son étude en incluant 15 diabétiques insulino-dépendants (DRD) ayant une rétinopathie, des DID non porteurs de complications, et des témoins non diabétiques de même âge.

	DID R^+	DID R^-
Age (années)	40 ± 12	34 ± 12
Ancienneté du diabète	19 ± 6	12 ± 6
HbA_1C	10,5 ± 2,0 %	10,1 ± 2,3 %

Les résultats montrent :

- une augmentation significative du taux de plaquettes chez les diabétiques (256 ± 29 vs 221 ± 50 x 10^9/l)
- l'agrégation plaquettaire induite par le collagène est elle aussi majorée chez les individus diabétiques (47 ± 12 vs 32 ± 17 %)
- enfin la prostacycline PGI2 est diminuée chez les diabétiques (54,4 ± 20 vs 102 ± 8 % d'inhibition de l'agrégation).

Ces résultats suggèrent effectivement que les patients diabétiques soumis à un stress oxydatif sont davantage exposés aux problèmes de thrombose macro et microvasculaire due à une hyperréactivité plaquettaire.

CONCLUSION :

De toutes ces études récentes, il ressort que l'état diabétique s'accompagne

* de la présence en excès des radicaux libres oxygénés et des peroxydes lipidiques
* d'une altération des enzymes de défense vis à vis de ces radicaux libres

Par voie de conséquence, les patients diabétiques sont davantage exposés à l'action nocive des radicaux libres qui se traduit par une augmentation de la perméabilité des capillaires après altération des cellules endothéliales de ces vaisseaux d'une part et à une hyperréactivité plaquettaire d'autre part.

Ces troubles sont davantage marqués chez les patients diabétiques porteurs d'une rétinopathie.

3ème partie :

LE ZINC :
METABOLISME ET
PROPRIETES ANTIOXYDANTES

***

PLAN DE LA 3ème PARTIE :

LE ZINC : METABOLISME ET PROPRIETES ANTIOXYDANTES

INTRODUCTION 60

I - Métabolisme du zinc: 60

I. 1. Les sources du Zinc 60
I. 2. Les besoins en Zinc 61
I. 3. Absorption du Zinc 61
I. 3. 1. Facteurs de l'absorption : 61
- facteurs facilitants
- facteurs inhibiteurs
- facteurs compétitifs
I. 3. 2. Absorption proprement dite du Zinc 62
I. 3. 3. Facteurs régulateurs 62
I. 4. Transport plasmatique du zinc 62
I. 5. Répartition du zinc dans les tissus 63
I. 6. Excrétion du zinc 63

II - Rôle biochimique et propriétés antioxydantes du Zinc : 64

II. 1. Zinc et métallo-enzymes 66
II. 2. Zinc et superoxyde Dismutase 66
II. 3. Zinc et métallothionéines 68
II. 4. Zinc et stabilité membranaire 68
II. 5. Zinc et réaction de Fenton 69
II. 6. Zinc et vitamines antioxydantes 69

CONCLUSION 70

LE ZINC : METABOLISME ET PROPRIETES ANTIOXYDANTES

INTRODUCTION :

Le zinc est considéré par l'*Organisation Mondiale de la Santé* comme un des 14 oligoéléments essentiels à la vie animale. L'organisme est incapable de le synthétiser : l'apport alimentaire en zinc doit donc compenser les pertes endogènes et assurer les besoins supplémentaires spécifiques à certains états physiologiques (croissance, gestation, lactation...) afin de maintenir un statut en zinc conforme à l'accomplissement de ses nombreuses fonctions biologiques.

Dans ce chapitre sont prioritairement développées les propriétés antioxydantes du zinc afin de comprendre l'implication de cet oligoélément dans la protection vis-à-vis des radicaux libres et de leurs effets néfastes dans certains états pathologiques.

I - METABOLISME DU ZINC : (16)

I. 1. LES SOURCES DE ZINC :

Elles sont uniquement alimentaires et essentiellement représentées par les protéines animales. Le département américain de l'agriculture a publié des tables de concentrations absolues en zinc de divers aliments. Les aliments les plus riches en zinc sont :

- les viandes
- les volailles
- les fruits de mer

- les céréales non raffinées ont également une teneur en zinc élevée, mais nos farines purifiées en contiennent très peu.

Notons que le lait de vache est plus riche en zinc que le lait maternel. Cependant le zinc du lait de femme serait plus disponible et mieux utilisable.

I. 2. LES BESOINS EN ZINC :

Le zinc est un élément essentiel, à propos duquel l'Académie des Sciences des USA a établi la valeur d'un apport journalier minimal qui est précisé dans le tableau :

	Nv. né				Grossesse, allaitement	
âge (ans	0 à 0,5	0,5 à 1	1 à 10	11 à 15		
zinc mg/j.	3	5	10	15	20	25

Besoins quotidiens en Zn selon l'âge et l'état physiologique chez l'homme.

I. 3. ABSORPTION DU ZINC :

L'absorption du zinc est presque exclusivement intestinale. Seulement 20 à 30% du zinc apporté par l'alimentation sont absorbés.

I. 3. 1. Facteurs de l'absorption :

Ils se divisent en facteurs facilitants, inhibiteurs et compétitifs.

* Facteurs facilitants :

Ils se résument en une ration protéique suffisante. Les protéines d'origine animale, riches en histidine et en cystéine, chélatent le zinc et stimulent ainsi son absorption.
De même, l'absorption est facilitée lorsque le zinc se présente sous une forme ionique ou lié aux métalloprotéines ou aux chélateurs de faible poids moléculaire.

* Facteurs inhibiteurs :

Les chélateurs vrais comme l'EDTA ou la D penicillamine provoquent des carences en zinc. L'acide phytique du pain complet et les phytates alimentaires forment avec le zinc des complexes stables, inabsorbables. Il en est de même pour

certaines fibres alimentaires. Un phénomène identique intervient chez les populations qui pratiquent la géophagie.
Le calcium agirait également comme chélateur du zinc peut-être par un effet de potentialisation des phytates.

* Facteurs compétitifs :

Il s'agit d'interaction avec d'autres oligoéléments. Par exemple le cuivre inhibe l'absorption intestinale du zinc.

I. 3. 2. L'absorption proprement dite :

Elle a lieu principalement dans l'intestin grêle. Il existerait un transporteur intraluminal de faible poids moléculaire, d'origine pancréatique qui lierait le zinc avant la traversée de la barrière en brosse des cellules éphithéliales de la paroi intestinale. Il se formerait ainsi un complexe ligang-zinc appelé : *"Zinc Building Factor"*, qui faciliterait le transport du zinc vers les microvillosités intestinales, transport actif dépendant de l'ATP.

I. 3. 3. Facteurs régulateurs :

Ils sont vraisemblablement multiples :

- Le rôle d'une autorégulation de l'absorption par l'intermédiaire du taux de l'albumine liée au zinc est vraisemblable.
- D'autre part, pour certains auteurs, une métallothionéine qui est synthétisée par les cellules de la muqueuse intestinale et par les hépatocytes, empêche l'absorption par séquestration du zinc nouvellement absorbé et facilite le stockage hépatique en cas d'élévation de la zincémie plasmatique.

I. 4. TRANSPORT PLASMATIQUE DU ZINC :

Le zinc sérique existe chez l'homme sous deux formes :

a) Une forme faiblement liée, échangeable. Il s'agit du zinc lié à deux fractions différentes :
- l'albumine et/ou la transferine (environ 2/3 du zinc sérique)

- les acides aminés, surtout l'histidine et la cystéine (2% du zinc sérique).

Notons que cette captation s'effectue pour ces éléments au niveau de la membrane basale intestinale.

b) Une forme fortement liée, non échangeable, encore appelée métalloprotéine. Il s'agit du zinc lié à l'alpha-2-macroglobuline qui représente environ 1/3 du zinc plasmatique. Contrairement aux précédentes, cette protéine n'intervient pas au niveau de la membrane basale intestinale.

Le foie représente un organe important du métabolisme du zinc. Une fois capté par le foie, le zinc peut subir différentes destinations:

- être stocké dans l'hépatocyte sur des métalloprotéines comme forme de réserve.
- se lier à de très nombreuses métalloprotéines ou métallo-enzymes à zinc afin d'assurer le bon fonctionnement de l'hépatocyte.
- être excrété vers le plasma sous différentes formes (acides aminés, enzymes à zinc).
- être excrété par voie biliaire.

I. 5. REPARTITION DU ZINC DANS LES TISSUS :

Chez un adulte de 70 kg, le zinc total représente environ 2 g. les os, la peau et les muscles contiennent à peu près 70 à 80% du zinc total, mais les concentrations les plus élevées se rencontrent au niveau des yeux et des spermatozoïdes.

Au niveau du sang, le zinc est surtout situé dans les globules rouges (84%, lié à l'anhydrase carbonique).

I. 6. EXCRETION DU ZINC :

- Elle se fait essentiellement par voie digestive, à partir des sécrétions pancréatiques, biliaires et intestinales et à partir de la desquamation des cellules épithéliales de surface de l'intestin. Cependant la plus grande partie du zinc fécal provient du zinc alimentaire non absorbé.

- Elle est également urinaire, représentant à peu près 0,5 mg/24h., le zinc étant fixé sur des acides aminés.

- Enfin la sudation peut, dans les pays chauds ou lors d'efforts physiques intenses, représenter une source de déperdition importante.

Notons que si la voie fécale est prédominante, dans des circonstances pathologiques, la voie urinaire peut être importante au point d'être responsable de carences par fuites.

II - ROLE BIOCHIMIQUE DU ZINC ET PROPRIETES ANTIOXYDANTES :

Le Zinc joue dans l'organisme un rôle fondamental dans la biologie des métallo-enzymes, dans la synthèse protéique, dans le métabolisme des hormones, et enfin dans les phénomènes d'ordre immunologique. Par l'intermédiaire des métallo-enzymes, de certaines métalloprotéines à zinc ou encore par son action directe, le zinc est indispensable à :

- la croissance et la multiplication cellulaire
- la stabilité des membranes des cellules
- la cicatrisation
- l'intégrité cutanée
- aux régulations cellulaires du système nerveux.

