

Anti-oxydants, controverses et perspectives : comment expliquer l'échec des études cliniques utilisant des anti-oxydants

Marvin Edeas

Société Française des Anti-oxydants, 15 rue de la Paix, 75002 Paris, France

Auteur correspondant : Marvin Edeas, sfa.paris@orange.fr

Reçu le 24 avril 2009

Résumé – Depuis plusieurs décennies, les anti-oxydants ont été beaucoup étudiés, et les scientifiques cherchent à prouver leurs effets préventifs et curatifs dans certaines pathologies chroniques. Cependant, il n'est pas rare de trouver des études cliniques aux résultats très contradictoires, ce qui peut expliquer en partie la perte d'engouement du consommateur pour les compléments alimentaires anti-oxydants. Avant toute chose, des définitions doivent être revues, comme celle des radicaux libres (RL) ; ils ne sont pas tous toxiques. Certains d'entre eux, comme le monoxyde d'azote, sont nécessaires au bon fonctionnement physiologique de l'organisme, et les éliminer serait une erreur ! Par contre, d'autres espèces réactives de l'oxygène (ROS), qui ne sont pas des RL, sont toxiques pour l'organisme ; c'est le cas du peroxyde d'hydrogène qui est toxique. Nous avons également redéfini le stress oxydatif : il n'est pas le simple résultat d'un déséquilibre entre oxydants et anti-oxydants, mais également la conséquence du déséquilibre de l'état redox cellulaire. Les mécanismes d'action, la biodisponibilité, la synergie et les méthodes de dosage des anti-oxydants sont des thèmes très sensibles, et il est primordial de les étudier en profondeur si l'on veut aboutir à des études cliniques fiables. Face à l'échec des études cliniques utilisant les anti-oxydants, nous avons tenté d'expliquer les stratégies à suivre. Tout d'abord, la nature de l'anti-oxydant est importante, il faut toujours préférer un anti-oxydant d'origine naturelle. Ensuite, nous avons expliqué que l'effet-dose était certainement responsable de l'échec des essais. En effet, la dose administrée dans les études était soit trop faible pour obtenir des résultats significatifs, soit trop forte, devenant ainsi pro-oxydante et éliminant la concentration basale de ROS (rôle physiologique). Nous avons mis en lumière de nouveaux mécanismes, comme l'implication de la mitochondrie et des phénomènes de glycation dans l'établissement d'une multitude de physiopathologies. La nutriginétique et la nutriginétique ont été abordées : elles étudient les interactions entre le patrimoine génétique et l'alimentation. Le polymorphisme génétique explique la variabilité de l'absorption des micronutriments. Ce dernier thème aboutit à affirmer la nécessité de fournir le bon anti-oxydant, en quantité adéquate, au bon endroit et au bon moment et pour un individu particulier. Pour accroître la capacité anti-oxydante globale de l'organisme, il faut augmenter l'apport exogène en anti-oxydants ou stimuler la synthèse endogène d'anti-oxydants (SOD, GPX, GSH). D'autre part, il faut cibler la mitochondrie et intensifier sa défense globale (véritable défi à relever), augmenter la biodisponibilité des anti-oxydants, et étudier leur passage à travers la barrière hémato-encéphalique.

Mots clés : anti-oxydant / stress oxydatif / mitochondrie / glycation / nutriginétique

Abstract – Anti-oxidants, controversies and perspectives: How can the failure of clinical studies using anti-oxidants be explained?

Since several decades anti-oxidants have been much studied, and scientists have tried to prove the preventive and curative effects in many chronic diseases. However, it is not

uncommon to find highly contradictory clinical results, which may explain that consumers are less enthusiastic for anti-oxidants food supplements. First of all, definitions should be reviewed, such as that of free radicals (FR); all of them are not toxic. Some of them, such as nitric oxide, are necessary for the proper physiological functioning of the body, and eliminating them would be a mistake! However, other reactive oxygen species (ROS), which are not FR, are toxic, such as hydrogen peroxide. We have also redefined the oxidative stress, which it is not only the result of an imbalance between oxidants and anti-oxidants, but also the consequence of imbalance in the cellular redox status. The mechanisms of action, bioavailability, synergy and methods to determine the level of anti-oxidants are very sensitive topics, and it is crucial to study them if we want to obtain reliable clinical studies. Given the failure of clinical studies about anti-oxidant, we try to explain strategies which should be followed. First of all, the nature of the anti-oxidant is important; and an anti-oxidant from a natural origin must be preferred. Then, we proposed that the dose-effect was certainly responsible for the failure of tests. Indeed, doses administered in the studies was either too weak to obtain significant results, or too high, becoming pro-oxidative and eliminating the basal concentration of ROS (physiological role). Involvement of mitochondria and glycation are particularly discussed. Nutrigenomics and nutrigenetics are also discussed, which study the interactions between genetics and nutrition. Genetic polymorphism can explain the variable absorption of micronutrients. This concept leads to a truth believed by all scientists, namely the need to provide the right anti-oxidant, in adequate quantity, at the right place, at the right time and for a particular individual. To increase the anti-oxidant capacity of the body, the exogenous intake of anti-oxidants must be increased or the endogenous synthesis of anti-oxidants (SOD, GPX, GSH) must be stimulated. Targeting mitochondria and increasing their overall anti-oxidant defence system will be a challenge. Increasing the bioavailability of anti-oxidants and studying their passage through the blood-brain barrier must be also taken in consideration.

Key words: Anti-oxidants / oxidative stress / mitochondria / glycation / nutrigenomics

Abréviations utilisées

- SOD : SuperOxyde Dismutase
 FR : Free Radicals
 GPX : Glutathion PeroXidase
 GSH : Glutathion réduit
 RL : Radicaux libres
 ROS : Reactive Oxygen Species (Espèce réactive d'oxygène)
 DMLA : Dégénérescence Maculaire Liée à l'Âge
 AGE : Advanced Glycation End products (Produits avancés de glycation)
 ORAC : Oxygen Radical Absorbance Capacity
 PNNS : Programme National Nutrition Santé
 DJR : Dose Journalière Recommandée

1 Introduction

Les anti-oxydants bénéficient depuis 30 ans de nombreuses études cliniques chez l'Homme tendant à prouver leur action bénéfique sur la santé. Cependant,

diverses controverses à leur sujet voient le jour et mettent en doute leur utilité. Plusieurs raisons à toutes ces critiques : une mauvaise communication induisant le consommateur en erreur et un défaut d'études cliniques prenant en compte les nouvelles technologies telles que la nutriginétique et la nutriginomique.

