



## Stress OX

Compte-rendu du colloque

*Modulation du stress oxydant :  
Nouveaux concepts pour de nouvelles applications*

31 mai & 1<sup>er</sup> juin 2016

Biocitech, Romainville–Grand Paris

*par*

*Christelle BAYRASY, Université de Montpellier*

*Khadidja ROMARI, Metabolium*



# Givaudan

## **Table des matières**

Introduction .....	3
1. Contexte général .....	4
2. Stress oxydant physiologique et études cliniques.....	5
3. Les marqueurs biologiques du stress oxydant .....	6
4. Les nouvelles approches du stress oxydant .....	8
4.1. Polyphénols et signalisation : la voie Keap1/Nrf2.....	8
4.2. Polyphénols et applications cliniques .....	9
4.3. Innovations en dermo-cosmétique.....	10
5. Les enjeux réglementaires.....	11
6. Verrous scientifiques et technologiques .....	11
6.1 Verrous scientifiques.....	11
6.2 Verrous technologiques .....	12
Conclusion.....	13
Glossaire.....	15

## **Table des figures, tableaux et annexes**

Figure 1 : Les acteurs du colloque .....	3
Figure 2 : Les secteurs d'application représentés .....	3
Figure 3 : Dualité des EOA.....	5
Figure 4 : Les isoprostanes, des marqueurs lipidiques du stress oxydant.....	7
Figure 5 : Systèmes antioxydants Keap1 – Nrf2 – ARE.....	9
Figure 6 : Les verrous scientifiques.....	14
Figure 7 : Le stress oxydant, connaissances et avenir.....	15

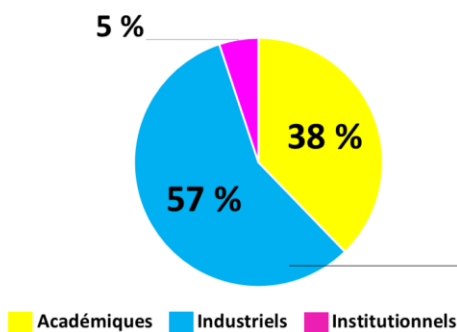
# Colloque : La modulation du stress oxydant – nouveaux concepts pour de nouvelles applications

31 mai & 1<sup>er</sup> juin 2016  
Biocitech, Romainville-Grand Paris

## Introduction

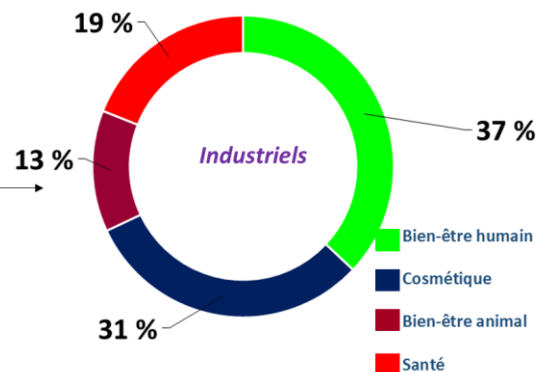
Ce colloque a été organisé par Adebitech, Think Tank indépendant des biotechnologies. Il a été marqué par une forte participation d'industriels (57%) allant de petites entreprises telles que *Mitologics* ou *Metabolium* aux grands groupes comme *L'Oréal* et *Pierre Fabre*. Nombre d'académiques (38%) (**Figure 1**) étaient également présents, issus aussi bien des domaines de l'agroalimentaire, de la santé/pharmaceutique, de la cosmétique et de l'environnement (**Figure 2**).

Répartition en fonction du type d'organisation



**Figure 1** : Les acteurs du colloque.

Répartition par secteurs d'applications



**Figure 2** : Les secteurs d'application représentés.

L'objectif de ce colloque était de poser une réflexion à partir d'un partage des connaissances actuelles sur le stress oxydant, afin de décloisonner les secteurs et d'initier des collaborations fructueuses. Durant deux journées, les experts ont tenté à travers des exposés, posters, discussions et débats, d'identifier et de lever les verrous existants : quels marchés et quelles valeurs ajoutées pour les molécules antioxydantes ? Dans quels domaines leur utilisation est-elle porteuse ? Quelles sont les dernières techniques d'études et d'identification de ces molécules et comment approcher le stress oxydant *in vivo* ? Quels sont les enjeux scientifiques, technologiques, socio-économiques et réglementaires de l'étude du stress oxydant ?