Dans le présent travail sont développées plus en détail les propriétés antioxydantes du zinc afin de mieux comprendre l'effet protecteur du zinc vis-à-vis des radicaux libres oxygénés et de leurs effets néfastes (63).

En effet de nombreux travaux montrent que le zinc est impliqué dans le processus de la lutte antiradicalaire. Le modèle le plus utilisé est celui de l'effet protecteur du zinc vis-à-vis des lésions hépatiques induites par l'administration de tétrachlorure de carbone (CCl_4) à des rats. Le CCl_4 est métabolisé au niveau des microsomes hépatiques et donne un radical très toxique qui initiera les changements peroxydatifs des acides gras polyinsaturés des différentes membranes.

- CHVAPIL 1972, (8) a pu faire diminuer, en donnant du zinc, le taux des lipides peroxydés chez des rats traités par CCl_4. Il a aussi étudié l'effet du zinc

sur les microsomes hépatiques *in vitro*, et a constaté une diminution des lipides peroxydés par inhibition de l'enzyme NADPH oxydase.

- KUBOW 1986, (29) et BRAY 1986, (3) ont tous deux confirmé le rôle crucial joué par le zinc dans la stabilisation des biomembranes en constatant une hyperproduction de radicaux libres dans les microsomes hépatiques des rats carencés en zinc.

Plusieurs hypothèses peuvent être émises pour essayer d'expliquer toutes ces constatations concordantes :

1° - Le zinc a un rôle protecteur indirect vis-à-vis des radicaux libres en participant à l'activité de plus de 100 enzymes.

2° - Le zinc module l'activité de la super-oxyde dismutase en étant un des constituants structuraux de la SOD alors que le cuivre est au niveau du site actif de l'enzyme. (Rappelons que la SDO participe à la défense anti-radicalaire).

3° - Le zinc est un facteur régulateur de la synthèse des métallothionéines, protéines riches en groupements SH et qui seraient capables de capturer les radicaux libres.

4° - Le zinc a un effet stabilisateur des membranes. En effet il participe à la cohésion de la bicouche phospholipidique des membranes.

5° - Le zinc protège les groupements thiols et les doubles liaisons des acides gras polyinsaturés de leur interaction avec le fer qui aboutirait à la formation de radicaux libres par la réaction de FENTON ou à la décompartimentation de ce métal.

6° - Le zinc permet une meilleure disponibilité des vitamines antioxydantes.

Chacun de ces différents points est maintenant traité plus en détail.

II. 1. ZINC ET METALLO-ENZYMES :

Le zinc prend part à la constitution de nombreuses enzymes. Ces enzymes participent à une grande variété de processus métaboliques. Le zinc peut être

- soit fortement lié à l'enzyme (c'est une métallo-enzyme)
- soit dialysable (c'est un complexe zinc-enzyme).

La première métallo-enzyme à zinc découverte est l'anhydrase carbonique qui est contenue essentiellement dans les globules rouges ; mais parmi les métallo-enzymes à zinc il y a aussi : les phosphatases alcalines, les carboxylases, les aminopeptidases, les alcools-rétinol-, malate-, lactate-, glutamate- et glyceraldéhyde-3-phosphate déshydrogénases.

Par l'intermédiaire des enzymes dont il fait partie intégrante, le zinc participe :

- à la régulation du métabolisme des hydrates de carbone
- à la formation des anticorps, donc à l'immunité et à la résistance aux infections
- au métabolisme des adipocytes
- à l'activité musculaire
- à la détoxification alcoolique
- à la synthèse des nucléotides

Le zinc jouerait également un rôle important dans :

- l'agrégation plaquettaire
- le métabolime des prostaglandines
- le mécanisme de l'atherogénèse et donc dans les maladies cardiovasculaires

II. 2. ZINC ET SUPEROXYDE DISMUTASE :

Chaque molécule de cette enzyme comporte deux atomes de cuivre et deux atomes de zinc Les quatre atomes sont indispensables à l'activité maximale de l'enzyme (62). Bien que l'activité catalytique de cette enzyme soit assurée essentiellement par les atomes de cuivre, le zinc jouerait un rôle structural non négligeable et pourrait moduler son activité. La figure nous montre le centre actif de cette enzyme, contenant les deux métaux.

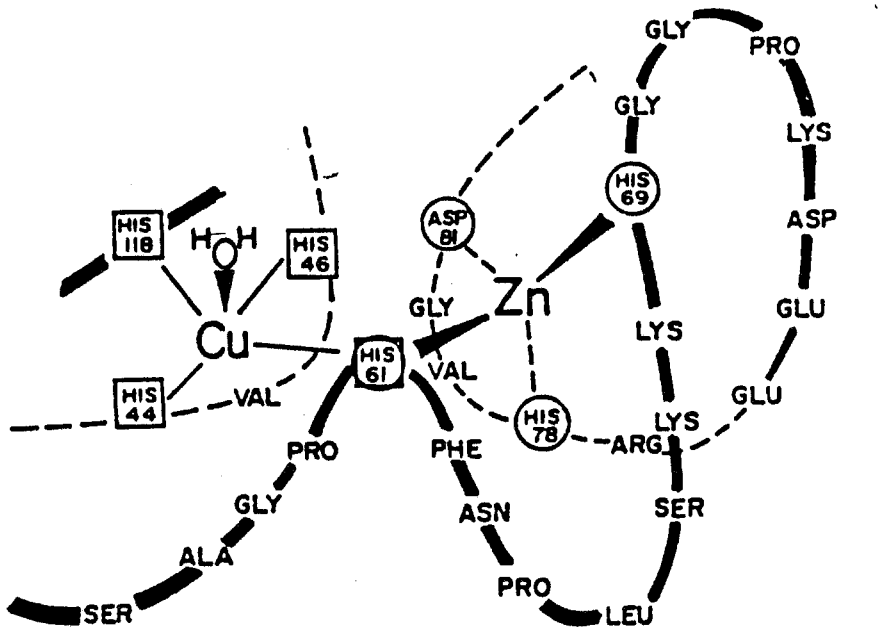


Figure n° 13 : Le site actif de la superoxyde dismutase (nature des liens des métaux au sein de ce centre, d'après PANTOLIANO 1982) (39).

La SOD à zinc et à cuivre est une enzyme impliquée dans la lutte contre les radicaux libres que nous avons développée dans le chapitre des mécanismes de défense anti-radicalaire. Nous allons discuter ici de l'importance du zinc au sein de cette enzyme.

In vitro, l'apoenzyme libre du cuivre et du zinc perd son activité. Le rajout du cuivre permet à l'apoenzyme de récupérer la quasi-totalité de son activité alors que le rajout du zinc permet uniquement une légère augmentation de cette activité (61), (58).

La carence expérimentale en cuivre et l'utilisation de chélateurs du cuivre chez l'animal aboutissent à une diminution importante de l'activité de la SOD (31). En revanche peu d'études ont été faites concernant l'effet de la carence en zinc sur l'activité de la SOD.

II. 3. ZINC ET METALLO-THIONEINES :

Les métallo-thionéines sont des métalloprotéines de bas poids moléculaire qui contiennent 7 molécules de zinc et/ou de cadmium par molécule de protéine. Elles ne contiennent pas d'acides aminés soufrés. Elles participent à la lutte contre les radicaux libres grâce à leur forte teneur en cystéine (-SH). Les groupements -SH représentent les premiers sites de lésions lors d'irradiations cellulaires.

Les métallo-thionéines semblent participer à l'élimination des radicaux hydroxyles et superoxydes produits *in vitro* par le système xanthine-xanthine oxydase (54). Elles constitueraient, selon les mêmes auteurs, un puissant et efficace antagoniste des dommages cellulaires provoqués par la lipoperoxydation.

Des études récentes, utilisant des cultures de cellules hépatiques de rat (10), (11) mettent en évidence le rôle des métallo-thionéines dans la capture des peroxydes organiques. La lipoperoxydation et la formation des radicaux libres qui surviennent lors de l'incubation cellulaire avec le t-butyl-hydroperoxyde ou avec le Me-3 indole sont nettement diminuées en présence de quantités importantes de zinc dans le milieu de culture. De même ces deux paramètres sont inversement proportionnels à la quantité de métallo-thionéines dans le milieu.

THORNALLEY 1985, (55) a montré que la synthèse hépatique des métallothionéines à zinc est induite chez des rats exposés aux rayonnements X et que le taux de SOD est augmenté parallèlement à l'augmentation des métallothionéines et proportionnellement à la durée de l'exposition. D'autre part, il est démontré également que l'administration de grandes quantités de sels de zinc protège les animaux contre l'effet néfaste des radiations (34). Il a également été rapporté que l'administration du zinc dans ces conditions induit la synthèse des métallo-thionéines.

II. 4. STRUCTURE, FONCTION MEMBRANAIRE ET ZINC :

Le zinc joue un rôle important dans le maintien de la structure membranaire et par conséquent dans les fonctions de ces membranes. En effet, une forte proportion du zinc est liée aux protéines, il peut donc avoir une affinité particulière ou une fonction spéciale au niveau des lipoprotéines et des protéines appartenant aux membranes biologiques.

L'effet stabilisateur du zinc sur les lysosomes isolés peut être, en partie tout au moins, dû à l'effet protecteur du zinc vis-à vis de la peroxydation lipidique membranaire (8) car le zinc protège les différents systèmes membranaires contre les dommages peroxydatifs induits par les métaux lourds, par le tétrachlorure de carbone CCl_4 ou encore par une tension importante d'oxygène.

II. 5. ZINC ET REACTION DE FENTON :

Le zinc aurait une action inhibitrice directe sur la réaction de dismutation des ions superoxydes O_2^+ catalysée par le fer. (Réaction de FENTON).

