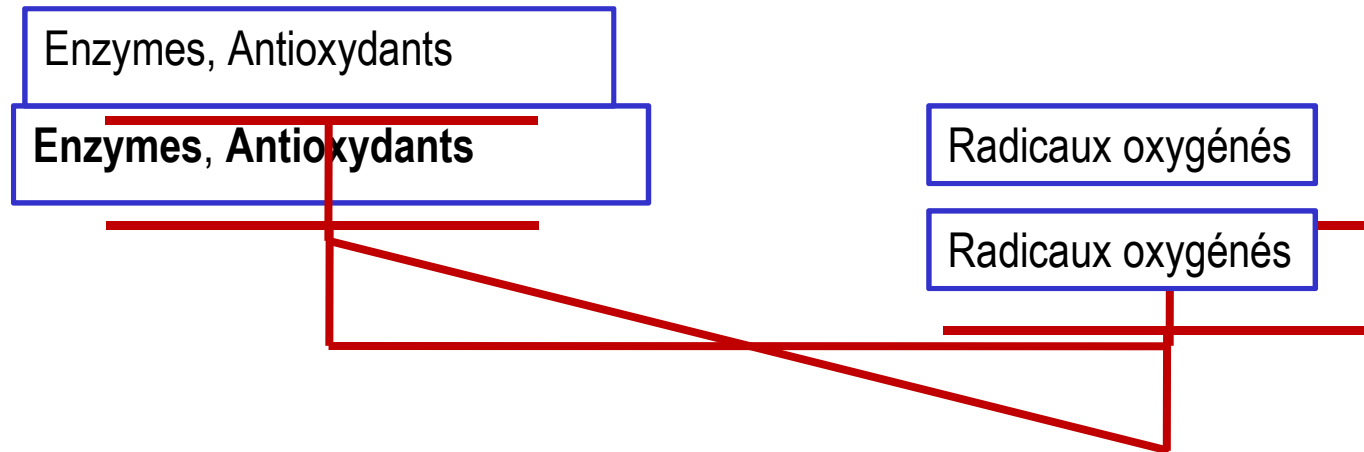


Stress oxydant: relations avec
vieillessement/longévité - maladies
du système nerveux central-
vieillessement cutané

Controverses et réalités



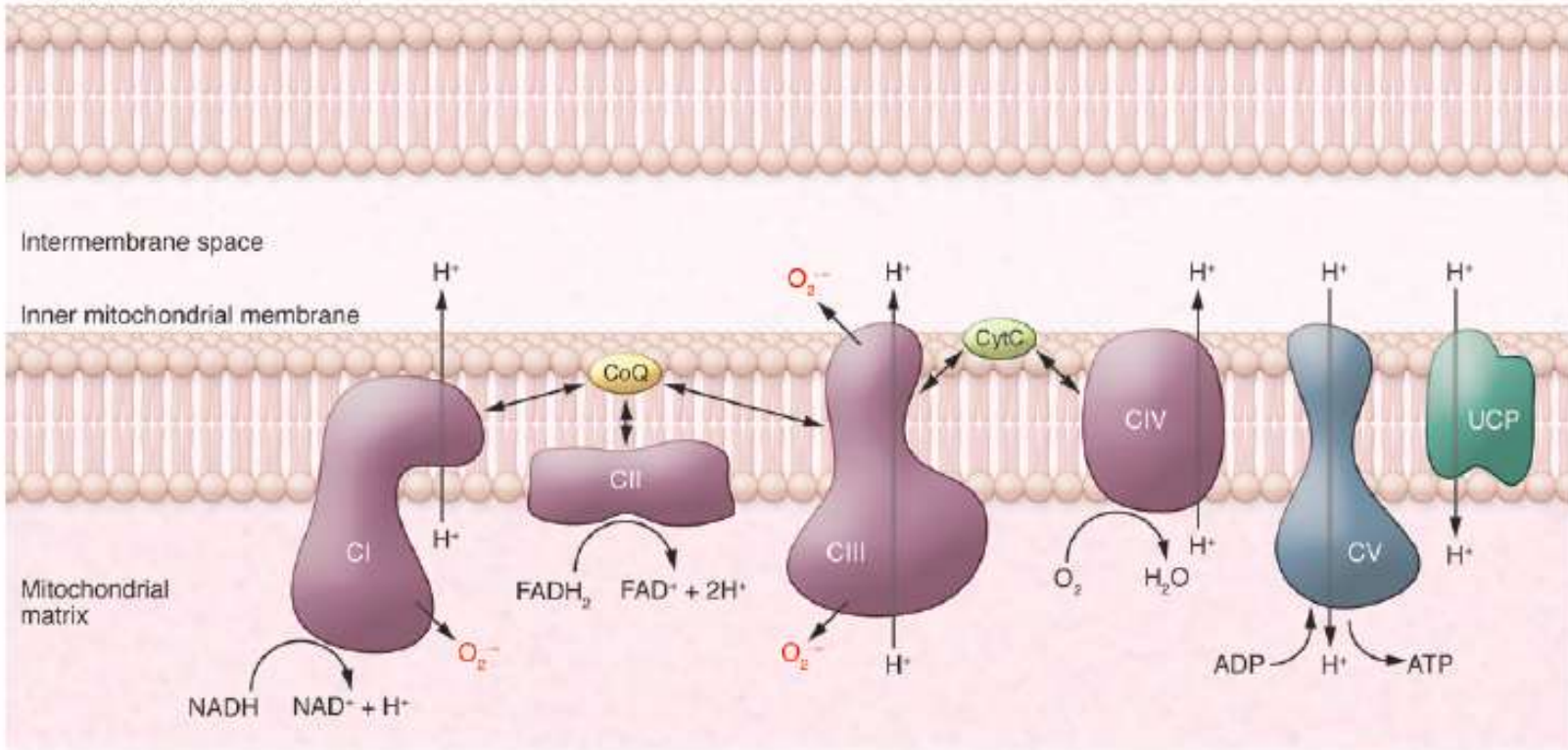
Le stress oxydant est produit par une accumulation toxique de radicaux libres oxygénés produits par la respiration (O_2^- , $OH\cdot$, $NO\cdot$) qui inactive la plupart des biomolécules de la cellule. Les cellules régulent la concentration en radicaux oxygénés (ROS) grâce à l'activité de systèmes enzymatiques antioxydants et à la présence d'antioxydants (vitamine E, glutathion). Le cerveau est très sensible à l'action des ROS car il produit beaucoup de ROS (forte activité respiratoire) et dispose de peu de systèmes de détoxification par rapport à d'autres tissus. De plus les membranes neuronales comportent une grande quantité d'acides gras insaturés (acide arachidonique) facilement peroxydables. Enfin l'accumulation d'ions de métaux de transition (comme les ions ferreux, Fe^{2+}) facilite la formation de ROS.

Les ROS sont nécessaires à diverses fonctions cellulaires : burst oxydatif des macrophages, par exemple. Par ailleurs l'expression de certains gènes nécessite des ROS, notamment pour déclencher un effet hormétique.

Un surdosage en antioxydants peut donc être toxique.

A

Outer mitochondrial membrane

**B**

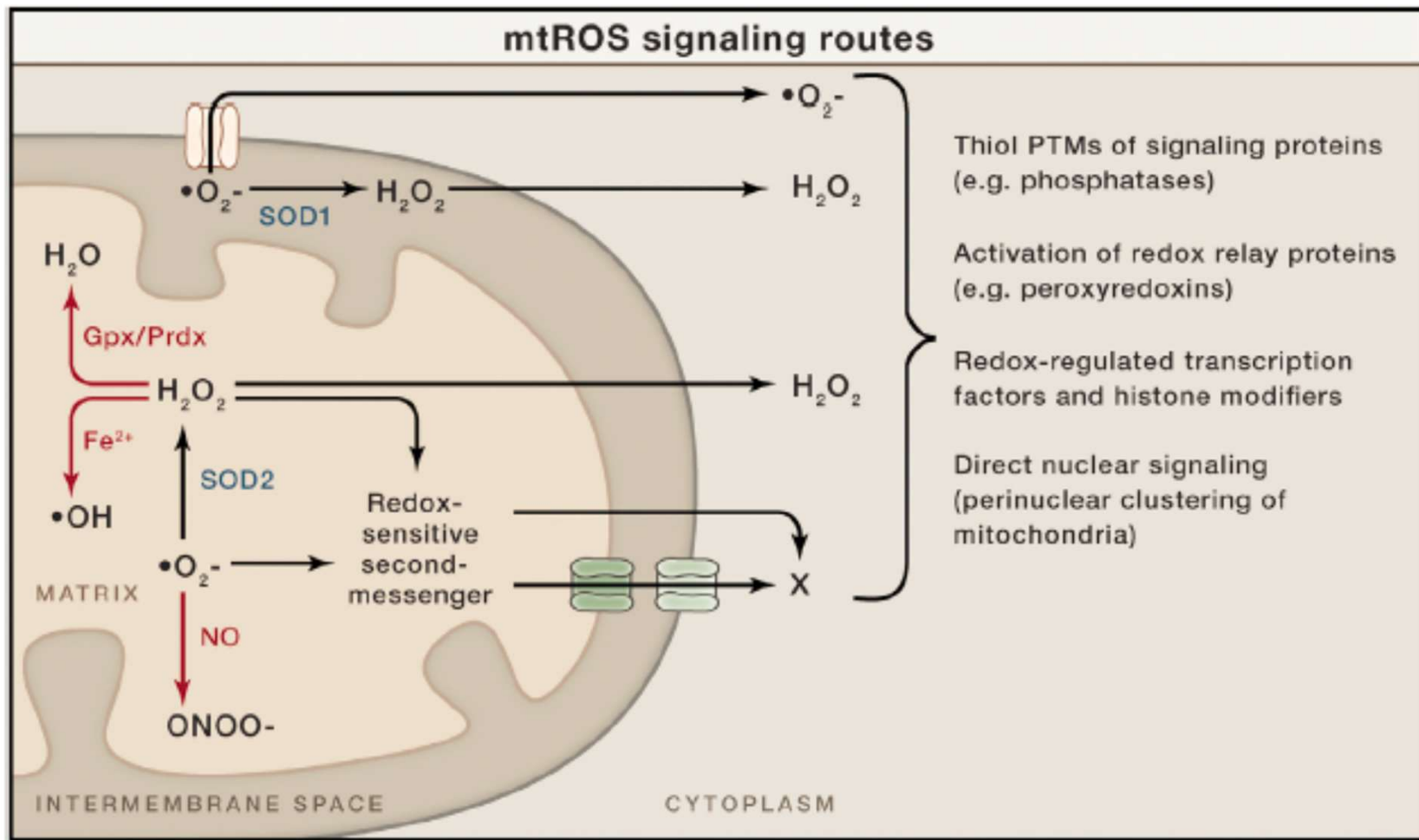


Table I. Endogenous antioxidants

Nonenzymatic antioxidants

α -Tocopherol (vitamin E)

Ascorbic acid (vitamin C)

Glutathione

Carotenoids

Ubiquinone

Flavonoids

Uric acid

Enzymatic antioxidants

Superoxide dismutase

Glutathione peroxidase

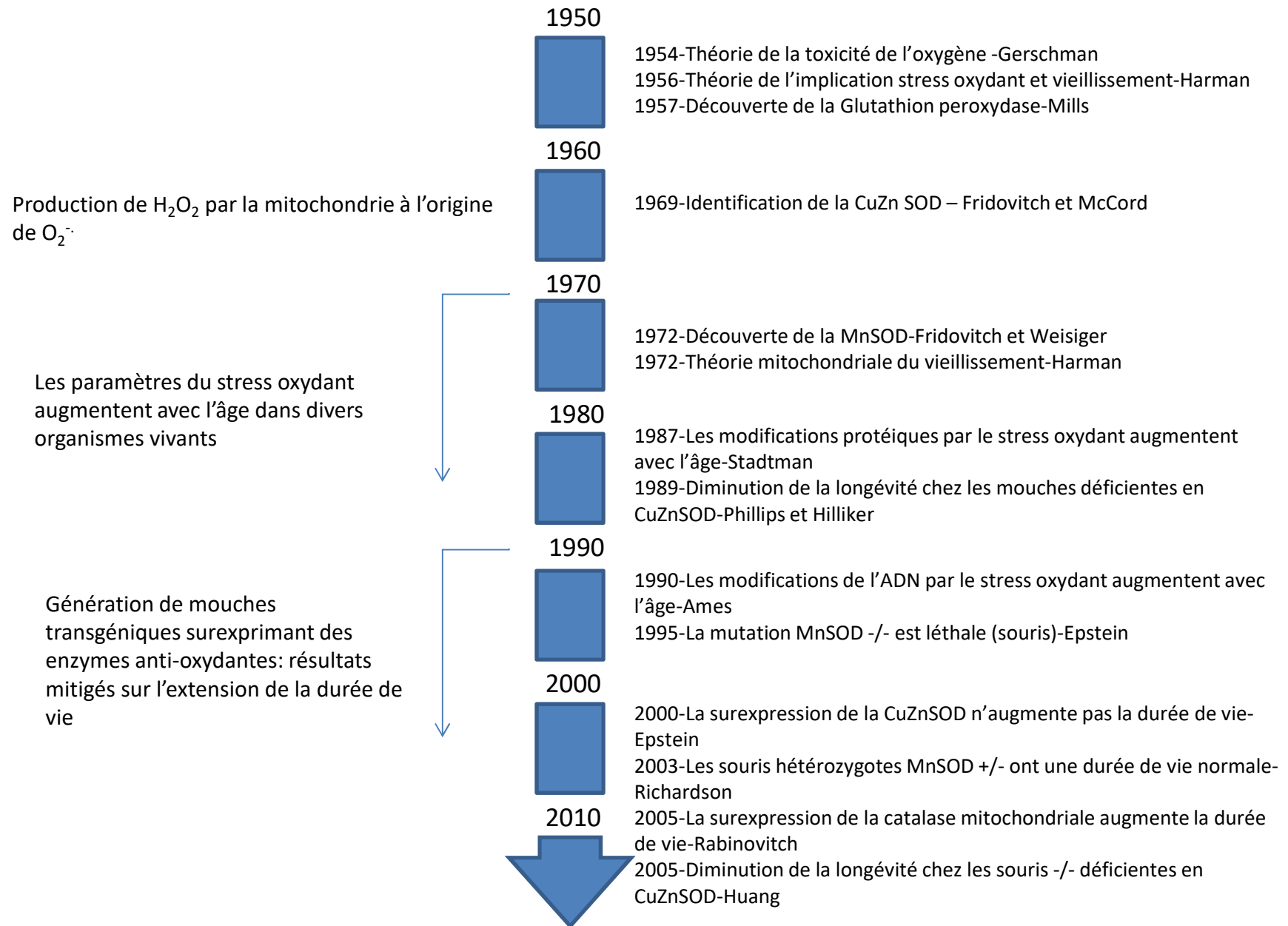
Glutathione reductase

Catalase

Théorie de l'implication du stress oxydant dans le vieillissement

- Première hypothèse : La durée de vie d'un organisme est inversement proportionnelle à la consommation de l'oxygène ou la vitesse du métabolisme. Hypothèse fondée sur le fait que certains organismes ont une durée de vie diminuée lorsque l'oxygène ambiant est augmenté et augmentée lorsqu'il est diminué. Par ailleurs la restriction calorique (et l'abaissement de température) conduisant à une diminution du métabolisme semble avoir des effets positifs sur la longévité (théorie de Harman).
- Les radicaux libres oxygénés toxiques (O_2^- , $OH\cdot$) peuvent être produits de manière endogène : découverte de la superoxyde dismutase (SOD) et la production de H_2O_2 par la mitochondrie. On observe chez la plupart des organismes une accumulation de ROS au cours du vieillissement. L'application directe de ROS est toxique pour les cellules (H_2O_2).
- Nouvelle théorie de Harman (1972) : la mitochondrie est centrale dans le vieillissement. L'accumulation de ROS entraîne une instabilité de l'ADN mitochondrial et donc une moins bonne régulation de la production de ROS au cours du temps. Théorie MFRTA.
- Existence d'un stress oxydant 'permanent' chez les organismes aérobies qui conduit à un dysfonctionnement progressif des biomolécules de la cellule et à une perte des fonctions physiologiques.
- Uniquement des 'corrélations' car les 'interventions' ne donnent pas toujours de résultats concluants:
 - ❑ Effets très ambigus de la supplémentation en antioxydants au cours du vieillissement : peu ou pas d'effets sur la durée de vie, voire une diminution de la longévité;
 - ❑ Effets très contrastés de la surexpression ou délétion d'enzymes antioxydantes (comme la SOD) sur la durée de vie. Par ailleurs, un accroissement de la longévité dans ce cas est souvent associé à une infertilité. Toutefois corrélation intéressante entre stress oxydant et longévité chez la Drosophile (voir plus loin)
 - ❑ Donc la théorie 'dure' du stress oxydant limitant directement la durée de vie est difficilement vérifiable.
- Proposition d'une théorie plus 'faible' de l'implication du stress oxydant, beaucoup plus consensuelle : les dommages causés par le stress oxydant sont associés aux pathologies du vieillissement.

Stress oxydant dans le vieillissement : faits marquants depuis 1950



Mitochondrie et vieillissement-théorie MFRTA

- Augmentation de la production de ROS avec l'âge.
- Les systèmes de protection contre les ROS diminuent avec l'âge.
- Les mutations de l'ADNmt augmentent avec l'âge. Les mutations de l'ADNmt peuvent provenir de la proximité des ROS.
- Les mutations de l'ADNmt entraînent des dysfonctionnements de la chaîne respiratoire et augmentent la production de ROS.
- L'activité des mitochondries diminue avec l'âge et leur structure s'altère.
- On observe une diminution du NAD⁺ mitochondrial.

Modèles expérimentaux et paramètres mesurés

Modèles expérimentaux:

- Levure: *S Cerevisiae*;
- *C Elegans*;
- Drosophile;
- Rongeurs (rat, souris)
 - Rat Lou C/Jall (vieillesse 'réussi')
 - Souris SAM ('senescence accelerated mouse');
- Homme.

Biomarqueurs du stress oxydant (ROS difficilement mesurables en direct car trop réactifs et labiles; problème des sondes fluorescentes): biomolécules modifiées

- ❖ Lipides : peroxydation lipidique, formation d'isoprostanes F2, taux d'acides gras insaturés (acide arachidonique);
- ❖ Protéines : carbonylation, adduits avec l'hydrxynonanal (HNE) ou le malondialdéhyde (MDA), formation de nitrotyrosine, oxydation des groupements thiol;
- ❖ ADN: cassures, formation de 8-hydroxy-2-deoxyguanosine.
- ❖ Activité mitochondriale: potentiel de membrane mitochondrial et/ou production de ROS (Mitotracker).

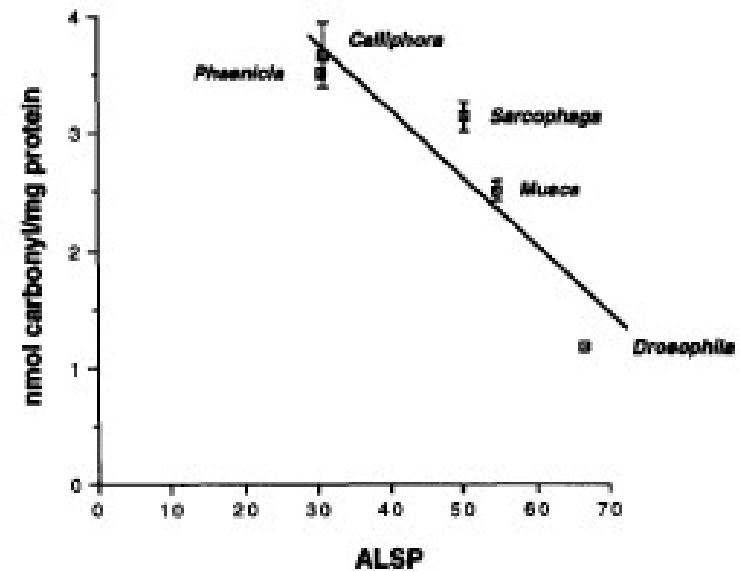
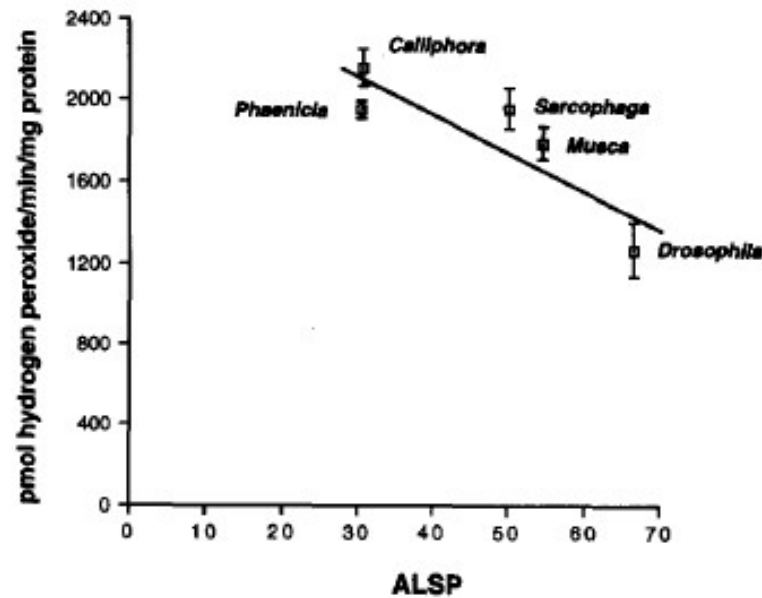
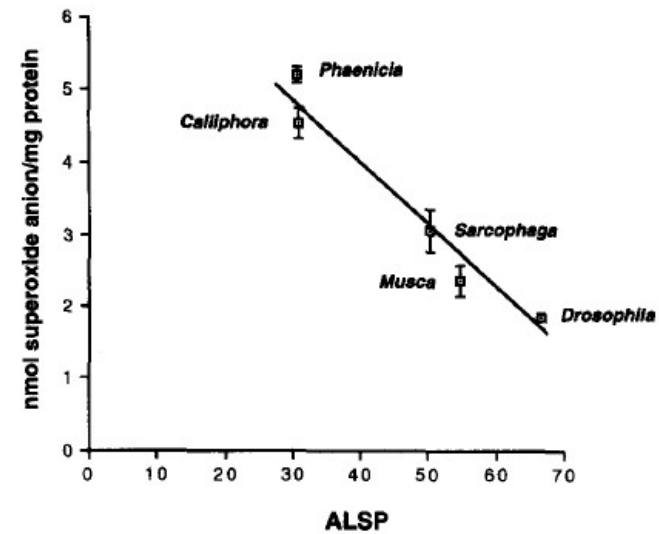
Taux d'antioxydants endogènes:

- ❖ Vitamine E (alpha-tocophérol)
- ❖ Oxydation du glutathion (GSH/GSSG)

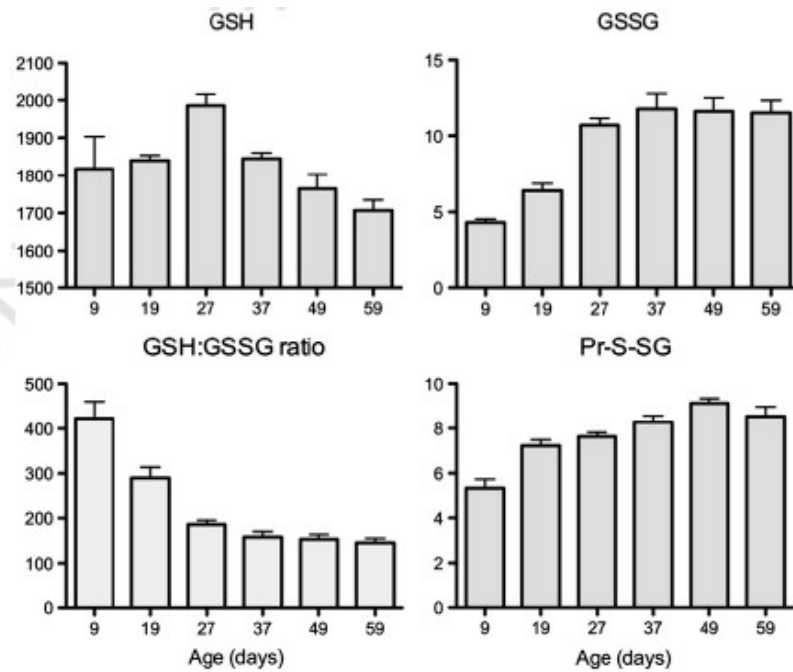
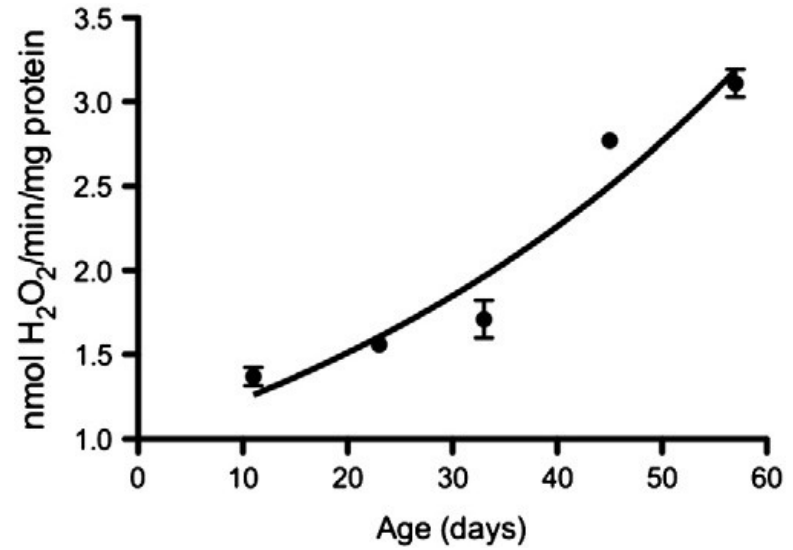
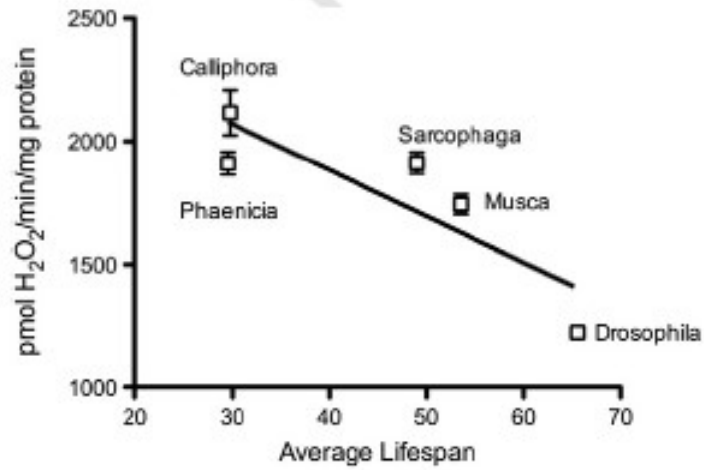
Etudes chez la Drosophile

- Corrélation directe entre la pression d'O₂ et la durée de vie de la Drosophile : 'dose-dépendance' de la durée de vie en fonction de la teneur en O₂.
- Corrélation entre longévité et production d'H₂O₂: différentes espèces de mouches (voir diapo suivante);
- Corrélation avec le taux de glutathion oxydé/réduit ;
- Ceci montre une corrélation entre la teneur en O₂ et la durée de vie de la Drosophile (vérification de la théorie de Harman) mais ne prouve en aucune manière que le stress oxydant est la cause d'une diminution de la longévité sous oxygène atmosphérique.

| Species | Common Name | Average Life Span (Days) | N |
|--------------------------------|-------------|--------------------------|-----|
| <i>Phaenicia sericata</i> | Blow fly | 29.5 ± 2.8 | 33 |
| <i>Calliphora vicina</i> | Blow fly | 29.7 ± 2.2 | 32 |
| <i>Sarcophaga bullata</i> | Flesh fly | 49.0 ± 3.2 | 36 |
| <i>Musca domestica</i> | House fly | 53.5 ± 1.4 | 105 |
| <i>Drosophila melanogaster</i> | Fruit fly | 65.5 ± 1.8 | 80 |



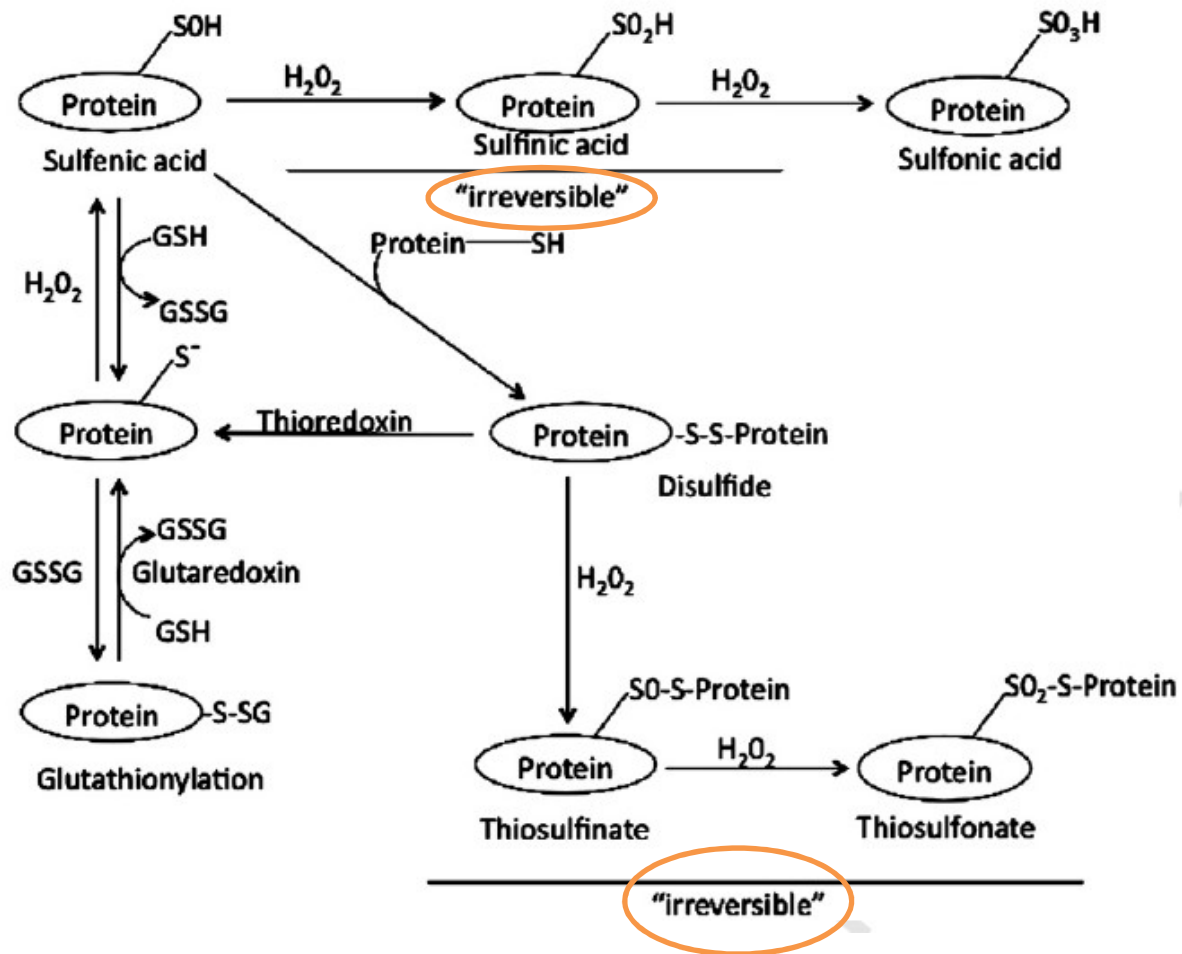
Corrélation entre durée moyenne de vie ('average life span' ALSP) et paramètres de stress oxydant entre différentes espèces de mouches.