Ce colloque a débuté par une conférence inaugurale de **Manuel Gea** (Adebiotech, Bio-Modeling Systems) suivie d'une intervention de **Joël Pincemail** (Université de Liège) revenant sur les 60 années de recherches depuis la première hypothèse de toxicité des radicaux libres dérivés de l'oxygène. Il conclut cette introduction en insistant sur la nécessité d'être prudent quant aux messages délivrés sur ce sujet complexe et plein de subtilités, qu'est le stress oxydant. Par la suite, ce colloque a été articulé autour de cinq sessions :

- Session **1** : Conférences plénières : le stress oxydant et historique de l'utilisation d'antioxydant chez l'Homme
- Session **2** : Les marqueurs biologiques du stress oxydant
- Session **3** : Les polyphénols, des antioxydants aux multiples facettes
- Session **4** : Obtention d'une allégation santé avec les modulateurs du stress oxydant en nutrition-santé
- Session **5** : Le stress oxydant : de nouvelles approches applicables en dermo-cosmétique et santé humaine

L'ensemble des discussions a été animé par 23 interventions et 23 posters ont été retenus pour une session orale « Flash posters ».

Les avancées récentes sur la connaissance de l'équilibre redox de la cellule ainsi que les études interventionnelles avec des antioxydants, réalisées chez l'Homme ces dernières années, permettent en ce jour une approche plus rationnelle pour mieux comprendre la diversité des mécanismes en jeu et leur importance physiologique et physiopathologique.

## 1. Contexte général

L'oxygène, molécule indispensable à la vie, est susceptible d'entraîner des effets dommageables dans l'organisme via la formation de radicaux libres et d'espèces oxygénées activées (EOA). Le rôle des EOA est très complexe car elles peuvent avoir un rôle physiologique ou un effet toxique en fonction de leur concentration. En trop grande quantité, elles deviennent capables d'induire des modifications oxydatives délétères impliquées dans l'apparition de pathologies.

De nombreuses études montrent que les dommages oxydatifs induits par les EOA sont fortement impliqués dans le développement des maladies cardio-vasculaires et neuro-dégénératives ainsi que des cancers. Toutefois, **un rapprochement a été trop vite établi entre le fait que la consommation de compléments en antioxydants (vitamines C ou E) soit susceptible, via le piégeage des EOA, de prévenir ces pathologies**, voire fantasme ultime (et tellement utopique) de nous permettre de vivre plus vieux (concept de "l'anti-ageing"). Ce point de vue ignore simplement le

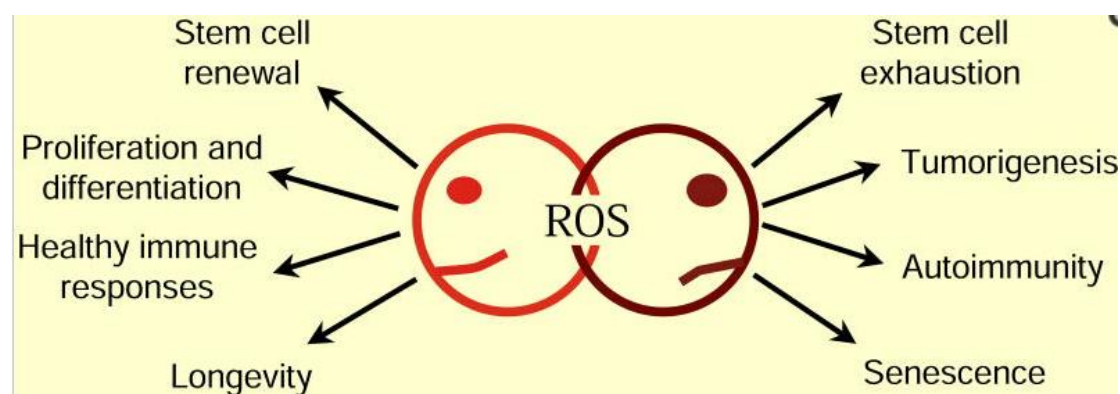
rôle des défenses endogènes de l'organisme contre le stress oxydant via une modulation du déséquilibre radicalaire.

Les avancées récentes sur la compréhension de l'équilibre redox via la signalisation du facteur de transcription NRF2 sont en train de défier le concept de la prise des antioxydants comme simples «piégeurs de EOA». Ainsi, parmi d'autres stratégies, l'activation du facteur de transcription NRF2 devient une cible privilégiée pour moduler le stress oxydant.

## 2. Stress oxydant physiologique et études cliniques

La compréhension du mode d'action des EOA et des antioxydants a conduit à redécrire plus précisément le stress oxydant. Aujourd'hui, il est défini (**Joël Pincemail**) comme « un déséquilibre entre les oxydants et les antioxydants en faveur des premiers, avec une rupture de la signalisation cellulaire et la présence de dommages oxydatifs » (Jones et Sies, 2007).