SZEBENI 1988, (51) a étudié les effets du zinc sur la lipoperoxydation de différents systèmes lipidiques incluant des liposomes et des micelles, induite par le fer. De cette étude, il ressort que le zinc protège contre les effets oxydants du fer. Le zinc empêcherait la formation d'un complexe ternaire entre Fe^{2+}, O_2 et la double liaison des acides gras polyinsaturés ; mais dans la mesure où le zinc ne peut pas donner un électron, le complexe ne peut pas poursuivre la formation de peroxyde. La lipoperoxydation s'arrête.

II. 6. ZINC ET VITAMINES ANTIOXYDANTES :

TAYLOR 1988, (52) a étudié l'influence d'un régime carencé en zinc sur les systèmes de défense vis-à-vis des radicaux libres chez les rats. En ce qui concerne les moyens de défense non enzymatiques, il ressort de l'étude que les taux pulmonaires et hépatiques d'alpha tocophérol et d'acide ascorbique sont de façon significative diminués chez les rats carencés en zinc.

De même BUNK 1989,(4) s'est intéressé à l'existence d'une interaction diététique entre zinc et vitamine E. D'après les rélultats de ses travaux, un déficit alimentaire en zinc diminue de façon significative la concentration plasmatique en vitamine E ; le déficit en zinc entraînant une malabsorption des lipides et/ou de la vitamine E qui est liposoluble.

Remarque : Il faut noter qu'un déficit en zinc, dans la mesure où il diminue l'appétit, est responsable d'une diminution de la prise

alimentaire et par voie de conséquence il entraîne une diminution des moyens de défense non enzymatiques vis-à-vis des radicaux libres.

Enfin, le zinc interviendrait également sur le métabolisme de la vitamine A et des bétacartotènes :

- au niveau de la synthèse hépatique de la protéine liant le rétinol au RBP, protéine qui est responsable du transport de cette vitamine.
- au niveau des enzymes réductrices du rétinal en rétinol.

Ceci expliquerait en partie les lésions oculaires observées dans les états de carence en zinc.

CONCLUSION :

Par ses propriétés antioxydantes directes et indirectes, le zinc participe largement à la lutte contre les radicaux libres. Il apparaît maintenant évident que tout déficit concernant cet oligoélément affaiblit considérablement les défenses antiradicalaires de l'organisme vivant considéré.

C'est pourquoi la détermination du statut en zinc des individus exposés à un stress oxydatif dans des contextes pathologiques, tels que l'état diabétique, a fait l'objet de plusieurs travaux récents.

4ème partie :

STATUT EN ZINC ET DIABETE SUCRE

***

PLAN DE LA QUATRIEME PARTIE

STATUT EN ZINC ET DIABETE SUCRE

INTRODUCTION 73

I - Etude du statut en zinc sur des modèles diabétiques animaux : 73

I. 1 Travaux de FAILLA et coll. 1985 73
I. 2 Travaux de RAS et coll. 1988 75

II - Etude du statut en zinc chez des diabétiques humains : 78

II. 1 Cas du diabète de type II : travaux de SJÖGREN 1988 78
II. 2 Cas du diabète insulinodépendant : diverses études récentes 79

CONCLUSION 84

STATUT EN ZINC ET DIABETE SUCRE

INTRODUCTION :

Le zinc est considéré comme un oligoélément jouant un rôle considérable au niveau du métabolisme des glucides et en particulier au niveau de la formation de l'insuline. Le zinc est un facteur indispensable dans la synthèse de l'insuline et dans le processus d'insulinosécrétion, en particulier grâce à son intervention dans la formation des ponts disulfures entre les chaînes polypeptidiques de l'insuline. De plus, le zinc inhiberait l'action de l'insulinase, système protéolytique hépatique.

Plus récemment on s'est intéressé aux propriétés antioxydantes du zinc dans le cadre du diabète et de ses complications.

Ainsi de nombreux auteurs ont exploré le métabolisme du zinc dans l'état diabétique. Leurs résultats ne sont pas toujours concordants. Nous nous proposons dans ce chapitre d'exposer leurs principales conclusions.

I - ETUDE DU STATUT EN ZINC SUR DES MODELES DIABETIQUES ANIMAUX :

I. 1 FAILLA 1985 (15) s'est intéressé à l'influence du diabète spontané sur le statut tissulaire en zinc, cuivre et manganèse chez le rat WISTAR BB (42182). Des études antérieures avaient été effectuées sur des rats rendus diabétiques par la streptozocine. Elles mettaient en évidence des variations du statut de ces différents oligoéléments, mais on ne savait pas si les variations provenaient de la toxicité cellulaire de la streptozocine ou de l'état diabétique.

Dans l'étude de FAILLA 1985, on retrouve les mêmes anomalies des concentrations tissulaires des différents métaux chez les rats spontanément rendus diabétiques par la streptozocine. Les résultats sont regroupés dans les tableaux suivants.

Tableau XIV (15)

INFLUENCE OF THE INSULIN DEFICIENCY ON THE CONCENTRATIONS OF ZINC, COPPER, AND MANGANESE IN VARIOUS TISSUES OF BB/W RAT

		Metal concentration (μg/g dry wt)[d]		
Tissue	Metal	Control (N = 17)	Diabetic (N = 12)	Insulin-treated diabetic (N = 11)
Liver	Zn	99.6 ± 3.0[a]	113.9 ± 2.3[b]	102.4 ± 3.1[a]
	Cu	14.0 ± 0.7[a]	15.9 ± 0.5[b]	14.6 ± 0.6[a]
	Mn	8.6 ± 0.6[a]	16.0 ± 1.1[b]	9.8 ± 0.6[a]
Kidney	Zn	93.4 ± 1.9[a]	114.2 ± 2.7[b]	98.7 ± 2.1[a]
	Cu	29.3 ± 5.0[a]	80.7 ± 7.1[b]	43.3 ± 4.5[c]
	Mn	4.0 ± 0.1[a]	4.7 ± 0.3[c]	3.8 ± 0.2[a]
Intestine	Zn	90.7 ± 2.0[a]	94.4 ± 2.9[a,b]	98.3 ± 1.9[b]
	Cu	8.2 ± 0.5[a,b]	7.3 ± 0.6[a]	9.4 ± 0.4[b]
	Mn	5.0 ± 0.5[a]	5.7 ± 0.5[a]	5.4 ± 0.4[a]
Pancreas	Zn	66.2 ± 3.4[a]	80.2 ± 4.5[b]	76.8 ± 4.9[a,b]
	Cu	7.4 ± 0.4	6.8 ± 0.4	7.2 ± 0.5
	Mn	3.6 ± 0.3[a]	6.3 ± 0.4[b]	4.2 ± 0.4[a]
Testes	Zn	183.8 ± 4.5	177.7 ± 3.1[a]	178.3 ± 4.6[b]
	Cu	15.8 ± 0.4	15.7 ± 0.6	16.0 ± 0.2
	Mn	2.4 ± 0.1[a]	2.7 ± 0.1[b]	2.[illegible] ± 0.1[a]
Bone	Zn	231.4 ± 5.1	238.4 ± 4.8	229.7 ± 5.4

[a–c] Values in a row with different letters as superscripts significantly differ at $\alpha < 0.05$.
[d] Means ± SE.

Tableau XV (15)

CONCENTRATIONS OF ESSENTIAL METALS IN PLASMA FROM CONTROL, SPONTANEOUSLY DIABETIC, AND INSULIN-TREATED DIABETIC BB/W RATS

	Plasma metal concentration (μg/ml)[d]		
Element	Control (N = 17)	Diabetic (N = 12)	Insulin-treated (N = 11)
Zn	1.36 ± 0.04[a]	1.69 ± 0.10[b]	1.63 ± 0.08[b]
Cu	1.20 ± 0.05[a]	1.04 ± 0.05[a]	1.36 ± 0.08[c]
Fe	2.74 ± 0.20	2.68 ± 0.14	2.87 ± 0.17
Ca	102.5 ± 2.1	107.8 ± 2.6	106.4 ± 1.3
Mg	17.6 ± 0.3[a]	16.1 ± 0.6[b]	16.7 ± 0.6[a,b]

[a–c] Values in a row with different letters as superscripts differ at $\alpha < 0.05$.
[d] Means ± SE.

En ce qui concerne le zinc, chez les rats spontanément diabétiques et non traités, on note dans les deux sexes que :

- les concentrations dans le foie, les reins, le pancréas et le plasma sont augmentées.
- la fixation du zinc sur les métallothionéines est augmentée.
- les concentrations dans l'intestin, les testicules et les os ne sont pas affectées.

Le traitement journalier des animaux par l'insuline réduit la concentration en zinc au même niveau que celle des rats non diabétiques, dans le foie et les reins, mais pas dans le pancréas.

Les rats non traités sont également caractérisés par une hyperzincurie.

L'importance des variations des concentrations tissulaires en ces différents oligoéléments, parmi lesquels figure le zinc, semble directement influencée par la durée du diabète.

Globalement , le déficit chronique en insuline résultant de la destruction spontanée des cellules béta du pancréas chez le rat Wistar BB s'accompagne de changements significatifs dans les concentrations tissulaires en zinc et de la quantité de zinc fixée sur les métallothionéines. Les modifications observées, qu'il s'agisse de leur spécificité tissulaire ou de leur importance, sont semblables à celles observées auparavant chez des rats rendus diabétiques chimiquement. Ces résultats démontrent clairement que c'est le déséquilibre endocrinien chronique qui est responsable des modifications du transport et du métabolisme des différents oligoéléments étudiés, et non pas la drogue diabétogène utilisée.

Il serait possible que ces altérations chroniques des taux tissulaires en oligoéléments interviennent dans le développement de complications secondaires associées à long terme au diabète chez les rats diabétiques Wistar BB.

I. 2 RAS 1988 (47) s'est intéressé à l'influence du diabète chronique sur les statuts tissulaire et cellulaire en zinc, cuivre et chrome chez les rats rendus diabétiques par la streptozocine.

