
STRESS OXYDATIF, CALCIUM ET THERMALISME

CORINNE AMAR*

Généralités sur les radicaux libres, systèmes de défense et pathologies induites [1]

Introduction

Un radical libre (RL) est une espèce chimique neutre ou chargée dont la couche périphérique contient un électron non couplé. Cet électron célibataire confère aux RL une certaine instabilité. La production de RL est permanente au sein de la matière vivante. Des systèmes physiologiques de défense existent et sont essentiellement représentés par les enzymes spécifiques, Superoxyde dismutase (SOD), Catalase (Cat), Glutathion peroxydase (GPx) et les piègeurs de RL. Lorsque les systèmes antiradicalaires physiologiques sont dépassés soit en raison d'une diminution de l'activité enzymatique, soit en raison d'une exagération de la production radicalaire, la neutralisation des RL fait intervenir d'autres systèmes cellulaires tels que les membranes, les acides nucléiques et les protéines à l'origine du pouvoir pathogène des RL. De l'oxydation radicalaire des lipides membranaires, des protéines et des acides nucléiques résulte une altération profonde des membranes et du métabolisme cellulaire avec *in fine*, la mort cellulaire.

Rappel historique [1.1] [1.2]

Si l'oxygène était proposé comme nouveau médicament, il échouerait probablement aux tests rigoureux de la "Food and Drug Administration". En effet, la dose minimale active est trop proche de la dose toxique.

En 1968, Fridovitch et Mc.Cord mettent en évidence que l'ion superoxyde est produit au cours d'une oxydation banale. Un an plus tard ils isolent la SOD, une enzyme capable de le faire disparaître en le dismutant. L'ion superoxyde dont la durée de vie n'est que de quelques centièmes de secondes est le RL responsable de la toxicité de l'oxygène. Sa durée de vie si brève n'a permis sa mise en évidence que par la seule présence de la SOD : celle-ci est indispensable à la survie en milieu anaérobie. Ainsi un processus aussi fondamental que la respiration cellulaire est source de RL très agressifs, dont normalement une faible quantité se trouve libérée. La survie des organismes dans un milieu contenant de l'oxygène dépend donc d'interactions complexes entre la production de RL par les réactions d'oxydation et des systèmes destinés à éviter leur action toxique.

Synthèse physiologique des radicaux libres [1.3] [1.4]

La formation de ces RL survient essentiellement de la façon suivante : c'est l'activation de l'oxygène qui va amorcer la réaction soit par un gain d'énergie (rare), soit par un gain

* Domaine Thermal, 64250 Cambo-les-Bains. Courriel : corinne-amar@orange.fr

unitaire d'électron (voie de la réduction univalente de l'oxygène). Il s'agit là de formes dites activées de l'oxygène (radicaux libres oxygénés : RLO). Cette voie est la conséquence de l'auto-oxydation de nombreuses substances intracellulaires (épinéphrine, ferrédoxine, hémoglobine) ou lors de processus d'oxydo-réduction le long des chaînes respiratoires des mitochondries ou des membranes des polynucléaires ou des macrophages.

Les RL sont donc très toxiques et attaquent principalement les lipides membranaires, mais aussi les protéines et les acides nucléiques. Il s'agit donc d'éliminer les RL dès leur formation avant qu'ils n'aient pu nuire.

Les systèmes antioxydants [1.5]

Les SOD sont des métalloprotéines. Il s'agit de trois iso-enzymes, polypeptides constitués par une chaîne d'acides aminés renfermant deux atomes métalliques : Zinc et Cuivre (CuZn SOD), 2 atomes de Fer (FeSOD) ou 2 atomes de Manganèse (MnSOD). Ces systèmes anti-oxydants se situent donc aux endroits où l'oxygène est libéré, essentiellement au niveau de la membrane des mitochondries et dans le cytosol au niveau du réticulum endoplasmique. Mais l'action de la SOD doit obligatoirement être couplée avec celles des Cat/GPx pour éviter l'accumulation de peroxyde. Si ces systèmes de défense sont débordés (hyperproduction ou défaut d'élimination), il y a accumulation de superoxyde et de peroxyde et, en conséquence, l'apparition de radical hydroxyle qui n'est pas physiologique et pour lequel aucun système de défense enzymatique naturel n'est prévu. En plus de ces systèmes enzymatiques spécifiques, on distingue deux autres groupes de piègeurs de RL :

- les capteurs occasionnels : véritables erreurs de programmation représentées par tous les composés biochimiques qui bloquent les RL au prix de leur intégrité moléculaire et fonctionnelle (acides gras insaturés, protéines et enzymes à fonction SH, acides aminés à noyau phénol, sucres, acides nucléiques...);
- les piègeurs de RL et antilipoperoxydants : les piègeurs de RL vrais, à activité anti-radicalaire, qui interviennent aux stades d'initiation des cycles de peroxydation, et les antilipoperoxydants "hydroxid destroyers" interrupteurs de cycle, qui agissent plutôt au stade de propagation. Ce sont surtout des substances d'origine exogène, apportées par l'alimentation végétale (vitamines : alpha-tocophérol, bêta-carotène, ascorbate...)

Pathologies induites par les radicaux libres [1.4] [1.5] [1.6]

Les lésions produites par les RLO vont donc avoir des implications en pathologie. En effet, les RLO vont altérer les *membranes cellulaires*, tant péricellulaires qu'intracellulaires (mitochondriales et lysosomiales) en peroxydant les acides gras polyinsaturés qui les composent. La membrane perd sa disposition architecturale créant de véritables brèches ioniques. Leur toxicité se porte aussi sur *les protéines* en particulier porteuses d'un groupement sulfhydryle ce qui est le cas de nombreuses enzymes cellulaires. S'ensuit une perturbation majeure des réactions biochimiques réglées par ces enzymes ; les microfibrilles du collagène et l'acide hyaluronique constituant essentiel de la substance fondamentale du tissu conjonctif à l'origine des phénomènes de sclérose et de

fibrose, sont également sensibles aux RL. Enfin *les acides nucléiques* sont touchés par l'intervention des RL au niveau des chromosomes. La peroxydation lipidique peut induire des liaisons de l'ADN avec dénaturation, 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.

Ainsi, l'importance de la membrane cellulaire et de la substance fondamentale explique le grand nombre de maladies où les RL sont incriminés.

Ischémie tissulaire [1.7] [1.8] [1.9]

Celle-ci est responsable d'un mauvais fonctionnement de la chaîne respiratoire mitochondriale avec une utilisation viciée de l'oxygène aboutissant à la synthèse de composés toxiques. En effet, en cas d'ischémie, le métabolisme suit un processus anaérobie. Les tissus privés d'énergie catabolisent l'ATP jusqu'à l'hypoxanthine. Le calcium active une protéase, régulée par la calmoduline qui attaque l'enzyme xanthine-deshydrogénase (XDH) en la convertissant en xanthine-oxydase (XOD) capable de produire un superoxyde. À ce stade les dégâts sont encore minimes car les réactions se bloquent à une étape intermédiaire. Lorsque le tissu est reperfusé et réoxygéné, la cellule se retrouve en hyperoxie relative ; elle devient aussi vulnérable qu'un organisme anaérobie placé en milieu oxygéné. Tous les composants nécessaires sont alors présents (xanthine-oxydase, hypoxanthine et oxygène) pour produire des RLO qui sont à l'origine d'importantes lésions tissulaires.