La toxicité des EOA, à forte concentration, est inéluctable. Cependant, grâce aux progrès de la biologie, il a été démontré que les EOA à faible dose jouent un rôle essentiel dans les voies de signalisation, agissant comme de vrais messagers secondaires. Ainsi cette dualité des rôles des EROS (Espère réactive de l'oxygène) (**Figure 3**) exposée par **Josiane Cillard**, a permis de montrer qu'en fonction de la concentration, les voies de signalisations seront différentes. Le stress oxydant sera qualifié de faible lorsque la voie Keap1/Nrf2 sera induite et que la réponse sera adaptative. Puis, modéré via l'activation des voies MAP kinase et l'apparition de dommages oxydatifs des biomolécules. Et enfin, élevé lorsque l'apoptose ou la nécrose seront induites, ce qui contribue ainsi au développement de nombreuses maladies.



**Figure 3** : Dualité des espèces oxygénées activées. (Schiener M, Chandel NS, Curr Biol, 2011)

Aujourd'hui, il est admis que le stress oxydant recouvre à la fois des rôles physiologiques et pathologiques. Toutefois, l'utilisation d'antioxydants est confrontée à une problématique : doit-on utiliser la thérapie pro-oxydante ou antioxydante ?

Par conséquent, plusieurs études cliniques (ATBC, *US* ; CARET, *Finlande* ; Linxian, *Chine*) ont été menées où chaque patient a été supplémenté avec des antioxydants de synthèse (vitamine C, vitamine E, B, carotène et sélénium). Aujourd'hui, aucune de ces études n'a pu prouver que la prise d'antioxydants, chez un sujet en bonne santé puisse avoir un effet positif en prévention santé. *A contrario*, la prise journalière d'antioxydants à forte dose sur plusieurs années peut s'avérer délétère.

Ce constat a fait émerger diverses questions tant sur le déroulement des études cliniques que sur la synergie des antioxydants avec le fer, le cuivre et les fibres retrouvés dans les fruits, les légumes et le vin. Par la suite, l'étude MONICA<sup>1</sup> a montré qu'un rapport vitamine C/vitamine E (micromole/L) élevé serait impliqué dans la diminution des risques cardiovasculaires. De plus, le régime méditerranéen a conduit la communauté scientifique à établir un lien entre la consommation d'aliments riches en antioxydants et leur bénéfice sur la santé.

Cependant chaque individu ne possède pas le même potentiel antioxydant en fonction de son mode de vie, son patrimoine génétique ou son environnement. Adopter des bonnes habitudes alimentaires contribue ainsi à maintenir un **potentiel antioxydant optimal**.

Ainsi en fonction de la pathologie, les métabolismes seront différents. Pour cela, identifier clairement les causes du stress oxydant est nécessaire pour déterminer les bons marqueurs biologiques et la bonne thérapie à adopter.

### 3. Les marqueurs biologiques du stress oxydant

La mise en place d'une plateforme santé et nutrition à l'université de Liège permet le regroupement de nombreux experts impliqués dans l'étude du stress oxydant *in vivo*. En intégrant à la fois le rôle des enzymes antioxydantes, des oligo-éléments, les différentes sources du stress oxydant, les marqueurs biologiques et les biais liés au traitement de l'échantillon (sang, urine), une nouvelle procédure clinique a pu être établie (Joël Pincemail).

Ainsi, la capacité antioxydante totale et intrinsèque de chaque molécule peut être analysée par une batterie de tests (test DPPH<sup>2</sup>, ORAC<sup>3</sup>, hémolyse...). Elle doit être impérativement couplée à des tests *in cellulo* et *in vivo* afin de prendre en compte

---

1 Projet MONICA (Multinational mONItoring of trends and determinants of CArdiovascular diseases) : étude épidémiologique lancée en 1985 par l'OMS et menée sur une durée de 10 ans, sur les divergences de la mortalité par maladies cardiovasculaires dans le monde.

2 DPPH : Dans le test TRAP (total radical trapping antioxidative potential), les radicaux peroxydes issus de l'DPPH oxydent l'indicateur donnant des radicaux qui émettent de la fluorescence. La capacité des antioxydants à empêcher l'oxydation de l'indicateur est comparée à celle du Trolox donnant une valeur TRAP.

3 ORAC : L'indice ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) donne la capacité d'absorption des radicaux libres

les paramètres biologiques. Pour cela, l'efficacité des antioxydants exogènes et les dommages liés au stress oxydant pourront être dosés par l'intermédiaire de marqueurs biologiques. En effet, ces derniers fournissent une information sur une voie métabolique. Il existe des marqueurs des lipides, des protéines et de l'ADN.

