



HAL
open science

La consommation de polyphénols, en particulier de vin rouge, peut-elle avoir des effets sur la maladie d'Alzheimer ? État de la question

Marie Merlin

► To cite this version:

Marie Merlin. La consommation de polyphénols, en particulier de vin rouge, peut-elle avoir des effets sur la maladie d'Alzheimer ? État de la question. Sciences pharmaceutiques. 2015. dumas-01196357

HAL Id: dumas-01196357

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01196357>

Submitted on 9 Sep 2015

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

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

Université de Bordeaux
U.F.R des SCIENCES PHARMACEUTIQUES

Année : 2015 Thèse n°86

THESE pour l'obtention du
DIPLOME D'ETAT de DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement

Le 29 juin 2015

Par

MARIE MERLIN

Née le 13 octobre 1990 à Biarritz (64)

« La consommation de polyphénols, en particulier de vin rouge, peut-elle avoir des effets sur la maladie d'Alzheimer ? Etat de la question. »

Directeur de thèse : Dr. Alain DECENDIT

Membres du jury :

Dr. Alain DECENDIT , Maître de conférences	Président du jury
Dr. Stéphanie CLUZET , Maître de conférences	Juge
Dr. Brigitte Favereau , Docteur en Pharmacie	Juge

Remerciements

A mon Président et Directeur de thèse,

Mr Alain Decendit, Maître de Conférences,

Pour me faire l'honneur de diriger et présider le jury de cette thèse. Pour l'intérêt que vous avez porté à mon travail, pour votre disponibilité, vos conseils, vos encouragements et votre aide qui ont permis son aboutissement. Veuillez trouver dans ce travail l'expression de mon profond respect. Sincères remerciements.

A mes juges,

A Madame Brigitte Favereau, Membre du jury et Pharmacien d'officine

Merci de m'avoir transmis tes connaissances et ton amour pour ce métier pendant ce stage de sixième année. Et merci pour la plaque de docteur en pharmacie !

A Madame Stéphanie Cluzet, Maître de Conférences

Merci d'avoir pris le temps de répondre à mes questions et de me faire l'honneur de composer ce jury.

Mes remerciements vont aussi :

A mes parents et ma soeur, Patrick, Laurence et Emma,

Auxquels je dédie ce travail, Merci pour votre soutien, votre présence durant toutes ces années qui ont été plus ou moins faciles. Pour avoir toujours cru en moi, et pour m'avoir encouragé sans cesse sur cette voie qui aboutit ce jour. Un immense merci à tous les trois.

A ma famille,

Vous tous qui êtes venus en ce jour et pour tous ceux qui n'ont pas pu se déplacer. Je tiens fort à vous.

A dorian,

Un grand merci pour tout ce que tu m'apportes au quotidien.

Aux meilleurs amis qui soient,

Alienor, Eléonore, Léa, Richard, Martin, Mathias, Alex.

Merci pour votre présence, et surtout pour tous les bons moments qu'on a passé tous ensemble et qu'on passera encore.

Que notre amitié dure encore et pour toujours.

A mes supers copines de la faculté,

Aurélia, Elodie, Sophie, Camille, ... avec qui j'ai partagé les bancs de la faculté et bien plus encore. A tous les moments de stress que l'on a réussi à passer ensemble. A nos délires, nos bonheurs et nos soirées. A tous ces moments inoubliables.

SOMMAIRE

ABREVIATIONS	9
INTRODUCTION	10
PARTIE 1: LA MALADIE D'ALZHEIMER	11
1. EPIDEMIOLOGIE.....	12
2. MECANISMES PHYSIOPATHOLOGIQUES DE LA MALADIE D'ALZHEIMER	13
2.1-Amyloïdogénèse.....	14
2.2-La Tauopathie.....	17
2.3-Phénomènes inflammatoires	21
2.4-Facteurs de risque génétiques	22
3. LES CELLULES IMMUNITAIRES DU SYSTEME NERVEUX CENTRAL	23
3.1-Généralités.....	23
3.2-Les cellules immunitaires du système nerveux central dans la maladie d'Alzheimer	24
4. DIAGNOSTIC	26
5. MANIFESTATIONS CLINIQUES	29
6. TRAITEMENTS ACTUELS ET LEURS LIMITES.....	32
6.1-Traitements médicamenteux.....	32
6.1-1. La voie cholinergique.....	32
6.1-2. La voie glutamatergique ou de l'acide glutamique	36
6.1-3. Traitements adjuvants des troubles cognitifs	37
6.2-Traitements non médicamenteux.....	37
7. SUR LA PISTE DE NOUVEAUX TRAITEMENTS.....	39
8. EST-IL POSSIBLE DE PREVENIR OU DE RETARDER L'APPARITION DE LA MALADIE D'ALZHEIMER A L'HEURE ACTUELLE ?	40
8.1-L'âge	40
8.2-Physiopathologie.....	41
8.3-« La réserve cognitive »	41
8.4-De nouveaux facteurs de risque	41
8.4-1. Syndrome métabolique	42
8.4-2. Le diabète de type 2	43
8.4-3. Les accidents vasculaires cérébraux (AVC)	43
8.4-4. Le tabac.....	43

8.4-5. Les agents anesthésiques	43
8.5-De nouveaux facteurs protecteurs	44
8.5-1. L'activité physique	44
8.5-2. Le régime alimentaire	44
9. NOTRE CONSEIL A L'OFFICINE.....	46

PARTIE 2 : LES STRESS OXYDANT48

1. RADICAUX LIBRES ET STRESS OXYDANTS.....	49
1.1-Présentation des radicaux libres	49
1.2-Formation des espèces réactives de l'oxygène (ERO)	50
1.3-Origines des ERO	53
1.3-1. Sources endogènes.....	53
1.3-2. Sources exogènes.....	56
1.4-Le monoxyde d'azote.....	57
1.4-1. Synthèse du 'NO.....	57
1.4-2. Propriétés physico-chimiques du 'NO	57
1.4-3. Mécanismes d'action du 'NO	58
1.4-4. Rôle physiopathologique du .NO au niveau du système nerveux et implication dans les maladies du système nerveux central.....	60
2. LE STRESS OXYDANT DANS LES SYSTEMES NEURONAUX.....	60
2.1-Sources des oxydants dans le cerveau.....	61
2.2-Le stress oxydant dans les maladies neurodégénératives.....	62
2.2-1. Marqueurs biologiques du stress oxydant dans les pathologies neurodégénératives	62
2.2-2. Agrégation protéique, inflammation et production d'ERO dans les maladies neurodégénératives.....	62
3. LES DEFENSES ANTI-OXYDANTES	62
3.1-Systèmes enzymatiques anti-oxydants.....	63
3.1-1. Les superoxydes dismutases.....	63
3.1-2. La catalase et les glutathion-peroxydases.....	65
3.1-3. Le système thiorédoxine.....	67
3.1-4. Le système de l'hème oxygénase	67
3.2-Systèmes non-enzymatiques anti-oxydants	69

3.2-1. Anti-oxydants endogènes	69
3.2-2. Anti-oxydants exogènes apportés par l'alimentation	71

PARTIE 3 : LES POLYPHENOLS ET EN PARTICULIER CEUX PRESENTS DANS LE VIN ROUGE..... 75

GENERALITES 76

1. LES DIFFERENTES FAMILLES DE POLYPHENOLS 77

1.1-Les flavonoïdes..... 78

1.1-1. Les flavonols 79

1.1-2. Les flavanols ou flavan-3-ols..... 80

1.1-3. Les (phényl)chalcones et dihydrochalcones..... 83

1.1-4. Les anthocyanes ou anthocyanidines..... 84

1.2-Les acides phénoliques et tanins hydrolysables 85

1.2-1. Les acides hydroxybenzoïques 85

1.2-2. Les acides hydroxycinnamiques 85

1.2-3. Les coumarines 86

1.2-4. Les tanins hydrolysables 86

1.3-Les stilbènes..... 87

1.4-Les lignines et subérines 88

2. BIOSYNTHESE 89

2.1-La voie de l'acide shikimique (ou voie des shikimates)..... 89

2.2-La voie de l'acide acétique/mévalonate..... 91

3. PROPRIETES DES POLYPHENOLS 91

3.1-Rappels sur les rôles physiologiques des polyphénols dans la plante..... 92

3.2-Les rôles thérapeutiques des polyphénols en santé humaine 93

3.2-1. Propriétés anti-fongiques, anti-bactériennes et anti-virales 93

3.2-2. Polyphénols et protection cardio-vasculaire..... 93

3.2-3. Polyphénols et activité anti-cancérogène 94

3.2-4. Polyphénols et activité anti-inflammatoire 94

3.2-5. Polyphénols et protection contre les maladies neurodégénératives 95

3.3-Les mécanismes d'action des polyphénols 95

3.3-1. Chélation des ions métalliques.....	95
3.3-2. Les piégeage des radicaux libres	96
3.3-3. Complexation des macromolécules	97
3.3-4. Effet pro-oxydant ?.....	97
4. PHARMACOCINETIQUE ET BIODISPONIBILITE DES POLYPHENOLS.....	98
4.1-Absorption	98
4.2-Distribution	98
4.3-Métabolisation.....	98
4.4-Elimination.....	98
5. DANS L'ALIMENTATION ET EN PARTICULIER DANS LA VIGNE ET LE VIN ROUGE	99
5.1-Rappel sur l'histoire du vin.....	100
5.2-Les différentes étapes de la vinification.....	104
5.3-Caractères de vinification des différents types de vins.....	106
5.4-Les composés du vin rouge.....	108
5.4-1. Les principaux constituants du vin rouge	108
5.4-2. Les composés phénoliques du vin rouge.....	110
5.4-2.1. Les flavonoïdes	110
5.4-2.2. Les tanins hydrolysables et condensés.....	111
5.4-2.3. Les acides phénoliques	112
5.4-2.4. Les stilbènes.....	112
5.4-2.5. Les propriétés des polyphénols dans les vins rouges	113
PARTIE 4 : LE STRESS OXYDANT DANS LA MALADIE D'ALZHEIMER ET L'ACTIVITE DES POLYPHENOLS DANS LE VIN ROUGES	114
1. LE STRESS OXYDANT DANS LA MALADIE D'ALZHEIMER.....	115
1.1-Oxydation des lipides	116
1.2-Oxydation des protéines	117
1.3-Oxydation des acides nucléiques	117

