

Université de Franche-Comté



Phytonutriments
Intérêts nutritionnels et thérapeutiques

Année 2013

Pr. J. Vercauteren

Laboratoire de Pharmacognosie, IBMM - UMR CNRS 5247 –
Faculté de Pharmacie, Université Montpellier – jvercauteren@univ-montp1.fr
<http://jpm2001.free.fr/gnosie/index.htm>

Table des Matières

1	INTRODUCTION	5
2	L'OXYGÈNE ET LA VIE	6
2.1	L'HOMÉOSTASIE RÉDOX : UN ÉQUILIBRE VITAL	6
2.2	L'OXYDATION, QUAND L'ÉQUILIBRE EST ROMPU	7
2.2.1	<i>Espèces Oxygénées Réactives (EOR) : caractéristiques</i>	7
2.2.1.1	Forme activée par les UV	8
2.2.1.2	Formes issues de réductions radicalaires	8
2.2.2	<i>Origine des EOR in vivo</i>	8
2.2.2.1	Origine intracellulaire	9
2.2.2.2	Origine extracellulaire : la réaction de Maillard	9
2.2.2.2.1	Implications biomoléculaires de la réaction de Maillard <i>in vivo</i>	9
2.2.2.2.2	Conséquences cellulaires et tissulaires de la réaction de Maillard, <i>in vivo</i>	11
3	EOR ET STRUCTURES CELLULAIRES	12
3.1	OXYDATIONS RADICALAIRES « EN CHAÎNE » : PEROXYDATIONS	12
3.2	NATURE DES ACIDES GRAS OXYDÉS	12
3.2.1	<i>AGS vs AGPI : une différence de régiosélectivité</i>	12
3.2.2	<i>AGS vs AGPI : une différence de « réactivité chimique »</i>	13
4	PEROXYDATIONS : CONSÉQUENCES BIOLOGIQUES	13
4.1	EOR ET VIEILLISSEMENT	13
4.2	EOR ET PATHOLOGIES	13
5	LES MÉCANISMES DE DÉFENSE	14
5.1	LE PREMIER REMPART DE DÉFENSE : LES SYSTÈMES ENZYMATIQUES	14
5.1.1	<i>Les superoxydes dismutases</i>	14
5.1.2	<i>Les catalases</i>	15
5.1.3	<i>Les peroxydases</i>	15
5.1.4	<i>Bilan de l'action des systèmes enzymatiques</i>	15
5.2	LE DEUXIÈME REMPART DE DÉFENSE : LES « MICRONUTRIMENTS »	15
5.2.1	<i>Les vitamines E (tocophérols et tocotriénols) et C (ac. ascorbique)</i>	15
6	AUTRES « PHYTONUTRIMENTS »	16
6.1	L'ÉPIDÉMIOLOGIE : LE « FRENCH PARADOX »	16
6.1.1	<i>Nature de ces substances « vitales » : les polyphénols</i>	17
6.1.1.1	Les polyphénols : substances de défense des plantes	17
6.1.1.2	Structures des polyphénols	18
6.1.1.3	AROMAGÈNESE (origine des polyphénols)	18
6.1.1.3.1	Voie de l'acide shikimique -> "shikimates"	18
6.1.1.3.2	Voie mixte : "acétates" + "shikimates"	19
6.1.1.3.3	Biogenèse du noyau stilbénique : le resvératrol	19
6.1.1.4	Les propriétés physico-chimiques des polyphénols	19
6.1.1.4.1	Solubilité : entre hydrophilie et lipophilie	19
6.1.1.4.2	Anti-oxydants, piègeurs de radicaux libres	20
6.1.1.5	Importance des polyphénols végétaux dans l'alimentation humaine	20
6.2	LES POLYPHÉNOLS : DE LA PLANTE À L'ALIMENT	21
6.2.1	<i>tanins condensés (et hydrolysables)</i>	21
6.2.2	<i>anthocyanosides</i>	21
6.2.3	<i>stilbénoides</i>	21
6.2.4	<i>Autres polyphénols</i>	21
6.3	PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES DES POLYPHÉNOLS	22
6.3.1	<i>Les polyphénols inhibent la lipoperoxydation</i>	22
6.3.2	<i>Polyphénols et peroxydations en chaîne</i>	22
6.3.3	<i>Pouvoir antioxydant : synonyme de qualité santé</i>	22
6.3.4	<i>Propriétés des polyphénols in vitro</i>	23
6.3.4.1	Antiagrégants plaquettaires	23
6.3.4.2	Antiathérotrombotiques, anti-inflammatoires	23
6.3.4.3	Anti-Alzheimer	23
6.3.4.4	Anticancéreux	23

Phytonutriments (*Polyphénols, Vitamines, ...*) : intérêts nutritionnels et thérapeutiques

6.4	PROPRIÉTÉS DES POLYPHÉNOLS <i>IN VIVO</i>	24
6.4.1	<i>Ralentissement du vieillissement</i>	24
6.4.2	<i>Diminution de l'impact des principales pathologies</i>	24
6.4.3	<i>Diminution de l'impact des AGEs. Inversion des AGEs ... et rajeunissement ?</i>	25
7	LES LEÇONS D'UNE ALIMENTATION ÉQUILBRÉE	25
7.1	LES POLYPHÉNOLS : UNE GRANDE DIVERSITÉ ET UNE ABONDANCE, GAGES D'EFFICACITÉ.....	25
8	CONTRADICTIONS, QUESTIONS, RÉPONSES.....	26
8.1	LES RÉSULTATS CONTRADICTOIRES SONT NOMBREUX	26
8.1.1	<i>L'inversion des effets attendus</i>	26
8.1.2	<i>Le retour à une situation confortable ?</i>	27
8.1.3	<i>La "vitamine E" = un mélange de huit molécules</i>	27
8.1.3.1	<i>Une grande ressemblance chimique, de grandes différences de réactivité</i>	27
8.2	SUPPLÉMENTATIONS ?	27
8.2.1	<i>α-tocophérol seul</i>	27
8.2.2	<i>α-tocophérol naturel vs synthétique</i>	28
8.3	PERTINENCE DES DONNÉES BIOLOGIQUES ?	28
8.3.1	<i>Bon ou mauvais cholestérol</i>	28
8.3.2	<i>Le rôle de la vitamine E : à reconsidérer en totalité ?</i>	28
8.4	DES ÉLÉMENTS DE RÉPONSES.....	29
8.4.1	<i>Vasorelaxation</i>	29
8.4.2	<i>Biodisponibilité/métabolisme</i>	29
8.4.2.1	<i>Action de la flore colique humaine</i>	29
8.4.2.2	<i>Expérimenter chez l'homme « grandeur nature »</i>	29
9	ALIMENTATION EN LIPIDES : UN « ENRICHISSEMENT » À LONG TERME.....	30
9.1	UNE DIFFÉRENCE DE « MESSAGE BIOLOGIQUE ».....	31
9.2	LES CONSÉQUENCES D'UNE MAUVAISE QUALITÉ DES GRAISSES	31
9.3	UN CAS PARTICULIER : LE CHOLESTÉROL (FONCTIONNALITÉ).....	32
9.4	LE STRESS "OXYDANT" : LEQUEL ?	33
9.5	LA RÉACTION DE MAILLARD <i>IN VIVO</i> : UN STRESS "CARBONYLÉ" AUSSI	33
9.6	LE DEVOIR DU SCIENTIFIQUE	33
	EN CONCLUSION.....	33

Phytonutriments : intérêts nutritionnels et thérapeutiques

Joseph VERCAUTEREN

Laboratoire de Pharmacognosie, Faculté de Pharmacie - 15, Avenue Charles Flahault - B.P. 14491 Université Montpellier
34093 MONTPELLIER Cedex 5 France - email: jvercauteren@univ-montpl.fr

1 INTRODUCTION

Les Phytonutriments sont des éléments issus des plantes exclusivement, qui ne sont pas indispensables à la vie (comme le sont les métabolites primaires). La présence de ces « métabolites secondaires » est cependant indispensable à un « bon métabolisme général ».

Nous n'aborderons donc dans ce cours que les substances qui font partie de notre alimentation (ou d'une éventuelle supplémentation) et qui ont une origine **végétale**. Ainsi, parmi les phytonutriments, les recherches ont-elles focalisé l'intérêt sur 3 vitamines antioxydantes (A, E et C) et sur 4 éléments-traces (Cu, Mn, Se et Zn), essentiels à l'activité enzymatique de superoxide-dismutases et autres glutathion-peroxidases.

À côté des vitamines (A, E et C), des molécules, moins "reconnues" officiellement comme « vitales », figurent les **POLYPHÉNOLS**. Ils en possèdent pourtant tous les éléments caractéristiques et ont d'ailleurs été considérés comme tels, au moment de leur découverte par Szwent-Jyorggy. Aujourd'hui, ce sont les « chefs de file » des antioxydants : ils possèdent tous une structure **PHÉNOLIQUE** aux propriétés **RÉDOX** considérables, qui en font des molécules d'un intérêt « santé » de premier plan.

Contribuant à la qualité de l'alimentation, en lien direct avec les propriétés antioxydantes des polyphénols qui les protègent, dans la catégorie des lipides, une place spéciale sera réservée dans ce cours aux **acides gras insaturés et polyinsaturés**. On les appelle aussi, des acides gras « essentiels » ... (à la vie, bien sûr !). Les rétinoïdes (rétinols et isomères ou leurs esters), à propriétés vitaminiques A (ou « pro-vit. A »), bien qu'également anti-oxydants lipidiques, doivent être considérés comme un cas particulier car il ne sont pas issus directement des plantes.

Plutôt que de considérer que les habitudes alimentaires pouvaient prédisposer les populations à la maladie, certains scientifiques, convaincus que « *la mort ne se situait pas forcément dans l'assiette* » et imaginant le contraire, ont plutôt recherché à en mesurer les effets protecteurs. De fait, un nombre croissant d'études épidémiologiques visant à mieux connaître l'impact de l'alimentation sur la santé, « montrent » qu'une alimentation « équilibrée » de « type méditerranéen » {Keys, 1975 #4} est fortement associée à une meilleure santé et à une plus grande longévité {Saint Leger, 1979 #14355; Renaud, 1992 #25707}. Ce qui ressort, en particulier de ces études {Arveiler, 1990 #156; Cambou, 1990 #157; Jost, 1990 #158; Richard, 1990 #159}, c'est qu'une telle alimentation assure une protection contre les maladies cardiovasculaires mais aussi, contre le cancer {Renaud, 1999 #25699} ou les maladies dégénératives.

Les « espèces oxygénées réactives » (EOR) sont largement impliquées dans la plupart des désordres qui accompagnent ces pathologies et dans de nombreux autres désordres (inflammation, vieillissement, ...). Nous verrons comment les polyphénols, par leurs aptitudes exceptionnelles à combattre les EOR, peuvent interférer avec les mécanismes concernés. Mais, de manière plus récente, ont été mises en évidence leurs capacités à piéger les stresseurs carbonyles, à l'origine des réactions de glycation, des réactions de Maillard, responsables de la formation de leurs adduits ultimes que sont les AGEs (« Advanced Glycation Endproducts »).

Pour comprendre les explications les plus fiables qui rationalisent ces propriétés, il sera rappelé les notions fondamentales suivantes :

- Nature et origine des espèces oxygénées réactives (EOR).
- Propriétés des EOR :
 - **bénéfiques** : les EOR se révèlent indispensables, par exemple, pour assurer la défense de notre organisme. Le système phagocytaire libère toutes sortes d'EOR (NO•, peroxy-nitrite, chloronium, hypochlorite et autre

perchlorate, ...) visant à détruire l'intégralité de la matière organique de l'agresseur. Mais également, certaines EOR jouent le rôle de neuromédiateur. C'est le cas, par exemple, du radical $\text{NO}\cdot$, redoutable d'efficacité, pour réguler la pression artérielle de manière instantanée !

➤ **péjoratives** : à l'inverse, les EOR peuvent être beaucoup moins favorables et engendrer des dégâts importants, corrélativement au développement de pathologies majeures, participer au vieillissement cellulaire, ...

- Nature et origine des stresseurs carbonylés (SC).
- Propriétés des SC : formation des AGEs et d'EOR.
- Les systèmes de défense de l'organisme pour « détoxiquer » les EOR et, comment ces systèmes peuvent être débordés.
- Les propriétés des principaux phytonutriments (les polyphénols) : de puissants anti-oxydants, piègeurs de radicaux libres qui peuvent « interférer » efficacement avec les systèmes biologiques.
- Les « preuves » épidémiologiques de leur intervention.
- Cependant, de nombreuses questions subsistent et cette présentation en formalisera quelques unes et proposera des éléments de réponse.

2 L'oxygène et la vie

Le sujet que nous abordons ici est directement lié à la nécessité que nous avons de respirer, à l'existence d'anomalies de cette respiration et aux espèces très dangereuses (les Espèces Oxygénées Réactives = "EOR") auxquelles elles donnent naissance, mais aussi à l'existence de molécules qui ont les propriétés idéales pour en combattre les méfaits, les polyphénols.

2.1 Respiration et homéostasie rédox : un équilibre vital

L'oxygène atmosphérique, que nous respirons (20 % de l'atmosphère) est indispensable à la vie. C'est une molécule diradicalaire dans son état fondamental (dit aussi, état "triplet", fig. 1 ; voir aussi Figure 3) :

Ce diradical possède donc 2 électrons célibataires (même état de spin), ce qui lui donne une réactivité très particulière. Trop peu réactif pour « consumer », séance tenante, la matière organique au contact de laquelle il est placé. Suffisamment, cependant, pour **accepter les électrons** (« oxyder ») du glucose au sein des parois mitochondriales de nos cellules et permettre ainsi les "phosphorylations oxydatives" et la production d'énergie (ATP), nécessaire à leur survie (Figure 2).

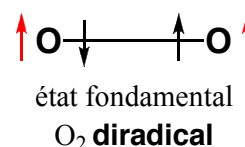


Figure 1 : L'oxygène à l'état triplet

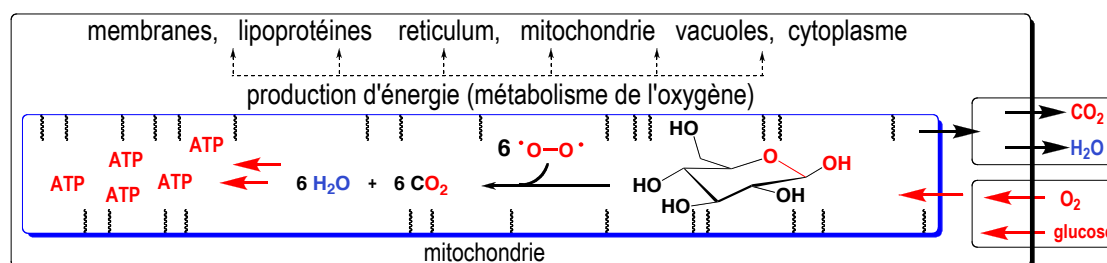
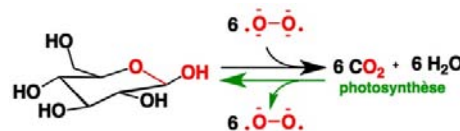
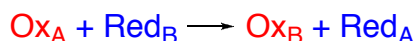
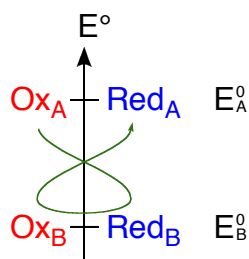


Figure 2 : La cellule animale : oxydation du Glc en présence d'oxygène (respiration)

En effet, la cellule animale (donc celle de l'homme) n'est pas autonome du point de vue énergétique : elle doit « brûler » du glucose en présence d'oxygène (comburant) pour produire des molécules d'ATP, en même temps que du $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$! Remarque : c'est exactement l'inverse de ce que font les plantes dans la photosynthèse (production d'oxygène et destruction du CO_2) :

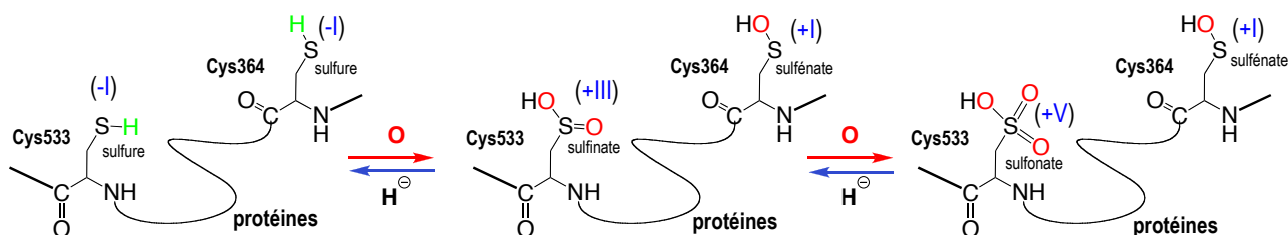


Non seulement, la cellule a besoin de ce comburant qui lui permet de « respirer », mais elle doit aussi s'en protéger : la cellule est exposée en permanence à l'**oxygène**, un diradical à l'**équilibre fragile**, autour de « l'état d'activation de sa réduction ». Dans cet état de diradical, l'oxygène est donc prompt à accepter (capter), en se réduisant, les électrons venant du glucose (qui s'oxyde). Dans les conditions normales (physiologiques) d'un organisme humain, au pH de 7,3, il est rappelé ci-après, les valeurs des couples rédox (exprimés par rapport à l'électrode d'hydrogène, de potentiel = 0). La logique nous dicte le possible : seul un composé de potentiel inférieur à un autre peut réduire la forme oxydée d'un couple donné.



$\text{O}_2(\text{g}) + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{H}_2\text{O}_2(\text{aq})$	+0,70V
$\text{CO}(\text{g}) + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{C}(\text{s}) + \text{H}_2\text{O}$	+0,52V
$\text{O}_2(\text{g}) + 2\text{H}_2\text{O} + 4\text{e}^- \rightleftharpoons 4\text{OH}^-(\text{aq})$	+0,40V
$\text{C}(\text{s}) + 4\text{H}^+ + 4\text{e}^- \rightleftharpoons \text{CH}_4(\text{g})$	+0,13V
$2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{H}_2(\text{g})$	0,0000V
$\text{CO}_2(\text{g}) + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{HCOOH}(\text{aq})$	-0,11V
$\text{CO}_2(\text{g}) + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{CO}(\text{g}) + \text{H}_2\text{O}$	-0,11V

Cet équilibre peut malgré tout se maintenir grâce à une série de mécanismes physiologiques (enzymatiques) et, en fonction de l'alimentation, à la présence de "micronutriments" végétaux, ce qui ajoute une modulation très fine de protection contre les processus toxiques : l'ensemble contribuant à ce qu'on appelle l'homéostasie « rédox ».



Les principaux désordres biologiques résultent de la rupture de cet équilibre avec formation d'EOR, très délétères, si elles ne sont pas rapidement détruites. Plusieurs cas d'activation peuvent modifier cette situation (voir § 2.2.).

2.2 L'oxydation, quand l'équilibre est rompu

Les dysfonctionnements de la respiration cellulaire (acceptation des électrons par l'oxygène) peuvent se traduire par la formation d'espèces très réactives centrées sur l'oxygène, d'où le nom d'Espèces Oxygénées Réactives (EOR) qu'on leur donne souvent (Reactive Oxygen Species = ROS, en anglais).

2.2.1 Espèces Oxygénées Réactives (EOR) : caractéristiques

Les EOR, plus largement que les seuls Radicaux Libres Oxygénés, correspondent à toutes les formes « activées » de l'oxygène (oxygène singulet, peroxydes, chloronium, nitrites, etc.).

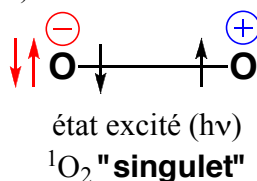
<http://www2.ulg.ac.be/cord/index.html> (C Deby et G Deby-Dupont)

Augusto O, Bonini MG, Amanso AM, Linares E, Santos CC, De Menezes SL. Nitrogen dioxide and carbonate radical anion: two emerging radicals in biology. *Free Radical in Biology and Medicine*, 2002; 32: 841-859. Review.

Deux formes principales activées de l'oxygène existent. La première résulte d'une simple excitation par les photons lumineux (UV) et ne correspond à aucun transfert d'électron tandis que les secondes découlent de réductions (radicalaires).

2.2.1.1 Forme activée par les UV

- Lorsque la molécule d'oxygène est exposée à des rayonnements ultraviolets d'une certaine longueur d'onde (UVA: 320 - 400 nm et UVB : 290 - 320 nm), l'apport d'énergie peut être tel que le spin de l'un de ses électrons soit inversé. Cette inversion de spin conduit à une espèce activée de l'oxygène, appelée « oxygène singulet » (voir aussi Figure 3) :



Il s'agit cette fois, d'une espèce ambivalente très réactive. Si l'oxygène de l'atmosphère qui nous entoure était dans cet état énergétique, nous y serions rapidement « brûlés ».