Corrélation entre accumulation de ROS et diminution des capacités réductrices avec le vieillissement chez la drosophile

Mutations génétiques chez la Drosophile : est-ce qu'une 'intervention' sur le métabolisme de l'O₂ modifie la durée de vie ?

- Chez les mouches avec une durée de vie naturellement plus longue (+60%) : forte activité de la CuZnSOD, contenu plus élevé en CAT et MnSOD et résistance au stress oxydant induit par des peroxydes.
- Mutations génétiques:
 - Inactivation de CuZnSOD ou de MnSOD : forte létalité (diminution de 80% de la durée de vie). Chez les mouches déficientes en CuZnSOD on observe les signes de vieillissement accéléré (maturation des ailes). Toutefois, il apparaît que seulement 5% d'expression suffit à retrouver une durée de vie normale...
 - Surexpression de CuZnSOD (Sod1) : résultats très controversés (diminution, augmentation, pas d'effet) sur la durée de vie.
 - Effets positifs de la surexpression de MnSOD, CuZnSOD ciblée aux motoneurones;
 - La surexpression de CuZnSOD, MnSOD, CAT Thioredoxine reductase constitutives : aucun effet sur la durée de vie;
 - La surexpression de MnSOD et CAT augmente la résistance au stress oxydant (H₂O₂, O₂) mais réduit la durée de vie;
 - La surexpression de la peptide-S-méthionine sulfoxide reductase (MsrA) conduit à une augmentation de la durée de vie moyenne et maximale;
 - De même, la surexpression de la Glutamate-cystéine ligase (GCL) a un effet positif sur la durée de vie.
- *De manière générale la théorie du stress oxydant comme facteur limitant de la durée de vie semble se vérifier chez la Drosophile*
- *L'impact du stress oxydant au cours de la vie se ferait surtout au niveau d'un changement du potentiel redox du système GSH qui entraîne des modifications irréversibles des fonctions thiols des protéines entraînant une perte de fonction (voir schéma suivant).*



La formation d'acide sulfinique et sulfonique n'est pas réversible par le système GSH/GSSG.

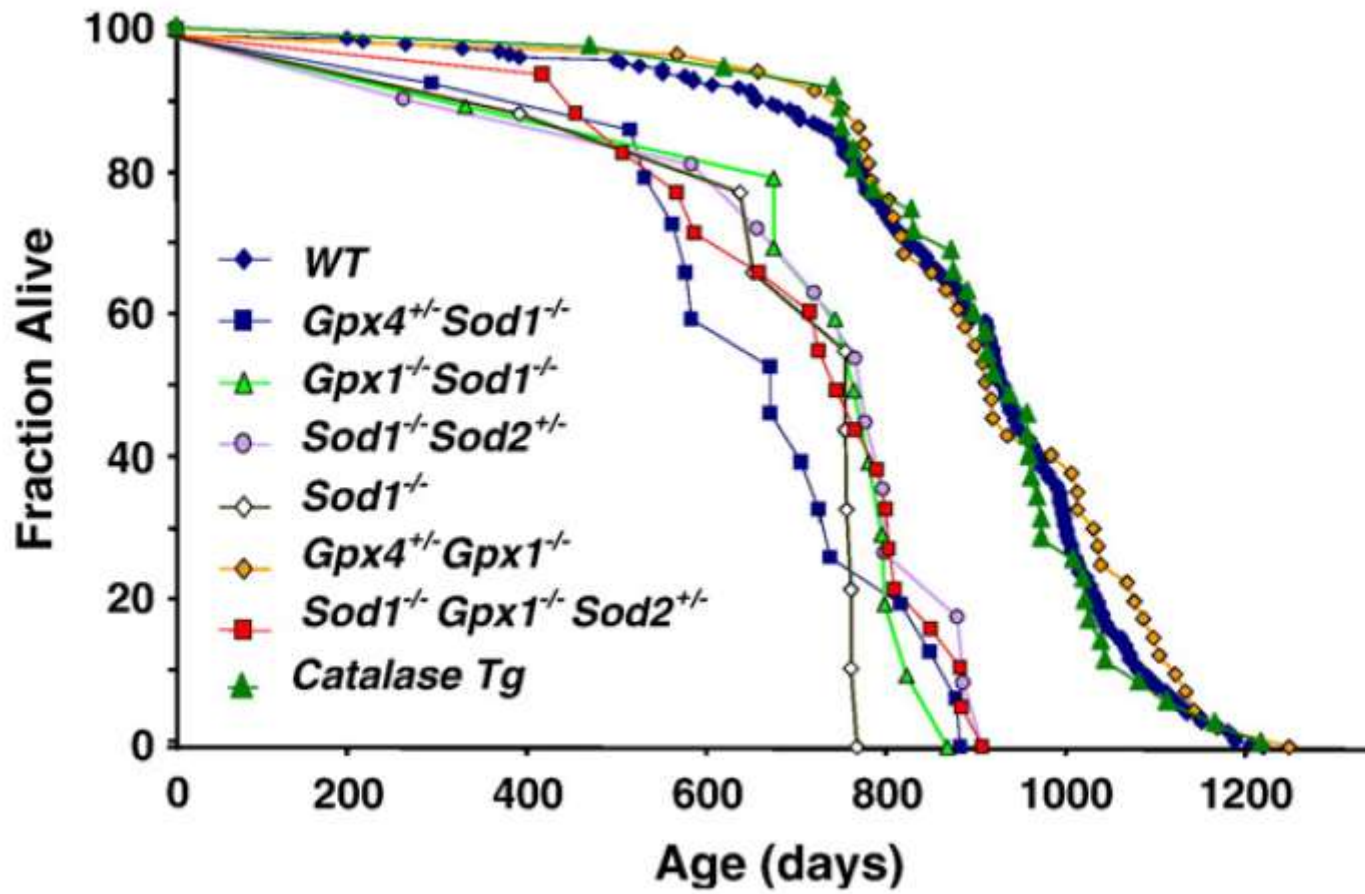
Etudes chez la souris

- Restriction calorique : effet positif sur la longévité, avec diminution de la production de ROS.
- Mutations (voir tableau suivant):
 - Souris CuZnSOD -/- :
 - Diminution de la durée de vie (30%), pathologies liées au vieillissement (perte musculaire);
 - Forte élévation des paramètres de stress oxydant : peroxydation lipidique (isoprostanes), dommage de l'ADN (8-oxo-dG), carbonylation de protéines;
 - Infertilité des femelles
 - Dommages au niveau de l'ADN de cellules hépatiques: apparition de carcinomes, principales causes de la mort.
 - Souris MnSOD -/-:
 - Forte létalité entre 1 et 24 jours après la naissance
 - Neurodégénérescence
 - Souris MnSOD +/-
 - Augmentation des paramètres du stress oxydant (30 à 80%) au niveau de l'ADN, mais peu des autres paramètres : carbonylation des protéines, peroxydation lipidique;
 - Durée de vie 'normale' – donc ici paradoxe!
 - La surexpression de CuZnSOD ou de MnSOD:
 - Pas d'effet, voire diminution de la durée de vie.
- ❑ *De manière générale la théorie du stress oxydant comme facteur limitant de la durée de vie se vérifie assez difficilement chez la souris.*
- ❑ *A l'heure actuelle: aucune réelle vérification de la théorie de Harman.*
- ❑ *Recherche de l'action réelle des ROS au niveau des cellules : activation des voies Nrf2-ARE, FOXO3a,...*

Tableau récapitulatif des phénotypes de souris avec invalidation génétique d'enzymes antioxydantes et de réparation

Phenotype of antioxidant and oxidative damage repair knockout mice

| Gene symbol | Gene name (localization) | Phenotype (life span) | Main antioxidant function |
|---|---|---|--|
| <i>Cat</i> ^{-/-} | Catalase (C) ^b | "Normal," life span not reported ^a | Scavenges H ₂ O ₂ |
| <i>Gclc</i> ^{-/-} | Glutamate cysteine ligase, Catalytic subunit (C) | Embryonic lethal | Glutathione biosynthesis |
| <i>Gclm</i> ^{-/-} | Glutamate cysteine ligase, Regulatory subunit (C) | "Normal," life span not reported | Glutathione biosynthesis |
| <i>Gpx1</i> ^{-/-} | Glutathione peroxidase 1 (C) | "Normal," life span not reported | Scavenges H ₂ O ₂ |
| <i>Gpx2</i> ^{-/-} | Glutathione peroxidase 2 (E) | "Normal," life span not reported | Scavenges H ₂ O ₂ |
| <i>Gpx4</i> ^{-/-} | Phospholipid glutathione peroxidase (M,C) | Embryonic lethal | Scavenges LOOH |
| <i>MrsA</i> ^{-/-} | Methionine S sulfoxide reductase (M, C) | ~40% shortened life span | Repairs oxidized methionine |
| <i>Mt1</i> ^{-/-} <i>Mt2</i> ^{-/-} | Metallothionein 1 and 2 (C) | Viable, life span not reported >52 weeks | Metal and OH [•] scavenger |
| <i>Mt3</i> ^{-/-} | Metallothionein 3 (C) | Viable, life span not reported | Same as above |
| <i>Prdx1</i> ^{-/-} | Peroxiredoxin 1 (C) | Hemolytic anemia, increased cancer, shortened life span | Scavenges peroxide ^c |
| <i>Prdx2</i> ^{-/-} | Peroxiredoxin 2 (C) | Hemolytic anemia, life span not reported | Scavenges peroxide ^c |
| <i>Prdx6</i> ^{-/-} | Peroxiredoxin 6 (C) | "Normal," life span not reported | Scavenges peroxide ^c |
| <i>Sod1</i> ^{-/-} | CuZn superoxide dismutase (C, M) | Multiple pathologies, ~30% shortened life span | Scavenger of O ₂ ^{•-} |
| <i>Sod2</i> ^{-/-} | Mn superoxide dismutase (M) | Neonatal lethal | Scavenger of O ₂ ^{•-} |
| <i>Sod3</i> ^{-/-} | Extracellular superoxide dismutase (E) | "Normal," no reduction in life span | Scavenger of O ₂ ^{•-} |
| <i>Txn1</i> ^{-/-} | Thioredoxin 1 (C) | Embryonic lethal | Reducing substrate to Msr and peroxiredoxins |
| <i>Txn2</i> ^{-/-} | Thioredoxin 2 (M) | Embryonic lethal | Same as above |
| <i>Txnrd1</i> ^{-/-} | Thioredoxin reductase 1 (C) | Embryonic lethal | Reduces thioredoxin by NADPH |
| <i>Txnrd2</i> ^{-/-} | Thioredoxin reductase 2 (M) | Embryonic lethal | Same as above |
| <i>Ttpa</i> ^{-/-} | Tocopherol transfer protein (C) | Neurodegeneration, life span not reported, | Loading of vitamin E on LDL |
| <i>Ogg1</i> ^{-/-} | 8-oxo-dG glycosylase (N) | "Normal," life span not reported | Repairs 8-oxo-dG DNA damage product |
| <i>Myh</i> ^{-/-} | MutY homologue (N) | "Normal," life span not reported | Removes adenine mispaired to 8-oxo-dG |
| <i>Myh</i> ^{-/-} <i>xOgg1</i> ^{-/-} | | ~50% Shortened life span, massive tumor incidence | |



Durée de vie chez les mutants d'enzymes antioxydantes

Modifications de la protection cellulaire par action génomique

- Activation de la voie Nrf2: activation des ARE (Antioxidant responsive elements) et expression d'enzymes antioxydantes. De manière intéressante, cette voie est aussi activée par un grand nombre d'antioxydants (tertio-butyl hydroquinone, sulforaphane).
- La restriction calorique stimule la voie FOXO par l'intermédiaire du récepteur à l'IGF1. Elle conduit aussi à une expression de la Sirtuine 1 (SIRT1) activée par le resvératrol.
- La restriction calorique active la voie de l'AMPK conduisant à l'induction de mécanismes protecteurs notamment par une activation concertée de la voie des Sirtuines.

Enzymes antioxydantes dont l'expression est augmentée après activation de la voie Nrf2:

-Hemeoxigenase (HO1)

-NADPH Quinone oxydoreductase (NQO1)

-Glutathion-S-transferase (GST)

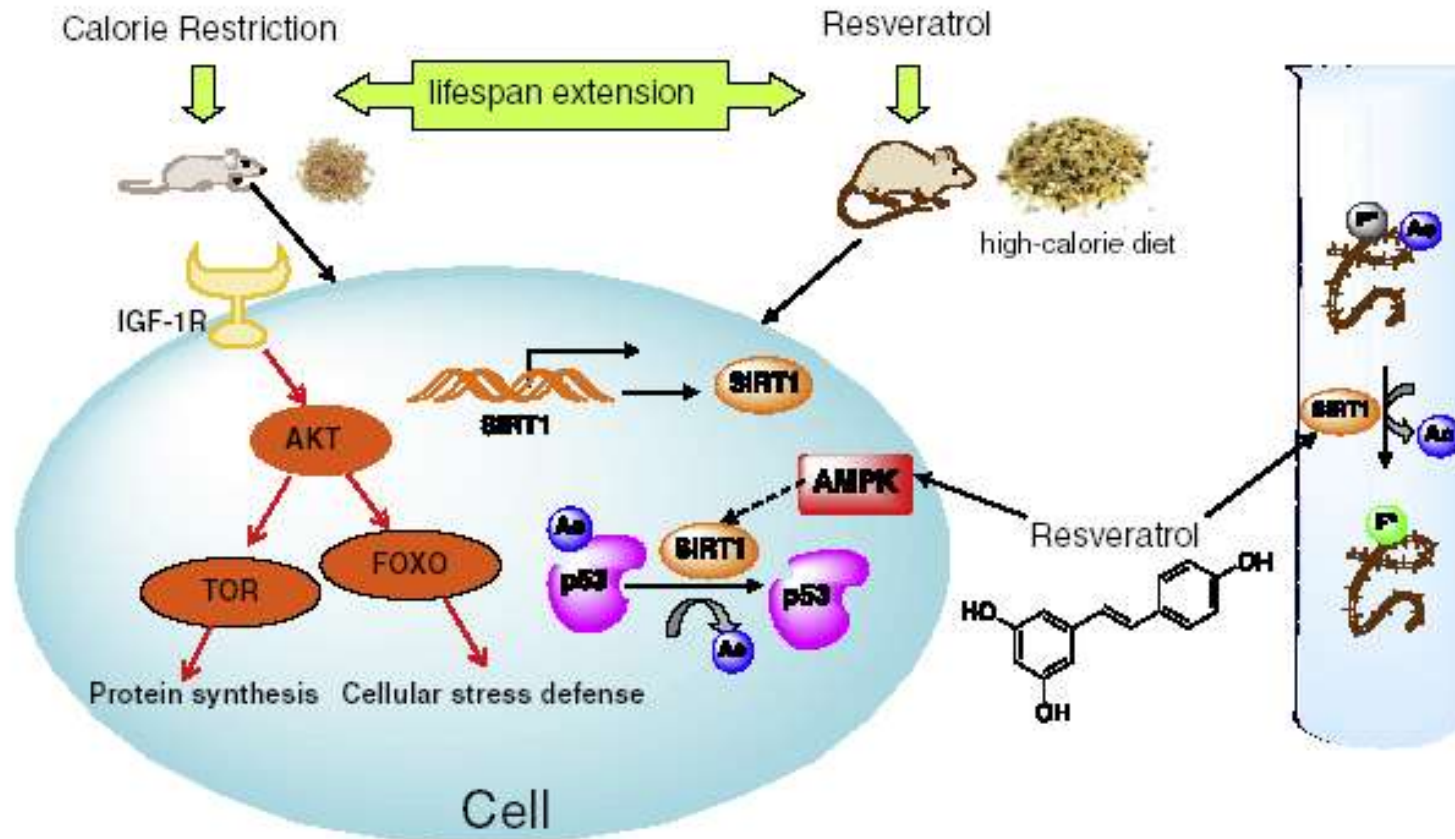
-Glutathion peroxydase

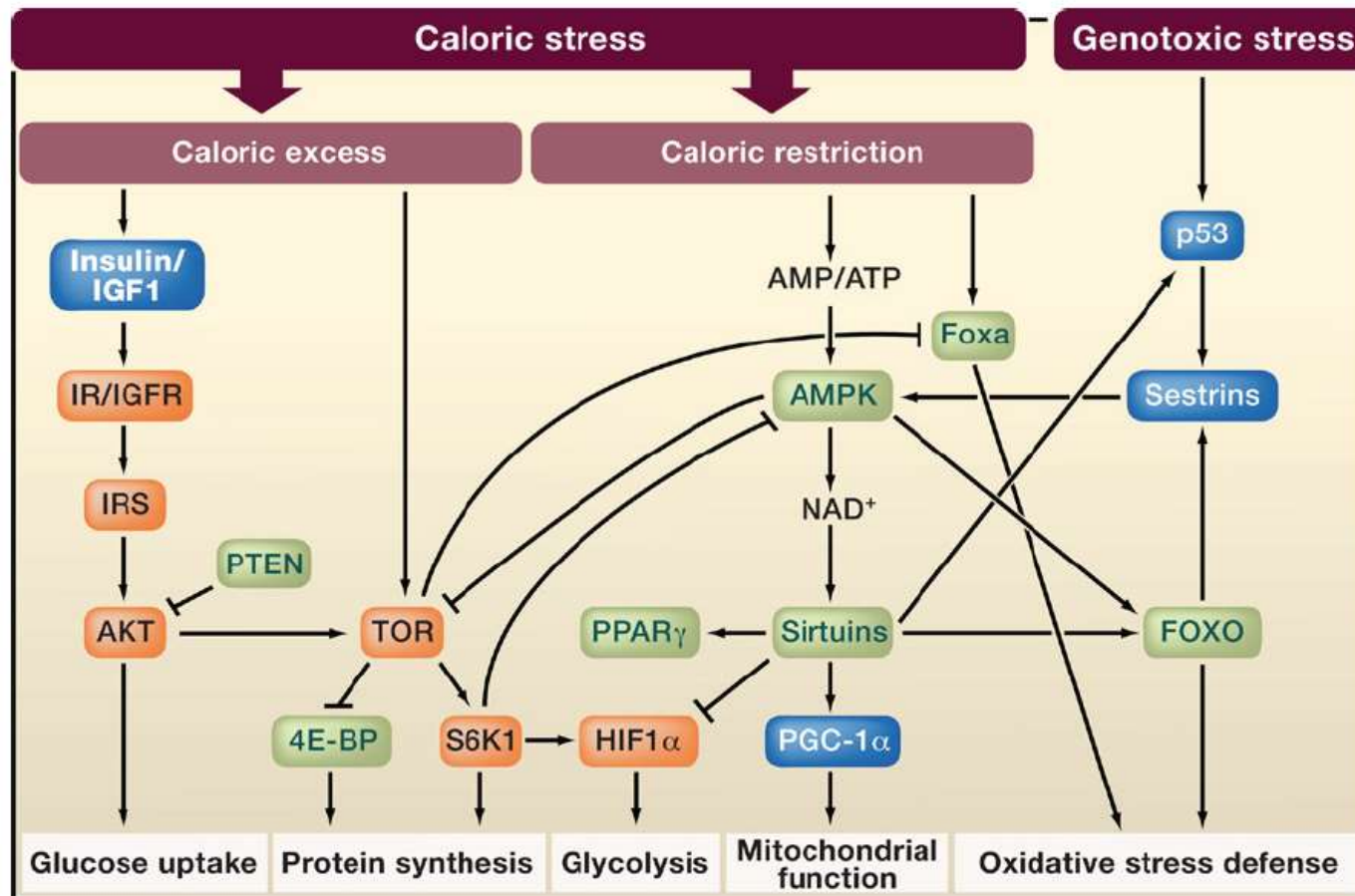
-Glutathion reductase

- γ -glutamyl-cysteine synthetase (γ -GCS)

-...

Modifications apportées par la restriction calorique

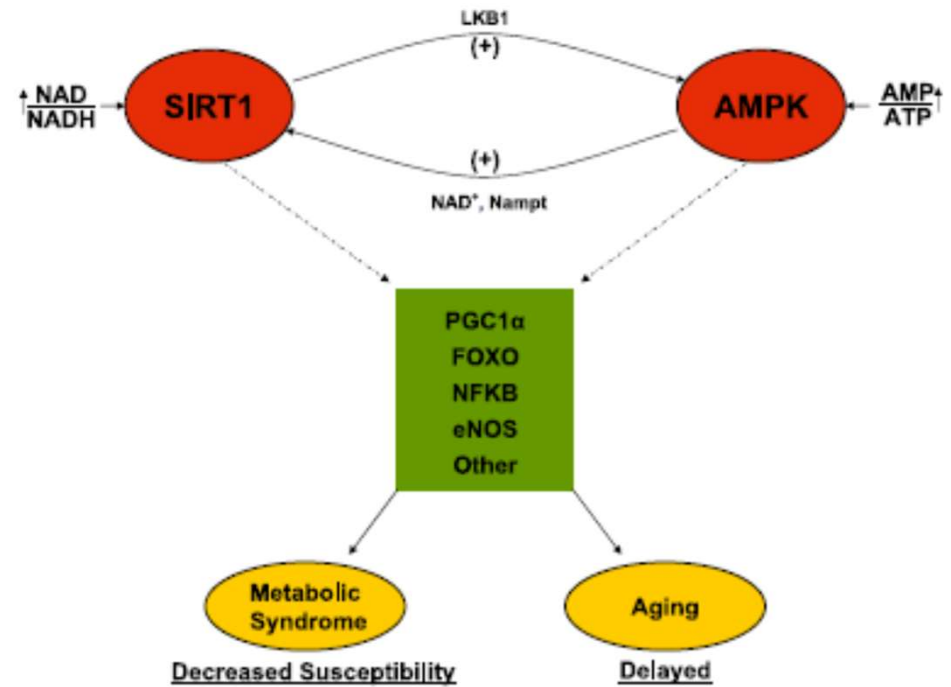
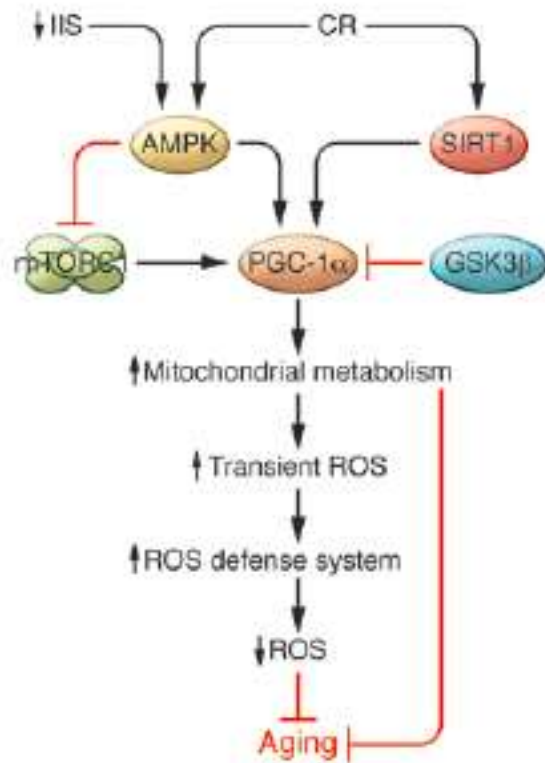


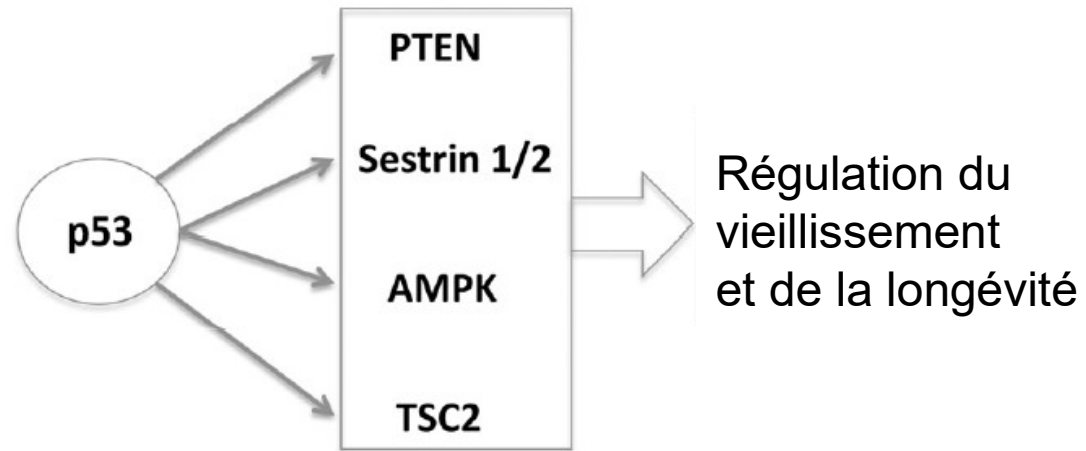


Réseaux métaboliques et vieillissement

Il y a des interactions très complexes entre les voies métaboliques individuelles comme l'insuline/IGF1, TOR, AMPK, les sirtuines et FOXO. Ces interactions modulent sur la santé et la durée de vie. Par exemple, la voie de TOR qui est activée par excès de nutriments, est associée non seulement à la voie insuline/IGF1 activée par excès de glucose mais aussi aux voies activées par la restriction calorique, l'AMPKinase et Foxa. Les protéines colorées en vert augmentent la longévité. La mutation des protéines colorées en orange augmente aussi la longévité (PGC1 α = peroxisome proliferator activator receptor γ coactivator-1 α),

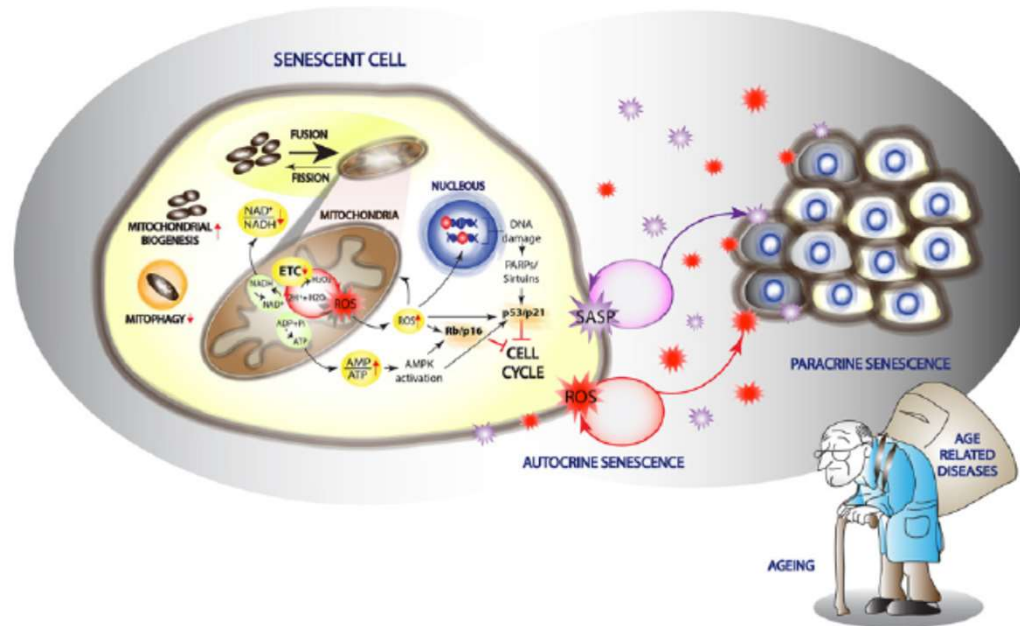
Modèles d'effet 'anti-âge' de l'interaction AMPK / SIRT1: effet hormétique ?