1.4-Rôle du stress oxydant dans l'hypothèse étiologique liée à la protéine β -amyloïde	118
1.5-Rôle du stress oxydant dans l'hypothèse inflammatoire	119
1.6-Stress oxydant et apolipoprotéine E dans la maladie d'Alzheimer	119
2. ETUDES, IN VITRO, DE LA CAPACITE NEUROPROTECTRICE DES PRINCIPAUX POLYPHENOLS DU VIN ROUGE	120
2.1-Effets directs sur les radicaux libres.....	121
2.1-1. Capacité à piéger les radicaux libres.....	121
2.1-2. Capacité à piéger les métaux lourds.....	121
2.1-3. Influence de la structure polyphénolique	122
2.2-Effets indirects neuroprotecteurs des principaux polyphénols du vin rouge.....	122
2.2-1. Etudes des flavonoïdes	123
2.2-1.1. Les flavonoïdes et l'activité anti-amyloïde	123
2.2-1.2. Les flavonoïdes et le pouvoir anti-inflammatoire.....	123
2.2-1.3. Autres effets des flavonoïdes	124
2.2-2. Etudes des stilbènes	125
2.2-2.1. Les stilbènes et les peptides β -amyloïdes.....	125
2.2-2.2. Les stilbènes et l'activité anti-inflammatoire	126
2.2-2.3. Autres effets des stilbènes.....	127
3. ETUDES ET BIENFAITS D'UNE CONSOMMATION REGULIERE ET MODEREE DE VIN ROUGE PAR RAPPORT AUX PATHOLOGIES NEURO-DEGENERATIVES	128
3.1-Etudes cliniques	128
3.2-Pourquoi une si faible médiatisation des effets bénéfiques du vin ?	131
3.3-Quels conseils donner à l'officine quant à la consommation de polyphénols du vin ? ..	133
CONCLUSION	136
ANNEXES	138
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	142

Abréviations

AA : Acide Aminé

A β : Peptide amyloïde β

ATP : Adénosine Tri Phosphate

CLIC : Centres Locaux d'Informations et de Coordinations

CMP : Consultations Mémoire de Proximité

DA : Dépôts Amyloïdes

COX : Cyclooxygénase

DNF : Dégénérescence Neurofibrillaire

EGCG : Epigallocatechine-3-gallate

EHPA : Etablissement d'Hébergement des Personnes Agées

EHPAD : Etablissement d'Hébergement des Personnes Agées et Dépendantes

ERN : Espèces Réactives de l'azote

ERO : Espèces Réactives de l'Oxygène

ESA : Equipes Spécialisées Alzheimer

IAC : Inhibiteur de l'Acétylcholinestérase

IRM : Imagerie par Résonance Magnétique

LCR : Liquide Céphalo-Rachidien

MA : Maladie d'Alzheimer

MAIA : Maisons pour l'Autonomie et l'Intégration des maladies d'Alzheimer

MP : Maladie de Parkinson

MT : Microtubule

PS : Plaques Séniles

SLA : Sclérose Latérale Amyotrophique

SNC : Système Nerveux Central

SOD : Superoxyde Dismutase

TAU : Tubulin-Associated Unit

OIV : Office International de la Vigne et du vin

Introduction

Claude Galien, médecin grec du 1^{er} siècle ap. J.C et considéré comme un des pères de la pharmacie, énonçait déjà : « le vin consommé avec modération est avantageux, sinon il est mauvais ».

L'invention du vin est probablement due au hasard. En effet, le jus du fruit de la vigne, *Vitis vinifera*, fermente naturellement. C'est pourquoi il y a déjà huit mille ans, les Hommes produisaient, stockaient dans des récipients, des amphores, consommaient de façon courante et échangeaient du vin dans les régions montagneuses du Moyen-Orient. D'après l'ancien Testament, Noé, « le premier agriculteur », récompensa ses ouvriers, qui étaient chargés de construire l'arche, avec ce précieux nectar. Puis le vin traversa les plus grandes civilisations de l'Antiquité pour se confondre avec l'histoire de l'Homme. La culture du vin s'est ensuite propagée sur des milliers de kilomètres en passant par l'Égypte, la Grèce, l'Empire Romain et jusqu'aux côtes de l'Atlantique en Gaule. Aujourd'hui, il n'y a pas un continent où l'on ne produise pas ce précieux breuvage, le vin est universel. Son histoire témoigne des échanges culturels, des voies commerciales et des progrès technologiques et sociaux.

La qualité des vins rouges est en grande partie déterminée par les composés phénoliques. Aujourd'hui et depuis plus de 10 ans de nombreuses recherches ont été réalisées sur ces molécules. Les polyphénols, présents naturellement et en grandes quantités dans le règne végétal, et donc la nourriture, présentent des propriétés biologiques non négligeables, notamment anti-oxydantes. Elles joueraient probablement un rôle dans la prévention de diverses maladies associées au stress oxydant comme les pathologies cardio-vasculaires, inflammatoires, neuro-dégénératives et les cancers. Tous les polyphénols ne présentent pas le même impact sur la santé humaine, mais des études épidémiologiques ont démontré une corrélation négative entre la consommation de polyphénols et le risque de développer certaines pathologies.

Parmi les pathologies neuro-dégénératives l'une d'elles serait la première cause de démence de nos jours et représenterait 60% des démences du sujet âgé. En France elle touche 900 000 personnes (Amouyel *et al* , 2014). Il s'agit de la maladie d'Alzheimer. Selon l'OMS, « la maladie d'Alzheimer est une maladie cérébrale dégénérative primaire, d'étiologie inconnue et qui présente des altérations neuropathologiques et neurochimiques caractéristiques. Elle commence, en général, de façon insidieuse et lente et évolue progressivement pendant plusieurs années. »

Partie 1 : LA MALADIE **D'ALZHEIMER**

En 1785, l'un des premiers cas de démence a été décrit dans la littérature scientifique mais ce n'est qu'en 1907 que le Dr. Alois Alzheimer, neuropsychiatre allemand, a été le premier à décrire une forme de démence sénile, connue par la suite sous le nom de maladie d'Alzheimer.

La maladie d'Alzheimer est une affection neurodégénérative du système nerveux central, entraînant un déclin progressif et irréversible des fonctions mnésiques et cognitives. Elle est le plus souvent associée à des troubles comportementaux et, à terme, à une perte d'autonomie. L'évolution est progressive, se déroule sur plusieurs décennies, avec une médiane de vie de 7 à 8 ans après le diagnostic.

C'est une maladie neurologique à part entière et non, comme on a pu le croire dans le passé, l'effet du vieillissement ou une maladie psychiatrique

1. EPIDEMIOLOGIE

La maladie d'Alzheimer est la première cause de démence. En France, nous pouvons observer un peu plus de 225 000 nouveaux cas par an. (rapport Gallez, 2005 ; Amieva *et al*, 2007). Pour mieux se représenter l'étendue de cette pathologie, une nouvelle maladie est détectée toutes les 7 secondes. On compterait uniquement pour ce type de démence, entre 800 000 et 1 000 000 de personnes en France, et 255 millions de personnes dans le monde en 2005 (Gallez, 2005). D'ici 2040 elle devrait toucher un tiers des français, soit 20 millions de personnes (Orgogozo, 2012). C'est une maladie rare avant 65 ans (moins de 2% de la population), mais après cet âge 4,4% de la population européenne serait touchée. Maîtriser la maladie devient alors un objectif majeur de santé publique. La France et d'autres pays du monde (ex : Québec), ont engagé des programmes spécifiques et parallèles de lutte contre cette maladie : ce sont les plans Alzheimer. En France, ce plan comportait 44 mesures qui ont été mises en place pendant cinq ans pour un budget d'un milliard six cents millions d'euros. De plus, il faut savoir que la prévalence est essentiellement liée à l'âge.

