

**UNIVERSITE DE NANTES**

**FACULTE DE MEDECINE**

Année 2006

N°19

**THESE**

Pour  
l'obtention  
du

Diplôme d'Etat de Docteur en Médecine

Qualification en Médecine Générale

Par

**Mr HELYE Jean-Philippe**

Présentée et soutenue publiquement le 23 Mai 2006

**Anti-oxydants et Vieillessement :  
Intérêt  
d'une supplémentation Alimentaire  
en Anti-oxydants  
pour Ralentir les Effets du Vieillessement**

Président : Monsieur le **Professeur RODAT**

# SOMMAIRE

<b>Partie A : Le Vieillissement, les Anti-oxydants naturels et les Radicaux libres ....</b>	<b>3</b>
<b>I/ Le Vieillissement .....</b>	<b>4</b>
<b>1/ Définition</b>	
<b>2/ Les différentes théories du vieillissement</b>	
<b>II/ Les Anti-oxydants naturels .....</b>	<b>5</b>
<b>1/ La Vitamine E.....</b>	<b>5</b>
<b>2/ La Vitamine C .....</b>	<b>7</b>
<b>3/ Les Caroténoïdes et Rétinoïdes .....</b>	<b>10</b>
<b>4/ Flavanoïdes et Polyphénols .....</b>	<b>14</b>
<b>5/ Les Tannins .....</b>	<b>16</b>
<b>III/ Les Radicaux libres .....</b>	<b>18</b>
<b>Partie B : Les Défenses Anti-oxydantes de l'organisme .....</b>	<b>24</b>
<b>Partie C : Essais de supplémentation Anti-oxydantes : Méthodes et Résultats .....</b>	<b>28</b>
<b>I/ Immunité et Anti-oxydants .....</b>	<b>29</b>
<b>II/ Pathologies Neuro-dégénératives et Anti-oxydants .....</b>	<b>32</b>
<b>III/ Pathologies Dégénératives Oculaires et Anti-oxydants .....</b>	<b>33</b>
<b>IV/ Espérance de vie et Anti-oxydants .....</b>	<b>34</b>
<b>V/ L'étude SU.VI.MAX .....</b>	<b>35</b>
<b>Conclusion .....</b>	<b>36</b>
<b>Références.....</b>	<b>38</b>

**PARTIE A :**  
**Le Vieillissement,**  
**les Anti-oxydants naturels**  
**et**  
**les Radicaux libres**

# **I/ Le Vieillissement**

## **1/ Définition du Vieillissement**

Le vieillissement des êtres vivants est un phénomène biologique universel dont le résultat final est leur mort inéluctable au terme d'une vie bornée par une « longévité maximale ».

Or pour la grande majorité des êtres vivants, des pathologies intercurrentes, viennent diminuer leur longévité ; D'où la notion de « longévité moyenne ».

Nous disposons d'une masse importante de données sur les modifications observées au cours du vieillissement.

Celles-ci peuvent prendre des aspects très polymorphes, touchant tous les niveaux d'organisation : organes, tissus, cellules, organelles. Mais un phénomène constant se retrouve : la déshydratation.

## **2/ Les Théories du Vieillissement**

Au-delà de l'aspect descriptif, deux théories, non exclusives l'une envers l'autre, tentent de venir expliquer le phénomène du vieillissement.

### **a/ La Théorie Génétique**

Le vieillissement et donc la longévité sont génétiquement programmés : théorie avancée initialement par Hayflick, qui le premier a montré que des cellules diploïdes humaines mises en culture mouraient après un certain nombre de multiplication.

### **b/ La Théorie Stochastique**

Le vieillissement est le résultat d'une succession d'évènements aléatoires, affectant tous les niveaux d'organisation cellulaire. Il peut s'agir :

- d'erreurs dans le transfert d'information génétique conduisant à la synthèse de protéines anormales.
- d'un déséquilibre croissant entre les systèmes producteurs et protecteurs d'espèces radicalaires (2), conduisant à des microlésions des différentes macromolécules cellulaires.

#### **➤ La théorie radicalaire du vieillissement**

Harman en 1956, énonce cette théorie : la respiration aérobie est la cause d'accumulation de dommages oxydatifs responsables du vieillissement puis de la mort.

Ses arguments sont basés sur le parallèle biologique entre les anomalies rencontrées lors du vieillissement normal et celles provoquées par des radiations ionisantes, à savoir, induction de mutations, initiation de cancer, dommages cellulaires ... (1,2).

D'autre part, la radiolyse de l'eau est connue pour produire le radical hydroxyl (3) et un grand nombre d'expériences utilisant la RMN ont identifié la présence du radical hydroxyl au sein du vivant (4).

Devant ces constatations, Harman pose l'hypothèse que comme des radicaux oxygénés étaient produits in vivo, alors devaient exister des enzymes présentant une activité redox. Il s'était même avancé jusqu'à prévoir qu'il s'agirait probablement d'enzymes utilisant des ions métalliques comme coenzymes, par analogie à la chimie in vitro des polymères.

L'ensemble de ses prédictions fut confirmé durant les 40 années suivantes.

Les étapes marquantes furent :

- l'identification de la superoxyde dismutase en 1969 (5)
- la constatation d'une relation inverse entre la consommation d'oxygène par gramme de tissu et l'espérance de vie maximale des différentes espèces animales (MLSP : maximum life span potential)
- la notion de LEP (life energy potential) produit de MLSP par le taux métabolique spécifique d'une espèce, qui est grossièrement constant pour l'ensemble des espèces animales.

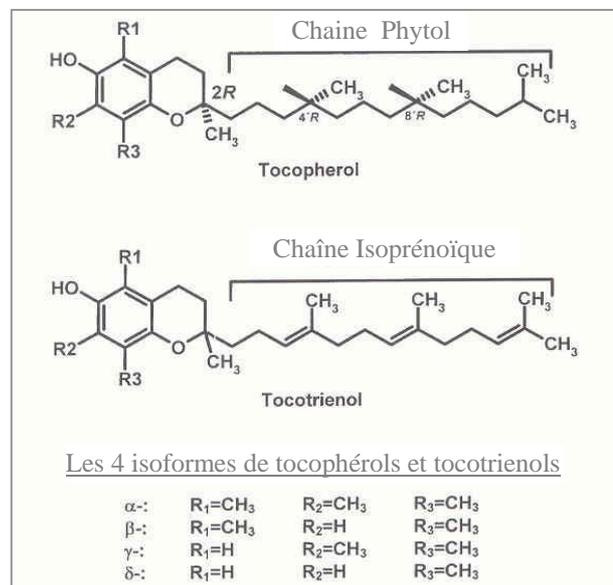
## II/ Les Anti-oxydants naturels

### 1/ La vitamine E

#### **a/ Définition**

Mise en évidence en 1922 par Evans et Bishop comme un micronutriment essentiel à la reproduction, la vitamine E est un groupe de 8 substances liposolubles, 4 tocophérols ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  et  $\delta$ ) et 4 tocotriénols (également appelé  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  et  $\delta$ ). Mais dans l'organisme, l' $\alpha$ -tocophérol est la forme la plus abondante et la plus active, d'où son assimilation, le plus souvent, à la vitamine E.

La structure de base est un para diphénol diversement substitué et une chaîne latérale isoprénoïque en C20 (pour les tocophérols elle est dérivée du phytol, alcool gras à 20 carbones).



Structure des différentes vitamines E

La structure tridimensionnelle, du fait de l'existence de 3 centres chiraux en position C2, C4' et C8' peut donner lieu à 8 stéréo isomères. Mais dans la nature seule la forme RRR existe ; alors que la synthèse chimique donne un mélange racémique avec les 8 stéréo isomères en quantité équivalente (RRR, SRR, RSR, RRS, SSR, SRS, RSS, SSS).

## **b/ Biodisponibilité**

La vitamine E ne peut pas être synthétisée par l'organisme, et donc provient uniquement de notre alimentation.

Les aliments les plus riches sont les germes de céréales, les huiles végétales et les poissons gras.

Son absorption se fait au niveau de l'intestin grêle, où elle est sécrétée dans la lymphe via les chylomicrons, accompagnée des acides gras libres et des monoacylglycérols. Puis des chylomicrons, le tocophérol est transféré vers les lipoprotéines de haute densité (HDL) en compagnie de l'apolipoprotéine C, du cholestérol et des phospholipides en échange de l'apolipoprotéine E (qui va permettre la clairance rapide des particules résiduelles de chylomicron du plasma au niveau du foie grâce à des récepteurs spécifiques de l'apolipoprotéine E). La vitamine E, stockée au niveau du foie, est sécrétée dans le plasma au sein des lipoprotéines de très petite densité (VLDL) riches en triglycérides. Sous l'action de lipoprotéine lipase, les VLDL sont hydrolysées et libèrent des acides gras aux tissus ainsi que la vitamine E, le reste se retrouvant dans les LDL. Ainsi la majeure partie de la vitamine E plasmatique se trouve au sein des LDL. A partir de celles-ci, une autre voie d'apport de Vitamine E existe via les récepteurs cellulaires au LDL. La libération par le foie de la vitamine E dans le plasma est sous le contrôle d'une protéine de transfert : la protéine de Transfert Cytosolique de l' $\alpha$ -Tocophérol ( $\alpha$ -TTP). Cette protéine présente une affinité particulière pour l' $\alpha$ -tocophérol sous sa forme RRR- ou 2R-. Elle joue donc un rôle essentiel pour le maintien du taux plasmatique de la vitamine E (6,7). L'excès d' $\alpha$ -Tocophérol, en cas d'apport massif, ainsi que les autres formes de tocophérol et tocotriénol sont éliminées via le système biliaire.

L'existence de protéines cytosoliques liées à la vitamine E a été récemment mise en évidence, leurs fonctions ne sont pas toute connues. L'une d'elle appelée Cytosolic Tocopherol Associated Protein (TAP) semble jouer un rôle dans l'expression de gènes vitamine E-induits en participant à la translocation nucléaire et à l'activation de la transcription (8, 9, 10).

Au niveau de l'organisme, les plus grandes quantités se retrouvent au niveau du foie, du tissu adipeux, des surrénales et du muscle squelettique, mais on en trouve au sein de tous les tissus. Une carence en vitamine E, provoque chez l'adulte des troubles de la fertilité, et lors de l'embryogenèse, encéphalomalacie et dystrophie musculaire.

## **c/ Effet antioxydant**

Son activité antioxydante a été mise en évidence la première fois par OLCOTT en 1937.

Du fait de sa liposolubilité, la vitamine E se retrouve principalement au sein de la bicouche lipidique des membranes. A ce niveau son action principale est de casser la chaîne de peroxydation lipidique. Ceci est dû à deux propriétés vis à vis des acides gras poly insaturés :

- une plus grande propension à donner un hydrogène
- la moins grande réactivité du radical tocophéroxyle, qui réagira plus facilement avec un autre radical libre pour donner un produit non radicalaire, qu'avec un acide gras poly insaturé.

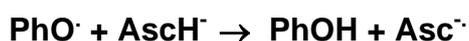
Cependant, dans certaines conditions, la vitamine E (PhOH) peut avoir un rôle pro oxydant. C'est le cas en présence de fer ferrique ou si le radical tocophéroxyle (PhO $\cdot$ ) ne trouve que des acides gras polyinsaturés pour réagir avec lui.



## d/ Turn-over et régénération

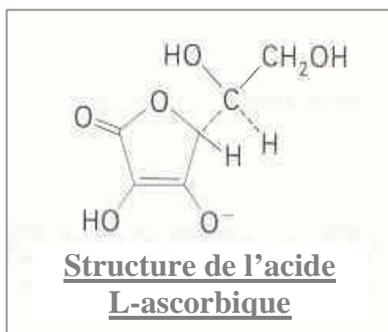
Pour éviter que la vitamine E ne devienne pro oxydante, l'organisme possède deux moyens :

- le renouvellement des stocks, c'est à dire l'approvisionnement des cellules en tocophérol réduit et l'élimination de la vitamine E oxydée, c'est ce que l'on appelle le turn-over de la vitamine E .
- la régénération de la vitamine E oxydée par d'autres antioxydants, tels que la vitamine C (ascorbate) et des ubiquinones comme le coenzyme Q.



Or le turn-over de la vitamine E n'est pas identique dans tous les organes. Il est rapide au niveau du foie, de la rate, des poumons, des reins, par contre il est lent au niveau du système nerveux central. Dans ce second cas, les mécanismes de régénération présentent une grande importance.

## 2/ La Vitamine C



### a/ Structure

La vitamine C, est un dérivé osidique simple, l'acide L-ascorbique.

Nous avons perdu la capacité de la synthétiser à partir du glucose, ainsi que la plupart des mammifères, lors de l'évolution à cause d'une mutation dans le gène codant pour la dernière enzyme de la voie de synthèse : la L-gulonolactone oxydase (11). Notre seule source est donc alimentaire.

Le nom chimique de l'acide L-ascorbique est : le 2,3 didéhydro-L-thréo-hexano-1,4-lactone. Le carbone 5 asymétrique, donne deux énantiomères possibles. La forme L est la forme retrouvée dans la nature ainsi que la forme active.

Il s'agit d'une  $\alpha$ -cétolactone à 6 carbones, hydrosoluble, possédant 2 fonctions énols positionnées en C2 et C3 (avec des pKa de 11,57 et 4,17 respectivement). Au pH physiologique plus de 99% de l'acide L-ascorbique est sous forme ionisée ou L-ascorbate.

Celui-ci, libère facilement un hydrogène pour produire une résonance stabilisatrice, donnant le radical L-ascorbyl.

Lorsque ce dernier, donne un second électron, il se forme l'acide L-déhydroascorbique ou L-déhydroascorbate.

Le radical L-ascorbyl et l'acide L-déhydroascorbique peuvent être recyclés par réduction enzymatique. Pour le radical L-ascorbyl, interviennent soit la semidéhydroascorbate réductase NADP-dépendante, soit la thiorédoxine réductase, une séléno-enzyme NADPH-

dépendante. Pour l'acide déhydroascorbique, la réduction fait intervenir la glutarédoxine, une enzyme glutathion-dépendante ou la thiorédoxine réductase.