Rôle complexe de p53 dans la longévité et le vieillissement par régulation de la transcription de différents gènes cibles.

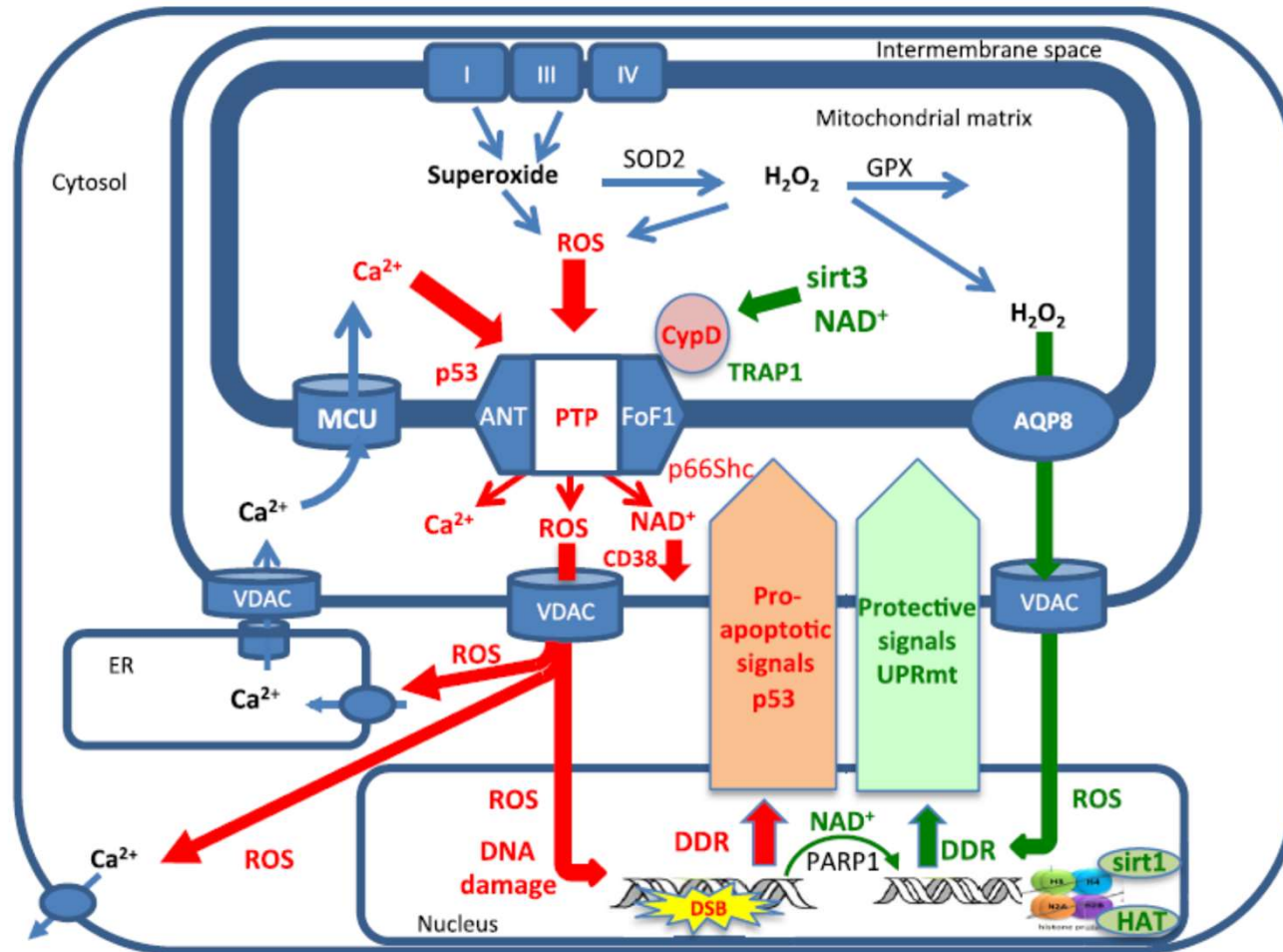
Mitochondrie et sénescence cellulaire



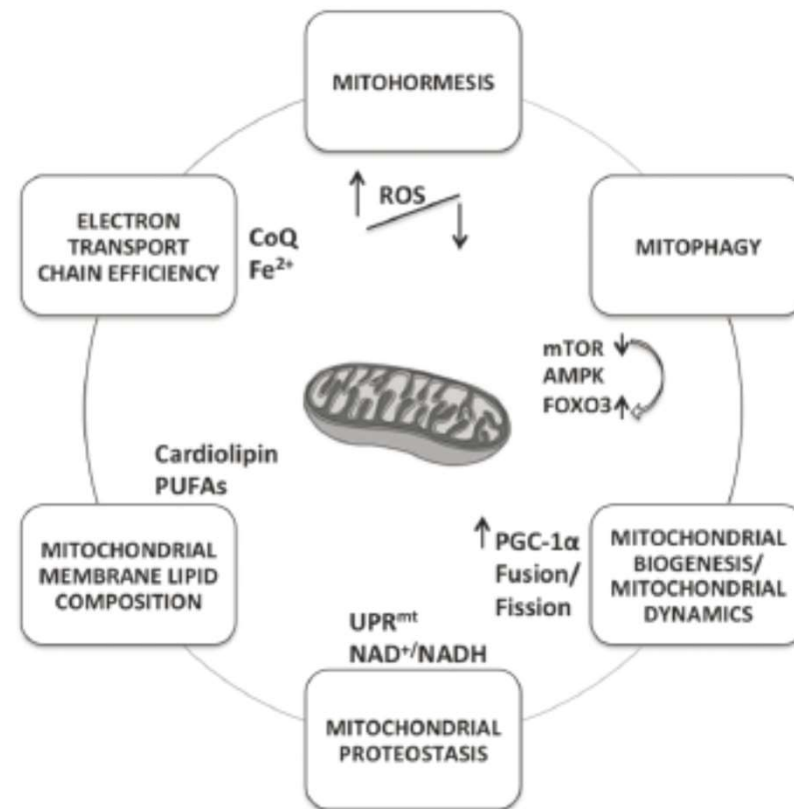
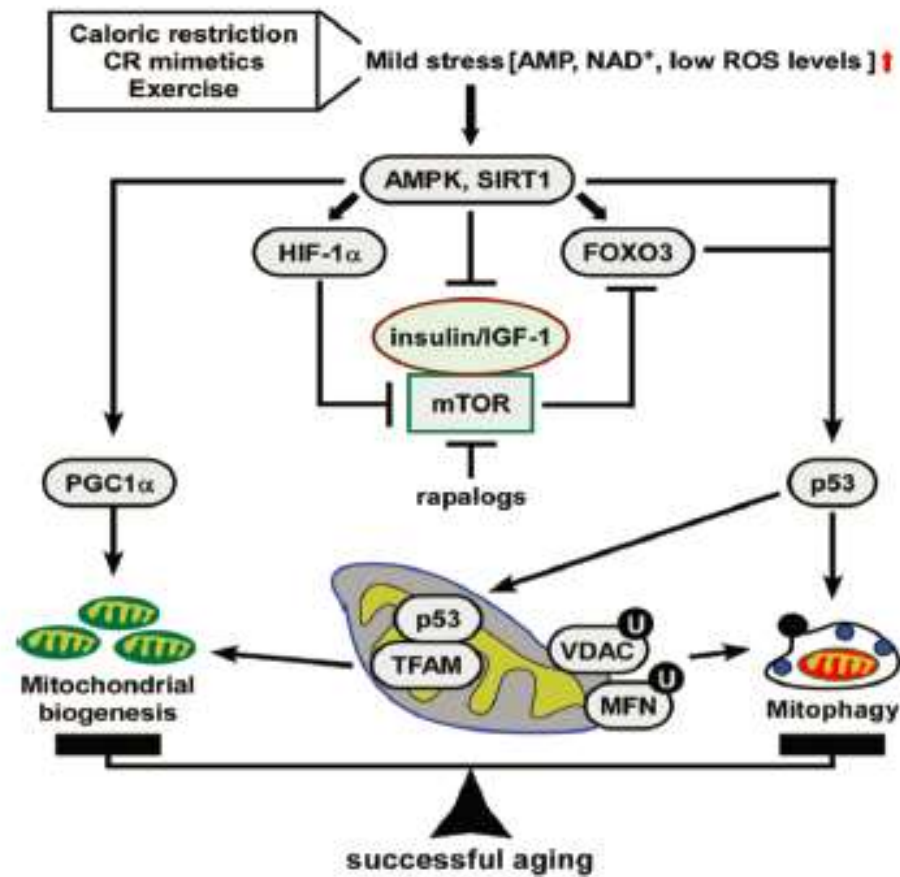
Le dysfonctionnement mitochondrial induit la sénescence cellulaire et peut contribuer au processus de vieillissement.

En effet, la perte de l'homéostasie mitochondriale: augmentation de la biogénèse, diminution de la mitophagie et diminution de rapport fusion/fission semblent impliquées dans la sénescence cellulaire. La diminution d'activité de la chaîne respiratoire qui conduit à une diminution de l'ATP et une augmentation des ROS qui entraîne l'activation des systèmes suppresseurs de tumeur (Rb/p16 et p53/p21) qui à leur tour induisent un arrêt du cycle cellulaire (sénescence). Au niveau nucléaire les ROS peuvent produire des dommages qui activent la voie p53/p21 conduisant aussi à l'arrêt du cycle cellulaire. Les cellules sénescents génèrent beaucoup de ROS mais aussi sécrètent beaucoup de facteurs comme des facteurs de croissance et des cytokines proinflammatoires (IL6,...). Elles possèdent un **sécrétome spécifique** (ou **SASP**, senescence-associated secretory phenotype) qui joue un rôle important dans la réponse inflammatoire, dans le remodelage de la formation de la matrice extracellulaire et le maintien de l'état sénescents. Elles peuvent agir par **paracrinie** pour induire la **propagation de la sénescence** dans un tissu. Par ailleurs, la présence de cellules sénescents entraîne une augmentation de l'inflammation.

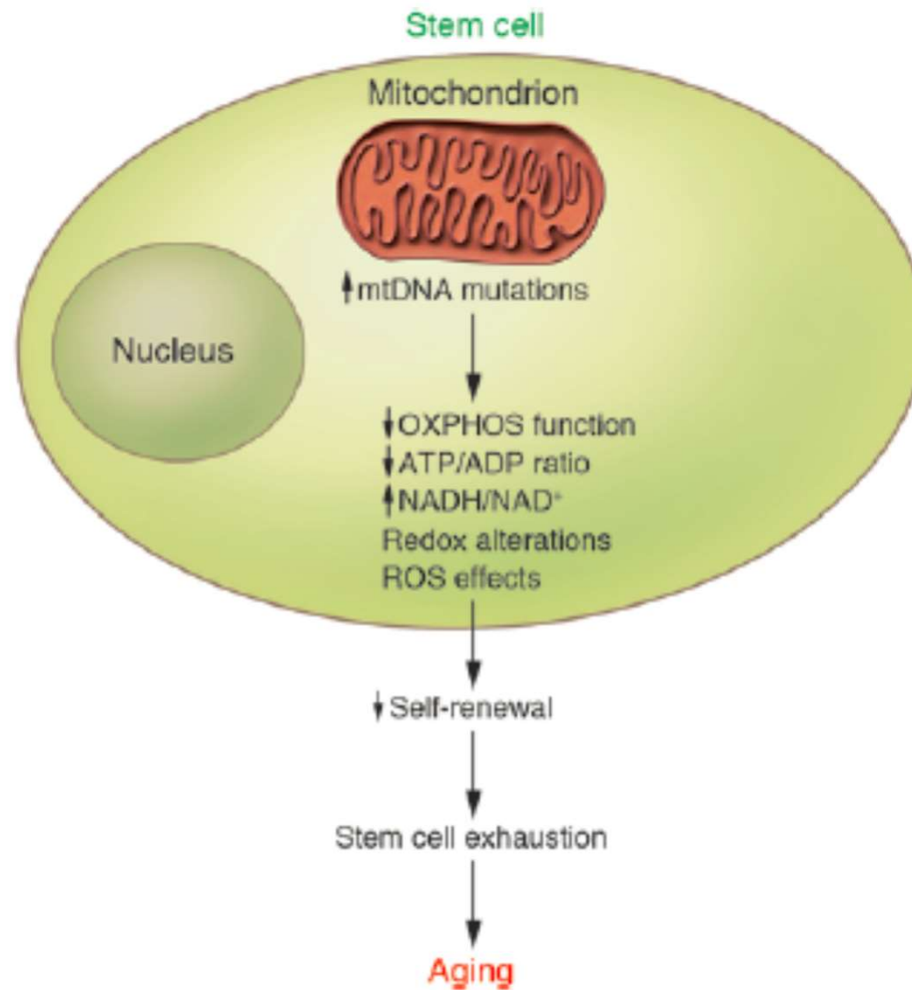
Rôle du pore de transition mitochondrial



Avec le vieillissement, l'ouverture du pore de transition (mitochondrial permeability transition pore ou mPTP) est de plus en plus fréquente. Elle peut être stimulée par une augmentation de calcium intra-mitochondrial à travers le voltage-dépendant anion channel (VDAC) et l'uniport mitochondrial (MCU) et par les ROS. Ceci conduit à l'induction de mécanismes apoptotiques et à une inhibition des mécanismes de protection.



Le 'vieillesse réussi' ('successful aging') résulterait du maintien de l'homéostasie mitochondriale dans l'équilibre entre biogénèse mitochondriale et mitophagie.

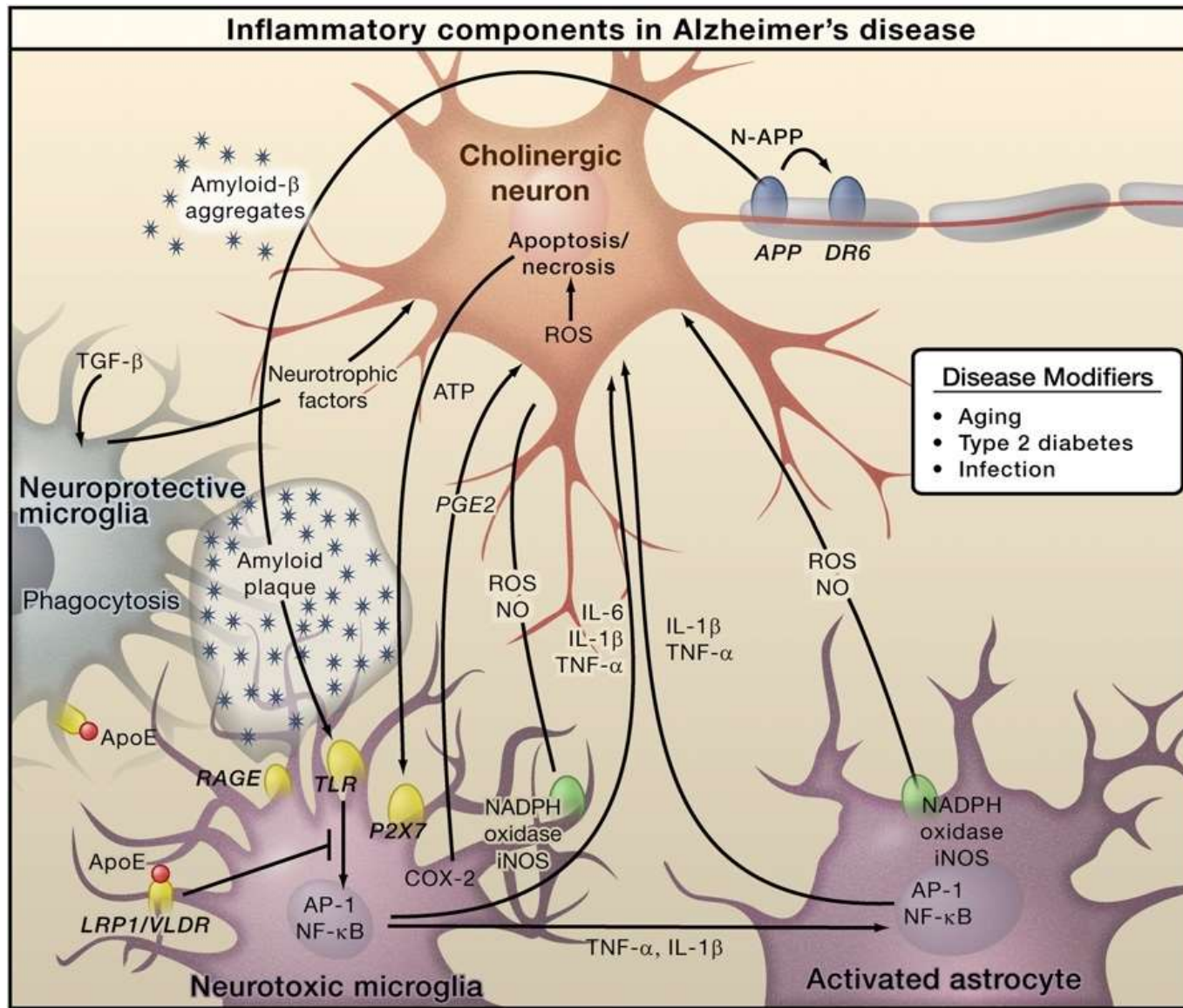


Contribution des mutations de l'ADN mitochondrial des cellules souches dans le vieillissement prématuré

Stress Oxydant et pathologies neurodégénératives

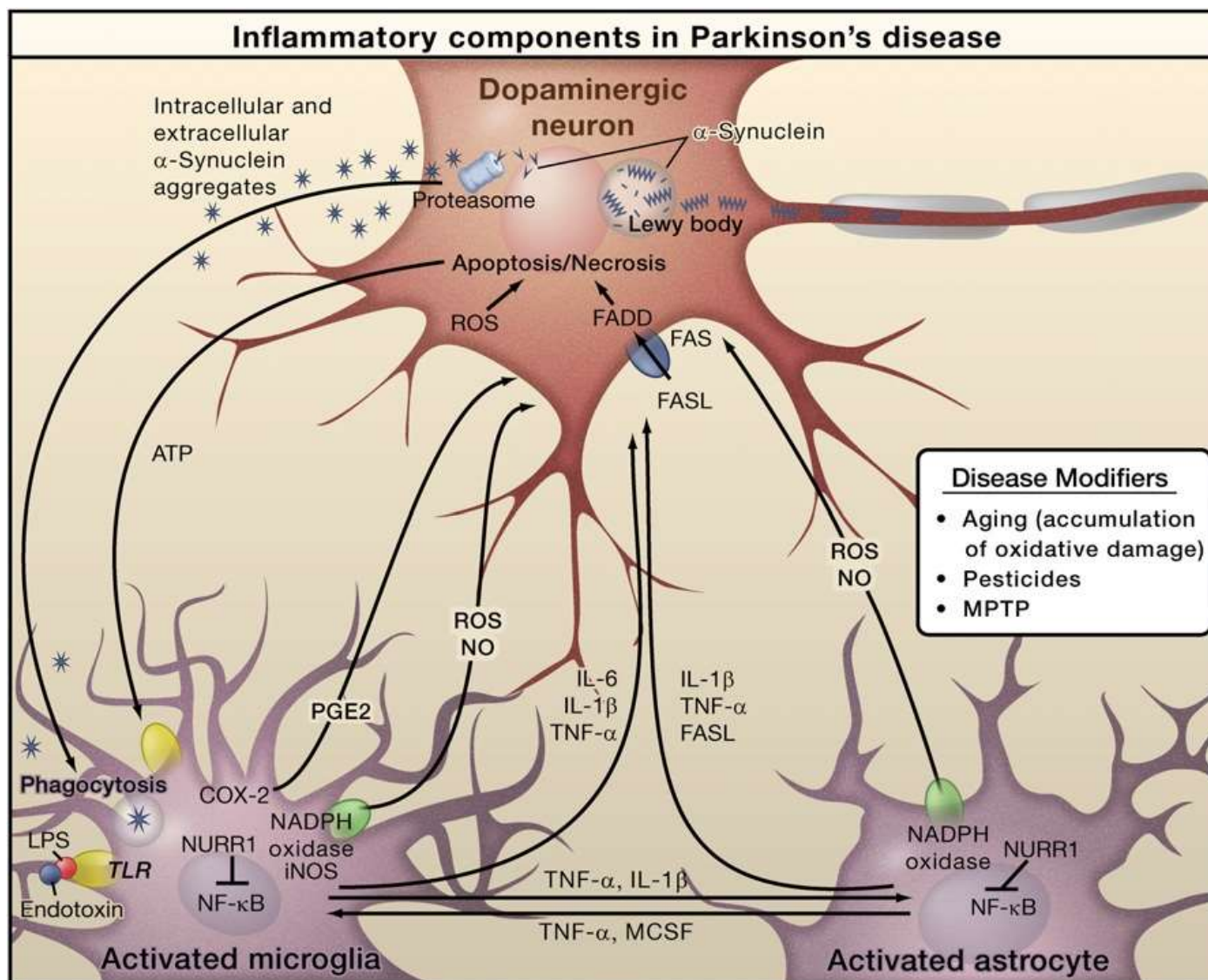
- Un point commun : l'inflammation chronique;
- Activation Microgliale / astrocytaire : libération d'agents toxiques;
- Relations complexes entre les ROS et les cytokines;
- Certaines maladies sont en lien direct avec une altération mitochondriale.

