



Production et élimination des radicaux libres : les tests cellulaires

Vincent Rincheval, Bernard Mignotte

► To cite this version:

Vincent Rincheval, Bernard Mignotte. Production et élimination des radicaux libres : les tests cellulaires. Expression Cosmétique, 2010. hal-02977725

HAL Id: hal-02977725

<https://hal.uvsq.fr/hal-02977725>

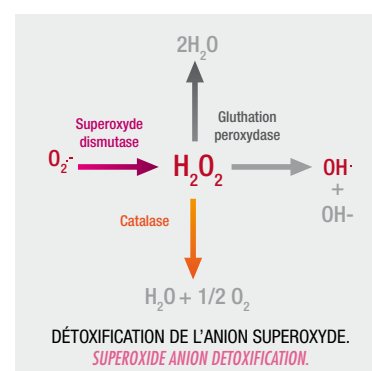
Submitted on 26 Oct 2020

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

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

Le focus recherche de la Production et élimination des radicaux

Les radicaux libres sont maintenant bien connus du grand public et constituent une cible privilégiée de la lutte anti-âge. L'équipe du Pr Bernard Mignotte à l'Université de Versailles-St Quentin (UVSQ) développe de nouveaux tests permettant de mesurer le niveau de stress oxydant subi par les cellules et leur capacité à y faire face.



La plupart des radicaux libres produits dans notre organisme proviennent de notre métabolisme, indispensable à la vie. D'autres, au contraire, sont liés à l'environnement, et notamment aux effets du soleil. Ces molécules ont une influence déterminante sur l'espérance de vie des individus, depuis les organismes les plus simples jusqu'aux êtres humains. Fort heureusement, nos cellules ont développé des systèmes de défense efficaces qui nous permettent de résister à leurs assauts incessants. De plus, de nombreux projets de recherche visent à renforcer nos défenses naturelles, notamment en cosmétologie pour nous permettre de nous protéger des effets délétères du soleil.

Les radicaux libres font partie d'une famille de molécules que l'on appelle plus largement les Espèces Activées de l'Oxygène (EAO). Les EAO possèdent un ou plusieurs électrons non appariés capables de générer un stress, appelé stress oxydant, qui conduit à l'endommagement de la quasi-totalité des constituants cellulaires. Parmi les EAO produites par le métabolisme, on trouve l'anion superoxyde (de formule chimique O_2^-), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), le radical hydroxyle ($OH\cdot$) et bien d'autres encore. L'anion superoxyde est une des EAO majoritaires produites dans la cellule. Son apparition résulte de la rencontre de dioxygène (O_2) et d'électrons, par exemple libérés au cours des processus de respiration cellulaire. L'anion superoxyde peut être converti en H_2O_2 par une

Cosmetic Valley libres : les tests cellulaires

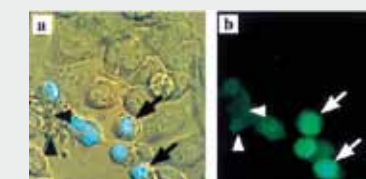
COSMETIC VALLEY
FRANCE



enzyme appelée superoxyde dismutase (SOD) (Fig. 1). Deux autres enzymes appelées catalase (CAT) et glutathion peroxydase (GPX) permettent ensuite de détoxifier la cellule par conversion de H_2O_2 en deux molécules inoffensives (H_2O et O_2). Si les enzymes GPX et CAT ne fonctionnent pas, H_2O_2 peut être converti en $OH\cdot$, une des EAO les plus réactives qui soient. L'activité des enzymes SOD, CAT et GPX est donc globalement nécessaire pour contrecarrer l'apparition des radicaux libres les plus dangereux.

► Méthodes de caractérisation et de mesure des EAO

Afin de caractériser les EAO et la capacité des cellules à les éliminer, de nombreux tests ont été mis au point au Laboratoire de Génétique et Biologie Cellulaire (LGBC) à Versailles. Ces tests sont réalisés sur des cultures de cellules humaines ou sur des extraits de tissus et reposent pour la plupart sur des mesures d'absorption (colorimétrie) ou d'émission de lumière (bioluminescence, fluorescence). Ces techniques permettent de mesurer les différentes EAO en présence, leurs quantités respectives, ainsi que les activités enzymatiques susceptibles de les éliminer. Les méthodes colorimétriques sont principalement utilisées pour mesurer l'activité des enzymes importantes pour la détoxification des EAO (SOD, CAT, GPX). Elles sont particulièrement intéressantes pour étudier l'effet de molécules antioxydantes qui agissent en stimulant les défenses