En l'absence de recyclage, l'acide L-déhydroascorbique est hydrolysé de façon irréversible en acide 2,3-dicéto-L-gulonique qui ne présente pas de propriétés antioxydantes. La suite de la dégradation produit l'acide oxalique et l'acide L-thréonique. Les autres catabolites sont l'acide L-xylonique, l'acide L-hyxonique et le L-xylose.

Le terme de vitamine C est généralement utilisé pour décrire les composants présentant l'activité biologique de l'ascorbate, c'est-à-dire ascorbate et déhydroascorbate.

### **b/ Absorption intestinale**

L'absorption au niveau de l'intestin grêle semble se faire de façon active par des transporteurs d'ascorbate sodium dépendant présents au pôle apical des entérocytes. Par contre, le transfert au pôle basal des entérocytes reste inconnu (12).

L'absorption intestinale de l'acide déhydroascorbique est inconnue, mais existe car il présente une activité anti-scorbut, cependant plus faible que l'ascorbate (13).

Le glucose est connu comme étant un inhibiteur de l'absorption de l'ascorbate ou du déhydroascorbate (14).

La biodisponibilité de l'ascorbate est variable selon la dose apportée et diminue avec l'augmentation des doses ingérées : supérieure à 80% pour une dose inférieure à 100 mg, 78% pour 200 mg, 75% pour 500 mg et 62% pour 1 250 mg (15).

### **c/ Concentration plasmatique et tissulaire**

Les concentrations plasmatiques rencontrées dans la population générale varient de 11 à 90  $\mu\text{mol/L}$  et le déhydroascorbate reste indétectable, représentant moins de 2% de la vitamine C plasmatique. Une concentration inférieure à 11  $\mu\text{mol/L}$  correspond à une carence en vitamine C et entre 11 et 28  $\mu\text{mol/L}$  un taux limite (16).

La concentration tissulaire est variable selon la nature du tissu : importante dans les surrénales et l'hypophyse, très faible dans le foie, la rate, le pancréas, les cristallins, les reins et le cerveau (17).

### **d/ Excrétion**

Chez l'homme, la voie principale d'élimination de l'acide ascorbique et de ses métabolites est urinaire. L'acide ascorbique est filtré au niveau des glomérules puis réabsorbé activement grâce à des récepteurs membranaires sodium-dépendants au niveau du tubule proximal (17).

La réabsorption active, est saturable : la concentration plasmatique maximale en acide ascorbique est limitée par la capacité de réabsorption rénale. Ainsi le seuil de réabsorption rénale chez des sujets sains homme ou femme semble situé entre 60 et 100 mg/jour. Dans ces conditions, la majeure partie de la vitamine C absorbée au delà de 500 mg/jour est éliminée dans les urines dans les 24 heures qui suivent (18).

A noter que, chez les sujets sains, des doses expérimentales comprises entre 1 000 et 10 000 mg/jour augmentent l'excrétion urinaire d'oxalate, cependant ce phénomène ne concerne pas des apports normaux compris entre 20 et 60 mg/jour (19).

En ce qui concerne, l'acide déhydroascorbique, comme il n'est pas détectable dans le sérum, nous n'avons pas d'information sur son excrétion ou sa réabsorption.

## e/ Sources

Les aliments les plus riches sont les agrumes et le chou pendant l'hiver ; les fruits rouges, le poivron rouge, les radis et la salade au cours de l'été, et enfin pommes et bananes toute l'année.

## f/ Activité biologique

### ➤ Donneur d'électron

La vitamine C est connue pour être un donneur d'électron spécifique de 8 enzymes (11), dont le dysfonctionnement est en rapport avec les symptômes décrits au cours du scorbut.

Trois d'entre elles interviennent dans la synthèse du collagène, lors de l'hydroxylation post-traductionnelle, essentielle à l'obtention d'une hélice de collagène stable. Il s'agit de la proline hydroxylase, de la lysine hydroxylase et de la procollagène-proline 2-oxoglutarate 3-dioxygénase.

En cas de carence en vitamine C, leurs dysfonctionnements expliquent :

- la fragilité capillaire (pétéchies, ecchymoses, inflammation gingivale)
- le déchaussement dentaire
- les désordres au niveau des tissus osseux et conjonctif
- la mauvaise cicatrisation.

Les deux suivantes,  $\gamma$ -butyrobétaine 2-oxoglutarate 4-dioxygénase et triméthbutyllysine 2-oxoglutarate dioxygénase sont deux dioxygénases intervenant dans la synthèse de L-carnitine. Cette dernière intervient dans le transport actif des acides gras au niveau de la membrane mitochondriale, jouant un rôle critique dans la modulation du métabolisme énergétique (20).

Cliniquement en cas de scorbut, leur dysfonctionnement permet d'expliquer les symptômes de fatigabilité pouvant aller jusqu'à la léthargie.

Il y a ensuite, la dopamine- $\beta$ -monoxygénase qui catalyse la conversion de dopamine en norépinéphrine.

Son dysfonctionnement explique les symptômes neuropsychiatriques du scorbut (21) :

- dépression
- hypochondrie
- humeur changeante

Enfin, deux autres enzymes nécessitent la vitamine C comme cofacteur mais les relations pathogéniques avec la carence en cofacteur ne sont pas établies ; Il s'agit de la peptidyl glycine  $\alpha$ -amino monoxygénase qui intervient dans l'amidation des peptides et de la 4-hydroxy phénylpyruvate dioxygénase intervenant dans le métabolisme de la tyrosine (22).

La vitamine C intervient comme cofacteur non spécifique lors d'autres réactions :

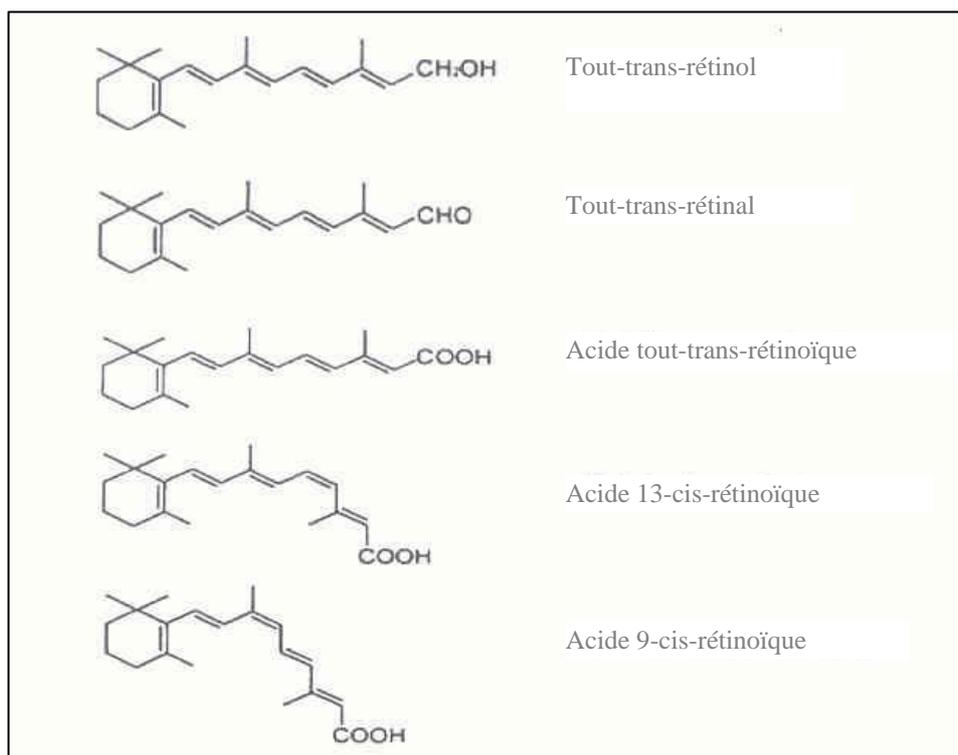
- cofacteur de la  $7\alpha$ -monoxygénase qui intervient dans le métabolisme des stéroïdes et des acides biliaires à partir du cholestérol (23).
- hydroxylation des xénobiotiques et carcinogènes par les cytochromes P450, dont le fonctionnement nécessite la présence d'un donneur d'électron (24).
- dans l'activité de la nitric oxyde synthétase endothéliale en maintenant son cofacteur tétrahydrobioptérine sous forme active réduite (25).

### ➤ **Activité antioxydante**

De nombreuses études ont montré que la vitamine C était un antioxydant idéal pour les systèmes biologiques pour plusieurs raisons. D'abord, la facilité de l'acide ascorbique pour libérer un électron le rend réactif avec l'ensemble des espèces réactives de l'oxygène rencontrées dans le vivant. D'autre part, la vitamine C se comporte comme un co-antioxydant en participant à la régénération de  $\alpha$ -tocophérol à partir du radical  $\alpha$ -tocophéroxyl (26). Enfin la faible réactivité du radical ascorbyl qui est formé lorsque l'ascorbate réagit avec un ROS est un autre avantage. En effet le radical ascorbyl n'est ni fortement oxydé ni fortement réduit et ne réagit que faiblement avec l'oxygène. Ainsi, cela laisse le temps à deux radicaux ascorbyl de réagir entre eux pour former ascorbate et déhydroascorbate. Ensuite, le radical ascorbyl et déhydroascorbate peuvent être détruits ou recyclés en ascorbate enzymatiquement.

### 3/ Les Caroténoïdes et Rétinoïdes

Les rétinoïdes correspondent à l'ensemble des molécules naturelles ou de synthèse dont la structure se rapproche de la vitamine A : tout-trans-rétinol.



#### Les principaux rétinoïdes de l'organisme humain

Le terme de vitamine A est souvent utilisé de façon générale pour regrouper l'ensemble des molécules possédant l'activité biologique du rétinol.

### **a/ Sources et mécanisme d'absorption**

Les rétinoïdes sont des micronutriments essentiels, car nous n'avons pas la possibilité de les synthétiser de novo : ainsi, ils viennent en totalité de l'alimentation. Il existe deux sources alimentaires :

- les caroténoïdes provitamine A, d'origine végétale
- les rétinoïdes déjà formés, d'origine animale, retrouvés dans la viande et les produits laitiers

Les caroténoïdes provitamine A, dont le plus important est le  $\beta$ -carotène sont absorbés tels quels par les entérocytes de la muqueuse de l'intestin grêle puis clivés par la carotène 15,15'-monoxygénase pour former deux rétinals qui sont alors réduits en rétinol par la rétinol réductase.

Les rétinoïdes d'origine animale sont en grande majorité sous forme de rétinol et d'esters de rétinol. Ces derniers correspondent à la forme de stockage. Le rétinol est absorbé sans transformation par les entérocytes. Pour les esters, ils sont hydrolysés soit de façon non spécifique au sein de la lumière intestinale par des enzymes pancréatiques telles la triglycéride lipase ou la cholestérol ester hydrolase, soit par des rétinol ester hydrolases présentes au niveau de la bordure en brosse des entérocytes. Le rétinol ainsi obtenu est alors absorbé.

Au sein de l'entérocyte, le rétinol se lie à CRBP<sub>II</sub> pour subir une estérification par la lécithine : rétinol acyltransférase. Les esters de rétinol ainsi obtenus s'intègrent dans les chylomicrons et sont excrétés dans le système lymphatique pour rejoindre la circulation générale via le système porte. Au niveau hépatique, 70% des esters de rétinol présents dans les chylomicrons sont captés avec probablement une nouvelle hydrolyse en rétinol et acide gras, mais le mécanisme précis et les enzymes impliquées dans le passage chylomicron vers les hépatocytes ne sont pas clairement établis. La partie non captée par le foie, est captée par les tissus périphériques notamment les yeux, les poumons, le tissu adipeux et la peau (27).

### **b/ Les différents rétinoïdes de l'organisme et leurs principales fonctions**

Les différents rétinoïdes présents dans l'organisme, proviennent d'une modification de la partie terminale de la chaîne carbonée du rétinol.

De façon quantitative, rétinol et esters de rétinol sont les plus abondants. Seul le tout-trans-rétinol correspond à la vitamine A. Les esters de rétinol correspondent aux formes de stockage. Les principaux sont formés à partir des acides palmitique, oléique, stéarique et linoléique (28,29).

Le rétinol n'a pas d'activité biologique proprement dite mais sert de précurseur au rétinol, obtenu par oxydation réversible dont l'isomère 11-cis rétinol est essentiel pour la vision.

Les membres de deux familles enzymatiques peuvent être impliqués dans cette oxydation : La famille SDR (déshydrogénase/réductase des alcools à chaîne courte) qui utilise comme substrat préférentiel le rétinol lié à CRBP<sub>I</sub> et la famille ADH (déshydrogénase des alcools à chaîne moyenne) qui utilise uniquement le rétinol libre.