Parmi les études controversées qui mettent en cause l'efficacité des anti-oxydants, la méta-analyse de Bjelakovic de 2004 concernant « toutes les études de supplémentation par des vitamines et anti-oxydants » amenait à croire que la supplémentation en β -carotène, vitamines A, C ou E, isolés ou associés entre eux n'apportait aucun effet favorable pour cinq cancers gastro-intestinaux. L'équipe a récidivé en 2006 et 2008 avec plusieurs publications traitant de l'implication d'une supplémentation en anti-oxydants dans la survenue de cancers.

Plus récemment, une équipe canadienne (Van Raamsdonk & Hekimi, 2009) est à l'origine d'une nouvelle polémique en mettant en doute la théorie du stress oxydatif et le rôle des espèces radicalaires oxygénées dans le vieillissement.

L'étude SU.VI.MAX, quant à elle, a pu mettre en évidence le phénomène « d'effet-dose » dans la supplémentation en anti-oxydants (Herberg, 2006).

Cette étude a confirmé l'effet protecteur de certains anti-oxydants, contre le cancer de la prostate, chez des sujets ayant un faible taux sanguin d'anti-oxydants. Cependant, aucune extrapolation n'a pu être faite pour d'autres anti-oxydants. Des effets négatifs ont par contre été observés lors de la supplémentation alimentaire chronique en anti-oxydants à doses nutritionnelles chez des femmes ayant, avant l'étude, un taux plasmatique d'anti-oxydants normal. On a observé chez celles-ci une augmentation de l'incidence du cancer de la peau. On voit bien dans ces exemples l'importance de l'effet-dose (effet pro-oxydant dans le deuxième cas). Notons aussi que dans ces études, les suppléments ont été réalisés avec des compléments alimentaires et non pas avec des fruits et légumes frais (importance de l'origine de l'anti-oxydant).

L'objectif de cet article est de faire un état des lieux sur les différentes controverses à propos des anti-oxydants, de clarifier les zones d'ombre, discuter des moyens de définir leur mécanisme d'action et leur cible dans l'organisme. Nous allons tenter d'expliquer pourquoi les études cliniques ont obtenu autant de résultats négatifs. Nous souhaitons également apporter des réponses expliquant pourquoi le consommateur a perdu confiance et n'adhère plus à ce segment de marché qui, après avoir occupé le devant de la scène, a perdu toute crédibilité.

Finalement, nous proposerons des voies stratégiques vers lesquelles amener la recherche scientifique, pour aboutir enfin à des études cliniques fiables, garantissant du succès des anti-oxydants : non seulement renforcer les défenses anti-oxydantes générales, mais aussi cibler la mitochondrie et augmenter sa défense globale. Nous aborderons enfin les nouvelles voies technologiques à prendre en considération pour mener de bonnes études cliniques telles que la nutriginétique et la nutriginomique, et discuter de leur impact futur sur la personnalisation et l'individualisation des suppléments en anti-oxydants.

2 Radicaux libres (RL) et espèces réactives de l'oxygène (ROS) : quelles erreurs commises par les industriels ?

Lorsqu'on aborde le thème des anti-oxydants, des erreurs de terminologie sont perpétrées à longueur de temps, et majoritairement sur les boîtes de compléments alimentaires. On peut souvent lire de nombreux messages tels que « *Lutte contre les Radicaux Libres* », ou « *Effet Scavenger des Radicaux Libres* » ou encore « *Nettoyer votre corps des Radicaux Libres* ». Comment rétablir la vérité et stopper cet abus de langage ?

Les radicaux libres ont été diabolisés à tort, et ne sont pas tous responsables des dégâts dans l'organisme générés par le stress oxydant. Il existe deux types de ROS : les espèces radicalaires telles que le radical superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) ou le monoxyde d'azote (NO), et les espèces non radicalaires comme le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 .

Alors que les mentions indiquées sur les boîtes font comprendre que les anti-oxydants intégrés dans la formule ciblent uniquement les RL (bénéfiques et non bénéfiques...) sans toucher aux autres ROS, qui croire ? Les industriels doivent absolument savoir que tous les RL ne sont pas nos ennemis !

En effet, RL et ROS sont nécessaires au fonctionnement de l'organisme et ont un rôle physiologique dans la cellule : prolifération cellulaire, expression génique, production d'ATP, immunité... C'est le cas du radical superoxyde, médiateur régulant la vasodilatation capillaire, la prolifération cellulaire ou la transmission neuronale, mais aussi du monoxyde d'azote produit par différentes NO synthases au sein des neurones, des cellules endothéliales ou des macrophages à des fins de médiation. À l'inverse, certaines espèces, qui ne sont pas des RL, sont cependant hautement toxiques pour la cellule. C'est le cas du peroxyde d'hydrogène très réactif qui est toxique pour le neurone (Vauzour *et al.*, 2008).

Arrêtons alors de ternir l'image des RL ; les ROS sont utiles à faible dose et indispensables au bon fonctionnement physiologique de l'organisme, les éliminer complètement serait une erreur ! Une concentration basale de ROS, minime, est nécessaire pour les voies de signalisation cellulaire, et un excès d'anti-oxydants « nettoierait » cette petite quantité dont nous avons besoin dans de nombreux processus physiologiques. Ceci explique l'échec de nombreuses études cliniques, dans lesquelles l'effet dose n'était pas pris en compte. La dose testée était soit trop faible pour obtenir des résultats significatifs, soit trop forte, devenant ainsi pro-oxydante et éliminant la concentration basale d'anti-oxydants.

3 La vraie définition du stress oxydant

Les recherches ont identifié le stress oxydant comme cause première de plus de 130 maladies chroniques telles que le cancer (Riso *et al.*, 2009 ; Du *et al.*, 2009), le diabète (Bugger & Abel, 2008) et d'autres encore (Maladie de Parkinson, obésité, vieillissement cutané, DMLA...). L'étude de Ceriello en 2004 a mis en relation le stress oxydatif avec le diabète, l'insulino-résistance et les maladies cardiovasculaires.