Cancer [1.3] [1.10] [1.11] [1.2]

L'activité des RL constitue, également, un facteur étiologique dans les modifications malignes. L'initiation et la promotion du cancer sont associées aux défauts chromosomiques et à l'activation d'oncogène. Les radiations ionisantes agissent essentiellement sur les tissus vivants en produisant des RL et elles forment un carcinogène complet, étant initiateur et promoteur. La plupart des recherches ont été fondées sur la présomption que les réactions des RL pouvaient être des "instruments" transformant les cellules saines en cellules malignes. Il semble donc logique de penser que certaines réactions endogènes, comme celles initiées par des radiations ionisantes, pourraient aboutir à la formation tumorale. Pour preuve, de nombreuses études montrent une corrélation significative presque linéaire entre consommation de matières grasses et d'huiles et taux de mortalité par leucémie, néoplasies malignes du sein, ovaires et rectum ; ceci étant le reflet de la peroxydation lipidique et d'une corrélation positive entre obésité et cancer. Parallèlement, dans les régions où la prise de Sélénium, composant de la GPx, est relativement élevée, l'incidence de certaines formes de cancer a tendance à diminuer. Cet effet est dû, en tout cas en partie, à la réduction des réactions radicalaires. Des études plus récentes confirment les effets positifs de la prise d'antioxydants (bêta-carotène, vitamine E) sur certains cancers et donc indirectement le rôle pathophysiologique des RL.

L'augmentation de l'incidence des cancers avec l'âge est particulièrement intéressante. Elle reflète probablement l'élévation croissante du niveau endogène des réactions

radicalaires avec l'âge, couplée avec la diminution progressive de la capacité des systèmes immuns à éliminer les cellules altérées.

Inflammation [1.3] [1.4] [1.9]

Au cours de l'inflammation, les radicaux superoxydes jouent un rôle à plusieurs niveaux. L'activation des polynucléaires neutrophiles (PN) lors de la phagocytose entraîne une flambée oxydative responsable d'une importante production d'ion superoxyde qui participe à la destruction des bactéries. Lors de l'inflammation, les radicaux superoxydes produits par les PN sortent du milieu intracellulaire et peuvent détruire des cellules saines conduisant à l'auto-entretien de l'inflammation. L'ion superoxyde active également un facteur plasmatique chimiotactique qui attire les neutrophiles. La SOD, empêchant l'activation de ce facteur superoxyde dépendant, exerce une action anti-inflammatoire.

Hyperagrégation plaquettaire et athérosclérose [1.10] [1.2] [1.12]

L'ion superoxyde intervient aussi dans la synthèse des prostaglandines, l'agrégation plaquettaire et la libération de facteurs inhibiteurs de l'agrégation par les cellules endothéliales. Les études sur la pathogénie de l'athérosclérose montrent que la maladie est à la base due aux réactions radicalaires dans la paroi artérielle et le sérum, impliquant largement les lipides provenant de l'alimentation, pour produire des peroxydes et autres substances. Ces composés induisent des lésions cellulaires endothéliales et produisent des altérations dans les autres constituants de la paroi artérielle. En commun ils initient et interagissent tour à tour avec les lipides du sérum. Les deux hypothèses principales concernant l'étiologie de l'athérosclérose sont les lésions des cellules endothéliales et le déficit en prostacycline. Or le métabolisme de l'acide arachidonique aboutit à la formation de prostaglandines : thromboxanes dans les plaquettes (agent agrégant) et prostacycline pour les parois vasculaires (vasodilatatrice et antiagrégante). Un excès de forme radicalaire modifie les orientations métaboliques et diminue essentiellement la synthèse de la prostacycline. En effet, le déficit en prostacycline résulte de la lipoperoxydation des acides gras libres par les RL qui entraînent l'inactivation de la prostacycline synthétase. Les lésions d'athérosclérose peuvent être initiées et accrues par des substances capables d'irriter la paroi artérielle. Or la réaction de la molécule d'oxygène avec les composés polyinsaturés présents dans le sérum et les lipides de la paroi artérielle est une source constante de telles substances. Les produits de l'oxydation, des lipides altérés, des peroxydes lipidiques et leurs produits de fragmentation, des protéines et peptides altérés par les RL, peuvent être produits en grande quantité, suffisamment pour contribuer directement ou indirectement à l'athérogenèse.

Diabète [1.13] [1.14] [1.15]

L'activité des enzymes du métabolisme peroxydique (SOD en particulier) est diminuée dans le sang des sujets diabétiques, ce qui se traduit par une augmentation de la peroxydation lipidique pouvant expliquer les lésions tardives rencontrées. En effet, l'augmentation de la teneur en peroxydes lipidiques est considérée comme une cause de dégénérescence des organes et tissus. Or des études récentes montrent que, dans le diabète, le

taux de peroxydation lipidique plasmatique est significativement plus élevé que chez les témoins et que ce taux est plus élevé chez les diabétiques porteurs d'une microangiopathie que chez les diabétiques indemnes. Par ailleurs, les diabétiques sont sujets à des infections particulièrement sévères et inhabituelles traduites au niveau cellulaire par une atteinte des capacités anti-infectieuses des polynucléaires. Les causes de ce dysfonctionnement nous sont inconnues et ne peuvent être entièrement attribuées à l'hyperglycémie, l'hypoinsulinémie ou l'acidose seules. Des essais basés sur la mesure de la chimioluminescence, reflet du métabolisme oxydatif et de l'activité antibactérienne à l'état basal et après stimulation des PN, montrent bien une altération de la réponse leucocytaire qui peut expliquer la sensibilité particulière aux infections des sujets diabétiques.

La rétine est particulièrement concernée par la peroxydation lipidique, tissu cible pour les RL : extrême richesse en membranes (d'où une quantité d'acides gras insaturés très importante susceptible de se peroxyder), exposition directe aux rayonnements, conversion d'une énergie lumineuse en polarisation électrique, particularités de la vascularisation de la rétine et métabolisme très actif (la rétine est un des tissus les plus oxygénés avec consommation très importante d'oxygène la nuit). Les phénomènes observés au niveau du cristallin responsables de la *cataracte* [1.16] relèvent du même procédé que ceux observés dans la peroxydation lipidique au niveau de la rétine pour la rétinopathie diabétique [1.17].