2.2.1.2 Formes issues de réductions radicalaires

L'apport à l'oxygène diradicalaire, dans son état fondamental, d'un premier électron (obligatoirement de spin « opposé » (complémentaire) à celui existant), provoque sa mono réduction et conduit à la formation d'un radical : « l'anion superoxyde » (Figure 3). Cette nouvelle molécule est toujours radicalaire, mais elle porte en outre une charge négative (c'est un anion) qui lui confère une certaine polarité. Une telle espèce ne peut rester dans la phase lipidique ; même si elle y a été créée initialement, et elle migre alors rapidement dans la phase aqueuse.

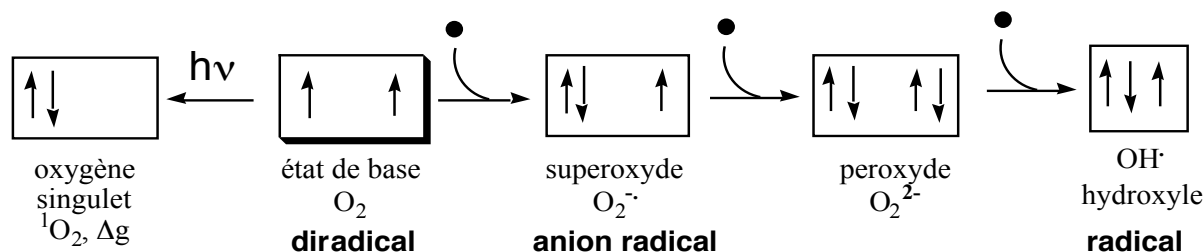


Figure 3 : Configurations électroniques de l'oxygène et des différentes espèces issues de l'oxygène

Un second électron peut la transformer en **peroxyde d'hydrogène** H_2O_2 , écrit ici (Figure 3) sous sa forme ionique O_2^{2-} . C'est en effet l'équivalent de l'eau oxygénée à laquelle les deux protons auraient été arrachés, pour former un dianion, très polaire, toujours exclusivement soluble en phase aqueuse (et pour cause, puisque c'est de l'eau !).

Cette espèce oxygénée est beaucoup plus réactive puisqu'elle peut se transformer facilement par réduction supplémentaire, selon la réaction de Fenton ou de Haber et Weiss, en une espèce radicalaire très dévastatrice : le **radical hydroxyle** OH^{\bullet} (Figure 3 et Figure 4).

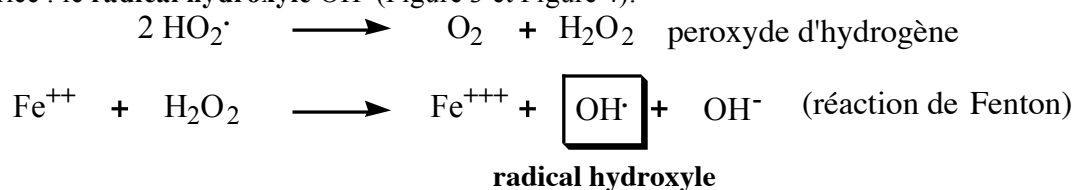


Figure 4 : Formation du radical hydroxyle

Le radical hydroxyle OH^{\bullet} a une très grande différence de réactivité avec OH , une autre forme de l'oxygène, très proche du point de vue de la structure puisqu'il possède seulement un électron supplémentaire, et qui n'est pas réactif du tout : ce n'est rien d'autre que de l'eau H_2O , écrite sous sa forme ionisée, $\text{OH} (+ \text{H}^+)$.

2.2.2 Origine des EOR in vivo

En dehors du cas de l'oxygène singulet, lié aux rayonnements UV (A et B) et donc, dans les couches externes de notre épiderme, il y a deux sources principales d'EOR dans le reste de notre organisme : intracellulaire (mitochondries) et extracellulaire (due aux excès de sucres réducteurs et aux réactions de Maillard, ...).

2.2.2.1 Origine intracellulaire :

Dans les cellules animales, au sein des mitochondries, le glucose est « oxydé », en présence d'oxygène, pour produire l'énergie (l'ATP). Les cellules relarguent alors le CO₂ issu de la combustion complète du sucre. Ceci reste vrai tant que tout se passe bien, c'est à dire dans environ 95% des cas (Figure 2). Pour la part restante (5% environ), des dysfonctionnements (« fuites ») apparaissent et induisent la production de radicaux hydroxyle ou nitroxyde, de peroxyde, de peroxyde nitrite, d'anion superoxyde, d'hypochlorites, de chloroniums, ou autres EOR (Figure 5).

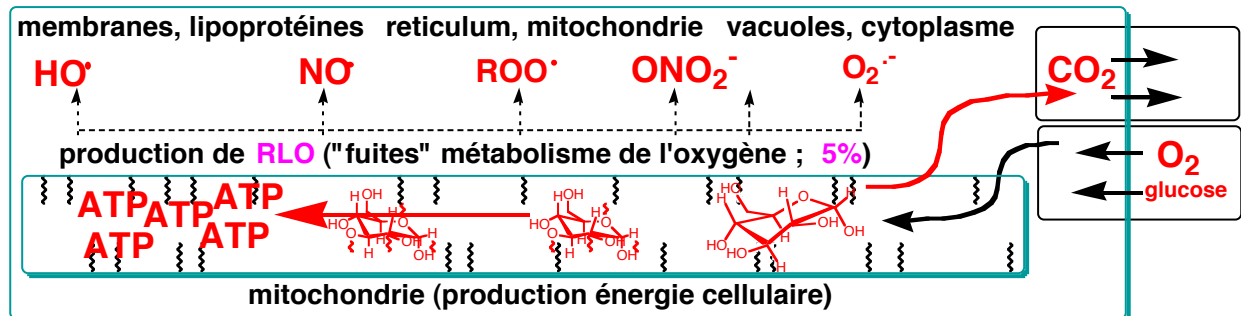


Figure 5 : Respiration et anomalies du métabolisme de l'oxygène

La formation du radical hydroxyle OH• survient dans la cellule, chaque fois par exemple que du peroxyde d'hydrogène aura été formé et qu'il sera en présence de métaux (fer, cuivre, ...) sous forme réduite (ferreuse Fe²⁺ et cuivreuse Cu⁺), par dismutation des peroxydes, s'ils sont abondants (Figure 4), donc, principalement dans les cas de potentiel **réducteur** élevé !

2.2.2.2 Origine extracellulaire : la réaction de Maillard

La présence en excès (mal régulé) de sucres réducteurs et électrophiles (glucose, fructose) dans notre plasma (diabète, insensibilité à l'insuline, ...), provoque la formation de « bases de Schiff » qui se réarrangent en produits d'Amadori,.... Ces derniers sont encore beaucoup plus puissants réducteurs que le glucose lui-même et vont alors se transformer en osones ou se fragmenter en composés alpha-dicarbonylés (glyoxal, ac. glyoxylique, , ...). Ils vont ainsi conduire aux réactions de Maillard *in vivo*, dans les conditions « physiologiques », à 37° C !!! Celles-ci sont accompagnées de la production d'EOR (second type de stress oxydatif, extracellulaire) et de composés caractéristiques de cet état, au sein de la Matrice Extra Cellulaire : les **AGEs**. Les AGEs ou « composés finaux de glycation avancée »[73] sont de nature très diverses, mais tous issus de ces réactions de Maillard qui surviennent *in vivo* : carboxyméthyllysine, pentosidine, glucosepane[102], etc..

2.2.2.2.1 Implications biomoléculaires de la réaction de Maillard *in vivo*

- ♦ La **teneur élevée** (ou plutôt, sa mauvaise régulation) de **sucres** dans le plasma sanguin (Glc, principalement) est à l'origine d'un **second type de stress** qu'on appelle le « **stress carbonylé** ». Ces sucres sont avant tout des espèces **électrophiles** (fonction carbonylées) → formation accrue de **bases de Schiff** = produits résultant de l'addition de résidus nucléophiles d'acides aminés (peptides, protéines, enzymes, ...). Ces imines sont en équilibre avec leur produit de réarrangement par prototropie [1,3] → énamines. Étant bêta-hydroxylées (énols), elles se réarrangent alors par nouvelle prototropie [1,3] en leurs cétones correspondantes, thermodynamiquement favorisées (plus stables), appelées « produits d'Amadori » (voir Figure 6) :

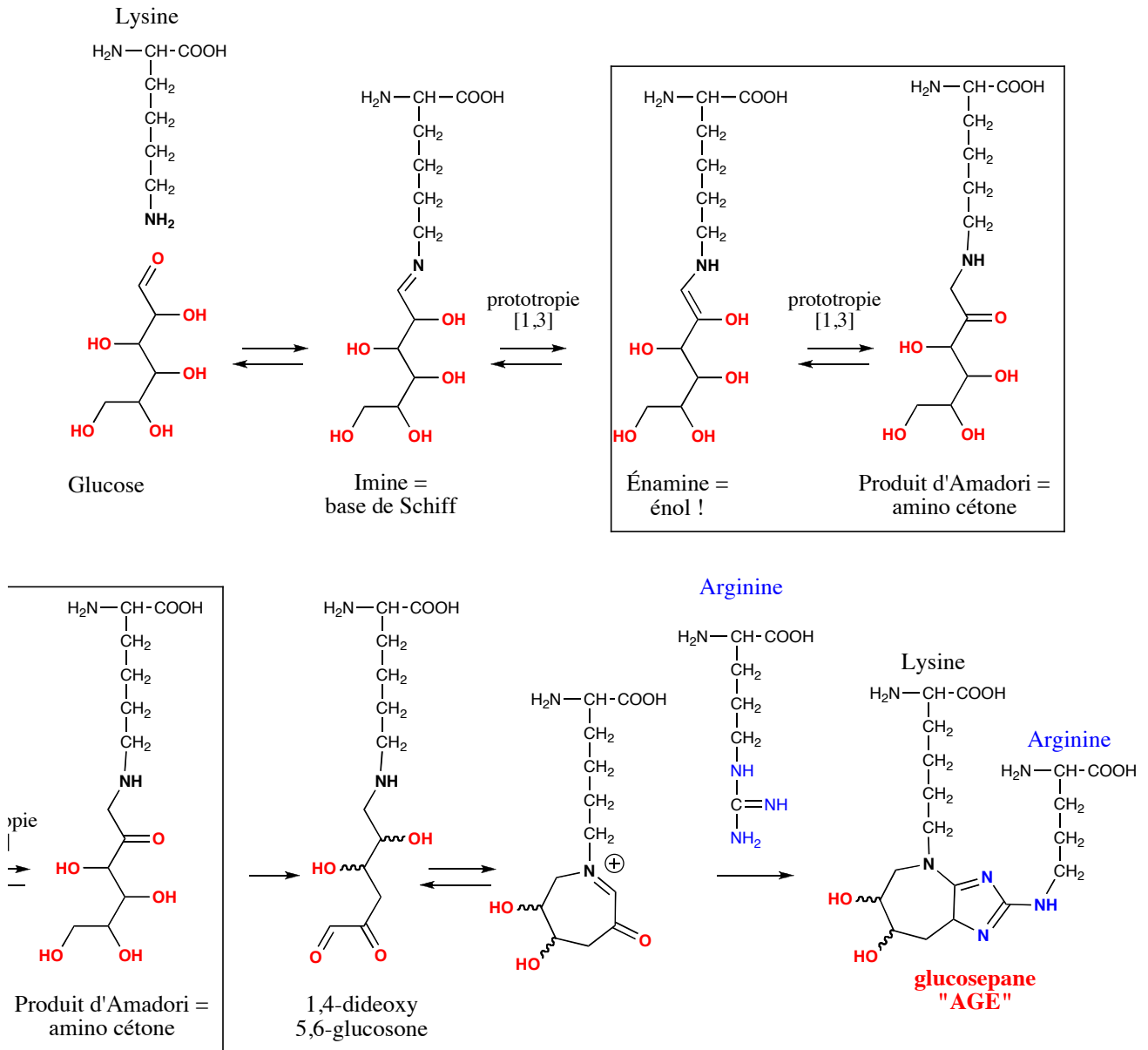
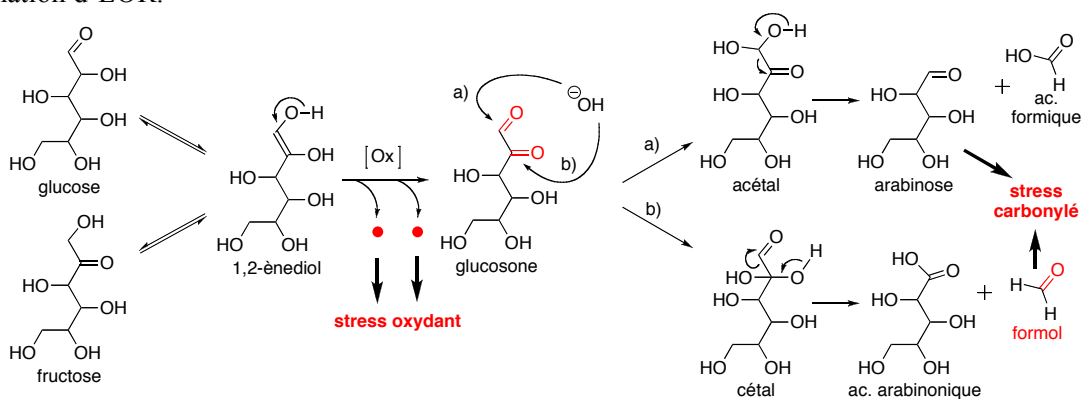


Figure 6 : diverses réactions conduisant aux « produits terminaux d'alkylation » (AGE), le glucosepane

- ◆ Ces énamino-cétones sont encore davantage **réductrices** que les sucres dont elles dérivent et peuvent subir diverses réactions d'**oxydation** qui conduisent aux « **produits terminaux d'alkylation** » (AGE) en même temps qu'elles augmentent considérablement, et peut-être très "localement", le stress oxydant par formation d'EOR.



Exemple de réarrangements avec oxydation du 1,2-énediol (issu du Glc aussi bien que du Fru) : génération des deux types de stress (oxydant et carbonylé).

2.2.2.2.2 Conséquences cellulaires et tissulaires de la réaction de Maillard, *in vivo*

En résumé, la réaction de Maillard *in vivo*, se développant à partir d'une mauvaise régulation de la glycémie (qui peut être transitoire et/ou localisé à un territoire), génère un double stress (voir Figure 7) :

- un stress « **carbonylé** » {Monnier, 2003 #28373}, dû à l'existence d'ECR (le glucose, principalement) ou à la production d'intermédiaires encore plus réactionnels, issus du réarrangement d'Amadori : surtout, les composés alpha-di-carbonylés {Miyata, 1998 #23054} (glyoxal, méthylglyoxal,....).
- un stress **oxydant** qui s'ensuit, par production des EOR {Brownlee, 1995 #22702} car ces ECR sont douées de propriétés **électrophiles et réductrices** exceptionnelles.

On peut représenter ces événements de manière synthétique, en tenant compte des trois niveaux de réactivité chimique des composés formés, qui peuvent être répartis en trois secteurs, selon leur niveau de réactivité :

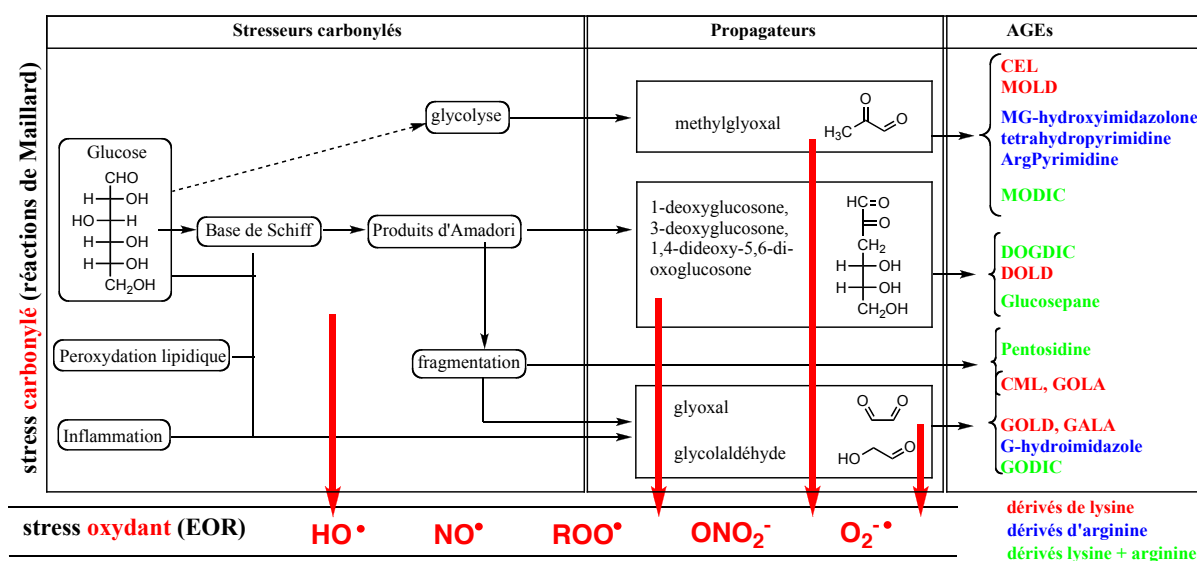


Figure 7 : Principales voies de synthèse des AGEs par réaction de Maillard *in vivo* et de stress oxydant.

(CEL, carboxyethyl lysine ; MOLD, méthylglyoxal lysine dimer ; MODIC, méthylglyoxal-derived imidazolamine cross-links ; DOGDIC, 3-deoxyglucosone-derived imidazolamine cross-links ; DOLD ; déoxyglucosone lysine dimer ; CML, carboxymethyl lysine ; GOLA, glyoxal lysine amide ; GOLD, glyoxal lysine dimer ; GALA, glyoxalaldehyde lysine amide ; GODIC, glyoxal-derived imidazolamine cross-links).

Ces molécules extracellulaires, au moins autant que celles produites au niveau mitochondrial, sont responsables des dégâts causés à notre organisme.

- ◆ Les alkylations répétées et irréversibles des protéines intracellulaires (enzymes, récepteurs, ...) aussi bien que des éléments de structure et de la matrice extracellulaire (MEC) conduisent à l'altération des propriétés cellulaires et inexorablement à la perte de la fonctionnalité tissulaire (**communication intercellulaire, plasticité membranaire, ...**).
- ◆ Ce faisant, la **tolérance au glucose** diminue, déclenchant la présence de glucose en augmentation → formation accrue de produits d'addition de résidus nucléophiles d'aminoacides → bases de Schiff → produits d'Amadori → augmentation des stress carbonylé et oxydant → formation des produits terminaux d'alkylation ("AGE"),
 - **Secteur des "stresseurs carbonylés" :** ce sont les composés sucrés, leurs bases de Schiff (sucres électrophiles) en équilibre éventuel avec leurs précurseurs, qui se caractérise par la **réversibilité des réactions**. Dans ce cas, les oxydations (sucres réducteurs), et les mécanismes impliqués restent sous le contrôle des systèmes enzymatiques et des réducteurs biologiques (vitamines, coenzymes, métaux).
 - **Secteur des "propagateurs" :** il comporte les produits de réarrangements d'Amadori oxydés ou non, ou de glycolyse dont les propriétés réductrices et électrophiles sont fortement exaltées

(composés alpha-dicarbonylés, glyoxal, ac. glyoxylique, ...): ce sont des « propagateurs » puissants du stress carbonylé.

- **Secteur des "AGEs"** : les composés formés à partir des adduits « sucres-amino-acides » (réaction de Maillard) sont oxydés au point de former les « produits terminaux d'alkylation » (AGE = CML, CEL, ...). Le franchissement de cette barrière (secteur des propagateurs à celui des AGEs) correspond à des réactions thermodynamiquement favorables qui rendent la formation des AGEs, pratiquement "irréversible".

Dans chacun de ces secteurs, les réactions d'alkylation dues au stress carbonylé (glycation) s'accompagnent de la formation de nombreuses EOR en quantité croissante, ce qui induit un **stress oxydant** (oxydoréductions) « secondaire ».

3 EOR et structures cellulaires

Si ces EOR ne sont pas « contrôlées », du fait de leur très grande réactivité, elles sont responsables des principaux dégâts au sein de nos cellules (durée de demi-vie du radical hydroxyle, la plus réactive de toutes les EOR = un milliardième de seconde !).

3.1 Oxydations radicalaires « en chaîne » : peroxydations

L'EOR formée réagit avec la première des molécules rencontrées, comme par exemple, un acide gras d'une membrane cellulaire (bicouche lipidique). Elle lui arrache un hydrogène, l'oxyde, et forme un **radical « alkyl »**, tout en se réduisant elle-même en H₂O (OH) (Figure 8).