Age (années)	Prévalence (%)
35 - 59	0,2
60 - 69	0,3
70 - 79	3,2
80 - 89	10,8

Tableau 1: Prévalence de la maladie d'Alzheimer en fonction de l'âge en 2004.
(rapport Gallez, 2005)

La prévalence augmente fortement après 70 ans avec un pic de fréquence à 86 ans (Orgogozo, 2012). Et plus la durée de la vie est longue, plus l'être humain augmente ses risques de contracter la maladie d'Alzheimer. Mais il faut souligner que cette maladie fait aussi des victimes chez les plus jeunes : 30000 à 50000 patients ont moins de 60 ans. La majorité des études, dont l'étude PAQUID, s'accorde sur le fait que la démence diminue l'espérance de vie et que les femmes sont plus atteintes que les hommes. Par ailleurs avec le vieillissement de la population, cette prévalence ne cesse d'augmenter régulièrement.

Son coût socio-économique est massif puisque les soins chroniques sont très chers que ce soit en institution autant qu'à domicile.

Devenue la cause principale d'entrée en institution, la maladie d'Alzheimer conduit à une dépendance physique et psychique totale. Pourtant 80% des patients restent à domicile.

2. MECANISMES PHYSIOPATHOLOGIQUES DE LA MALADIE D'ALZHEIMER.

Aujourd'hui, les seuls facteurs de risque identifiés et reconnus dans la maladie d'Alzheimer sont :

- Un âge avancé. C'est le facteur de risque majeur et incontestable de cette pathologie qui débute préférentiellement après 70 ans. L'augmentation est quasiment exponentielle après 60 ans.
- Le sexe féminin.
- Des antécédents familiaux de démence (prédisposition génétique, des types spécifiques de comportements parentaux durant le développement précoce *in-utéro* et en bas âge). En 2006, une étude a été réalisée sur 11 884 paires de jumeaux monozygotes et dizygotes afin de prouver que la génétique pourrait être associée à près de 80% des cas de MA, faisant de la génétique le second facteur de risque après l'âge (Gatz *et al* 2006).
- La présence du gène de l'apolipoprotéine E4 (ApoE4), associé au chromosome 19, que l'on développera un peu plus tard.

La maladie d'Alzheimer se présente essentiellement sous deux formes : une forme se développant avant 65ans (forme à début précoce) associée à une forte agrégation familiale et une forme sporadique (environ 99% des cas) à début tardif touchant plutôt les plus de 65ans (associée à une fréquence d'antécédents familiaux trop élevée pour que ce soit le hasard). Cependant personne ne doute que l'âge soit le plus grand facteur de risque de la forme tardive de la maladie d'Alzheimer.

Concernant les formes génétiques touchant environ 1% des cas, la transmission est autosomique dominante. Il semblerait que la responsabilité revienne à plusieurs gènes : l'un situé sur le chromosome 21 pour le précurseur de la protéine amyloïde, un autre sur le chr. 14 et un troisième sur le chr. 2. Mais ces mutations n'expliquent que la moitié des formes familiales.

Pour les formes sporadiques, la cause de la maladie d'Alzheimer n'est pas encore clairement identifiée à ce jour. Cependant, nous connaissons de mieux en mieux la cascade biologique conduisant progressivement à la mort des neurones concernant la forme sporadique touchant le plus grand nombre de patients. Il s'agirait de la « cascade amyloïde ».

2.1- L'Amyloïdogénèse :

Chez un individu sain, les protéines β -amyloïdes produites dans le cerveau (Seubert et coll., 1992), et issues de la protéine *trans-membranaire* β APP (pour « β -Amyloid Precursor Protein », Kang et coll., 1987) sont clivées, lors de leur élimination, par trois complexes enzymatiques distincts (les sécrétases). Cette voie principale (celle de l' α sécrétase, extra-membranaire) permet un clivage en fragments protéiques solubles. On parle alors de « voie non-amyloïdogénique » (Checler, 1995). Cette voie permet également la production du fragment sAPP α , aux propriétés trophiques et neuroprotectrices (Mattson et al 1997).

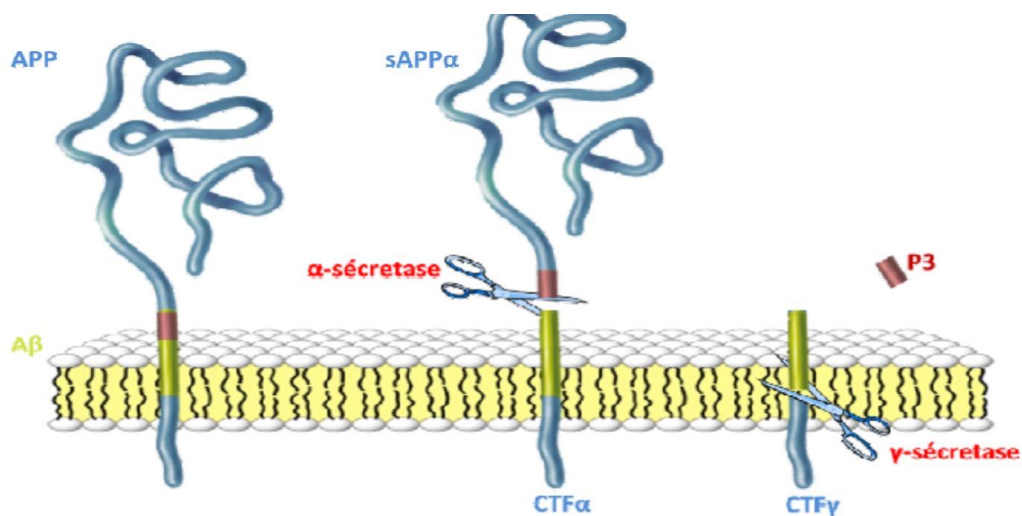


Figure 1: Représentation de la voie « non-amyloïdogène de la β APP (Daccache, 2011).

Chez un individu atteint de la maladie d'Alzheimer les voies de la β -sécrétase (section *trans*-membranaire) et de la γ -sécrétase (section *intra*-membranaire) sont favorisées. Le clivage se fera alors en un point différent. Le résultat est une protéine β -amyloïde de 42 acides aminés néoformée non soluble. Ceci n'est pas anodin puisque les formes à 42 aa s'agrègent plus facilement (Burdick et coll., 1997). Ces A β 42 vont former de petits amas circulants puis de plus gros, statiques. Ces gros amas de protéines A β 42 représentent le constituant majeur de la plaque sénile (PS) encore appelée plaque amyloïde. Ces plaques sont situées entre les cellules nerveuses du cerveau.

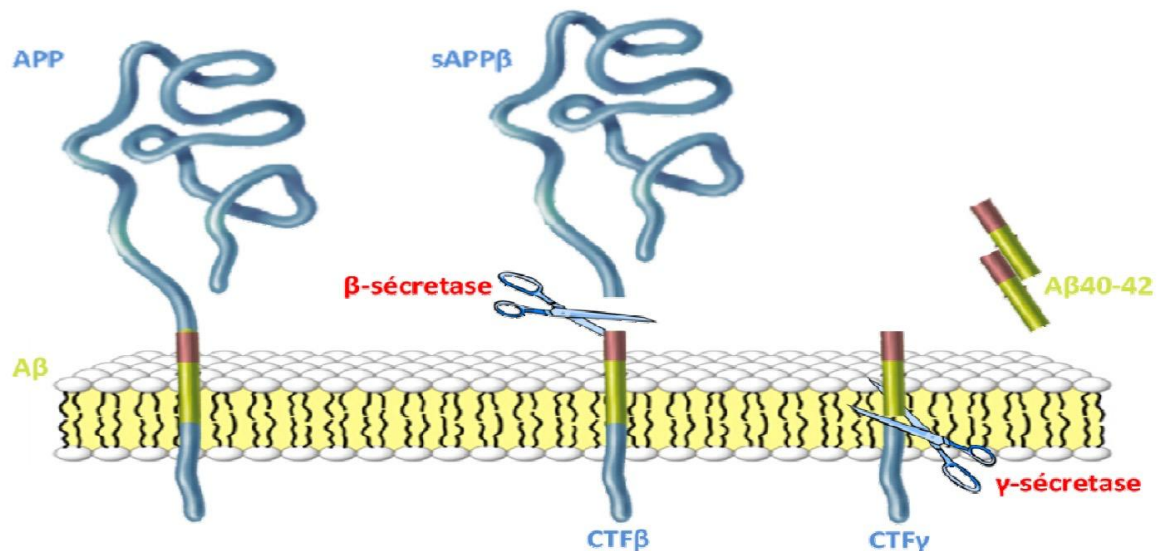


Figure 2: Représentation de la voie de clivage amyloïdogène de la β AP, Le peptide A β est produit par l'action successive de la β - puis de la γ -sécrétase qui en libère respectivement les extrémités N- et C-terminale (Sevale, 2008).

De plus, d'après Christelle Hureau, chercheuse au CNRS, en 2012, il semblerait que les plaques amyloïdes contiennent de fortes concentrations en ions métalliques (cuivre, fer et zinc). Ce sont eux qui pourraient jouer un rôle dans l'agrégation du peptide A β .

Toutefois, des études faites en 2007, ont démontré qu'il pourrait exister deux voies oligomériques possibles (Murphy, 2007) :

- une voie dite « off pathway » : les oligomères β A vont former des agrégats amorphes
- et une voie dite « on pathway » : les oligomères induisent la formation des fibrilles amyloïdes et ainsi de plaques séniles.