Neurodégénérescence et mort neuronale excitotoxique [1.18] [1.19] [1.20] [1.21] [1.22]

L'étiologie des *maladies neurodégénératives*, en particulier des maladies d'Alzheimer et de Parkinson, passent par un mécanisme excitotoxique où les RL servent de toute évidence d'intermédiaire. Le cerveau possède le niveau le plus élevé du métabolisme oxydatif de tous les organes et lui montre une forte dépendance pour sa fonction. La mise en évidence d'une anomalie de la SOD dans certaines formes familiales de sclérose latérale amyotrophique a focalisé l'attention sur le rôle que jouent les RL dans la neurodégénérescence et dans la mort neuronale. Les "anticorps" décrits par Appel pour les formes sporadiques de SLA qui réagissent avec des canaux calciques et qui élèvent de façon anormale les concentrations de l'ion calcique dans les cellules nerveuses provoquant leur mort, ne seraient autres que les RL.

L'excitotoxicité se définit comme l'effet toxique de l'acide glutamique vis-à-vis des neurones, en général par interaction du glutamate avec les récepteurs NMDA (récepteurs activés spécifiquement par le N-méthyl-D-aspartate) [1.23] [1.24] [1.25]. Des études expérimentales ont montré que l'exposition de cellules nerveuses au glutamate et à des excitotoxines dicarboxyliques telles que le NMDA était accompagnée d'une production de RL ainsi que d'une augmentation du calcium libre cytosolique et aboutissait à la mort des neurones. Cette élévation de calcium induit l'activation d'une protéase qui entraîne la conversion de la XDH en XOD, une forme capable de générer des ions superoxydes. Mais le véritable médiateur de la toxicité oxyradicalaire n'est pas l'ion superoxyde mais le flux subséquent de radicaux hydroxydes obtenus par des réactions utilisant des métaux

de transition (Fenton reactions) ou encore à partir de la décomposition du peroxydinitrite. Or la production d'oxyde nitrique est connue comme étant induite par la stimulation du récepteur NMDA. Sous des conditions d'excitotoxicité, la présence d'ion superoxyde aboutit à la production de radicaux hydroxyles par l'intermédiaire de la stimulation de l'oxyde nitrique synthétase. La source de RL semblerait être les mitochondries qui se montrent capables de générer des radicaux hydroxyles quand elles sont exposées à des taux élevés de calcium sous des conditions normales. Sous des conditions d'excitotoxicité, l'ion superoxyde en excès formé lors de processus semblable à une hypoxie, produit des radicaux hydroxyles extrêmement toxiques, capables d'altérer le système de transport des électrons mitochondriaux et d'accroître considérablement la production de RL.

Dans le cas particulier de la *maladie d'Alzheimer*, l'augmentation de l'activité glutamérique conduit aux dommages cellulaires des neurones et à leur mort par excitotoxicité [1.26] [1.27]. L'homéostasie du calcium cellulaire apparaît anormale dans la maladie d'Alzheimer [1.28] [1.29]. Le cœur des plaques séniles (plaques neuritiques) sont constituées d'une protéine appelée protéine bêta-amyloïde. La toxicité de cette protéine pour les neurones serait calcium-dépendante [1.30]. L'excès d'influx calcique dû à une surstimulation du récepteur NMDA endommage la mitochondrie, incluant notamment le découplage de la phosphorylation oxydative [1.32]. Les RL potentialiseraient la neurotoxicité de la protéine bêta-amyloïde et augmenteraient sa formation [1.35]. Les altérations des neurotransmetteurs et de l'homéostasie du calcium sont mécaniquement capitales au niveau cellulaire en convertissant les dérèglements oxydatifs en dérèglements physiopathologiques importants. Les troubles du métabolisme oxydatif affectent celui des neurotransmetteurs (déficit du système cholinergique surtout) impliqués dans la maladie, la synthèse de l'acétylcholine notamment est extrêmement sensible aux anomalies oxydatives et elle est le reflet de processus calcium-dépendants [1.28]. Les anomalies du métabolisme oxydatif et du métabolisme du calcium semblent interagir dans une "spirale vicieuse physiopathologique" [1.33] [1.34]. Il existe aujourd'hui une piste thérapeutique qui tente de protéger les neurones contre la dégénérescence en limitant l'entrée du calcium par les canaux calciques voltages dépendants [1.31].

La *maladie de Parkinson* est la résultante d'une dégénérescence massive des neurones dopaminergiques nigrostriataux [1.36]. Cette maladie neurologique passe aussi par un mécanisme excitotoxique. On retrouve un déficit du complexe I mitochondrial striatal, premier complexe intervenant dans les réactions d'oxydo-réduction au niveau de la chaîne respiratoire des mitochondries [1.39], et des signes de stress oxydatif conduisant à une augmentation de la peroxydation lipidique [1.40]. Pour le Parkinson, il existe un mécanisme propre à cette affection qui explique la toxicité sélective sur les neurones dopaminergiques contenant de la mélanine et faisant intervenir l'auto-oxydation de la dopamine [1.37] [1.38].

Le mécanisme excitotoxique retrouvé dans les maladies neurodégénératives et notamment les maladies d'Alzheimer et de Parkinson, est le point de départ de la physiopathologie de ces affections impliquant les radicaux libres [1.41]. Il apparaît au cours du vieillissement et il peut être déclenché lorsque la somme des réactions radicalaires

délétères pour l'organisme, couplées à des facteurs environnementaux et à des fragilités génétiques individuelles, dépasse un seuil critique.

Le vieillissement [1.2]

Ainsi il existe de nombreuses preuves de l'implication des RLO dans un nombre important de maladies liées à la vieillesse. L'association inextricable entre le vieillissement et la maladie d'Alzheimer, dont l'incidence augmente de façon exponentielle avec l'âge, en est le représentant. Il est donc bien difficile de ne pas relier ces RL avec le vieillissement. Selon la classique théorie du Docteur Harman, basée sur la nature chimique des réactions radicalaires et leur omniprésence dans les systèmes vivants, le processus de vieillissement est simplement la somme des altérations aléatoires produites par ces réactions, soit une accumulation de métabolites toxiques entraînant des dommages à long terme des macromolécules (protéines-acides nucléiques) aboutissant à la mort cellulaire.

Rôle du calcium intracellulaire, canaux calciques et stress oxydatif

Nous avons pu constater pour la maladie d'Alzheimer, maladie neurodégénérative typique du vieillissement, toute l'importance du calcium dans les processus radicalaires. Pour comprendre la relation étroite entre stress oxydatif et calcium, il est essentiel de comprendre le sens des flux membranaires de cet ion au niveau cellulaire.

Nous savons que l'ion calcium a un rôle central dans la physiologie de la cellule et sa présence dans le cytosol à des concentrations très faibles par rapport au milieu extracellulaire est la résultante d'échanges permanents et régulés entre le milieu extracellulaire et différents organites dont les mitochondries.