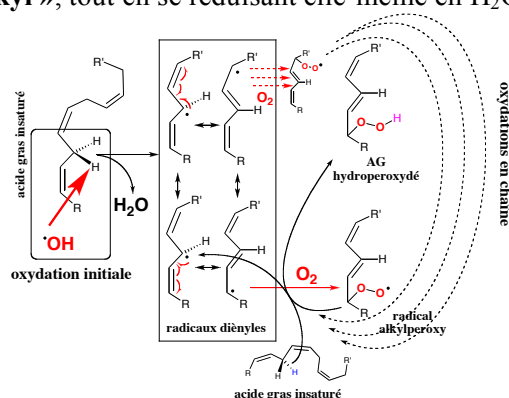


Figure 8 : Oxydations radicalaires en chaîne

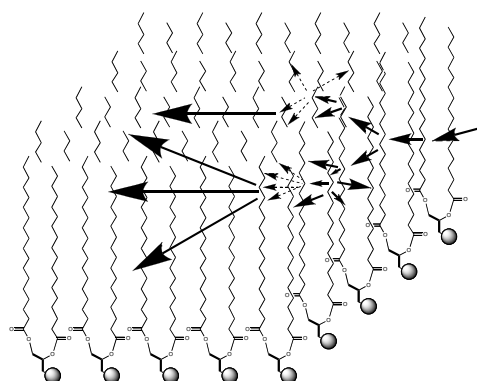


Figure 9 : Dégâts causés au sein d'un feuillet membranaire

S'il y a présence d'**oxygène** (ce qui est presque toujours le cas, pour assurer la respiration), celui-ci s'additionne pour former un **radical alkyl peroxyde**, qui peut lui-même arracher un hydrogène à un autre acide gras voisin, Ces événements sont les premières étapes d'une suite de réactions d'oxydations radicalaires « en chaîne », entretenues (de manière exponentielle !) tant qu'il y a de l'**oxygène** (Figure 8).

Étant donnée la grande réactivité des peroxydes et radicaux formés mais aussi, l'arrangement spatial des structures membranaires en « bicouches » plaçant les résidus des acides gras tous alignés parallèlement les uns aux autres, ce phénomène peut être une véritable « traînée de poudre » (voir Figure 9) !

3.2 Nature des acides gras oxydés

Selon l'endroit de la cellule où surviennent ces premières étapes de peroxydation mais aussi, en fonction de la richesse des phospholipides ou triglycérides en acides gras saturés (AGS) par rapport aux polyinsaturés (AGPI), le cours des événements sera sensiblement différent.

3.2.1 AGS vs AGPI : une différence de régiosélectivité

Dans le cas où l'oxydation a lieu sur des **acides gras saturés** (AGS), tous les méthylènes sont quasiment oxydables de la même manière ; elle peut donc se produire sur n'importe quelle position (flèches sur la Figure 10).

Lorsqu'il s'agit d'**acides poly-insaturés** (AGPI), l'oxydation a lieu préférentiellement sur certaines positions : les méthylènes « doublement **allyliques** », situés entre deux doubles liaisons (flèches en gras sur la Figure 8), sont nettement plus oxydables et réagiront beaucoup plus rapidement que les autres sites (flèches en pointillés sur la Figure 8). L'oxydation « chimique » est donc **régiosélective**.

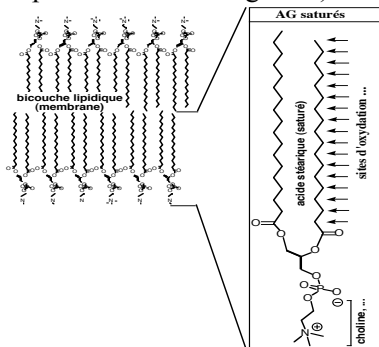


Figure 10 : Oxydation radicalaire des AGS.

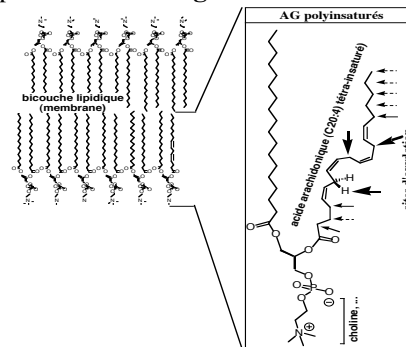


Figure 11 : Oxydation radicalaire des AGPI.

3.2.2 AGS vs AGPI : une différence de « réactivité chimique »

Non seulement l'oxydation des AGS n'est pas régiosélective, mais également, pour des raisons structurales, ils sont nettement **moins oxydables que les AGPI**. On peut estimer que la différence de réactivité « chimique » est de l'ordre de 1000 pour la position doublement allylique d'un AGPI (1000 fois plus réactive que n'importe quelle position d'un AGS (Figure 12).

En d'autres termes, leur peroxydation n'aura lieu que si les AGPI sont très peu présents ou absents.

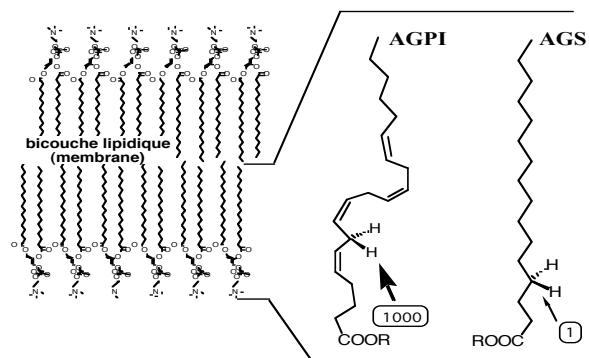


Figure 12: oxydabilité différentielle des AGPI et des AGS

4 Peroxydations : conséquences biologiques

Les phénomènes de peroxydation sont responsables du **vieillessement** mais ils sont aussi associés aux manifestations cliniques des principales **pathologies**.

4.1 EOR et vieillissement

La théorie émise par Harman il y a plus de 50 ans {Harman, 1956 #6739} selon laquelle le vieillissement d'un organisme aérobie serait dû aux dysfonctionnements du métabolisme de l'oxygène, se traduisant par la formation incontrôlée de RLO ou d'EOR, ne semble pas devoir être remise en cause, bien au contraire {Harman, 1980 #6740}. Les EOR se répartissent dans tous les compartiments cellulaires en fonction de leur polarité (hydro/liposolubilité).

La validité de cette théorie peut se vérifier davantage encore de nos jours avec l'allongement de la durée de la vie {Harman, 1998 #148}, ce qui permet au "stress oxydatif" d'exercer ses effets plus longtemps.

4.2 EOR et pathologies

Sous l'action des EOR, des peroxydations des structures membranaires (acide arachidonique, par ex.) déclenchent la formation d'une série de composés très divers comme les prostaglandines, les thromboxanes ou les leucotriènes (Figure 13).

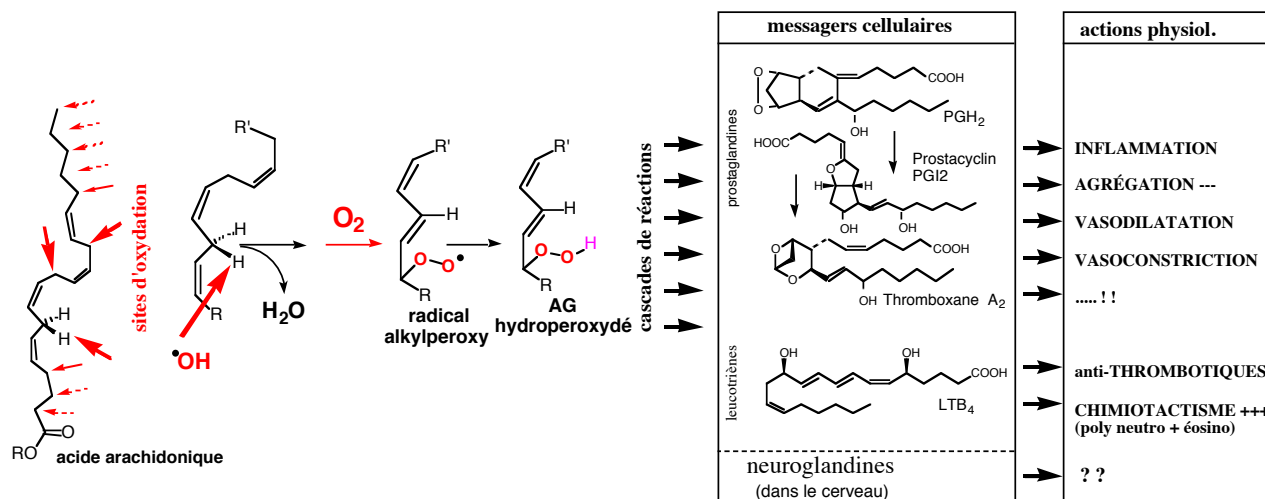


Figure 13 : Oxydation radicalaire en chaîne des acides gras : « conséquences biologiques »

Ces molécules sont des messagers cellulaires à la base des réponses biologiques parfois intenses qui constituent ce qu'on appelle globalement les "réactions **inflammatoires**". Il est clairement établi que ces phénomènes contribuent pour une grande part à la mise en place des éléments caractéristiques de l'**athérosclérose** : activation des plaquettes et des macrophages, migration dans l'endothélium vasculaire, transformation en cellules spumeuses, etc {Coudray, 1997 #18300; Witztum, 1991 #20024; Sigari, 1997 #20020; Witztum, 1998 #20016; Palinski, 1989 #20025; Cucina, 1998 #20113; Steinberg, 1989 #20027; Thomas, 2000 #20127} ... Et lorsqu'il s'agit de peroxydations des acides gras et du cholestérol, situés dans leurs transporteurs sanguins (VLDL, LDL et autres HDL), ils ne sont plus cédés aux cellules, qui ne les reconnaissent plus {Gillotte, 2000 #20017}. Leur accumulation dans le plasma est alors à l'origine d'une aggravation de la pathologie accélérant la formation de la plaque athéromateuse.

Les EOR sont également impliquées dans les **cancers** {Veszelszky, 1995 #16981; Hanna, 1994 #6644; Oldreive, 1998 #12345}, les maladies neurodégénératives (**Alzheimer**) {Yoshino, 1999 #19966; Hensley, 1994 #7070}, etc.

On observe, en effet, dans toutes ces maladies, une production accrue des EOR, accompagnée ou non d'une diminution de l'efficacité des systèmes de défense (voir § 5, p. 14).

Par exemple, dans le cas de l'épiderme exposé trop longtemps au soleil sans protection (UV-A et B) {Agarwal, 1993 #434}, les espèces oxygénées réactives (EOR) sont principalement de l'oxygène singulet qui évolue en peroxydes, radical hydroxyle, Ces dernières pénètrent le noyau, oxydent les bases nucléiques de l'ADN {Katiyar, 1999 #18434} ... et peuvent modifier le code génétique. Ceci « transforme » la cellule (si elle reste viable) en cellule cancéreuse (cellule initiée), à l'origine de **mélanomes**,

5 Les mécanismes de défense

Notre organisme a développé plusieurs mécanismes de protection pour faire face à la production potentiellement dangereuse de radicaux libres. Pour juguler les « fuites », il dispose de deux systèmes physiologiques de défense, l'un de nature enzymatique et l'autre non spécifique, non enzymatique, faisant appel à des composés organiques réducteurs ou piègeurs de radicaux libres (vitamines A, E, C, glutathion, ...), auxquels s'ajoutent, nous le verrons, les polyphénols.

5.1 Le premier rempart de défense : les systèmes enzymatiques

Il est composé d'une série d'**enzymes spécifiques** particulièrement actives face aux EOR qui mettent en œuvre les **phytonutriments « minéraux »**, comme cofacteurs.

5.1.1 Les superoxydes dismutases

- Les **superoxydes dismutases intracellulaires** : l'une est située dans le cytoplasme et utilisent du **cuivre** et du **zinc** (SOD à Cu^{++} et Zn^{++} , cytoplasmique), l'autre dans les mitochondries et contient du **manganèse** (SOD à Mn^{++} , mitochondriale).

- Une superoxyde dismutase extracellulaire, associée soit à la membrane cellulaire, soit aux fibres de collagène (SOD extracellulaire).

Elles accélèrent considérablement la dismutation de l'anion superoxyde et empêchent ainsi qu'il ne coexiste avec le peroxyde d'hydrogène, évitant ainsi la formation de l'espèce la plus délétère d'entre toutes, le radical hydroxyle.

5.1.2 Les catalases

- Une catalase (CAT) : intracellulaire, localisée exclusivement aux peroxysomes.

5.1.3 Les peroxydases

- Les peroxydases : glutathion peroxydase (GSHPx) : intracellulaire cytosolique.

Ces deux derniers types d'enzymes complètent l'action des SOD en réduisant H_2O_2 en H_2O et O_2 en présence de glutathion (GSH).

5.1.4 Bilan de l'action des systèmes enzymatiques

Le bilan global de ces systèmes de détoxification consiste en une réduction totale, des formes oxygénées réactives (anion superoxyde) en oxygène et eau (Figure 14) :

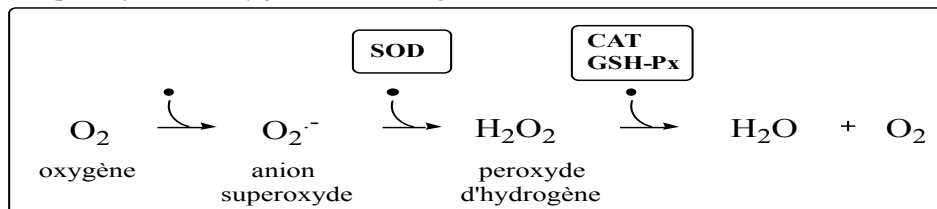


Figure 14 : Réduction totale en eau et oxygène de l'anion superoxyde.

Mais progressivement, ces phénomènes s'atténuent du fait du vieillissement, chez des personnes stressées ou soumises à des agressions supplémentaires : fumée de cigarette, hygiène de vie perturbée (sédentarité, usage de contraceptifs oraux, obésité, ...) ou encore, dans les cas de diabète ou d'hypertension, ... : les enzymes assurant la protection diminuent puis disparaissent de nos cellules ou perdent de leur efficacité.

5.2 Le deuxième rempart de défense : les « micronutriments »

Lorsque les systèmes de défense enzymatiques sont dépassés, il y a accumulation d'anion superoxyde, de peroxyde d'hydrogène et donc, production de radicaux hydroxyles contre lesquels il n'existe aucun système enzymatique naturel de défense.

Des processus de défense alternatifs impliquent l'intervention combinée de nombreux facteurs « chimiques », composés de faible poids moléculaire parmi lesquels figurent des micronutriments à activité anti-oxydante (parfois, cofacteur enzymatiques) : thiols, oligo-éléments (notamment, le **sélénium** et le **zinc**), **vitamines** (E, C), bêta-carotène, ac. urique ..., appelés **piégeurs de radicaux libres** et **antioxydants**. Ils sont capables de « désactiver » plus ou moins complètement les EOR et de diminuer (faire disparaître ?) leurs effets délétères.

5.2.1 Les vitamines E (tocophérols et tocotriénols) et C (ac. ascorbique)

Les vitamines C et E sont au deux « pôles » de la cellule, en milieu aqueux pour la première et en milieu lipidique pour les secondes.

Parmi ces piégeurs de radicaux libres, les vitamines E (tocophérols et tocotriénols, Figure 15) associées à la vitamine C, tiennent une place essentielle puisqu'elles s'opposent très efficacement aux peroxydations en milieu **lipidique**.

La vitamine E cède son hydrogène phénolique et un électron à un radical alkyl ou peroxydique ou lipo-alkoxydique et interrompt ainsi l'étape de propagation (cf. Figure 8).

Les vitamines E sont insérées dans la bicouche phospholipidique grâce à leur chaîne phytyle hydrophobe, la partie chromanol (hydrophile, Figure 15) affleure, quant à elle, à la surface de la membrane. Cette

disposition autorise la régénération de la vitamine E de sa forme radicalaire tocophéryl à sa forme phénolique, grâce à l'intervention d'un réducteur (antioxydant) hydrosoluble cytoplasmique.

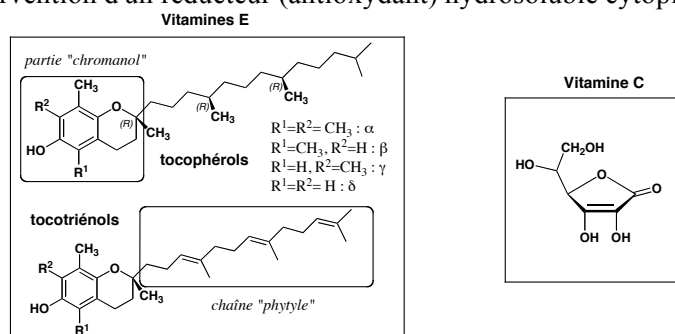


Figure 15 : Les huit molécules constituant « la Vitamine E » et la Vitamine C

Il est universellement admis que c'est la **vitamine C** qui exerce cette mission (Figure 16).

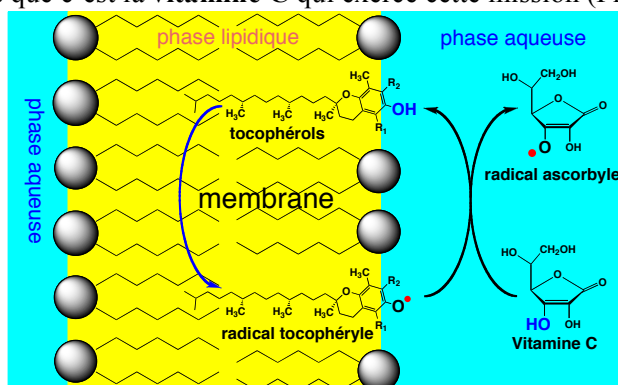


Figure 16 : Régénération de la Vitamine E par la Vitamine C

Les **tocophérols**, les **tocotriénols** mais aussi, l'**acide ascorbique** (vitamine C) qui les régénère, sont indispensables à la vie {Chen, 1995 #3136; Blumberg, 1995 #1992} : une déficience en ces vitamines fait perdre, notamment, leur qualité, leur résistance et leur élasticité aux fibres de collagène et à l'épiderme ... Leur déficience prolongée fait apparaître les symptômes du scorbut. Une déficience en vitamine C, pendant plusieurs semaines, engendre l'épuisement des réserves de tocophérols et l'apparition des symptômes du scorbut {Scrimshaw, 1990 #24092; Levine, 1986 #27225}. Mais dès cette période de découverte de ces deux vitamines, il était observé qu'elle entraînait une diminution de l'**espérance de vie** {Bentsath, 1937 #1707}.

6 Autres « phytonutriments »

Les propositions fortes faites par les épidémiologistes ont été les principales raisons de nous intéresser au vin comme source de « santé ». Il est de plus en plus évident que certaines molécules contenues dans cette boisson soient en fait à l'origine de ces observations.

6.1 L'épidémiologie : le « French Paradox »

Au début des années 90, et notamment depuis les travaux du Dr. S. RENAUD sur le « Paradoxe Français » {Renaud, 1992 #25707}, le vin semble jouer un rôle important dans la moindre incidence des accidents cardiovasculaires et des cancers, dans les populations qui ont une « alimentation méditerranéenne » {Hertog, 1996 #91}. Quand elles prennent en compte le vin dans l'alimentation des cohortes, les corrélations sont encore plus convaincantes {Ruf, 1995 #22985; Woodward, 1995 #93; Kannel, 1996 #94; Rimm, 1996 #13890}. Ce type d'alimentation et le vin particulièrement étant justement pourvoyeurs des métabolites secondaires, spécifiques du monde végétal, que sont les **polyphénols**, il a été logique de nous intéresser à cette catégorie de molécules.

Certains polyphénols du vin, démontrant *in vitro* de remarquables propriétés biologiques (voir § 6.3.4, p. 23), leur seule présence pourrait expliquer la plupart des faits constatés par les épidémiologistes. Mais, puisqu'il est (encore) impossible de réaliser des expériences permettant de mesurer directement l'impact des polyphénols sur la santé d'un individu et, *a fortiori*, sur celle d'une population en général, nous devons nous en tenir aux indications données par les études épidémiologiques. Celles-ci ne seront jamais des « preuves définitives » mais, puisqu'elles reflètent ce que nous observons dans la vie d'une multitude

d'hommes, elles sont des indications fortes et indéniables, pour lesquelles il nous faut, en tant que chimistes ou pharmacologues, trouver les mécanismes qui les sous-tendent et qui les expliquent le mieux. Il est fortement suspecté, au travers des études épidémiologiques, que les variations du contenu en polyphénols des différentes alimentations soient les plus importantes causes des différences de protection de la santé observées.

Une revue particulièrement complète de la littérature sur ce sujet, avec interprétation de la valeur des données et de la manière de les traiter figure dans l'analyse publiée par Ferrières {Ferrières, 2001 #20124}.

6.1.1 Nature de ces substances « vitales » : les polyphénols

Par le biais de son alimentation « végétale », en supplément des vitamines, l'homme reçoit d'autres composés dont l'impact sur sa santé dépasse celui qu'on leur accorde le plus souvent : les **polyphénols** (p. 17 et suivantes).