Les origines du stress oxydant sont diverses : inflammation, cytokines inflammatoires (TNF α , interleukine-6), fer (pro-oxydant), hyperthermie, médicaments...

Il existe plusieurs sites de production des ROS : parmi ceux-ci, la membrane cellulaire et la mitochondrie (lors de la phosphorylation oxydative) (Loeb *et al.*, 2005).

Les conséquences du stress oxydant sont nombreuses et déjà bien documentées. Les ROS peuvent entraîner la peroxydation des lipides, responsable de la mise en place de la plaque d'athérome à l'origine des maladies cardiovasculaires (Castelao & Gago-Dominguez, 2009). Les protéines subissent également des phénomènes d'oxydation, ce qui altère leur structure et leurs propriétés biologiques. Enfin, l'atteinte oxydative de l'ADN peut entraîner des cassures au niveau chromosomique, une instabilité du génome et des mutations pouvant être à l'origine de la survenue de certains cancers.

Alors, quelle erreur a été commise et pourquoi a-t-elle été reprise si largement par l'industrie du complément alimentaire et agroalimentaire ? Tous ont pensé que le stress oxydant était le simple résultat d'un déséquilibre dans l'organisme entre la quantité d'oxydants et d'anti-oxydants (Sies, 1991). Tout ceci est faux, car que voudrait dire cette définition ? Tout simplement que pour éviter ou réduire le stress oxydant, il suffirait d'ingérer des anti-oxydants. Or, les anti-oxydants absorbés par voie exogène ne réduisent pas systématiquement le stress oxydant chez l'homme...

4 Quelle est la véritable définition du stress oxydant ?

C'est la conséquence d'un déséquilibre entre les oxydants (augmentation) et les anti-oxydants (diminution), responsable de l'altération de biomolécules (ADN, glucides, protéines, lipides), et de la perte de contrôle des voies de signalisation intracellulaires redox. Les ROS affectent l'état redox cellulaire qui contrôle l'expression des gènes (Trinei *et al.*, 2002). Les conséquences sont de deux types : positive (stimulation de la prolifération cellulaire) ou hautement dommageable pour la cellule (apoptose, voire nécrose dans le cas de grandes quantités de ROS).

On peut donc être certain d'une chose aujourd'hui, c'est que les anti-oxydants n'agissent pas uniquement par simple activité anti-oxydante et piégeage de ROS. Les ROS affectent les voies de transduction intracellulaires sensibles au déséquilibre redox, et c'est à ce niveau que les anti-oxydants ont un rôle à jouer. Ces derniers affecteront à leur tour l'expression de gènes *via* l'état redox cellulaire, et pourront lutter contre le stress oxydant en place.

À l'heure actuelle, il faut donc prendre en considération le rôle des anti-oxydants, au-delà de leur

action de *scavenging* (nettoyage), mais surtout au niveau de leur impact sur l'état redox affectant l'expression génique.

5 Nature de l'anti-oxydant, synergie et effet-dose : beaucoup de paramètres à considérer !

L'origine de l'anti-oxydant, tout d'abord, est primordiale : il faut toujours préférer une molécule naturelle plutôt que synthétique pour espérer un effet bénéfique. Par exemple, la vitamine E naturelle est préférable à la vitamine E synthétique, car elle est mieux absorbée et demeure plus longtemps dans les tissus. Elle est donc plus efficace et, à dose égale, plus puissante que la vitamine E synthétique (Miller, 2004). Cependant, les ingrédients naturels sont beaucoup plus chers, et dans le cas de l'industriel, seul le facteur prix intervient.

La synergie avec d'autres molécules est aussi à prendre en compte. L'effet anti-oxydant des polyphénols du thé vert est par exemple inhibé en présence de lait (Lorenz *et al.*, 2007).

Enfin, l'effet-dose est capital. À noter que, selon les conditions d'utilisation, les effets pro-oxydants de certains anti-oxydants sont largement documentés *in vitro* (vitamine C, vitamine E) et *in vivo* (vitamine C). Ces effets toxiques sont complexes et font intervenir aussi bien les propriétés des substances que leur métabolisme. De plus, leurs propriétés modulatrices au niveau cellulaire sont souvent rencontrées à de très faibles doses. Or, elles sont loin d'être toujours liées à leur activité anti-oxydante, et ces faibles doses sont précisément compatibles avec des apports de type nutritionnel. Jamais trop d'anti-oxydants au risque d'entraîner un effet pro-oxydant !

Un exemple flagrant reliant l'origine et la dose de l'anti-oxydant permet de comprendre les problématiques précédemment citées. D'après les résultats de deux études portant sur des fumeurs, la prise de suppléments de β -carotène de synthèse à très hautes doses (20 mg ou 30 mg) augmente l'incidence du cancer du poumon (Heinonen, 1994; Albanes *et al.*, 1996; Omenn *et al.*, 1996). Le β -carotène serait sensible à l'oxydation causée par les produits de dégradation de la fumée de cigarette. Comme l'organisme des fumeurs n'a plus la capacité de recycler les sous-produits de carotène oxydé, ces derniers deviennent pro-oxydants et peuvent aggraver le processus de carcinogénèse (Siems *et al.*, 2005). Le résultat de cette étude montre bien qu'un anti-oxydant synthétique à forte dose devient pro-oxydant.

6 Dosage du pouvoir anti-oxydant : revoyons la notion d'ORAC !

6.1 L'activité anti-oxydante in vitro d'une molécule ne reflète pas son activité anti-oxydante in vivo

Comment mesurer l'effet potentiellement bénéfique d'un anti-oxydant sans disposer de méthodes d'analyse standardisées? Au sein d'une pléthore de laboratoires proposant tous les meilleures techniques de dosage pour des résultats encore meilleurs, il est tout simplement impossible de s'y retrouver. À l'heure actuelle, aucune étude standardisée n'est disponible pour mesurer l'effet anti-oxydant.

Parmi les aberrations, on trouve la controverse sur la valeur ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*). Celle-ci sert à évaluer la capacité anti-oxydante globale d'un aliment. La mesure ORAC d'une molécule *in vitro* dans une matrice ne veut pas dire qu'elle sera la même *in vivo* dans le sang, bien au contraire, car il faut tenir compte de la biodisponibilité de l'anti-oxydant considéré.