Dans le cytosol, la concentration en calcium libre en l'absence de toute stimulation se maintient à un taux basal d'environ 0,1 μM , alors qu'elle est de l'ordre de 1 à 2 mM dans le milieu extracellulaire. Dans la cellule, il existe des compartiments de stockage du calcium, sarcoplasme réticulaire pour le muscle squelettique et le myocarde et réticulum endoplasmique lisse pour les autres types cellulaires. La mitochondrie est aussi un réservoir calcique très important qui n'intervient que dans des conditions extrêmes (concentration calcium dépassant 1 μM). La régulation du calcium nucléaire, dont la concentration est élevée, reste très peu connue. Dans ces différents "calcium-sequestering compartments", le calcium lié à différentes protéines, se trouve à des concentrations considérablement plus élevées que dans le cytosol. Les échanges de calcium entre les différents compartiments ne peuvent s'effectuer que par des pompes et des canaux membranaires, situés sur la membrane plasmique de la cellule et de ses organites. En dehors de toute activation cellulaire, la concentration du calcium cytosolique doit rester à un taux très bas. Cette faible concentration doit être maintenue malgré le fort gradient qui tend à pousser l'ion calcium du milieu extracellulaire ou des compartiments de stockage vers le cytosol. C'est l'augmentation de cette concentration qui va déclencher le fonctionnement de systèmes enzymatiques dans lequel l'ion calcium intervient comme messenger. L'augmentation de la concentration cytosolique en ion calcium libre provient essentiellement de deux origines.

- Une entrée de calcium à partir du milieu extracellulaire *via* des canaux calciques membranaires : l'entrée du calcium s'effectue de façon différente dans les cellules excitables (neurones, cellules musculaires, cellules endocrines) que dans les cellules non excitables. Les premières génèrent des potentiels d'action lorsqu'elles sont excitées par une stimulation chimique. La dépolarisation de la membrane plasmique entraîne l'ouverture des canaux calciques membranaires (canaux voltage dépendants) et une augmentation transitoire de la concentration en calcium. Les cellules non excitables ne peuvent générer des potentiels d'action et sont dépourvues de canaux calciques voltage dépendants, mais possèdent en revanche des canaux calciques activés indirectement par des seconds messagers.

- Une mobilisation du calcium contenu dans les compartiments cellulaires internes : la libération dans le cytosol de calcium séquestré dans un compartiment calcique intracellulaire passe par la fixation d'un messager sur une protéine membranaire récepteur provoquant le passage du calcium dans le cytosol.

La sortie du calcium du cytosol se fait pour toutes les cellules eucaryotes par la pompe Ca^{2+} ATPase située dans leur membrane plasmique.

Le signal calcium est un point d'entrée pour déchiffrer le vivant. Des outils d'investigations remarquables ont été créés afin d'étudier le signal calcium et le génome humain permet un recensement des gènes codant pour les canaux calciques. Les niveaux de régulation de l'activité ou de la structure des complexes protéiques sont sous le contrôle de signaux (calcium, AMP cyclique ...) activés par des stimuli externes ou internes à la cellule. Des gènes codant pour des protéines impliquées dans la signalisation calcique sont en train d'être constitués. Ces protéines impliquées dans la signalisation calcique, et en particulier les protéines capables de lier le calcium, sont en passe de devenir des cibles thérapeutiques importantes [2].

Le travail réalisé sur la famille de ces calciprotéines permet aussi de suivre la régulation de l'expression génique de cette famille et de pouvoir l'utiliser comme biomarqueurs dans les pathologies cancéreuses et inflammatoires. Des éléments de la sous famille S100 des protéines liant le calcium constituent déjà des biomarqueurs importants dans le mélanome et la maladie d'Alzheimer, mais aussi dans la plupart des pathologies inflammatoires tant centrales que périphériques ainsi que dans le suivi thérapeutique de ces maladies.

Toute évolution dans la compréhension mécanistique des canalopathies calciques devrait ouvrir sur des perspectives thérapeutiques mieux définies. La thérapie de demain associera une molécule ayant pour cible thérapeutique d'une pathologie, une protéine de liaison du calcium et des biomarqueurs utilisant le niveau d'expression d'un ensemble de calciprotéines afin de suivre l'évolution thérapeutique du malade.

Dans le cas de la cellule nerveuse, les canaux calciques voltage dépendants représentent une des voies principales d'entrée du calcium dans la cellule où ils participent activement à l'excitabilité cellulaire et aux processus moléculaires de la transmission synaptique. Ces canaux sont des cibles pharmacologiques de premier choix pour le traitement de la douleur dont on sait qu'ils sont déjà la cible principale de la morphine [3].

Comme nous l'avons vu, le stress oxydatif (ou stress oxydant) est un type d'agression des constituants de la cellule dû aux radicaux libres (espèces réactives oxygénées et azotées) et devient une situation pathologique dès lors que le système de protection est submergé. Il est un facteur d'inflammation et de mutagenèse, mais est aussi considéré comme une des principales causes de cancer et jouerait un rôle dans la maladie d'Alzheimer comme dans plusieurs pathologies plus courantes telles que les maladies cardio-vasculaires, les accidents cérébro-vasculaires, l'arthrite rhumatoïde ou les cataractes.

Ce stress oxydatif va perturber les voies normales physiologiques et provoquer la mort cellulaire. Ces perturbations sont médiées largement par le signal calcique [4].

En effet, il entraîne une entrée de calcium dans le cytoplasme à partir du milieu extracellulaire et au niveau du réticulum endoplasmique ou sarcoplasmique à travers la membrane cellulaire *via* les canaux calciques. L'élévation du calcium dans le cytoplasme entraîne l'afflux de calcium dans les mitochondries et les noyaux. Dans les mitochondries, l'élévation de la concentration en calcium accélère et perturbe le métabolisme normal menant à la mort cellulaire. Dans les noyaux, une élévation de la concentration de calcium module la transcription des gènes aboutissant à l'apoptose. Dans le noyau, comme dans le cytoplasme des cellules, la concentration en ion calcium peut réguler la phosphorylation/déphosphorylation des protéines, modulant les voies de transduction du signal en conséquence.

De la même façon, dans certain modèle de maladie neurodégénérative induite artificiellement (par acide 3-nitropropionique), l'augmentation brutale de calcium par l'ouverture des canaux calciques entraîne un dysfonctionnement mitochondrial aboutissant à une autodestruction cellulaire [5].

Des études sur les cellules des îlots de Langerhans de rat (rat insulinooma cell RINmSF) montre que la production de RL et le stress oxydatif jouent un rôle dans le développement du dysfonctionnement de ces cellules chez le diabétique. Le stress oxydatif entraîne une libération de la sécrétion d'insuline par dépolarisation et entrée subséquente de calcium à travers des canaux calciques voltage dépendants [6].

Puisque le stress oxydatif faisant intervenir largement les flux cellulaires de calcium est associé à de nombreuses maladies et au processus de vieillissement, comprendre comment modifier la transmission des signaux calciques pourrait aider à expliquer le vieillissement et les pathologies associées et conduire à de nouvelles stratégies de prévention.