- La définition des "composés polyphénoliques" la plus simple est qu'ils comportent plusieurs **fonctions alcool** sur des noyaux **aromatiques**. Le premier exemple est le phénol lui-même, mais la plupart possèdent au moins 2 sinon plusieurs hydroxyles. Ils ont bien souvent une appellation consacrée par l'usage dont les plus simples sont (Figure 17) :

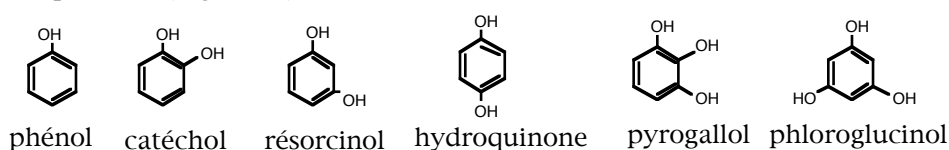


Figure 17: Les principaux noms de noyaux phénoliques

- Par extension, on entend aussi tous leurs dérivés : esters, éthers, hétérosides, ...

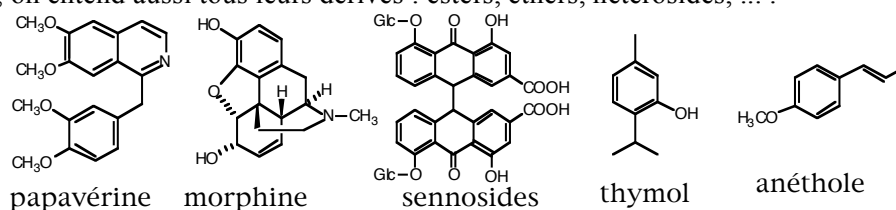


Figure 18 : Quelques exemples de phénols naturels

- Une **définition purement chimique** n'est pas satisfaisante car des produits naturels, tels que la morphine ou la papavérine (Figure 18), répondent aussi à cette définition alors qu'ils sont clairement issus d'origines biogénétiques différentes et on ne les considère pas comme des « polyphénols ». C'est pourquoi une classification, basée sur la **biogenèse**, est nécessaire pour une meilleure description de cette famille de composés naturels.

6.1.1.1 Les polyphénols : substances de défense des plantes

- Les **plantes vasculaires** fournissent l'ensemble des diverses classes de polyphénols^{1,2,3} :
 - La **lignine** est présente dans toutes leurs parois cellulaires (**Fougères**, plantes à fleurs : **Gymnospermes** et **Angiospermes**).
 - Les **acides phénols**, les acides **hydroxycinnamiques** et les **flavonoïdes** y sont "universellement" présents.

Les polyphénols sont des molécules fabriquées exclusivement par les plantes : elles sont leurs principales substances de défense (phytoalexines). Par exemple, dans des baies de raisins « **botrytisées** » (pourriture noble), des polyphénols, dont le resvératrol, sont synthétisés en plus grande quantité pour lutter contre l'invasion du champignon.

Les preuves de leur présence chez les végétaux sont nombreuses : couleur des fleurs jaunes (flavonoïdes), rougissement des feuilles à l'automne et couleur des fruits rouges (anthocyanes) mais, le brunissement d'une

¹ Harborne, J.B. (ed.) in "Biochemistry of Phenolic compounds", 1964, Academic Press, London.

² Harborne, J.B. in "Encyclopedia of Plant Physiology New Series", 1980, Vol. 8 (Bell, E.A. and Charlwood, B.V., eds), pp. 329-402, Springer, Berlin.

³ Harborne, J.B. (Ed.) in "The Flavonoids : Advances in Research since 1980", 1988, Chapman and Hall, London.

plante lésée ou attaquée par la pourriture est sûrement l'un des signes les plus visibles de l'intervention des polyphénols dans sa protection.

6.1.1.2 Structures des polyphénols

Ces substances ont une histoire qui commencent bien avant⁴ qu'on ne reconnaisse les "polyphénols" comme formant un groupe bien individualisé⁵ parmi les substances issues du métabolisme secondaire. Ce groupe de substances comptait, en 1964, 13 classes de phénols.

Actuellement, on compte un nombre comparable de classes de substances mais certaines ont fortement grossi. Ainsi, le seul groupe des **flavonoïdes** (*sensu lato*) compte plus de 3000 composés différents⁶, répartis en anthocyanes, aurones, C-glycosides, chalcones, dihydrochalcones, dihydro-flavonols, flavanols, biflavonoïdes, pro-anthocyanidols, flavanones, flavones et flavonols, isoflavonoïdes, et néoflavonoïdes. Ceci explique peut-être pourquoi il est si difficile de s'y retrouver dans la "cacophonie" des résultats contradictoires publiés indistinctement en parlant de "polyphénols", sans autre précision sur leur nature ou sous quelles formes dérivées ils sont utilisés.

Catégorie	nombre de substances identifiées
anthocyanes	350
chalcones	200
aurones	35
flavones, flavonols	1660
C-glycosides	400
flavanones	340
dihydrochalcones	90
dihydroflavonols	110
flavanols, proanthocyanidols	350
biflavonoïdes	150
isoflavonoïdes	630
néoflavonoïdes	70
divers	200 environ

Il s'agit donc d'un groupe très hétérogène mais d'une importance toute particulière, tant pour les plantes qui les fabriquent que pour l'homme en général (qui les consomme) ou pour le chimiste en particulier qui les extrait, les transforme et en exploite toutes les propriétés.

Il existe un certain nombre d'ouvrages de premier intérêt, auxquels il est possible de se reporter pour en savoir davantage sur les structures des "polyphénols"[1]. Ce sont des métabolites secondaires largement répandus et variés, particulièrement représentés dans nos principaux aliments. Ces molécules comportent le squelette de la "*phényl chromone*".

6.1.1.3 AROMAGENÈSE (origine des polyphénols)

En ce qui concerne les polyphénols majoritaires, les deux premières voies d'aromagenèse sont seules concernées et surtout la première. Leur biogenèse procède de ces deux voies métaboliques :

- de l'acide **shikimique**
- et des **polyacétates**.

Il existe cependant une **voie mixte** : shikimates + acétates qui est à l'origine de la classe des **flavonoïdes** au sens large.

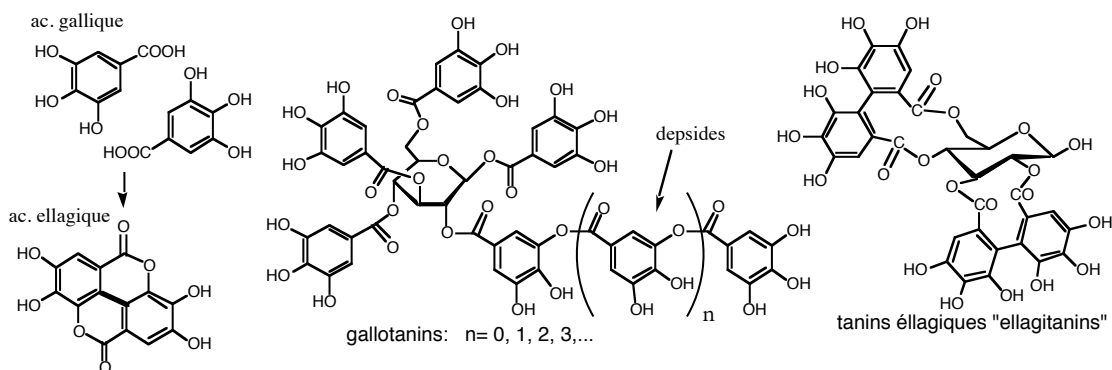
6.1.1.3.1 Voie de l'acide shikimique -> "shikimates"

- L'acide shikimique est à l'origine des tanins dits "saponifiables" (dérivés des acides gallique ou éllagique) :

⁴ Les Egyptiens savaient utiliser les "tanins", avec art, pour la fabrication du cuir, plus de 1000 ans av. JC.

⁵ Ceci a commencé en Angleterre, vers la fin des années 50 : E.C. Bate-Smith, T. Swain ont créé le "Plant Phenolics Group" en 1957 qui évolua dans les années 60 vers la "Phytochemical Society of Europe". En France, "le Groupe Polyphénols" s'est constitué en 1970.

⁶ Harborne, J. B. In *Methods in Plant Biochemistry*; 1st ed.; J. B. Harborne, ed.; Academic Press: London, **1989**; Vol. 1; pp 1-28.



Tanins saponifiables (tanins "galliques").

6.1.1.3.2 Voie mixte : "acétates" + "shikimates"

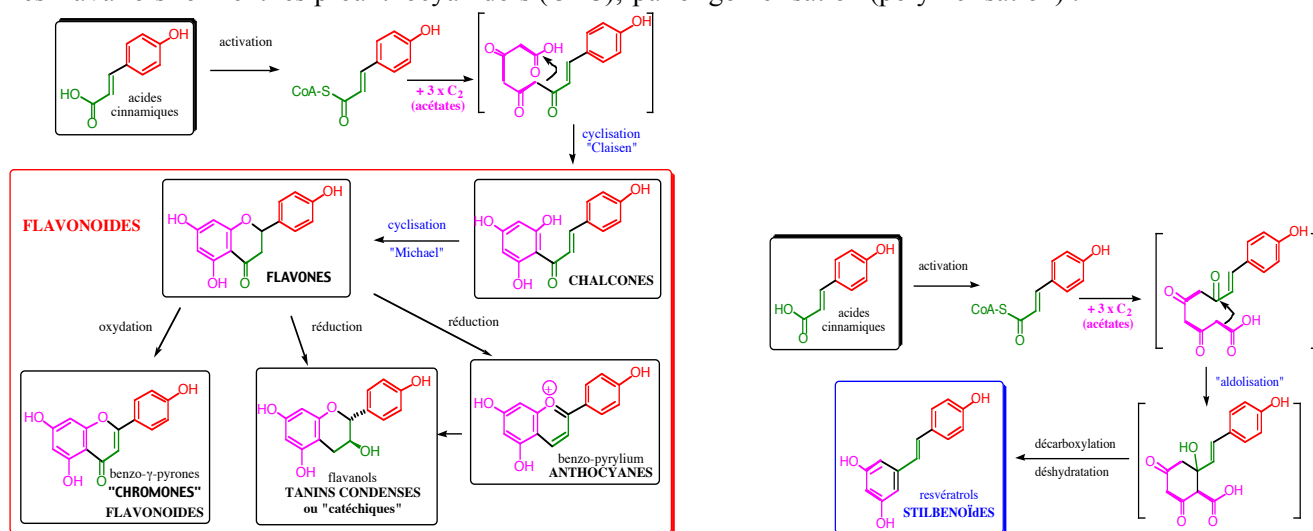
Biogenèse du noyau flavone → les flavonoïdes

Implique un cinnamate (*vide supra*) et un triacétate. La cyclisation du triacétate s'effectue selon une réaction de Claisen.

Origine de tous les composés en C6-C3-C6 : les flavonoïdes au « sens large ».

Origine des tanins « catéchiques » ou « condensés ».

Les flavanols forment les proanthocyanidols (OPC), par oligomérisation (polymérisation) :



Origine biogénétique des différents polyphénols de type « flavonoïde » en C6-C3-C6

Les polyphénols de type « stilbène » (resvératrol)

6.1.1.3.3 Biogenèse du noyau stilbénique : le resvératrol

La cyclisation du triacétate, dans ce cas, s'effectue selon une réaction d'aldolisation.

Origine des composés en C6-C2-C6 : les stilbénoides (voir ci-dessus).

6.1.1.4 Les propriétés physico-chimiques des polyphénols

Ce sont des substances extrêmement actives que l'on peut surtout qualifier d'anti-oxydantes et de piègeuses de radicaux libres. Elles doivent ces activités à des propriétés physico-chimiques particulières et nous ne parlerons que de celles qui ont une importance par rapport au sujet abordé ici.

6.1.1.4.1 Solubilité : entre hydrophilie et lipophilie

Les polyphénols sont des substances liposolubles pour certaines (stilbénoides, chalcones, flavanones, ...), hydrosolubles pour d'autres (hétérosides de flavonoïdes et flavanones, anthocyanosides, acides phénols, ...). Ils sont si divers et nombreux qu'ils couvrent toute la gamme des solubilités entre l'eau et les phases lipidiques, remplissant en cela, l'espace qui peut exister au sein d'une cellule entre la vitamine C hydrosoluble et la vitamine E liposoluble. Ceci a une importance considérable, mais difficile à démontrer, sur leur efficacité à lutter *in vivo* contre les EOR (voir p. 25 et 26).

6.1.1.4.2 Anti-oxydants, piègeurs de radicaux libres

Ces propriétés dépendent directement de la structure des polyphénols.

6.1.1.4.2.1 Une acidité assez forte

La structure polyphénolique, par « l'aromaticité » et les délocalisations électroniques qu'elle autorise, confère une acidité assez élevée aux fonctions phénols : le premier pKa est d'environ 8 à 10 (Figure 19) en lien avec une faible enthalpie de dissociation (Figure 20) de la liaison O-H (< 24 kcal/M / alcool aliphatique).

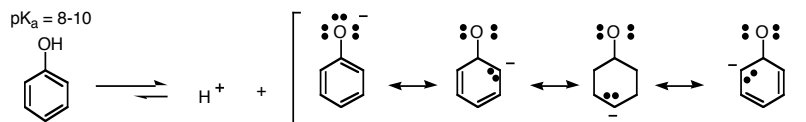


Figure 19 : Les polyphénols ont une acidité notable

6.1.1.4.2.2 Propriété réductrice des polyphénols

L'ion phénate résultant possède donc une grande aptitude à s'oxyder, à délivrer un de ses nombreux électrons « non-liants » (3 doublets libres, Figure 20) à un radical (EOR) de couple rédox plus élevé.

La fonction "hydroxyle phénolique" est donc avant tout **réductrice**. Cette réactivité chimique des polyphénols est de loin la plus importante de toutes.

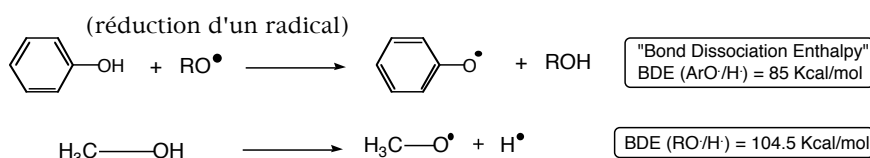


Figure 20 : Les différences d'enthalpies de dissociation des liaisons alcool / phénol

6.1.1.4.2.3 Réduction des EOR par les polyphénols : une différence majeure

L'avantage essentiel que nous gagnons à cette réduction de l'EOR (très réactive et délétère) par l'ion phénate, quel que soit le polyphénol, c'est que le nouveau radical formé, le radical phénoxyde (ArO•) est **stabilisé**, désactivé.

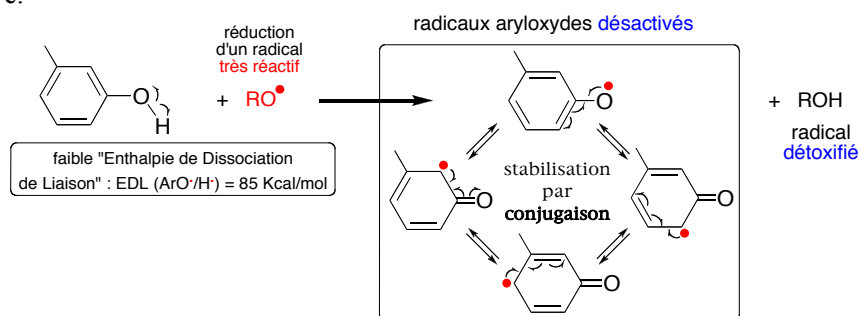


Figure 21 : Les radicaux aryloxydes formés sont stabilisés par conjugaison et désactivés.

Ce phénomène est dû à la délocalisation du radical sur le noyau aromatique (conjugaison, Figure 21). Il est donc considérablement moins prompt à réagir, à entretenir la chaîne de réaction radicalaire initiée par l'EOR qui est ainsi « brisée ».

6.1.1.5 Importance des polyphénols végétaux dans l'alimentation humaine

C'est probablement parce que notre alimentation est à base de végétaux depuis l'origine que notre organisme a sélectionné ces vitamines antioxydantes (E et C) qui nous protègent. Cependant, notre alimentation renferme d'autres substances tout autant actives, peut-être davantage encore pour certaines, même si elles ne sont pas reconnues « officiellement » comme étant de véritables « vitamines ».

Certains végétaux sont particulièrement riches en polyphénols. Parmi nos aliments, c'est le cas du thé, du raisin et ses boissons, du cacao, et à des teneurs intermédiaires, des fruits, des légumes et des graminées comme le blé, l'orge ou le maïs.

Cette présence qualitative et quantitative des polyphénols dans nos aliments fait l'objet de recherches

approfondies depuis plusieurs années. Les résultats les plus importants dans ce domaine sont certainement ceux de l'USDA qui font l'objet de mises à jour annuelles.

Pour simplifier leurs mesures, il a été malheureusement adopté de réaliser à partir des divers végétaux qui entrent dans l'alimentation humaine, des hydrolyses (pour les cliver de leurs sucres pour ceux qui sont hétérosides !), et des saponifications (pour les débarrasser de leurs divers résidus acides estérifiant leurs fonctions phénoliques ou alcooliques).

6.2 Les polyphénols : de la plante à l'aliment

Les quantité et qualité de polyphénols, cependant, varient fortement selon la partie de plante concernée. Dans le cas de la vigne, le jus de raisin ne renferme que des acides phénols et des flavonoïdes, ce qui a pour conséquence que les vinifications qui ne comportent pas un temps de macération suffisant (9 à 12 jours), ne conduisent qu'à des vins à faibles teneurs en polyphénols.

Mais un vin issu de « fermentation longue », est un "aliment" exceptionnel en ce sens qu'il peut contenir des quantités importantes de polyphénols (certains vins rouges en renferment plus de 4 g/l) qui sont d'une grande variété (des flavonoïdes, des stilbénoloïdes et autres acides-phénols) et l'impact positif de cette boisson sur la santé du consommateur s'accorde parfaitement avec les propriétés intrinsèques de certaines de ses molécules prises isolément.

6.2.1 tanins condensés (et hydrolysables)

- Parmi les polyphénols des vins rouges (les plus riches), il y a bien sûr les composés les plus connus comme les "**tanins condensés**" (Figure 23) " ou "Oligomères ProCyanidoliques" (OPC ; ici le dimère B3) qui dérivent de la catéchine (Figure 22) ou de l'épicatéchine (1-2,5 g/l) ; contenus essentiellement dans les marcs (pépins, pellicules).

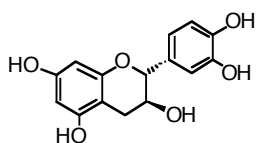


Figure 22: catéchine

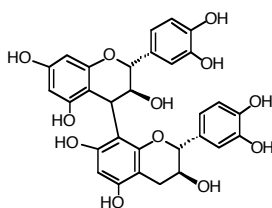


Figure 23 : dimère B3 (tanin condensé)

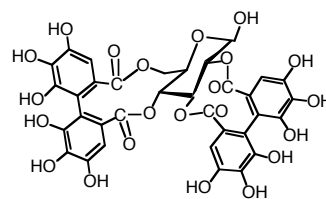


Figure 24: tanin ellagique

- Dans le cas où un passage en barrique aurait lieu pendant son "élevage", le vin peut s'enrichir également d'un autre type de tanins, ceux apportés par le chêne, mais qui sont alors des "**tanins hydrolysables**" et qui correspondent à des esters galliques ou ellagiques de glucose (Figure 24).

6.2.2 anthocyanosides

- La couleur des vins rouges ou des « fruits rouges » est due aux **anthocyanosides**, autres polyphénols, (env. 0,5 g/l) comme ici le glucoside de malvidol (Figure 25). Contenus dans les pellicules, ne sont extractibles que lorsque l'alcool (issu de la fermentation alcoolique) est présent en proportions suffisantes.

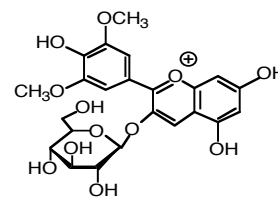


Figure 25 : malvidol-3-O-Glc

6.2.3 stilbénoloïdes

- Le resvératrol (Figure 26) est un polyphénol de la série des **stilbénoloïdes** pour lequel les producteurs s'acharnent à démontrer qu'il est présent en quantité suffisante (\pm 2-5 mg/l) dans leur vin, du fait qu'il peut être présent dans les blancs aussi bien que dans les rouges mais surtout, parce qu'il possède des propriétés remarquables !

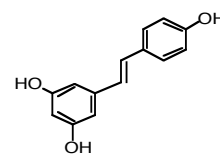


Figure 26 : resvératrol

6.2.4 Autres polyphénols :

- Des recherches récentes montrent que de nouvelles catégories de polyphénols, ignorées jusqu'ici, sont présentes dans le vin. C'est le cas chez d'**oligomères de stilbènes** ou encore, de leurs **hétérosides**, comme le picéide{Teguo, 1996 #18733}, mais surtout, l'astringine (Figure 27){Mérillon, 1997 #55;

Ribeiro de Lima, 1999 #19043}. Il est remarquable de découvrir qu'un tel dérivé du resvératrol puisse être présent parfois, à des teneurs bien supérieures au resvératrol lui-même, puisque qu'on l'a dosé jusqu'à 70 mg/l dans certains vins !