Pour chacun des 3 lots, les paramètres mesurés sont :

- les taux plasmatique, hépatique, rénal et musculaire
- les taux dans les globules rouges et les leucocytes.
- l'excrétion urinaire

En ce qui concerne le zinc (tableaux XVI et XVII) les résultats chez les rats diabétiques par rapport aux témoins sont caractérisés par :

- une augmentation marquée des concentrations en zinc dans le foie et le fémur
- une diminution de la concentration en zinc dans les muscles
- une augmentation significative de la concentration en zinc dans les globules rouges et les lymphocytes
- des taux plasmatiques et rénaux en zinc normaux.
- enfin des pertes urinaires en zinc environ 5 fois plus importantes que chez les rats témoins.

Tableau XVI (47)

Zn and Cu concentration in blood constituents from diabetic and control rats

	Mineral	*Diabetic*	*Control*	*p*
Plasma (µmol/l)	Zn	17·86 ± 0·96	16·38 ± 1·1	N.S.
(µmol/l)	Cu	2·64 ± 0·90	2·47 ± 0·7	N.S.
Urine Metal/Creatinine	Zn	9·19 ± 2·70	1·5 ± 0·41	0·001
	Cu	0·98 ± 0·27	0·55 ± 0·18	0·01
Erythrocytes (µmol/lHb) mmol	Zn	180·35 ± 15·00	145·51 ± 14·8	0·01
	Cu	0·014 ± 0·007	0·012 ± 0·005	N.S.
Lymphocytes (10^9 cells)	Zn	5·16 ± 1·4	3·67 ± 0·015	0·001
	Cu	Trace	Trace	N.S.

Tableau XVII (47)

Zn, Cu, Cr concentration in tissues from diabetic and control rats

		μmol/g dry tissue		
Tissue	*Mineral*	*Diabetic*	*Control*	*p*
Liver	Zn	4·02 ± 1·00	2·03 ± 0·58	0·001
	Cu	0·25 ± 0·04	0·16 ± 0·05	0·002
	Cr	0·12 ± 0·03	0·12 ± 0·04	N.S.
Kidney	Zn	5·20 ± 1·35	5·36 ± 1·72	N.S.
	Cu	0·79 ± 0·20	0·71 ± 0·23	N.S.
	Cr	0·42 ± 0·08	0·41 ± 0·10	N.S.
Femur	Zn	7·80 ± 2·10	4·57 ± 1·39	0·001
	Cu	0·28 ± 0·01	0·12 ± 0·01	0·008
	Cr	0·67 ± 0·17	1·00 ± 0·18	0·005
Muscle	Zn	1·21 ± 0·03	1·7 ± 0·1	0·01
	Cu	0·33 ± 0·12	0·2 ± 0·08	N.S.
	Cr	0·045 ± 0·007	0·025 ± 0·002	0·005

Cette étude révèle, elle aussi, des modifications importantes du métabolisme des 3 oligoéléments cités, et en particulier du zinc, chez les rats rendus diabétiques.

Le degré des altérations préalablement énumérées, semble influencé par la sévérité et par la durée de l'état diabétique. Ces modifications ne sont pas la simple conséquence des effets toxiques de la drogue utilisée pour créer l'état diabétique, en accord avec FAILLA 1985 (15).

Il existe une corrélation directe entre les concentrations en zinc dans les globules rouges et les lymphocytes, et les concentrations en zinc dans le foie et les os. Par contre la corrélation est indirecte entre les concentrations en zinc dans les globules rouges et les lymphocytes, et les concentrations dans les muscles.

Ces corrélations permettent de penser que la mesure des taux de zinc dans le plasma, les urines, les lymphocytes de sujets diabétiques peut donner des informations valables sur les concentrations dans les autres tissus.

II - ETUDE DU STATUT EN ZINC CHEZ DES DIABETIQUES HUMAINS

II. 1 Cas du diabète de type II

SJÖGREN en 1988 (48) a tenté d'évaluer le statut en magnésium, potassium et zinc chez 18 diabétiques de type II et a comparé les résultats obtenus avec ceux de témoins sains.

Les concentrations de ces 3 éléments ont été mesurées dans le muscle squelettique, le plasma, les globules rouges et dans les urines de 24 heures.

D'après les résultats obtenus, le métabolisme de ces 3 éléments est perturbé. Les résultats concernant le zinc sont regroupés dans le tableau n° XVIII :

Zinc concentrations in subjects with type II DM (n=18), and healthy controls (n=26)

Values are mean (SD)

	Controls	DM	*p*-value	Confidence interval (95%)
Zn/Muscle (ng/mg FFDS)	247 (23)	231 (29)	<0.05	0.16–31.8
Zn/Erythrocytes (µg/ml)	12.9 (2.3)	12.7 (1.5)	NS	
Zn/Plasma (µg/ml)	0.93 (0.16)	0.83 (0.09)	<0.01	0.016–0.18
Zn/Urine (µg/24 hours)	326 (205)	683 (285)	<0.001	208–506

- les concentrations en zinc sont diminuées dans le plasma et dans le muscle squelettique
- l'excrétion urinaire est augmentée
- les concentrations en zinc dans les globules rouges sont inchangées, ce qui indique un déficit en zinc extracellulaire.

D'après les auteurs, le déficit en zinc pourrait être provoqué par l'importante perte urinaire en zinc ce qui concorde avec des résultats antérieurs.

Pour conclure, cette étude confirme que les concentrations plasmatiques et sériques de Mg, K et Zn ne reflètent pas les concentrations tissulaires de ces mêmes ions. En effet les concentrations plasmatiques et sériques de ces 3 ions ne sont pas corrélées avec leur concentration dans le muscle squelettique ou dans les cellules sanguines circulantes. La détermination du zinc, en particulier dans le plasma, constituerait donc un mauvais moyen de confirmer un déficit en cet élément.

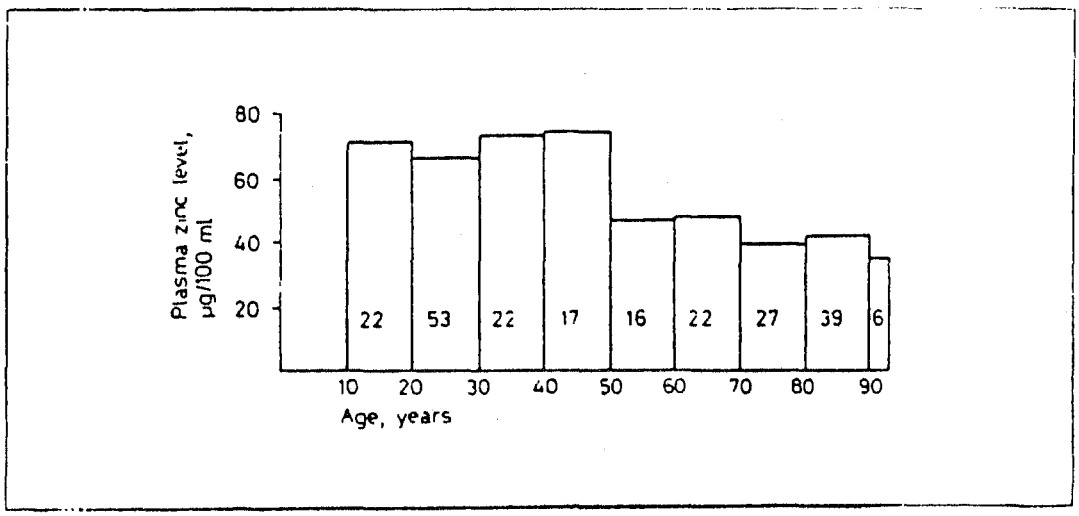
II. 2 Cas du diabète insulinodépendant

MARTIN et coll. 1975 (32) ont trouvé chez les diabétiques un taux de zinc plasmatique et urinaire plus élevé que chez les sujets normaux ; chez la femme c'est surtout le zinc plasmatique qui serait élevé, alors que chez l'homme, ce serait surtout le zinc urinaire ; toutefois, les valeurs sont significativement peu différentes.

Pour CHOOI et coll. 1976 (6), il n'existe pas de différence significative entre les taux de zinc plasmatique des individus sains et ceux des diabétiques, ni entre les sexes, que ce soit pour les individus sains ou diabétiques.

Par ailleurs, ces auteurs constatent que les taux de zinc plasmatique des individus malades et ceux des individus sains restent constants jusqu'à l'âge de 50 ans ; c'est seulement après que les taux diminuent (cf Figure n° 14).

Figure n° 14 : Zincémie des sujets normaux en fonction de l'âge (6)



Un certain nombre d'auteurs comme DAVIES 1968 (13), PIDDUCK 1970 (43), BURNS et FELL 1976 (5) et collaborateurs ont étudié les variations des taux plasmatiques du zinc chez les diabétiques et chez l'homme sain, et ils arrivent à une même conclusion, à savoir que le taux de zinc sérique est normal chez les diabétiques.

Toutefois BURNS et FELL (5) observent que chez ces diabétiques, le zinc est lié d'une manière excessive aux protéines de poids moléculaire élevé.

La comparaison des taux plasmatiques de zinc des diabétiques ne présentant aucune complication et de ceux atteints de complications montre une diminution du taux de zinc chez ces derniers (NOBELS et RILLAERTS 1986 (38)) (cf tableau XIX).

Tableau XIX : Zincémie et albuminémie au cours de complications dégénératives (38)

	Number	Zn (µg/ml) (b)	p (c)	Albumin (g/dl) (b)	p (c
No complications	31	0.658 ± 0.079		4.57 ± 0.38	
Nephropathy	14	0.511 ± 0.110	< 0.001	3.65 ± 0.57	< 0.0
Neuropathy (N⁻) (a)	13	0.577 ± 0.109	< 0.05	4.21 ± 0.74	n. s
Retinopathy (N⁻) (a)	20	0.610 ± 0.092	n. s.	4.32 ± 0.44	n. s
Macro-angiopathy (N⁻) (a)	13	0.598 ± 0.097	< 0.05	4.38 ± 0.36	n. s

(a) N⁻ = without nephropathy.
(b) Mean ± SD.
(c) Comparison with patients without complications.