Maladie d'Alzheimer



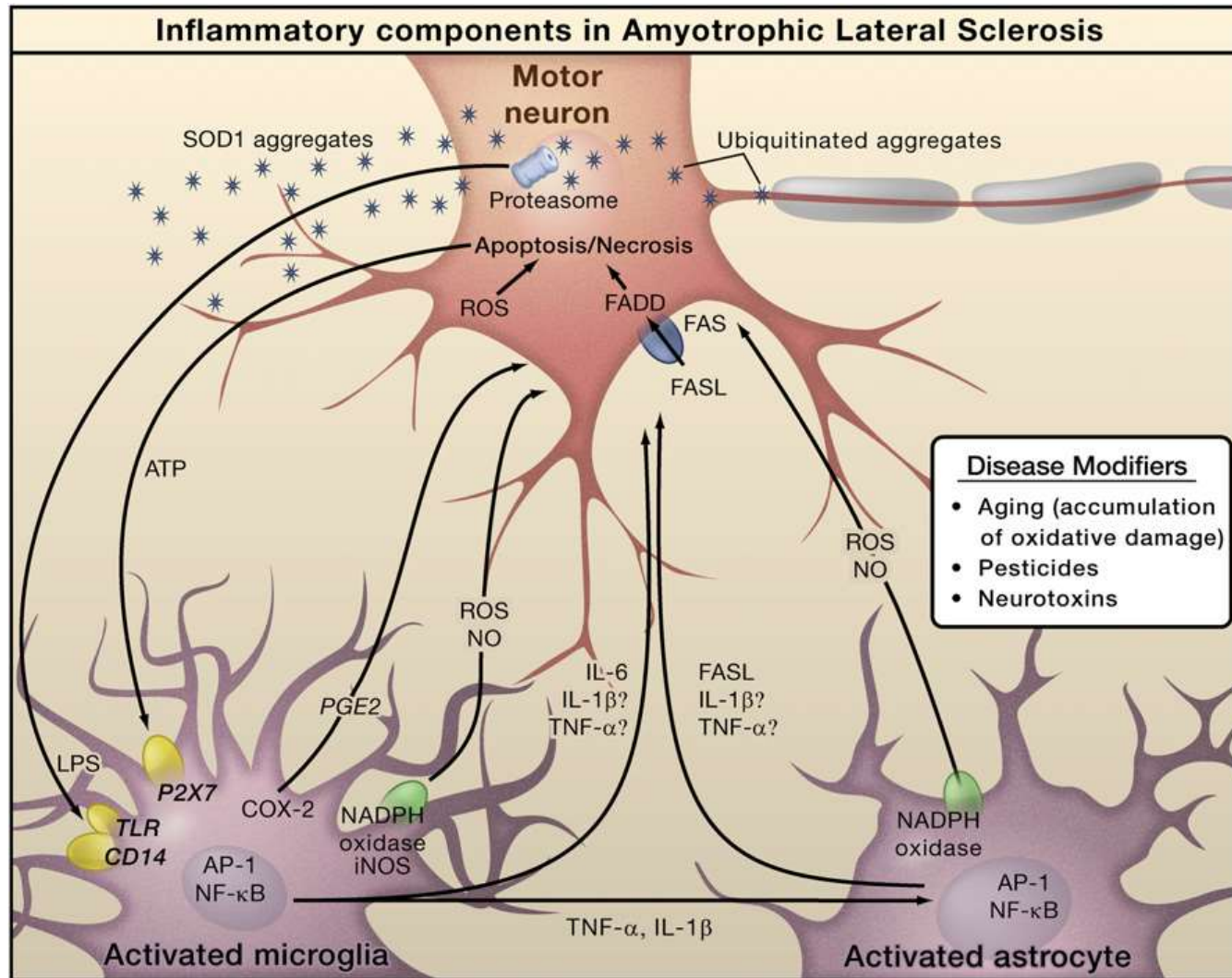
Glass et al., Cell, 2010

Maladie de Parkinson

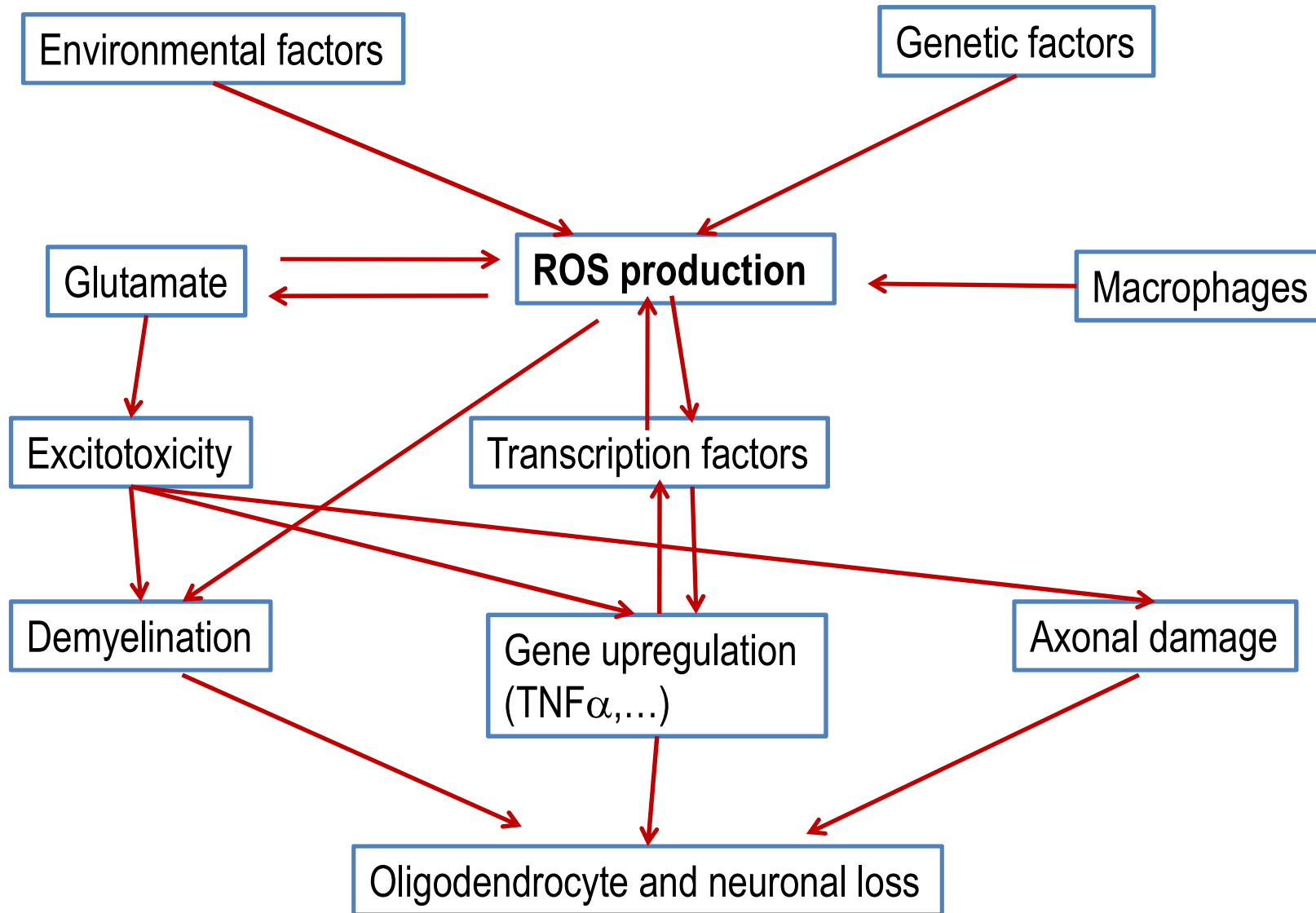


Glass et al., Cell, 2010

Scélrose amyotrophique latérale



Glass et al., Cell, 2010



Gilgun-sherki et al., J. Neurol., 2004

Très peu de bénéfice de stratégies anti-oxydantes
contre les pathologies neurodégénératives...

Table 1. Therapeutic Targets for Treating Neuroinflammation

| | Target | Disease | Agent | Study | Status |
|-------------|---------------|---------|-------------------------------|-------------------------|------------------------|
| Inducers | A β | AD | Tarenflurbil | Phase III | No benefit |
| Sensors | RAGE | AD | PF-04494700 | Phase II | Ongoing |
| Transducers | PPAR γ | AD | Rosiglitazone | Phase II | Improved cognition |
| | MLK | PD | CEP-1347 | Phase III | No benefit |
| Effectors | Cox-2 | AD; ALS | Celecoxib | Phase III; phase II/III | No benefit; no benefit |
| | Cox-2 | ALS | Nimesulide | Phase I | Ongoing |
| | ROS | AD; ALS | Vitamin E+selenium; Vitamin E | Phase III | Ongoing; no benefit |
| | ROS | AD; ALS | CoenzymeQ | Phase III; phase II | Ongoing; no benefit |
| | ROS | ALS | Celastrol | Phase I | Ongoing |
| Cells | Microglia | PD; ALS | Minocycline | Phase II; phase III | Ongoing; no Benefit |
| | Leukocytes | MS | Alemtuzumab | Phase III | Improvement |
| | Astrocytes | ALS | ONO-2506 | Phase III | Ongoing |

Glass et al., Cell, 2010

Etudes très controversées sur l'action de la vitamine E dans le contexte de la maladie d'Alzheimer :

- actions bénéfiques;
- actions inverses, accélération des symptômes;
- pas d'effets.

Maladie de Parkinson

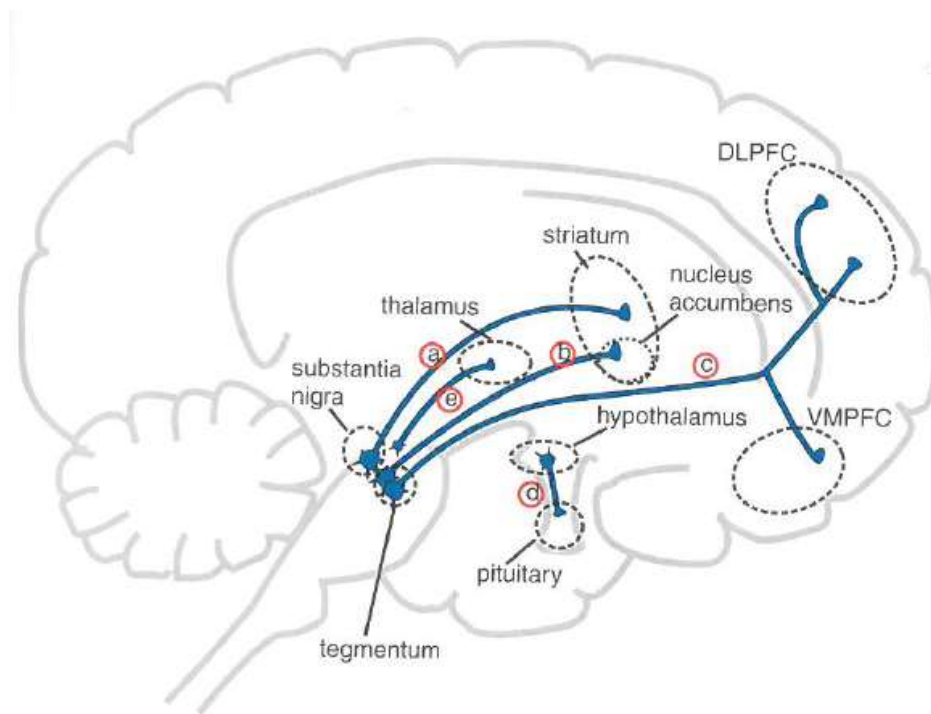
Le stress oxydant semble très impliqué dans la maladie de Parkinson, non seulement pour les formes sporadiques mais aussi pour les formes génétiques (familiales).

Rôle toxique de la dopamine elle-même ? La dégradation de la dopamine entraîne l'apparition de radicaux oxygénés qui entraîne un stress oxydant.

Origine génétique de la maladie: gènes de la mitophagie

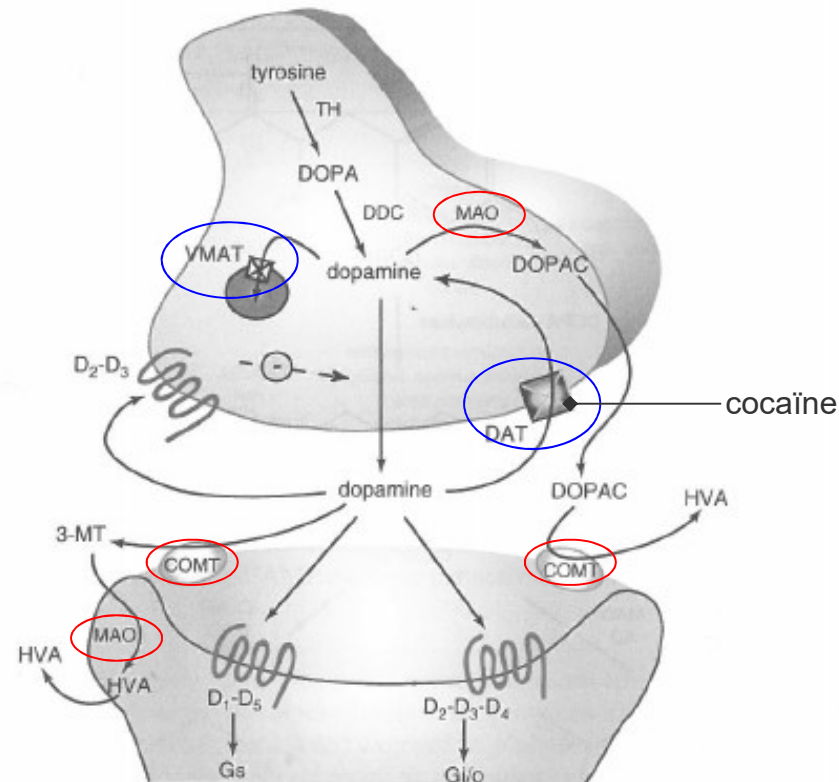
La dopamine

Voies dopaminergiques dans le SNC

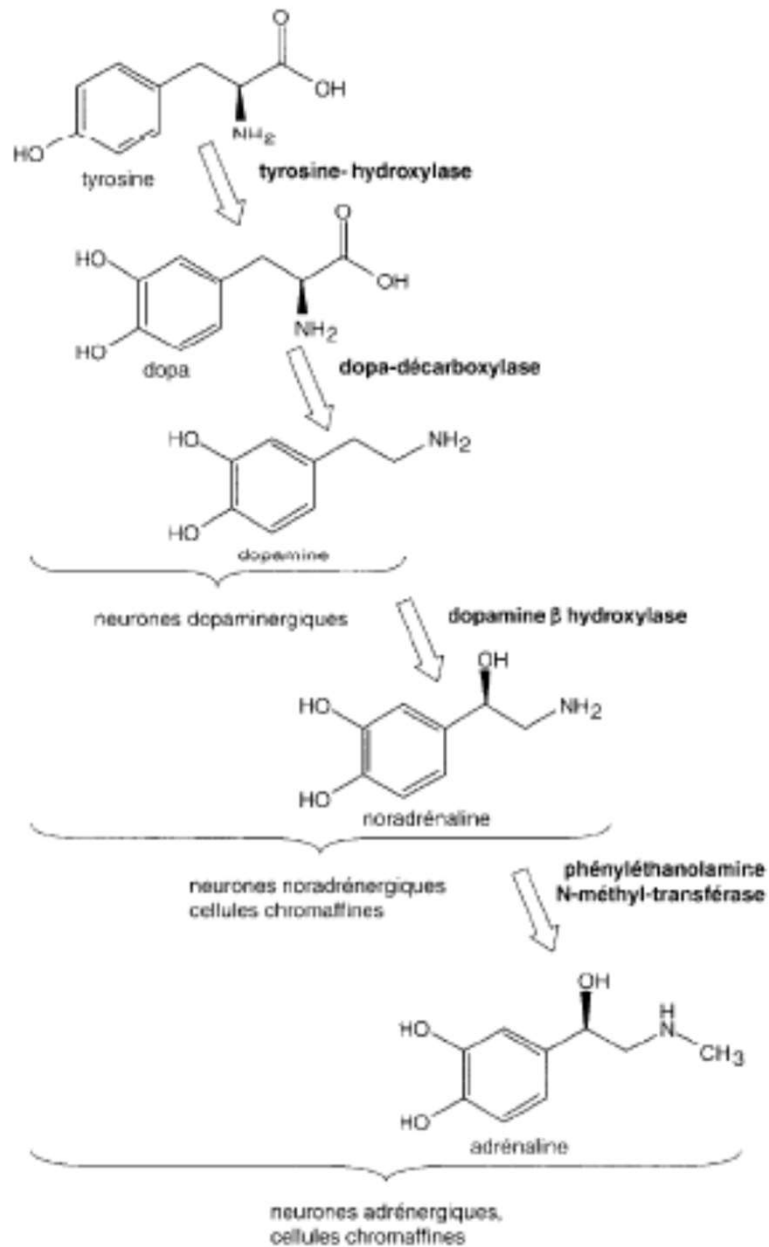


- 5 voies:
- a-voie nigrostriatale (de la substance noire vers striatum)
 - b-voie mésolimbique (du tegmentum ventral vers noyau accumbens)
 - c-voie mésocorticale (du tegmentum ventral vers le cortex préfrontal)
 - d-voie tuberoinfundibulaire (de l'hypothalamus vers l'hypophyse 'pituitary')
 - e-voie mésothalamique (du tegmentum ventral vers le thalamus)

Une synapse dopaminergique typique



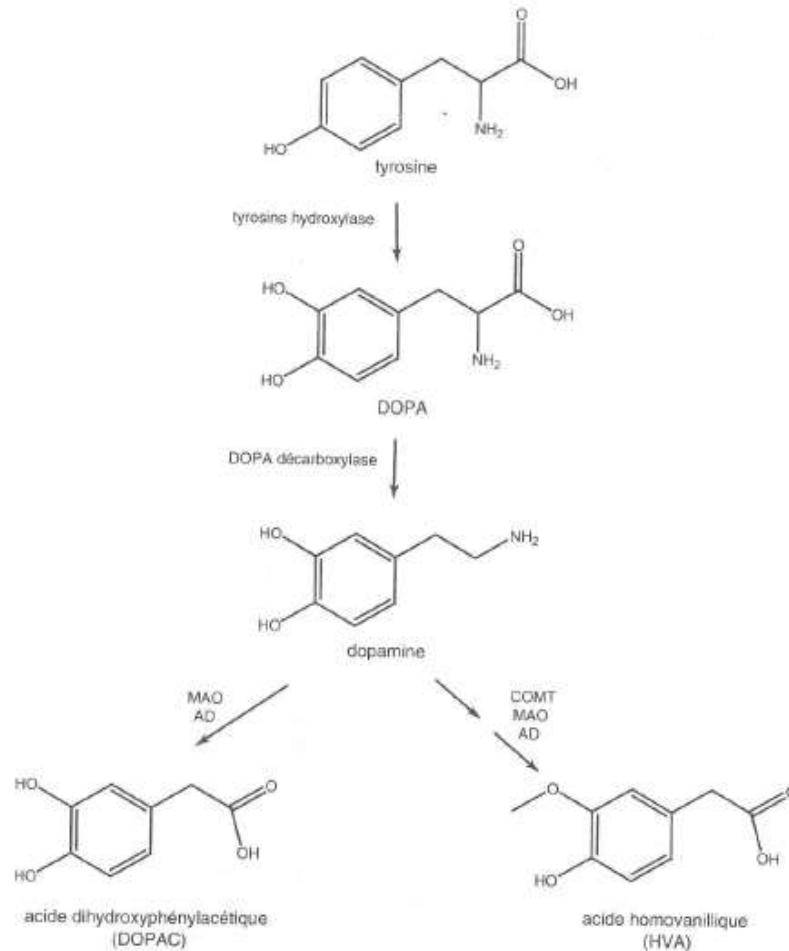
- Localisation des récepteurs: D2-like pré- et postsynaptiques et D1-postsynaptique;
- effet inhibiteur des D2-like présynaptiques sur la libération de dopamine;
- Transporteurs vésiculaire (VMAT) et membranaire (DAT);
- Synthèse présynaptique et dégradation (MAO et COMT);
- Le DAT peut transporter des molécules toxiques qui inhibent la respiration mitochondriale et induisent la mort neuronale: MPTP, 6OHDA, pesticides.



Voie de synthèse de la dopamine

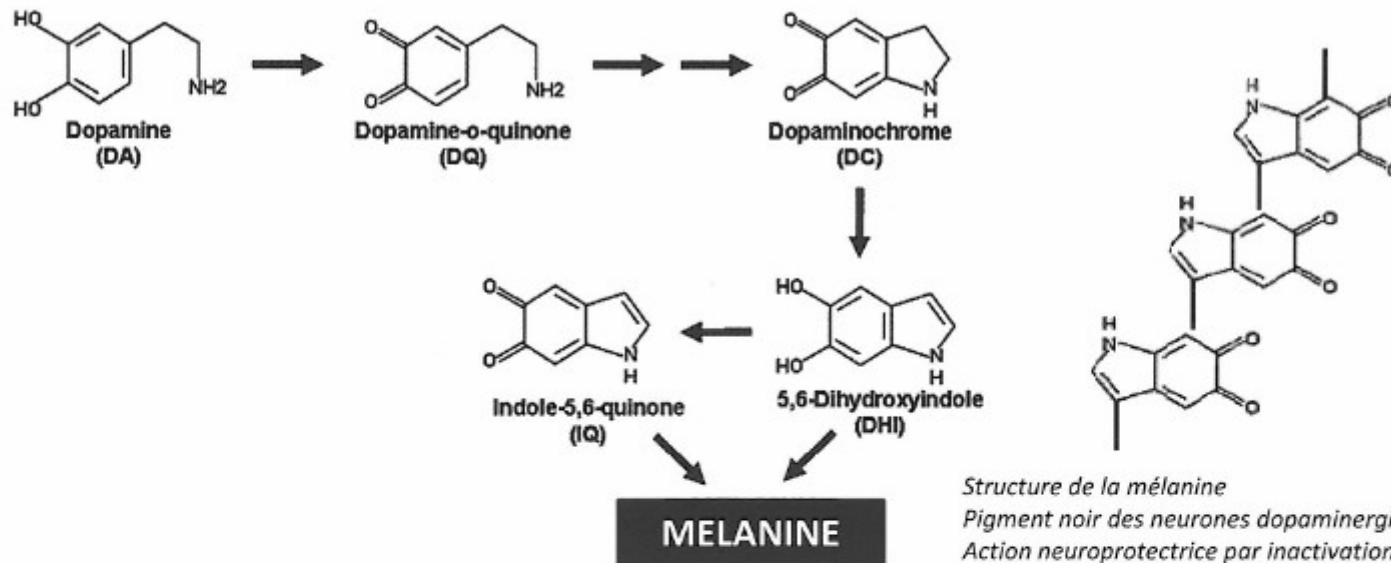
L'action de la tyrosine hydroxylase est limitante pour la synthèse de dopamine.

La synthèse de dopamine permet aussi d'obtenir la noradrénaline et l'adrénaline (dans les cellules chromaffines).

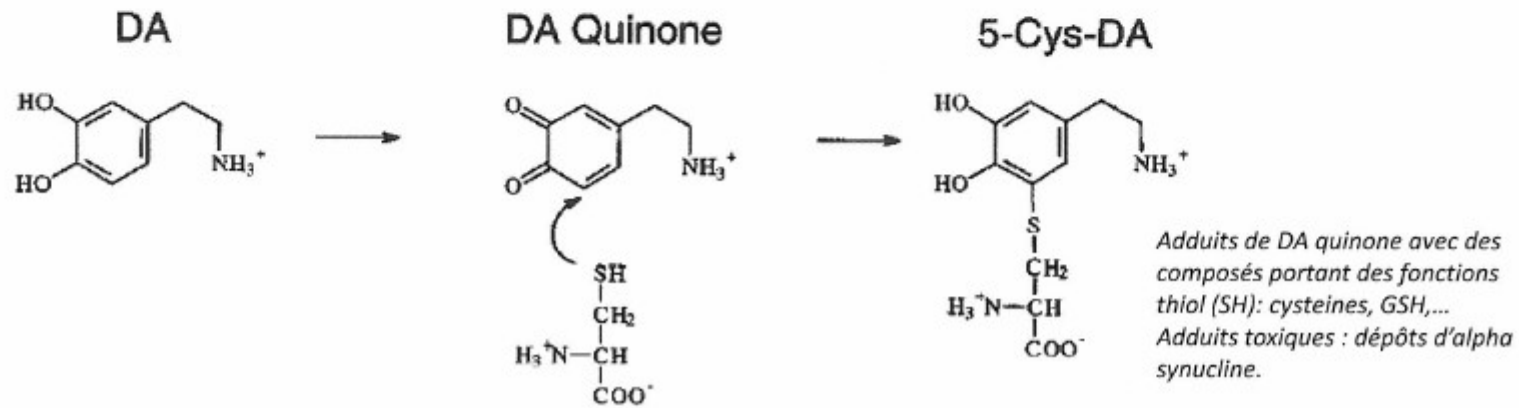


Voie de dégradation enzymatique de la dopamine

Elle fait intervenir la monoamine oxydase B (MAO_B) présente dans les mitochondries pour générer le DOPAC. La catéchol-O-méthyl transférase, localisée dans la synapse, contribue à cette dégradation pour générer notamment l'acide homovanillique (HVA). Le DOPAC et le HVA sont très stables et sont utilisés pour doser la dopamine. La MAO génère des radicaux libres lors de l'oxydation de la dopamine.



Structure de la mélanine
 Pigment noir des neurones dopaminergiques.
 Action neuroprotectrice par inactivation des quinones, mais potentiellement toxique si en trop grande quantité.



Adduits de DA quinone avec des composés portant des fonctions thiol (SH): cysteines, GSH, ...
 Adduits toxiques : dépôts d'alpha synucline.

Voie non enzymatique

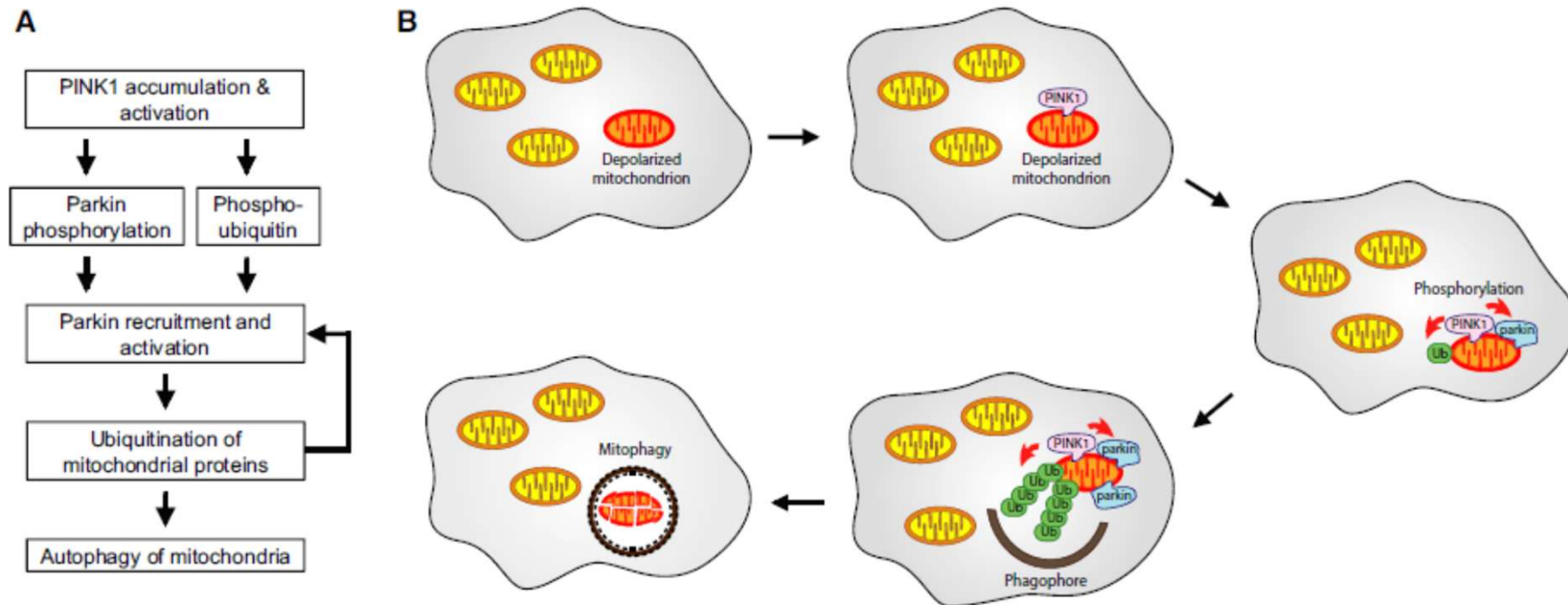
Réaction d'auto-oxydation avec formation de quinones très réactives. La polymérisation des quinones donne la mélanine ('neuromélanine'). Les quinones peuvent se réduire en oxydant des biomolécules dont les fonctions SH des Cystéines.

| | |
|---------------------|---------------------------------------|
| α -synuclein | Macroautophagy Mitophagy CMA |
| PINK1/Parkin | Mitophagy |
| LRRK2 | Macroautophagy CMA Mitochondria |
| DJ-1 | Macroautophagy CMA Mitochondria |

Gènes mutés dans les formes génétiques de la maladie de Parkinson.

Une inhibition de la mitophagie est associée aux mutations de ces gènes.

Mode d'action de PINK1 et Parkin dans la mitophagie



Le rôle exact de l'inhibition de la mitophagie observée dans ces formes de maladie de Parkinson n'est pas connu précisément, même si on peut penser qu'une accumulation de mitochondries non fonctionnelles peut être toxique à long terme.