Un exemple frappant est celui de l'extrait de polyphénols de vin rouge : sa valeur ORAC très élevée ne reflète en rien sa présence dans l'organisme. Après prélèvement sanguin, on ne retrouve qu'une quantité infime voire nulle de polyphénols. Il existe donc un décalage certain entre les valeurs communiquées sur l'emballage et l'effet physiologique *in vivo*.

Nous pointons du doigt les industriels, grands utilisateurs de valeurs ORAC, qui tentent de convaincre le consommateur de l'effet miraculeux de leurs molécules, consommateur qui n'est plus dupe...

6.2 Des problèmes de barrières et de biodisponibilité

Cette problématique importante concerne les deux barrières physiologiques : intestin/sang et sang/cerveau.

Comment certains micronutriments hydrophiles pourraient-ils passer au travers des membranes cellulaires lipophiles? Lorsque certains métabolites produits après ingestion arrivent à franchir l'entérocyte, pourquoi ne les retrouve-t-on qu'à dose infime dans le sang?

Alors, comment augmenter la biodisponibilité des anti-oxydants afin d'optimiser leur absorption, et faire en sorte que tissus et organes profitent de leurs effets protecteurs? Nous devons pour cela utiliser des ingrédients d'origine naturelle, qui bénéficient d'une étude de biodisponibilité prédéterminée, sans négliger le rôle de la matrice alimentaire qui pourrait bloquer ou faciliter l'absorption. L'exemple le plus frappant est celui de la vitamine E (Miller, 2004), voir plus haut.

De plus à l'heure actuelle, les scientifiques étudient la barrière hémato-encéphalique et tentent d'éclaircir son fonctionnement. L'équipe de Bahat-Stroomza en 2005 est cependant parvenue à identifier des anti-oxydants capables de la franchir à l'aide de modèles expérimentaux.

Sur certains emballages, on peut lire par exemple que la vitamine C « *renforce la mémoire* » ou qu'elle « *ralentit le vieillissement neuronal* »... Or, la vitamine C, hydrophile, ne peut franchir cette barrière. Il est alors absurde de supplémenter un individu en molécule hydrosoluble pour prévenir une pathologie neurodégénérative!

Toute stratégie anti-oxydante visant à limiter le vieillissement cérébral doit donc prendre en compte ce problème de la barrière hémato-encéphalique.

6.3 Quelles stratégies et perspectives pour l'utilisation des anti-oxydants en 2009 ?

Trois stratégies sont proposées pour augmenter et optimiser la défense anti-oxydante de l'organisme :

- augmenter le capital anti-oxydant général,
- augmenter le capital anti-oxydant mitochondrial,
- personnaliser la supplémentation en anti-oxydant.

6.3.1 Comment augmenter le capital anti-oxydant général ?

Des solutions pour réduire le stress oxydant à l'origine de nombreuses pathologies chroniques seraient non seulement de stimuler la synthèse endogène d'anti-oxydants, mais aussi de potentialiser l'apport exogène en anti-oxydants.

Certains composés anti-oxydants comme les vitamines E, C, les caroténoïdes ou polyphénols apportés par l'alimentation peuvent piéger les ROS dans l'organisme *via* leur activité de « piégeur de ROS » ou « scavenger » (Kinsky *et al.*, 1989; Packer *et al.*, 1991; Bors *et al.*, 1990).

Le programme national nutrition santé (PNNS) nous recommande de consommer quotidiennement cinq fruits et légumes riches en minéraux et vitamines anti-oxydants. Cet apport devrait être suffisant pour couvrir les besoins, mais cette recommandation risque de ne pas être suivie, en raison des contraintes budgétaires actuelles des ménages (Caillavet *et al.*, 2005; Darmon, 2006; Borel *et al.*, 2007).

À côté de ces considérations économiques, la question de la qualité est aussi à prendre en compte. En effet, les teneurs en anti-oxydants des fruits et légumes du commerce ne peuvent être garanties... Tenant compte des temps de voyage, de la fraîcheur, de la forme de la denrée (congelée ou non), on ne peut plus,

de nos jours, se fier aux compositions anciennement établies, ce qui explique la nécessité de supplémenter les gens en anti-oxydants.

Ensuite, il faut trouver une stratégie pour augmenter la synthèse endogène d'anti-oxydants; c'est le cas du glutathion réduit qui protège la cellule des attaques de ROS. Une autre stratégie de nature enzymatique peut être utilisée; elle vise à détruire les superoxydes et peroxydes. Ainsi, les superoxydes dismutases (SOD) et glutathion peroxydases (GPX) sont capables d'éliminer l'anion superoxyde par réaction de dismutation (Zelko *et al.*, 2002). L'étude de McCord et Edeas publiée en 2006 discutait ce thème et proposait une vision future de la SOD et du stress oxydant dans les pathologies chroniques.

Enfin, nous devons nous attarder sur un point sensible : l'expression génique. En effet, l'altération de l'état redox cellulaire et la variation de l'expression des gènes sont des conséquences établies du stress oxydant qui n'aurait pas pu être pris en charge par les systèmes de défense anti-oxydants de la cellule. La voie d'avenir est donc de rechercher des ingrédients capables de pénétrer dans la cellule pour réguler les gènes et donc la synthèse endogène d'anti-oxydants (comme la SOD et le GPX).

6.3.2 Comment renforcer la défense anti-oxydante mitochondriale ?

À l'heure actuelle, l'altération de la mitochondrie est impliquée dans de multiples pathologies comme le diabète de type II. Afin de mieux comprendre son rôle central dans l'installation de pathologies chroniques, il convient de rappeler quelques notions.

Les êtres vivants trouvent leur énergie dans la respiration mitochondriale. Glucides, lipides et protéines apportés par l'alimentation sont utilisés par cet organisme pour donner de l'ATP, principale forme d'énergie utilisée pour le fonctionnement cellulaire. La dernière étape de la chaîne de réaction réduit par quatre électrons la molécule d'oxygène sans libérer d'espèces radicalaires. Toutefois, au contact entre l'oxygène et certaines protéines, des ROS sont produits lors du fonctionnement de la chaîne respiratoire mitochondriale. Si usuellement cette production reste infime et ne concerne qu'un faible pourcentage de l'oxygène utilisé par la respiration, elle peut s'amplifier en cas d'effort physique intense, d'inflammation (effet du $\text{TNF}\alpha$), ou lors de désordres nutritionnels (carence en ubiquinone), qui augmentent avec l'âge.