Dans cette étude réalisée chez 45 diabétiques insulino-dépendants et 40 non insulino-dépendants, on constate que ceux atteints de néphropathie montrent une diminution du taux de zinc, diminution associée à une baisse de la concentration plasmatique d'albumine. Par contre les autres complications neurologiques, macroangiopathiques et les rétinopathies révèlent toutefois des taux d'albumine normaux parallèlement à l'hypozincémie.

Les concentrations plasmatiques d'une vingtaine d'oligoéléments, dont le zinc, ont été mesurées par WARD et coll. 1984 (59) chez 32 diabétiques traités par l'insuline, chez 55 diabétiques non traités par l'insuline et chez 30 individus témoins non diabétiques. Les diabétiques traités par insuline ont un taux plasmatique en zinc significativement inférieur à celui des diabétiques non traités par insuline et à celui des témoins non diabétiques.

HAGGLOF et coll. (21) ont montré en 1983 que des enfants, chez lesquels on venait de découvrir un diabète insulino-dépendant, avaient des concentrations sériques en zinc abaissées. Ces valeurs augmentaient progressivement au cours du premier mois de traitement par l'insuline, jusqu'à atteindre des taux normaux. Tous les enfants avaient une hyperzincurie. Au cours de leurs travaux, ces auteurs ont révélé que le métabolisme anormal du zinc semblerait jouer un rôle dans la pathogénèse des complications diabétiques.

MELCHIOR en 1989 (35) a conduit une étude rétrospective sur 26 patients (14 hommes et 12 femmes) chez lesquels on venait également de découvrir récemment un diabète insulino-dépendant, dans le but de déterminer les variations de la zincémie à la date du diagnostic, après 1, 3, 6, 12 et 24 mois, soixante-douze personnes saines ont servi de témoins (36 hommes et 36 femmes). Les résultats sont regroupés dans les tableaux XX et XXI.

Tableau XX (35)

Plasma zinc, serum albumin, body weight and age in 72 normal subjects (36 males and 36 females)

	Sex	Median	95% confidence limits of median	Range	
Plasma zinc (μmol l^{-1})	M	14.43	13.76–15.49	10.20–17.09	
	F	12.50	11.92–12.85	10.82–17.12	*
Serum albumin (μmol l^{-1})	M	588	556–608	333–676	
	F	579	556–598	215–682	NS
Weight (kg)	M	78	74–80	58–99	
	F	58	54–62	46–84	*
Age (years)	M	37	33–93	20–66	
	F	43	36–47	23–55	NS

* $P < 0.001$ (between sexes). NS = not significant.

Tableau XXI (35)

Plasma zinc, serum albumin, body weight, HbA1c, insulin dose per kg body weight (ID/BW), C-peptide and insulin antibodies in 26 patients with IDDM (14 males and 12 females)

		Time (months)					
	Sex	0	1	3	6	12	24
Plasma zinc (μmol l^{-1})	M	14.48	12.67	12.64	13.23	13.74	14.35*
	F	13.44	13.13	13.48	13.14	13.58	12.47
Serum albumin (μmol l^{-1})	M	585*	583	605	613	604	610*
	F	554	560	580	583	573	552
Weight (kg)	M	64.8	64.8	63.4	66.5	66.5	66.8
	F	55.9	56.2	57.7	58.7	59.2	58.6
HbA1c (%)	M	11.4	8.7	6.6	6.2	7.5	7.9
	F	14.2	8.7	6.4	6.7	8.1	8.3
ID/BW (U kg^{-1})	M	0.380	0.380	0.360	0.360	0.315	0.475
	F	0.415	0.415	0.415	0.425	0.465	0.500
C-peptide (nmol l^{-1})	M	0.130	0.210	0.245	0.175	0.200	0.150
	F	0.170	0.230	0.265	0.195	0.195	0.205
Insulin antibodies (%)	M	0.00	0.03	0.33	0.95	1.05	0.80
	F	0.03	0.04	0.70	2.25	3.10	2.30

* $P < 0.05$ (between sexes).

Pendant les deux premières années qui suivent le diagnostic de diabète insulino-dépendant, on note :

- des différences mineures au niveau des concentrations plasmatiques
- une différence de la zincémie entre les 2 sexes chez les témoins et chez les diabétiques. Chez ces dernier, celle-ci n'apparaît qu'au terme de 24 mois d'évolut!on de la maladie, les hommes ayant une zincémie plus élevée que les femmes.

Les concentrations plasmatiques en zinc restent dans la fourchette des valeurs normales avant que les patients ne soient traités par insuline, ce qui est en contradiction avec les résultats de HAGGLOF (21), qui observe, lui, une diminution de la zincémie au début du diabète insulino-dépendant.

Cette différente demeure inexpliquée. Toutefois, si de nombreux facteurs peuvent influencer le taux de zinc plasmatique, les auteurs sont unanimes pour dire que l'apport journalier de zinc par la dose d'insuline injectée, en regard de la fraction absorbée, est négligeable.

CONCLUSION :

Toutes ces études mettent en évidence que le métabolisme du zinc est perturbé dans l'état diabétique. Cependant, en ce qui concerne la zincémie, les perturbations ne sont pas clairement établies ; elle est augmentée, normale ou diminuée selon les auteurs ; et le véritable statut en zinc du diabétique reste difficile à connaître.

Après cette revue bibliographique, une seule certitude se dégage : il s'agit de l'hyperzincurie. On est alors en mesure de se demander si cette fuite massive de zinc dans les urines est, à elle seule, responsable ou non d'un déficit en zinc.

Il apparaît donc nécessaire d'effectuer de nouvelles études dans ce domaine, afin de mieux appréhender le statut en zinc des diabétiques et afin de mettre en évidence un déficit éventuel et d'envisager un apport de zinc. C'est l'objet du dernier chapitre de ce travail.

5ème partie :

PREMIERS RESULTATS D'UN PROTOCOLE CLINIQUE : "STATUT EN ZINC ET DIABETE INSULINO-DEPENDANT"

***

PLAN DE LA CINQUIEME PARTIE

PREMIERS RESULTATS D'UN PROTOCOLE CLINIQUE "STATUT EN ZINC ET DIABETE INSULINO-DEPENDANT"

INTRODUCTION 87

I - Buts de l'étude : 87

I. 1. Etude du statut en zinc et de la peroxydation lipidique du diabète de type I. 88

I. 2. Etude de la relation entre hyperproduction de radicaux libres et la rétinophatie diabétique. 88

I. 3. Effet de la supplémentation en zinc sur la peroxydation lipidique. 89

II - Matériels et méthode : 91

II. 1. Critères d'inclusion 91

II. 2. Critères d'exclusion 91

II. 3. Réalisation du protocole 92
- II. 3. 1. Bilan biologique préliminaire 92
- II. 3. 2. Bilan oligoéléments-radicaux libres. Vitamines. 93
- II. 3. 3. Supplémentation en zinc. 94

III - Premiers résultats : 97

CONCLUSION 98

PREMIERS RESULTATS D'UN PROTOCOLE CLINIQUE "STATUT : EN ZINC ET DIABETE INSULINO-DEPENDANT" :

INTRODUCTION :

A l'issue de cette revue bibliographique, nous présentons une étude en cours de réalisation, qui trouve ses fondements dans les hypothèses précédemment évoquées dans ce travail.

Elle concerne les relations entre le statut en zinc et la peroxydation lipidique chez le diabétique de type I.

Cette étude qui a débuté au cours de l'été 1990 a été mise en place à l'initiative du *Laboratoire de Biochimie C* (Professeur A. FAVIER) dans les services cliniques d'endocrinologie et de diabétologie (Professeurs Y. BACHELOT et S. HALIMI) du *Centre hospitalier Régional et Universitaire de Grenoble.*

Au moment de la réalisation de ce travail, cette étude est encore inachevée . Nous nous proposons de décrire le protocole et de présenter les premiers résultats qui semblent encourageants malgré les difficultés rencontrées dans la mise en oeuvre d'un protocole d'une telle ampleur.

I - BUTS DE L'ETUDE :

Ces travaux ont plusieurs objectifs, qui se résument à l'étude :

- du statut en zinc et de la peroxydation lipidique du diabétique de type I.
- de la relation entre hyperproduction de radicaux libres et rétinopathie diabétique.
- de l'effet d'une supplémentation en zinc sur la peroxydation lipidique.

I. 1. ETUDE DU STATUT EN ZINC ET DE LA PEROXYDATION LIPIDIQUE DU DIABETIQUE DE TYPE I :

Les études antérieures, citées dans les précédents chapitres de ce travail, incitent en effet à poursuivre les recherches dans le domaine du métabolisme du zinc chez le diabétique. Si le véritable statut en zinc du diabétique reste mal connu, l'hypothèse d'un déficit de ce statut est probable. Etant donné les propriétés antioxydantes du zinc vis-à-vis des radicaux libres, il semble judicieux de s'intéresser à cet oligoélément dans l'état diabétique, puisque l'on sait que cet état pathologique s'accompagne d'une augmentation de la lipoperoxydation. Existe-t-il un lien de cause à effet entre le déficit en zinc et l'augmentation de la peroxydation lipidique ?

I. 2. ETUDE DE LA RELATION ENTRE HYPERPRODUCTION DE RADICAUX LIBRES ET LA RETINOPATHIE DIABETIQUE :

L'hyperproduction de radicaux libres oxygénés est illustrée par l'élévation des marqueurs sanguins de la lipoperoxydation tels que les malondialdéhydes ou MDA et les hydroperoxydes HPO en particulier (cf. chapitre II).

Les radicaux libres en excès exercent leur action nocive qui peut se traduire par une augmentation de la perméabilité des capillaires, après altération des cellules endothéliales des vaisseaux, ainsi que par une hyperagrégabilité plaquettaire. Ces deux mécanismes sont directement incriminés dans la rétinopathie diabétique qui survient parfois de façon très précoce et indépendamment de l'équilibre du diabète.