- Il y a également des dérivés des anthocyanes comme les **castavinols** (Figure 28) {Castagnino, 1996 #2888} ou encore, des produits de réarrangement de ces pigments : des **benzofuranes** (Figure 29) {Castagnino, 1996 #2888}.

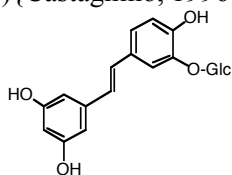


Figure 27 : astringine

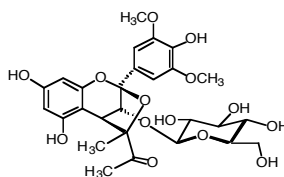


Figure 28 : castavinols

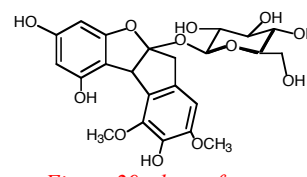


Figure 29 : benzofuranes

Les propriétés de ces nouveaux polyphénols sont encore mal connues et pourtant, l'ensemble (le « totum » polyphénolique) constitue un véritable "traceur" de l'origine géographique et variétale des vins qui nous a même permis de mettre au point la première méthode de discrimination des clones de cépages {Vercauteren, 1994 #16954}.

6.3 Propriétés biologiques des polyphénols

6.3.1 Les polyphénols inhibent la lipoperoxydation

Les EOR réagissent différemment, nous l'avons vu, avec les AG saturés et avec les AG poly-insaturés (Figure 11). Une différence de réactivité supplémentaire apparaît encore entre les polyphénols et les AGPI. Les polyphénols sont environ 1000 plus réactifs et réagiront les premiers (Figure 30).

Ainsi, dans une bicouche lipidique qui contient un polyphénol pour 1 million d'AGS, un radical a statistiquement autant de chance d'oxyder le polyphénol que les acides gras !

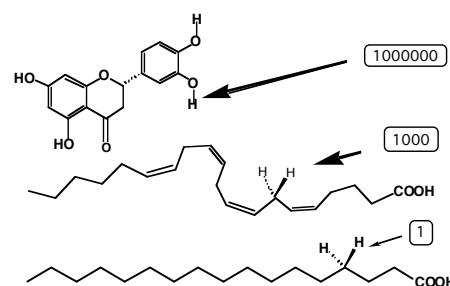


Figure 30 : comparaison de l'oxydabilité des lipides membranaires et des polyphénols.

6.3.2 Polyphénols et peroxydations en chaîne

Les polyphénols peuvent exercer leur propriété de « piègeurs de radicaux libres » avant même que les EOR ne commencent leur œuvre destructrice (4, p. 13). Ils bloquent alors la chaîne d'oxydation radicalaire et empêchent la formation des cytokines, des LDL-OOH et donc toute réponse inflammatoire (Figure 31).

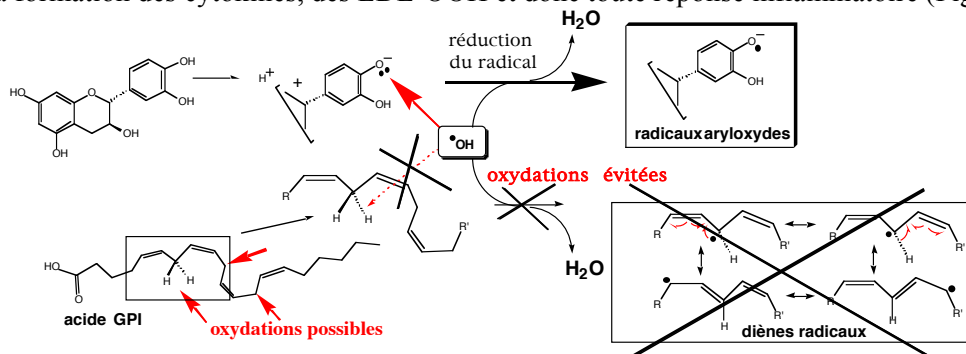
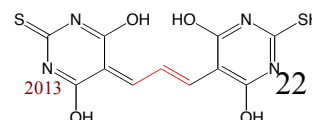


Figure 31 : Polyphénols comme antioxydants protecteurs des structures membranaires.

De même, les polyphénols (incluant les vitamines E) en piégeant les radicaux libres, vont-ils lutter, chez l'homme, contre toutes les causes de vieillissement mais aussi, contre les manifestations des principales pathologies : ce sont des piègeurs de radicaux libres {Roginsky, 2005 #86; Bagchi, 1997 #1116; Cook, 1996 #3529; Ricardo Da Silva, 1991 #13823; Williams, 1994 #17577}.

6.3.3 Pouvoir antioxydant : synonyme de qualité santé

Ainsi, de manière symptomatique, la mesure des propriétés « réductrices » de tels extraits par l'un ou l'autre des nombreux tests mis au point :



- Folin-Ciocalteu,
- DPPH : DiPhénylPicrylHydrazyl,
- TBARS : Thiobarbituric Acid Reactive Substances
- ABTS : 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt
- diènes conjugués,
- malondialdéhyde (MDA),
- « LDL oxidation preservation », ...

ou même, la mesure directe de leurs effets biologiques sur un organisme vivant ou sur des tissus en culture :

- Total Antioxidant Status = TAS {Rice-Evans, 1994 #22975},
- ORAC {Cao, 1993 #22812},
- TAC (Total Antioxidant Capacity) {Kampa, 2002 #21985},
- Randox Trolox-Equivalent Antioxidant Capacity (Randox-TEAC) assay {Erel, 2004 #28170; Cao, 1998 #22823}, and the
- Ferric Reducing Ability (FRAP) assay {Cao, 1998 #2789},

sont-elles directement traduites en termes positifs sur la santé.

6.3.4 Propriétés des polyphénols *in vitro*

Des expériences conduites *in vitro* ont permis de démontrer en effet qu'ils sont de puissants :

6.3.4.1 Antiagrégants plaquettaires :

- Par la diminution des formes activées des plaquettes {Petroni, 1995 #12945; Pace-Asciak, 1996 #29562; Abuamsha, 1996 #102; Renaud, 1992 #25708}, tout comme l'alcool, mais sans en avoir toutefois l'effet secondaire délétère, cet effet "rebond" {Renaud, 1996 #103}, susceptible de causer la mort subite ou des accidents ischémiques graves.

6.3.4.2 Antiathérotrombotiques, anti-inflammatoires :

- Par la protection de l'oxydation des LDL-cholestérol {Kanner, 1994 #104; Frankel, 1993 #5399; Meyer, 1997 #106} et des acides gras polyinsaturés (éicosanoïdes) {Pace-Asciak, 1995 #25490; Laughton, 1991 #108} qu'ils assurent. Les anthocyanes de cerises ont révélé par exemple avoir de telles actions à un niveau comparable, voire supérieur, à celui obtenu avec des produits commerciaux (médicaments : Ibuprofen®, Aspirine®) directement destinés à conférer ce type de protection {Wang, 1999 #109}.

6.3.4.3 Anti-Alzheimer :

- Plus récemment encore, le vin a été impliqué dans la diminution du taux d'apparition de maladies neurodégénératives telles que la maladie d'Alzheimer {Draczynska Lusiak, 1998 #4462; Orgogozo, 1997 #111}. Des débuts d'explication de telles propriétés se situent peut-être dans l'observation récente des mécanismes par lesquels les dépôts intracérébraux (« néoformations ») apparaîtraient chez les personnes qui en sont atteintes. Les A β -peptides (à 42 acides aminés, notamment), qui sont à l'origine de ces macromolécules protéiques par polymérisations radicalaires, ont des propriétés réductrices très particulières vis-à-vis de l'oxygène (\rightarrow peroxyde d'hydrogène) et du fer ($Fe^{3+} \rightarrow Fe^{2+}$). Ils sont donc capables de former, *in situ*, les réactifs nécessaires à la réaction de Fenton (Figure 4, p.6), source du radical hydroxyle {Huang, 1999 #112}.

Les polyphénols "liposolubles", présents au sein des structures cérébrales, s'opposeraient avec efficacité aux réactions d'oxydation radicalaire, inhiberaient ainsi la polymérisation et ralentiraient donc la progression de la maladie. Ce concept est à la base des traitements à base de vitamine E et d'anti-inflammatoires {Tanaka, 1997 #113; Pace-Asciak, 1996 #101}.

6.3.4.4 Anticancéreux :

- Il s'agit d'une propriété majeure de polyphénols du type catéchine et du resvératrol, qui n'est pas entièrement liée à leur propriété antioxydante. Les stilbénoloïdes, tel le **resvératrol**, *in vitro*, ont montré une action inhibitrice sur les trois phases principales de cancérisation {Jang, 1997 #114} : initiation, promotion (par diminution du taux d'enzymes caractéristiques de ces états précancéreux : cyclooxygénase-2) et propagation (par induction de la différenciation de cellules cancéreuses = perte de leur caractère "immortel" \rightarrow apoptose).

- Il a même été montré que ces molécules agissent de façon **préventive** contre certaines formes de cancers, en prévenant l'initiation de cellules cancéreuses, par inhibition de l'expression de gènes de protéine kinase C ou du *mARN* de la COX-2 {Subbaramaiah, 1998 #18724}.

6.4 Propriétés des polyphénols *in vivo*

Les conséquences biologiques de leur pouvoir antioxydant (voir § 6.1.1.4.2, p. 20) sont difficiles à quantifier et à démontrer *in vivo* même si on soupçonne qu'ils sont d'une considérable importance. C'est encore une fois les observations des épidémiologistes qui autorisent à penser qu'ils sont en partie au moins, capable d'exercer *in vivo*, les propriétés qu'ils démontrent *in vitro*. Il est admis qu'ils augmentent l'espérance de vie et la qualité de « la vie ajoutée à la vie ». Ils minorent au moins les phénomènes inéluctables du vieillissement et les effets « collatéraux » des pathologies majeures.

6.4.1 Ralentissement du vieillissement

Si les peroxydations cellulaires ne conduisent pas à une maladie en tant que telle, elles contribuent à leur vieillissement : les cellules perdent progressivement leurs plasticité et capacités à se renouveler. Ce processus est plus ou moins rapide selon les protections mises en œuvre et l'intensité du stress auquel sont soumises les cellules. Par leur action anti-oxydante, les polyphénols s'opposent, sur le long terme, au **vieillessement** comme le constatent de très nombreux travaux scientifiques de qualité.

Mais, de manière récente, le resvératrol (encore lui !) s'est révélé avoir les capacités les plus importantes à assurer une augmentation de la « durée de vie » (lifespan des anglosaxons), parmi les nombreuses substances testées, de levures, vers ronds, et même souris. Le mode d'action, cette fois, n'a probablement rien à voir avec ses propriétés antioxydantes, mais bien plus avec celles qu'il a à augmenter l'expression de gènes de protéines Sir (*silencing information regulator*). Ces protéines paraissent être impliquées dans la **durée de vie de plusieurs organismes** tels que la levure, le ver *Caenorhabditis elegans* et la mouche *Drosophila*, dont la longévité est accrue par la restriction calorique (RC). La protéine Sir 2 est impliquée dans cet effet. Les mammifères possèdent sept homologues de Sir 2 (sirtuines, SIRT 1 – 7). Sir 2 et les sirtuines catalysent la déacétylation d'histones et de protéines de façon NAD-dépendante, et régulent ainsi un grand nombre de fonctions cellulaires. Chez les mammifères, la sirtuine SIRT 1, la plus étudiée, est impliquée dans la protection vis-à-vis du stress oxydant et de l'altération de l'ADN. SIRT 1 apparaît jouer également un rôle important dans le métabolisme du pancréas, du tissu adipeux et du foie. "La stimulation des sirtuines provoquée par certains polyphénols peut être un effet biologique plus important que l'effet antioxydant", estime Konrad Howitz. Dans un travail séminal avec David Sinclair, le resvératrol a permis à la levure **d'accroître sa durée de vie de 60 à 80 %** {Howitz, 2003 #22981} : habituellement, les levures vivent le temps de 19 générations; en présence de petites doses de resvératrol, certaines ont vécu le temps de 38 générations. Sur des cellules humaines, le resvératrol a activé la SIRT1 et a permis à 30 % des cellules humaines de survivre aux rayons gamma, contre seulement 10 % des cellules non traitées.

Ces effets du resvératrol sont associés à une induction de l'expression de gènes impliqués dans la biogenèse et les fonctions mitochondriales et s'expliquent au niveau moléculaire par la deacétylation resveratrol-dépendante du régulateur transcriptionnel PGC-1, qui devient consécutivement plus actif. Des fonctions mitochondriales altérées sont souvent associées à l'apparition d'un diabète de type 2, or le resvératrol protège les animaux de l'obésité induite (par une alimentation enrichie en lipides) ainsi que de l'insulino-résistance. Ces effets pharmacologiques du resvératrol chez l'animal ainsi que l'association, chez l'humain, de « single nucleotide polymorphisms » dans le gène SIRT1 avec une dépense énergétique globale modifiée, permet d'envisager à moyen terme l'administration de ce composé dans l'alimentation comme un **nouveau moyen de lutter contre l'obésité** {Tsirpanlis, 2007 #28514; Subauste, 2007 #29589; da-Silva, 2007 #29590; Baur, 2006 #29597} et le **vieillessement** {Pallas, 2008 #29581; Engel, 2008 #29582; Mattson, 2007 #29584} ! GlaxoSmithKline rachète pour 720 M\$, le 6 juin 2008, Sirtris, une société pharmaceutique créée par Sinclair en 2004.

6.4.2 Diminution de l'impact des principales pathologies

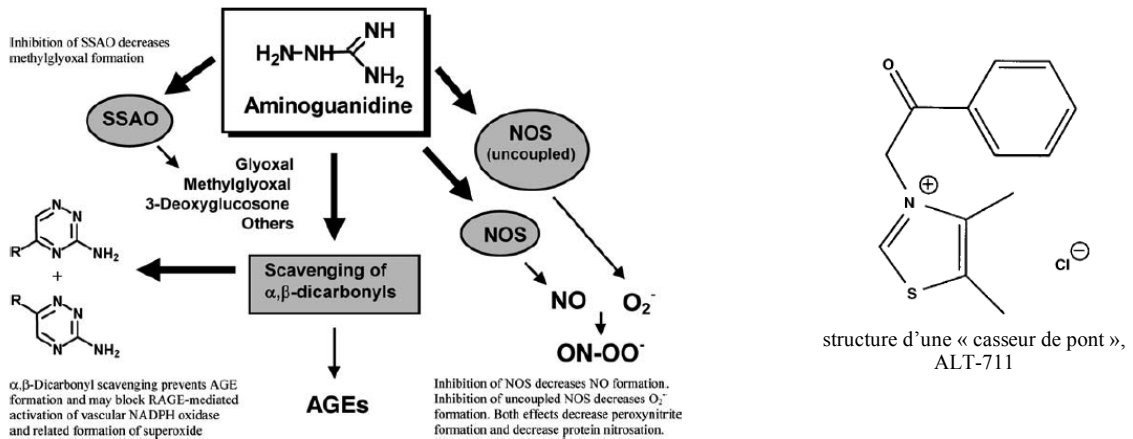
En inhibant les lipoperoxydations et en désactivant les EOR (Figure 31), les polyphénols empêchent la formation des cytokines et donc, toutes les réponses inflammatoires : agrégation plaquettaire, migration cellulaire, athérogenèse, neurodégénérescences (Alzheimer, Parkinson), transformation du génome (cancérisation). Dans ces différents domaines, on cherche intensément à découvrir les mécanismes intimes par lesquels les polyphénols peuvent intervenir {Urios, 2007 #28437; Rutter, 2003 #23003}. Il en va de la

compréhension, également, des processus les plus fins, au niveau moléculaire, par lesquels une cellule devient pathologique.

6.4.3 Diminution de l'impact des AGEs. Inversion des AGEs ... et rajeunissement ?

À l'évidence, on constate que certaines molécules, capables de lutter contre les dégâts de l'hyperglycémie, encore expérimentales (ALT-711), procèdent par antioxydation (réduction) mais aussi, par piégeage des « stressés carbonyles » (= dérivés alpha-dicarbonylés), des « **carbonyl scavengers** » {Kawakami, 1999 #23579}), formes engendrant les AGEs, à l'image de l'aminoguanidine, déjà utilisée en thérapeutique.

P.J. Thornalley / Archives of Biochemistry and Biophysics 419 (2003) 31–40



Les polyphénols possèdent toutes les qualités pour réaliser l'un et l'autre de ces deux modes d'action. Il est donc activement recherché aujourd'hui, si ils ne seraient pas non plus capables d'inverser même le cours de ce qu'on croyait encore il y a peu, définitivement alkylé. Inverser l'AGE, en quelque sorte ? (des « AGE-breakers » {Monnier, 2006 #27989}) !

7 Les leçons d'une alimentation équilibrée

L'alimentation méditerranéenne est réputée prolonger la vie et diminuer l'incidence des maladies majeures comme le cancer ou les maladies cardio-vasculaires. Aucune démonstration de ce qui se passe réellement *in vivo* chez l'homme n'a jamais été donnée mais si l'on retient que cette alimentation (*cf* le régime crétois) est supérieure à n'importe quel autre régime, on peut imaginer qu'elle apporte toutes sortes de molécules réductrices supplémentaires aux vitamines C et E. Il peut s'agir des polyphénols dont cette alimentation est riche. Mais ces critères ne sont pas les seuls à retenir. Les graisses de notre alimentation ont beaucoup à voir dans l'efficacité avec laquelle les polyphénols inhibent les peroxydations.

7.1 Les polyphénols : une grande diversité et une abondance, gages d'efficacité

Les polyphénols exercent leur propriété essentielle de piègeurs de radicaux libres. À l'égal des vitamines E en phase lipidique et C en phase aqueuse, ils bloquent les oxydations radicalaires en chaîne et préviennent donc la formation des peroxydes au sein des structures cellulaires.

Leur présence sur le site des peroxydations dépend directement de l'alimentation, de l'apport en chacun d'eux par celle-ci, mais aussi de leur « biodisponibilité » et de leur répartition au sein des tissus, en fonction de leur lipophilie et hydrophilie {Kaneko, 1994 #8418}, une fois résorbés.

La meilleure explication que l'on puisse donner aujourd'hui à leur efficacité est basée sur l'**abondance** et la **variété** (la diversité) des molécules fournies par cette alimentation {Chen, 1996 #3143}. C'est leur **diversité structurale** et leur **nombre** qui font qu'elles se répartissent dans les multiples compartiments cellulaires (vacuoles, membranes, mitochondries, cytoplasme, etc). On peut admettre qu'ils constituent un « **réseau de molécules** » qui ont toutes les mêmes potentialités réductrices : ce sont des polyphénols !

Les polyphénols alimentaires jouent le rôle de véritables Vitamines, réducteurs ou « relais » transporteurs des électrons (*via* les anthocyanes, les chalcones, les flavanones, les stilbénoides, ...) entre Vit. C dans le cytosol et Vit. E en phase lipidique (Figure 32). Leur potentiel redox est tel qu'ils sont capables de réduire le radical tocophéryl {Bors, 1995 #2104} (jouer le rôle directement, de la vitamine C) ou de transporter l'électron de celle-ci aux tocophéryls et réduire tous les types de radicaux présents et peroxydes formés. Ce « déplacement » de l'électron libre (du radical) vers la phase aqueuse où le radical ascorbyle (issu de la Vit. C) évolue efficacement vers des formes totalement détoxifiées en espèces neutres, par fragmentation, dimérisation, ... Les EOR sont détruites !

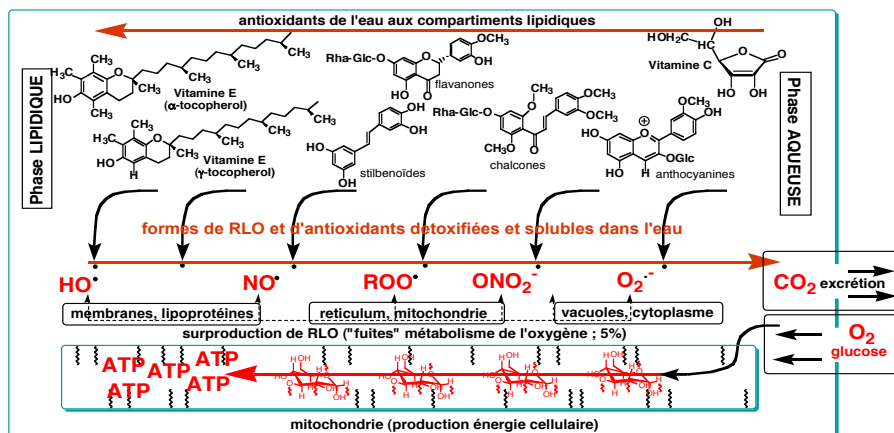


Figure 32 : Détoxification des EOR par les antioxydants répartis dans tous les compartiments.

Dans ce cas, ils complètent, voire, suppléent totalement, les systèmes de défense naturels décrits plus haut (5.1), quand ils sont devenus défaillants {Chen, 1995 #3135; Facino, 1999 #18403; Roberts, 2003 #22891}.