Les meilleurs standards des marqueurs lipidiques sont actuellement les isoprostanes (**Figure 4**). Leur biosynthèse dérive de l'oxydation des lipides à l'intérieur des membranes et en fonction du type de lipides oxydés, quatre familles de marqueurs ont pu être identifiées :

Lipides	Marqueurs lipidiques
Acide arachidonique	Isoprostanes
Acide docosahexaénoïque (DHA)	Neuroprostanes
Acide adrénique	Dihomo-isoprostane
Acide alpha linoléinique	Phytoprostane

**Figure 4** : Les isoprostanes, des marqueurs lipidiques du stress oxydant

Des technologies performantes comme celles de la plateforme Metatool Lipidomic à Toulouse permettent d'obtenir une analyse exhaustive : par LC-MS<sup>4</sup> une vingtaine d'isoprostanes peuvent être dosés en un seul run. Cependant, doser les biomolécules n'est pas toujours facile de par leur faible concentration et la nécessité de développer des méthodes spécifiques. Pour cela, l'équipe de **Bertrand Friguet** a mis au point une nouvelle technique OXI-DIGE qui permet de détecter, de doser et d'identifier le type de protéines oxydées.

Une étude clinique, en collaboration avec **Thierry Durand**, a été menée sur le syndrome de RETT<sup>5</sup>, une maladie génétique neurologique à laquelle est associé un stress oxydant. Le marqueur suivi est le dihomo-isoprostane localisé dans la myéline et issu de l'oxydation de l'acide adrénique. La stratégie adoptée fut une supplémentation à forte dose en oméga 3. Le résultat fut extrêmement probant : on a observé une chute de la concentration en marqueur accompagnée d'une diminution des troubles de la parole et une nette amélioration de la qualité de vie des patientes. Cette approche par les marqueurs du stress oxydant présente donc un potentiel fort. L'ajout d'antioxydants n'est plus la seule stratégie possible.

Cependant les axes de recherches sur les isoprostanes mettent en lumière la complexité des mécanismes d'action liés au stress oxydant. Les F4-Isoprostane seraient impliqués dans l'artériosclérose et agiraient en tant que messenger secondaire. De même, l'augmentation des protéines carbonylées, comme décrit par **Bertrand Friguet**, est directement corrélée au photo-vieillessement et au dysfonctionnement du métabolisme énergétique. Le devenir des dérivés d'oxydation peut ainsi être très variable et ils peuvent intervenir dans d'autres voies métaboliques. L'accent a donc été mis, durant le congrès, sur la nécessité d'intégrer plusieurs marqueurs dans toute analyse.

<sup>4</sup> Chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse

C'est également la diversité des marqueurs associés à une maladie qui rend nécessaire la recherche de différents marqueurs biologiques. Par exemple, la FSHD (dystrophie facio-scapulo-humorale) est une anomalie génétique autosomique directement corrélée à un stress oxydant. Elle se traduit par un dysfonctionnement mitochondrial et une inflammation systémique. Cette maladie est couplée à des désordres métaboliques et associée à un faible taux de vitamine C, de sélénium, du rapport Cuivre/Zinc et une augmentation de la peroxydation lipidique. Le dosage dans le sang des lipides peroxydés, des anticorps anti-LDL (anti Lipoprotéine de faible densité) oxydés puis dans l'urine de l'ADN oxydé ainsi que des isoprostanes, permet de suivre l'évolution du stress oxydant et l'amélioration des fonctions motrices telle que la marche. Le traitement adopté au regard de cette multi-analyse a été une supplémentation en antioxydants à long terme. D'après les résultats cliniques, la thérapie antioxydante s'est avérée prometteuse, d'autant plus qu'il est possible d'adapter la dose en antioxydants pour chaque patient.

Nous savons aujourd'hui que notre alimentation peut être également une source de produits oxydés. L'exemple présenté par **Inès Birlouez-Aragon** au cours de ce colloque, est celui des laits infantiles. Les procédés de fabrication et le stockage contribuent à générer des produits d'oxydation telle que la carboxyméthyl-lysine. Ces molécules, assimilées par l'organisme, pourraient affecter l'efficacité de l'insuline. Maîtriser et contrôler les réactions d'oxydation au cours des processus de fabrication est donc un enjeu réel. **Spectralys Innovation** a mis au point une technique utilisant la fluorescence en mode frontal (technologie Amaltheys) afin de quantifier l'impact des procédés et de suivre la qualité des protéines.