En effet la rétine est un tissu cible pour les radicaux libres. Elle est tout particulièrement concernée par la peroxydation lipidique en raison des points suivants :

- Extrême richesse en membranes. Tous les disques et toutes les mitochondries des cellules neurosensorielles ne sont que des replis membranaires, supports des échanges énergétiques, d'où une proportion en acides gras insaturés très importante.

- Conversion d'une énergie lumineuse en polarisation électrique.

- Exposition directe aux rayonnements : spectre visible UV, irradiation.

- Rôle particulier joué par les composés tels que la rhodopsine et la mélanine dans les transferts électroniques.

- Particularité de la vascularisation de la rétine.

- Métabolisme très actif : consommation d'oxygène très importante, surtout la nuit, d'où risque de deséquilibre.

Il semble probable que les diabétiques, chez qui des anomalies des défenses vis-à-vis des radicaux libres sont responsables d'un excès de formes radicalaires, soient victimies de rétinopathie.

Il faut noter, d'autre part, que le bon fonctionnement et l'intégrité de la rétine dépendent étroitement du métabolisme du zinc. En effet une déficience en zinc peut affecter la rétine par deux voies : (28).

- Une voie locale : en modifiant les enzymes dépendantes du zinc, localisées dans l'oeil.

- Une voie systémique : en ayant un rôle dans la mobilisation de la vitamine A à partir du foie.

Il est donc intéressant d'observer les lésions rétiniennes pour suivre les troubles peroxydatifs et les effets protecteurs du zinc dans l'état diabétique.

I. 3. EFFET DE LA SUPPLEMENTATION EN ZINC SUR LA PEROXYDATION LIPIDIQUE :

Le zinc est un oligoélément antioxydant comme on l'a décrit précédemment. Rappelons les principaux points d'impact de cette activité antioxydante :

- Le zinc est un constituant, avec le cuivre, de la superoxyde dismutase.

- Le zinc favorise la synthèse des métallo-thionéines.

- Par son rôle stabilisateur des membranes, le zinc rend celles-ci moins vulnérables vis-à-vis des actions nocives des radicaux libres.

- Le zinc entre en compétition avec le fer qui, lui, est oxydant, dans la réaction de FENTON.

- La carence en zinc diminue la biodisponibilité des vitamines antioxydantes dont le rôle de scavengers des radicaux libres est démontré.

Même si le statut en zinc sérique est normal chez le diabétique, cela ne signifie par que le zinc tissulaire soit à un niveau normal, d'autant plus que, chez le diabétique en hypercatabolisme, existe un relargage du zinc vers le plasma.

Tous ces faits incitent à envisager une supplémentation en zinc chez ces malades et il semble d'un grand intérêt de mesurer l'effet de cette supplémentation sur la peroxydation lipidique. Ceci est possible par le suivi des taux sanguins de marqueurs de la lipoperoxydation comme les MDA ou les hyperoxydes.

POPOVIC en 1989, (46) s'est déjà livré à ce genre d'expérience. Il s'est effectivement intéressé à l'existence d'une corrélation entre le statut en zinc et la peroxydation lipidique avant d'entreprendre une supplémentation en zinc.

Chez 14 patients atteints de diverses maladies métaboliques et endocrines (dont 2 diabétiques insulino-dépendants) ayant tous un taux sanguin en zinc très bas, on a mesuré le taux de MDA avant et après une supplémentation en zinc (1,5 mg/kg/J.) pendant 2 semaines.

La production de MDA est nettement plus élevée chez les malades caractérisés par une hypozincémie que chez les 10 témoins :

- zincémie à 57, 62 µg/dl vs 100 µg/dl
- MDA à 1,24 nMol/l vs 0,7 nMol/l.

Une corrélation négative, significative entre les taux de zinc et de MDA a été mise en évidence, mais uniquement pour les cas d'hypercortisolisme où, après l'apport de zinc, le taux de MDA est abaissé de 23,55%. Même si

les résultats sont moins nets pour les deux cas de diabète insulino-dépendant, une corrélation négative entre le zinc et la production de dérivés de radicaux libres oxygénés en excès peut être présumée.

Il semble toutefois nécessaire de refaire ce genre d'étude avec des échantillons plus importants de patients.

Nous allons donc exposer maintenant le protocole mis en place à Grenoble.

II - MATERIEL ET METHODE :

L'étude repose sur le suivi de 3 groupes de personnes qui ont été choisies en fonction de critères d'inclusion et d'exclusion :

II. 1. CRITERES D'INCLUSION :

- Etre diabétique insulino-dépendant traité depuis 5 à 10 ans à l'insuline et présenter une rétinopathie.

- Etre diabétique insulino-dépendant traité à l'insuline depuis 5 à 10 ans et ne pas présenter de rétinopathie.

- Etre non diabétique et apparié en âge aux diabétiques inclus (population témoin).

II. 2 CRITERES D'EXCLUSION :

Il existe une liste de crtières, permettant d'exclure les malades qui sont porteurs d'une pathologie intercurrente, et qui prennent une médication autre que l'insulinothérapie. La prise en compte de leur cas biaiserait les résultats.

Voici la liste des critères d'exclusion :

- insuffisance hépatocellulaire
- pathologie infectieuse aiguë
- insuffisance cardiaque
- hypertension artérielle (T.A.> 140 et ≥ 90)
- état fébrile ou syndrome inflammatoire aigu
- Décompensation récente du diabète
- antécédents chirurgicaux récents
- traitements hypocholestérolémiants par les fibrates ou les inhibiteurs de l'HMG coenzyme A réductase.
- Autres médications (aspirine, anti-inflammatoires non stéroïdiens, inhibiteur de l'enzyme de conversion, oestro-progestatif.....).

II - 3 REALISATION DU PROTOCOLE :

Chaque patient volontaire inclus dans le protocole est convoqué à l'hôpital de jour du service de diabétologie où il subit 2 types de bilans :

- un bilan biologique préliminaire
- un bilan en oligoéléments, radicaux libres et vitamines.

A ceci s'ajoutent un examen clinique général, une enquête sur les traitements en cours et une enquête nutritionnelle.

II. 3. 1. Le bilan biologique préliminaire comprend :

❑ 1/ Un bilan lipidique :
- Cholestérol
- Triglycérides
- Fractions HDL et LDL cholestérol
- Apolipoprotéines A_1 et B
- Lipoprotéine Lp (a)

❑ 2/ Un ionogramme et un taux de saturation de la sidérophiline

❑ 3/ Enzymes hépatiques : TGO, TGP, phosphatases alcalines

❑ 4/ Bilan du diabète :
- hémoglobine glycosylée
- peptide C
- dernier cycle glycémique

❑ 5/ Urines :
- créatinine
- azote total
- microalbuminurie

Tous ces examens permettent :
- d'évaluer le risque atherogène
- d'objectiver une cytolyse ou une cholestase hépatique.
- d'apprécier la stabilité du diabète avant la mise en route du protocole.
- d'explorer l'intégrité de la fonction rénale.

II. 3. 2. Bilan en oligoéléments radicaux libres-vitamines :

Il comprend les dosages suivants :
❑ Oligoéléments :
- zinc, cuivre, sélénium sériques
- zinc leucocytaire
- zinc libre (ou ultrafiltrable)
- zincurie des 24 heures.

❑ Glutathion réduit et glutathion oxydé

❑ Bilan de la peroxydation lipidique :
- erythrocytes : SOD, GPX, catalase
- plasma : MDA, hydroperoxydes, GPX

❑ Vitamines antioxydantes :
- Vitamine A
- Bétacarotènes
- Vitamine E.

Ce second bilan permet d'apprécier le statut en oligoéléments et tout particulièrement celui en zinc, d'étudier les moyens de défenses vis-à-vis des radicaux libres (enzymatiques et non enzymatiques), de suivre la production de radicaux libres oxygénés à travers des marqueurs de la lipoperoxydation.

L'ensemble de tous ces renseignements est regroupé sur une fiche type dont un exemplaire est ci-joint en annexe.

A l'aide de ces fiches on apparie les malades inclus en vue de l'analyse des résultats : chaque diabétique ayant une rétinopathie est apparié avec un diabétique sans rétinopathie de même âge, même sexe et même ancienneté de diabète.

A chaque paire ainsi formée, est associé un témoin non diabétique du même âge et du même sexe.

II. 3. 3. Supplémentation en zinc :

Pour la supplémentation, on utilise du gluconate de zinc à raison de 30 mg de zinc/j. sur trois mois. Les patients prennent, du temps T_0 au temps T_3 (soit plus de trois mois), un placebo. Ils subissent un nouveau bilan complet.

Grâce à cette supplémentation on peut, certes suivre l'influence du zinc sur la production de radicaux libres ; mais cette méthode présente aussi plusieurs inconvénients :

- Elle pose un problème de temps qui alourdit le protocole.
- Elle pose un problème d'observance pour les malades qui ont déjà de multiples contraintes avec l'insulinothérapie et l'autosurveillance du diabète.