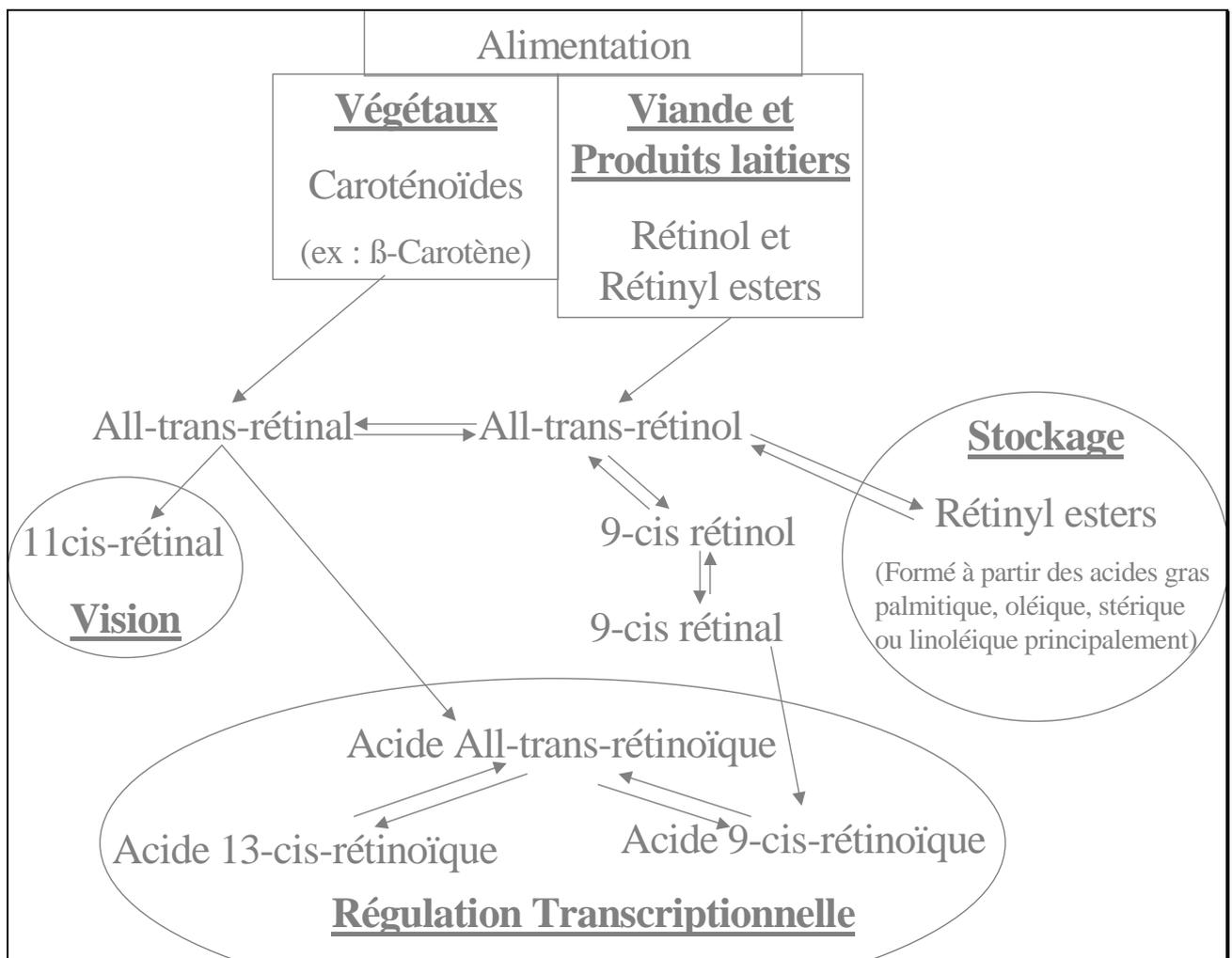
Au sein des autres organes, le rétinol ne présente pas d'activité biologique mais sert de précurseur aux acides rétinoïques. Les isomères tout-trans et 9-cis jouent un rôle dans la régulation de la transcription. La concentration tissulaire des acides rétinoïques, est très faible de l'ordre de 100 à 1 000 fois moins que le rétinol. L'acide tout-trans rétinoïque est formé par oxydation irréversible du tout-trans rétinol par une rétinol déshydrogénase (RALDH) dont 5

isotypes ont été référencés. L'isomérisation se fait ensuite de façon non enzymatique en 9-cis et 13-cis (29). Il est possible qu'une partie de l'acide 9-cis rétinoïque soit formée à partir du 9-cis rétinol par une double oxydation (faisant intervenir RALDH4) similaire à celle décrite pour l'isomère tout-trans (30,31).

Les acides rétinoïques sont formés en dehors du noyau, dans le cytosol, puis migrent vers celui-ci pour se fixer à leur récepteur spécifique. L'isomère 13-cis, bien que présent dans les tissus présente une activité transcriptionnelle beaucoup moins importante que les formes tout-trans et 9-cis (32).

Des variantes oxo- et hydroxy- du rétinol et des acides rétinoïques sont présentes dans l'organisme mais à des concentrations très faibles. Bien que certaines molécules présentent une activité biologique, elles correspondent à des formes du catabolisme et sont destinées à être éliminées.

Enfin, des formes rétro- et anhydro- peuvent être synthétisées par l'organisme. Elles semblent présenter une activité dans la régulation des fonctions immunitaires mais de mécanisme mal connu (33,34).



Relations et principales fonctions des différents rétinoïdes

### c/ Les protéines de transport des rétinoïdes

Au cours des différentes phases du métabolisme et catabolisme, les rétinoïdes sont liés à différentes protéines de transport spécifique, dont certaines ont été évoquées précédemment. Elles sont regroupées sous le terme de « Retinoid Binding Protein ». Comme décrit dans le tableau ci-dessous, elles se différencient par leur localisation intra ou extracellulaire, leur ligand préférentiel, leur distribution tissulaire.

Protéine	Ligands	Fonctions	Répartition tissulaire
<b>Extra-cellulaire</b>			
Retinol Binding Protein (RBP)	Rétinol	Mobilisation des stocks hépatiques et transport sanguin	foie tissu adipeux autres
Epididymal Retinoic Acid Binding Protein (ERABP)	Acide Rétinoïque	Transport intra-luminal au sein de l'épididyme	épididyme autres
Beta-Trace(Lipocalin-type Prostaglandin D Synthase)	Acide Rétinoïque	Transport au sein du liquide cébrospinal	cerveau
Interphotoreceptor Matrix Retinoid Binding Protein (IRBP)	Rétinol 11-cis rétinol	Protéine impliquée dans le cycle de la vision	œil (rétine)
Protéine	Ligands	Fonctions	Répartition tissulaire
<b>Intra-cellulaire</b>			
Cellular Retinal Binding Protein (CRALBP)	Rétinol 11-cis rétinol	Protéine impliquée dans le cycle de la vision	œil (rétine)
Cellular Retinol Binding Protein type I (CRBP I)	Rétinol Rétinol	Transport et métabolisme cellulaire des rétinoïdes	foie testicules rein poumon autres
Cellular Retinol Binding Protein type II (CRBP II)	Rétinol Rétinol	Fixation et transport du rétinol d'origine alimentaire au sein de la muqueuse intestinale	intestin grêle
Cellular Retinol Binding Protein type III (CRBP III)	Rétinol	Fixation, transport et métabolisme cellulaire du rétinol	cœur glande mammaire tissu adipeux
Cellular Retinol Binding Protein type IV (CRBP IV)	Rétinol	Fixation, transport et métabolisme cellulaire du rétinol	foie rein cœur autres
Cellular Retinoic acid Binding Protein type I ( CRABP I)	Acide rétinoïque ses métabolites	Transport et métabolisme de l'acide rétinoïque au sein de la cellule	ubiquitaire
Cellular Retinoic acid Binding Protein type II ( CRABP II)	Acide rétinoïque ses métabolites	Métabolisme de l'acide rétinoïque . Transfert vers le noyau cellulaire . participation à la transcription	peau utérus ovaires

Les principales protéines de transport des rétinoïdes (ref 35)

## 4/ Les Flavanoïdes

### **a/ Définition, structure, synthèse et origine**

Les flavanoïdes regroupent un large ensemble de composés phénoliques naturels distribués de façon quasi ubiquitaire dans le monde végétal.

Il s'agit de composés aromatiques, synthétisés par les plantes à partir des acides aminés aromatiques, phénylalanine et tyrosine, et d'unités acétate (36).

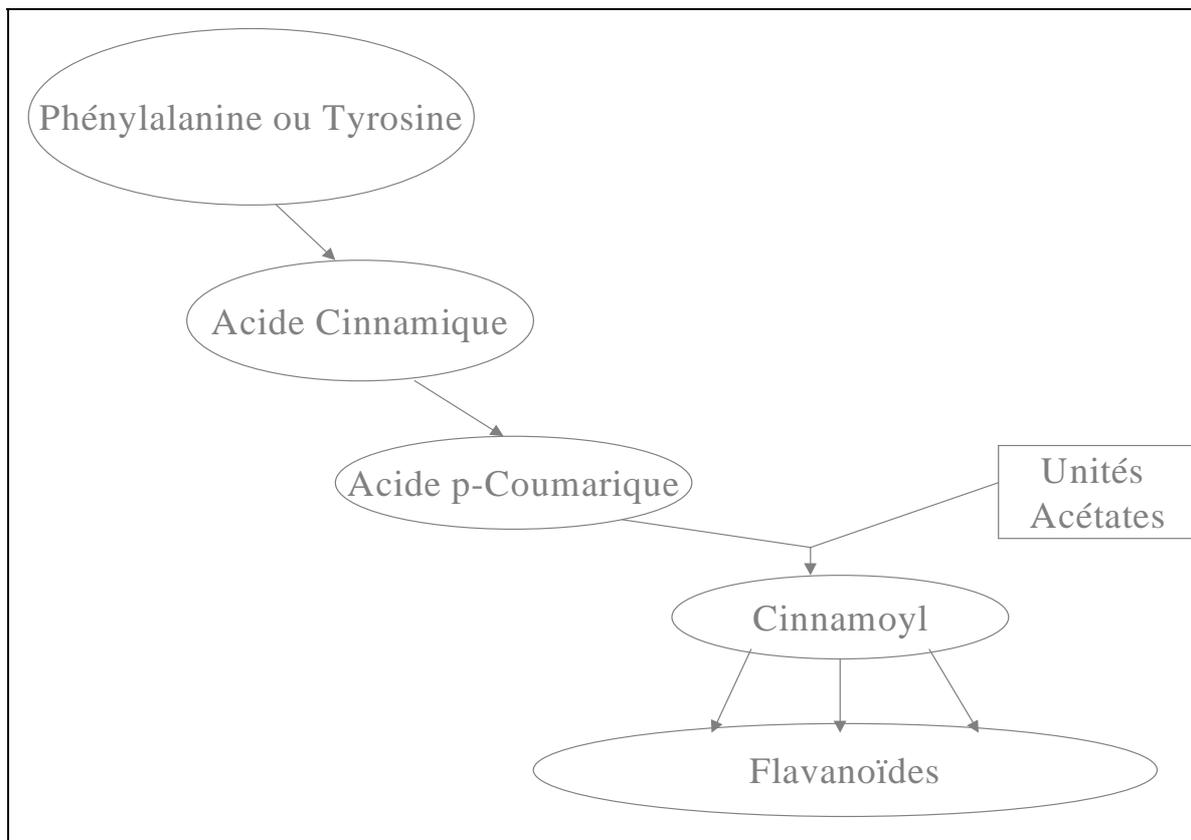


Schéma de la synthèse des Flavanoïdes à partir des acides aminés aromatiques

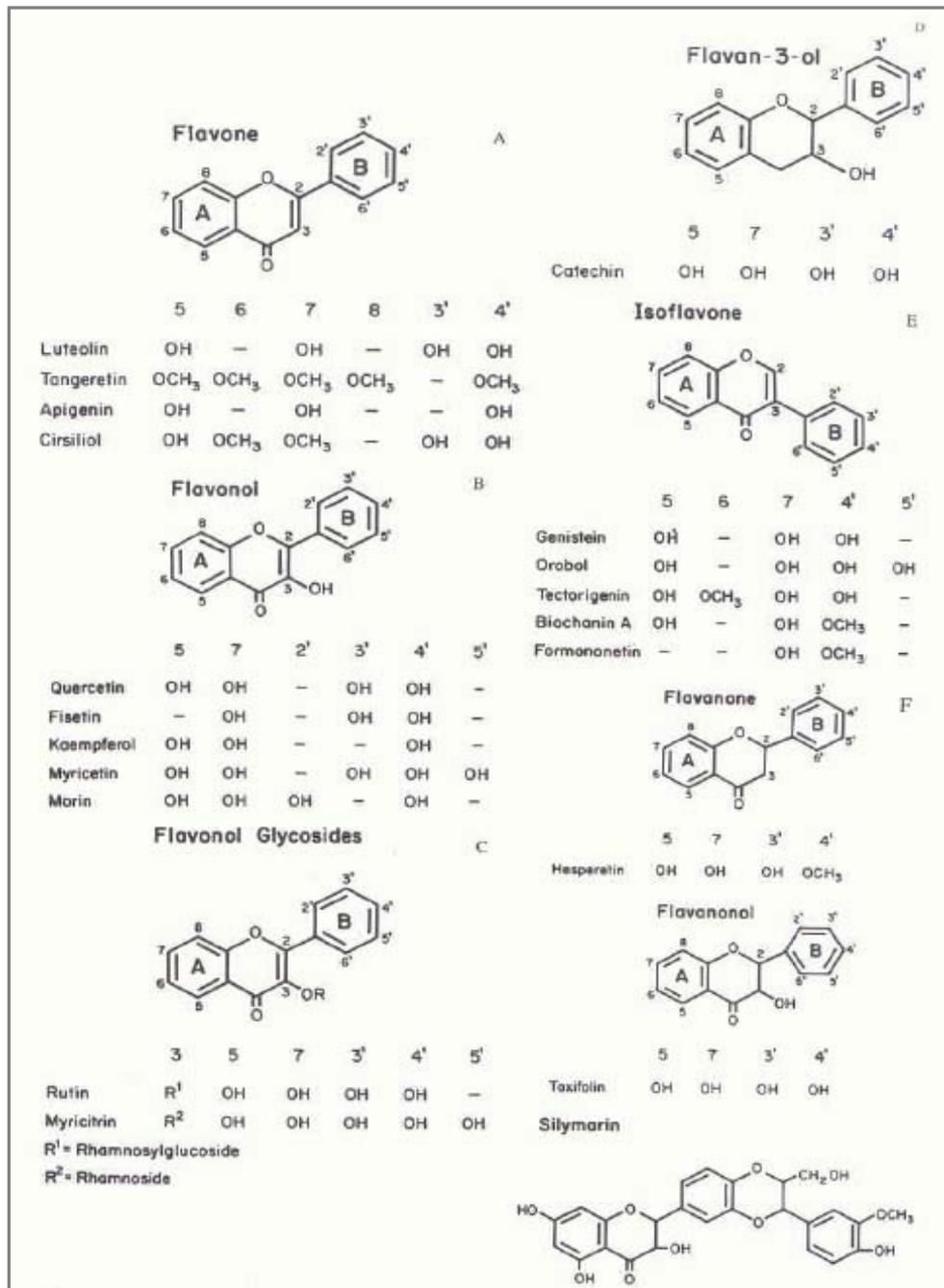
Concernant leur structure chimique, il s'agit de phénylchromones (benzo-pyrones). Le cycle pyrone est substitué la plupart du temps en position 2 par le radical phényl, sauf pour les isoflavones où la substitution se fait en position 3.