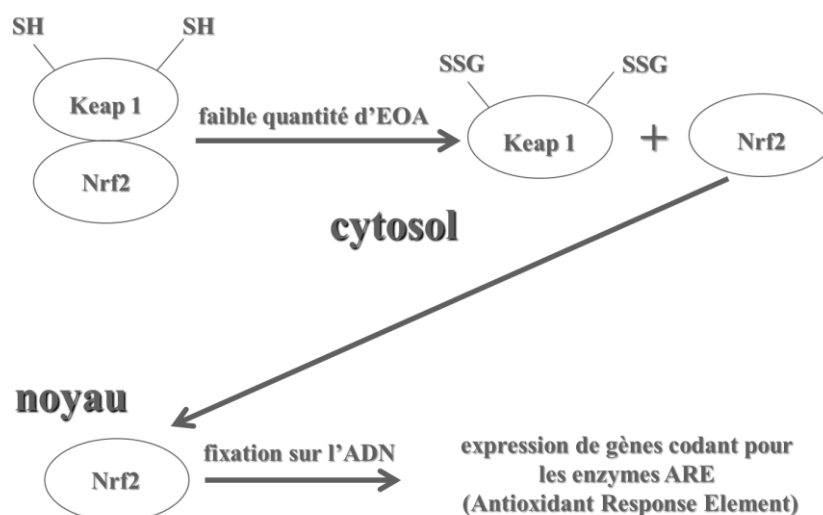
Une seule méthode d'identification des molécules antioxydantes ne peut pas rendre compte du statut de stress oxydant. Il est important d'établir une batterie de tests adéquats afin d'évaluer exactement le niveau de stress oxydant et son implication dans le phénomène étudié.

## 4. Les nouvelles approches du stress oxydant

### 4.1. Polyphénols et signalisation : la voie Keap1/Nrf2

Les polyphénols sont des métabolites secondaires de plantes et se divisent en plusieurs classes (les acides phénoliques, les flavonoïdes, les anthocyanes, etc...). Suite à de nombreux travaux, l'activité biologique des polyphénols a été démontrée à travers leur implication dans certaines voies de signalisation telle que Keap1/Nrf2 (**Figure 5**). Dans le cas d'une réponse adaptative face au stress oxydant, les polyphénols n'agissent plus comme de simple piègeur de radicaux libres mais stimulent les défenses endogènes via la synthèse d'enzymes antioxydantes (Glutathion-S-transférase, Superoxyde dismutase (SOD), hème oxygénase ...). On dit qu'ils ont une activité pro-oxydante, c'est-à-dire que par auto-oxydation, ils produisent des ROS en quantités réduites qui vont aller activer la synthèse des enzymes.





**Figure 5 :** Système antioxydant Keap 1/ Nrf2 / ARE. (Joël Pincemail, congrès AdebioTech Stress Oxydant 2016)

Cet exemple souligne encore une fois la subtilité des mécanismes antioxydants dont l'étude *in vitro* nécessite une analyse multilatérale et approfondie afin de cerner l'ensemble des mécanismes impliqués.

#### 4.2. Polyphénols et applications cliniques

Les polyphénols apparaissent comme des composés actifs contre le stress oxydant et présentant de réels atouts pour la santé.

L'effet bénéfique de ces molécules retrouvées dans les baies et le vin a été décrit lors de la conférence de **Valérie Schini-Kerth**. Ils joueraient le rôle de protecteur vasculaire en prévenant le dysfonctionnement endothélial et l'hypertension.

Une autre étude, sur la prévention du déclin cognitif lié au vieillissement, a été mise en place par la société Activ'inside (**Julien Bensalem**, Projet Neurophénols). Les fonctions étudiées sont celle de la mémoire à court et long terme. D'après différentes interventions cliniques de 1990, la supplémentation en antioxydants sur des sujets sains n'a pas d'effets bénéfiques significatifs. Cependant l'un des résultats de cette étude montre que l'absorption de jus de raisin ainsi que de bluet riche en flavanol et anthocyane améliore les performances de la mémoire chez les patients présentant un déclin cognitif. De plus, les premiers résultats précliniques de cette étude ont démontré que la synergie entre l'acide férulique, la catéchine et l'épicatéchine améliorerait leur absorption.

La compréhension du mécanisme d'action des antioxydants passe également par la détermination de leur biodisponibilité. Il faut ainsi tenir compte du fait que les polyphénols n'agissent pas directement sous leur forme native. Leur biodisponibilité est modulée par leur transformation dans le tractus digestif via le microbiote puis

par des réactions de conjugaison par voie enzymatique. Cet ensemble de métabolites secondaires se retrouve dans la circulation sanguine et exerce des effets biologiques. Ils peuvent stimuler les défenses antioxydantes endogènes tel que décrit dans la voie keap1/Nrf2 et induire une réponse anti-inflammatoire.

En conséquence, l'activité antioxydante des polyphénols sous leur forme native serait principalement localisée dans le tractus digestif supérieur ou dans le bol alimentaire. Ils y protègent les lipides polyinsaturés de l'oxydation. Leur application en santé doit donc prendre en compte cette métabolisation, on ne peut étendre au-delà du tractus digestif supérieur le rôle des polyphénols sous forme native. D'un point de vue médical, le rôle des polyphénols pour lutter contre le stress oxydant semble donc prometteur.