8 Contradictions, questions, réponses

De là à penser qu'il suffit de se nourrir d'aliments qui renfermeraient des polyphénols en quantité suffisante pour "vivre 120 ans", il n'y a qu'un pas. Malheureusement, nous ne pouvons pas le franchir car bon nombre de résultats contradictoires sur les propriétés des polyphénols figurent dans la littérature et des questions délicates résistent à l'expérimentation. Ces dernières ont remarquablement été posées et discutées par German et al. {German, 2000 #20813} :

- Notamment, quelle possibilité ont ces polyphénols, en conditions "grandeur nature" (dans le cas d'une consommation de vin, au cours d'un repas, par exemple), d'exercer véritablement, *in vivo* chez l'homme, les mêmes actions que celles qu'ils démontrent *in vitro* ?
 - Quelle est leur biodisponibilité ?
 - Sont-ils complexés avec les protéines du bol alimentaire, au point de rester dans la lumière intestinale ?
 - Sont-ils métabolisés par la flore intestinale, avant d'être résorbés ?
- Dans ce cas, seraient-ce leurs métabolites, et lesquels, qui agissent ?
- Pourquoi certaines molécules antioxydantes ont-elles des actions ambiguës ?
- Quelles recherches sont entreprises pour lever ces ambiguës ?

8.1 Les résultats contradictoires sont nombreux

Les conclusions d'études épidémiologiques récentes centrées sur la vitamine E font clairement état de ces réponses contradictoires {Stocker, 1999 #20126}. Par exemple, une cohorte de femmes ménopausées qui ingèrent de l'α-tocophérol (la forme de vitamine E la plus facile à obtenir industriellement) en quantité 5 fois supérieure aux doses journalières recommandées, atteignent une situation plus détériorée par rapport à l'oxydation que celles qui n'en ont pas reçu et surtout, que celles qui ont reçu ces mêmes molécules « protectrices » par l'alimentation (fruits, huile d'olive, etc).

8.1.1 L'inversion des effets attendus

In vitro, cette fois, il a été démontré que l'α-tocophérol lui-même devient capable d'arracher un électron et d'oxyder radicalement les structures membranaires. Il entretient lui-même un phénomène de

peroxydation en chaîne (Figure 33). C'est ce qui a été appelé le « Tocopheryl Mediated Peroxidation » Process (TMP process).

C'est donc le « monde à l'envers » ! Avec quoi va-t-on saler si le sel perd son goût ? Cette Vit. E pourrait donc nous laisser abandonner au feu des EOR ? Pas étonnant alors que beaucoup la considèrent comme une vitamine « à la recherche de sa pathologie ». Nous verrons plus loin (8.3.2, p. 28) qu'il n'en est rien ! C'est tout le contraire, semble-t-il. Cette action PRO-oxydante serait indispensable à son bon fonctionnement !

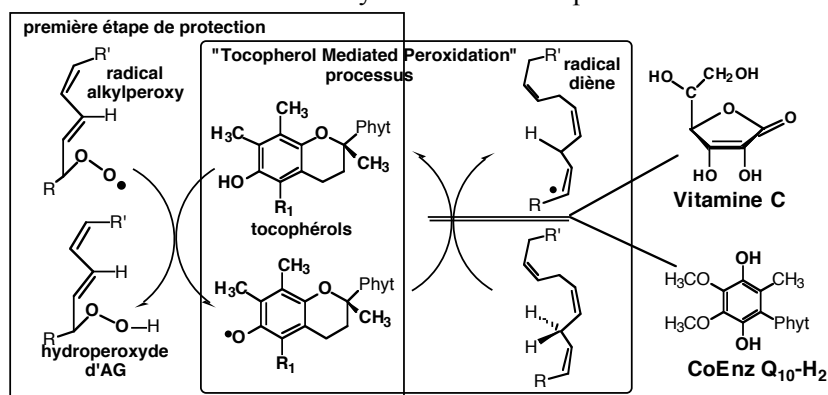


Figure 33 : Processus de « peroxydation médiée par le tocophérol » (« TMP » process),

8.1.2 Le retour à une situation confortable ?

Ce phénomène d'ailleurs disparaît en présence de la vitamine C en phase aqueuse ou de réducteurs liposolubles tels l'ubiquinone-10 (Figure 33). Cela conforte l'idée qu'il est préférable de disposer de plusieurs molécules réductrices à la fois, plutôt que beaucoup d'une seule, les secondes régénérant les premières quand elles ont agi et créant une situation bien mieux « contrôlée » {Upston, 1999 #22033; Stocker, 1999 #20126}.

8.1.3 La "vitamine E" = un mélange de huit molécules

La "vitamine E" est en fait un mélange de huit molécules différentes (voir Figure 15, p. 16) toutes liposolubles du fait de la présence d'une longue chaîne "phytyle".

8.1.3.1 Une grande ressemblance chimique, de grandes différences de réactivité

Ces molécules, bien que très ressemblantes sur le plan chimique, ne fonctionnent pas avec la même efficacité face aux divers toxiques oxydants. C'est ainsi, par exemple, que le γ -tocophérol est capable de piéger, par addition nucléophile, les peroxydites ONO_2H (résultat de l'addition de l'anion superoxyde sur le NO), ce que ne peut effectuer l' α -tocophérol (dont tous les centres carbonés de son noyau phénolique sont saturés) {Christen, 1997 #3255}.

Ces deux composés sont donc **complémentaires** pour assurer la protection des LDL-cholestérol de l'oxydation : face aux radicaux libres oxygénés (anion superoxyde, hydroxyle) pour l'une et, face aux oxydants électrophiles (peroxydites, nitrosonium, ...) pour l'autre. Ainsi, les autres polyphénols de notre alimentation, qui sont encore plus divers que ces tocophérols, pourraient-ils eux aussi jouer les rôles complémentaires de véritables "vitamines antioxydantes" et assurant notre protection contre toutes les formes délétères de l'oxygène, par ailleurs si vital !

Un seul composé, même très actif contre les radicaux libres, employé en excès, finit par créer un déséquilibre tel que les états délétères que l'on cherchait à corriger réapparaissent et parfois même lui sont dus.

8.2 Supplémentations ?

8.2.1 α -tocophérol seul

<http://lpi.oregonstate.edu/infocenter/vitamins/vitaminE/index.html>

Une supplémentation inadaptée en α -tocophérol seul, comporte des risques qui ne se limitent pas à cet écart de protection qui existent contre les diverses EOR (voir 8.1.3, p. 27), mais il est constaté en outre que cette supplémentation en α -tocophérol provoque la baisse de la **résorption du γ -tocophérol d'un facteur 20** {Kushi, 1996 #9428}. Or, le γ -tocophérol est le seul capable de lutter contre les peroxy-nitrites ! Que penser alors des supplémentations de plusieurs centaines de mg d' α -tocophérol par jour (jusque 2000 mg !)? Rien d'étonnant d'observer des effets **contraires à ceux escomptés** !

8.2.2 α -tocophérol naturel vs synthétique

Faire appel à la vitamine E **de nos aliments** (qui contiennent majoritairement à la fois de l' α - et du γ -tocophérol), plutôt que d'utiliser des supplémentations (composées principalement d' **α -tocophérol de synthèse**), n'est pas sans conséquences sur le sort de nos artères ! La « vitamine E » de synthèse est composée de 8 isomères (il s'agit d'un racémique) et donc, seulement 12,5% correspondent au véritable *R,R,R*- α -tocophérol naturel !

Pour calculer le nombre de mg d' α -tocophérol biodisponibles présent dans un supplément, il faut utiliser les formules suivantes :

- ***RRR*-alpha-tocophérol (naturel ou *d*-alpha-tocophérol) :**
IU x 0,67 = mg *RRR*-alpha-tocophérol. Exemple : 100 IU = 67 mg
- ***all-rac*-alpha-tocophérol (synthétique ou *dl*-alpha-tocophérol) :**
IU x 0,45 = mg *RRR*-alpha-tocophérol. Exemple: 100 IU = 45 mg

8.3 Pertinence des données biologiques ?

8.3.1 Bon ou mauvais cholestérol

Des résultats importants de la littérature rapportent les bienfaits d'une alimentation riche en polyphénols, corrélée à une augmentation des triglycérides, du cholestérol et des LDL-cholestérol ! Ces observations sont contradictoires puisque ce sont des paramètres biologiques que l'on cherche classiquement à diminuer en prévention secondaire des accidents cardio-vasculaires.

Il devient ainsi évident que des « erreurs d'interprétation » dans ce domaine, puissent être dues au fait qu'on ne mesure pas les données biologiques les plus pertinentes : ce n'est pas tant le **cholestérol *per se*** qui est toxique (athérogène) mais plutôt ses formes oxydées, et ceci est probablement aussi vrai pour les **LDL-cholestérol** {Catanzaro, 1996 #20125}. D'ailleurs, une simple réflexion de bon sens, aurait dû observer que la présence de cholestérol est strictement nécessaire. Ceci est si vrai que pour éviter d'en manquer, les cellules de notre corps en fabriquent près de 2 g par jour. Les besoins « normaux » étant d'environ 6 g par jour (renouvellement).

Des mesures plus fines, tenant compte davantage de l'**état de peroxydation** du « bon cholestérol » (HDL) que de sa proportion relative au « mauvais » (LDL) et de sa capacité à protéger l'organisme des maladies cardiovasculaires, démontrent clairement que les aspects « positifs » peuvent radicalement s'inverser dans certaines circonstances de « modifications de l'état oxydatif » {La Ville, 1994 #20117}.

8.3.2 Le rôle de la vitamine E : à reconsidérer en totalité ?

Dans une revue complète et très éclairée des mécanismes d'action de la vitamine E dans son rôle protecteur des structures cellulaires des peroxydations, Thomas et coll. ont interprété les résultats « contradictoires » d'une façon très globale : aucune des études d'intervention avec la Vit. E pour lutter contre l'athérosclérose chez l'homme ne permet de conclure !. Ils prennent en compte des études « mécanistiques » qui démontrent le rôle complexe de la Vit. E dans les premières étapes des peroxydations lipidiques des lipoprotéines : elle n'agit pas comme un antioxydant « briseur » de chaîne d'oxydation. Son action dépend de la présence de « CO-ANTIOXYDANTS » capables de réduire son radical, de l'exporter hors de la lipoparticule : elle est à la fois anti- et pro-oxydante selon le niveau de flux et de réactivité de l'oxydant ! Et il vont même jusqu'à imaginer que le modèle du « processus TMP » permet d'expliquer au mieux l'action moléculaire complexe de la Vit. E au cours de l'oxydation des lipoprotéines comme de leur anti-oxydation ! Elle n'agirait que de

cette manière !

Autrement dit, ce que nous jugions inacceptable plus haut, prend tout son sens dans cette analyse dont la validité et la pertinence à l'échelle *in vivo* sont même « évaluées » : l'action commune des CO-ANTIOXYDANTS et de la Vit. E (dans un cycle TMP) est la seule manière d'expliquer la « protection » des lipoprotéines contre l'oxydation, ... et peut-être aussi, ... l'athérosclérose (mais là, c'est encore un peu trop tôt pour le dire !!!){Thomas, 2000 #20127}.

Ce domaine de la recherche pour comprendre les mécanismes intimes par lesquels des espèces aussi fugaces que des EOR ou des RLO créent le désordre dans l'organisme et surtout, pour apporter scientifiquement les preuves des modes de protection des polyphénols, est un domaine particulièrement compliqué. Une expérience « négative » peut fort bien avoir un sens opposé à celui qu'on lui fait dire ... !

Cela est vrai pour les polyphénols du vin, mais aussi pour tous les autres polyphénols, quels que soient les résultats de nos recherches. Les aliments doivent assurer désormais un "bien-être santé" et avoir un rôle préventif en plus que de nourrir, mais il faut, là comme ailleurs, garder présent à l'esprit que « tout est une question de dose ». Aucune des molécules dont nous avons parlé, aussi puissant antioxydant soit-elle, ne pourra à elle seule nous protéger de toutes les espèces activées de l'oxygène, dans tous les compartiments cellulaires en même temps ... C'est une question de bon sens, et il faut admettre que les crétois (qui vivent centenaires), possèdent depuis longtemps, la sagesse du "diététicien", vers laquelle semblent nous acheminer toutes nos fastidieuses et délicates recherches, puisqu'ils nous « livrent » depuis des siècles cet aphorisme que peut-être nous devrions faire nôtre : « *si ton alimentation est la première de tes médecines, fais qu'elle soit la plus variée et la plus riche en toutes sortes de nutriments (polyphénols !), sans jamais faire plus confiance à l'un qu'à l'autre mais à tous* ».

8.4 Des éléments de réponses

Plusieurs programmes spécifiques ont apporté un certain nombre d'informations relatives aux polyphénols du vin, mais qui peuvent s'étendre à la plupart des aliments renfermant les mêmes composés (cacao, thé, légumes, ...).

8.4.1 Vasorelaxation

- En pharmacologie, les mécanismes de la vasorelaxation observée (favorable à une diminution des accidents cardiovasculaires) ont été précisés au niveau moléculaire : les flavanols ont une action sur l'endothélium vasculaire par augmentation de la synthèse de NO{Andriambelosen, 1997 #746; Andriambelosen, 1998 #747}. Nous avons pu montrer que cette augmentation est consécutive à un relargage d'ATP qui, en second messenger, agirait sur des récepteurs à purines de type P2Y₁{Freslon, 1997 #5426}, selon un mécanisme qui reste à découvrir.

8.4.2 Biodisponibilité/métabolisme

8.4.2.1 Action de la flore colique humaine

- En nutrition humaine, l'interaction des polyphénols avec la flore colique humaine a été modélisée chez des rats gnotoxéniques (sans flore propre, chez lesquels on introduit les souches de la flore humaine). Les métabolites qui se forment de façon majoritaire à partir de flavanols, sont des polyphénols plus simples, qui ne possèdent plus de propriétés tanantes, qui sont hydrosolubles comme l'est l'aspirine{Brézillon, 1998 #2326} et qui devraient donc être aussi "biodisponibles" qu'elle. Les propriétés vaso-circulatoires de chacun d'eux ne sont pas toujours connues, loin s'en faut.

8.4.2.2 Expérimenter chez l'homme « grandeur nature »

- La seule manière de progresser efficacement, dans ce domaine est de réaliser des expériences « grandeur nature », chez l'homme. Toute transposition de l'animal ou de l'*in vitro* à l'homme sera toujours suspecte, ne serait-ce que parce que pour la plupart des animaux, l'acide ascorbique n'est pas une vitamine C : ils la fabriquent à partir du sorbitol.

- Pour démontrer de manière définitive que les polyphénols les plus complexes (tanins catéchiques) sont **résorbés** et qu'ils peuvent donc agir *in vivo*, nous avons décidé la préparation des molécules les plus représentées dans le vin en y incorporant un **marquage au carbone 13** par synthèse totale des monomères (+)-catéchine **5** et (-)-épicatéchine {Nay, 2000 #21371; Nay, 2000 #21372; Nay, 2001 #141; Nay, 2002 #20079} ou de leur dimère B3 {Arnaudinaud, 2001 #20061; Arnaudinaud, 2001 #20068} (Figure 34), les stilbénoïdes {Teguo, 1998 #18734; Ribeiro de Lima, 1999 #19043; Vitrac, 2001 #20065} ou les anthocyanes {Krisa, 1999 #19356; Krisa, 1999 #20246}, préparés par culture cellulaire de vigne {Krisa, 1998 #20136}, nous sommes capables désormais, d'en obtenir à l'échelle du gramme. De telles quantités sont nécessaires à l'expérimentation *in vivo* chez l'homme (Figure 35).

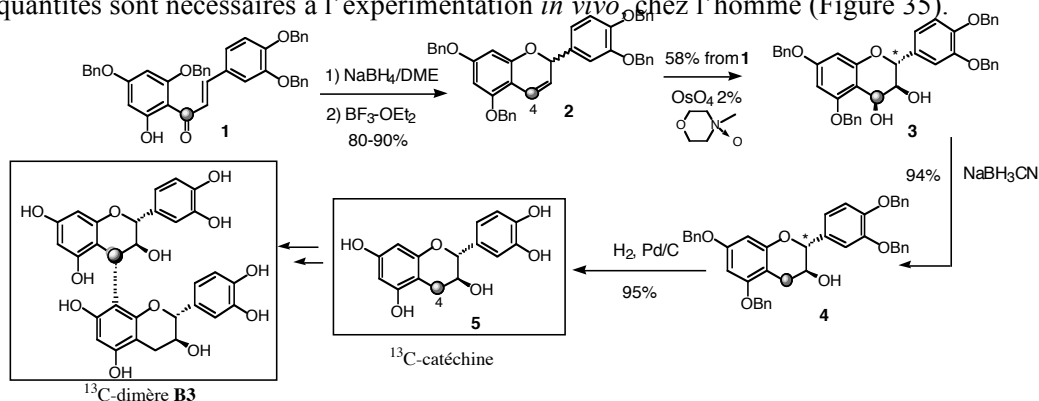


Figure 34: synthèse totale de polyphénols marqués au ^{13}C .

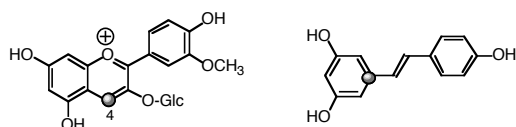


Figure 35 : péonidine *trans-resvératrol*, marqués au ^{13}C .

Ces molécules marquées, mais identiques par ailleurs en tout point à celles normalement présentes dans les vins, sont utilisables chez l'homme (sans risque supérieur à celui de leurs homologues non marqués). Ce sont les outils indispensables qui demain nous renseigneront de manière non ambiguë sur leur **biodisponibilité** mais aussi pour découvrir leurs mécanismes d'action intimes.

9 Alimentation en lipides : un « enrichissement » à long terme

La nature des AG de nos cellules est directement liée à celle de notre alimentation. Une alimentation, **répétée**, sur le long terme, riche en graisses **animales** ou en graisses **végétales** « **hydrogénées** » (**margarines**, par ex. !) conduira inévitablement à l'incorporation majoritaire d'AGS dans les membranes de nos cellules.

Ceux-ci sont moins oxydables que les AGPI, mais on ne constate pas de bénéfice à leur présence exclusive, bien au contraire !

Notion d'Acides Gras Essentiels = "A.G.E." (voir Figure 36) : selon la série à laquelle les acides gras polyinsaturés appartiennent, diverses prostaglandines seront engendrées au sein de nos membranes et donc, on assistera à des effets plutôt protecteurs (séries 1 et 3) ou à des effets plutôt délétères (série 2 de l'acide arachidonique, thrombotiques, ...).

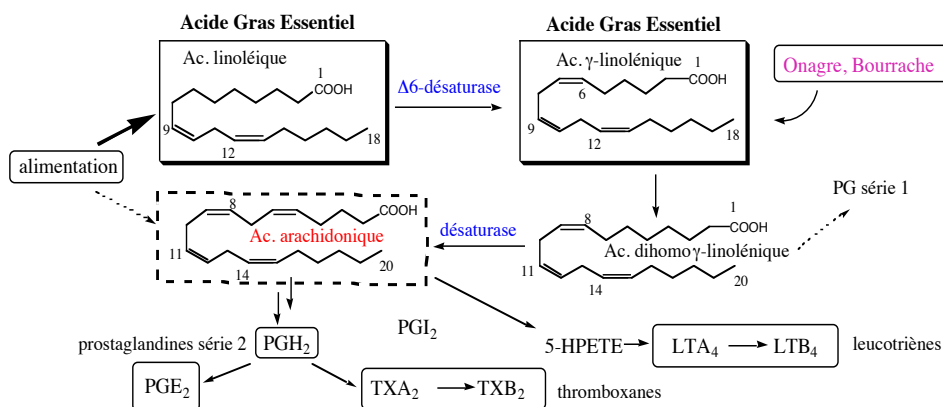


Figure 36 : Biogenèse des AGPI (éicosanoïdes) et sources dans l'alimentation

9.1 Une différence de « message biologique »

L'oxydation « chimique » **régiosélective** (thermodynamiquement « orientée ») que permet une alimentation riche en AGPI par rapport aux graisses saturées (d'origine animale, principalement), est la principale explication de l'intérêt nutritionnel largement observé par les épidémiologistes.

En effet, dans le seul cas des AGPI, les composés issus de l'oxydation radicalaire (chimique) peuvent se comparer aux molécules formées par les enzymes (cyclo-oxygénases, lipoxygénases, ...), mécanismes inflammatoires mis en jeu pour lutter contre les anomalies et dysfonctionnements divers qui surviennent au cœur de la cellule.

Ces molécules en possèdent donc potentiellement les mêmes propriétés biologiques. Ce sont notamment des **cytokines**, capables de « signaler » aux cellules (macrophages, plaquettes, ...) qu'il y a « le feu » dans telle ou telle structure cellulaire. Ces molécules d'AGPI peroxydées, avant d'avoir été clivées par les phospholipases (isoprostanoïdes) ou après (prostanoïdes), sont douées de propriétés biologiques, intenses pour certaines comme les prostaglandines, les prostacyclines, les leucotriènes, etc..., et déclenchent la réponse « inflammatoire » (Figure 37).