DÉTECTION D'UNE SURPRODUCTION DE H_2O_2 PAR FLUORESCENCE DANS DES CELLULES STRESSÉES.
 H_2O_2 OVERPRODUCTION DETECTION IN CELLS UNDERGOING OXIDATIVE STRESS VIA FLUORESCENCE.

naturelles des cellules. La bioluminescence et l'émission de fluorescence servent quant à elles à quantifier les différentes EAO. Ces dernières méthodes ont un intérêt double car elles permettent à la fois de mettre en évidence l'impact d'un stress sur des cellules ou un tissu et la capacité qu'auraient des antioxydants à diminuer ou neutraliser l'effet de ce stress. Dans le cas de mesures de lumière fluorescente, les signaux sont quantifiés par cytométrie ou visualisés par microscopie à fluorescence (Fig. 2a : les noyaux de cellules stressées sont colorés en bleu (dapi) ; 2b : visualisation d'une surproduction de H_2O_2 par fluorescence).

Vincent Rincheval et Bernard Mignotte,
Laboratoire de Génétique et Biologie Cellulaire (LGBC)
Université de Versailles - St Quentin (UVSQ)

Free radical production and elimination:

Nowadays, free radicals are well-known to the wide public and represent a privileged target in the fight against aging. Pr. Bernard Mignotte's team from the University of Versailles - St Quentin (UVSQ) is currently developing tests for the measurement of oxidative stress undergone by cells and their ability to withstand it.

Most of the free radicals produced in our body are part of our metabolism, which is essential for life. On the other hand, other free radicals are generated by the environment and mainly by the effects exerted by sun. These molecules have a crucial influence on the life

expectancy of individuals, from the simplest organisms and up to the human beings. Fortunately, our cells have developed efficient defense systems enabling us to withstand their continuous attacks. Moreover, several research projects focus on reinforcing our natural defenses, especially in the field of cosmetology, so as to help us protect ourselves from the harmful effects of sun. Free radicals belong to a family of molecules widely known as Active Oxygen Species (AOS). AOS include one or several unpaired electrons that can generate a type of stress called oxidative stress, which can damage most cellular components. Superoxide anion (with the chemical formula O_2^-), hydrogen peroxide (H_2O_2), hydroxyl radical ($OH\cdot$) and other AOS range among the free radicals occurring during our metabolism. Superoxide anion is one of the main AOS produced at cell level. It is generated by the contact of oxygen (O_2) with the electrons released during the cell breathing process. Superoxide anion can be converted by an enzyme called superoxide dismutase (SOD) into H_2O_2 (Fig. 1). After this, two other enzymes called catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX) enable cell detoxification by converting H_2O_2 into two innocuous

cellular tests

molecules (H_2O and O_2). If GPX and CAT enzymes do not function, H_2O_2 can be converted into $OH\cdot$, which is one of the most reactive AOS. The activity of SOD, CAT and GPX enzymes is therefore essential to prevent the development of the most dangerous free radicals.

► AOS characterization and measurement methods

A large number of tests have been developed at the Genetics and Cellular Biology Laboratory (LGBC) in Versailles in order to characterize the AOS and the cell capacity to eliminate them. These tests are performed on human cell cultures or on samples of tissues by measuring the absorption (colorimetric method) or the emission of light (bioluminescence, fluorescence). These techniques enable the measurement of the various present AOS, their amount as well as the enzymatic activities that might eliminate them. Colorimetric methods are mainly used to measure the activity of the enzymes that can influence AOS (SOD, CAT, GPX) detoxification. These methods

are also relevant for the study of antioxidant molecules that react by stimulating natural cell defenses. As for bioluminescence and fluorescence emission, they are used in the quantification of various AOS. These methods have a double interest as they help highlight both the impact of the oxidative stress exerted on cells or tissues and the antioxidant capacity to mitigate or neutralize the effects of this stress. In the case of fluorescent light measurements, the signals are quantified through cytometry or visualized via fluorescence microscopy (Fig. 2a: the nucleus of cells undergoing oxidative stress is colored in blue (dapi); 2b: visualization of H_2O_2 overproduction via fluorescence).

Vincent Rincheval et Bernard Mignotte,
Genetics and Cellular Biology Laboratory (LGBC)
University of Versailles - St Quentin (UVSQ)

Christophe MASSON
Cosmetic Valley/Manager Recherche et Innovation
Research and Innovation Manager
cmasson@cosmetic-valley.com

Les acteurs majeurs de l'innovation cosmétique sont aujourd'hui regroupés au sein de la Cosmetic Valley, The major cosmetics innovation players have joined their forces under Cosmetic Valley, the competitiveness

cluster that extends over 3 French areas: the Paris Region, Centre, Ile-de-France and Upper Normandy (Haute-Normandie).