Au sein des plantes, on retrouve souvent une intrication de variation chimique dont les principales sont (36) :

- des dérivés glycosylés
- des dérivés conjugués avec des sulfates inorganiques
- des dérivés conjugués avec des acides organiques
- des dérivés conjugués avec l'acide malonique

Plus de 4 000 espèces chimiques ont été découvertes au sein du monde végétal. Ce chiffre correspond à une part minime du total car peu de plantes ont été totalement analysées en ce qui concerne leur composition en flavanoïdes.

Une classification a été établie, on retrouve dans le tableau ci-après les principales classes de flavanoïdes.



### Les principaux flavanoïdes connus

De ce fait notre exposition alimentaire aux flavanoïdes est loin d'être négligeable. Ainsi deux études l'une aux USA, l'autre au Royaume Unis, ont démontré une absorption moyenne de

1 gramme de flavanoïdes par jour. En comparaison avec les apports moyens en vitamine E ou en carotène, c'est une quantité considérable.

### **b/ Propriétés**

Du fait de leur structure, les flavanoïdes présentent un potentiel d'agent chélateur de métaux (fer et cuivre) et de piège de radicaux libres.

Des interactions avec la vitamine C ont été démontrées, permettant une stabilisation de la forme réduite, ainsi qu'une augmentation de son absorption (36).

Les flavanoïdes sont connus pour modifier l'activité d'un certain nombre d'enzymes, notamment (36) :

- la protéine kinase C
- la protéine tyrosine kinase
- l'aldose réductase
- la myéloperoxydase
- la NADPH oxydase
- la xanthine oxydase
- la phospholipase A2
- la phospholipase C
- la reverse transcriptase
- l'ornithine décarboxylase
- la sialidase
- l'oxydase cytochrome P450 dépendante
- l'époxyde hydrolase
- la glutathion-S-transférase
- l'aromatase.

Ils présentent donc un effet sur de multiples fonctions. Les études sur les mammifères, ont montré que différents flavanoïdes pouvaient altérer le fonctionnement des leucocytes, des plaquettes (action anti-inflammatoire) et de diverses cellules tumorales (action anti-tumorale et anti-métastatique) entre autres (36).

## **5/ Les Tanins**

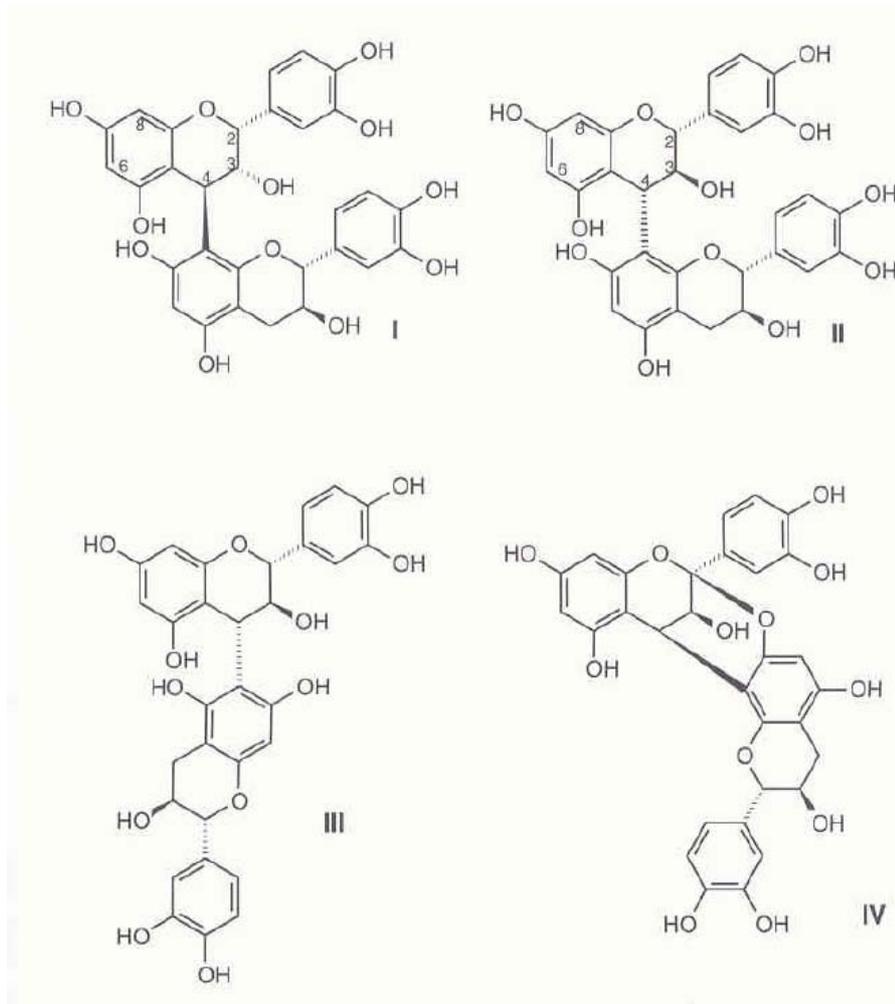
### **a/ Définition et structure**

Il s'agit de polymères de petite ou moyenne taille composés principalement de flavan-3-ols liés en 4-8 (type I et II). D'autres variations sont possibles, liés en 4-6 (type III) ou 4-6 et 2-O-7 (type IV).

Il existe trois niveaux de variation structurale :

- la taille avec le nombre d'unité flavan-3-ol pouvant aller du monomère jusqu'au polymère composé de 30 sous unités.
- les liaisons de polymérisation se faisant en 4-6 ou 4-8, peuvent créer un centre chiral en 4 venant s'ajouter à ceux existant déjà en 2 et 3.

- enfin, le groupe hydroxyl situé en 3 et plus occasionnellement ceux situés sur le cycle B peuvent être estérifiés par un acide gallique. Dans ce cas, les esters d'acide gallique ne dépassent pas en taille le trimère.



### Classification des tanins selon la liaison de polymérisation

Hormis la classification précédente, basée sur la liaison de polymérisation, d'autres ont été proposées :

- basée sur le nombre de sous unité avec trois groupes : monomère, dimère/trimère et oligomère de plus grande taille
- basée sur leur origine distinguant là encore trois groupes : issu du raisin, du thé et d'une autre origine.

### **b/ Source alimentaire**

Notre consommation de tannin est quantitativement importante. Ils sont présents dans de nombreuses graines (cacahuète, lentille, haricot rouge, millet ...), dans les condiments (persils, curcuma), dans tous les fruits et légumes et les fromages. Les boissons, vin, bière, cidre et thé en contiennent également de fortes quantités.

D'un point de vue qualitatif, la répartition n'est pas homogène.

Les monomères se retrouvent dans toutes les sources ci-dessus, les dimères dans la bière, le vin ou l'igname. Les polymères se retrouvent en quantité importante dans des fruits (kiwi, banane ou fruits rouges) ainsi que dans le vin ou le cidre ; à noter que les grands polymères se retrouvent dans ces deux derniers.

### **c/ Propriétés**

Chez les végétaux, ils jouent un rôle structural mais également de protection contre les agressions extérieures.

Pour nous, ils présentent une importante activité anti-oxydante de piègeur de radicaux libres. Diverses expérimentations in vitro ont montré que celle-ci était souvent supérieure à l'activité anti-oxydante de la vitamine E ou encore à celle du BHA ou BHT (37).

Cette activité de piègeur de radicaux libres, intervient pour protéger les aliments au sein de la lumière digestive, car hormis pour les monomères il n'existe pas d'absorption.

## **III/ Les radicaux libres**

Un certain nombre de radicaux libres, sont présents dans l'organisme, la plupart dérivés de l'oxygène (mais pas uniquement). On les regroupe sous le terme de ROS (espèces réactives de l'oxygène). Nous verrons, pour chacun d'eux, la structure, les modes de production principaux, les rôles physiologiques éventuels ainsi que les principaux effets pathologiques.

Ils peuvent être classés en deux groupes :

- les radicaux primaires issus directement de l'oxygène
- les radicaux secondaires issus de l'interaction des radicaux primaires avec une molécule organique.

Rappelons qu'un radical libre est une espèce chimique, d'une durée de vie courte de l'ordre de  $10^{-8}$  à  $10^{-10}$  secondes, chargée ou non, portant sur son orbitale externe un électron célibataire.

### **A/ Les radicaux primaires**

#### **1/ L'ion superoxide ( $O_2^{\cdot-}$ )**

Il s'agit du radical le plus abondamment produit dans l'organisme, et le point de départ des chaînes radicalaires.

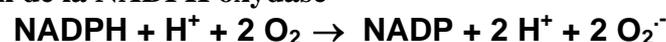
#### **a/ Synthèse**

Il est obtenu par le gain d'un électron par la molécule d'oxygène.

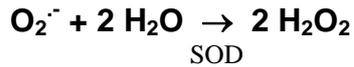


Ce gain d'électron se fait par mécanisme enzymatique :

#### **➤ Activation de la NADPH oxydase**



Cette réaction a lieu au sein des phagocytes lors de la production de peroxyde d'hydrogène ou d'hypochlorite, dont le pouvoir bactéricide est bien connu.



SOD : SuperoOxyde Dismutase

MPO : MyéloPerOxydase

### ➤ Réduction monoélectronique de O<sub>2</sub>

Au sein de la chaîne respiratoire mitochondriale ou lors des réactions d'hydroxylation faisant intervenir le cytochrome P450 ou lors de l'intervention de diverses oxydases ou bien encore lors du catabolisme de certaines molécules (catécholamine, flavines réduites). Dans ce cas la libération de l'anion superoxyde est due à une réduction incomplète de l'oxygène moléculaire.

### b/ Réactivité, rôles physiologiques, rôles pathologiques

S'il est le radical le plus produit de l'organisme, il n'est pas le plus réactif, ce qui autorise sa diffusion intracellulaire voire intercellulaire.

Physiologiquement il intervient :

- dans la défense non spécifique contre les virus et bactéries
- dans la régulation de la croissance cellulaire
- comme signal intercellulaire.

D'un point de vue pathologique, il intervient notamment dans la peroxydation lipidique des membranes, mais peut également interagir avec toutes les macromolécules cellulaires.

## 2/ Le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

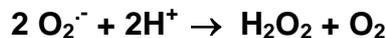
Il ne s'agit pas d'un radical libre mais d'un oxydant non radicalaire. Cependant étant donné son importance au sein des chaînes radicalaires, il paraît difficile de ne pas l'évoquer.

### a/ Synthèse

Les sources cellulaires de peroxyde d'hydrogène sont très nombreuses, il provient de réactions enzymatiques et non enzymatiques. Sa synthèse dans l'organisme se fait par :

#### ➤ Dismutation de l'anion superoxyde

Celle-ci peut être spontanée ou enzymatique (SOD).



Cette source existe notamment au sein de la chaîne respiratoire mitochondriale, mais également dans tous les sites cellulaires où l'anion superoxyde est produit :

- chaîne de transfert d'électron microsomale où un électron est transféré à O<sub>2</sub> par l'intermédiaire de la NADPH-cytochrome P450 réductase et de la NADH-cytochrome b5 réductase
- au sein des phagocytes grâce aux NADPH oxydases
- action de la xanthine oxydase

#### ➤ Réduction

Le transfert enzymatique de deux électrons à une molécule d'oxygène provoque la formation de  $H_2O_2$ . De nombreuses oxydases sont impliquées :

- urate oxydase
- acyl-coA oxydase
- L-gluconolactone oxydase
- monoamine oxydase

### **b/ Réactivité, élimination, rôles physiologiques**

Du fait de sa structure non radicalaire, le peroxyde d'hydrogène est très diffusible et peut donc provoquer des dégâts à distance de son lieu de synthèse.

L'élimination du peroxyde d'hydrogène se fait par réduction en deux molécules d'eau, faisant intervenir trois types d'enzyme :

- catalase
- myéloperoxydase
- glutathion peroxydase

Physiologiquement, le peroxyde d'hydrogène intervient comme second messager (voie NF- $\kappa$ B), ou lors de la synthèse des hormones thyroïdiennes.

## **3/ Le radical hydroxyle ( $OH^\cdot$ )**

### **a/ Synthèse**

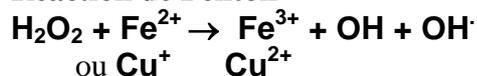
Sa synthèse se fait par deux voies:

➤ **Hydrolyse de l'eau**



Rayon  
ionisant

➤ **Réaction de Fenton**



### **b/ Réactivité**

Sa réactivité étant très importante (plusieurs milliers de fois celle de l'anion superoxyde), cela se traduit une très faible diffusion, et il provoque des dommages sur son lieu de synthèse en réagissant avec tous les types de macromolécules cellulaires.

## **4/ Monoxyde d'azote ( $NO^\cdot$ )**

### **a/ Synthèse**

Dans l'organisme, il est synthétisé par les cellules endothéliales vasculaires et les phagocytes, à partir de l'arginine grâce aux NO synthases.

Il intervient ensuite dans la synthèse d'autres radicaux, tels que l'anion peroxy-nitrite et sa transformation en dioxyde d'azote.



### b/ Rôles physiologiques

Au niveau physiologique, le monoxyde d'azote est impliqué:

- dans la vasodilatation
- dans la destruction des parasites par les macrophages
- comme second messenger cellulaire.

## B/ Les radicaux secondaires

Ils proviennent de l'interaction des radicaux libres primaires avec les molécules cellulaires, provoquant alors des anomalies de fonctionnement des organelles.

### 1/ La peroxydation lipidique membranaire

Elle se déroule selon trois phases :

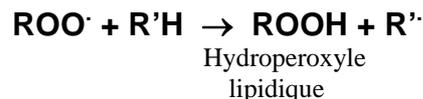
- **Initiation** : elle correspond à l'interaction d'un radical libre primaire avec un acide gras (poly)insaturé membranaire, conduisant à la naissance d'un radical alkyle, qui en interagissant avec l'oxygène moléculaire produit un radical peroxy.