ANNEXE : FICHE TYPE

PROTOCOLE CARENCE EN ZINC ET DIABETE INSULINO-DEPENDANT

N° dossier:

Nom: Prénom:

Date de naissance: Age: ans

DIABETE:

Durée d'évolution: ans

Rétinopathie: O/N: Stade de COSCAS (1 à 5):

Durée d'évolution: ans

Néphropathie: O/N: Filtration glomérulaire (selon COCKROFT): ml/min

EXAMEN CLINIQUE GENERAL:

Poids: Kg

Taille: cm

B.M.I.:

Tension artérielle:
(10 minutes de repos strict)

Systolique: mm Hg

Diastolique: mm Hg

Diametres:

Taille: cm

Hanches: cm

Cuisses: cm

TRAITEMENT EN COURS:

Insulinothérapie:

	Insuline:	Quantité:	Teneur en Zn:	Quantité de Zn /j:
1		U.I./j	mg/UI	mg/j
2		U.I./j	mg/UI	mg/j
3		U.I./j	mg/UI	mg/j

Autres traitements:

	Nom:	Posologie:
1		/j
2		/j
3		/j

ENQUETE NUTRITIONELLE:

Apport moyen de Zn: mg/j

Apport moyen de Fe: mg/j

Apport moyen de Cu: mg/j

Apport moyen de Se: mg/j

Ration en fibres: g/j

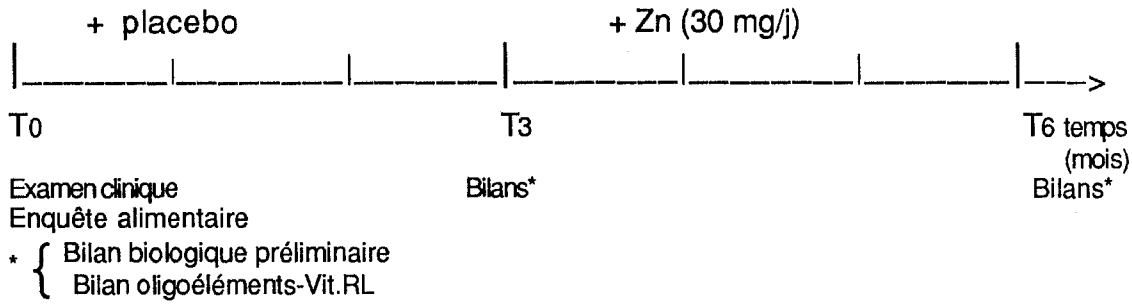
ANNEXE : FICHE TYPE (suite)

PROTOCOLE CARENCE EN ZINC ET DIABETE INSULINO-DEPENDANT

	M0	M3	M6	
BILAN LIPIDIQUE:				
Triglycérides:				g/l
Cholestérol total:				g/l
H.D.L. cholestérol:				g/l
L.D.L. cholestérol:				g/l
Apolipoprotéine A1:				g/l
Apolipoprotéine B:				g/l
Lp a:				g/l
BILAN HEPATIQUE:				
S.G.O.T.:				U.I.
S.G.T.P.:				U.I.
Phosphatases alcalines:				U.I.
BILAN DU DIABETE:				
Cycle glycémique: 8h.				mmol/l
12h:				mmol/l
16h:				mmol/l
20h:				mmol/l
Hémoglobine glycosilée:				%
Peptide C basal:				ng/ml
Glycosurie des 24h:				mmol/24h
BILAN URINAIRE:				
Créatininurie:				mmol/24h
Azoturie:				mmol/24h
Micro-albuminurie:				mmol/24h
BILAN RADICAUX LIBRES:				
Zincémie.				µmol/l
Zinc ultrafiltrable:				µmol/l
Zincurie des 24h:				µmol/24h
Sélénémie:				µmol/l
Cuprémie:				µmol/l
Glutathion réduit:				µmol/l
Glutathion oxydé:				µmol/l
Malon-di-aldéhyde:				µmol/l
Glutathion peroxydase:				U/l
Hydro-peroxydes:				µmol/l
Vitamine A:				µmol/l
Vitamine E:				µmol/l
ß-carotène:				µmol/l
Super-oxyde-dysmutase érythrocytaire:				U.I./g d'Hb
Glutathion-peroxydase érythrocytaire:				U.I./g d'Hb
Catalases érythrocytaires:				U.I./g d'Hb

- Enfin l'absorption du zinc apporté chez les diabétiques est mal connue.

Schéma résumant le déroulement du protocole pour chaque patient inclus :



III - ETAT D'AVANCEMENT DU PROTOCOLE. PREMIERS RESULTATS :

Au moment de l'achèvement de ce travail, voici les personnes incluses dans le protocole :

- 10 malades avec rétinopathie
- 6 malades sans rétinopathie

9 personnes sont au temps T3

5 malades ont fini le protocole

La moyenne d'âge de ces personnes incluses est de 34 ± 11 ans.
La durée d'évolution du diabète est de 12 ± 6 ans.

Pour l'ensemble de ces malades, les résultats au T0 sont caractérisés par :

- MDA plasmatique = 2,92 ± 0,18 µmol/l. (normale = 2,40 ± 0,2)

- Zinc sérique = 12,3 ± 2,1 µmol/l. (normale = 15 ± 2)

- Sélénium sérique = 0,92 ± 0,02 µmol/l. (normale = 0,9 ± 0,2)

- Glutathion peroxydase plasmatique : 400 ± 53 µmol/l. (normale = 315 à 353).

- Zincurie des 24 h. = 12,6 ± 2,2 µmol/24 h., soit 3 fois plus élevée que chez les sujets normaux (normale 4,5 à 5,5 µmol/ 24 h.).

En résumé, les malades inclus, au temps To ont :

- des taux de MDA élevés
- le zinc sérique est diminué
- la zincurie est très élevée, ce qui concorde avec la plupart des études antérieures déjà citées.

Il semble donc que l'on retrouve à la fois les signes de l'hyperproduction de radicaux libres, et ceux du déficit en zinc.

On constate une bonne observance du traitement par les malades inclus dans le protocole.

Pour 5 d'entre eux qui ont terminé le traitement de supplémentation, on observe une élévation de la zincurie de 20% par rapport à To associée à une baisse des MDA plasmatiques.

CONCLUSION :

A ce stade d'avancement de l'étude, ne disposant pas par ailleurs des éléments cliniques concernant les malades porteurs d'une rétinopathie, on ne peut tirer de conclusion au sujet de l'impact de la supplémentation en zinc sur l'évolution de la rétinopathie.

Sur une si courte période, on ne note certes pas de différence d'évolution dégénérative. Cependant l'étude montre clairement la différence de production des radicaux libres.

Il serait judicieux cependant d'étudier la biodisponibilité du zinc chez ces malades diabétiques de type I. L'utilisation de traceurs isotopiques permettrait peut-être d'expliquer pourquoi certains malades ne répondent pas à la supplémentation.

B.I.U. MED. GRENOBLE

CONCLUSION

***

CONCLUSION

***

Il existe incontestablement des modifications du métabolisme du zinc chez le diabétique insulino-dépendant, associées à une hyperproduction de radicaux libres. Seuls, les résultats d'une supplémentation en zinc au long cours permettront de montrer que ce déficit favorise la production de radicaux libres. Dans l'état actuel du protocole clinique, il n'est cependant pas possible d'apporter une conclusion d'affirmer que la supplémentation en zinc permet d'améliorer les complications chroniques secondaires à l'hyperproduction de radicaux libres et notamment à son influence sur la rétinopathie.

Pour mieux comprendre la métabolisme du zinc chez les diabétiques, il serait également indispensable de faire des études de biodisponibilité par les isotopes stables afin d'être en mesure de proposer à ces malades une supplémentation nutritionnelle en zinc, adaptée à la fois à leur diabète et aux complications associées.

Quant au rôle du zinc sur la sensibilité à l'insuline chez ces malades, il conviendrait de s'orienter vers des études de biologie moléculaire afin de connaître le rôle du zinc sur les récepteurs de l'insuline et sur le transporteur du glucose à la fois dans son rôle structural et dans son rôle comme antioxydant des récepteurs glycorotéiques.

BIBLIOGRAPHIE

***

BIBLIOGRAPHIE

---

1 - ASAYAMA K.
Lipid peroxide and antioxydant enzymes in human and rat diabetes mellitus.
Acta Paediatr. Jpn., **1988**, *30*, suppl. 188-190.

2 - BETTERIDGE D.
Platelets from diabetic subjects show diminished sensitivity to PGI_2.
Eur. J. Clin. Invest., **1982**, *12*, 395-398.

3 - BRAY T.M.
Effect of dietary zinc on endogenous free radical production in rat lung microsomes.
J. Nutr. **1986**, *116*, 1054-1060.

4 - BUNK M.J.
Dietary zinc deficiency decreases plasma concentration of vitamin E.
P.S.E.B.M. **1989**, *190*, 379-384.

5 - BURNS R.R.
Estimation and interpretation on plasma zinc fractions.
Scott Med. J. **1976**, *21*, 153-154.

6 - CHOOI M.K.
Influence of age and sex on plasma zinc levels in normal and diabetic individuals
Nutr. Metabol. **1976**, *20*, 135-142.

7 - CHOPRA M.
Diabetic microangiopathy : an inflammatory response to oxidative stress ?
Thrombosis and haemostasis **1989**, *62*, 577a.

8 - CHVAPIL M.
The effect of zinc and other metals on the stability lysosomes.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **1972 c**, *140*, 642-646.

9 - CHVAPIL M.
Inhibition of some functions for polymorphonuclear leukocytes by *in vitro* zinc.
J. Lab. Clin. Med. **1977**, *89*, 135-146.

10 - COPPEN D.E.
Suppression of lipid peroxidation in rat hepatocytes in primary culture by supplement zinc (Abstract).
Food science and human nutrition and chemistry department university of Florida, Gaineshille **1985**.

11 - COUSIN R.J.
Towards a molecualr understanding of zinc metabolism.
Clin. Physiol. Biochem. **1986**, *4*, 20-30.

12 - CROUCH R.
Effect of streptozocin on erythrocytes and retinal superoxide dismutase.
Diabetologia. **1978**, *15*, 53-57.

13 - DAVIES I.J.T.
Measurement of plasma zinc in health and disease.
J. Clin. Pathol. **1968**, *21*, 359-365.

14 - DOUCET J.
Les radicaux libres en médecine interne.
Le concours médical. **1989**, *111*, 2161-2165.

15 - FAILLA M.L.
Influence of spontaneous diabetes on tissue status of zinc, copper, and manganese in the BB WISTAR Rat (42182).
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **1985**, *180*, 317-322.

16 - FAVIER A.
Le zinc en médecine et biologie.
1987 b. Edité par les Editions Médicales Internationales, Paris.

17 - FERRADINI C.
Les radicaux libres en biologie
Les entretiens du Carla. **1984**, *5*, 115-123.