Bien que cette réaction de peroxydation soit le signe d'un mauvais fonctionnement cellulaire, elle est **avant tout un message délivré** par la cellule qui se traduira par une mobilisation des systèmes de détoxification. Dans ce seul cas, l'organisme est en situation de réagir et les cellules, activées, peuvent assurer le « nettoyage », faire cesser les peroxydations en chaîne, au risque de détruire la cellule concernée.

Dans le cas où l'oxydation a lieu sur n'importe quelle position des AGS, la question qui se pose alors, est qu'on ne connaît pas aujourd'hui de « signification biologique » aux nombreux peroxydes d'acides gras saturés qui en résultent. Aucun message n'est transmis à la « machinerie cellulaire » (Figure 37) et les réactions d'oxydation radicalaire en chaîne peuvent se perpétuer, échappant à tout contrôle enzymatique !

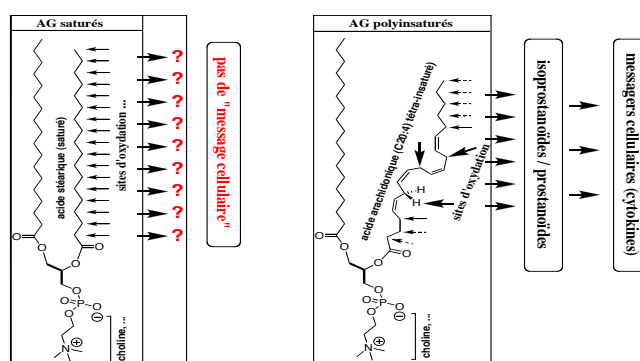


Figure 37 : Oxydation des AGS vs AGPI : un message clair !

9.2 Les conséquences d'une mauvaise qualité des graisses

Les mécanismes responsables du vieillissement, moins bien endigués si nos membranes renferment principalement des graisses « saturées », l'accélèrent et les pathologies dégénératives se développent. Les structures cellulaires sont « laissées à l'abandon » et les dégâts ne cesseront que dans la mesure où des molécules antioxydantes ou piègeuses de radicaux libres (enzymes, vitamines, polyphénols) seront disponibles sur le site de ces peroxydations (voir § 5, p.14).

Un tel processus de « protection » n'a cependant jamais été mis en évidence *in vivo* : démontrer la plus grande efficacité des AGPI vs celle des AGS à piéger un radical, si réactif qu'il disparaît en un milliardième de seconde, relève encore de l'impossible. En fait, les répercussions sur les tissus (l'organisme) ne s'observent que sur le long terme et seules des mesures qui « intègrent » cette notion de temps, comme l'épidémiologie, sont à même de **révéler** l'intérêt d'une alimentation riche en AGPI. En attendant d'en avoir la démonstration scientifique, il peut être bon de se rappeler qu'il y a un lien direct entre les lipides de notre alimentation et ceux qui sont incorporés dans nos membranes. Ainsi, le choix du type de graisses que nous faisons aujourd'hui aura-t-il des conséquences sur la façon par laquelle notre organisme pourra se défendre des espèces radicalaires, le moment venu.

9.3 Un cas particulier : le cholestérol (fonctionnalité)

À ce stade de l'évaluation exhaustive de l'impact de la nature des AG sur la lipoperoxydation, il est important d'aborder les questions qui concernent le cholestérol, si souvent critiqué et même qualifié de « mauvais ». C'est un élément constitutif essentiel à l'édification de toutes nos cellules {Catanzaro, 1996 #20125}. Les molécules de **cholestérol** sont insérées dans les membranes (bicouches phospholipidiques) où elles jouent un rôle capital : elles les **stabilisent** en leur apportant du "désordre" (augmentation de l'entropie) et les protègent de l'oxydation (Figure 38). Ainsi, les molécules de cholestérol provoquent-elles des **déformations** et facilitent-elles les **perturbations** des membranes cellulaires. Sans cette « plasticité », l'insertion en leur sein des enzymes et autres protéines membranaires, indispensables à sa **fonctionnalité**, devient impossible. Pour des raisons parfaitement « mécaniques », les cellules perdent leur fluidité de manière corrélée à la disparition du cholestérol, et une forte proportion d'AGS renforce même ce phénomène.

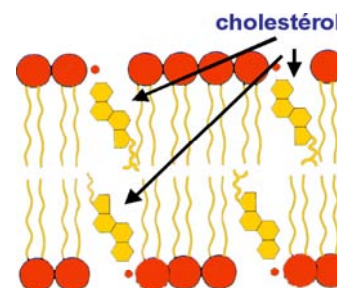


Figure 38 : Molécules de cholestérol (jaune) au sein des bicouches membranaires : une source de leur "fluidité".

Une cellule qui ne peut plus insérer ses protéines membranaires n'est plus fonctionnelle, elle perd de ses capacités à « communiquer », ce qui explique peut-être les effets « collatéraux » majeurs liés à l'usage des hypocholestérolémiants (statines, . A-t-on fait le bon choix de stratégie thérapeutique en luttant contre la synthèse endogène de cholestérol ? Rien n'est moins sûr !

Certains chercheurs ont légitimement dénoncé les choix de l'industrie pharmaceutique qui s'appuient sur des données biaisées pour promouvoir leur vente et « en particulier, les études épidémiologiques montrant une relation entre cholestérol et risque d'infarctus du myocarde, qui ont une très faible validité scientifique » ! Ils n'hésitent pas à répondre à des personnes qui les interrogent sur le risque de DMLA (dégénérescence maculaire liée à l'âge) : « *les statines étant des médicaments inutiles (ils ne protègent pas des maladies cardiovasculaires) et dangereux sous bien d'autres aspects (augmentation des cancers et des diabètes entre autres), il faudrait être fou pour négliger ce risque concernant les yeux en continuant à prendre sa statine au risque de devenir aveugle !* ». Voir par exemple, le site fort bien fait et évolutif du Dr de Lorgeril, qui malheureusement n'a pas reçu que des encouragements depuis qu'il a osé aller à contresens et bousculer les idées toutes « faites » mais aussi les plus répandues (<http://michel.delorgeril.info/index.php/>).

En conclusion

Si notre connaissance sur ce sujet progresse avec difficulté, c'est du fait de sa très grande complexité. Non seulement les "espèces oxygénées réactives" en cause sont parmi les entités les plus réactives que l'on connaisse et sont capables d'attaquer n'importe quelle structure cellulaire, mais aussi, les processus qu'elles déclenchent sont pratiquement impossibles à étudier *in vivo* tant ils se produisent rapidement. Les seuls témoins de leur existence, ce sont les désordres physiologiques qu'elles engendrent (inflammation, athérome, dégénérescence, ...), qui ne sont visibles que beaucoup plus tardivement, sur le très long terme !

9.4 Le stress "oxydant" : lequel ?

Cependant, cette hypothèse n'est pas complètement satisfaisante car une partie des phénomènes délétères constatés ne trouve pas d'explication. Il est frappant de constater, par exemple, que les auteurs de publications les plus retentissantes sur les propriétés biologiques des polyphénols {Finkel, 2003 #22980; Anderson, 2003 #22748; Corder, 2001 #22777; Kawada, 1998 #8580; Wood, 2004 #29607}, font référence en priorité à leurs propriétés antioxydantes, mais les mécanismes d'action qu'ils invoquent ensuite, n'ont aucun lien avec leur pouvoir réducteur !

Pour approcher d'un peu plus près la « vérité », il faut tenir compte d'une plus grande diversité de stress. Les substances d'intérêt auraient ainsi, globalement, une plus grande palette d'actions possibles, en synergie, contre un ensemble plus diversifié de mécanismes à l'origine de dégâts et du vieillissement. Ainsi, certaines molécules, considérées jusque-là uniquement comme « antioxydantes », pourraient-elles, de surcroît, agir individuellement pour inhiber spécifiquement l'un ou l'autre de cette série beaucoup plus vaste de mécanismes délétères.

9.5 La réaction de Maillard in vivo : un stress "carbonylé" aussi

Les dégâts qui provoquent le vieillissement de l'organisme ne seraient pas seulement la conséquence d'un mauvais « contrôle » du flux d'électrons dues aux « fuites » du métabolisme mitochondrial et des EOR intracellulaires. À l'évidence, il existe d'autres sources d'effets délétères potentiels. Pour les considérer plus complètement, nous avons fait le lien avec les recherches qui se sont développées au cours de ces deux dernières décennies, dans le domaine des pathologies « métaboliques » et du diabète, principalement.

En faisant une analyse très fine, au niveau moléculaire, des mécanismes mis en jeu, il est permis d'échafauder des hypothèses expliquant les raisons des principaux dégâts circulatoires, visuels, rénaux, ..., observés systématiquement en corollaire de ces maladies. La plus importante d'entre elles concerne la « réaction de Maillard » {Maillard, 1912 #22676} et les « stress oxydant et carbonylé » qui l'accompagnent.

9.6 Le devoir du scientifique

Quelle que soit la difficulté, le devoir du scientifique est de poursuivre l'objectif fixé qui est de comprendre dans le détail, au niveau moléculaire, les mécanismes d'action et les paramètres physicochimiques d'importance. Ces avancées, sur les phytonutriments du vin, permettront demain d'imaginer les polyphénols les plus actifs pour soigner l'homme des effets les plus invalidants d'un très grand nombre de pathologies qui nous guettent tous.

En conclusion

Si l'oxygène est indispensable à la vie, il est aussi toxique et source de dégénérescences accélérées. Dans un tel contexte, les polyphénols sont incontestablement, parmi les phytonutriments, les meilleurs « régulateurs » de cette ambivalence qui, elle, ne s'estompera jamais !

Bibliographie

- 1 a) "The Flavonoids", J.B. Harborne ; T.J. Mabry and H. Mabry, Editors. 1975, London: Chapman and Hall. b) "The flavonoids : advances in research", J.B. Harborne and T.J. Mabry, Editors. 1982, Chapman and Hall: London. c) "Plant phenolics. Methods in plant biochemistry", Vol. I, P.M. Dey and J.B. Harborne, Editors. 1989, Academic Press: New York. d) "Chemistry and significance of condensed tannins", R.W. Hemingway and J.J. Karchesy, Editors. 1989, New York: Plenum Press. e) "Plant polyphenols - Synthesis, Properties, Significance", R.W. Hemingway, and P.E. Laks, Editors . 1992, New York: Plenum Press. f) "Polyphenols Communications 96", (2 vol. ; 578 pages), XVIIIth International Conference on Polyphenols, Bordeaux, 15-18 juillet 1996. J. Vercauteren, C. Chèze, M.C. Dumon, J.F.W. Weber, Editors. g) "Polyphenols 96", (1 vol. ; 295 pages), Colloques série, INRA Éditions, XVIIIth International Conference on Polyphenols, Bordeaux, 15-18 juillet 1996. J. Vercauteren, C. Chèze, J. Triaud, Editors. h) "Polyphenols Communications 98", (2 vol. ; 600 pages), XIXth International Conference on Polyphenols, Lille 1-4 septembre 1998. F. Charbonnier et al, Editors. i) "Polyphenols, Wine and Health", (1

- Vol. 228 pages), Vol. 48, Proceedings of the Phytochemical Society of Europe Series, 2001, Chèze, C.; Vercauteren, J.; Verpoorte, R., Editors, Kluwer Academic Publishers, Boston.
- 2 Abuamsha R., Croft K.D., Puddey I.B., Proudfoot J.M., and Beilin L.J., *Phenolic content of various beverages determines the extent of inhibition of human serum and low-density lipoprotein oxidation in vitro: identification and mechanism of action of some cinnamic acid derivatives from red wine*. Clin Sci, 1996. **91**(4): p. 449-458.
 - 3 Agarwal R., Katiyar S., Khan S., and Mukhtar H., *Protection against ultraviolet B radiation-induced effects in the skin of SKH-1 hairless mice by a polyphenolic fraction isolated from green tea*. Photochemistry & Photobiology., 1993. **58**(5): p. 695-700.
 - 4 Anderson R.M., Latorre-Esteves M., Neves A.R., Lavu S., Medvedik O., Taylor C., Howitz K.T., Santos H., and Sinclair D.A., *Yeast life-span extension by calorie restriction is independent of NAD fluctuation*. Science, 2003. **302**(5653): p. 2124-6.
 - 5 Andriambeloson E., Kleschyov A.L., Muller B., Beretz A., Stoclet J.C., and Andriantsitohaina R., *Nitric oxide production and endothelium-dependent vasorelaxation induced by wine polyphenols in rat aorta*. Br J Pharmacol, 1997. **120**(6): p. 1053-1058.
 - 6 Andriambeloson E., Magnier C., HaanArchipoff G., Lobstein A., Anton R., Beretz A., Stoclet J.C., and Andriantsitohaina R., *Natural dietary polyphenolic compounds cause endothelium-dependent vasorelaxation in rat thoracic aorta*. J Nutr, 1998. **128**(12): p. 2324-2333.
 - 7 Arnaudinaud V., Nay B., Nuhrich A., Déffieux G., Mérillon J.-M., Monti J.-P., and Vercauteren J., *Total synthesis of isotopically labelled flavonoids, Part 3. 13C-labelled procyanidin B3 from 1-[13C]-acetic acid*. Tetrahedron Lett., 2001. **42**: p. 1279-1281.
 - 8 Arnaudinaud V., Nay B., Vergé S., Nuhrich A., Déffieux G., Mérillon J.-M., Monti J.-P., and Vercauteren J., *Total synthesis of isotopically labelled flavonoids. Part 5. Gram-scale production of 13C-labelled (-)-procyanidin B3*. Tetrahedron Lett., 2001. **42**: p. 5669-5671.
 - 9 Arveiler D., Cambou J.P., Nuttens M.C., Bingham A., Hedelin G., Ruidavets J.B., Richard J.L., Salomez J.L., Sacrez A., and Schaffer P., *Acute coronary care and treatment of myocardial infarction in the three French MONICA registers*. Rev. Epidémiol. Santé Publ., 1990. **38**: p. 429-434.
 - 10 Bagchi D., Garg A., Krohn R.L., Bagchi M., Tran M.X., and Stohs S.J., *Oxygen free radical scavenging abilities of vitamins C and E, and A grape seed proanthocyanidin extract in vitro*. Res Commun Molecul Pathol P, 1997. **95**(2): p. 179-189.
 - 11 Baur J.A. and Sinclair D.A., *Therapeutic potential of resveratrol: the in vivo evidence*. Nat Rev Drug Discov, 2006. **5**(6): p. 493-506.
 - 12 Bentsàth A. and Szent-Györgyi A., *Vitamin P*. Nature, 1937. **140**: p. 426.
 - 13 Blumberg J.B., *Considerations of the scientific substantiation for antioxidant vitamins and beta-carotene in disease prevention*. Am J Clin Nutr, 1995. **62**(6 Suppl.): p. S1521-S1526.
 - 14 Bors W., Michel C., and Schikora S., *Interaction of flavonoids with ascorbate and determination of their univalent redox potentials: a pulse radiolysis study*. Free Radical Biol Med, 1995. **19**(1): p. 45-52.
 - 15 Brézillon C., Rabot S., Philippe C., Durao J., Chèze C., and Vercauteren J. *Metabolism of catechin and epicatechin by the human colonic microflora*. in XIXth International Conference on Polyphenols. 1998. Lille: Groupe Polyphenols.
 - 16 Brownlee M., *Advanced protein glycosylation in diabetes and aging*. Annual review of medicine, 1995. **46**: p. 223-34.
 - 17 Cambou J.P., Richard J.L., Arveiler D., Nuttens M.C., Ruidavets J.B., Bingham A., Salomez J.L., Schaffer P., and Douste-Blazy P., *Les premiers enseignements du projet MONICA*. Rev. Prat. (Paris), 1990. **40**(24): p. 2247-2260.
 - 18 Cao G., Alessio H.M., and Cutler R.G., *Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants*. Free Radic Biol Med, 1993. **14**(3): p. 303-311.
 - 19 Cao G. and Prior R.L., *Comparison of different analytical methods for assessing total antioxidant capacity of human serum*. Clin Chem, 1998. **44**(6 Pt 1): p. 1309-15.
 - 20 Cao G.H., Russell R.M., Lischner N., and Prior R.L., *Serum antioxidant capacity is increased by consumption of strawberries, spinach, red wine or vitamin C in elderly women*. J Nutr, 1998. **128**(12): p. 2383-2390.
 - 21 Castagnino C., *Étude des polyphénols glycosylés des vins rouges de Bordeaux*. 1996: Bordeaux.
 - 22 Catanzaro J.A. and Suen R., *Clinical Laboratory Indicators of Cardiovascular Disease Risk*. Alt Med Rev, 1996. **1**(3): p. 185-194.
 - 23 Chen H. and Tappel A., *Protection by multiple antioxidants against lipid peroxidation in rat liver homogenate*. Lipids, 1996. **31**(1): p. 47-50.
 - 24 Chen H. and Tappel A.L., *Protection of vitamin e, selenium, trolox c, ascorbic acid palmitate, acetylcysteine, coenzyme q(0), coenzyme q(10), beta-carotene, canthaxanthin, and (+)-catechin against oxidative damage to rat blood and tissues in vivo*. Free Radical Biol Med, 1995. **18**(5): p. 949-953.
 - 25 ---, *Vitamin C, selenium, trolox C, ascorbic acid palmitate, acetylcysteine, coenzyme Q, beta-carotene, canthaxanthin, and (+)-catechin protect against oxidative damage to kidney, heart, lung and spleen*. Free Radical Res, 1995. **22**(2): p. 177-186.
 - 26 Christen S., Woodall A.A., Shigenaga M.K., Southwell-Keely P.T., Duncan M.W., and Ames B.N., *γ-tocopherol traps mutagenic electrophiles such as NOx and complements α-tocopherol: Physiological implications*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1997. **94**: p. 3217-3222.
 - 27 Cook N.C. and Samman S., *Flavonoids - chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources*. J Nutr Biochem, 1996. **7**(2): p. 66-76.
 - 28 Corder R., Douthwaite J.A., Lees D.M., Khan N.Q., Viseu Dos Santos A.C., Wood E.G., and Carrier M.J., *Endothelin-1 synthesis reduced by red wine*. Nature, 2001. **414**(6866): p. 863-4.