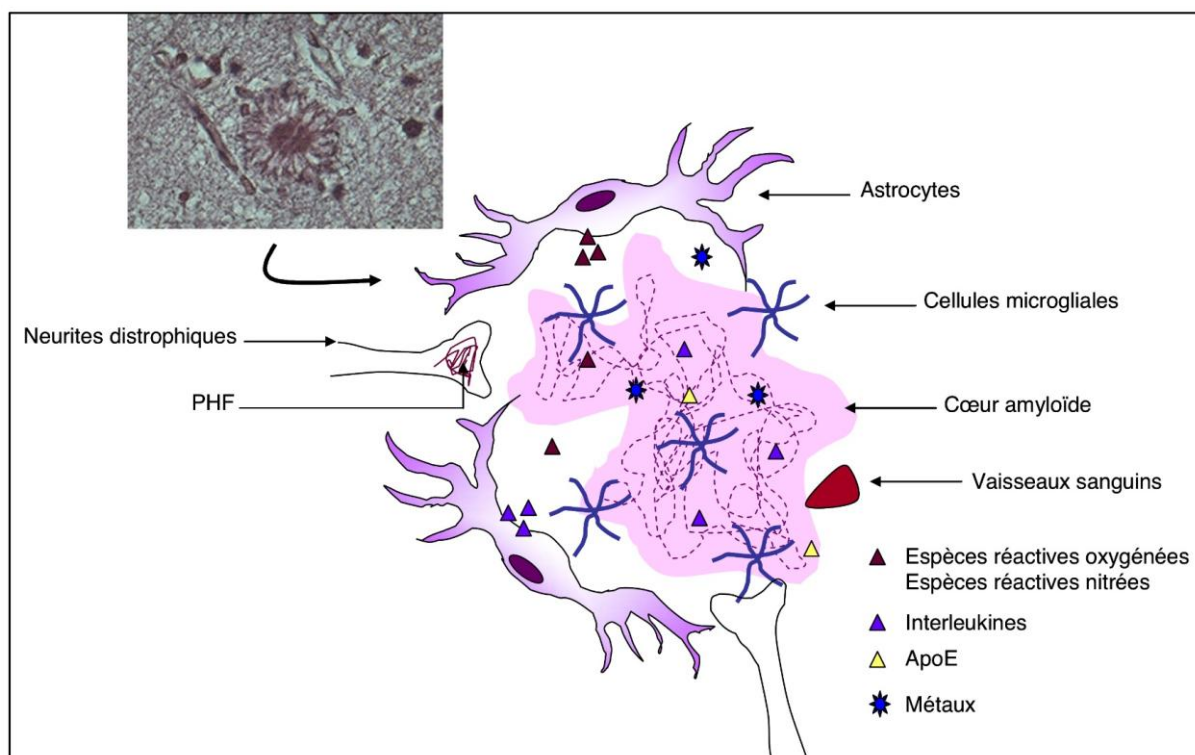


Figure 3: Composition d'une plaque sénile.

Au niveau des neurones cholinergiques, le βA perturbe d'une part la capture des molécules de choline libres, entraînant un déficit de la choline et une diminution du taux d'acétylcholine et d'autre part il perturbe aussi de façon négative la concentration d'acétyl.

Les peptides βA peuvent aussi entraîner une neuro-toxicité en interférant avec l'homéostasie du Ca^{2+} . En effet, le βA détériore les pompes à Ca^{2+} des membranes et augmente les afflux de Ca^{2+} ce qui signifie que le βA forme des pores conduisant le calcium dans les membranes cellulaires. Or, une entrée excessive de calcium dans les cellules joue un rôle dans la neuro-toxicité (Li *et al.*, 2013).

Actuellement un des principaux challenges de la recherche est de mieux comprendre les dérèglements qui font évoluer la cellule d'une situation physiologique vers une situation pathologique. Comme on peut le voir dans la figure ci-dessous, il existe bien d'autres facteurs pouvant entraîner une situation pathologique.

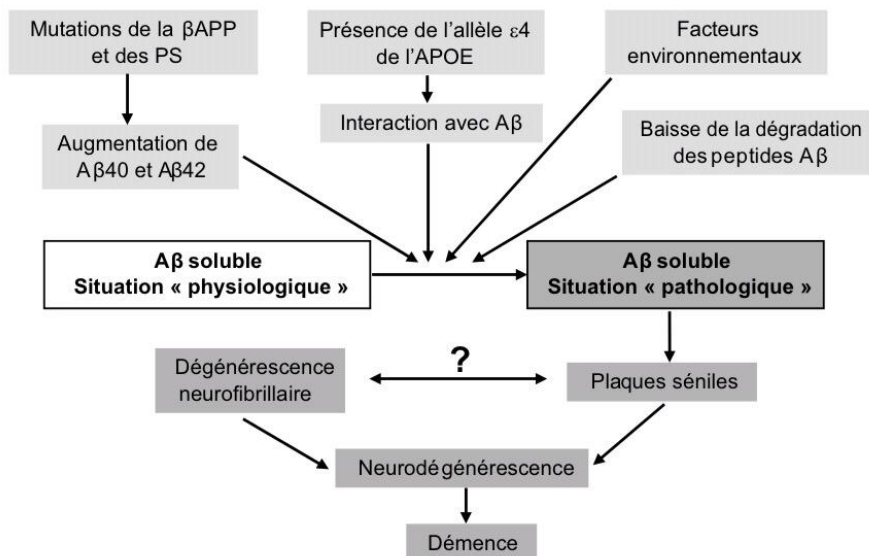


Figure 4: Quelques facteurs affectant la production physiologique de peptide Aβ.
PS = Préséniline

2.2- La Tauopathie :

Le cytosquelette d'une cellule est constitué de filaments d'actine et de myosine, de filaments intermédiaires et d'autre part de microtubules (MT). Les MT, dont la sous-unité est la tubuline, sont à l'origine du mouvement et de la forme de la cellule et permettent également le transport de substances du corps cellulaire du neurone vers les terminaisons nerveuses.

La protéine TAU (= « Tubulin-Associated Unit » ; Brion et coll., 1985 ; Grundke-Iqbal et coll., 1986), phosphoprotéine liant les dimères de tubulines, et localisée principalement dans les axones, joue un rôle majeur dans le transport intracellulaire en polymérisant et stabilisant les microtubules des axones. Elle appartient à la famille des MAP (« Microtubule-associated Proteins ») et est constitutive des microtubules de charpente des prolongements neuronaux. Le domaine de fixation avec les microtubules se situe au niveau de la région carboxy-terminale de la protéine TAU. Cette région est constituée de trois (3R) ou quatre (4R) domaines répétés. Dans des conditions physiologiques, les filaments vont s'apparier en paires. Un mécanisme semble contrôler l'action stabilisante de la protéine TAU : la phosphorylation, (chaque molécule de TAU présente en moyenne 2 à 3 groupements phosphates).

Chez les patients atteints de la MA, la protéine TAU (qui s'accumule majoritairement dans le corps cellulaire et les dendrites) est anormalement hyperphosphorylée (TAU-P) (pour revues, Buée et coll., 2000 ; Lee et coll., 2001 ; Sergeant et coll., 2005) avec 3 à 4 fois plus de groupements phosphates, ce qui modifie sa conformation physique secondaire, qui diminue

son interaction, conduit à une perte d'affinité pour les microtubules, et qui la rend alors non fonctionnelle. Elle va s'accumuler presque exclusivement dans le neurone dont elle occupe les différents compartiments. Ceci finit par déstabiliser le microtubule. Les protéines TAU inactivées par cette hyperphosphorylation s'associent pour former des enchevêtrements filamenteux pathologiques appelés dégénérescence neurofibrillaire (DNF). A l'inverse des plaques séniles, les dégénérescences se situent à l'intérieur des neurones.

Les agrégats anormaux de filaments ou DNF envahissent alors le neurone jusqu'à ses extrémités et ce dernier « s'étouffe », perd progressivement son pouvoir d'action et finit par mourir ce qui entraîne la perte neuronale (cholinergique et glutamatergique). On parle de « tauopathie ».

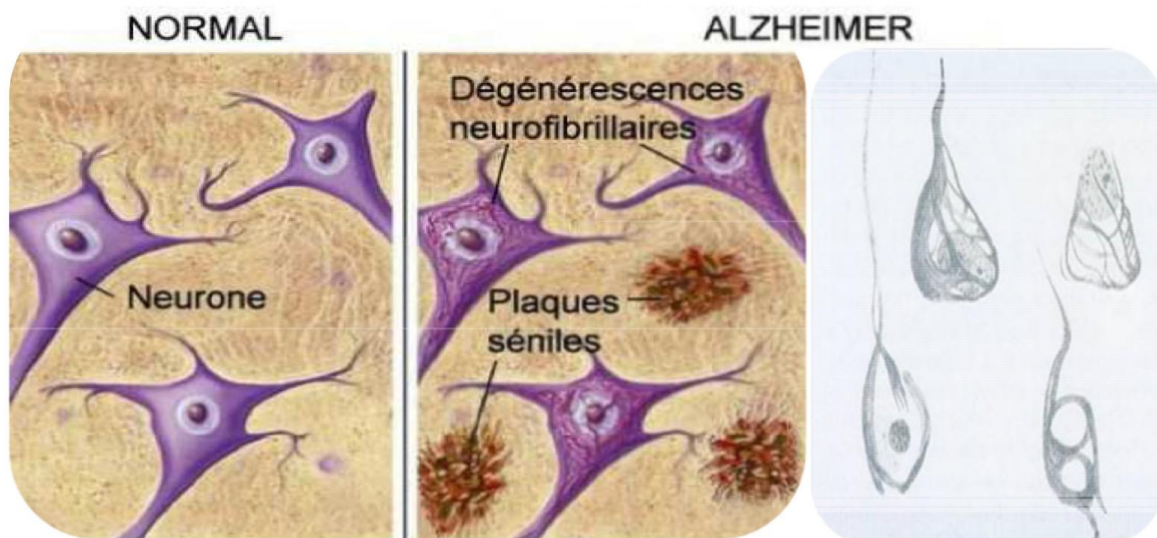


Figure 5 : Représentation des dégénérescences neurofibrillaires. (d'après www.ahaf.org/alzheimers et dessin original d'Alois Alzheimer).