Quoiqu'il en soit la relation de cause à effet entre le stress exogène à l'échelle de l'humain et le stress oxydant au niveau de la cellule est sans conteste une réalité.

Nous savons déjà très clairement qu'une exposition à des sources exogènes liées à l'environnement tels que tabac, alcool, médicaments, rayon gamma ou ultraviolets, herbicides, amiante, métaux toxiques... provoquent au niveau cellulaire un excès de production des radicaux libres de l'oxygène à l'origine du stress oxydatif.

Des phénomènes excitotoxiques ordinaires, représentés par exemple par les champs électromagnétiques émis par les téléphones portables, peuvent avoir une influence

néfastes sur les mouvements intracellulaires de calcium en perturbant les flux calciques dans la cellule nerveuse aboutissant à des altérations des fonctions cellulaires [7].

Les maladies auto-immunes constituent un des champs les plus fertiles pour la recherche des *interactions psychoneuroimmunologiques*. Les troubles psychiatriques, et en particulier la dépression, sont fréquents dans les maladies de système, notamment le lupus, la polyarthrite rhumatoïde et la sclérodémie, et inversement une exacerbation de l'autoimmunité naturelle a été constatée au cours des syndromes dépressifs. Le rôle précipitant d'évènements de vie éprouvants a été incriminé dans les poussées de lupus ou de polyarthrite rhumatoïde mais ce sont surtout les stress quotidiens qui paraissent influencer les fluctuations de la symptomatologie [8].

Dans le cas de l'arthrite rhumatoïde, la formation d'espèces réactives oxygénées est un facteur important dans le développement et l'entretien de cette maladie, alors que des concentrations abaissées d'antioxydants sanguins augmentent considérablement la probabilité de développer cette pathologie [9]. De nombreuses études sur le stress oxydatif suggèrent que les patients atteints d'arthrite rhumatoïde seraient plus disposés à la peroxydation lipidique avec une corrélation directe sur les mouvements intracellulaires et notamment sur le rapport Calcium/Phosphore. Dans cette maladie, il existe une diminution significative du ratio Calcium/Phosphore et une élévation de la peroxydation lipidique. Il existerait ainsi une relation étroite entre la perte osseuse et la menace oxydative chez les patients présentant cette maladie [10]. Or l'arthrite rhumatoïde est un désordre autoimmunitaire progressif et chronique et donc très sensible au stress psychique. Les perturbations à l'échelle humaine, qu'elles relèvent de phénomènes physiques ou psychiques, ont donc inévitablement des conséquences à l'échelle cellulaire.

Fort heureusement la balance oxydative peut être déplacée dans le bon sens.

Les oligoéléments, en particulier le zinc et le sélénium, ont un rôle prépondérant comme cofacteur respectivement de la SOD et de la GPx, systèmes enzymatiques antioxydants essentiels. Rappelons que la SOD transforme l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène qui est éliminé par la GPx ou la Cat, empêchant la formation de RLO plus agressif comme le peroxyde d'hydrogène ou le radical hydroxyle. Nous savons que même une légère carence en zinc affaiblit les fonctions immunitaires chez l'homme et qu'une supplémentation en zinc et sélénium contribue à stimuler l'immunité, notamment ce qui a trait aux infections respiratoires [19]. Le sélénium serait dans l'alimentation un des plus puissants antioxydants en renforçant les défenses immunitaires et en jouant un rôle important dans le cas des maladies inflammatoires comme la polyarthrite par exemple. De nombreuses études confirment le rôle protecteur du sélénium dans certains cancers (notamment gastro-intestinaux et pulmonaires) où l'agression du stress oxydatif est importante. Il s'opposerait aux effets toxiques des RL sur l'ADN responsable de la genèse de certaines maladies cancéreuses [20].

Des expérimentations chez la souris ont mis en évidence qu'un régime calcique avait un rôle significatif de régulateur dans la production d'espèces réactives oxygénées et de l'inflammation dans les adipocytes. Une publication montre que le calcium apporté par les produits laitiers exercerait des effets soutenus aboutissant à une atténuation de

l'adiposité, une protection contre la fonte musculaire liée à l'âge et une réduction du stress inflammatoire et oxydatif [11]. Chez l'homme, une supplémentation en calcium alimentaire réduit la récurrence des cancers colorectaux en se basant sur l'inflammation comme biomarqueurs du stress oxydatif [12]. Ainsi, les antioxydants ou le calcium présents dans les aliments protègent les molécules organiques en participant au renforcement des défenses immunitaires et en jouant un rôle protecteur contre la cancérogenèse.

Stress oxydant, calcium et thermalisme

Nous avons donc pu constater l'importance de l'homéostasie du calcium pour les cellules vivantes ainsi que la fragilité de cet équilibre qui peut varier dans un sens bénéfique ou délétère pour la cellule, en fonction du type de stimuli reçus.

L'homme étant finalement un "conglomérat" de cellules, les stimuli environnementaux ont inévitablement un retentissement au niveau de celles-ci. Finalement, la mort cellulaire passe par le stress oxydatif apporté par l'oxygène qui est indispensable à la vie de l'homme.

L'élixir de jeunesse, dans un but d'immortalité des anciens, a donné le pas aux antioxydants d'aujourd'hui, ennemis des fameux radicaux libres oxygénés dont la production peut si facilement s'emballer. La prouesse serait donc d'arriver à ralentir la surproduction dangereuse de RLO et à stimuler les systèmes de défense antioxydants. La lutte contre les RL fait appel à des systèmes non enzymatiques piègeurs de RL comme les vitamines C, E, D, les caroténoïdes et les polyphénols ainsi qu'à des systèmes enzymatiques. *Les oligo-éléments antioxydants sont des cofacteurs de ces enzymes* comme nous avons pu le voir : le cuivre, le zinc, le manganèse de la SOD mitochondriale et le sélénium de la GTPx.

Du point de vue chimique, la composition des eaux thermales varie selon le milieu d'origine. Elles se déclinent en quatre dominantes : chlorurées, sulfatées calciques ou magnésiennes, sulfurées et bicarbonatées sodiques ou calciques. La plupart contiennent des oligo-éléments, surtout les eaux oligométalliques. Outre l'action externe (bains, douches, enveloppements de boue ou cataplasmes), il existe également une action interne par voie digestive ou respiratoire sous forme d'aérosols.

Concernant la voie digestive, il est donc évident que l'absorption d'eau thermale riche en oligo-éléments et en calcium a un effet bénéfique sur l'organisme même si la fraction bio-accessible pour les tissus est limitée du fait de la barrière intestinale. On considère que la fraction absorbée représenterait moins de 30 % de la quantité ingérée. Ce qui irait dans le sens pour la médecine thermale d'une médecine justement dosée et non délétère. En effet, des suppléments médicamenteuses ou par enrichissement des aliments à des doses excessives ou non adaptées ont au contraire montré des effets paradoxaux faisant passer les oligo-éléments d'un rôle antioxydant à un rôle prooxydant.