Lors du vieillissement normal, la production d'ATP est réduite, et celle de ROS est exacerbée.

Mitochondrie, obésité et diabète de type II : des relations de cause à effet

L'implication du stress oxydant mitochondrial dans l'obésité, véritable problème de santé publique, est une évidence (Niedowicz *et al.*, 2005; Maritim, 2003; Johansen *et al.*, 2005; Wiernsperger, 2003; Cerellio, 2003; Mehta *et al.*, 2006). Le stress oxydant joue un rôle critique non seulement dans son développement, mais aussi dans la survenue des pathologies qui lui sont associées (Syndrome Métabolique).

On a observé chez l'homme obèse une production accrue de ROS, une défense anti-oxydante générale amoindrie, et de faibles niveaux d'anti-oxydants (vitamine E, A, lycopène...) (Furukawa *et al.*, 2004). De plus, une surproduction de ROS par la mitochondrie a été observée. Cela suggérerait que les patients souffrant d'une obésité sévère aient un haut niveau de stress oxydant, secondaire à une production incontrôlée de ROS, et une incapacité à contrer ce stress mitochondrial.

Le stress oxydant mitochondrial est également impliqué dans l'installation du diabète de type II chez les patients obèses (Martinez, 2006). En effet, une altération du fonctionnement des mitochondries du muscle squelettique a été impliquée dans le développement du diabète de type II. Cependant, il n'est toujours pas clair si cette résistance à l'insuline est une conséquence ou bien une cause du stress oxydant mitochondrial. Des travaux ont montré que les dysfonctionnements mitochondriaux ne précédaient pas l'apparition de l'insulino-résistance (Bonnard, 2008) et semblaient en fait la conséquence d'un stress oxydant musculaire associé à l'hyperglycémie et l'hyperlipidémie. Ces résultats, confirmés *in vitro* dans les cellules musculaires humaines, font du stress oxydant une nouvelle cible pour améliorer les capacités oxydatives dans le muscle des patients obèses et diabétiques de type II.

Conséquences de la détérioration de la mitochondrie : phénomène de glycation

La détérioration des mitochondries est une conséquence importante du vieillissement. Ainsi, la mauvaise gestion des déchets issus de la production énergétique par la chaîne respiratoire aura des conséquences néfastes importantes. En effet, glucides et lipides ne sont plus mobilisés par la mitochondrie, et subissent un phénomène de glycation, de même que les protéines et les acides nucléiques.

La glycation correspond à la fixation d'un sucre réducteur (glucose ou fructose) ou d'un aldéhyde sur la fonction amine N-terminale (le radical NH_2) d'une

protéine ou d'un acide aminé (le plus souvent une lysine). Cette réaction non enzymatique forme un produit appelé base de Schiff; elle est dépendante du temps d'exposition au sucre et de la concentration de celui-ci. Suite à cela, un réarrangement moléculaire ou réarrangement d'Amadori a souvent lieu (Hunt *et al.*, 1988). Le taux de formation des produits d'Amadori est également proportionnel à la concentration en sucre. Une réaction plus complexe s'engage alors, la réaction de Maillard, qui aboutit à la formation des AGEs (Advanced Glycation End products) ou produits de Maillard. Le taux de formation des AGEs est indépendant de la concentration en sucre mais dépendant de la durée de l'hyperglycémie et du taux de *turn-over* protéique. Alors que les deux premières étapes se stabilisent à un plateau et sont potentiellement réversibles selon la glycémie, la troisième par contre est irréversible, progresse quelle que soit la glycémie et génère automatiquement des composés réactifs. Ce sont ces composés réactifs qui sont responsables du vieillissement tissulaire, ce sont des oxydants.

Les produits formés ne peuvent ni être détruits par le protéasome, ni libérés de la cellule, si bien qu'ils s'entassent indéfiniment. La cellule, débordée, subit des atteintes croissantes de son métabolisme, et meurt finalement par apoptose.

Les travaux de ces 20 dernières années montrent que les AGEs jouent un rôle important dans le déterminisme des lésions cellulaires et tissulaires du diabète, du vieillissement vasculaire et de l'insuffisance rénale (Hudson *et al.*, 2005).

Les AGEs altèrent le renouvellement cellulaire, les protéines qui ont subi la glycation perdent leur fonction initiale et sont plus résistantes à la protéolyse (collagène), d'où une altération de la matrice extracellulaire. La glycation des lipoprotéines LDL réduit leur captation par leurs récepteurs normaux et on observe également une réduction de la liaison des lipoprotéines HDL après leur glycation : il en résulte une diminution du retour du cholestérol des tissus périphériques vers le foie. Au niveau des macrophages, la glycation des LDL et des HDL est responsable d'une synthèse accrue d'esters de cholestérol. Tous ces phénomènes favorisent l'hypercholestérolémie ce qui, une fois encore, explique que le stress oxydatif mitochondrial puisse être à l'origine de pathologies cardiovasculaires.

L'étude de Peterszegi *et al.* (2006), étudiant l'effet des AGEs sur la prolifération et la mort cellulaire, a suggéré un rôle, du moins partiel, des ROS dans ce phénomène. L. Robert a publié la même année une étude mettant en relation le phénomène de vieillissement et les AGEs issus de la réaction de Maillard (Robert, 2006).

Prenons l'exemple de la glycation de la SOD, et son rôle dans l'aggravation du diabète. En cas d'hy-

perglycémie, les protéines, dont la SOD, subissent une glycation. La SOD, déstructurée, est inactivée et ne peut plus alors jouer son rôle d'anti-oxydant naturel, les ROS s'accumulent, le stress oxydant est amplifié et les complications du diabète apparaissent. C'est une sorte de cercle vicieux !

Toutes ces manifestations sont amplifiées avec l'âge : altération de la mitochondrie, production amplifiée de ROS et génération de stress oxydant (Rosca *et al.*, 2005).