18 - FERRADINI C.
Espèces activées radicalaires de l'oxygène.
Biochimie **1986**, *68*, 779-785.

19 - FLOWER R.J.
Biosynthesis of prostaglandines
CIBA Foundation Symp. **1978**, *65*.

20 - GODIN
Antioxydant enzyme alterations in experimental and clinical diabetes.
Molecular and Cellular Biochemistry. **1988**, *84*, 223-231.

21 - HAGGLOF B.
Cu, Zn superoxyde dismutase, Mn superoxyde dismutase, catalase and glutathione peroxidase in lymphocytes and erythrocytes in insulin-dependent diabetic children.
Acta Endocrinologica **1983**, *102*, 235-239.

22 - HALLIWEL B.
Free radicals, reactive oxygen species and human disease : a critical evolution with special reference to atherosclerosis.
Br. J. Exp. Path. **1989** , *70*, 737-757.

23 - HICKS M.
Catalysis of lipid peroxidation by glucose ans glycosyleted collagen.
Biochemical anc Biophysical Research Communications **1988**, *151*, 649-655.

24 - IPSEN
Radicaux libres, membranes cellulaires et ischémie tissulaire.

25 - JAIN S.K.
Erythrocyte membrane lipid peroxidation and glycosylated hemoglobin in diabetes.
Diabetes. **1989**, *38*, 1539-1543.

26 - JARASCH E.D.
Significiance of xanthine oxidase in capillary endothelial cells.
Acta. Physiol. Scand. **1986**, suppl *548*, 39-46.

27 - JOS J.
Etude des enzymes antioxydantes dans le diabète insulino-dépendant de l'enfant et de l'adolescent.
Diabète et métabolisme **1990**, *16*, 498-503.

28 - KRAFT S.P.
The rat electroretinogram in combined zinc and vitamin A deficiency.
Invest. Ophthal. Vis Sci. **1987**, *28*, 975-984.

29 - KUBOW S.
Effects of dietary zinc and copper on free radical production in rat lung and liver.
Can. J. Physio. Pharmacol. **1986**, *64*, 1281-1285.

30 - LOVEN D.
Effect of insulin and oral glutathione on glutathione levels and superoxide dismutase activities in organ of rats with streptozocin-induced diabetes.
Diabetes **1986**, *35*, 503-507.

31 - MARKLUND S.L.
Properties of extracellular superoxide dismutase from human lung.
Biochem. J. **1984**, *220*, 269-273.

32 - MARTIN M.M.C.
A study of the metabolism of zinc, its metalloenzymes in diabetes mellitus.
Biomedecine Express. **1975**, *23*, 134-136.

33 - MATKOVICS B
The effect of diabetes on the activities of the peroxide metabolism enzymes.
Horm. Metabol. Res. **1982**, *14*, 77-79.

34 - MATSUBARA J.
Protective effect of zinc against lethality in irradiated mice.
Environemental Research. **1986**, *41*, 558-567.

35 - MELCHIOR T.
Plasma zinc concentrations during the first 2 years after diagnosis of insulin-dependent diabetes mellitus : a prospective study.
J. Intern. Med. **1989**, *226*, 53-58.

36 - MICHELSON A.M.
La superoxyde dismutase et la pathologie des radicaux libres.
C.R. Soc. Biol. (Paris). **1985**, *179*, 429-439.

37 - NATH N.
Superoxide dismutase in diabetic polymorphnuclear leukocytes.
Diabetes. **1984**, *33*, 586-589.

38 - NOBELS F.
Plasma zinc levels in diabetes mellitus : relation to plasma albumin and aminoacids.
Biomedecine and pharmaco therapy. **1986**, *40*, 57-60.

39 - PANTOLIANO M.W.
A pH dependent superoxide dismutase activity for zinc-free bovine erthrocuprein. Reexamination of the role of zinc in the holoprotein.
J. Inorg. Biochem. **1982**, *17*, 325-341.

40 - PARKS D.A.
Xanthine-oxidase : biochemistry, distribution and physiology.
Acta. Physiol. Scand. **1986**, suppl.*548*, 87-99.

41 - PASTOR P.
Contribution à l'étude du zinc dans le diabète sucré : implications hemorhéologiques études *in vivo* et *in vitro*.
Thèse en vue d'obtenir le diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie.
Montpellier, **1988**.

42 - PERRET L.
Mécanismes cellulaires de la protection contre la toxicité de l'oxygène.
Arch. Fr. Pédiatr. **1983**, *40*, 585-595.

43 - PIDDUCK H.
Plasma zinc and copper in diabetes mellitus.
Diabetes. **1970**, *19*, 234-239.

44 - PIERRE J.L.
Exposé présenté dans le cadre du C.E.R.L.I.B.
(Club d'Etude des Radicaux Libres en Biologie, Université Joseph Fourier, Grenoble).

45 - POLLACK R.L.
Free radicals and antioxydants : relation to chronic diseases and aging.
Int. J. Psychosom. **1988**, *35*, 43-48.

46 - POPOVICI D.
Clinical and Biological correlations related to zinc depletion and lipid peroxide generation in some metabolic and encocrine diseases.
Med. Int. **1989**, *27*, 57-64.

47 - RAZ I.
Influence of chronic diabetes on tissue and blood cells status of zinc, copper and chromium in the rat.
Diabetes Res. **1988**, *7*, 19-33.

48 - SJOGREN A.
Magnesium, Potassium and Zinc deficiency in subjects with type II. Diabetes mellitus.
Acta. Med. Scand. **1988**, *224*, 461-466.

49 - SOMOVA L.
Pathogenesis of cardiovascular disorders in strepozotocin-induced diabetes in rat. II. Correlation between lipid peroxides, thromboxane A_2/prostacyclin, and platelet aggregation in different stages of diabetes.
Acta Physiologica α Pharlmacologica bulgaria. **1988**, *14*, 57-62.

50 - SOUTHORN P.A.
Free radicals in medecine II. Involvement in human disease.
Mayo. Clin. Proc. **1988**, *63*, 390-408.

51 - SZEBENI J.
The effect of zinc on iron induced lipid peroxidation in different lipid systems including liposomes and micelles.
Physiol. Chem Phys. Med. NHR. **1988**, *20*, 205-211.

52 - TAYLOR C.G.
Effect of dietary zinc or copper defficiency on the primary free radical defence system in rats.
J. Nutr. **1988**, *118*, 613-621.

53 - THO L.L.
Correlates of diabetes markers with erythrocytic enzymes decomposing reactive oxygen species.
Ann. Clin. biochem. **1988**, *25*, 426-431.

54 - THOMAS J.P.
Inhibition of cell membrane lipid peroxidation by cadmium- and zinc metallo-thioneins.
Biochimica α Biophysica Acta. **1986**, *884*, 448-461.

55 - THORNALLEY P.J.
Possible role for metallothionein in protection against radiation-induced oxidative stress, kinetics and mechanism of its reaction with superoxide and hydroxyl radicals.
Biochem. Biophys. Acta. **1985**, *827*, 36-44.

56 - TSATA-VOYATZOGLOU V.
Cu, Zn and SOD determination in patients with retinitis pigmentosa.
Trans Ophtamol. Soc. U.K. **1986**, *105*, 345-347.

57 - UZEL N.
Erythrocyte lipid peroxidation and glutathione peroxidase activities in patients with diabetes mellitus.
Horm. Metabol. Res. **1987**, *19*, 89-90.

58 - VALENTINE J.S.
pH dependent migration of copper to the vacant zinc-binding site of zinc-free bovine erythrocyte superoxide dismutase.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA. **1979**, *76* (9), 4254-4259.

59 - WARD N.I.
Trace element concentrations in blood plasma from diabetic patients and normal individuals.
Biological Trace Element Research. **1984**, *6*, 469-483.

60 - WEISS S.J.
Oxygen, ischemia and inflammation.
Acta. Physiol. Scand. **1986**, suppl. *548*, 9-37.

61 - WESER U.V.
A study on purified apo-erythrocuprein.
Biochem. Biophys. Acta. **1972**, *273*, 28-44.

62 - WILSON R.L.
Vitamin, selenium, zinc and copper interactions in free radical protection against ill-placed iron.
Proc. Nutr. Soci. **1987**, *46* (1), 27-34.

63 - ANONYME
A radical approach to zinc.
Lancet. **1978**, *1* (8057), 191-192.

BIBLIOTHÈQUE INTERUNIVERSITAIRE
GRENOBLE
MÉDECINE-PHARMACIE

SERMENT DE GALIEN

Recevant son diplôme, le pharmacien s'engage solennellement

- devant ses maîtres de la Faculté de Grenoble
- devant le Conseil de l'Ordre
- en présence de ses condisciples et de ses confrères :

• à exercer la pharmacie en honneur et conscience

• à observer le code de déontologie et à respecter les lois et règlements qui régissent la profession

• il sera humain et charitable et observera le secret professionnel

• s'il manquait à ces devoirs, que ses pairs le jugent et le condamnent.

AUTORISATION D'IMPRESSION

De la Thèse dont l'intitulé est :

"Diabète insulino-dépendant et lipoperoxydation : données récentes sur le rôle antioxydant du zinc".

CANDIDAT : Mlle BERTHET Valérie

VU

GRENOBLE, le 1° juillet 1991.

Le Président du Jury

VU

GRENOBLE, le 2 septembre 1991

Le Président de l'Université
Joseph FOURIER GRENOBLE I
Sciences. Technologie. Médecine

Le Président de l'Université
Joseph-Fourier - Grenoble 1

A. NEMOZ

RESUME

Le rôle du zinc dans le métabolisme glucidique est décrit, particulièrement son rôle antioxydant. Le statut en zinc des diabétiques montre un déficit à associer à une hyperproduction de radicaux libres et à la survenue de complications chroniques, telles que la rétinopathie.

Une étude bibliographique précise les données récentes concernant les relations entre le statut en zinc du diabétique, son bilan de peroxydation et les complications chroniques.

Les premiers résultats d'un protocole clinique sur ce sujet sont présentés.