Une publication sur l'eau de Capvern montre que des rats ayant subi un régime hypercholestérolémiant, présentent une diminution significative du niveau plasmatique de cholestérol après 105 jours d'apport d'eau thermale. L'eau thermale semble agir sur le

catabolisme du cholestérol en diminuant le niveau de LDL-cholestérol et en stabilisant celui du HDL-cholestérol, comparativement au groupe contrôle abreuvé avec de l'eau ordinaire. Cette eau thermale *sulfatée calcique* aurait donc une action spécifique sur le métabolisme du cholestérol en augmentant son élimination biliaire en particulier par l'action de l'*ion calcium* contenu dans l'eau agissant sur les lipoprotéines des récepteurs hépatiques [14].

L'action des boues thermales utilisées en rhumatologie tient à des échanges de minéraux, surtout le calcium, d'oligo-éléments et à la pénétration de molécules organiques à travers la peau. Le plancton thermal de Molitg-les-Bains a des actions anti-inflammatoires, antioxydantes et cicatrisantes dans la dermatite atopique. Le mode d'action transdermique de cette glairine passerait aussi par une teneur exceptionnelle en antioxydant comme la vitamine C, le sélénium et la SOD [13].

Certaines études ont pu montrer que l'eau thermale avait une action spécifique sur la dynamique du calcium intracellulaire.

Les eaux thermales sont originellement riches en calcium et leur classification prend l'anion principal qui lui est associé. On peut distinguer les eaux bicarbonatées calciques, sulfatées calciques et sulfurées calciques.

L'eau thermale d'Avène est une eau sulfatée calcique et magnésienne contenant également du cuivre et du zinc. Une étude très intéressante met en évidence que *l'eau thermale d'Avène se montre capable d'agir sur la dynamique du calcium intracellulaire* sur des cellules appartenant à deux types différents [15]. Des cellules hypophysaires (cellules excitables) et des cellules d'ovaire (cellules inexcitables) de hamster ont été incubées dans un milieu standard préparé avec de l'eau thermale d'Avène. Les propriétés anti-inflammatoires de cette eau sont mises à profit dans le traitement de la dermatite atopique, de différents types d'eczéma et du psoriasis. Dans les cellules des deux types, il a été observé une augmentation de la concentration du calcium cytosolique et une diminution de la libération du calcium à partir des compartiments calciques intracellulaires. Or, les cytokines proinflammatoires de type interleukines entraînent une libération rapide de calcium à partir des pools intracellulaires. En réduisant le pool libérable par ces cytokines, l'eau d'Avène serait susceptible de réduire leurs effets délétères.

L'eau thermale d'Avène étant utilisée presque exclusivement en crénothérapie dermatologique, cette action sur la dynamique du calcium intracellulaire a ensuite été expérimentée, en toute logique, sur les kératinocytes [16]. Ces cellules sont à la fois les plus abondantes et les plus caractéristiques de l'épiderme. L'action de cette eau thermale dont l'effet favorable sur la peau est reconnue, a pu être démontrée sur les kératinocytes, cellules dont le comportement physiologique peut subir des altérations conduisant à des maladies de peau. La dynamique du calcium dans les kératinocytes est l'un des facteurs qui conditionnent leur différenciation à partir des cellules souches. Il a été démontré que l'augmentation de la concentration en calcium dans le milieu de culture des kératinocytes freine leur prolifération et favorise leur maturation. La concentration cytosolique du calcium libre dépend de deux processus : de la libération des pools calciques, en particulier de celui du réticulum endoplasmique, et d'une entrée de calcium extracellulaire de

type capacitatif. Cette expérience montre que l'eau thermale d'Avène entraîne une forte augmentation de la rentrée capacitative ce qui favoriserait les réactions de maturation des kératinocytes. Les protéines synthétisées par les kératinocytes au niveau de la couche granuleuse forment avec les filaments de kératine des agglomérats protéiques condensés résistants aux dégradations de diverses origines (enzymes cutanées ou agents corrosifs extérieurs). Les liaisons entre ces protéines seraient sous la dépendance de transglutaminases épidermiques *calcium dépendantes*.

Il semblerait donc que le calcium joue un rôle central dans la physiopathologie cellulaire *via* le stress oxydant mais qu'il est aussi capable de déplacer cette balance oxydative dans le bon sens.

Dans le thermalisme, le calcium et les antioxydants justement délivrés pourraient donc intervenir positivement sur les cellules de l'organisme soit par ingestion à travers les cellules du tube digestif *via* la circulation sanguine, soit par action sur les muqueuses oropharyngées et par les voies respiratoires, ou bien encore par contact direct et prolongé à travers la barrière cutanée. Toutes ces voies d'abord pourraient permettre à l'eau thermale d'avoir un rôle protecteur contre le stress oxydatif, à l'origine de tant de pathologies chez l'homme, en particulier liés à l'âge.

La nature est faite d'équilibre fragile qu'il faut préserver et le mieux peut être l'ennemi du bien. Je ne citerai pour exemple que la nanotechnologie qui semble être la médecine d'avenir puisque les nanoparticules pourraient détruire spécifiquement la tumeur sans léser les tissus sains. Elle est considérée comme potentiellement dangereuse. En effet si ces très petites particules hautement réactives sont nombreuses, les macrophages n'arrivent plus à les traiter et peuvent libérer leurs oxydants dans l'organisme provoquant une réaction inflammatoire exacerbée.

Conclusion

La cure thermale a tout d'abord une action psychologique positive car elle permet à bon nombre de patients de rompre avec un quotidien trop souvent stressant, pour un univers rassurant, et dont on a pu étudier les interactions psycho-neuro-immunologiques pour des maladies systémiques graves. De plus, la crénothérapie serait susceptible de diminuer les symptômes de l'anxiété généralisée et de permettre une réduction de la consommation d'anxiolytiques et d'antidépresseurs. L'eau thermale aurait une influence positive sur la fabrication par l'organisme des opioïdes endogènes, molécules permettant de lutter contre la douleur [17]. La prise en charge au sein d'un établissement thermal est une prise en charge complète "psycho-médico-pédagogique", mais également un lieu d'échanges culturels, de rencontres avec des patients de pathologies similaires, et un moyen de se recentrer et de prendre soin de soi-même. Cette conjoncture joue un rôle indirect évident dans l'amélioration de leur affection.

Nous savons grâce aux nouvelles technologies que l'amélioration de leur pathologie d'orientation n'est pas seulement due aux propriétés physiques de l'eau et à la fameuse poussée d'Archimède, mais que la composition des eaux thermales prend toute sa

dimension. En particulier la mise en évidence des variations de calcium intracellulaire a pu être réalisée grâce à l'utilisation de marqueurs fluorescents et bioluminescents qui, lorsqu'ils sont introduits dans la cellule, ont la propriété de lier le calcium. Les eaux contenant du calcium ont, comme nous l'avons constaté, une place toute particulière. De plus, la composition des eaux thermales est très diversifiée mais elles sont très nombreuses à contenir des oligo-éléments, véritables piègeurs de RL .