#### 4.3. Innovations en dermo-cosmétique

Le premier organe confronté au stress oxydant est la peau. Les facteurs extérieurs (pollution, UV, etc...) induisent une production de radicaux libres accélérant les dommages cutanés. Les conséquences sont multiples : vieillissement cellulaire, rougeur, inflammation chronique. Face aux nombreux résultats scientifiques sur la stimulation des défenses endogènes antioxydantes via la voie keap1/Nrf 2, les équipes de recherche affinent le mécanisme d'action de leur principe actif. **Laurent Marrot** a ainsi présenté le rôle du trans-resvératrol dans la prévention des altérations des jonctions dermo-épidermique. L'application d'un soin riche en antioxydant est donc l'une des stratégies cosmétiques adoptée à ce jour. Il existe nombre de soins anti-âges, anti-UV, anti-pollution comme décrit par **Christelle Kiény**.

Les extraits de fleur de Buddleja de greentech, de graines de sarrasin d'ID Bio, de bois de chêne de Leticc et de l'airelle rouge de Provital group sont encore des exemples d'extraits végétaux qui s'avèrent efficace pour lutter contre les dommages oxydatifs. La synergie entre les antioxydants, oligoéléments, vitamines et minéraux, comme présentée par **Laurent Sousselier** d'Unitis apparaît prometteuse dans ces approches dermo-cosmétiques.

Cependant ces molécules identifiées par screening, lors de tests *in vitro* ne peuvent avoir leur effet prouvé qu'une fois l'assurance qu'ils sont effectivement bio-disponibles. **Olivier Dangles** a ainsi souligné l'importance des éléments suivants pour la bioactivité des polyphénols : bio-accessible (libéré de la matrice alimentaire), possédant un noyau catéchol ou pyrogallol donc effectivement réducteurs, et présent à l'état natif dans la chaîne métabolique où son action est désirée. Il s'avère donc indispensable de croiser des données à la fois *in vitro*, *ex vivo* et *in vivo* que ce soit pour les domaines d'application médicaux, nutritionnels ou dermo-cosmétiques.

## 5. Les enjeux réglementaires

Il est important de noter qu'au niveau réglementaire, l'allégation "antioxydant" n'est pas reconnue car aucun effet clinique n'a été clairement prouvé. Les études cliniques entreprises n'ont pas été concluantes.

Pour obtenir le droit d'afficher des allégations avant toute commercialisation, l'industriel s'adresse à l'autorité de sécurité des aliments (EFSA). Le dossier présenté à l'EFSA devra préciser l'allégation demandée, la population visée, les conditions d'utilisation de l'aliment ou de l'ingrédient (dose, restrictions...) et présenter les données scientifiques permettant de justifier l'allégation. L'EFSA étudie la demande au regard de son registre des allégations autorisées à ce jour. Une fois les compléments alimentaires commercialisés, l'ANSES surveille les effets indésirables liés à leur consommation grâce au dispositif de nutri-vigilance. La Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes (DGCCRF), quant à elle, contrôle les producteurs et les distributeurs.

**Patrice Rat** prend l'exemple de l'utilisation à long terme de lentilles de contacts. Leurs travaux ont montré que les voies de dégénérescence étaient activées provoquant la destruction de la surface oculaire et favorisant ainsi le passage d'agents pathogènes. Les conservateurs sont mis en cause dans cette étude et sont responsables d'effets toxiques. Par conséquent et face à divers effets secondaires recensés, la réglementation européenne vise à interdire certains conservateurs. Une des alternatives proposées par l'équipe de **Patrice Rat** est l'utilisation d'huile de Calophylle, aux propriétés antimicrobiennes reconnues.

L'absence de toxicité est l'un des critères indispensables à l'obtention d'une allégation bien que, dans les extraits végétaux, les molécules sont à l'état de traces (100 ppm). Ainsi, l'Unitis, organisation réunissant des compagnies professionnelles européennes impliquées dans le domaine des ingrédients cosmétiques, pour répondre aux exigences réglementaires, s'est engagé à créer une base de données sur la toxicité des molécules issues des plantes (**Laurent Sousselier**).

## 6. Verrous scientifiques et technologiques

### 6.1 Verrous scientifiques

De multiples mécanismes d'action des «antioxydants» restent encore à élucider. Les principales inconnues sont présentées dans le tableau ci-dessous (**Figure 6**). Les verrous scientifiques sont des obstacles liés à la nature de la science du domaine, ce sont des questions auxquelles nous ne pouvons encore répondre par l'expérimentation.