Il semble ainsi évident qu'une des voies stratégiques primordiales pour réduire le stress oxydant responsable de pathologies chroniques est de renforcer la défense anti-oxydante de la mitochondrie. Il faut déterminer la manière de cibler la mitochondrie, et de faire pénétrer l'anti-oxydant à travers ses deux membranes. Un article sur la génération de ROS par la mitochondrie et leur implication dans l'obésité a été publié en 2007 (Edeas, 2007). Les stratégies mises en lumière par cet article consistent à cibler cet organite pour lutter contre les pathologies chroniques comme l'obésité. Pour cela, trois possibilités sont envisageables :

- *utiliser le potentiel négatif entre les membranes interne et externe via l'utilisation de transporteurs cationiques ;*
- *cibler les enzymes mitochondriales qui libèrent les produits actifs d'un médicament ;*
- *cibler les récepteurs mitochondriaux spécifiques : MitoQ, mito Vit-E, mitoPBN et mitoperoxidase qui sont des molécules reconnues comme anti-oxydantes lorsqu'elles sont couplées avec un groupement triphénylphosphate.*

6.3.3 Nutriginétique, nutriginomique et polymorphisme génétique : l'avenir de la nutrition ?

Le défi des scientifiques est d'une part, de prévenir les pathologies chroniques (obésité, diabète, cancer, maladies neurodégénératives et cardiovasculaires...) et d'autre part, de mettre en place pour chaque individu, une alimentation plus saine et adaptée à son génome. C'est là que la nutriginomique et nutriginétique, disciplines naissantes et prometteuses analysant la manière dont les gènes et les nutriments interagissent, interviennent.

La nutriginétique étudie la façon dont la génétique affecte la réponse physiologique de l'organisme à l'alimentation, et insiste sur le fait qu'à chaque individu peuvent être donnés des conseils diététiques personnalisés.

La nutriginomique, quant à elle, explique la manière dont l'alimentation influence le génome. Elle donne des indications sur les mécanismes impliqués

dans la fonction de nutrition. Elle permet également le phénotypage et l'identification de biomarqueurs indicateurs des pathologies. À terme, elle aidera à mettre en place une nutrition personnalisée et à développer de nouveaux aliments adaptés aux besoins de chacun et ainsi garants du maintien d'un bon état de santé.

L'implication de cette nouvelle science dans les phénomènes individuels d'absorption de nutriments ou de molécules ne fait plus l'ombre d'un doute (Borel *et al.*, 2007). Les gènes sont en effet impliqués dans l'absorption des anti-oxydants, c'est le cas des gènes codant pour des protéines responsables du passage des nutriments dans l'entérocyte (récepteurs), ou ceux codant pour les enzymes impliquées dans la digestion (lipases, estérases, protéases...).

La variabilité de la capacité individuelle d'absorption des anti-oxydants est ainsi reliée aux récepteurs retrouvés au niveau de l'entérocyte tels que le CD36, récepteur du β -carotène, ou encore le SRB1 qui est le récepteur de la vitamine E. Le polymorphisme génétique est responsable de la variabilité des protéines réceptrices impliquées dans l'absorption des micronutriments. Ainsi, certains individus que l'on dit « bons métaboliseurs » vont absorber la totalité de la dose d'anti-oxydants ingérés, et atteindre ainsi sans difficulté la Dose Journalière Recommandée (DJR). À l'inverse, un « faible métaboliseur » devra ingérer une plus grande quantité de ce même anti-oxydant pour espérer bénéficier de la DJR.

Il existe également au niveau de l'entérocyte des protéines de deux natures liées à l'absorption des anti-oxydants hydrophiles (la vitamine C et les composés phénoliques) et hydrophobes (la vitamine E et les caroténoïdes).

Ainsi, il ne devrait pas être exceptionnel, dans un futur proche, de considérer le profil génétique individuel avant toute prescription d'un régime alimentaire ou de compléments alimentaires. Notons qu'aucune étude clinique considérant le génome n'a encore été effectuée.

7 Finalement, comment réaliser une bonne étude clinique ?

À l'origine de cette interrogation, des faits : échec des supplémentations en anti-oxydants et résultats contradictoires des études cliniques. En effet, le pouvoir anti-oxydant de certaines molécules a été montré *in vitro*, mais les études menées sur l'homme donnent des résultats très contradictoires. La recherche scientifique a donc été amenée à imaginer de nouvelles voies stratégiques vers lesquelles s'orienter.

Finalement, pour faire une bonne étude clinique, il « suffit » de prendre en considération tous les

points qui ont été soulevés dans cet article : nature de l'anti-oxydant, effet-dose... De plus, on connaît depuis quelques temps l'impact d'aliments et nutriments particuliers que nous ingérons sur l'expression de nos gènes. Chacun de nous sait qu'en consommant les mêmes types d'aliments, notre organisme réagit différemment : excès pondéral, allergies, développement de maladies cardiaques, alors que d'autres personnes ne subiront aucun effet néfaste. La personnalisation de la nutrition est un facteur clé ! Ainsi, avant tout essai clinique, il faudra prendre soin de classer les individus dans des « catégories » génétiquement semblables pour que les résultats puissent être interprétés et significatifs, et que la supplémentation future en anti-oxydants de la population soit enfin efficace.

8 Discussion

Face à toutes les controverses citées, il n'est pas étonnant d'observer que le marché des compléments alimentaires soit en stagnation, voire en décroissance, ayant perdu la confiance du consommateur. Est-ce la conséquence d'une mauvaise communication entre la science et le marketing ? Pourquoi le terme anti-oxydant s'est-il banalisé ?

Aujourd'hui, il est important de réfléchir aux stratégies à mettre en œuvre pour que l'industrie des anti-oxydants se développe et perdure. Pour cela il faut savoir se poser les bonnes questions : comment crédibiliser le marché des anti-oxydants, de quelle manière l'industrie agroalimentaire peut-elle participer à cette évolution, comment faire pour que science et marketing s'entendent ?

Dans un premier temps, il a fallu redéfinir le stress oxydant : il n'est pas le simple résultat d'un déséquilibre entre oxydants et anti-oxydants, mais également la conséquence de l'état redox cellulaire. La production excessive de ROS affectant cet état aura des conséquences désastreuses sur l'expression génique. Puis, il convient de mieux comprendre leurs mécanismes d'action, pour les utiliser dans les meilleures conditions. Des méthodes de dosage standardisées doivent absolument être mises en place pour pouvoir donner des résultats fiables. La qualité de l'anti-oxydant est à considérer : l'origine naturelle doit toujours être préférée. Les industriels doivent aussi cesser la communication de valeurs ORAC, qui n'ont aucun fondement scientifique quant au pouvoir bénéfique d'un complément alimentaire anti-oxydant. Une réglementation européenne récente oblige d'ailleurs les industriels à apporter la preuve scientifique des allégations qu'ils avancent pour leurs produits à propos de la santé.