Parkin deficiency modulates NLRP3 inflammasome activation by attenuating an A20-dependent negative feedback loop

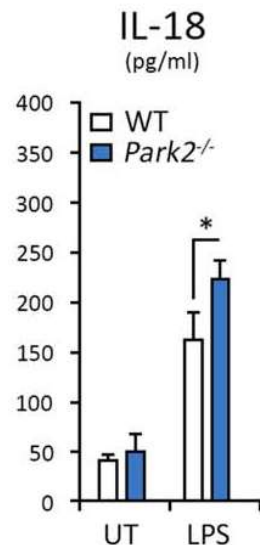
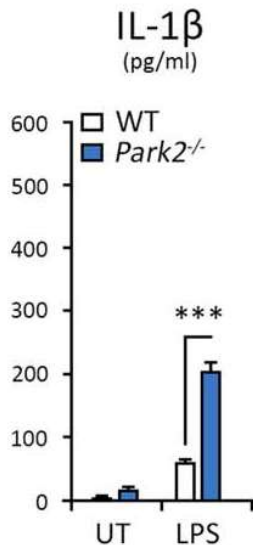
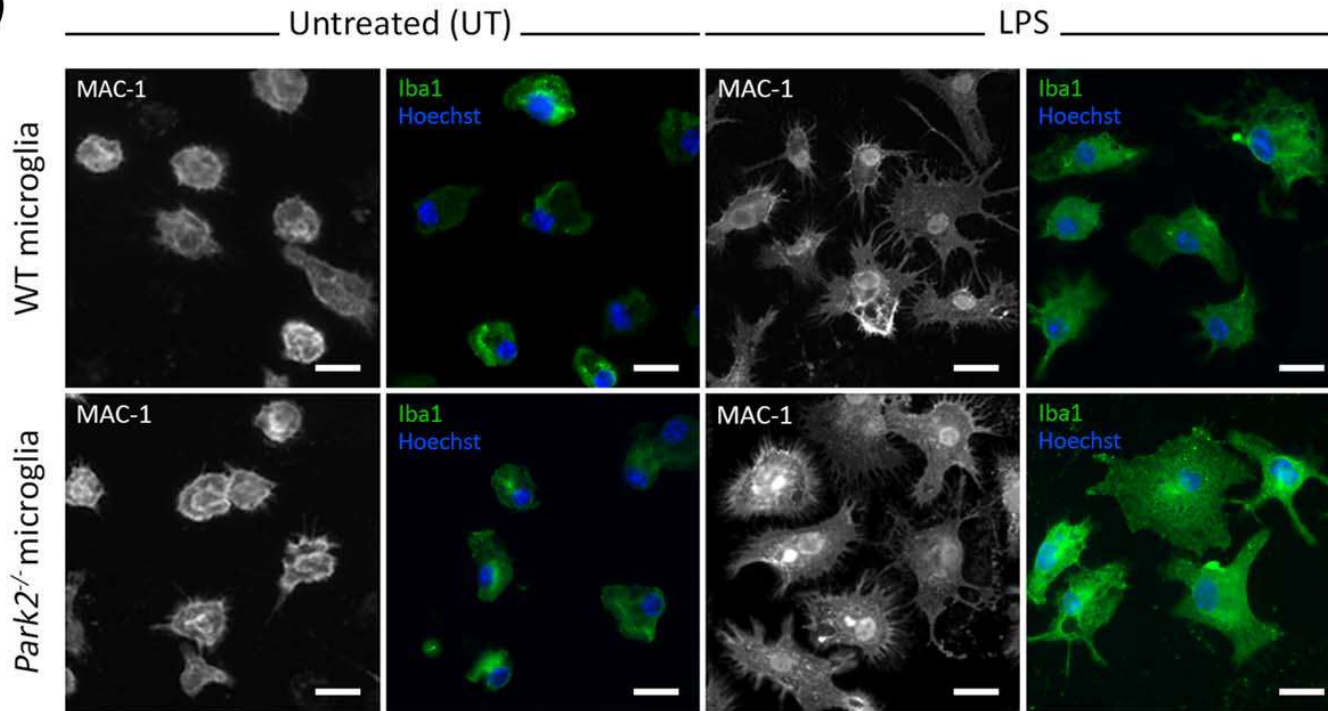
François Mouton-Liger | Thibault Rosazza | Julia Sepulveda-Diaz | Amelie Jeang | Sidi-Mohamed Hassoun | Emilie Claire | Graziella Mangone | Alexis Brice | Patrick P. Michel | Jean-Christophe Corvol | Olga Corti

Abstract

Neuroinflammation and mitochondrial dysfunction, key mechanisms in the pathogenesis of Parkinson's disease (PD), are usually explored independently. Loss-of-function mutations of PARK2 and PARK6, encoding the E3 ubiquitin protein ligase Parkin and the mitochondrial serine/threonine kinase PINK1, account for a large proportion of cases of autosomal recessive early-onset PD.

PINK1 and Parkin regulate mitochondrial quality control and have been linked to the modulation of innate immunity pathways. **We report here an exacerbation of NLRP3 inflammasome activation by specific inducers in microglia and bone marrow-derived macrophages from Park2^{-/-} and Pink1^{-/-} mice.** The caspase 1-dependent release of IL-1 β and IL-18 was, therefore, enhanced in Park2^{-/-} and Pink1^{-/-} cells. This defect was confirmed in blood-derived macrophages from patients with PARK2 mutations and was reversed by MCC950, which specifically inhibits NLRP3 inflammasome complex formation. **Enhanced NLRP3 signaling in Parkin-deficient cells was accompanied by a lack of induction of A20**, a well-known negative regulator of the NF- κ B pathway recently shown to attenuate NLRP3 inflammasome activity. We also found an inverse correlation between A20 abundance and IL-1 β release, in human macrophages challenged with NLRP3 inflammasome inducers. Overall, our observations suggest that the **A20/NLRP3-inflammasome axis participates in the pathogenesis of PARK2-linked PD**, paving the way for the exploration of its potential as a biomarker and treatment target.

(a)



Les microglies issues d'animaux *Park2*^{-/-} sont beaucoup plus activées que celles issues de WT en réponse au LPS.

Les microglies de mutants produisent plus d'interleukines IL1 β et IL8.

Ces interleukines sont produites lors de l'activation de l'inflammasome. Importance dans ce mécanisme ?

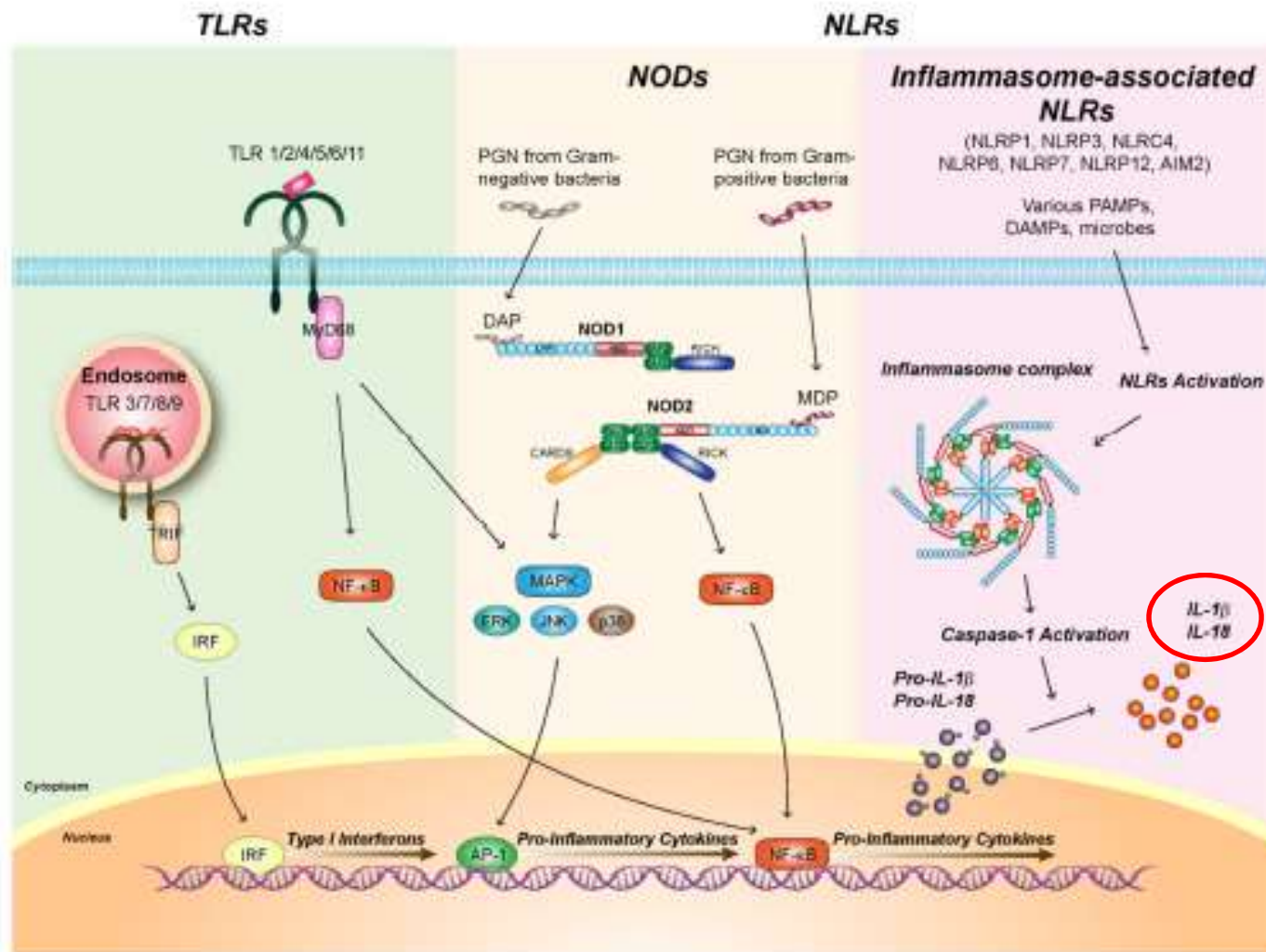
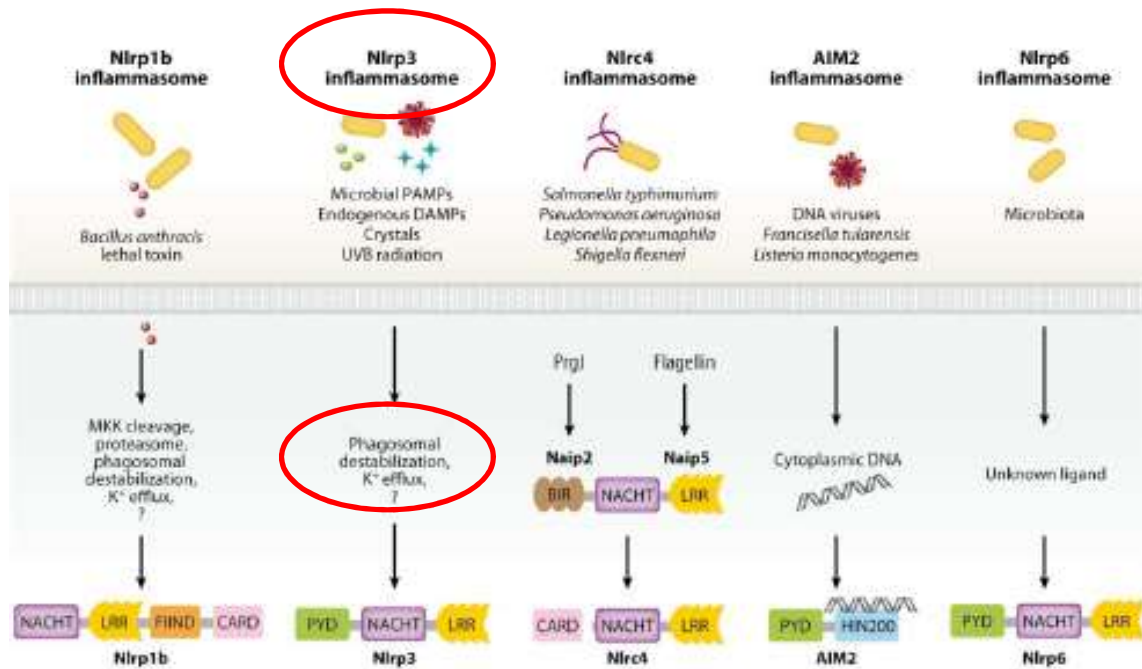
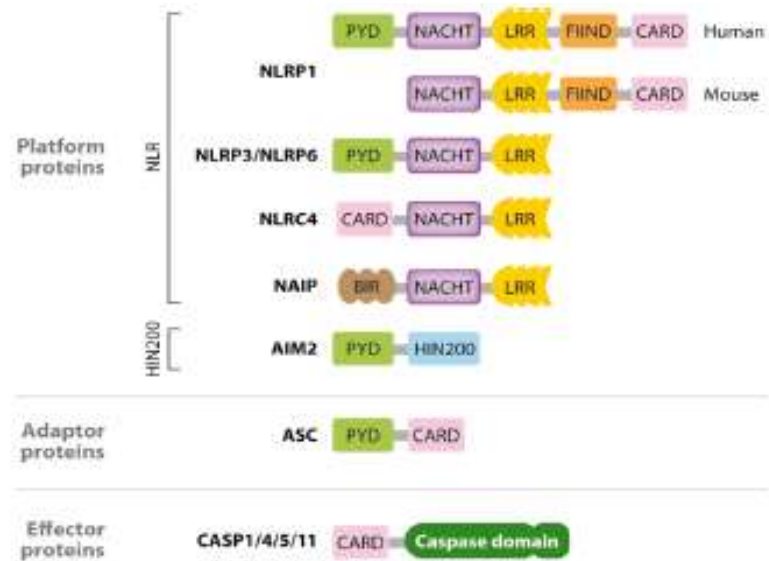
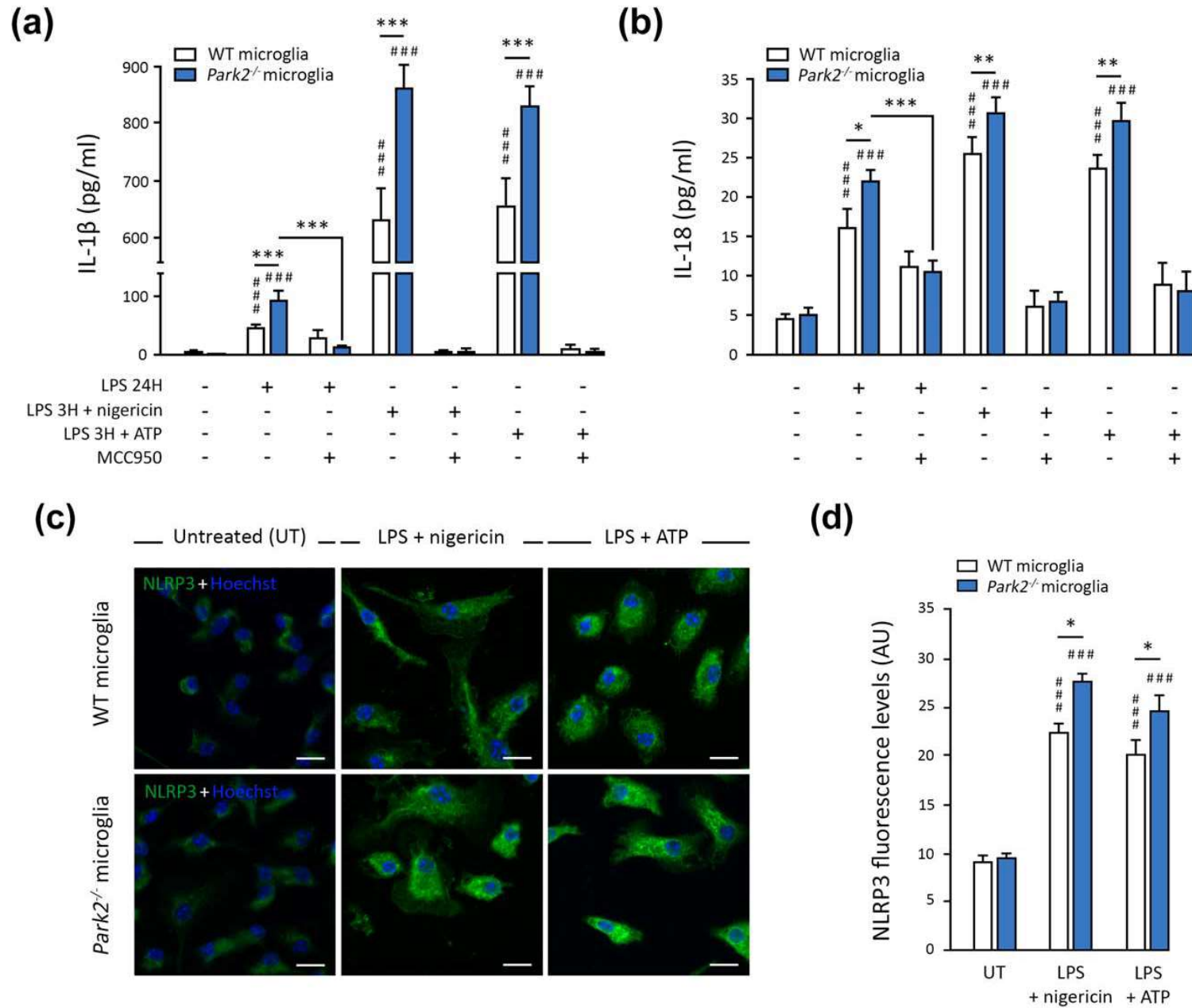


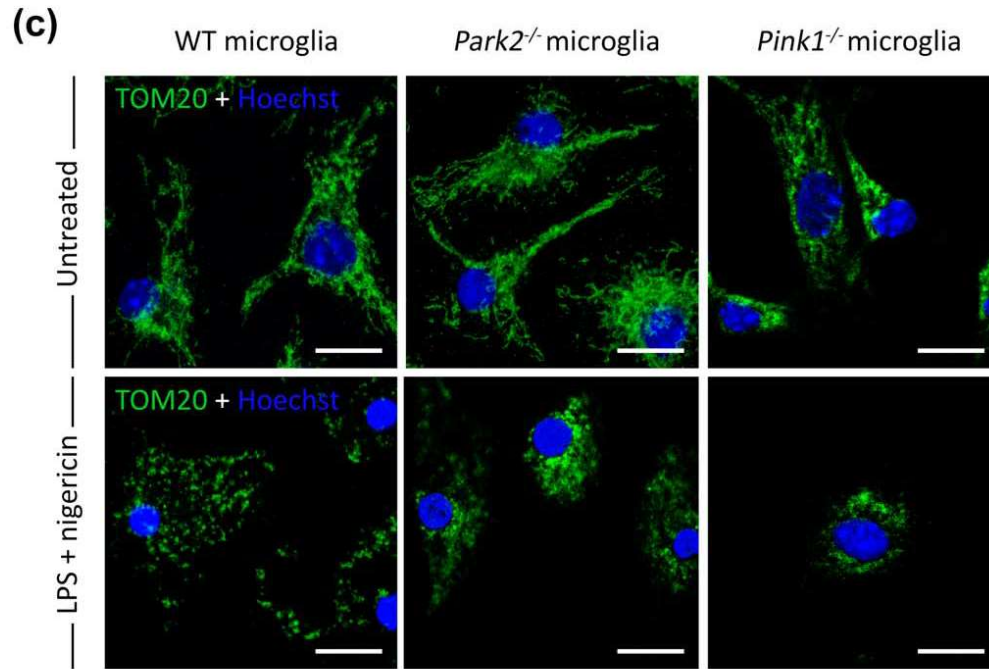
Figure 1. Schematic diagrams of innate immune receptors. (*Left*) Toll-like receptor (TLR) signaling is activated by TLR ligands. TLRs which located in plasma membrane (TLR1, 2, 4, 5, 6, 11) activate NF-κB and MAPK (JNK, ERK, p38) signaling pathway via MyD88. Nucleic acid recognition by endosomal TLRs (TLR3, 7, 8, 9) induces production of type I interferon and proinflammatory cytokines via TRIF-IRF3 and MyD88-NF-κB signaling pathways, respectively. (*Middle*) NOD1 and NOD2 recognize γ -D-glutamyl-meso-diaminopimelic acid (meso-DAP) and muramic dipeptide (MDP) from bacterial cell wall components, respectively. NOD-induced proinflammatory responses require MAPK and NF-κB activation through the recruitment of adaptor molecule CARD9 and RICK. (*Right*) Certain members of NOD-like receptors (NLRs) participate in the activation of inflammasome complex consisting of NLRs, procaspase-1 and ASC in the cytosol. Multiple ligands or stimulators including various pathogen-associated molecular patterns, damage-associated molecular patterns, and microbes, have been identified to activate inflammasome complex to produce mature IL-1 β and IL-18 through activation of caspase-1.



Expérimentalement on peut activer l'inflammasome NLRP3 par un efflux d'ions K⁺ avec un ionophore potassique, la nigéricine.



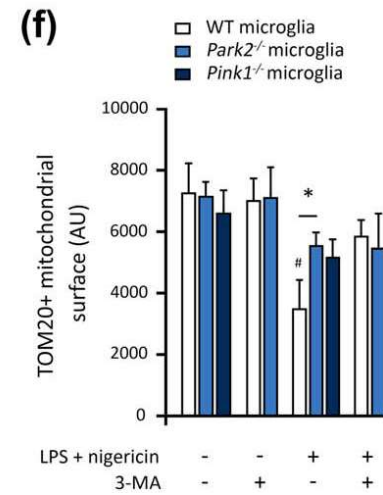
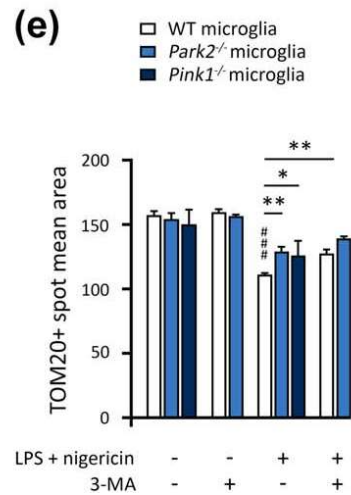
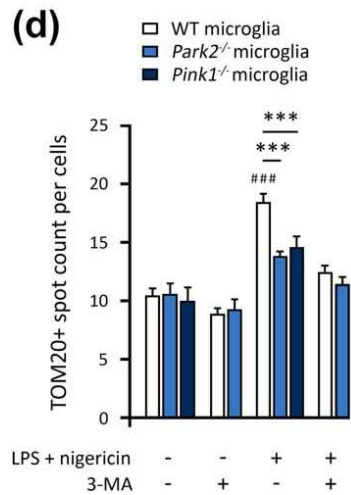
La déficience en Parkin exacerbe l'activation de la voie de l'inflammasome NLRP3 dans les microglies. MCC950: inhibiteur de l'inflammasome NLRP3

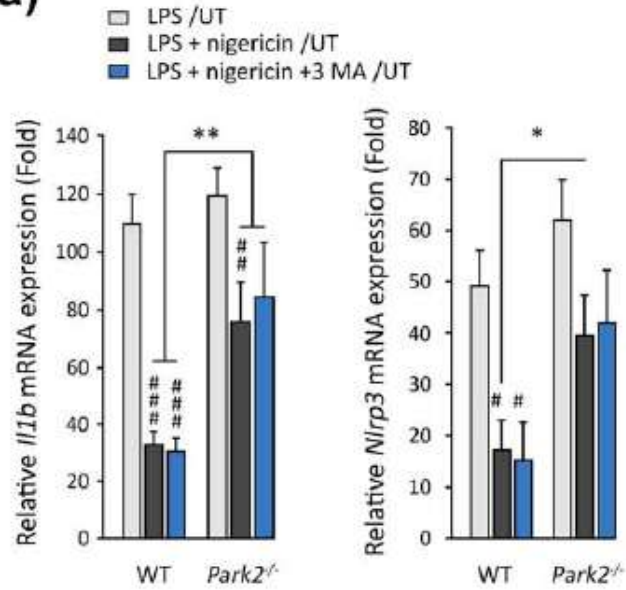
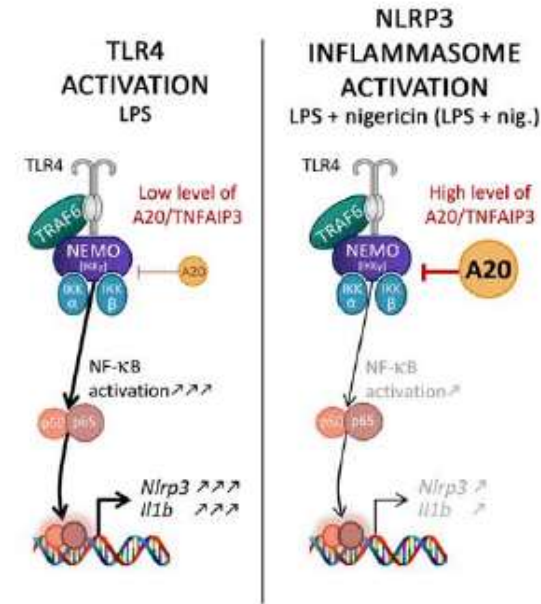
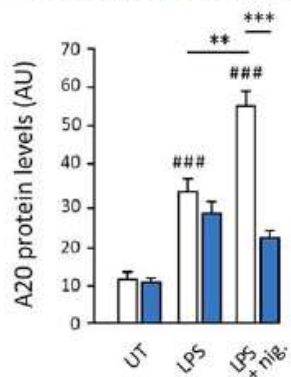
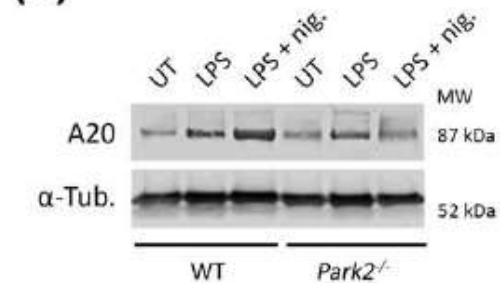
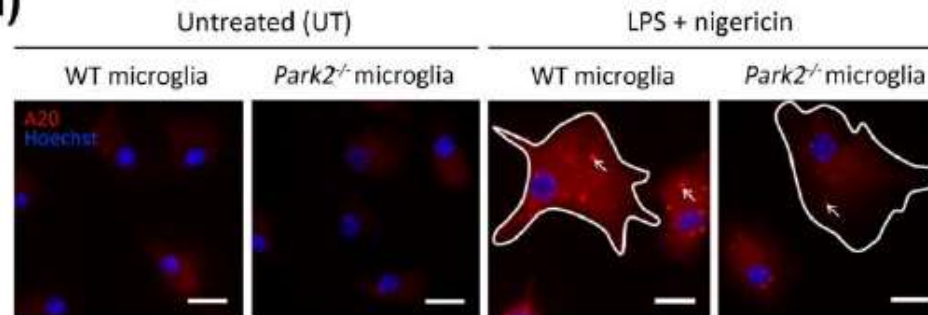


Les modifications du réseau mitochondrial induites par l'activation de l'inflammasome NLRP3 sont atténuées chez les mutants déficients en Parkin et PINK1.