La température de l'eau a une action décontractante indiscutable mais elle permet surtout une vasodilatation de la circulation sanguine en général et des capillaires superficiels en particulier, intéressante pour le passage des principes actifs par la voie transcutanée. Par conséquent, la réglementation sur la durée des soins est essentielle afin d'obtenir de bons résultats.

Les rares contre-indications que présente le thermalisme ne sont pas liées au principe actif lui-même, mais repose sur la température nécessairement élevée de l'eau et le fait que les soins soient effectués en collectivités (défaillances viscérales sévères, maladies infectieuses évolutives, pathologies tumorales et déficits immunitaires sévères pour l'essentiel).

La médecine thermale est une médecine intelligente, accessible à la plupart des patients, qui utilise naturellement les eaux thermales pour leurs qualités physico-chimiques. Elle ne peut s'exercer que sur place, la composition chimique de ces eaux se modifiant au contact de l'air, dans des centres spécialisés où les malades sont suivis et surveillés par une équipe médicale compétente. Elle prend en charge le patient dans sa globalité physique, psychologique et sociale et elle est également un lieu d'écoute et de conseils hygiéno-diététiques. Les effets bénéfiques reconnus par les patients les motivent à dépenser en moyenne mille euros, pour obtenir une amélioration au quotidien de leur pathologie d'orientation. La dernière étude randomisée et multicentrique, portant sur un nombre exceptionnel de patients et concernant la gonarthrose, confirme la réalité médicale. Elle a permis de mettre en évidence une diminution de la douleur et une amélioration des capacités fonctionnelles maintenue neuf mois après la cure, démontrant ainsi son efficacité clinique [18].

Comme toute médecine non invasive, elle demande une mise en confiance et la participation indispensable du patient pendant les soins mais aussi le reste de l'année afin de maintenir ses effets positifs le plus longtemps possible après la cure. Et puisque les pathologies les plus traitées sont celles liées au vieillissement, elle demande également une régularité. En aucun cas elle est une médecine excessive avec ses risques potentiels d'effets secondaires.

Cette médecine humaine, naturelle et scientifiquement prouvée comme étant efficiente, est en parfait accord et souvent complémentaire avec les médecines douces et la médecine traditionnelle.

Pour conclure, je dirais que la médecine thermale apporte des stimuli environnementaux positifs, et par des soins appropriés, délivre par voie digestive, oropharyngée, pulmonaire ou transdermique les principes actifs, dont le calcium et les antioxydants, contenus dans les eaux, boues ou vapeurs thermales. Cette action respectivement indirecte et directe pourrait tendre à déplacer la balance oxydative dans le bon sens et diminuer le

stress oxydatif à l'origine de la mort cellulaire. Ainsi, elle soulage indéniablement les maux liés aux affections chroniques mais peut aussi prétendre à ralentir significativement l'évolution inéluctable des pathologies liées au vieillissement.

Bibliographie

1. Amar C. *Radicaux libres, Superoxyde Dismutase et Maladies neurodégénératives*. Thèse Faculté médecine université Montpellier. I juin 1996.
 - [1.1] Emerit et coll. Les radicaux libres en médecine et en biologie. *Sem Hôp* 1982;58,45:2670-2675.
 - [1.2] Harman D. Role of free radicals in Aging and Disease. *Annals New York Academy of Sciences* 1988:126-136.
 - [1.3] Dormandy TL. Une approche des radicaux libres. *Lancet* 1983;8357,2:1010-1014.
 - [1.4] Michelson AM. Oxygen radicals. *Agents Actions* (suppl.) 1982; 11:179-201.
 - [1.5] Perret et Coll. Mécanismes cellulaires de la protection contre la toxicité de l'oxygène. *Arch Fr Pédiatr* 1983;40:585-595.
 - [1.6] Bulkey GB. The role of oxygen free radicals in Human Disease process. *Surgery* 1983;94,3:407-411.
 - [1.7] Rao et Coll. Lipid peroxydation and acute myocardial ischemia. *Adv Exp Med Biol* 1983;16:347-363.
 - [1.8] Gardner et Coll. Reduction of myocardial ischemic injury with oxygen derived free radical scavengers. *Surgery* 1983;94,3:423-427.
 - [1.9] Mc Cord and Coll. The pathophysiology of superoxide : Roles in inflammation and ischemia. *Can J Physio Pharmacol* 1982;60:1346-1352.
 - [1.10] Ward J. Free radicals, antioxydants and preventive geriatrics. *Australian Family Physician* 1994;23,7.
 - [1.11] Johnson FC. Carcinogenesis, vascular disease, and free radical reaction. *Nutrition and cancer* 1982;3:117-121.
 - [1.12] Harrison et Coll. Radical acetoacetate oxidation by myeloperoxidase, lactoperoxidase, prostaglandin synthetase, and prostacyclin synthetase : Implication for atherosclerosis. *Biochemical Medicine* 1983;29:149-163.
 - [1.13] Matkovic et Coll. The effects of diabetes on the activities of the peroxide metabolism enzymes. *Horms Metabol Res* 1982;14:77-79.
 - [1.14] Nishigaki et Coll. Lipid peroxide levels of serum lipoprotein fractions of diabetic patients. *Biochemical medicine* 1981;25:373-378.
 - [1.15] Metz SA. Altered arachidonic Acid synthesis and Lipid peroxidation in diabetes Mellitus: Possible roles in leukocyte dysfunction and other cellular defects. *Medical Hypothesis* 1983;12:341-357.
 - [1.16] Murata et Coll. Lipid peroxidation in diabetic rat retina. *Metabolic and Pediatric ophthalmology* 1981;5:83-87.
 - [1.17] Bhuyan et Coll. Molecular mechanism of oxygen as initiators of lipid peroxidation and cataract. *Current Eye Research* 1984;3,1:67-81.