Remarque : Il existe plusieurs sortes d'amas de protéines TAU inactivées qui donnent lieu à différents types de maladies :

- Un amas de protéines TAU de type 3R donne lieu à la maladie de Pick, qui est une dégénérescence fronto-temporale.
- Un amas de protéines TAU de type 4R donne lieu à la maladie de Parkinson.
- Des amas de protéines TAU 3R et 4R se trouvent dans la maladie d'Alzheimer, mais aussi dans la trisomie 21.

Il est sûr que la pathologie Tau est liée de façon directe ou indirecte à la majorité des démences. Dans le cas de la maladie d'Alzheimer, il y a clairement un lien entre la pathologie Tau et le diagnostic clinique.

Aujourd'hui personne ne peut affirmer une relation de causalité entre la formation de plaques amyloïdes et les dégénérescences neurofibrillaires. Car en plus en 1997, Braak et Braak étudièrent une grande série de cas neuropathologiques et démontrèrent qu'une proportion significative de cas présentait des DNF et ne présentait pas de dépôts de peptides A β . En 2002, Delacourte *et al.*, ont démontré que les DNF sont détectées de façon précoce mais qu'il existe déjà à ce moment là des anomalies dans le métabolisme de l'APP sans présence de dépôts amyloïdes. On peut donc envisager comme hypothèse que la tauopathie est stimulée par le dysfonctionnement de l'APP conduisant à la propagation hiérarchisée de la DNF à l'ensemble du cerveau. On parle alors de l'hypothèse de la « cascade amyloïde ». Cette hypothèse soutient l'idée que l'accumulation de β -amyloïdes en plaques séniles jouerait un rôle crucial dans le dysfonctionnement neurofibrillaires. Dans plusieurs modèles animaux, cette hypothèse a pu être vérifiée où les pathologies amyloïdes et Tau accélèrent le processus dégénératif (Gotz *et al.*, 2001 ; Lewis *et al.*, 2001). Mais les raisons pour lesquelles ces processus pathologiques se produisent à ce jour sont encore mal comprises.

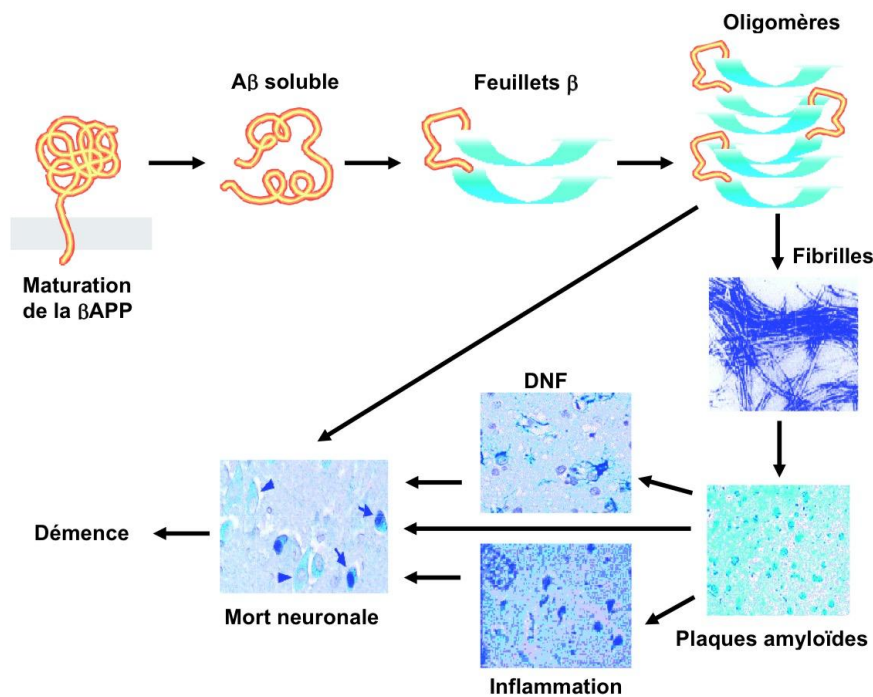


Figure 6 : Hypothèse de la cascade amyloïde (Amieva, 2007).

Alors que les formes familiales de la maladie d'Alzheimer (liées aux mutations sur les gènes du peptide β -amyloïde et des présénilines 1 et 2) sont directement associées à une modification de la régulation de l'équilibre production/élimination de β -amyloïde, dans la forme sporadique d'autres mécanismes physiopathologiques distincts semblent impliqués (Pera *et al.*, 2013). Cette dernière serait plutôt, selon plusieurs évidences, associée à un dysfonctionnement cérébral métabolique neurodégénératif (Chen *et al.*, 2013).

Même si à ce jour, de nombreuses études présentent des résultats contradictoires concernant le positionnement de la pathologie tau dans cette cascade d'évènements aboutissant à la dégénérescence neuronale, et que la preuve définitive du rôle primordial du peptide amyloïde en tant que premier déterminant étiologique de la MA reste encore à apporter, ce peptide reste bel et bien au centre de la physiopathologie. Et si aujourd'hui, la cascade amyloïde prédit une relation directe entre l'accumulation extracellulaire de peptides $A\beta$ et les accumulations intracellulaires de protéines TAU, aucune hypothèse n'a permis de reconstituer expérimentalement des DNF à partir d'une surexpression de peptide $A\beta$.

Pour récapituler, cette affection est le résultat de trois grandes anomalies neuropathologiques :

- L'accumulation anormale de protéines β -amyloïdes en amas extra-cellulaires. Ces plaques amyloïdes sont visibles dans les cortex cérébraux associatifs (cortex préfrontaux, pariétaux et temporaux) mais elles épargnent les lobes occipitaux (cortex visuel primaire) et la voie frontale apparente (cortex moteur).
- L'accumulation anormale dans les prolongements neuronaux de protéines TAU anormalement hyperphosphorylées formant des dégénérescences neurofibrillaires (DNF). Ces dégénérescences neurofibrillaires sont en grandes quantités au niveau des régions temporales internes (hippocampes en particulier).
- Et pour finir lorsque la perte neuronale est massive (corps cellulaire, prolongements ou synapses), ce processus conduit à l'atrophie des régions affectées.

Avec tout cela des altérations réactionnelles sont visibles telles que l'inflammation ou l'oxydation.

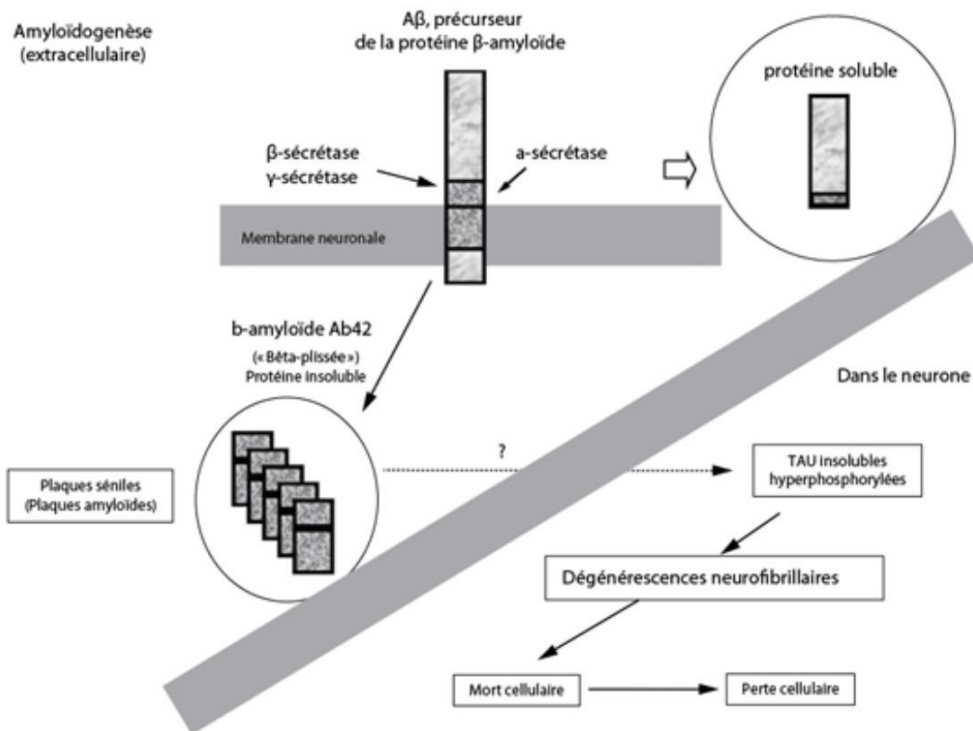


Figure 7 : Cascade biologique (simplifiée) impliquée dans la physiopathologie de la maladie d'Alzheimer (selon le collège des enseignants en neurologie).