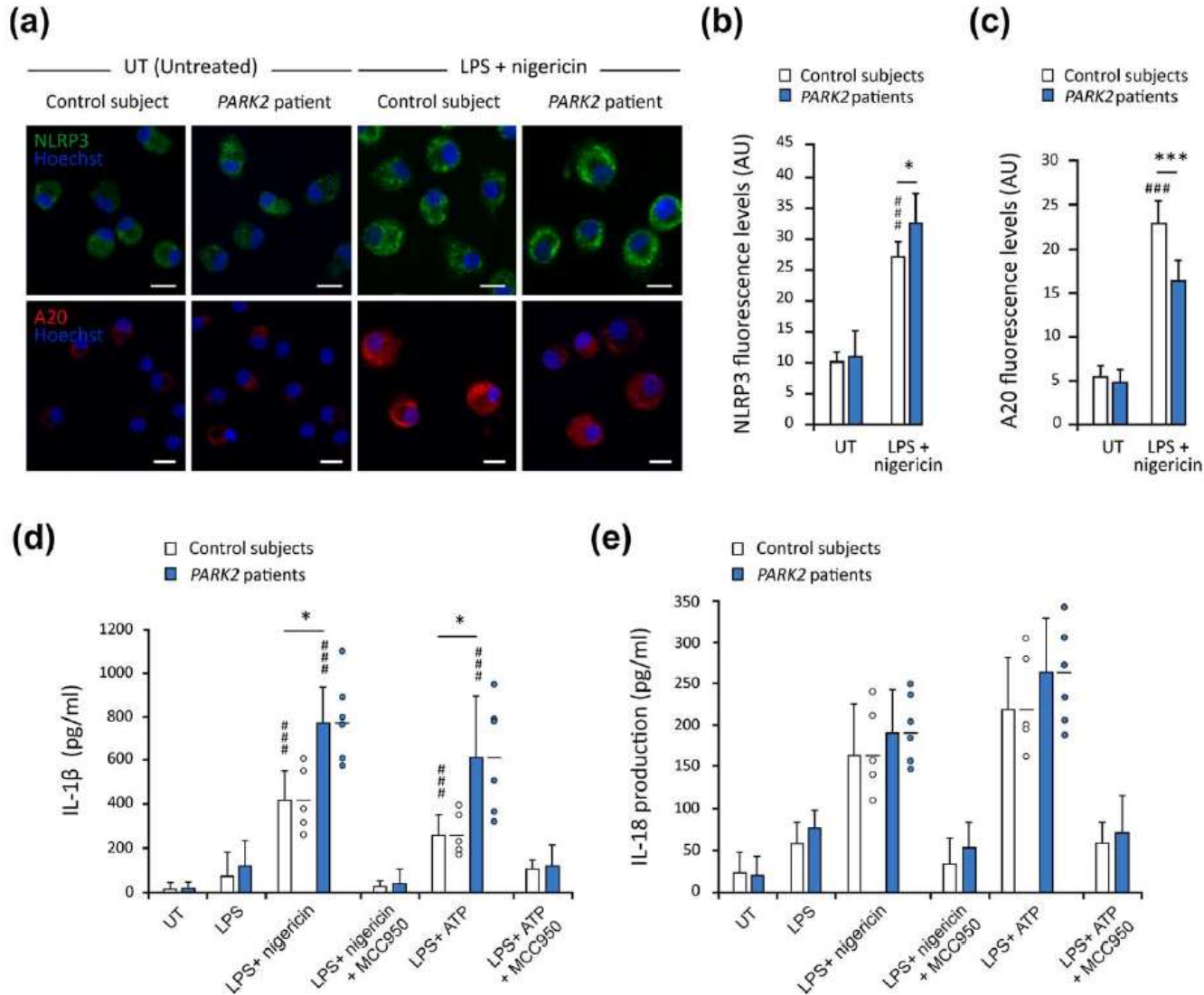
TOM20: protéine de transport mitochondrial

3-MA: inhibiteur d'autophagie



(a)**(b)****(c)****(d)**

La déficience en Parkin bloque le feedback négatif sur la voie du TLR4 exercé par la protéine A20 activée par l'inflammasome.



La suractivation de l'inflammasome NLRP3 est observée dans les macrophages issus de patients parkinsoniens déficitaires en Parkin. On observe la diminution de l'expression de A20.

Dopamine oxidation mediates mitochondrial and lysosomal dysfunction in Parkinson's disease

Lena F. Burbulla,^{1,2} Pingping Song,¹ Joseph R. Mazzulli,^{1,2} Enrico Zampese,³
Yvette C. Wong,¹ Sohee Jeon,¹ David P. Santos,¹ Judith Blanz,¹
Carolyn D. Obermaier,^{4,5,6} Chelsea Strojny,¹ Jeffrey N. Savas,¹ Evangelos Kiskinis,¹
Xiaoxi Zhuang,⁷ Rejko Krüger,^{4,6,8} D. James Surmeier,³ Dimitri Krainc^{1,2*}

Abstract

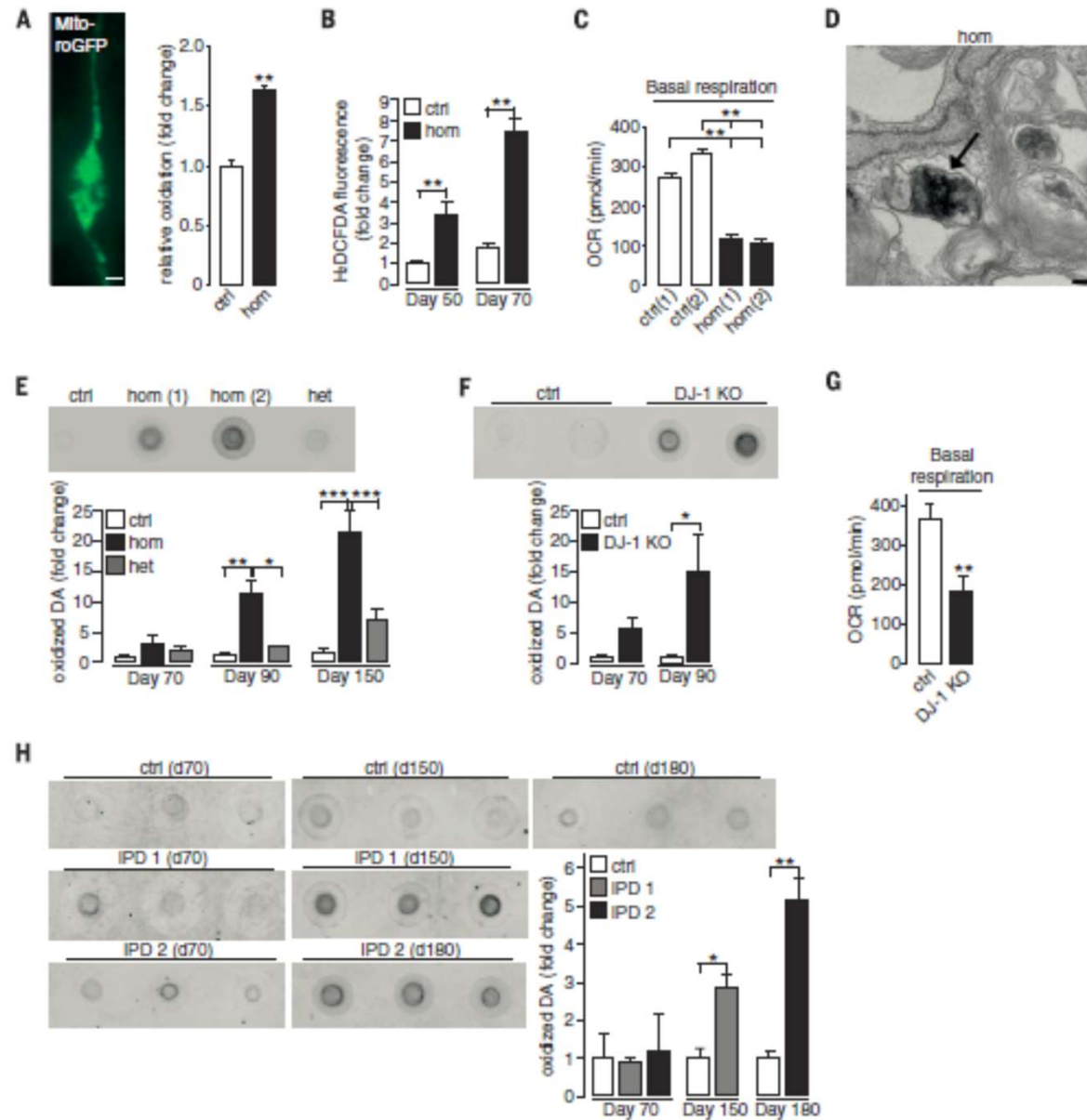
Mitochondrial and lysosomal dysfunction have been implicated in substantia nigra dopaminergic neurodegeneration in Parkinson's disease (PD), but how these pathways are linked in human neurons remains unclear. Here we studied dopaminergic neurons derived from patients with idiopathic and familial PD. We identified a time-dependent pathological cascade beginning with mitochondrial oxidant stress leading to oxidized dopamine accumulation and ultimately resulting in reduced glucocerebrosidase enzymatic activity, lysosomal dysfunction, and α -synuclein accumulation. This toxic cascade was observed in human, but not in mouse, PD neurons at least in part because of species-specific differences in dopamine metabolism. Increasing dopamine synthesis or α -synuclein amounts in mouse midbrain neurons recapitulated pathological phenotypes observed in human neurons. Thus, dopamine oxidation represents an important link between mitochondrial and lysosomal dysfunction in PD pathogenesis.

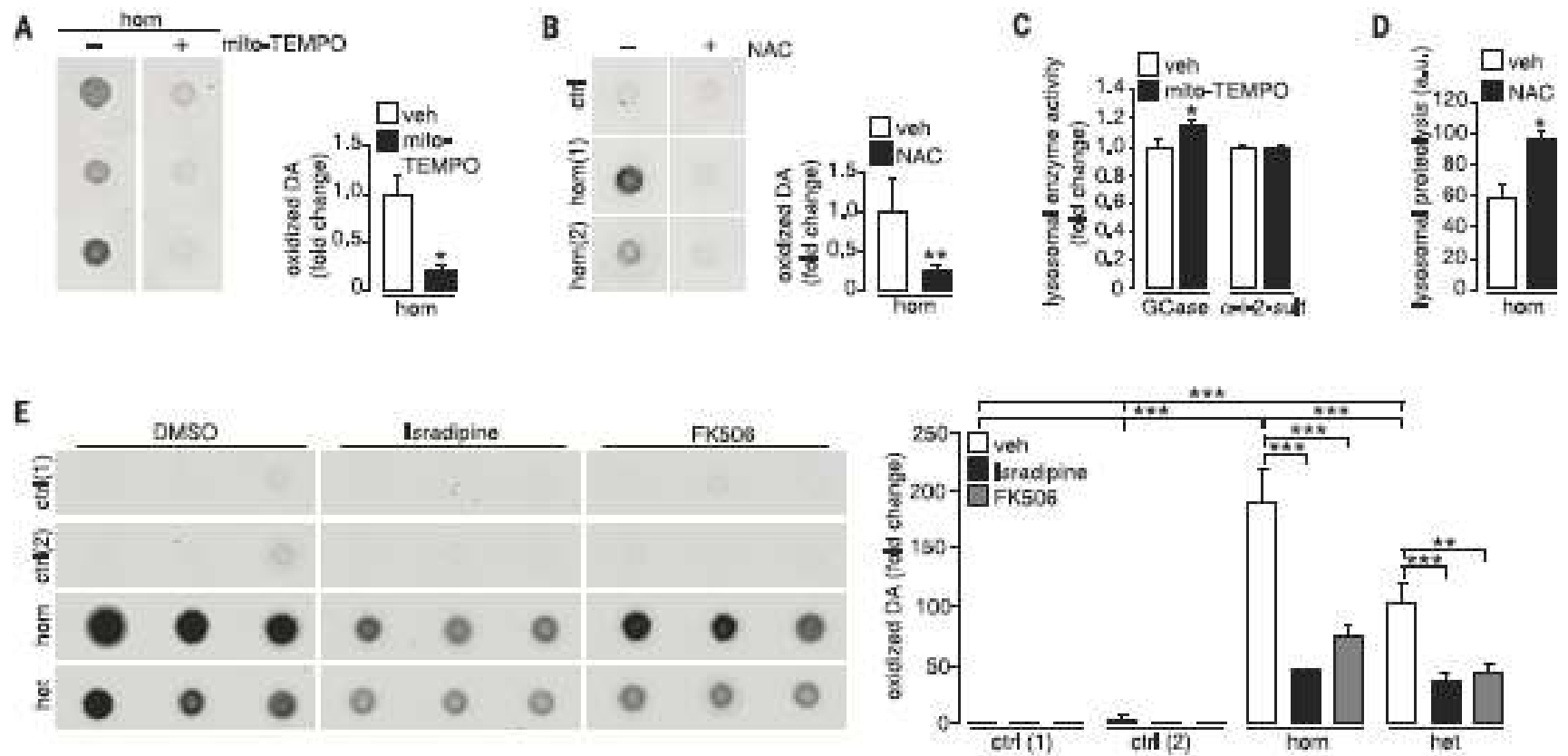
Création d'iPSCs à partir de fibroblastes reprogrammés en neurones de patients présentant la mutation DJ-1.

On observe:

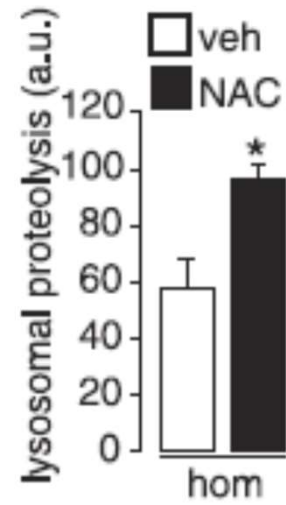
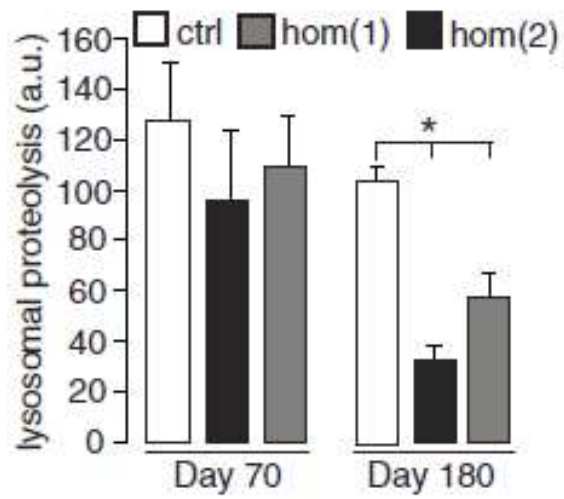
- une augmentation des ROS;
- une oxydation accrue de dopamine;
- des dépôts de neuromélanine.

Chez des iPSCs de patients ne présentant pas la mutation DJ-1, on observe les mêmes phénomènes.





Les antioxydants mitoTEMPO et N-acetyl-cystéine ainsi des bloqueurs de canaux calciques diminuent les effets de cette mutation



Récupération de l'activité du lysosome chez les mutants par la NAC

Substantia nigra

WT, 3 months



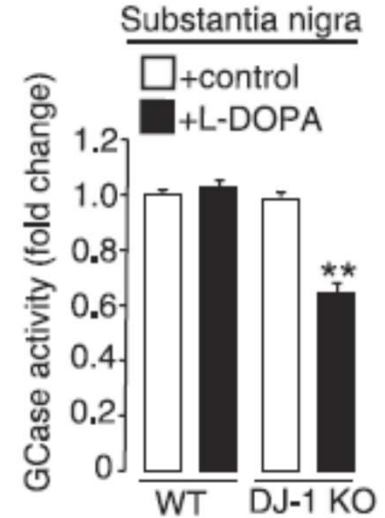
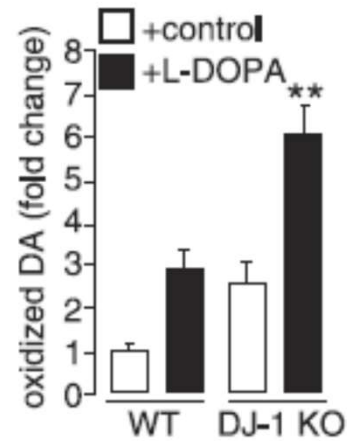
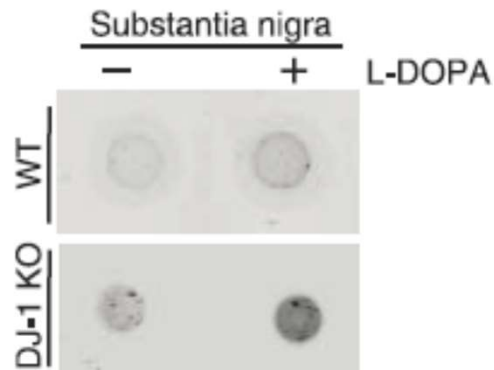
DJ-1 KO, 3 months



DJ-1 KO, 12 months



Chez des souris mutantes pour DJ-1, peu d'effets détectables sur les différents paramètres étudiés dont l'accumulation de neuromélanine. Toutefois, l'addition de la L-DOPA chez des souris mutantes pour DJ-1 restaure le phénotype observé chez les cellules iPSCs dérivées de patients.



ROS mitochondrie



Oxydation de la dopamine



Inhibition de l'activité lysosomiale



Accumulation d' α -synucline

CONCLUSIONS:

Le stress oxydant est un facteur aggravant des pathologies associées au vieillissement mais son impact réel sur la durée de vie est difficile à définir;

Les modèles animaux n'ont pas vraiment permis d'établir une relation forte entre stress oxydant et longévité;

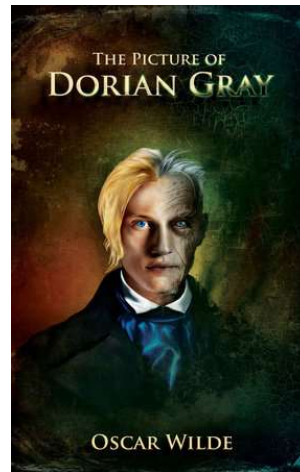
Le vieillissement et les pathologies associées sont caractérisés par une accumulation de ROS;

Des pathologies du SNC associées ou non au vieillissement mettent en jeu le stress oxydant;

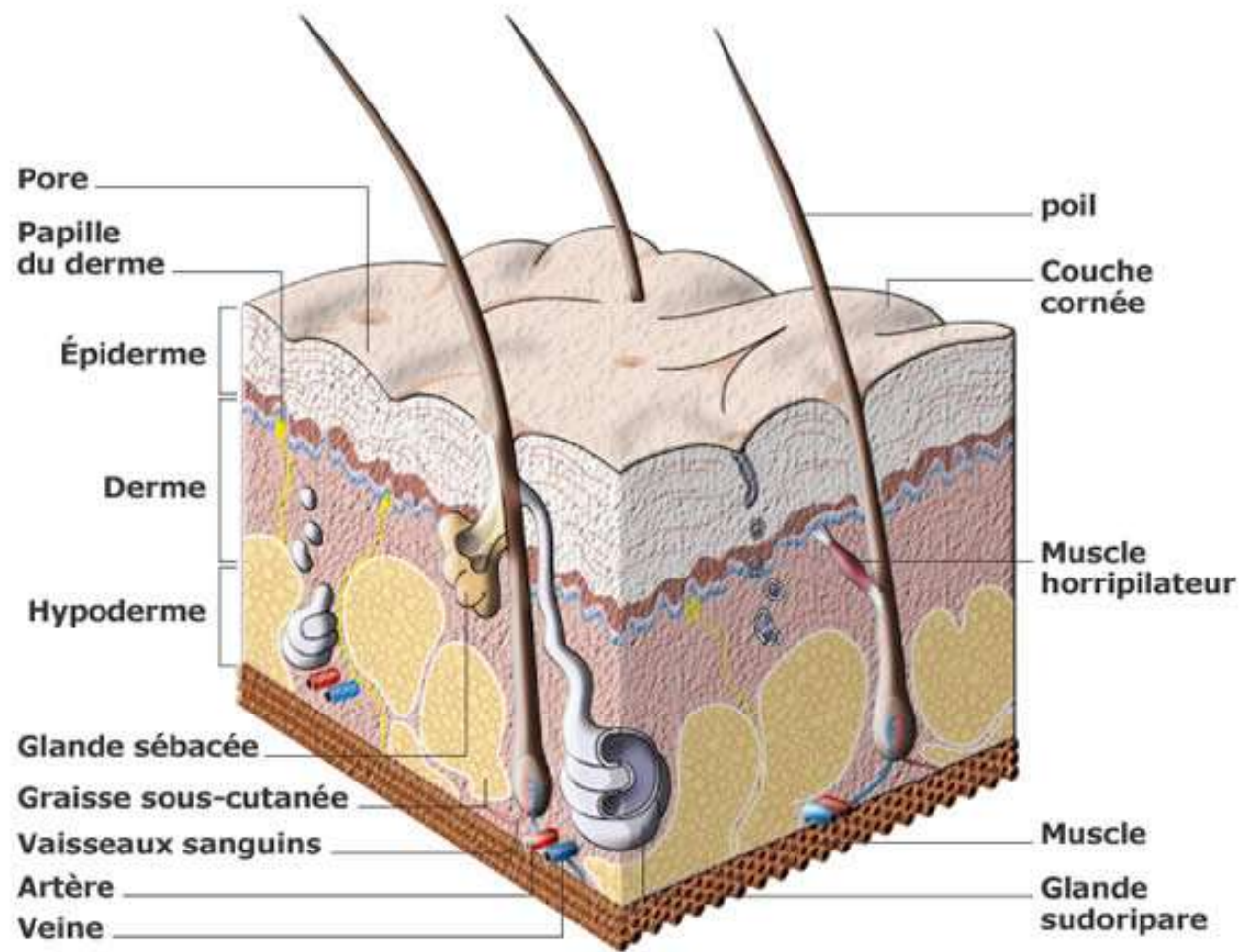
Une meilleure connaissance de l'action des ROS et des antioxydants est requise pour proposer de nouvelles stratégies anti-oxydantes.

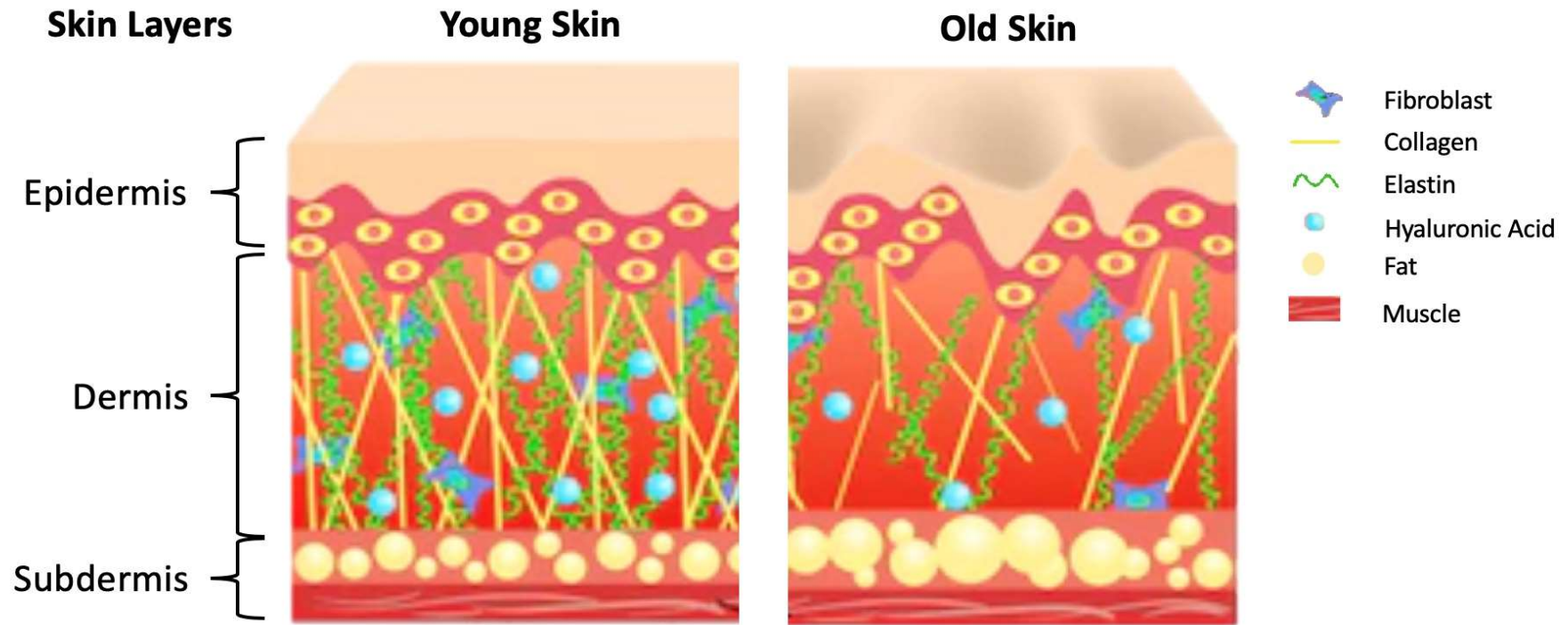
Le vieillissement cutané

- Signe 'visible' du vieillissement;
- Affecte (dans tous les sens du terme) la plupart des humains !



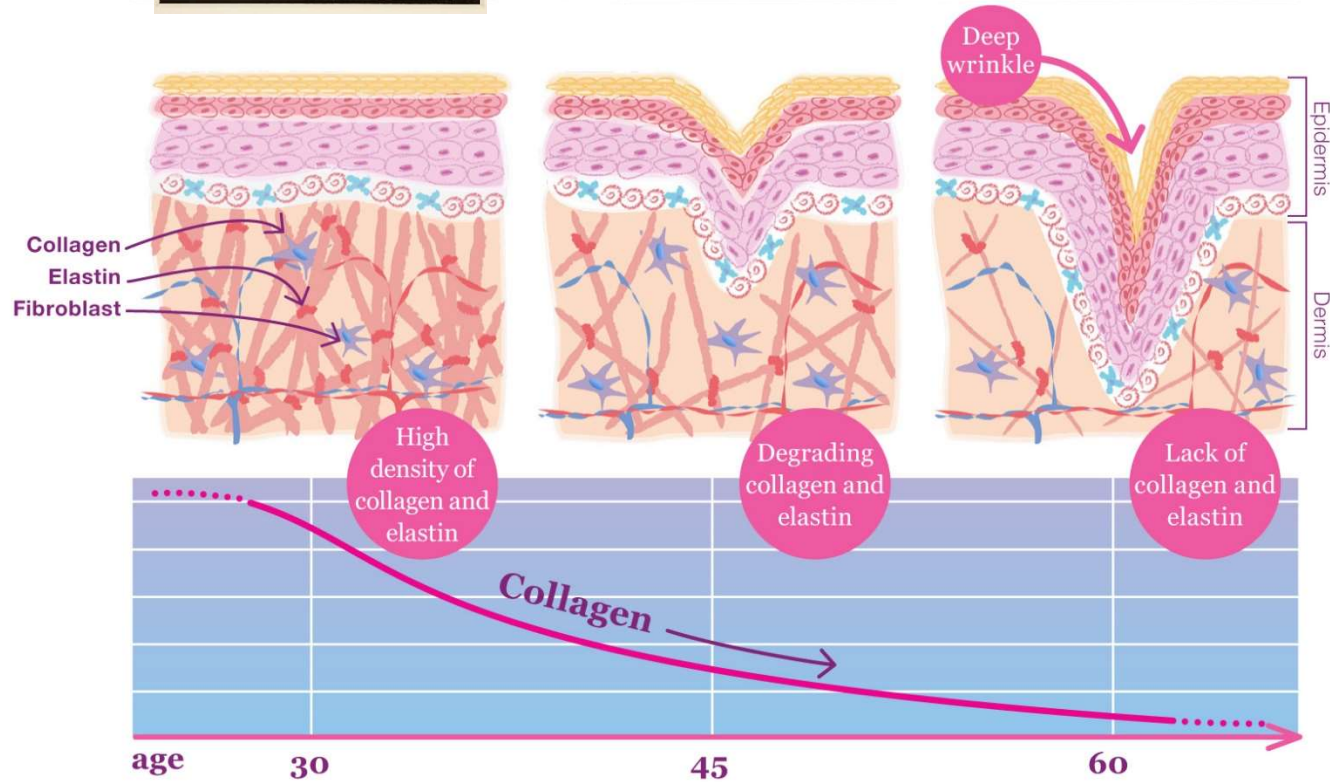
- Modifications des relations sociales.