Il convient de noter que si une molécule antioxydante (AH) interagit avec ces radicaux, il y a interruption de la chaîne de peroxydation lipidique.



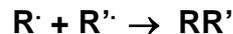
- **Propagation** : elle correspond à l'interaction d'un radical peroxy avec un acide gras insaturé voisin au sein de la membrane qui produit un hydroperoxyde lipidique et un radical alkyle .



Cette réaction peut se produire plusieurs fois, tant que le radical libre ainsi produit rencontre un acide gras insaturé.

- **Terminaison** : elle met fin à la propagation et se produit soit par l'intervention d'une molécule antioxydante comme décrit précédemment, soit par la rencontre de

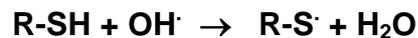
deux radicaux libres donnant un acide gras à plus longue chaîne et avec une insaturation en moins.



Les deux conséquences de la peroxydation lipidique sont les modifications de la viscosité et de la perméabilité membranaires altérant son fonctionnement.

## **2/ L'oxydation des protéines**

Elle correspond principalement à l'attaque du radical hydroxyle sur les fonctions thiols.



Or les fonctions thiols sont souvent impliquées dans les sites fonctionnels des protéines, d'où une perturbation du fonctionnement des protéines qui peuvent être des enzymes, des transporteurs, des canaux ou des facteurs de régulation...

## **3/ L'attaque de l'ADN**

Elle se produit principalement sur les bases guanidiques, produisant un radical 8-hydroxyguanine et provoquant un clivage de la double hélice d'ADN. Il en résulte toutes les conséquences imaginables selon l'importance du site atteint : mutation, carcinogénèse ...

# **C/ Les sources potentielles de radicaux libres**

## **1/ Exogène**

- Radiations ionisantes
- Photo-oxydation
- Polluants de l'environnement (ozone, dioxyde nitreux)
- Certains médicaments (anti-cancéreux, anti-parasitaires)

## **2/ Endogène**

### **a/ Chaîne respiratoire mitochondriale**

De nombreuses expériences, ont été réalisées dans le but d'essayer de quantifier l'importance de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les mitochondries. Les différents travaux réalisés in vitro, ont été menés soit sur des cultures cellulaires, soit avec des mitochondries isolées ou encore des fragments de mitochondries. On a pu en conclure que 1 à 2% du flux d'électron « dévirait » vers la production de dérivés oxydants (38,39).

Ainsi, dans une culture d'hépatocytes standard, par exemple,  $10^{12}$  molécules d'oxygène sont utilisées par jour et  $2 \cdot 10^{10}$  à  $4 \cdot 10^{10}$  ions superoxyde seraient produits par jour (40) .

Cependant, l'ensemble de ces expériences réalisées in vitro utilisent une atmosphère comportant 20% d'oxygène ; or la pression partielle en oxygène, in vivo, du milieu

intercellulaire est estimée au environ de 5%. Ces résultats doivent donc être nuancés et probablement surestiment le flux d'oxydants provenant de la chaîne respiratoire mitochondriale.

#### **b/ La $\beta$ -oxydation peroxysomale des acides gras**

Les travaux réalisés ont montré qu'il s'agissait d'une source de peroxyde d'hydrogène. Ils ont également contribué à renforcer la théorie radicalaire du vieillissement. Par exemple, dans une culture d'hépatocyte de rongeur, l'utilisation de molécules dépourvues d'activité mutagène mais provoquant une augmentation du nombre des peroxysomes, a montré une activité carcinogène en provoquant le développement d'un hépatocarcinome (41,42,43).

#### **c/ Réactions impliquant le cytochrome p450**

Sous le terme cytochrome p450, est regroupé un ensemble d'isoenzymes intervenant dans le métabolisme de composants organiques, souvent d'origine végétale, en catalysant leur oxydation ou leur réduction. Elles ont donc un rôle de détoxification. Ces réactions font intervenir le NADPH.

Certaines de ces isoenzymes ont montré une capacité à réduire  $O_2$  en  $O_2^-$  (44,45). De plus certains substrats des cytochromes p450 tels l'acétaminophène ou le paraquat subissent un cycle rédox en recevant un électron  $e^-$  du cytochrome p450 et le transférant ensuite à  $O_2$ .

Ainsi la production d'ions superoxyde par le cytochrome p450, semble être le prix à payer par les cellules animales pour supporter une certaine dose de molécule toxique (40).

#### **d/ Les cellules phagocytaires**

Les cellules phagocytaires synthétisent au sein de leurs phagosomes une grande variété de molécules réactives : ions superoxyde, peroxyde d'hydrogène, oxyde nitrique, ions hypochlorite, dans le but de détruire les éléments phagocytés.

Dans les conditions du fonctionnement normal, la production de ces molécules réactives est contrôlée, et le stress oxydatif faible voir inexistant.

Cependant, en cas de réaction inflammatoire aiguë (infection aiguë) ou de réaction inflammatoire chronique (maladies inflammatoires, infection chronique), il peut se produire un emballement de la production et une libération au sein du milieu intercellulaire de ces espèces réactives de l'oxygène, source d'un stress oxydatif.

#### **e/ Autres sources de ROS**

Enfin, à coté de ces quatre sources majeures, il existe un certain nombre d'enzymes capables de produire des espèces réactives de l'oxygène lors de leur fonctionnement normal ou pathologique. A titre d'exemple, nous pouvons citer la monoamine oxydase qui catalyse la désamination oxydative de la dopamine au sein des synapses des neurones dopaminergiques avec production de peroxyde d'hydrogène. Un fonctionnement anormal avec une surproduction de peroxyde d'hydrogène semble être impliqué dans l'étiologie de la maladie de Parkinson (46).

**PARTIE B :**

**Les**

**Défenses**

**Anti-oxydantes**

**de**

**l'Organisme**

Pour se défendre vis à vis des radicaux libres, l'organisme présente plusieurs niveaux de protection :

- un premier constitué par des molécules anti-oxydantes, jouant un rôle de piègeur de radicaux libres,
- un second plus complexe, constitué d'enzymes dont le rôle est la neutralisation des radicaux libres,
- enfin un troisième, plus indirect, comportant les enzymes de réparation des macromolécules cellulaires.

## I/ Les molécules antioxydantes

Il s'agit des molécules détaillées dans la première partie.

Pour la défense des membranes il s'agit principalement de l'alpha tocophérol et au niveau du cytosol de l'acide ascorbique et du glutathion.

La vitamine E protège les acides gras insaturés de la peroxydation lipidique.

Vitamine C et Glutathion jouent le rôle de piègeur des radicaux libres produits au sein du cytosol. Mais ces molécules n'agissent pas de façon isolée. Au contraire, la vitamine C intervient dans le recyclage de la vitamine E, et le glutathion intervient dans le recyclage de la vitamine C.

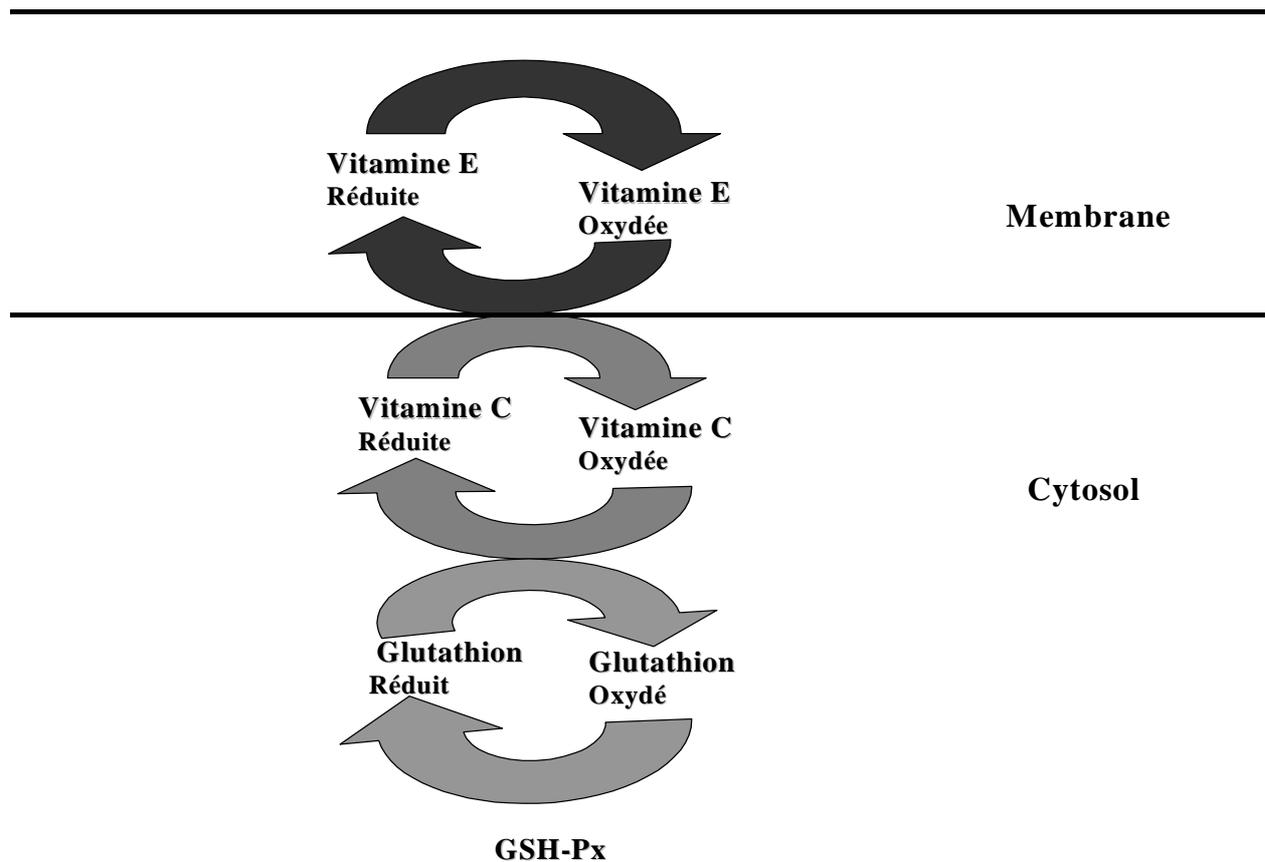


Schéma du cycle des antioxydants

D'autre part, les rétinoïdes et la vitamine A peuvent se comporter comme des piègeurs de radicaux libres ou encore intervenir dans la régulation transcriptionnelle des gènes codant pour les enzymes antioxydantes.

Un peu à part, interviennent également dans la défense antioxydante, certaines protéines de transport comme la transferrine ou la céruléoplasmine qui en fixant les métaux de transition permettent de rendre le milieu cellulaire et intercellulaire stable au niveau du taux de radicaux libres.

## **II/ Les enzymes de protection contre le stress oxydatif**

L'organisme est pourvu d'une grande variété d'enzymes de protection contre les réactions d'oxydations.

### **1/ Enzymes anti radicaux libres**

Tout d'abord, les enzymes impliquées directement dans la destruction des radicaux libres. Il s'agit de la Superoxyde dismutase qui accélère la réaction de dismutation spontanée de l'ion superoxyde en peroxyde d'hydrogène. Il existe différentes isoenzymes :

- la SOD à cuivre et zinc, protéine soluble présente dans le cytosol de toutes les cellules eucaryotes
- la SOD à manganèse que l'on retrouve au sein de la matrice des mitochondries.

Mais le peroxyde d'hydrogène est une molécule très réactive, d'où la présence de deux enzymes pour sa destruction en eau :

- la catalase : enzyme spécifique de la réduction du peroxyde d'hydrogène en eau.
- la glutathion peroxydase qui intervient surtout sur la réduction des hydroperoxydes lipidiques mais aussi de façon non négligeable sur le peroxyde d'hydrogène.

Ces différentes enzymes travaillent en étroite collaboration, ce qui explique l'échec des travaux portant sur une tentative d'augmenter nos moyens de défense en provoquant une surexpression d'une seule de ces enzymes.

### **2/ Enzymes à activité réductrice**

Ensuite, nous trouvons le groupe des enzymes intervenant sur la réduction des molécules antioxydantes. Il s'agit de :

- la glutathion réductase qui réduit le glutathion
- la déhydroascorbate réductase qui intervient dans le recyclage de la vitamine C oxydée
- la thioredoxine réductase qui intervient dans le maintien sous forme réduite des radicaux thiols des protéines.

De façon plus indirecte, nous pouvons encore citer les enzymes intervenant dans le maintien d'un environnement réduit comme par exemple la glucose-6- phosphate déshydrogénase qui régénère le NADPH, qui fait la jonction entre le métabolisme énergétique et la protection antioxydante.

### **III/ Les enzymes de réparation des macromolécules**

Pour compléter le système de défense contre l'oxydation, il existe au sein de la machinerie cellulaire, des enzymes orientées vers la réparation des lésions oxydatives des macromolécules.

Moins de travaux ont porté sur cet aspect.

On peut citer l'existence de glycosylases qui reconnaissent et excisent les bases oxydées de l'ADN (47,48).

Il existe également des protéases intervenant spécifiquement sur les protéines oxydées (49).

Enfin pour les lipides, il existe des enzymes réparant les lipides membranaires oxydés. Pour exemple nous citerons le cas de la phospholipase A2 qui clive les peroxydes lipidiques des phospholipides (50).

**PARTIE C :**

**Essais de Supplémentation**

**En**

**Anti-oxydants**

**Méthodes et Résultats**

Nous disposons actuellement de nombreuses études, principalement descriptives et dans une moindre mesure interventionnelles. Elles portent sur la relation des antioxydants soit avec une pathologie observée lors du vieillissement, soit avec le vieillissement de façon globale.