2.3- Phénomènes inflammatoires.

L'inflammation est-elle la cause ou la conséquence de la maladie d'Alzheimer ? Cette question reste toujours à l'heure actuelle en suspens.

Cependant, aujourd'hui nous savons que l'accumulation de plaques amyloïdes induit l'activation locale de la microglie et des astrocytes qui libèrent à leur tour des cytokines mais aussi d'autres facteurs inflammatoires et qui activent le complément. Les cytokines retrouvées dans les quantités les plus abondantes dans le cerveau de patients atteints de la MA sont les interleukines-1b. Ces dernières sont capables d'activer la synthèse de l'APP et sa production en excès, ce qui pourrait saturer les enzymes alpha-sécrétases et faire dévier le métabolisme de l'APP vers les peptides β A.

Par ailleurs, des études comme celle réalisée aux Pays-Bas sur presque 7000 personnes, ont pu montrer un effet protecteur de molécules anti-inflammatoires contre la survenue de la MA. Pendant 8 ans (de 1991 à 1998) les patients devaient consommer des AINS (Anti-Inflammatoires Non Stéroïdiens) sur une durée cumulée de 2 ans ou plus et au moins 2 ans avant l'apparition des premiers symptômes de la MA. Les chercheurs se sont alors rendus compte que le fait d'être sous AINS divise par cinq le risque de contracter la MA et ce, quelque soit la dose journalière ou la molécule utilisée. Ensuite à l'université de Californie à San Diego (USA) des chercheurs ont montré sur des cellules en culture que certains AINS

pouvaient diminuer les plaques amyloïdes se formant dans le cerveau des patients atteints de la MA et indépendamment de l'activité des COX.

2.4- Facteurs de risque génétiques.

Un certain nombre de faits avérés continu de plaider en faveur de l'hypothèse amyloïdogénique. En 1991, John Hardy et son équipe ont fait la découverte de certains cas de formes familiales de la maladie d'Alzheimer provoqués par des mutations sur l'APP conduisant à une production accrue de la forme longue. D'autres cas fréquents de la forme familiale proviennent de plusieurs mutations sur les gènes de la préséniline, PS1 et PS2. Par ailleurs, en 1996, plusieurs équipes ont montré que les protéines PS1 et PS2 mutées favorisent, elles aussi, la forme longue du peptide amyloïde.

En revanche l'identification de facteurs génétiques intervenant dans les formes à début tardifs, familiales ou sporadiques est beaucoup plus complexe. En effet dans ces formes-là, les facteurs génétiques et environnementaux peuvent agir seuls ou en synergie induisant sûrement une susceptibilité individuelle au développement de ces formes de la MA. Une mutation située sur le chromosome 19 et qui code pour **l'apolipoprotéine E (ApoE)** (Poirier *et al.*, 1993) a été découverte concernant les patients atteints de la MA. A ce jour, il s'agit du seul facteur de susceptibilité génétique, dans le plasma, reconnu pour les formes sporadiques à début tardif. Les apoE jouent un rôle dans le transport du cholestérol puisque ce sont des transporteurs de lipides. Leur rôle essentiel est l'entretien et le remodelage des membranes neuronales sur les sites de connexion entre les synapses et les dendrites. A ce jour, nous connaissons 3 variantes génétiques d'ApoE : l'allèle E2 (présent chez 8% de la population générale), l'allèle E3 (le plus fréquent, chez 80% de la population) ou l'allèle E4 (qui représente la forme déficiente de l'ApoE et qui est présent chez environ 15% de la population). L'ApoE4, qui a tendance à prendre une forme tridimensionnelle aberrante et pathologique, serait un facteur de risque de la maladie en se fixant sur les protéines β A, ce qui favoriserait leur accumulation anormale ainsi que celle des protéines TAU et qui favoriserait aussi probablement les dommages sur les mitochondries et sur le cytosquelette. Cet allèle est associé à des niveaux sanguins élevés de cholestérol. D'après des chercheurs financés par les « National Institutes of Health » (NIH), l'ApoE4 attaque aussi les vaisseaux sanguins qui alimentent le cerveau, indépendamment de la protéine β -amyloïde qui elle aussi entraîne la détérioration des vaisseaux sanguins. Et d'après l'étude du Pr. Zlokovic, directeur à l'Institut Zilkha de Neurogénétique de l'université de Californie, il existe une interaction complexe entre la protéine β -amyloïde et l'ApoE4 (Bernanose, 2012). Cet allèle E4 est donc lié à l'apparition précoce, à la vitesse de progression et à la gravité de plusieurs pathologies et troubles comme la maladie de Parkinson, la SLA, la sclérose en plaque, la maladie à corps de Lewy ou bien encore et particulièrement la maladie d'Alzheimer. L'héritage d'une seule copie d'ApoE4 d'un parent, multiplie par 3 le risque de maladie d'Alzheimer. Cependant, seulement la moitié des patients atteints de la MA possèdent l'allèle E4 de l'ApoE. Et pour finir à l'inverse des ApoE4, les ApoE2 semblent avoir un rôle de protection contre la MA et les maladies cardiaques, et les ApoE3 paraissent avoir un rôle neutre vis-à-vis de ces pathologies (Bernanose, 2012).

3. LES CELLULES IMMUNITAIRES DU SYSTEME NERVEUX CENTRAL.

3.1- Généralités

Le système nerveux central (SNC) comprend le cerveau, le cervelet et la moelle épinière (ME). Il est protégé par une structure osseuse (crâne et colonne vertébrale) et par trois feuillets constituant les méninges. De l'extérieur vers l'intérieur les méninges sont : la dure-mère, l'arachnoïde et la pie-mère. Entre l'arachnoïde et la pie-mère circule le liquide céphalo-rachidien (LCR) qui assure une protection contre les chocs et qui permet aussi la circulation de médiateurs de l'immunité.

En plus des neurones, le SNC comprend la névroglie (tissu de soutien du système nerveux) qui est constituée de plusieurs types de cellules :

- La macroglie, qui comprend les astrocytes, cellules en forme d'étoiles qui ont une fonction de soutien, de protection, de nutrition et qui participent à la formation de la barrière hémato-encéphalique et les oligodendrocytes, cellules de petite taille alignées le long des axones, qui ont pour fonction la myélinisation des neurones et donc le transport de l'influx nerveux central.
- Les cellules épendymaires (ou épendymocytes) qui tapissent les cavités contenant le LCR. Leurs formes sont variables et elles forment une barrière entre le LCR et le liquide interstitiel (où baignent les cellules du SNC).
- Et la microglie (ou cellules microgliales), d'origine myélomonocytaire, qui est un ensemble de petites cellules ovoïdes avec des prolongements « épineux » plus ou moins longs.

Les cellules microgliales, ont été découvertes dans les années 1920 par le médecin et chercheur espagnol Del Rio Hortega. Elles représentent environ 12% des cellules du cerveau et sont le système de défense immunitaire du cerveau des mammifères. Ce sont des dérivés de monocytes qui ont subi une transformation pour s'adapter au tissu cérébral. Leur appartenance au système nerveux, constitué de cellules extrêmement précieuses et non renouvelables, est ce qui fait leur originalité par rapport aux autres cellules immunitaires. Ces cellules sont présentes sous deux états. A l'état quiescent ou état de repos, les prolongements sont en contact avec les neurones à proximité, ce qui permet aux cellules microgliales de surveiller l'intégrité de ces derniers. Lorsqu'elles détectent une anomalie ou une lésion (grâce à la sécrétion de chemokines), elles se rassemblent et migrent (car elles sont très mobiles) dans leur direction. Les cellules microgliales activées se transforment alors en macrophages particuliers pour digérer les microorganismes et les débris de neurones morts. On parle de phagocytose.

A l'état non pathologique, les microglies ont pour fonction naturelle d'éliminer les protéines solubles ou fibrillaires par phagocytose. Ceci permet de faciliter la réparation des tissus. De plus, lorsqu'elles sont activées ces cellules sécrètent des cytokines, des protéines et des radicaux libres. Les cytokines permettent aux cellules microgliales de communiquer entre-

elles et de réguler les réponses inflammatoires. Elles sont ainsi capables de sécréter tout un éventail de cytokines pro- ou anti-inflammatoires (Donnou, 2007).

Cependant, contrairement à ce que l'on pensait avant, il semblerait que les cellules microgliales soient fondamentalement neuroprotectrices et que seule leur suractivation ou leur dysfonctionnement pourrait entraîner des dommages neuronaux (Polazzi et Contestabile, 2002; Streit, 2002).

3.2- Les cellules immunitaires du SNC dans la maladie d'Alzheimer.