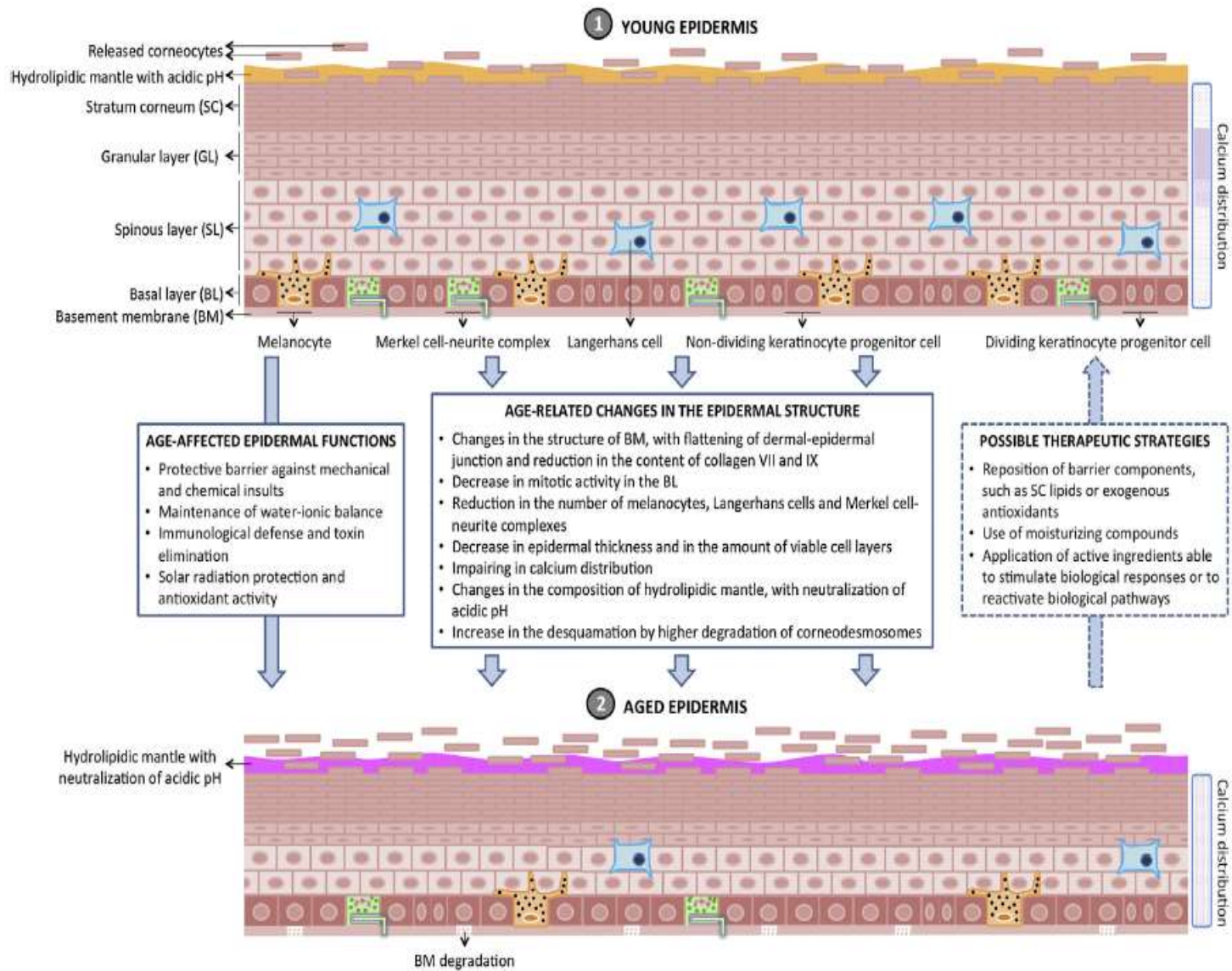




Le vieillissement de la peau est associé à:

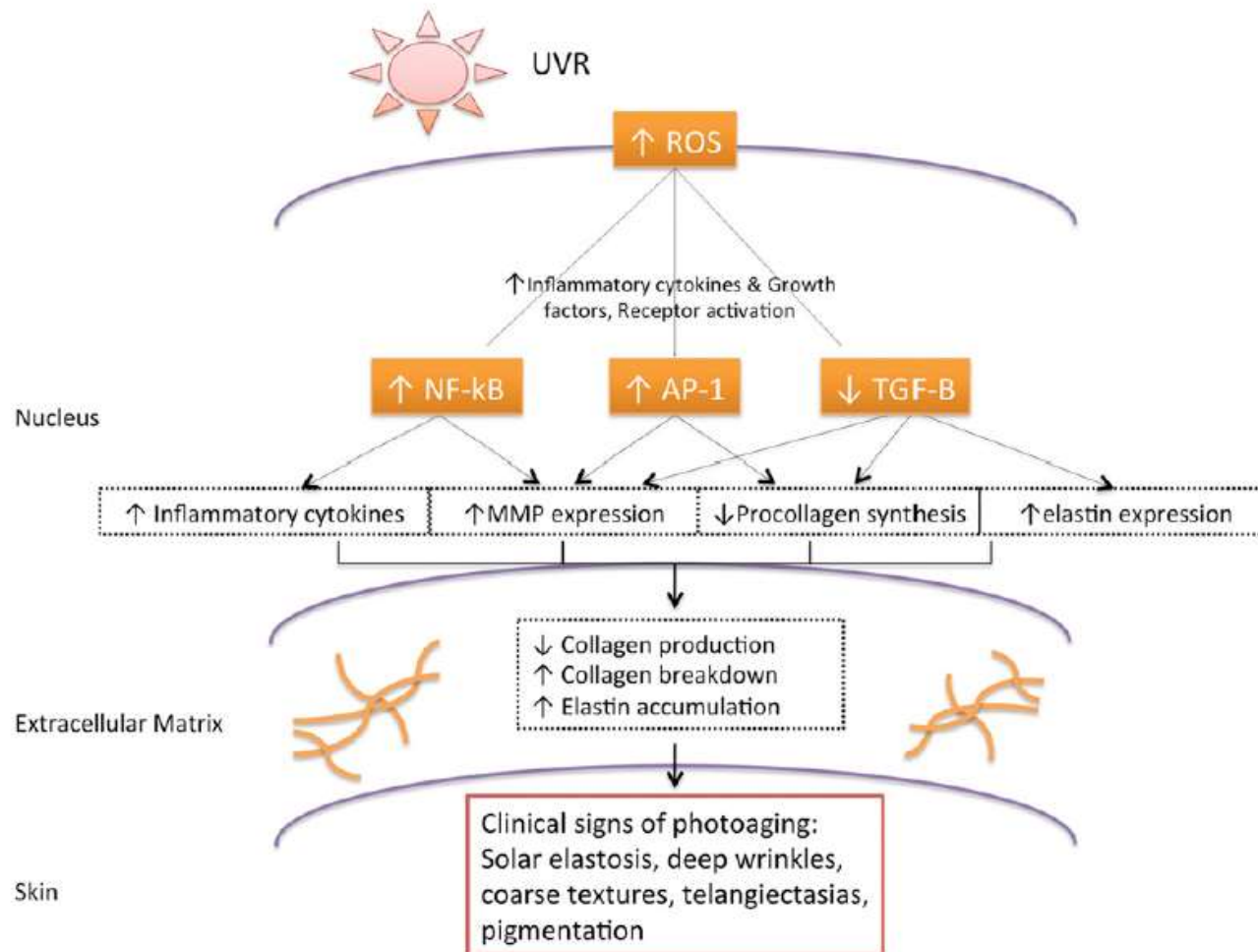
- Apparition de rides et diminution de l'épaisseur de l'épiderme;
- Perte de collagène et d'acide hyaluronique (perte d'élasticité de la peau);
- Apparition de taches.





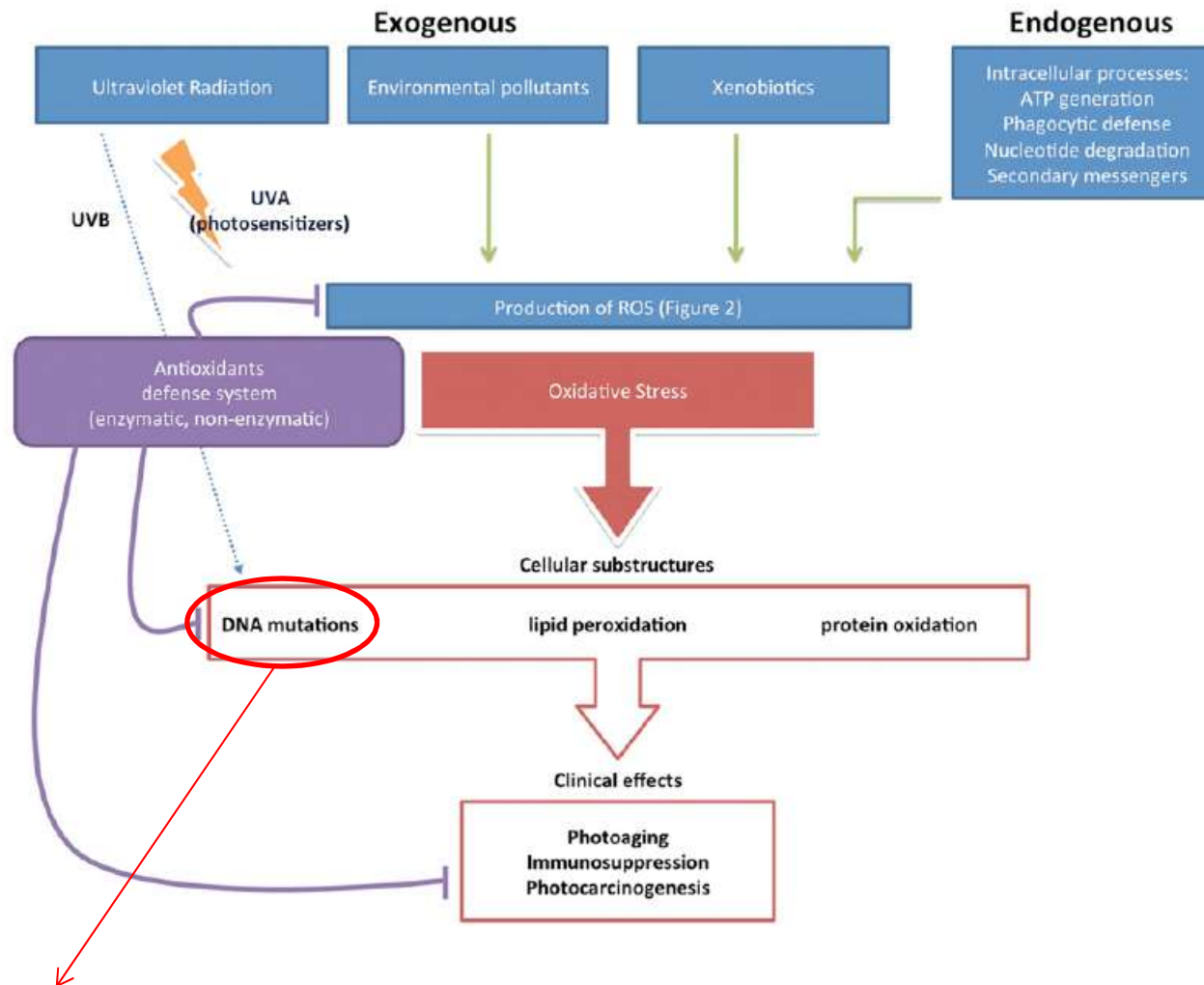
Le vieillissement de l'épiderme.

Rôle majeur du stress oxydant

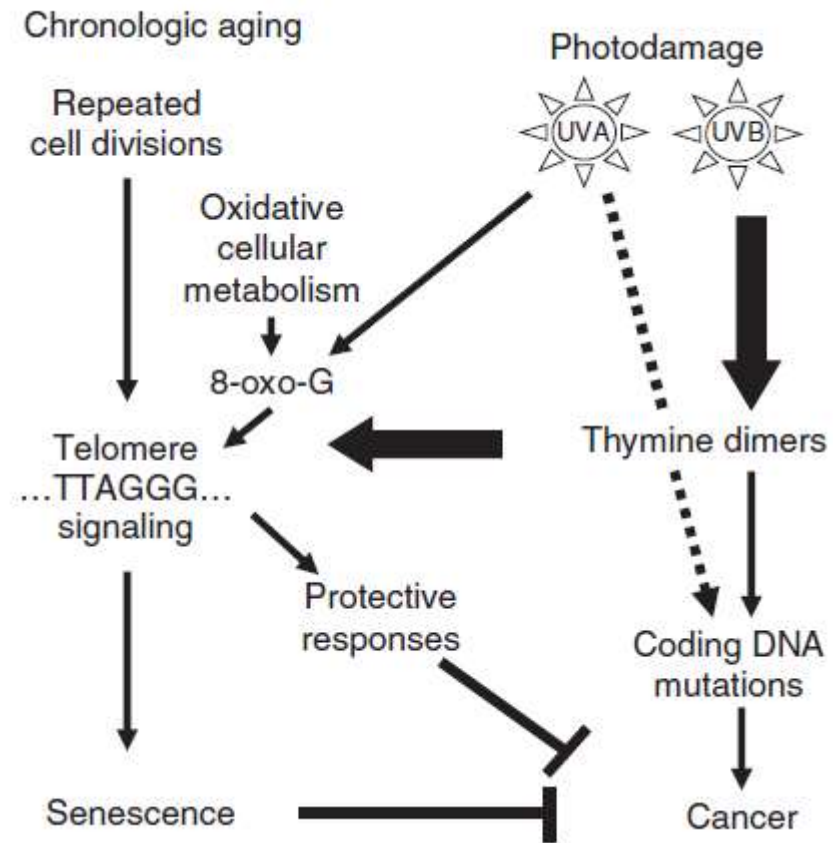


Photovieillissement cutané

Les rayons UV augmentent la production de ROS dans les cellules de la peau et la production de cytokines proinflammatoires. Il s'ensuit l'activation de voies intracellulaires conduisant notamment à la diminution du contenu en collagène.



Les rayons UV peuvent provoquer l'apparition d'adduits de bases de l'ADN (Thymine), dont l'accumulation entraîne l'apparition de cancers cutanés. Toutefois, il existe des enzymes de réparation qui éliminent ces adduits. L'absence de ces enzymes entraîne la maladie xeroderma pigmentosum (maladie des enfants de la Lune).



Convergence des voies activées lors du vieillissement et du photovieillissement.

| Antioxidant compound | Sources | Clinical end points studied |
|--|--|---|
| Vitamin C (ascorbyl palmitate, magnesium, ascorbyl phosphate) | Fruits, vegetables | Erythema ⁵⁹ Immunosuppression ⁶⁰ Photoaging ⁹² Photocarcinogenesis ⁶⁴ |
| Vitamin E (α -tocopherol acetate, α -tocopherol succinate) | Vegetable oil, seeds, nuts, meats | Erythema ^{93,94} Photoaging ^{64,65} Immunosuppression ^{48,66} Photocarcinogenesis ^{48,49} |
| Vitamin A (retinols, carotenoids) | Colored fruits and vegetables (eg, tomatoes, sweet potatoes) | Photoaging ⁹⁵ |
| Selenium | Corn, wheat, soybean | Erythema ^{77,96} Photocarcinogenesis ^{78,96} |
| Silymarin | Milk thistle | Photocarcinogenesis ^{80,97} Immunosuppression ⁹⁸ |
| Green tea polyphenols (epicatechin, epicatechin-3-gallate, epigallocatechin, epigallocatechin-3-gallate) | Fractions isolated from tea | Erythema ⁴⁴ Immunosuppression ⁴³⁻⁴⁵ Photoaging ⁹⁹ Photocarcinogenesis ⁸³ |
| Soy isoflavones (genistein, daidzein, equol) | Soy, red clover, ginkgo biloba | Erythema ^{84,100,110} Photoaging ^{84,102} Immunosuppression ¹⁰¹ Photocarcinogenesis ^{84,103} |
| Caffeic acid (ferulic acid, caffeic acid phenethyl ester) | Coffee beans, propolis, plant seeds | Erythema ¹⁰⁴ Immunosuppression ¹⁰⁵ |
| Apigenin | Fruits and leafy vegetables, tea, wine | Photoaging ¹⁰⁶ Photocarcinogenesis ¹⁰⁷ |
| Polypodium leucotomos extract | Tropical fern plant Polypodium leucotomos | Erythema ¹⁰⁸ Photoaging ^{109,110} Photocarcinogenesis ¹⁰⁹ |
| Pycnogenol | Extract from bark of maritime pine tree | Inflammation ¹¹¹ Immunosuppression ¹¹¹ Photocarcinogenesis ¹¹¹ |
| Resveratrol | Skin and seeds of grapes, nuts, fruits, red wine | Erythema ¹¹² Photocarcinogenesis ¹¹³ |

Tableau d'ingrédients 'classiques' de préparations pour la peau.

Une crème anti-ride 'miracle' ?

Nos soins sont enrichis en 4 acides hyaluroniques d'origine naturelle pour déployer une efficacité PUISSANCE 4 sur les rides :

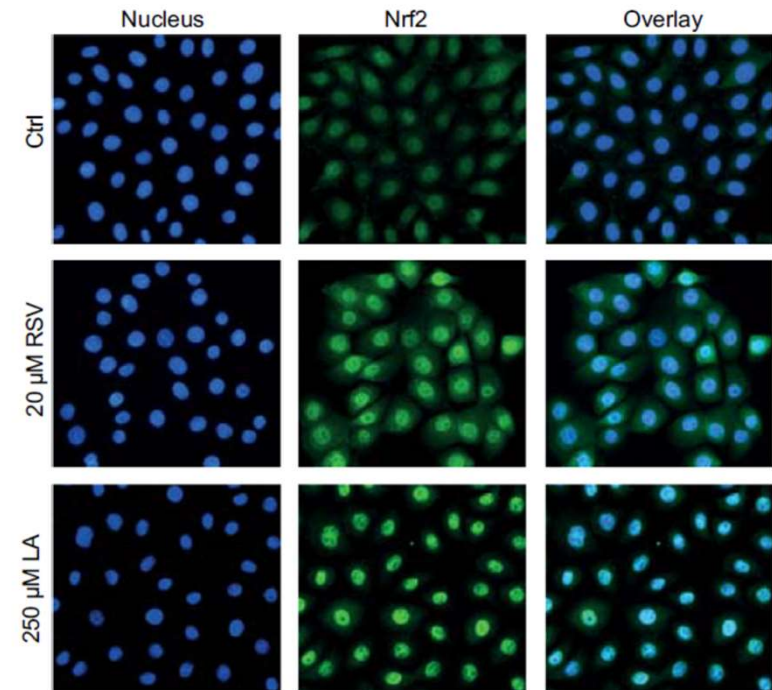
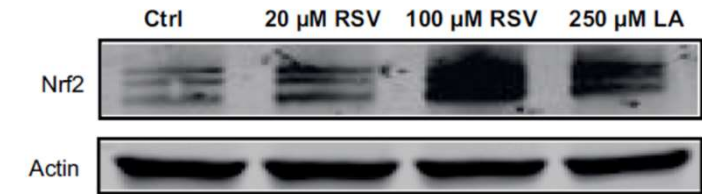
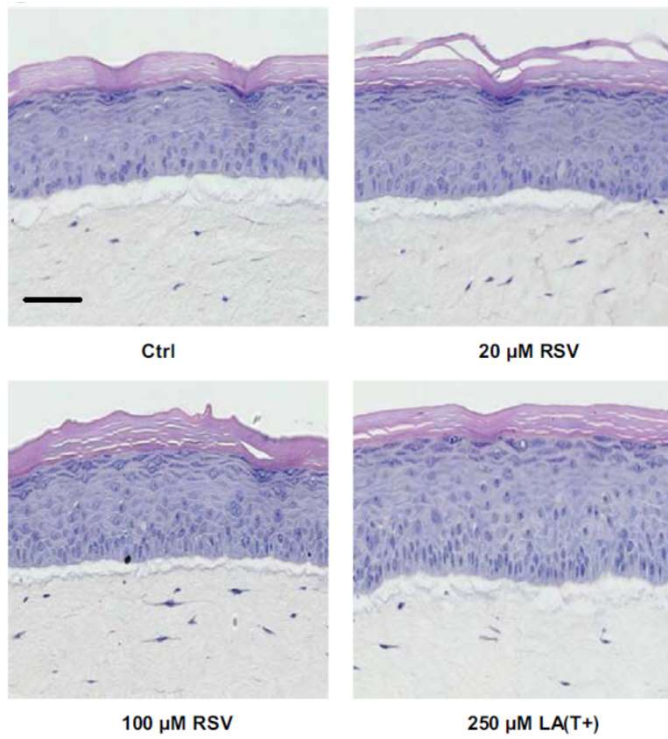
PUISSANCE 1 : une forme d'acide de haut poids moléculaire formant un film comblant à la surface de la peau*

PUISSANCE 2 : une seconde pour agir dans l'épiderme*

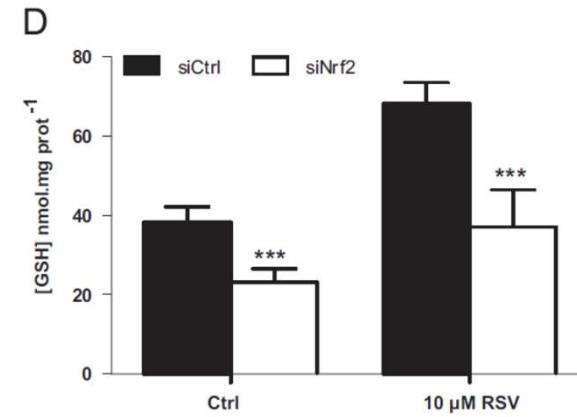
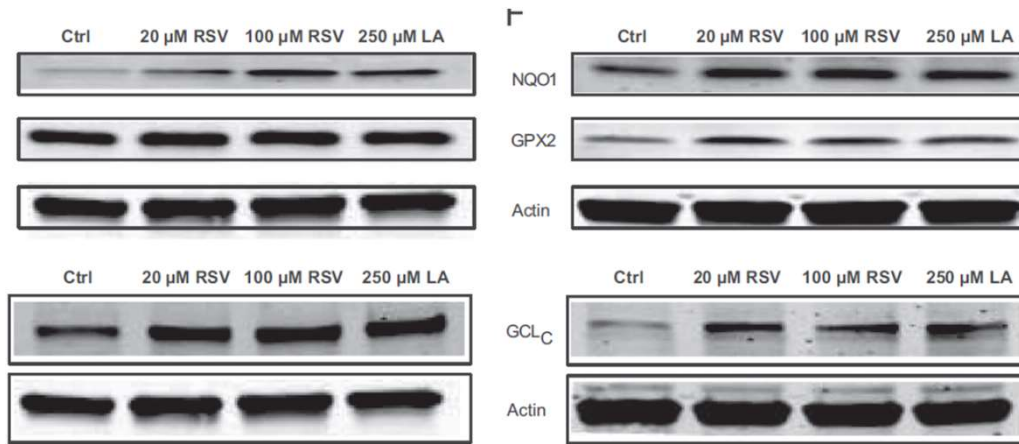
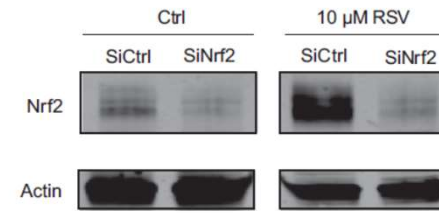
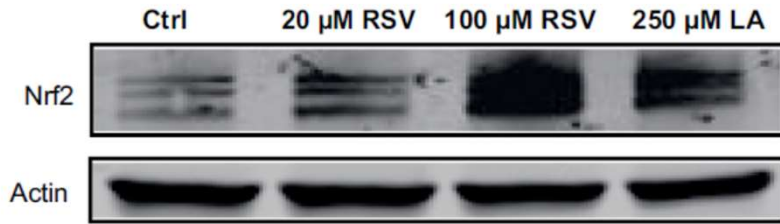
PUISSANCE 3 : une troisième pour agir dans le derme*

PUISSANCE 4 : une dernière, encapsulée, à effet libération prolongée (LP) 6H*

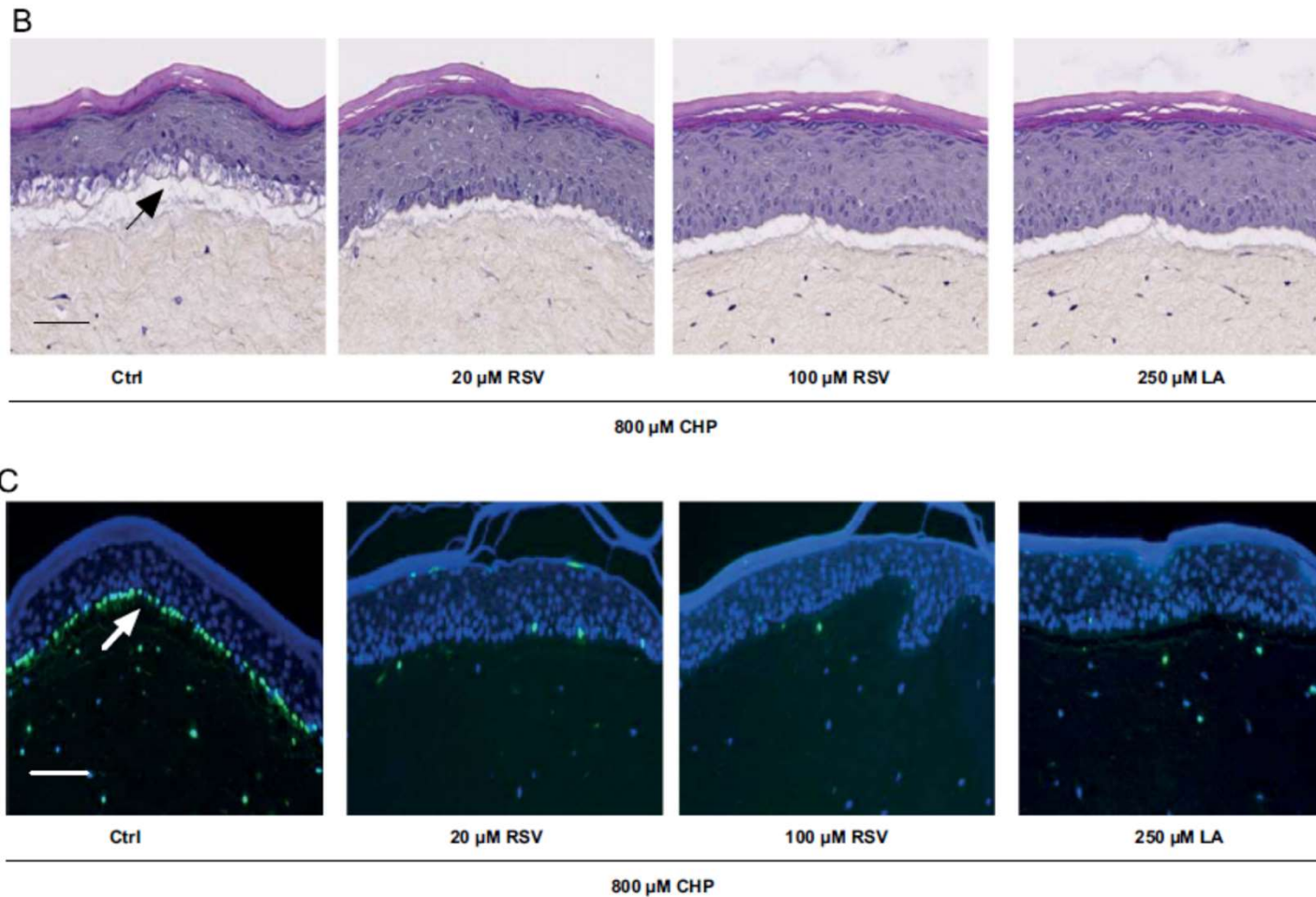
XXXXXXXXX® : Notre actif exclusif qui agit contre la glycation et l'oxydation, 1ères causes de vieillissement cutané.



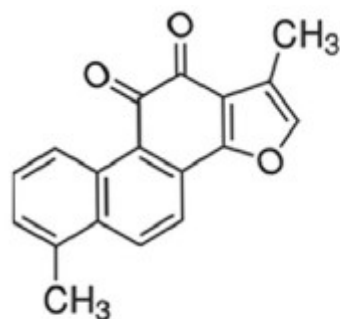
Test du resvératrol (RSV) pour son effet antioxydant: action sur la voie Nrf2.
Modèle de peau humaine reconstituée.



Test du resvératrol (RSV) pour son effet antioxydant: augmentation de la synthèse de GSH après activation de Nrf2.

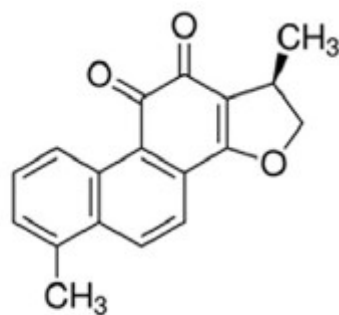


Test du resvératrol (RSV) pour son effet antioxydant: protection contre le stress oxydant induit par le cumène hydroperoxyde (CHP). En vert keratinocytes apoptotiques.