<b>Verrous</b>	<b>Illustrations</b>
Evaluation de la biodisponibilité des antioxydants et de leur concentration physiologique	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Chez l'Homme, on retrouve dans les plaques d'athérosclérose (macrophages) une accumulation de quercétine conjugué avec une concentration 10 à 20 fois supérieure à la concentration circulante.</li> </ul>
Existence d'inconnues dans les mécanismes d'action des tests	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Tests de «sensibilisation cutanée» dont l'interprétation peut être faussée par la présence d'antioxydants.</li> </ul>
Difficile reproduction des conditions physiologiques	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Complexité de la reproduction de la fonction barrière de l'épiderme, notamment de son gradient de pression en oxygène</li> <li>- Test réalisé avec les polyphénols natifs ou aglycones et non pas les polyphénols circulants (glucoronide)</li> </ul>

**Figure 6** : Les verrous scientifiques.

Bien qu'aujourd'hui il existe une association étroite entre le stress oxydatif et diverses pathologies comme l'athérosclérose, le diabète et le vieillissement, les multiples mécanismes d'action restent donc à élucider. De plus, les tests *in vitro* doivent être repensés en fonction de chaque pathologie ainsi que de chaque marqueur recherché. Toutes ces interrogations motivent chaque équipe de recherche à innover sur les tests d'efficacité et les mécanismes d'actions. La recherche fondamentale joue ainsi un rôle primordial et est un appui incontournable aux entreprises.

## 6.2 Verrous technologiques

Ces verrous scientifiques peuvent être reliés à des verrous technologiques : d'un point de vue technique, doser d'infimes concentrations de métabolites est encore un frein à la mise en place de nouveaux tests où à l'identification de nouveaux marqueurs et de métabolites secondaires issus des antioxydants exogènes.

Les tests peuvent mettre en jeu des quantités trop importantes de particules, or par exemple, la concentration en polluant dans la peau n'est à ce jour pas quantifiable, bien que modélisée. Cela n'est donc pas réaliste et biaise les effets protecteurs observés.

Enfin, l'avènement des nanotechnologies suscite de nombreuses interrogations sur leur toxicité. En effet, les propriétés physico-chimiques des nanoparticules induisent la production de radicaux libres. Par conséquent, l'utilisation d'antioxydants trouve tout son sens dans les types de thérapie utilisant les nanoparticules.

Ainsi il apparaît nécessaire d'approfondir les axes de recherche en ce qui concerne la modélisation et la reproduction des mécanismes de stress oxydant *in vivo*.