- 29 Coudray C., Roussel A.M., Mainard F., Arnaud J., and Favier A., *Lipid peroxidation level and antioxidant micronutrient status in a pre-aging population; Correlation with chronic disease prevalence in a French epidemiological study (Nantes, France)*. J Am Coll Nutr, 1997. **16**(6): p. 584-591.
- 30 Cucina A., Pagliei S., Borrelli V., Corvino V., Stipa F., Cavallaro A., and Sterpetti A.V., *Oxidised LDL (OxLDL) induces production of platelet derived growth factor AA (PDGF AA) from aortic smooth muscle cells*. Eur J Vasc Endovasc Surg, 1998. **16**(3): p. 197-202.
- 31 da-Silva W.S., Harney J.W., Kim B.W., Li J., Bianco S.D., Crescenzi A., Christoffolete M.A., Huang S.A., and Bianco A.C., *The small polyphenolic molecule kaempferol increases cellular energy expenditure and thyroid hormone activation*. Diabetes, 2007. **56**(3): p. 767-76.
- 32 Draczynska Lusiak B., Doung A., and Sun A., *Oxidized lipoproteins may play a role in neuronal cell death in Alzheimer disease*. Mol Chem Neuropathol, 1998. **33**(2): p. 139-148.
- 33 Engel N. and Mahlknecht U., *Aging and anti-aging: Unexpected side effects of everyday medication through sirtuin1 modulation*. Int J Mol Med, 2008. **21**(2): p. 223-32.
- 34 Erel O., *A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation*. Clin Biochem, 2004. **37**(4): p. 277-85.
- 35 Facino R.M., Carini M., Aldini G., Berti F., Rossoni G., Bombardelli E., and Morazzoni P., *Diet enriched with procyanidins enhances antioxidant activity and reduces myocardial post-ischaemic damage in rats*. Life Sci, 1999. **64**(8): p. 627-642.
- 36 Ferrières J., *Alcohol and cardiovascular diseases: epidemiological studies*, in *Polyphenols, Wine and Health*, C. Chèze, J. Vercauteren, and R. Verpoorte, Editors. 2001, Kluwer Academic Publishers: Bordeaux. p. 149-175.
- 37 Finkel T., *Ageing: a toast to long life*. Nature, 2003. **425**(6954): p. 132-3.
- 38 Frankel E.N., Waterhouse A.L., and Kinsella J.E., *Inhibition of human LDL oxidation by resveratrol*. Lancet, 1993. **341**(8852): p. 1103-1104.
- 39 Freslon J.L., Mendes A., Desgranges C., and Vercauteren J., *Procyanidin oligomers from grape seed induce NO-dependent relaxation of rat aortic rings via P2Y1 receptor activation*. Br. J. Pharmacol., 1997. **122**: p. 200P.
- 40 German J.B. and Walzem R.L., *The health benefits of wine*. Annu Rev Nutr, 2000. **20**: p. 561-593.
- 41 Gillotte K., Horkko S., Witztum J., and Steinberg D., *Oxidized phospholipids, linked to apolipoprotein B of oxidized LDL, are ligands for macrophage scavenger receptors [In Process Citation]*. J Lipid Res, 2000. **41**(5): p. 824-833.
- 42 Hanna A.N., Sharma H.M., Kauffman E.M., and Newman H.A.I., *In vitro and in vivo inhibition of microsomal lipid peroxidation by MA-631*. Pharmacol Biochem Behav, 1994. **48**(2): p. 505-510.
- 43 Harman D., *Aging: A theory based on free radical and radiation chemistry*. J. Gerontol., 1956. **11**: p. 298-300.
- 44 ---, *Free radical theory of aging: origin of life, evolution and aging*. Age, 1980. **3**: p. 100-102.
- 45 ---, *Extending functional life span*. Exp Gerontol, 1998. **33**(1-2): p. 95-112.
- 46 Hensley K., Carney J.M., Mattson M.P., Aksenova M., Harris M., Wu J.F., Floyd R.A., and Butterfield D.A., *A model for β -amyloid aggregation and neurotoxicity based on free radical generation by the peptide : relevance to Alzheimer disease*. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1994. **91**: p. 3270-3274.
- 47 Hertog M.G.L., *Epidemiological evidence on potential health properties of flavonoids*. Proc Nutr Soc, 1996. **55**(1B): p. 385-397.
- 48 Howitz K.T., Bitterman K.J., Cohen H.Y., Lamming D.W., Lavu S., Wood J.G., Zipkin R.E., Chung P., Kisielewski A., Zhang L.L., Scherer B., and Sinclair D.A., *Small molecule activators of sirtuins extend Saccharomyces cerevisiae lifespan*. Nature, 2003. **425**(6954): p. 191-196.
- 49 Huang C.S., Ma W.Y., Goranson A., and Dong Z.G., *Resveratrol suppresses cell transformation and induces apoptosis through a p53-dependent pathway*. Carcinogenesis, 1999. **20**(2): p. 237-242.
- 50 Jang M.S., Cai E.N., Udeani G.O., Slowing K.V., Thomas C.F., Beecher C.W.W., Fong H.H.S., Farnsworth N.R., Kinghorn A.D., Mehta R.G., Moon R.C., and Pezzuto J.M., *Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes*. Science, 1997. **275**(5297): p. 218-220.
- 51 Jost J.P., Simon C., Nuttens M.C., Bingham A., Ruidavets J.B., Cambou J.P., Arveiler D., Lecerf J.M., Schleinger J.L., and Douste-Blazy P., *Comparison of dietary patterns between population samples in the three French MONICA nutritional surveys*. Rev. Epidémiol. Santé Publ., 1990. **38**: p. 517-523.
- 52 Kampa M., Nistikaki A., Tsaousis V., Maliaraki N., Notas G., and Castanas E., *A new automated method for the determination of the Total Antioxidant Capacity (TAC) of human plasma, based on the crocin bleaching assay*. BMC Clinical Pathology, 2002. **2**(3): p. 1-16.
- 53 Kaneko T., Kaji K., and Matsuo M., *Protection of linoleic acid hydroperoxide-induced cytotoxicity by phenolic antioxidants*. Free Radical Biol. Medicine, 1994. **16**(3): p. 405-409.
- 54 Kannel W.B. and Ellison R.C., *Alcohol and coronary heart disease: the evidence for a protective effect*. Clin Chim Acta, 1996. **246**(1-2): p. 59-76.
- 55 Kanner J., Frankel E., Granit R., German B., and Kinsella J.E., *Natural antioxidants in grapes and wines*. J. Agr. Food Chem., 1994. **42**(1): p. 64-69.
- 56 Katiyar S.K., Matsui M.S., Elmets C.A., and Mukhtar H., *Polyphenolic antioxidant (-)-epigallocatechin-3-gallate from green tea reduces UVB-induced inflammatory responses and infiltration of leukocytes in human skin*. Photochem Photobiol, 1999. **69**(2): p. 148-153.

- 57 Kawada N., Seki S., Inoue M., and Kuroki T., *Effect of antioxidants, resveratrol, quercetin, and N-acetylcysteine, on the functions of cultured rat hepatic stellate cells and Kupffer cells*. *Hepatology*, 1998. **27**(5): p. 1265-1274.
- 58 Kawakami M. and Kuroki M., *Role of advanced glycation end products (AGE) in the development of diabetic microangiopathies and the beneficial effects of AGE inhibitors*. *Nippon Rinsho*, 1999. **57**(3): p. 567-572.
- 59 Keys A. and Keys M., *How to eat well and stay well, the Mediterranean way*. 1975, New York: DoubleDay Company Inc.
- 60 Krisa S., Teguo P.W., Decendit A., Deffieux G., Vercauteren J., and Merillon J.M., *Production of C-13-labelled anthocyanins by Vitis vinifera cell suspension cultures*. *Phytochemistry*, 1999. **51**(5): p. 651-656.
- 61 Krisa S., Vitrac X., Decendit A., Larronde F., Deffieux G., and Merillon J.M., *Obtaining Vitis Vinifera cell cultures producing higher amounts of malvidin-3-O-beta-glucoside (Vol 21, pg 497, 1999)*. *Biotechnol Lett*, 1999. **21**(12): p. 1147.
- 62 Krisa S., Waffo Teguo P., Vitrac X., Vercauteren J., Deffieux G., and Méron J.-M. *Production of 13C Labelled Polyphenols by Vitis vinifera cell culture*. in *XIXth International Conference on Polyphenols*. 1998. Lille: Polyphenols Communications 98.
- 63 Kushi L.H., Folsom A.R., Prineas R.J., Mink P.J., Wu Y., and Bostick R.M., *N. Engl. J. Med.*, 1996. **334**: p. 1156-1162.
- 64 La Ville A.E., Sola R., Balanya J., Turner P.R., and Masana L., *In vitro oxidised HDL is recognized by the scavenger receptor of macrophages: implications for its protective role in vivo*. *Atherosclerosis*, 1994. **105**(2): p. 179-89.
- 65 Laughton M., Evans P., Moroney M., Hoult J., and Halliwell B., *Inhibition of mammalian 5-lipoxygenase and cyclo-oxygenase by flavonoids and phenolic dietary additives. Relationship to antioxidant activity and to iron ion-reducing ability*. *Biochem. Pharmacol.*, 1991. **42**(9): p. 1673-1681.
- 66 Levine M., *New concepts in the biology and biochemistry of ascorbic acid*. *N Engl J Med*, 1986. **314**(14): p. 892-902.
- 67 Maillard L.C., *Synthesis of Lower Peptides by a New and Direct Method, Akin to Biological Reactions*. *Comptes Rendus des Seances de la Societe de Biologie et de Ses Filiales*, 1912. **71**: p. 546-549.
- 68 Mattson M.P., *Dietary factors, hormesis and health*. *Ageing Res Rev*, 2007.
- 69 Méron J.M., Fauconneau B., Teguo P.W., Barrier L., Vercauteren J., and Huguet F., *Antioxidant activity of the stilbene astringin, newly extracted from Vitis vinifera cell cultures*. *Clin Chem*, 1997. **43**(6): p. 1092-1093.
- 70 Meyer A.S., Yi O.S., Pearson D.A., Waterhouse A.L., and Frankel E.N., *Inhibition of human low-density lipoprotein oxidation in relation to composition of phenolic antioxidants in grapes (Vitis vinifera)*. *J Agr Food Chem*, 1997. **45**(5): p. 1638-1643.
- 71 Miyata T., Ueda Y., Yamada Y., Izuhara Y., Wada T., Jadoul M., Saito A., Kurokawa K., and van Ypersele de Strihou C., *Accumulation of carbonyls accelerates the formation of pentosidine, an advanced glycation end product: carbonyl stress in uremia*. *J Am Soc Nephrol*, 1998. **9**(12): p. 2349-56.
- 72 Monnier V.M., *Intervention against the Maillard reaction in vivo*. *Arch Biochem Biophys*, 2003. **419**(1): p. 1-15.
- 73 Monnier V.M., Mustata G.T., Biemel K.L., Reihl O., Lederer M.O., Zhenyu D., and Sell D.R., *Cross-linking of the extracellular matrix by the maillard reaction in aging and diabetes: an update on "a puzzle nearing resolution"*. *Ann N Y Acad Sci*, 2005. **1043**: p. 533-544.
- 74 Monnier V.M. and Sell D.R., *Prevention and repair of protein damage by the Maillard reaction in vivo*. *Rejuvenation Res*, 2006. **9**(2): p. 264-73.
- 75 Nay B., Amaudinaud V., Peyrat J.F., Nuhrich A., Deffieux G., Merillon J.M., and Vercauteren J., *Total synthesis of isotopically labelled flavonoids, 2 - C-13-labelled (+/-)-catechin from potassium [C-13]cyanide*. *Eur J Org Chem*, 2000(7): p. 1279-1283.
- 76 Nay B., Amaudinaud V., and Vercauteren J., *Gram-scale production and applications of optically pure 13C-labelled (+)-catechin and (-)-epicatechin*. *J. Org. Chem.*, 2001. **12**: p. 2379-2384.
- 77 ---, *Total synthesis of asymmetric flavonoids: the development and applications of 13C-labelling*. *Compt. Rend. Chimie*, 2002. **5**: p. 577-590.
- 78 Nay B., Monti J.P., Nuhrich A., Deffieux G., Merillon J.M., and Vercauteren J., *Methods in synthesis of flavonoids. Part 2: High yield access to both enantiomers of catechin*. *Tetrahedron Lett*, 2000. **41**(47): p. 9049-9051.
- 79 Oldreive C., Zhao K.C., Paganga G., Halliwell B., and Rice-Evans C., *Inhibition of nitrous acid-dependent tyrosine nitration and DNA base deamination by flavonoids and other phenolic compounds*. *Chem Res Toxicol*, 1998. **11**(12): p. 1574-1579.
- 80 Orgogozo J.M., Dartigues J.F., Lafont S., Letenneur L., Commenges D., Salamon R., Renaud S., and Breteler M., *Wine consumption and dementia in the elderly: A prospective community study in the Bordeaux area*. *Rev Neurol*, 1997. **153**(3): p. 185-192.
- 81 Pace-Asciak C.R., Hahn S., Diamandis E.P., Soleas G., and Goldberg D.M., *The red wine phenolics trans-resveratrol and quercetin block human platelet aggregation and eicosanoid synthesis: implications for protection against coronary heart disease*. *Clin Chim Acta*, 1995. **235**(2): p. 207-219.
- 82 Pace-Asciak C.R., Rounova O., Hahn S.E., Diamandis E.P., and Goldberg D.M., *Wines and grape juices as modulators of platelet aggregation in healthy human subjects*. *Clin Chim Acta*, 1996. **246**(1-2): p. 163-182.
- 83 ---, *Wines and grape juices as modulators of platelet aggregation in healthy human subjects*. *Clin Chim Acta*, 1996. **246**(1-2): p. 163-82.
- 84 Palinski W., Rosenfeld M., Yla-Herttuala S., Gurtner G., Socher S., Butler S., Parthasarathy S., Carew T., Steinberg D., and Witztum J., *Low density lipoprotein undergoes oxidative modification in vivo*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1989. **86**(4): p. 1372-1376.
- 85 Pallas M., Verdaguer E., Tajés M., Gutierrez-Cuesta J., and Camins A., *Modulation of sirtuins: new targets for antiageing*. *Recent Patents CNS Drug Discov*, 2008. **3**(1): p. 61-9.

- 86 Petroni A., Blasevich M., Salami M., Papini N., Montedoro G.F., and Galli C., *Inhibition of platelet aggregation and eicosanoid production by phenolic components of olive oil*. *Thromb. Res.*, 1995. **78**(2): p. 151-160.
- 87 Renaud S. and de Lorgeril M., *Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease*. *Lancet*, 1992. **339**(8808): p. 1523-1526.
- 88 Renaud S.C., Beswick A.D., Fehily A.M., Sharp D.S., and Elwood P.C., *Alcohol and platelet aggregation: the Caerphilly Prospective Heart Disease Study*. *Am J Clin Nutr*, 1992. **55**(5): p. 1012-7.
- 89 Renaud S.C., Gueguen R., Siest G., and Salamon R., *Wine, beer, and mortality in middle-aged men from eastern France*. *Arch Intern Med*, 1999. **159**(16): p. 1865-70.
- 90 Renaud S.C. and Ruf J.C., *Effects of alcohol on platelet functions*. *Clin Chim Acta*, 1996. **246**(1-2): p. 77-89.
- 91 Ribeiro de Lima M.T., Waffo Tégou P., Teissedre P.L., Pujolas A., Vercauteren J., Cabanis J., and Mérillon J.-M., *Determination of stilbenes (Trans-astringin, cis- and trans-piceid, and cis- and trans-resveratrol) in Portuguese wines*. *J Agr Food Chem*, 1999. **47**(7): p. 2666-2670.
- 92 Ricardo Da Silva J.M., Darmon N., Fernandez Y., and Mitjavila S., *Oxygen free radical scavenger capacity in aqueous models of different procyanidins from grape seeds*. *J. Agric. Food Chem.*, 1991. **39**: p. 1549-1552.
- 93 Rice-Evans C. and Miller N.J., *Total antioxidant status in plasma and body fluids*. *Methods Enzymol*, 1994. **234**: p. 279-293.
- 94 Richard J.L., Arveiler D., Cambou J.P., Nuttens M.C., Bingham A., Ruidavets J.B., Schaffer P., Salomez J.L., and Douste-Blazy P., *Between-register and within-register variability in event-finding and rates in the MONICA-France Project*. *Rev. Epidémiol. Santé Publ.*, 1990. **38**: p. 403-410.
- 95 Rimm E.B., Klatsky A., Grobbee D., and Stampfer M.J., *Review of moderate alcohol consumption and reduced risk of coronary heart disease: is the effect due to beer, wine, or spirits?* *Br Med J*, 1996. **312**(7033): p. 731-736.
- 96 Roberts W.G., Gordon M.H., and Walker A.F., *Effects of enhanced consumption of fruit and vegetables on plasma antioxidant status and oxidative resistance of LDL in smokers supplemented with fish oil*. *Eur J Clin Nutr*, 2003. **57**(10): p. 1303-10.
- 97 Roginsky V. and Lissi E.A., *Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food*. *Food Chemistry*, 2005. **92**(2): p. 235-254.
- 98 Ruf J.C., Berger J.L., and Renaud S., *Platelet rebound effect of alcohol withdrawal and wine drinking in rats. Relation to tannins and lipid peroxidation*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1995. **15**(1): p. 140-4.
- 99 Rutter K., Sell D.R., Fraser N., Obrenovich M., Zito M., Starke-Reed P., and Monnier V.M., *Green tea extract suppresses the age-related increase in collagen crosslinking and fluorescent products in C57BL/6 mice*. *Int J Vitam Nutr Res*, 2003. **73**(6): p. 453-60.
- 100 Saint Leger A.S., Cochrane A.L., and Moore F., *Factors associated with cardiac mortality in developed countries with particular reference to the consumption of wine*. *Lancet*, 1979. **12**(May): p. 1017-1020.
- 101 Scrimshaw N.S., *Nutrition: prospects for the 1990s*. *Annu Rev Public Health*, 1990. **11**: p. 53-68.
- 102 Sell D.R., Biemel K.M., Reihl O., Lederer M.O., Strauch C.M., and Monnier V.M., *Glucosepane is a major protein cross-link of the senescent human extracellular matrix. Relationship with diabetes*. *J Biol Chem*, 2005. **280**(13): p. 12310-5.
- 103 Sigari F., Lee C., Witztum J., and Reaven P., *Fibroblasts that overexpress 15-lipoxygenase generate bioactive and minimally modified LDL*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1997. **17**(12): p. 3639-3645.
- 104 Steinberg D., Parthasarathy S., Carew T., Khoo J., and Witztum J., *Beyond cholesterol. Modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity [see comments]*. *N Engl J Med*, 1989. **320**(14): p. 915-924.
- 105 Stocker R., *The ambivalence of vitamin E in atherogenesis*. *Trends Biochem. Sci.*, 1999. **24**: p. 219-223.
- 106 Subauste A.R. and Burant C.F., *Role of FoxO1 in FFA-induced oxidative stress in adipocytes*. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2007. **293**(1): p. E159-64.
- 107 Subbaramaiah K., Chung W.J., Michaluart P., Telang N., Tanabe T., Inoue H., Jang M.S., Pezzuto J.M., and Dannenberg A.J., *Resveratrol inhibits cyclooxygenase-2 transcription and activity in phorbol ester-treated human mammary epithelial cells*. *J Biol Chem*, 1998. **273**(34): p. 21875-21882.
- 108 Tanaka H., Hirose M., Kawabe M., Sano M., Takesada Y., Hagiwara A., and Shirai T., *Post-initiation inhibitory effects of green tea catechins on 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced mammary gland carcinogenesis in female Sprague-Dawley rats*. *Cancer Lett*, 1997. **116**(1): p. 47-52.
- 109 Tégou P.W., Decendit A., Krisa S., Deffieux C., Vercauteren J., and Merillon J.M., *The accumulation of stilbene glycosides in Vitis vinifera cell suspension cultures*. *J Nat Prod*, 1996. **59**(12): p. 1189-1191.
- 110 Tégou P.W., Fauconneau B., Deffieux G., Huguet F., Vercauteren J., and Merillon J.M., *Isolation, identification, and antioxidant activity of three stilbene glucosides newly extracted from Vitis vinifera cell cultures*. *J Nat Prod*, 1998. **61**(5): p. 655-657.
- 111 Thomas S.R. and Stocker R., *Molecular action of vitamin E in lipoprotein oxidation: implications for atherosclerosis*. *Free Radic Biol Med*, 2000. **28**(12): p. 1795-1805.
- 112 Tsirpanlis G., *Is inflammation the link between atherosclerosis and vascular calcification in chronic kidney disease?* *Blood Purif*, 2007. **25**(2): p. 179-82.
- 113 Upston J.-M., Terentis A.-C., and Stocker R., *Tocopherol-mediated peroxidation of lipoproteins: implications for vitamin E as a potential antiatherogenic supplement*. *FASEB J.*, 1999. **13**(9): p. 977-994.
- 114 Urios P., Grigorova-Borsos A.M., and Sternberg M., *Flavonoids inhibit the formation of the cross-linking AGE pentosidine in collagen incubated with glucose, according to their structure*. *Eur J Nutr*, 2007. **46**(3): p. 139-146.

- 115 Vercauteren J., Weber J.F., Bignon J., and Bisson J.L., "Polyphenol derivative compositions and preparation thereof", in *Demande de Brevet "PCT"*. 1994.
- 116 Veszelyovszky E., Holford N.H.G., Thomsen L.L., Knowles R.G., and Baguley B.C., *Plasma nitrate clearance in mice: modeling of the systemic production of nitrate following the induction of nitric oxide synthesis*. *Cancer Chemother Pharmacol*, 1995. **36**(2): p. 155-159.
- 117 Vitrac X., Castagnino C., Waffo-Teguo P., Delaunay J.-C., Vercauteren J., Monti J.-P., Deffieux G., and Mérillon J.-M., *Polyphenols newly extracted in red wine from southwestern France by centrifugal partition chromatography*. *J Agric Food Chem.*, 2001. **49**: p. 5934-5938.
- 118 Wang H., Nair M.G., Strasburg G.M., Chang Y.-C., Booren A.M., Gray J.I., and DeWitt D.L., *Antioxidant and antiinflammatory activities of anthocyanins and their aglycon, cyanidin, from tart cherries*. *J Nat Prod*, 1999. **62**(2): p. 294-296.
- 119 Williams R.L., Elliott M., Reddy J., and Recht J., *Bioflavonoids and their potential as free radical scavengers in cell culture*. *Polyphénols Actualités*, 1994(10): p. 25-26.
- 120 Witztum J. and Berliner J., *Oxidized phospholipids and isoprostanes in atherosclerosis*. *Curr Opin Lipidol*, 1998. **9**(5): p. 441-448.
- 121 Witztum J. and Steinberg D., *Role of oxidized low density lipoprotein in atherogenesis*. *J Clin Invest*, 1991. **88**(6): p. 1785-1792.
- 122 Wood J.G., Rogina B., Lavu S., Howitz K., Helfand S.L., Tatar M., and Sinclair D., *Sirtuin activators mimic caloric restriction and delay ageing in metazoans*. *Nature*, 2004. **430**(7000): p. 686-9.
- 123 Woodward M. and Tunstallpedoe H., *Alcohol consumption, diet, coronary risk factors, and prevalent coronary heart disease in men and women in the scottish heart health study*. *J Epidemiol Community Health*, 1995. **49**(4): p. 354-362.
- 124 Yoshino M., Ito M., Haneda M., Tsubouchi R., and Murakami K., *Prooxidant action of aluminum ion - Stimulation of iron-mediated lipid peroxidation by aluminum*. *Biometals*, 1999. **12**(3): p. 237-240.