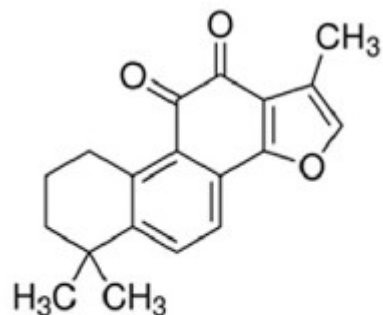
tanshinone I

(T-I)



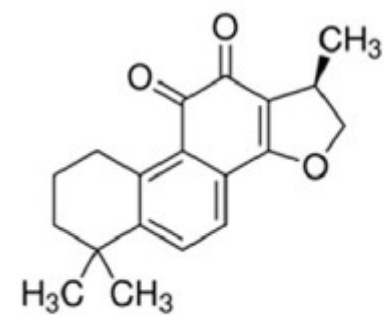
dihydratanshinone I

(DHT)



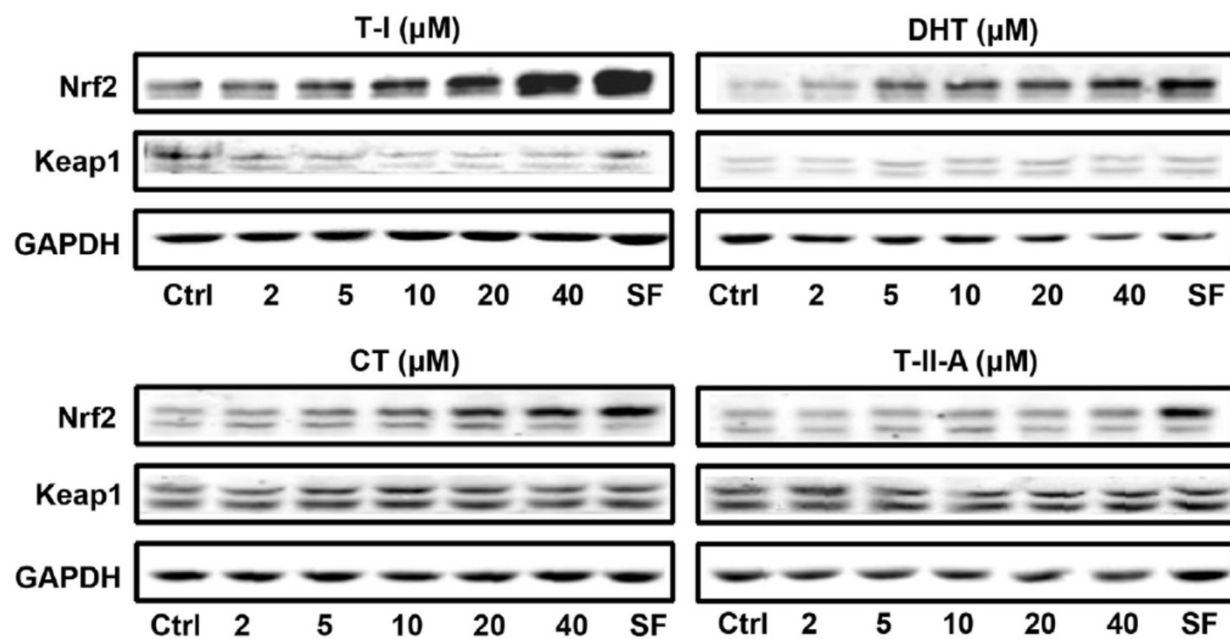
tanshinone IIA

(T-II-A)

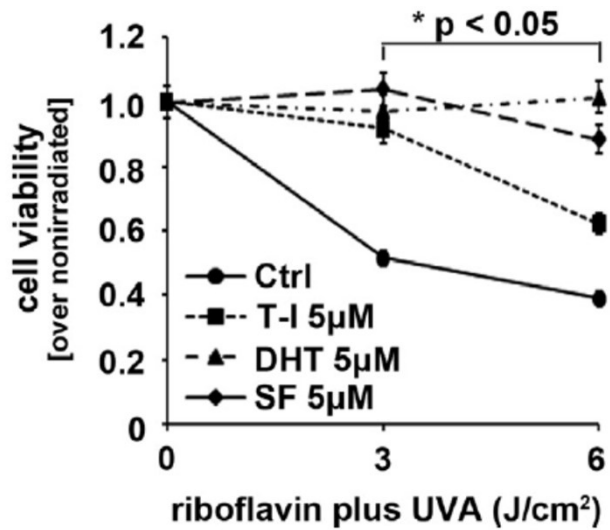
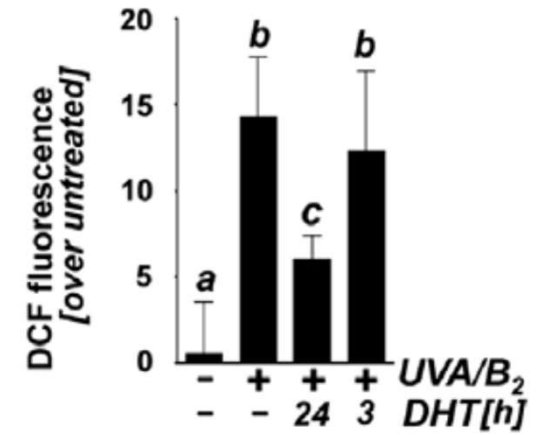
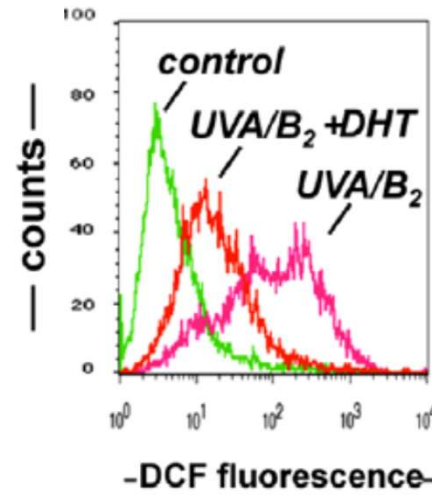
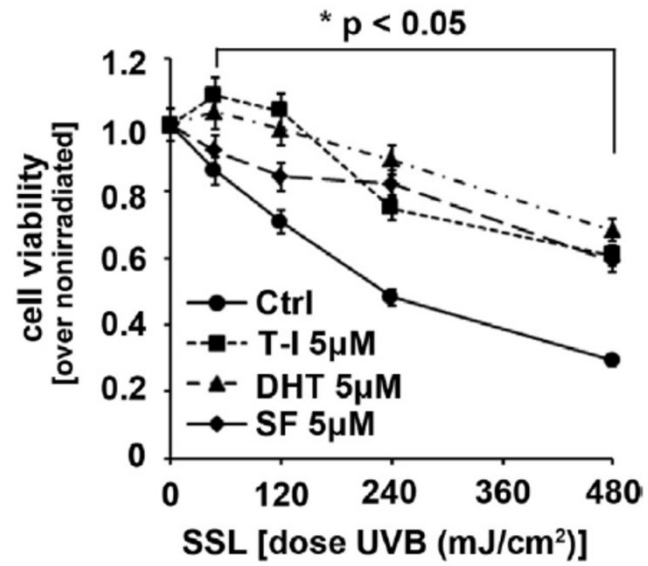


cryptotanshinone

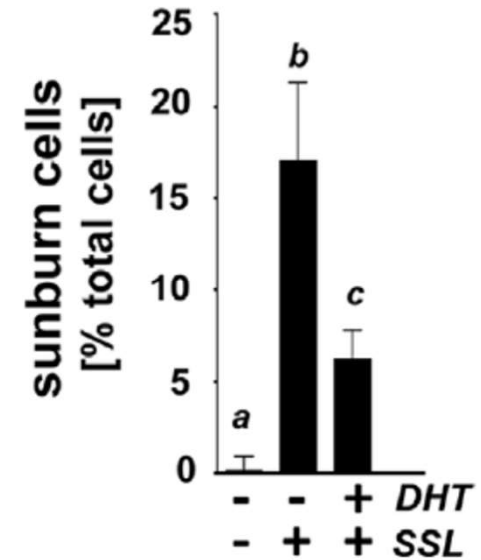
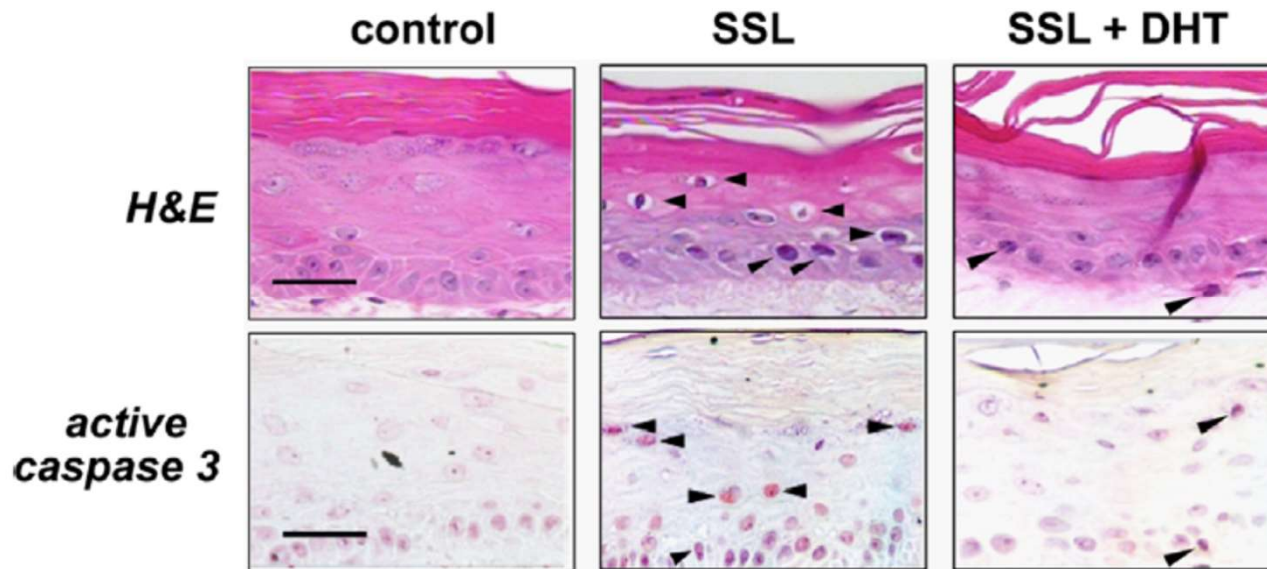
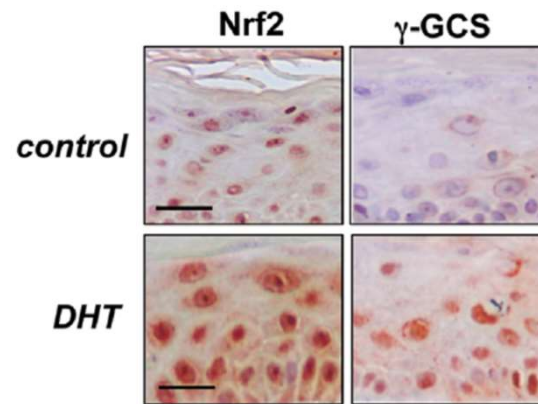
(CT)



Activation de la voie de Nrf2 par la tanshinone et ses dérivés sur des kératinocytes.
SF: sulforaphane (contrôle positif)



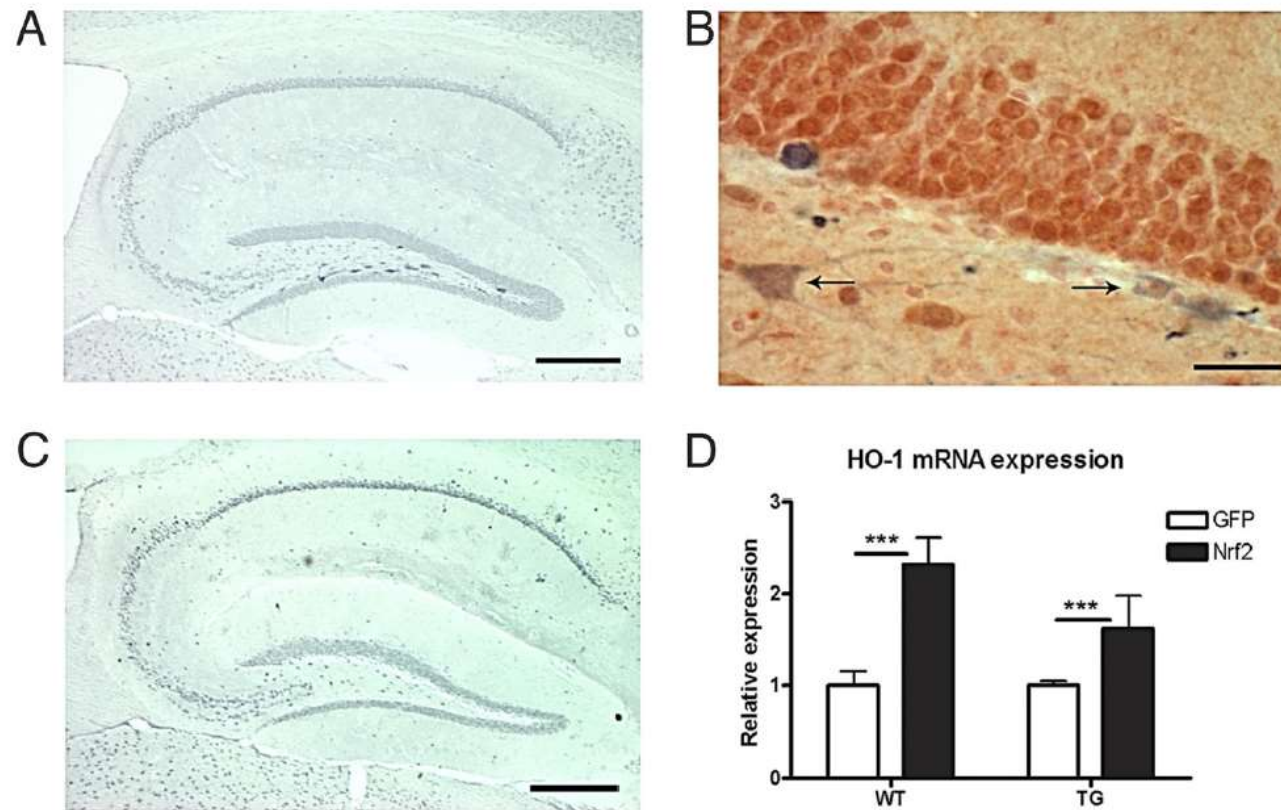
Protection contre la mort cellulaire et la production de ROS (mesurés par DCF).



La DHT augmente l'expression de la γ -Glutamate Cysteine ligase en transcutané et protège contre les dommages induits par la lumière du soleil (SSL: simulated solar light), notamment en diminuant le nombre de 'sunburn' cells qui sont des kératinocytes apoptiques.

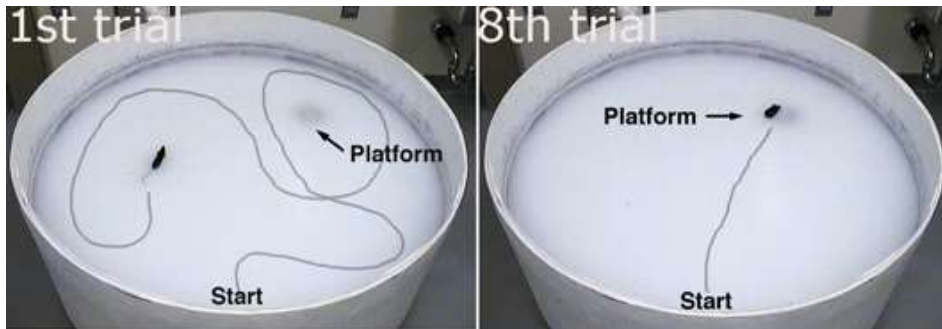
- [video](#)

Une nouvelle stratégie antioxydante : surexpression de la protéine Nrf2 dans un modèle souris de maladie d'Alzheimer (APP/PS1 mouse) (Kanninen et al., PNAS, 2009)

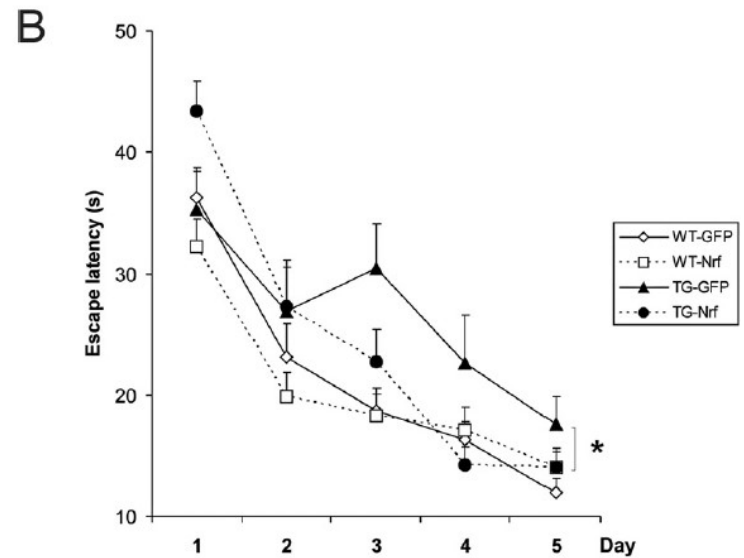
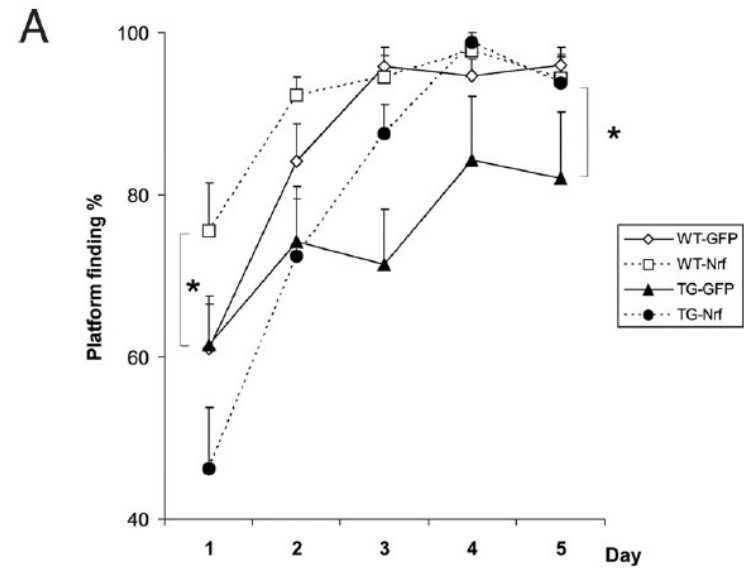


Augmentation de l'expression de la hème oxygenase après surexpression de la protéine Nrf2. Le gène de la hème oxygenase1 est exprimé après action de Nrf2 sur les ARE.

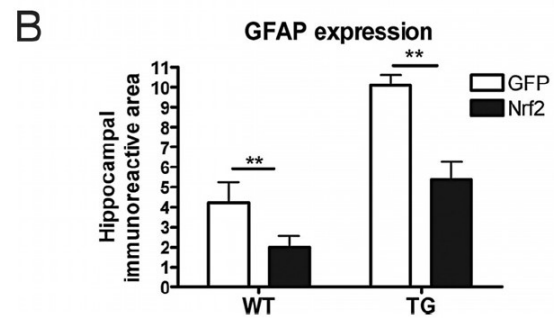
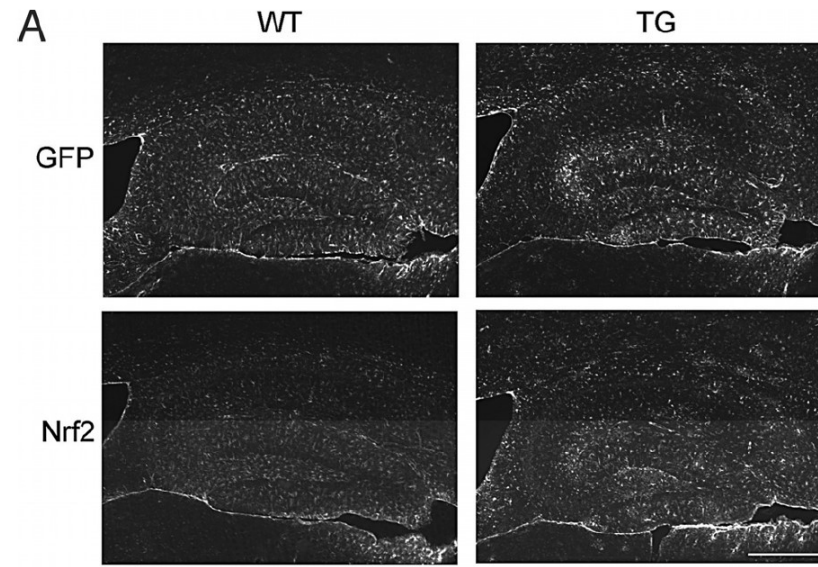
Apprentissage spatial: piscine de Morris'



La latence de découverte de la plateforme est mesurée (apprentissage) ainsi que la rétention après retrait de la plateforme [www.iop.kcl.ac.uk].



La surexpression de Nrf2 améliore les capacités d'apprentissage de la souris APP/PS1

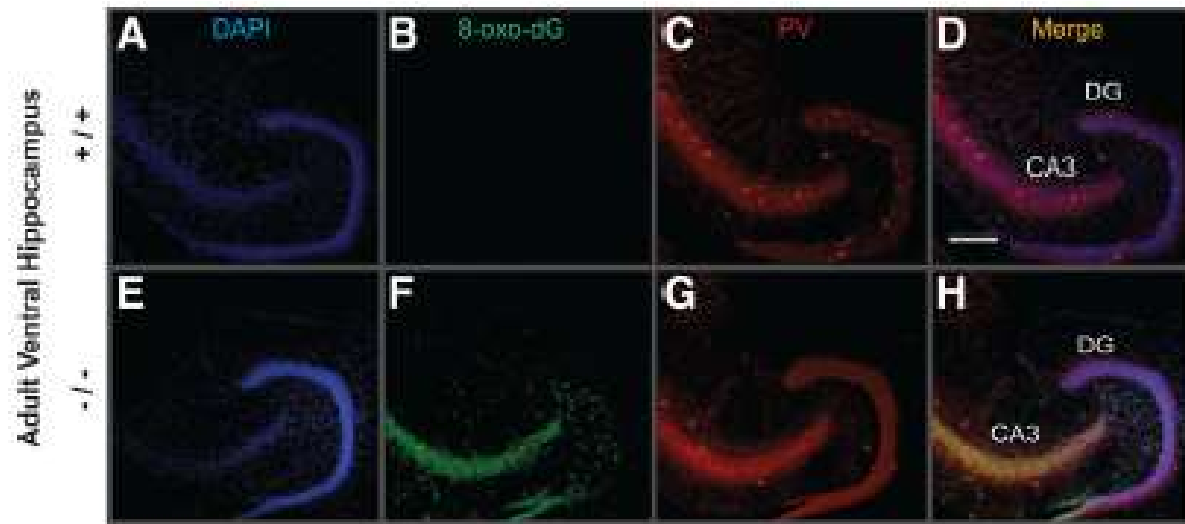


Nrf2 réduit l'astroglie chez la souris APP/PS1

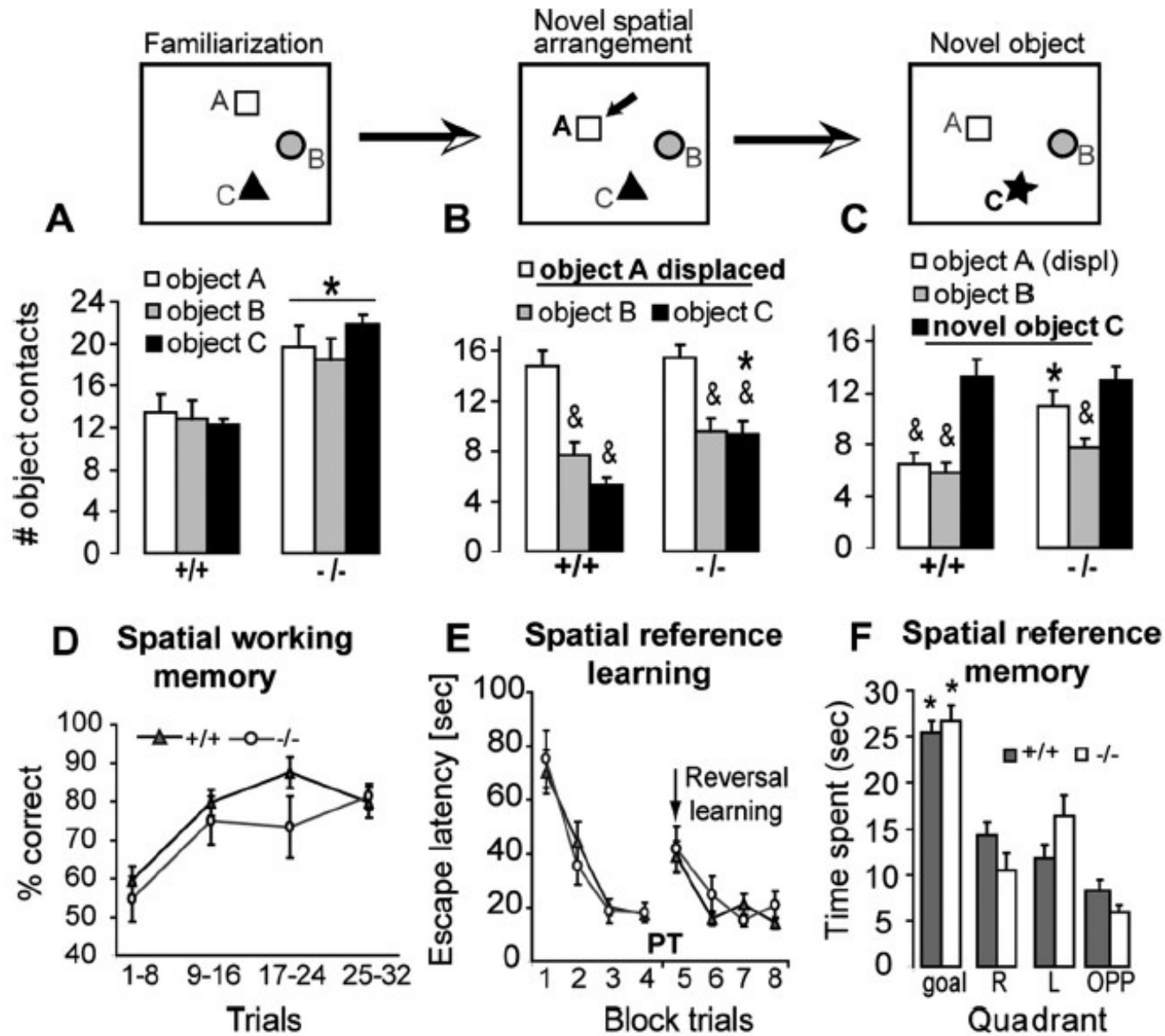
Pathologies du SNC associées à un déficit en glutathion réduit:

-L'inhibition de la synthèse de GSH avec du BSO ou par invalidation du gène de la Glutamate-Cystéine ligase entraîne l'apparition d'un comportement apparenté aux 'psychoses' chez les rongeurs. Par ailleurs une diminution de la teneur en GSH produite lors d'un stress prénatal entraîne des déficits d'apprentissage chez la progéniture. Enfin une perturbation de la teneur en GSH contribue à l'addiction à la cocaïne. Dans ces trois cas, on peut renverser ces déficits par administration d'un précurseur du GSH, la N-acetyl-cysteine.

-Phénotype de la souris GCLM -/-



Augmentation du stress oxydant dans l'hippocampe de la souris GCLM-/-



Perturbation comportementale chez la souris GCLM-/-