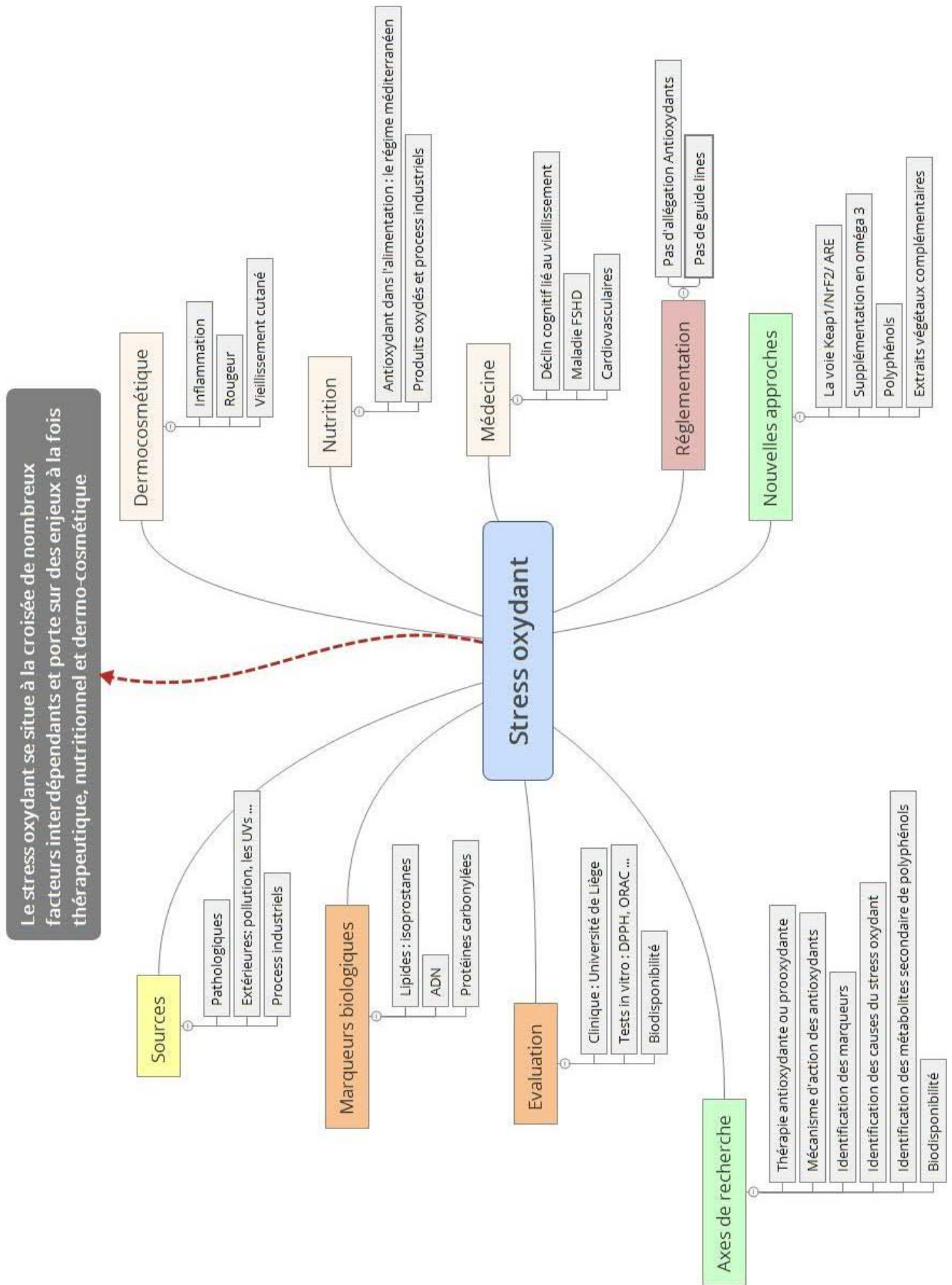
### **Conclusion (Figure 7)**

La confrontation des aspects fondamentaux avec les domaines de la nutrition- santé et la dermo-cosmétique nous conduit aux conclusions suivantes.

Il existe un lien étroit entre le stress oxydant et diverses maladies. A ce jour, il n'est pas toujours facile de déterminer si le stress oxydant est la cause ou la conséquence de la pathologie. Il est donc indispensable de bien comprendre les mécanismes d'actions à la fois des antioxydants et de la pathologie.

Nous savons que l'activité des polyphénols dépend de multiples paramètres. Tout d'abord, leur formulation impacte leur absorption au niveau digestif et cutané. La modélisation de leur métabolisation doit aussi prendre en compte leur synergie avec d'autres antioxydants et oligoéléments, leurs interactions avec diverses protéines impliquées dans des voies de signalisation ou avec le microbiote. Leur environnement enfin, physiologique ou extérieur est complexe et intervient dans leur devenir. Par conséquent, tous les tests *in vitro* effectués pour choisir le meilleur candidat devront tenir compte à la fois du mécanisme mis en jeu au cours du test et ce qui est dosé : est-ce l'activité antioxydante intrinsèque ou son activité biologique ? La connaissance de la forme testée est également indispensable puisque les polyphénols n'agissent pas toujours sous leur forme native.

Les avancées scientifiques permettent aujourd'hui de mieux identifier les marqueurs du stress oxydatif. Cela permet d'établir une procédure clinique plus fiable mais encore pas assez complète. De nombreux travaux de recherches permettront certainement de lever les verrous scientifiques et techniques qui freinent aujourd'hui les applications médicales et cosmétiques.



**Figure 7** : Le stress oxydant, connaissances et avenir

## Glossaire

**ANSES** : Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'alimentation, de l'Environnement et du travail

**APPH** : Dans le test TRAP (total radical trapping antioxidative potential), les radicaux peroxydes issus du APPH oxydent l'indicateur ce qui conduit à la formation de radicaux fluorescents. La capacité des antioxydants à empêcher l'oxydation de l'indicateur est comparée à celle du Trolox donnant une valeur TRAP. Ce test est souvent utilisé pour déterminer la capacité antioxydante du plasma et du sérum sanguin.

**DGCCRF** : Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes

**DHA** : Acide docosahexaénoïque

**EOA** : Espèce oxygénée activée

**ERO** : Espère réactive de l'oxygène = ROS

**LDL** : Low density-protein ou lipoprotéine de faible densité qui a une fonction de transporteur lipidique

**LC-MS** (Liquid chromatography-mass spectrometry) : Chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse

**MAP kinase**: mitogen activated proteins kinase

**NRF2** : Nrf2 est un facteur de transcription de la famille des protéines à CNC-bZip impliqué dans le contrôle de l'expression de gènes régulés par des séquences de type ARE, pour «antioxydant Responsive Element».

**ORAC** : L'indice ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) donne la capacité d'absorption des radicaux libres

**ROS** : Reactive oxygen species = ERO

**SOD** : Superoxyde dismutase

*Remerciements à Jeanne Cadiou et Clarisse Toitot  
pour leur relecture attentive du rapport et les corrections apportées*