## **I/ Relation entre immunité et antioxydant**

Les antioxydants et les radicaux libres ont une influence importante sur le fonctionnement du système immunitaire car :

- les cellules immunitaires sont plus sensibles au stress oxydatif car elles possèdent une concentration en acides gras insaturés plus importante au sein de leurs membranes que les autres types cellulaires
- elles produisent plus de radicaux libres, du fait de leurs fonctions : phagocytose, production de prostaglandines...
- leur fluidité membranaire, cruciale pour leur fonctionnement, est liée à la richesse en acides gras insaturés, pour les fonctions de phagocytose, mobilité, communication intercellulaire. Or la peroxydation lipidique diminue la fluidité membranaire.
- les radicaux libres et notamment l'ion superoxyde et le peroxyde d'hydrogène interviennent dans le contrôle transcriptionnel de nombreux gènes, via les systèmes NFκB et AP1, dont ceux codant pour les cytokines .

Lors du vieillissement, il est bien documenté qu'il existe une augmentation de la fréquence des pathologies liées à un moins bon fonctionnement du système immunitaire correspondant à l'immuno-sénescence (51,52).

Ainsi, on observe une plus grande fréquence des cancers après l'âge de 65 ans. Même si les raisons sont multifactorielles, l'une d'entre elles est la diminution de la réponse immunitaire vis à vis des cellules anormales et notamment de l'activité Natural Killer (NK) (53).

D'autre part, il existe une augmentation de la sensibilité aux infections avec l'âge.

Or, la peroxydation lipidique des membranes diminue la fluidité membranaire et de façon parallèle la réponse immunitaire. Comme le montrent les travaux sur des souris dont les apports alimentaires en lipides ne sont composés que de lipides oxydés. Rapidement, ces souris présentent une atrophie thymique et des dysfonctions de la réponse lymphocytaire T parallèles à celles observées lors du vieillissement (54).

D'où l'origine de l'hypothèse d'une implication du stress oxydatif dans l'immuno-sénescence. L'étude de l'effet de traitements antioxydants sur la réponse immunitaire fait appel entre autres, à la réponse d'hypersensibilité cutanée retardée et à la réponse mitogène in vitro de leucocytes vis à vis des facteurs de prolifération tels que la concanavaline A.

La réponse d'hypersensibilité cutanée retardée est un test simple et relativement fiable car Wayne et coll. ont pu montrer qu'en cas de réponse négative (anergie) chez des sujets de plus de 60 ans la mortalité globale était doublée par rapport à ceux présentant une réaction positive (55).

La grande majorité des études portent sur les effets de la vitamine E et/ou sur le bêta carotène, quelques-unes sur le glutathion.

Il est intéressant, de noter que plusieurs études de supplémentation en anti-oxydants, ont permis d'améliorer les marqueurs de la réponse immunitaire chez des sujets âgés :

- une supplémentation par 800 UI/jour de vitamine E pendant 1 mois chez des sujets âgés en bonne santé, permettait d'augmenter la réponse cutanée à la tuberculine (56).
- une autre étude, avec un apport de 45 à 60 mg/jour de  $\beta$  carotène pendant 2 mois chez des personnes âgées en bonne santé rapporte l'augmentation de l'activité Natural Killer du sang périphérique (56).
- une étude chez des personnes âgées en institution, supplémentées par un composé comportant 8 000 UI de vitamine A, 50 mg de vitamine E et 100 mg de vitamine C de façon quotidienne pendant 28 jours a conclu à une augmentation du taux de lymphocyte T total et de lymphocyte T helper (57).
- enfin, les travaux de Kennes et coll. : l'apport de 500mg de vitamine C par jour en intramusculaire pendant 1 mois a permis d'augmenter in vitro la réponse mitogène des lymphocytes et in vivo la réaction cutanée d'hypersensibilité retardée (58).

Par contre, deux études rapportent qu'une consommation importante de Vitamine E avait un effet négatif sur l'activité de phagocytose et l'activité bactéricide des polynucléaires neutrophiles (59,60).

De l'ensemble de ces travaux, il ressort deux questions importantes :

- celle de la dose optimale à apporter
- celle de l'effet dans la durée d'une supplémentation.

#### ➤ Dose optimale

Pour ce qui concerne la dose optimale, un travail portant également sur le  $\beta$  carotène, avec 5 groupes de 4 personnes avec un apport de 0, 15, 30, 45 et 60 mg montre une augmentation du pourcentage de lymphocytes T Helper (CD4+), de Natural Killer (CD16+), de cellules exprimant le récepteur à l'interleukine 2 (CD25+) et de cellules exprimant le récepteur à la transferrine mais sans modification de la réponse immunitaire (63).

Avec le glutathion, deux études surtout sont à retenir.

- La première chez la souris, où un apport pendant 4 semaines d'une alimentation contenant 0, 0,1, 0,5 ou 1% du poids en glutathion permet pour les doses supérieures ou égales à 0,5% de corriger la différence entre sujets jeunes et âgés pour la concentration plasmatique en glutathion ainsi que la réponse immunitaire mesurée sur le test cutané et la prolifération in vitro des lymphocytes T (64).
- Chez l'homme, une étude in vitro sur les cellules mononuclées du sang périphérique incubées dans un milieu contenant 0, 0,5, 1, 2, 5 ou 10 mmol/l de glutathion, puis mesure de la réponse proliférative à la concanavaline A et de la production d'interleukine 2. Aux doses de 2 à 10 mmol/l augmentation des deux critères avec un effet optimal pour 5 mmol/l. Par contre, les auteurs observent l'effet inverse pour les doses de 0,5 et 1 mmol/l (65).

#### ➤ Durée de la supplémentation

Pour ce second point, deux études apportent un début de réponse.

- Une supplémentation pendant 6 mois par 400mg de vitamine E de sujets jeunes et âgés versus placebo, montre après 2 mois : une augmentation de la concentration plasmatique en vitamine E et une diminution de la concentration plasmatique en peroxyde lipidique des deux groupes supplémentés par rapport au placebo. Après 6 mois, la diminution de la concentration plasmatique en peroxyde lipidique par rapport au groupe témoin persiste uniquement chez les sujets âgés. Quant à la réponse immunitaire, la réaction d'hypersensibilité cutanée retardée est améliorée dans les deux groupes supplémentés mais de façon plus importante chez les personnes âgées (61).

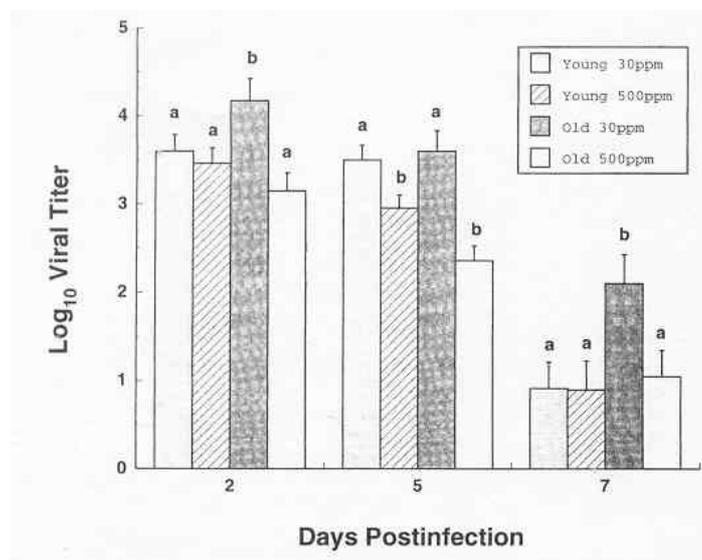
- Dans la seconde étude, portant sur 59 sujets répartis en 38 d'âge moyen (51 à 64 ans) et 21 plus âgés (65 à 86 ans) la moitié est supplémentée par 50 mg de b carotène un jour sur deux pendant 10 ans versus placebo. Les résultats montrent une restauration de l'activité Natural Killer des sujets âgés supplémentés au même niveau que celle des sujets d'âge moyen du groupe témoin (62).

Une autre approche plus pratique, consiste à mesurer l'effet d'une supplémentation sur la réponse à une infection. Plusieurs travaux ont permis de mettre en évidence une diminution du taux d'antioxydant lors des infections. Par exemple, HENNETT et coll., ont montré que lors de l'infection de souris par le virus influenzae, les concentrations en vitamine C, vitamine E et glutathion au sein du poumon et du foie diminuaient (66). La carence en antioxydant rend ces mêmes souris plus sensibles à une infection virale (67,68).

Les travaux de Hayek et coll. (69) sur l'effet préventif d'un apport de vitamine E à des souris avant une infection par le virus influenzae H3N2 sont particulièrement intéressants. Les souris reçoivent pendant 6 semaines avant d'être infectées par voie nasale soit 30 ou 500 ppm de vitamine E. Elles sont ensuite sacrifiées à J2, J5 ou J7 de l'infection, et le degré d'infestation virale pulmonaire est mesuré. Les effectifs des différents groupes et les résultats sont présentés ci-dessous.

age		jeune (4 mois)		agé (22 mois)	
dose de vitamine E (ppm)		30	500	30	500
durée post infection (jours)	2	7	8	4	6
	5	7	9	4	6
	7	6	5	5	6

**Effectifs des différents groupes de souris C57B1/6NIA (Hayek et coll. (69))**



**Taux d'infestation pulmonaire par le virus influenzae H3N2**

a : pas de différence statistiquement significative

b : différence statistiquement significative

(J2  $p < 0,01$  J5 et J7  $p < 0,05$ )

Sur ces résultats, nous remarquons que la supplémentation par 500 ppm de vitamine E chez les sujets âgés permet de diminuer l'infestation virale au niveau de celle constatée chez les sujets jeunes.

## **II/ Pathologie neuro-dégénérative et antioxydants**

Les effets du vieillissement sur le système nerveux central se manifestent au niveau histologique par une diminution du nombre de neurones et une diminution du nombre de synapses par neurone. Au niveau histochimique, on observe une augmentation de la concentration en TBARS et lipofuscine, marqueurs d'une oxydation des lipides et des protéines.

Le cerveau est un grand consommateur d'énergie, 20% des besoins énergétiques quotidiens, alors qu'il ne représente que 2% du poids du corps. Il est donc susceptible d'être plus exposé à une importante production de radicaux libres. D'autant plus qu'en dehors du métabolisme énergétique, le catabolisme des neurotransmetteurs, notamment le glutamate et la dopamine est une source de radicaux libres.

D'autre part, en dehors d'un potentiel de production de radicaux libres élevé, le système nerveux central est potentiellement plus sensible à un stress oxydatif pour deux raisons principales, une grande richesse en acide gras insaturés et l'absence de renouvellement des neurones.

Tout cela rend nécessaire l'existence de systèmes de défense contre les radicaux libres particulièrement efficaces.

En partant de ces constats, différentes études épidémiologiques ont recherché une corrélation entre consommation en antioxydant et risque de développer une pathologie neurodégénérative.

- L'étude PAQUID : elle porte sur 3 777 sujets âgés de plus de 65 ans, vivant à domicile, tirés au sort dans 75 communes de Gironde et Dordogne. Le but de l'étude était la recherche active des cas de démence et de leur étiologie lors de la visite initiale en 1988-89 et lors des suivis ultérieurs à 1, 3, 5, 8 et 10 ans. Pour cela, ont été utilisés des questionnaires nutritionnels et des dosages biologiques. Ainsi une consommation modérée de vin diminuait significativement le risque de développer une démence dans les 3 ans en éliminant les facteurs de confusions âge, sexe, niveau d'étude et profession (70). L'explication proposée pour expliquer le rôle protecteur du vin serait sa richesse en flavanoïdes.
- Dans cette étude, les travaux de COMMENGES et coll, portant sur la relation entre consommation en flavanoïdes et risque de développer une démence à 5 ans, a montré que les personnes dont la quantité de flavanoïdes ingérée était la plus basse (tercile inférieur) présentaient un risque multiplié par deux par rapport au reste de l'échantillon (71).
- L'étude des taux plasmatiques initiaux en vitamine E et vitamine A et de l'évolution du taux plasmatique en MDA (malondialdéhyde, marqueur de la peroxydation lipidique) réalisé dans un sous-groupe de 626 personnes montre un taux plus bas en vitamine E et A chez les futurs déments et une augmentation du taux de MDA (les prélèvements ont été réalisés lors de la visite à 1 an et à 8 ans du début de l'étude). Seul le taux plus bas de vitamine E s'est montré statistiquement significatif. Ainsi, les patients dont le taux plasmatique en vitamine E était inférieur à 21µmol/L présentaient un risque augmenté, statistiquement significatif de développer une démence (72).
- D'autres études, ont trouvé une relation inversement proportionnelle entre consommation d'antioxydant et risque de développer un état démentiel (73, 74, 75, 76).

- L'étude EVA : son objectif principal était d'identifier les facteurs de risque endogènes et exogènes d'un vieillissement vasculaire et cognitif plus précoce ou plus sévère. Elle a porté sur une population de 1 389 volontaires inscrits sur les listes électorales de Nantes, âgés initialement de 60 à 70 ans entre 1991 et 1993. Le suivi a été de 9 ans avec des tests neuropsychologiques répétés, la mesure de différents paramètres anti-oxydants : concentration plasmatique en sélénium et caroténoïdes, concentration érythrocytaire en vitamine E, TBARS (thiobarbituric acid reactive species, mesure globale de l'activité oxydante du sérum), activité enzymatique superoxyde dismutase SOD1 et glutathion peroxydase des hématies. L'analyse des relations transversales n'a montré qu'un faible effet protecteur des antioxydants sur le fonctionnement cognitif (77). Par contre l'étude longitudinale a permis de définir un sous-groupe présentant un déclin cognitif global avec la perte de 3 points au MMSE en 4 ans (soit 15% de l'effectif) (78). Ce déclin était associé avec un bas niveau en antioxydant plasmatique (sélénium et caroténoïdes), et un haut niveau en TBARS. Par contre, aucune relation n'a été mise en évidence entre le taux érythrocytaire en vitamine E et le risque de déclin cognitif. En ce qui concerne les activités enzymatiques, une activité glutathion peroxydase plus basse était en relation avec un déclin cognitif (79).

Par contre, aucune étude interventionnelle n'a permis de mettre en évidence une réduction du risque de pathologie neurodégénérative par une supplémentation en antioxydants.