Dans le cerveau de patients atteints de la maladie d'Alzheimer, comme on l'a vu précédemment, il y a formation d'agrégats insolubles de protéines β -amyloïdes appelées plaques amyloïdes. D'après une étude menée par le centre Max Delbrück de Berlin, les cellules microgliales qui entourent les plaques amyloïdes ont un fonctionnement perturbé et deviennent incapables de remplir leur fonction, c'est à dire incapables d'éliminer les structures et les cellules pathogènes qui caractérisent la maladie d'Alzheimer (Simmonds G., 2013). Une des hypothèses émises est que cette désactivation doit se produire à un stade très précoce de la MA et doit être déclenchée à l'origine par la protéine β -amyloïde. D'autres études menées à bien au laboratoire de l'université Ludwig-Maximilians (LMU) en Allemagne et à l'université de Californie aux Etats-Unis, ont tenté de déterminer si les cellules microgliales étaient plutôt des cellules amies ou plutôt des cellules ennemies dans la MA. Pour cette étude les sujets de recherche étaient des souris atteintes de la MA. Avec les résultats, les scientifiques ont alors suspecté qu'au fur et à mesure que la pathologie progresse les cellules nerveuses stressées envoient un message chimique qui attire les cellules microgliales. Le meilleur candidat messenger serait le chimiokine fractalkine. Les microglies expriment de nombreux récepteurs aux chimiokines à leurs surfaces ce qui permet à cette substance de s'y fixer. Ceci entraînerait la suractivation des microglies qui vont alors produire de façon non contrôlée des espèces réactives de l'oxygène (ERO). Au niveau extracellulaire ceci entraînerait un stress oxydant, et au niveau intracellulaire ce phénomène favoriserait l'expression de facteurs pro-inflammatoires et donc de l'inflammation qui provoquerait finalement la destruction des neurones. On a remarqué, que l'activation des microglies associée à des réactions inflammatoires est impliquée dans plusieurs pathologies neurodégénératives (Herms J.).

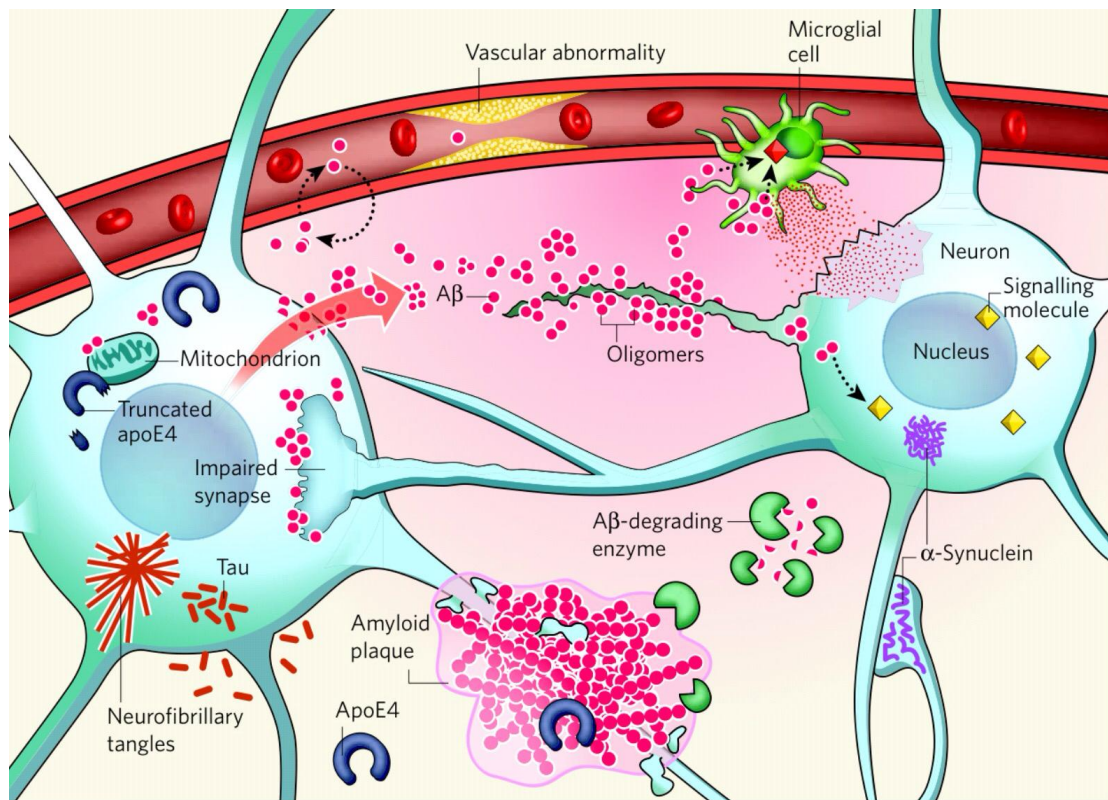


Figure 8 : Quelques acteurs clés dans la MA. L'accumulation et l'agrégation des peptides Aβ sont dues à l'augmentation de la quantité neuronale de ces peptides, la diminution de l'activité des enzymes qui les dégradent, ou à l'altération des transporteurs de Aβ à travers la barrière hémato-encéphalique. Les oligomères de peptides Aβ agissent au niveau des connexions synaptiques alors que les plaques neurofibrillaires modifient l'activité à l'intérieur des neurones. Les plaques amyloïdes, formées d'oligomères Aβ, interagissent avec les récepteurs des membranes cellulaires des neurones pour modifier la cascade de signalisation, modifiant l'activité neuronale et déclenchent la production de médiateurs neurotoxiques par les cellules microgliales. Les protéines ApoE4 augmentent la production de peptides Aβ. Lors du stress neuronal, l'apoE4 est clivée en fragments neurotoxiques qui vont déstabiliser le cytosquelette, et comme les Aβ, vont modifier le fonctionnement mitochondrial. Les protéines TAU et α-synuclein peuvent aussi former des oligomères et des agrégats intra-neuronaux pathologiques.

4. DIAGNOSTIC

Selon la haute autorité de santé (HAS) : « Dans l'état actuel des connaissances et avec les moyens actuels du système de santé, le dépistage de la maladie d'Alzheimer ou apparentées n'est pas recommandé en population générale. »

Cependant, un diagnostic précoce doit être proposé en cas de troubles de la mémoire, que ce soit après une plainte du patient lui-même, une plainte de son entourage, ou à l'entrée en structure d'hébergement. Ce diagnostic précoce permet d'informer le patient et son entourage sur la pathologie à un moment où le patient peut encore être acteur de sa maladie.

Aujourd'hui le diagnostic ne peut être établi que par un neurologue, un gériatre ou un psychiatre. Il n'est plus un diagnostic par défaut, il repose certes encore sur la présence d'arguments négatifs mais aussi et surtout sur la présence d'arguments positifs cliniques et para-cliniques. Cependant le diagnostic avéré ou de certitude pure n'est possible que *post-mortem*.

En France la MA demeure peu diagnostiquée, seul un malade sur deux serait diagnostiqué et souvent trop tardivement. C'est pourquoi, des Centres de Consultation Mémoire intégrés aux Centres de mémoire de Recherche et de Ressources (CMRR) couvrent l'ensemble du territoire afin de dépister la maladie. En consultation, le diagnostic de la MA est fondé sur des critères de préemption reposant sur les observations cliniques, para-cliniques et sur l'exclusion de toutes autres formes de pathologies.

Le diagnostic repose sur cinq types d'arguments :

- Arguments positifs cliniques : le profil des troubles cognitifs
 - Un syndrome amnésique (hippocampique) : antérograde et/ou rétrograde qui se manifeste initialement par des distractions mineures qui s'accroissent progressivement avec l'évolution de la maladie, tandis que les souvenirs les plus anciens sont relativement préservés.
 - Des troubles cognitifs instrumentaux avec une altération des capacités intellectuelles de raisonnement et de jugement (aphasie, apraxie, agnosie...). Ces symptômes reflètent en particulier le processus pathologique de dégénérescence atteignant les lobes frontaux du cerveau.
 - Des troubles du comportement (apathie, symptômes dépressifs...). Le patient peut se replier sur lui-même, se désintéresser de ses proches et/ou devenir agressif, dépressif. Il peut passer d'une humeur à l'autre rapidement et sans raisons apparentes. Il a aussi de plus en plus de mal à prendre des décisions, et la pertinence de ses jugements faiblit. Le patient va perdre toute initiative et motivation.

L'évaluation fonctionnelle est réalisée en une ou plusieurs consultations, le but étant d'apprécier le retentissement de la maladie sur des activités instrumentales de la vie courante. Pour cela, on utilise **l'échelle IADL de Lawton**. Les items sont : Utiliser le

téléphone, faire les courses, préparer les repas, entretenir le domicile, faire la lessive, utiliser les moyens de transport, prendre les médicaments et enfin gérer son budget [Annexe 1].

Il est ensuite recommandé d'effectuer une évaluation cognitive globale grâce au test de référence du « Mini Mental State Examination » (**MMSE**). Ce test est utilisé pour évaluer les fonctions cognitives, mais il ne s'agit pas d'un outil de diagnostic. Nous le reverrons un peu plus en détail plus tard.

- Arguments de neuro-imagerie positifs (atrophie des hippocampes) et négatifs (pas d'autres lésions) : Altérations macroscopiques.