Pourquoi tant d'études cliniques ont-elles échoué ? Parce qu'elles n'ont pas pris en compte les facteurs

importants : la nature de l'anti-oxydant, « l'effet-dose » et l'existence de deux mécanismes distincts d'action des anti-oxydants (réactions stœchiométrique et enzymatique).

Pour aboutir à des essais cliniques crédibles, des voies stratégiques ont été proposées. Il convient avant tout de renforcer la défense anti-oxydante générale, mais aussi celle de la mitochondrie. Il faut également diminuer la production endogène de ROS et augmenter la synthèse endogène d'anti-oxydants (SOD, GPX, GSH). Il convient d'étudier et d'augmenter la biodisponibilité des anti-oxydants et enfin de cibler le cerveau pour élucider les mystères de la barrière hémato-encéphalique.

En dernier lieu, nous avons discuté la nutriginomique, qui a mis en évidence l'importance du polymorphisme génétique individuel avant de lancer tout essai clinique. C'est une stratégie cruciale.

Aujourd'hui, nous avons un but à atteindre : fournir la bonne quantité du bon anti-oxydant, au bon moment, et à une personne en particulier, d'où l'importance du microenvironnement, de la nutriginétique et de la nutriginomique. Bien que les anti-oxydants ne soient pas des produits magiques, il est essentiel de les intégrer dans un mode de vie sain et une alimentation variée.

Références

- Albanes D., Heinonen O.P., Taylor P.R., Virtamo J., Edwards B.K., Rautalahti M., Hartman A.M., Palmgren J., Freedman L.S., Haapakoski J., Barrett M.J., Pietinen P., Malila N., Tala E., Liippo K., Salomaa E.R., Tangrea J.A., Teppo L., Askin F.B., Taskinen E., Erozan Y., Greenwald P., Huttunen J.K., Alpha-tocopherol and beta-carotene supplements and lung cancer incidence in the alpha-tocopherol, beta-carotene cancer prevention study: effects of base-line characteristics and study compliance. *J Natl Cancer Inst*, 1996, 6, 88, 1560-1570.
- Bahat-Stroomza M., Gilgun-Sherki Y., Offen D., Panet H., Saada A., Krool-Galron N., Barzilai A., Atlas D., Melamed E., A novel thiol Anti-oxidants that crosses the blood brain barrier protects dopaminergic neurons in experimental models of Parkinson's disease. *Eur J Neurosci*, 2005, 21, 637-646.
- Bjelakovic G., Nikolova D., Simonetti R.G., Glud C., Systematic review: primary and secondary prevention of gastrointestinal cancers with Anti-oxidants supplements. *Aliment Pharmacol Ther*, 2008, 28, 689-703.
- Bjelakovic G., Nikolova D., Glud L.L., Simonetti R.G., Glud C., Anti-oxidants supplements for prevention of mortality in healthy participants and patients with various diseases. *Cochrane Database Syst Rev*, 2008, 2, CD007176.
- Bjelakovic G., Nagorni A., Nikolova D., Simonetti R.G., Bjelakovic M., Glud C., Meta-analysis: Anti-oxidants supplements for primary and secondary prevention of colorectal adenoma. *Aliment Pharmacol Ther*, 2006, 24, 281-291.
- Bjelakovic G., Nikolova D., Simonetti R.G., Glud C., Anti-oxidants supplements for prevention of gastrointestinal cancers: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet*, 2004, 364, 1219-1228.
- Bonnard C., Durand A., Peyrol S., Chansaume E., Chauvin M.A., Morio B., Vidal H., Rieusset J., Mitochondrial dysfunction results from oxidative stress in the skeletal muscle of diet-induced insulin-resistant mice. *J. Clin. Invest*, 2008, 118, 789-800.
- Borel P., Moussa M., Reboul E., Lyan B., Defoort C., Vincent-Baudry S., Maillot M., Gastaldi M., Darmon M., Portugal H., Planells R., Lairon D., Human plasma levels of vitamin E and carotenoids are associated with genetic polymorphisms in genes involved in lipid metabolism. *J Nutr*, 2007, 137, 2653-2659.
- Bors W., Heller W., Michel C., Satan M., Flavonoids as Anti-oxidants: determination of radical-scavenging-efficiencies. *Methods in Enzymology*, 1990, 186, 343.
- Bugger H., Abel E.D., Molecular mechanisms for myocardial mitochondrial dysfunction in the metabolic syndrome. *Clin Sci (Lond)*, 2008, 114, 195-210.
- Caillavet F., Darmon N., Contraintes budgétaires et choix alimentaires. Pauvreté des ménages, pauvreté de l'alimentation ? *Inra Sciences Sociales*, 2005, 3-4.
- Castelao J.E., Gago-Dominguez M., Risk factors for cardiovascular disease in women: relationship to lipid peroxidation and oxidative stress. *Med Hypotheses*, 2008, 71, 39-44.
- Cerellio A., New insights on oxidative stress and diabetic complications may lead to a "causal" Anti-oxidants therapy. *Diabetes Care*, 2003, 26, 1589-1596.
- Ceriello A., Motz E., Is oxidative stress the pathogenic mechanism underlying insulin resistance, diabetes, and cardiovascular disease? The common soil hypothesis revisited. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004, 24, 816-823.
- Darmon N., Darmon M., Fruits et légumes : en a-t-on pour son argent ? *Equation Nutrition (APRIFEL)*, 2005, 46.
- Darmon N., Équilibre alimentaire : une question d'argent ? *Diabétologie et facteurs de risque*, 2006, 97, 7-11.
- Du Z.X., Zhang H.Y., Meng X., Guan Y., Wang H.Q., Role of oxidative stress and intracellular glutathione in the sensitivity to apoptosis induced by proteasome inhibitor in thyroid cancer cells. *BMC Cancer*, 2009, 9, 56.
- Edeas M.A. et al., Mitochondrial generation of reactive oxygen species (ROS) and its targeting by Anti-oxidantss. *Agro Food Industry Hi-Tech*, 2007, 18, 17-22.
- Furukawa S., Fujita T., Shimabukuro M., Iwaki M., Yamada Y., Nakajima Y., Nakayama O., Makishima M., Matsuda M., Shimomura I., Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Invest*, 2004, 114, 1752-1761.
- Heinonen O., Albanes D., The effect of vitamin E and β -caroten on the incidence of lung cancer and other cancers in male smokers. *N Engl J Med*, 1996, 334, 1150-1155.