### **III/ Pathologies oculaires dégénératives et antioxydants**

L'œil est particulièrement exposé au stress oxydatif car :

- il présente un métabolisme élevé
- il reçoit, du fait de sa fonction, un taux d'irradiation cumulée important
- les photorécepteurs sont riches en acides gras insaturés
- l'épithélium pigmentaire est le lieu d'une activité phagocytaire.

Là encore, diverses études épidémiologiques avec des résultats plus ou moins contradictoires montrent l'existence d'une relation entre apport en antioxydants et risque de développer une dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA).

Les principales études sont :

- l'étude NHANES ( National Health And Nutrition Examination Survey)
- l'étude BDES (Beaver Dam Eye Study)
- l'étude EDCC (Eye Disease Case Control study)
- l'étude BMES (Blue Montain Eye Study)
- l'étude BLSA (Baltimore Longitudinal Study of Aging)
- l'étude POLA ( Pathologie Oculaire Liée à l'Age)

POLA est une étude épidémiologique portant sur 2 584 personnes de plus de 60 ans (âge moyen de 70,4 ans) résidant à Sète (Hérault) dans le but d'identifier les facteurs de risque de deux maladies oculaires très fréquentes liées au vieillissement : la cataracte et la DMLA . Les participants volontaires ont été recrutés de juin 1995 à juillet 1997 par des appels dans la presse locale, par téléphone, par courrier ou sur listes électorales. L'étude a comporté un interrogatoire sur leur mode de vie, l'histoire médicale, les lieux de résidence successifs, afin de déterminer l'importance de leur exposition solaire. Il y a eu également un examen clinique standard, un bilan biologique et enfin un examen ophtalmologique approfondi.

Différents éléments ont pu être tirés de cette étude. En ce qui concerne les antioxydants, il existe une relation inverse entre le taux plasmatique en vitamine E et le risque de développer une DMLA. Ainsi pour le quintile de l'échantillon ayant la concentration plasmatique la plus élevée en vitamine E, le risque de développer une DMLA est de 82% moins important que pour le quintile avec la concentration plasmatique la plus basse. L'étude a également mesuré les concentrations de vitamine C, vitamine A et  $\beta$  carotène mais n'a pas retrouvé de relation statistiques avec le risque de développer une DMLA (80).

En ce qui concerne les autres études, les résultats sont synthétisés dans le tableau ci-dessous.

Etude	Vitamine C	Vitamine E	Vitamine A	Caroténoïdes	référence
<b>NHANES</b>	Protecteur	/	Protecteur	/	81
<b>BDES</b>	Protecteur mais non significatif	Augmentation du risque si apport faible	Pas d'effet	alpha et beta carotène protecteur, lutéine et zéaxanthine sans effet	82
<b>EDCC</b>	Protecteur mais non significatif	Pas de relation	Pas d'effet	Effet protecteur de la lutéine et de la zéaxanthine	83
<b>BMES</b>	Pas d'effet	/	Pas d'effet	/	84
<b>BLSA</b>	Pas d'effet	/	Pas d'effet	Beta carotène sans effet	85

#### Relation entre antioxydants et DMLA

Aucune étude interventionnelle n'a permis de mettre en évidence un bénéfice en cas de supplémentation.

#### **IV/ Espérance de vie et anti-oxydants**

Les résultats des différentes expérimentations sont relativement décevants dans ce domaine. Une augmentation de l'espérance de vie maximale n'a à ce jour pas pu être obtenue par une supplémentation en antioxydants.

##### ➤ **Travaux sur les insectes et les nématodes**

Seuls les travaux de transgénèse permettant d'obtenir des drosophiles surexprimant le gène de la SOD et de la catalase ont permis d'obtenir des animaux avec une durée de vie plus élevée mais au prix d'un métabolisme élevé (86). Il est intéressant de noter que si seule l'une des deux enzymes est surexprimée, cela n'augmente pas la durée de vie et même la diminue dans le cas de la SOD (87).

Par contre, divers travaux ont permis d'augmenter l'espérance de vie moyenne d'une population d'animaux par un apport augmenté en antioxydants. Ainsi un apport important en vitamine E a permis d'augmenter l'espérance de vie moyenne d'une population de drosophile de 20%. Des résultats similaires ont été obtenus avec des nématodes, le rotifère « philadina » et le moustique de la fièvre jaune.

### ➤ Travaux chez les mammifères

Chez les mammifères, divers essais chez des souris ont permis d'augmenter l'espérance moyenne de vie d'une population mais uniquement pour une supplémentation réalisée de la naissance à la mort.

Souris mâle LAF1 supplémenté par 1% du poids des aliments en 2- Mercapto-éthylamine	espérance de vie moyenne passe de 24,5 à 31,6 mois	ref 88
Souris C3H supplémentée en ethoxyquine	Majoration de l'espérance de vie moyenne de 18%	ref 89
Souris N2B avec un apport de 2500 ppm/jour de vitamine E	Majoration de l'espérance de vie moyenne de 7%	ref 90
Souris N2B avec un apport de 10000 ppm/jour d'ethoxyquine	Majoration de l'esperance de vie moyenne de 32%	ref 90

### Majoration de l'espérance de vie moyenne par une supplémentation en antioxydant

Par contre, d'autres essais de supplémentation à partir de l'âge moyen (18 mois) et jusqu'à la mort, avec divers antioxydants (vitamine E 500 ppm/j, glutathion 0,5% du poids de l'alimentation, vitamine E 500 ppm et glutathion 0,5%, mélatonine 11 ppm ou encore extrait de framboise à hauteur de 1%) (91) ou par un complexe de plusieurs antioxydants ( $\beta$  carotène, vitamine E, vitamine C, rutine, sélénium et zinc) (92) n'ont pu aboutir à un effet similaire.

### V/ L'étude SU.VI.MAX (93)

Il s'agit d'un vaste essai comparatif randomisé versus placebo en double aveugle, dont le but était d'évaluer l'effet d'une supplémentation alimentaire par une association d'antioxydants. Elle inclut 13 017 adultes âgés de 35 à 60 ans habitant en France. Selon le tirage au sort, ils ont pris quotidiennement soit un placebo, soit une gélule comportant 120 mg d'acide ascorbique, 30 mg de vitamine E, 6 mg de  $\beta$  carotène, 100  $\mu$ g de sélénium et 20 mg de zinc. Les critères de jugement retenus sont l'incidence des cancers et des cardiopathies ischémiques, la mortalité totale étant un critère secondaire.

Après un suivi médian de 7,5 ans, les résultats ont été publiés en novembre 2004.

- 7,8% des patients n'ont pas terminé l'essai.
- parmi ceux ayant terminé l'essai, 74% ont affirmé avoir pris au moins les 2/3 des gélules.
- le traitement n'a pas eu d'effet statistiquement significatif sur les critères de jugement principaux : 1) incidence des cancers de 4,2% dans le groupe antioxydant versus 4,6%, et 2) incidence des cardiopathies ischémiques 2,1% dans les deux groupes.
- pas d'effet sur la mortalité globale : 1,2% dans le groupe antioxydant versus 1,5% dans le groupe témoin.
- par contre dans le sous-groupe homme, l'incidence de cancer a paru moindre 3,5% versus 4,9% ( $p=0,008$ ), cependant le niveau de preuve est faible étant donné que l'on se trouve dans un sous-groupe. Cet effet pourrait être expliqué par un statut plus faible en antioxydant des hommes par rapport aux femmes.

## **Conclusion**

La théorie radicalaire du vieillissement, est séduisante car un grand nombre de preuves épidémiologiques, histologiques et chimiques viennent l'étayer.

Cependant, l'intérêt d'une supplémentation en antioxydants pour ralentir les effets du vieillissement ou prévenir les pathologies apparaissant avec l'âge n'est pas pour autant évident.

En effet, notre organisme possède un système de défense contre les radicaux libres complexe, complet et performant d'une part, et d'autre part un certain nombre d'antioxydants peuvent selon les circonstances (concentration, environnement riche en métaux de transition ...) avoir un effet pro-oxydant.

A ce jour, toutes les études de supplémentation orale par des antioxydants ont été soit sans effet, soit éventuellement néfastes comme cette étude finlandaise réalisée chez 29 000 fumeurs masculins âgés de 50 à 69 ans, suivi pendant 5 à 8 ans dont l'apport quotidien de 20 mg de  $\beta$  carotène a augmenté l'incidence annuelle de cancer du poumon par rapport au groupe témoin (94).

Pour autant, nous ne devons pas abandonner l'idée d'une prévention par les antioxydants, mais la recherche doit répondre à plusieurs questions :

- Quelle quantité d'antioxydant apporter ?
- Un seul antioxydant ou plutôt un complexe de plusieurs ? Mais alors dans quelle proportion ?
- Si un apport est envisageable, doit-il être continu et dans ce cas à partir de quel âge, ou discontinu lors de situation de stress oxydatif aigu, situation où les défenses de l'organisme pourraient être dépassées ?
- Une supplémentation devrait-elle être réalisée dans l'ensemble de la population ou dans des groupes plus à risque ?

Pour l'heure, en clinique quotidienne, il n'y a pas d'indication validée à promouvoir auprès de nos patients une supplémentation en antioxydants. Seule une alimentation variée, riche en fruits et légumes permettant un apport correct en antioxydant doit être encouragée, ainsi qu'une limitation de l'exposition aux toxiques comme, par exemple, le tabac source de stress oxydatif évitable.

## **Références**

**1/ Hempelmann I, Hoffman JG**

Practical aspects of radiation injury  
Annu. Rev. Nuclear Sci **1953**;3:369-89

**2/ Harman D**

Aging : a theory based on free radical and radiation chemistry  
J. Gerontol. **1956**;11:298-300

**3/ Stein G, Weiss J**

Chemical effects of ionizing radiations  
Nature **1948**;161:650

**4/ Commoner B, Townsend J, Pake G-E**

Free radicals in biological materials  
Nature **1954**;174:689-91

**5/ McCord JM, Fridovich I**

Superoxide dismutase : an enzymic function for erythrocyte  
J. Biol. Chem. **1969**;244:6049-55

**6/ Stocker A, Azzi A**

Tocopherol-Binding-Proteins : their function and physiological significance  
Antioxid.Redox Signal **2000**;2:397-404

**7/ Traber M, Arai H**

Molecular mechanisms of vitamin E transport  
Annu. Rev. Nutr. **1999**;19:343-55

**8/ Zimmer S, Stocker A, Sarbolouki M-N, Spycher S-E, Sassoon J, Azzi A**

A novel human tocopherol-associated protein: cloning, in vitro expression and characterisation  
J. Biol. Chem. **2000**;275:25672-80

**9/ Stocker A, Zimmer S, Spycher S-E, Azzi A**

Identification of a novel Cytosolic Tocopherol-Binding-Protein: structure, specificity, and tissue distribution  
IUBMB life **1999**;48:49-55

**10/ Azzi A, Breyer I, Feher M, Pastori M, Ricciarelli R, Spycher S, Staffieri M, Stocker A, Zimmer S, Zingg JM**

Specific cellular responses to alpha-tocopherol  
J. Nutr. **2000**;130:1649-52

**11/ Levine M, Rumsey S-C, Daruwalar, Park J-B, Wang Y**

Criteria and recommendations for Vitamin C Intake  
J.Am.Med.Assoc. **1999**;281:1415-23

**12/ Hediger M-A**

New View at C  
Nat. Med.**2002**;8,445-6

**13/ Sabry J-H, Fisher K-H, Dodds M-L**

Utilisation of dehydroascorbic acid  
J. Nutr.**1958**;68,457-66

**14 / Malo C, Wilson J-X**

Glucose modulates vitamin C transport in adult human small intestinal brush border membrane vesicles  
J. Nutr **2000**;130,63-69

**15/ Graumlich J-F, Ludden T-M, Conry-Cantilena C, Cantilena L-R, Wang Y, Levine M**

Pharmacokinetic model of ascorbic acid in healthy male volunteers during depletion and repletion  
Pharm. Res.**1997**;14,1133-9

**16/ Jacob R-A**

Vitamin C, in nutrition in health and disease, 9th edn  
Williams and Wilkins, Baltimore **1999**;9th,467-83

**17/ Rumsey S-C And Levine M**

Absorption, transport, and disposition of ascorbic acid in humans  
J. Nutr. Biochem. **1998**;9,116-30

**18 / Levine M, Conry-Cantilena C, Wang Y, Welch R-W**

Vitamin C pharmacokinetics in healthy volunteers  
Proc.Natl.Acad.Sci. **1996**;93:3704-9

**19/ Johnston Cs**

Vitamin C in Present knowledge in nutrition 8<sup>th</sup> edn  
ILSI Press, Washington **2001**;8:175-83

**20/ Rebouche C-J**

Carnitine, in Nutrition in health and disease, 9<sup>th</sup> edn  
Williams and Wilkins, Baltimore **1999**;505-12

**21/ Carr A-C And Frei B**

Toward a new recommended dietary allowance for vitamin c based on antioxidant and health effects in humans  
Am. J. Clin. Nutr **1999**;69:1086-107

**22/ Levine M, Rumsey S-C, Wang Y, Park J, Kwon O, Xu W And Amano N**

Vitamin C in Present knowledge in nutrition 7<sup>th</sup> edn  
ILSI Press, Washington **1996**;146-59

**23/ Burri B-J And Jacob R-A**

Human metabolism and the requirement for vitamin C in Vitamin C in health and disease

Marcel Dekker, New York **1997**;341-66

**24/ Tsao C-S**

An overview of ascorbic acid chemistry and biochemistry in Vitamin C in health and disease

Marcel Dekker, New York **1997**;25-58

**25/ Huang A, Vita J-A, Venema R-C, Keaney J-F**

Ascorbic acid enhances endothelial nitric-oxide synthase activity by increasing intracellular tetrahydrobiopterin

J. Biol. Chem. **2000**;275:17399-406

**26/ Upston J-M, Terentis A-C, Stocker R**

Tocopherol-mediated peroxidation of lipoproteins : implications for vitamin E as a potential antiatherogenic supplement