- [1.18] Dykens JA. Isolated Cerebral and Cerebellar Mitochondria produce free radicals when exposed to elevated Ca^{+} and Na^{+} : implications for Neuro-degeneration. *Journal of neurochemistry* 1994;63,2.
- [1.19] Oliver et Coll. Oxidative damage in brain proteins, loss of glutamine synthetase activity, and production of free radicals during ischemia/reperfusion-induced injury to gerbil brain. *Proc Natl Acad Sci* 1990;87:5144-5147.
- [1.20] Choi et Coll. Glutamate neurotoxicity and disease of the nervous system. *Neuron* 1988;1:623-634.
- [1.21] Beal et Coll. Role of excitotoxicity in neurological diseases. *Curr Opin Neurobiol* 1992;2:657-662.
- [1.22] Coyle et Coll. Oxidative stress, glutamate and neurodegenerative disorders. *Science* 1993;262: 689-695.
- [1.23] Miyamoto et Coll. Antioxydant protect against glutamate-induced excitotoxicity in a neuronal cell line. *J Pharmacol Exp Ther* 1989;250:1132-1140.
- [1.24] Lafon-Cazal et Coll. NMDA-dependant superoxide production and neurotoxicity. *Nature* 1993;364:534-537.
- [1.25] Mei et Coll. Attenuation of NMDA-mediated increases in cytosolic Calcium by nitric oxide synthase inhibitors. *FA-SEBJ* 1993;7,A 636.
- [1.26] Murphy M. The molecular pathogenesis of Alzheimer's disease : clinical prospects. *Lancet* 1992;340:Dec.19/26.
- [1.27] Grenmayre et Coll. Excitatory aminoacids and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 1989;10:593-602.
- [1.28] Gibson et Coll. Calcium and the aging nervous system. *Neurobiol Aging* 1987;8:329-343.
- [1.29] Gibson et Coll. *Alterations in neurotransmitter metabolism and Calcium homeostasis during aging and Alzheimer's disease*. In Molecular Neuropathology of Aging. P Daires and C.E.Finch (eds) Banbury Reports, 1987;27:89-96.
- [1.30] Lamour. Maladie d'Alzheimer, où va la recherche ? *Abstract Neuro and Psy* 1994;122.Oct/Nov.
- [1.31] Delacourte A. Les bases physiopathologiques de la maladie d'Alzheimer. *Thérapie* 1993;48:177-183.
- [1.32] Blass et Coll. The role of oxidative abnormalities in the pathophysiology of Alzheimer disease. *Rev Neurol* 1991;147,6-7:513-525.
- [1.33] Baudier et Coll. Phosphorylation of tau proteins to a state like that in Alzheimer's brain is catalysed by a calcium/calmoduline dependant kinase and modulated by phospholipids. *J Biol Chem* 1987;262: 17577-17583.
- [1.34] Baudier et Coll. Separation of the different microtubule-associated tau protein species from bovine brain and their mode II phosphorylation by Ca^{2+} /phospholipid-dependant protein kinase C. *J Biol Chem* 1987;262:17584-17590.
- [1.35] Behl et Coll. Hydrogen Peroxide Mediates Amyloid Béta Protein Toxicity. *Cell* 1994;77:817-827.
- [1.36] Wolters et Coll. Relationship between Parkinson's disease and aging : facts and research in gerontology 1995:255-265.

- [1.37] Chiueh et Coll. *In vivo* generation of hydroxyl radicals and MPTP-induced Dopaminergic Toxicity in the Basal Ganglia. *Annals New York Academy of Science* 1994;25-34.
- [1.38] Wu et Coll.1993. Antioxidant Mechanism and Protection of Nigral Neurons against MPP+toxicity by Deprenyl (Selegiline). *Annals New York Academy of Sciences* 1994;214-218.
- [1.39] Schapira et Coll. 1990. Mitochondrial Complex I deficiency in Parkinson's disease. *J Neurochem*1990,54:823-827.
- [1.40] Dexter et Coll. Lipid Peroxidation as a cause of nigral cell death in Parkinson's disease. *Lancet* 1986,2:639-640.
- [1.41] Friedlich et Coll.1994. Involvement of free radicals in beta-Amyloidosis : An hypothesis. *Neurobiology of aging* 1994;15,4:443-445.
2. Haiech J et coll. Les protéines de liaison du calcium peuvent-elles être des cibles de nouveaux médicaments ? *M/S* décembre 2006;12,22. Équipe Chimio-génomique et Pharmacogénomique UMR7175 CNRS Strasbourg.
 3. Weiss N. et coll. Les canaux calciques dépendants du voltage au cœur de la douleur. *M/S* 2006;22,4:396-404.
 4. Ermak G et coll. Le calcium et le stress oxydatif : à partir de la signalisation cellulaire à la mort cellulaire. *Mol Immunol* 2002Feb;38,10:713-21. University Southern California.
 5. Rosenstock TR et coll. Mitochondrial calcium, oxidative stress and apoptosis in a neurodegenerative disease model induced by 3-nitropropionic acid. *Journal of Neurochemistry* 2004;88,5:1220-1228.
 6. Wahl MA et coll. Oxidative stress causes depolarization and calcium uptake in the rat insulinoma cell RINm5F. *Experimental and clinical endocrinology & diabetes* 1998;106,3:173-177.
 7. Dolmetsh RE et coll. Differential activation of transcription factors induced by calcium response amplitude and duration. *Nature* 1997,386:855-858. Les champs électromagnétiques et la membrane cellulaire. Action sur les ions calcium : PARKER D. 1974.
 8. Consoli SM. Événements de vie, stress quotidien et maladies auto-immunes. *Unités Médico-Psychologiques, Hôpital Broussais Paris* (cf. réf.)
 9. Afonso V et coll. *Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases : rôle dans les maladies rhumatismales*. 9 May 2006/ Inserm U606/IFR -139 et université Paris-VII.S.D.
 10. Walwadkar et coll. Oxidative stress and calcium-phosphorus levels in rheumatoid arthritis. *Indian Journal of Clinical Biochemistry* 2006;21,2:134-137.
 11. Bruckbauer A et coll. Dietary Calcium and Dairy Modulation of oxidative stress. Mortality in aP2-Agouti and Wild-type Mice. *Nutrients* 2009,1:50-70.
 12. Bostick R. Vitamine D/Calcium and oxidative Stress and Inflammation Biomarkers 2009. *Food Science and Technology*. National Center Institute 20 Feb 2009-31 Jan 2011.
 13. Dupire J. Le plancton de Molitg-les-Bains : actions anti-inflammatoire, anti-oxydante et cicatrisante dans la dermatite atopique. *Press Therm Climat* 2008;145:143-153.
 14. Toussaint C et coll. Rôle d'une eau sulfatée calcique et magnésienne sur l'élimination du cholestérol chez le rat. *Archives of physiology and biochemistry* September 1988,96:89-100.

15. Bordat P et coll. Eau thermale d'Avène et dynamique du calcium intracellulaire. *Bull Soc Pharm Bordeaux* 2000,139:21-44.
16. Bordat P et coll. Régulation du calcium intracellulaire dans le kératinocyte. *Bull Soc Pharm Bordeaux*, 2003,142:7-24.
17. Dubois O, Salamon R. Comparatif crénothérapie *versus* Déroxat. Inserm, synthèse presse 18 janvier 2008;Cneth.
18. Forestier R et coll. Spa therapy and treatment of knee osteoarthritis, a large randomised multicentre trial. *Ann Rheum Dis* 2009, Sept 3.
19. *Lancet* 2003;362:1389-1400.
20. *Journal of National Cancer Institute* 2000;92:1753-1763/ 2003;95:237-241.