- Hercberg S., The SU.VI.MAX study, a randomized, placebo-controlled trial on the effects of Anti-oxidants, vitamins and minerals on health. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 2006, 64, 397-401.
- Hudson B.I., Wendt T., Bucciarelli L.G., Rong L.L., Naka Y., Yan S.F., Schmidt A.M., Diabetic vascular disease : it's all the RAGE. *Antiox Rep Signal*, 2005, 7, 1588-1600.
- Hunt J.V., Dean R.T., Wolff S.P., Hydroxyl radical production and autoxidative glycosylation. Glucose autoxidative as the cause of protein damage in the experimental glycation model of diabetes mellitus and ageing. *Biochem J*, 1988, 256, 205-212.
- Johansen J.S., Harris A.K., Rychly D.J., Ergul A., Oxidative stress and the use of Anti-oxidants in diabetes: linking basic science to clinical practice. *Cardiovasc Diabetol*, 2005, 4, 5.
- Kinsky N., Anti-oxidants function of carotenoids. *Free Rad Biol Med*, 1989, 7, 617.
- Loeb L.A., Wallace D.C., Martin G.M., The mitochondrial theory of aging and its relationship to reactive oxygen species damage and somatic mtDNA mutations. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005, 102, 18769-18770.
- Lorenz M., Jochmann N., von Krosigk A., Martus P., Baumann G., Stangl K., Stangl V., Addition of milk prevents vascular protective effects of tea. *Eur Heart J*, 2007, 28, 219-223.
- Maritim A.C., Sanders R.A., Watkins J.B., 3rd. Diabetes, oxidative stress, and anti-oxidants: a review. *J Biochem Mol Toxicol*, 2003, 17, 24-38.
- Martínez J.A., Mitochondrial oxidative stress and inflammation: a slalom to obesity and insulin resistance. *J Physiol Biochem*, 2006, 62, 303-306.
- McCord J.M., Edeas M.A., SOD, oxidative stress and human pathologies: a brief history and a future vision. *Biomed Pharmacother*, 2005, 59, 139-142.
- Mehta J.L., Rasouli N., Sinha A.K., Molavi B., Oxidative stress in diabetes: A mechanistic overview of its effects on atherogenesis and myocardial dysfunction. *Int J Biochem Cell Biol*, 2006, 38, 794-803.
- Miller E.R. 3rd, Pastor-Barriuso R. *et al.*, Meta-Analysis: High-Dosage Vitamin E Supplementation May Increase All-Cause Mortality. *Ann Intern Med*, 2004, 10.
- Niedowicz D.M., Daleke D.L., The role of oxidative stress in diabetic complications. *Cell Biochem Biophys*, 2005, 43, 289-330.
- Omenn G.S., Goodman G.E., Thornquist M.D., Balmes J., Cullen M.R., Glass A., Keogh J.P., Meyskens F.L. Jr, Valanis B., Williams J.H. Jr, Barnhart S., Cherniack M.G., Brodtkin C.A., Hammar S., Risk factors for lung cancer and for intervention effects in CARET, the beta-Carotene and Retinol Efficacy Trial. *J Natl Cancer Inst*, 1996, 88, 1550-1559.
- Packer L., Protective role of vitamin E in biological systems. *Am J Clin Nutr*, 1991, 53, 1050S.
- Peterszegi G., Molinari J., Ravelojaono V., Robert L., Effect of advanced glycation end-products on cell proliferation and cell death. *Pathologie Biologie*, 2006, 54, 396-404.
- Riso P., Martini D., Visioli F., Martinetti A., Porrini M., Effect of broccoli intake on markers related to oxidative stress and cancer risk in healthy smokers and non-smokers. *Nutr Cancer*, 2009, 61, 232-237.
- Robert L., An original approach to aging: an appreciation of Fritz Verzar contribution in the light of the last 50 years of gerontological facts and thinking. *Gerontology*, 2006, 52, 268-274.
- Rosca M.G. *et al.*, Glycation of mitochondrial proteins from diabetic rat kidney is associated with excess superoxide formation. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2005, 289, F420-30.
- Sies H., Oxidative stress: from basics research to clinical application. *Am J Med*, 1991, 90, 31S-38S.
- Siems W., Wiswedel I., Salerno C., Beta-carotene breakdown products may impair mitochondrial functions—potential side effects of high-dose beta-carotene supplementation. *J Nutr Biochem*, 2005, 16, 385-397.
- Trinei M., Giorgio M., Cicalese A., Ventura A., Migliaccio E., Milia E., Padura I.M., Raker V.A., Maccarana M., Petronilli V., Minucci S., Bernardi P., Lanfrancone L., Pelicci P.G., A p53-p66Shc signalling pathway controls intracellular redox status, levels of oxidation-damaged DNA and oxidative stress-induced apoptosis. *Oncogene*, 2002, 21, 3872-3878.
- Van Raamsdonk J.M., Hekimi S., Deletion of the mitochondrial superoxide sod-2 extends lifespan in *Caenorhabditis elegans*. *PLoS Genet*, 2009, 5, e1000361.
- Vauzour D., Ravaioli G., Vafeiadou K., Rodriguez-Mateos A., Angeloni C., Spencer J.P., Peroxynitrite induced formation of the neurotoxins 5-S-cysteinyl-dopamine and DHB1: implications for Parkinson's disease and protection by polyphenols. *Arch Biochem Biophys*, 2008, 476, 145-51.
- Wiernsperger N.F., Oxidative stress as a therapeutic target in diabetes: revisiting the controversy. *Diabetes Metab*, 2003, 29, 579-585.
- Zelko I.N., Mariani T.J., Folz R.J., Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free Rad Biol Med*, 2002, 33, 337.