FASEB J. **1999**;13,977-94

**27/ Goodman D-S, Huang H-S, Shiratori T**

Tissue distribution and metabolism of newly absorbed vitamin A in the rat

J. Lipid Res. **1965**;6,390-96

**28/ Blaner W-S, Olson J-A**

Retinol and retinoic acid metabolisms in The retinoids : biology, chemistry, and medicine 2<sup>nd</sup> edn

Raven Press, New York **1994**;2,229-56

**29/ Nau H, Blaner W-S**

Retinoid uptake, metabolism and transport in The handbook of experimental pharmacology, the retinoids

Springer Verlag, Heidelberg **1999**;1,31-96

**30/ Mertz J-R, Shang E, Piantedosi R, Wei S, Wolgemuth D-J, Blaner W-S**

Identification and characterization of a stereospecific human enzyme that catalyzes 9-cis retinol oxidation

J. Biol. Chem. **1997**;272,11744-9

**31/ Chai X, Zhai Y, Napoli J-L**

cDNA cloning and characterization of a cis-retinol/3 $\alpha$ -hydroxysterol short-chain dehydrogenase

J. Biol. Chem. **1997**;272,3125-31

**32/ Mangelsdorf D-J, Umesono K, Evans R-M**

The retinoids receptors in The retinoids : biology, chemistry and medicine 2<sup>nd</sup> edn

Raven Press, New York **1994**;2,319-50

**33/ Vakiani E, Buck J**

Retro-retinoids: metabolism and action in The handbook of experimental pharmacology, the retinoids  
Springer Verlag, Heidelberg **1999**;1,31-96

**34/ Ross C-A, Hammerling U-G**

Retinoids and the immune system in The retinoids, biology, chemistry, medicine 2<sup>nd</sup> edn  
Raven Press, New York **1994**;2,521-44

**35/ Packer L, Obermüller-Jevic U, Kraemer K, Sies H**

Carotenoids, retinoids, molecular aspects, health issues  
AOCS Press **1997**

**36/ Kandaswami C, Middleton E**

Flavanoids as antioxydants in natural antioxidants, chemistry, health effects,, applications  
AOCS Press **1997**

**37/ Muir A-D**

Antioxydative activity of condensed tannins in natural antioxidants, chemistry, health effects, applications  
AOCS Press **1997**

**38/ Boveris A, Chance B**

The mitochondrial generation of hydrogen peroxyde. General properties, effect of hyperbaric oxygen  
Biochem. J. **1973**;134:707-16

**39/ Nohl H, Hegner D**

Do mitochondria produce oxygen radicals in vivo ?  
Eur. J. Biochem. **1978**;82:563-67

**40/ Ames B-N, Shigenaga M-K, Hagen T-M**

Oxidants, antioxydants, the degenerative diseases of aging  
Proc.Natl.Acad.Sci. **1993**;90:7915-22

**41/ Kasai H, Okada Y, Nishimuras, Rao M-S, Reddy J-K**

Formation of 8-hydroxydeoxyguanosine in liver DNA of rats following long-term exposure to a peroxisome proliferator  
Cancer Res. **1989**;49:2603-5

**42/ Ockner R-K, Kaikaus R-M, Bass N-M**

Fatty-acid metabolism, the pathogenesis of hepatocellular carcinoma : review, hypothesis  
Hepatology **1993**;18:669-76

**43/ Lake B-G**

Mechanisms of hepatocarcinogenicity of peroxisome-proliferating drugs, chemicals

Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. **1995**;35:483-507

**44/ Koop D-R**

Oxydative, reductive metabolism by cytochrome P450 2E1

FASEB J. **1992**;6:724-30

**45/ Goeptar A-R, Scheerens H, Vermeulen N-P**

Oxygen, xenobiotic reductase activities of cytochrome P450

Crit. Rev. Toxicol. **1995**;25:25-65

**46/ Fahn S, Cohen G**

The oxidant stress hypothesis in Parkinson's disease : evidence supporting it

Ann. Neurol. **1992**;32:804-12

**47/ Tchou J, Kasai H, Shibutani S, Chung M-H, Laval J, Grollman A-P, Nishimura S**

8-oxoguanine (8-hydroxyguanine) DNA glycosylase, its substrate specificity

Proc.Natl.Acad.Sci. **1991**;88:4690-4

**48/ Bohr V-A, Anson R-M**

DNA damage, mutation, fine structure DNA repair in aging

Mutat. Res. **1995**;338:25-34

**49/ Rivett A-J**

Intracellular protein degradation

Essays Biochem. **1990**;25:39-81

**50/ Pacifici R-E, Davies K-J**

Proteins, lipid, DNA repair system in oxydative stress : the free-radical theory of aging revisited

Gerontology **1991**;37:166-80

**51/ Harman Lj, Kayden Hj**

A high-performance liquid chromatographic method for the determination of tocopherol in plasma, cellular elements of the blood

J. Lipid Res. **1979**;20:639-45

**52/ Coquette A, Vray B, Vanderpas J**

Role of vitamin E in the protection of the resident macrophage membrane against oxydative damage

Arch. Int. Physiol. Biochim. **1986**;94:529-34

**53/ Goodwin Js, Burns El**

Aging, nutrition, immune function

Clin. Appl. Nutr. **1991**;1:85

**54/ Bendich A**

Antioxydant vitamins, their functions in immune responses

**55/ Wayne Sj, Rhyne RI, Garry Pj, Goodwin Js**

Cell-mediated immunity as a predictor of morbidity, mortality in subjects over 60

J. Gerontol.1990;45:45

**56/ Meydani Sn, Barklund Mp, Liu S**

Vitamin E supplementation enhances cell-mediated immunity in healthy elderly subjects

Am. J. Clin. Nutr.1990;52:557

**57/ Pacht Er, Kasek H, Mohammed Jr, Cromwell Dg, Davis Wb**

Deficiency of vitamin E in the alveolar fluid of cigarette smokers : influence on alveolar macrophage cytotoxicity

J. Clin. Invest. 1986;77:789

**58/ Kennes B, Dumont I, Brohee D, Al.**

Effect of vitamin C supplements on cell-mediated immunity in old people

Gerontology 1983;29:305-10

**59/ Prasad Js**

Effect of vitamin E supplementation on leukocyte function

Am. J. Clin. Nutr. 1980;33:606-8

**60/ Baehner RI, Boxer La, Allen Jm, Davis J**

Autooxydation as a basis for altered function of polymorphonuclear leukocytes  
Blood 1977;50:327-35

**61/ Meydani M, Meydani Sn, Leka L A, Gong J, Blumberg Jb**

Effect of long-term supplementation on lipid peroxidation, immune responses of young, old subjects

FASEB J. 1994;8:A415

**62/ Santos M, Meydeni Sn, Leka L, Al.**

Elderly male natural killer cell activity is enhanced by beta-carotene supplementation

FASEB J. 1995;9:A441

**63/ Watson Rr, Prabhala Rh, Plezia Pm, Alberts Ds**

Effects of beta-carotene on lymphocyte subpopulations in elderly humans : evidence for dose-response relationship

Am. J. Clin. Nutr. 1991;53:90-4

**64/ Furukawa T, Meydani Sn, Blumberg Jb**

Reversal of age-associated decline in immune responsiveness by dietary supplementation in mice

Mech. Aging. Dev. 1987;38:107-17

**65/ Franklin Ra, Li Ym, Arkins S, Kelley Kw**

Glutathione augments in vitro proliferative responses of lymphocytes to concanavalin A to a greater degree in old than in young rats  
J. Nutr **1990**;120:1710-7

**66/ Hennett T, Peterhans E, Stocker R**

Alterations in antioxidant defence in lung, liver of mice infected with influenzae A virus

J. Gen. Virol **1992**;73:39-46

**67/ Beck M-A, Kolbeck P-C, Rohr L-H, Shi W, Morris V-C, Levander O-A**

Increased virulence of a human enterovirus in selenium-deficient mice

J. Infect. Dis. **1994**;170:351-7

**68/ Beck M-A, Kolbeck P-C, Rohr L-H, Shi W, Morris V-C, Levander O-A**

Vitamin E deficiency intensifies the myocardial injury of coxsackie virus B3 infection of mice

J. Nutr. **1993**;124:345-58

**69/ Hayek M-G, Taylor S-F, Bender B-S**

Vitamin E supplementation decreases lung virus titers in mice infected with influenza

J. Infect. Dis. **1997**;176:273-6

**70/ Orgogozo J-M, Dartigues J-F, Lafont S**

Wine consumption, dementia in the elderly : a prospective community study in the Bordeaux area

Rev. Neurol. **1997**;153:185-192

**71/ Commenges D, Scotet V, Renaud S, Al.**

Intake of flavanoids, risk of dementia

Eur. J. Epidemiol. **2000**;16:357-63

**72/ Helmer C, Peuchant E, Letenneur L**

Associations between antioxidant nutritional indicators, the incidence of dementia : results from the PAQUID prospective cohort study

Eur. J. Clin. Nutr. **2003**;57:1555-61

**73/ Morris M-C, Beckett L-A, Scherr P-A**

Vitamin E, Vitamin C supplement use, risk of incident Alzheimer disease

Alz. Dis. Assoc. Disorder **1998**;12:121-6

**74/ Morris M-C, Evans D-A, Bienias J-L, Tangney C-C, Wilson R-S**

Vitamin E, cognitive decline in older persons

Arch. Neurol. **2002**;59:1125-32

**75/ Engelhart M-J, Geerlings M-I, Ruitenberg A**

Dietary intake of antioxidants, risk of Alzheimer disease

Jama J. Am. Med. Assn. **2002**;287:3223-9

**76/ Grodstein F, Chen J, Willett W-C**

High-dose antioxidant supplements, cognitive function in community-dwelling elderly women

Am. J. Clin. Nutr. **2003**;77:975-84

**77/ Berr C, Richard M-J, Roussel A-M, Bonithon-Kopp C**

Systemic oxidative stress, cognitive performance in the population-based EVA study

Free Radic. Biol. Med **1998**;24:1202-08

**78/ Berr C, Balansard B, Arnaud J, Roussel A-M, Alperovitch A**

Cognitive decline is associated with systemic oxidative stress : the EVA study

J. Am. Geriatr. Soc. **2000**;48:1285-91

**79/ Berr C, Richard M-J, Gourlet V, Garrel C, Favier A**

Enzymatic antioxidant balance, cognitive decline in aging : the EVA study

Eur. J. Epidemiol. **2004**;19:133-8

**80/ Delcourt C, Cristol J-P, Tessier F**

Age-related macular degeneration, antioxidant status in the POLA study

Arch. Ophthalmol. **1999**;117:1384-90

**81/ Goldberg J, Flowerdew G, Smith E**

Factors associated with age-related macular degeneration . An analysis of data from the first National Health, Nutrition Examination Survey

Am. J. Epidemiol. **1988**;128:700-10

**82/ Vanden-Langenberg G-M, Mares-Perlman J-A, Klein R**

Associations between antioxidants, zinc intake, the 5-year incidence of early age-related maculopathy in the Beaver Dam Eye Study

Am. J. Epidemiol. **1998**;148:204-14

**83/ Seddon J-M, Ajani U-A, Sperduto R-D**

Dietary carotenoids, vitamin A, C, E, advanced age-related macular degeneration. Eye Disease Case-Control Study Group

JAMA **1994**;272:1413-20

**84/ Smith W, Mitchell P, Webb K**

Dietary antioxidants, age-related maculopathy : the Blue Mountains Eye Study

Ophthalmology **1999**;106:761-7

**85/ West S, Vitale S, Hallfrisch J**

Are antioxidants or supplements protective for age-related macular degeneration ?

Arch. Ophthalmol. **1994**;112:222-7

**86/ Orr W-C, Sohal R-S**

Extension of life-span by overexpression of superoxide dismutase, catalase in *Drosophila melanogaster*  
Science **1994**;263:1128-30

**87/ Orr W-C, Sohal R-S**

The effect of catalase gene overexpression on life span, resistance to oxidative stress in transgenic *Drosophila melanogaster*  
Arch. Biochem. Biophys. **1992**;297:35-41

**88/ Harman D**

Free radicals theory of aging : effect of free radicals inhibitors on the mortality rate of male LFA mice  
J. Gerontol. **1968**;23:476-82

**89/ Comfort A**

Effect of ethoxyquin on the longevity of C3H mice  
Nature **1971**;229:254-5

**90/ Harman D**

Free radical theory of aging : beneficial effect of antioxydants on the life span of male NZB mice  
Age **1980**;3:64-73

**91/ Meydani M, Lipman R-D, Han S-N**

The effect of long-term dietary supplementation with antioxydants  
Ann NY Acad Sci **1998**;20:352-60

**92/ Bexlepkín V-G**

The prolongation of survival in mice by antioxydants depends on their age by the start of feeding this diet  
Mech. Aging. Dev. **1996**;92:227-34

**93/ Hercberg S. et coll.**

The SU.VI.MAX study . A randomized, placebo-controlled trial of the health effects of antioxidant vitamins, minerals  
Arch. Intern Med. **2004**;164:2335-42

**94/ Omenn G-S**

The Alpha-Tocopherol, Beta-Carotene Cancer Prevention Study Group "The effect of vitamin E, beta-carotene on the incidence of lung cancer, other cancers in male smokers"  
N. Engl. J. Med. **1994**;330(15):1029-35

## Résumé

Le vieillissement est un phénomène universel, commun à l'ensemble des êtres vivants . Il correspond à une diminution progressive des capacités fonctionnelles de l'organisme . Pour l'expliquer différentes théories existent dont la théorie radicalaire du vieillissement . Emise en 1956 par HARMAN, elle considère que le vieillissement est dû à une accumulation de lésions oxydatives qui finissent par perturber le bon fonctionnement cellulaire . Pour se protéger, notre organisme utilise un ensemble complexe d'anti-oxydants .

Après un passage en revue des radicaux libres et des systèmes de protection contre le stress oxydatif présents au sein des cellules, nous avons essayé de déterminer grâce à un travail bibliographique, s'il existait des preuves qu'une supplémentation en molécules anti-oxydantes permettait de ralentir l'évolution du vieillissement et l'apparition des pathologies associées .

### Mots clés

Vieillissement, anti-oxydant, Supplémentation, Stress oxydatif, radicaux libres