La pratique d'une imagerie par résonance magnétique, IRM, cérébrale est indispensable au diagnostic. Elle permet de mettre en évidence différentes altérations structurelles et fonctionnelles associées à la MA comme une atrophie cérébrale (diminution du volume du cerveau), une atrophie de l'hippocampe et permet elle d'éliminer une cause non dégénérative. Le poids du cerveau diminue aussi de façon hétérogène. Au décès, le poids du lobe temporal chez un patient atteint de maladie d'Alzheimer est en moyenne de 41 % plus léger, le lobe pariétal de 30 % et le lobe frontal de 14 % que chez une personne de même âge exempte de maladie neurologique (Najlerahim et Bowen, 1989). En revanche, le poids du lobe occipital est généralement similaire à celui des sujets témoins. De plus, de nouveaux examens d'imagerie médicale, plus spécifiques et plus précoces, sont en cours de développement. Ils se basent sur la tomographie par émission de positons (TEP). La TEP consiste à injecter aux malades des radio-traceurs qui vont se lier spécifiquement aux lésions cérébrales caractéristiques de la pathologie, les plaques amyloïdes et les dégénérescences neurofibrillaires. Des recherches sont néanmoins encore nécessaires pour établir la validité de ces nouveaux examens très prometteurs.

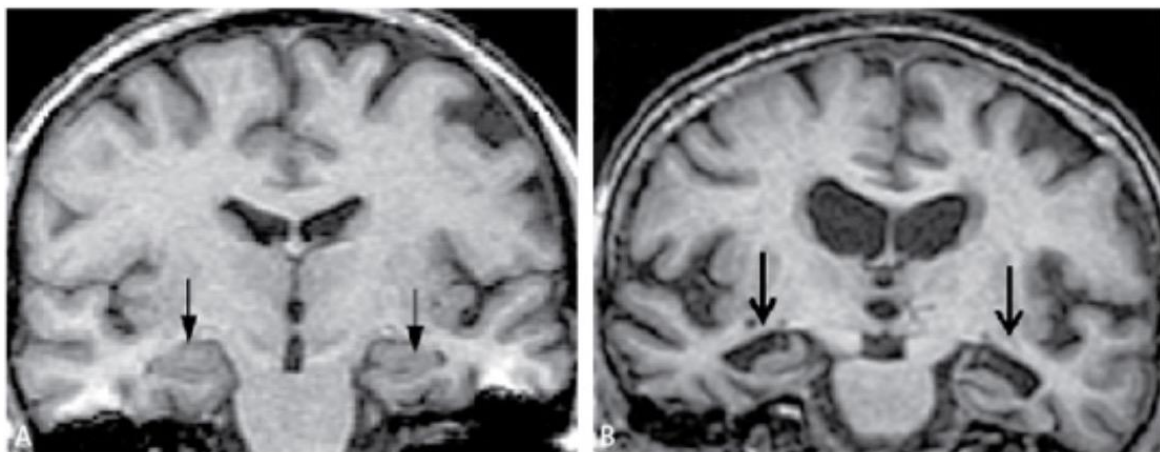


Figure 9: IRM cérébrale pour le diagnostic positif de la maladie d'Alzheimer. IRM en séquence pondérée T1. Les flèches localisent les hippocampes. Coupes coronales passant par le grand axe de l'hippocampe. A. Cerveau sain : pas d'atrophie des hippocampes. B. Patient du même âge atteint de la maladie d'Alzheimer : Atrophie hippocampique bilatérale et dilatation ventriculaire (selon le collège des enseignants en neurologie).

- Arguments positifs d'imagerie métabolique
- Arguments positifs par détection des biomarqueurs

Aujourd'hui, il est possible de mesurer 3 marqueurs dans le LCR (grâce à une ponction lombaire, méthode invasive) : la protéine TAU phosphorylée, la protéine TAU totale (marqueurs reflétant une atteinte neuronale), et la protéine Aβ42 (marqueur reflétant la neuropathologie moléculaire). Ces dosages, s'ils sont positifs permettent de confirmer le diagnostic de la maladie d'Alzheimer. Des recherches sont en cours concernant d'autres marqueurs qui permettront d'augmenter la précision du diagnostic. Pour l'instant, un profil typique est une baisse massive d'Aβ42 et une augmentation de TAU-P.

Tableau 2 : Biomarqueurs indicateurs de la maladie d'Alzheimer dans le liquide céphalorachidien.

Biomarqueur	Interprétation
Protéine tau phosphorylée	L'augmentation de la concentration de la protéine tau phosphorylée est un marqueur d'hyperphosphorylation anormale de la protéine tau normale et de la formation d'enchevêtrements neurofibrillaires.
Protéine tau totale	L'augmentation de la concentration de la protéine tau totale est un marqueur de dégénérescence axonale et neuronale.
Peptide bêta-amyloïde 42	La diminution indique un dépôt intracortical accru.

- Arguments négatifs par la pratique d'un bilan biologique plasmatique.

Le bilan minimal comprend : NFS-plaquettes, VS, ionogramme plasmatique, calcémie, TSHus et glycémie à jeun. De plus, selon le contexte, ajouter B12/folates, sérologie syphilitique et VIH, une albuminémie et une créatininémie.

Concernant les formes génétiques d'Alzheimer (<1% des patients, avec un début jeune avant 60 ans voire bien plus tôt) le diagnostic génétique moléculaire est un sixième argument.

Ensuite, il est recommandé de rechercher les situations qui peuvent être à l'origine ou source d'aggravation d'un trouble cognitif, comme une complication iatrogène, la prise de toxiques, la dépression ou l'anxiété, une maladie infectieuse (syphilis, maladie de Lyme, SIDA, etc.), inflammatoire, un trouble métabolique ou carenciel (hyponatrémie, hypercalcémie,

hypothyroïdie, hyperglycémie chronique, hypovitaminose B1 et B12), une maladie cardiovasculaire, une insuffisance rénale, une maladie de Creutzfeldt–Jakob, un processus expansif intracrânien (hématorne sous-dural, hydrocéphalie, etc.), ou des apnées du sommeil, etc...

Et pour finir, il faut écarter les autres hypothèses fréquentes de syndrome démentiel comme la démence vasculaire, la démence à corps de Lewy, la démence compliquant la maladie de Parkinson, et la dégénérescence lobaire fronto-temporale. Même si, la maladie d'Alzheimer est la cause principale de syndrome démentiel et en représente au moins deux tiers des cas.

Aujourd'hui et dans la majorité des cas, l'examen clinique et l'imagerie cérébrale par IRM suffisent à obtenir un diagnostic de haute probabilité. Cependant la vitesse et l'évolution de la maladie sont variables en fonction de chaque patient, ce qui rend tout diagnostic précis très difficile, et en sachant que le diagnostic certain à 100% ne peut être fait que post-mortem en examinant au microscope le cerveau (Mucke, 2009). En pratique la ponction lombaire et la scintigraphie sont donc réservées aux formes de diagnostics difficiles. Ainsi, le diagnostic ne peut être établi qu'à la suite d'un suivi du patient qui permettra d'apprécier l'évolution de ses fonctions cognitives et ainsi de préciser le diagnostic étiologique d'une démence.

5. MANIFESTATIONS CLINIQUES

Le début est progressif et difficile à reconnaître, c'est pourquoi le diagnostic est souvent tardif et il n'est pas toujours aisé de préciser quand la pathologie a débuté. Les premiers troubles cliniques datent déjà de 2 à 3 ans quand le diagnostic est évoqué.

La perte de neurones (cholinergiques et glutamatergiques) au niveau du cortex temporal et de l'hippocampe va engendrer des troubles de la mémoire, du langage, de la reconnaissance et des activités gestuelles.

La démence est dite légère, modérée ou sévère en fonction de l'importance des déficits et de leur retentissement sur la vie quotidienne.

➔ La progression de la maladie suit donc 3 phases évolutives :

- le début de la phase symptomatique est dite phase « prédémentielle » ou « prodromale ». A ce moment, les patients sont encore tout à fait autonomes pour les gestes de la vie quotidienne. Le problème majeur est une atteinte des régions temporales internes qui entraîne un trouble de la consolidation en mémoire épisodique. Le patient devra alors faire répéter plusieurs fois la même chose et aura du mal à répéter cinq mots donnés quelques minutes plus tôt (épreuve des cinq mots). Le plus souvent l'entourage commence à s'inquiéter, alors que le patient a tendance à minimiser sa plainte. Pendant cette période il n'y a aucun signe clinique manifeste mais les événements neuro-pathologiques de la maladie comme l'hypométabolisme du glucose (diminution de 20%), l'accumulation de protéines β -amyloïdes (ou plaques séniles) et les neurodégénérescences neurofibrillaires se développent.

- la phase d'état ou de démence (légère, modérée à sévère): L'autonomie est significativement altérée pour les gestes de la vie quotidienne comme par exemple la toilette, l'habillage, les repas, les courses, la gestion des biens... De plus, il y a aussi une atteinte plus ou moins sévère des fonctions instrumentales et des fonctions exécutives.

- la phase de démence très sévère: Le dernier stade est le stade très avancé de la maladie. La perte de l'autonomie est totale. Il devient alors très difficile au patient de rester chez lui et l'entourage se sent alors impuissant face à tout ça. Outre les troubles touchant l'ensemble des fonctions cognitives, il peut exister des troubles du comportement (par exemple : l'agitation, ou apathie, hallucinations, déambulation, troubles du sommeil et de l'appétit, troubles du contrôle des sphincters...). Au stade sévère, la diminution du métabolisme du glucose atteint alors près de 40%. Cette phase démarre environ 7 à 8 ans après l'annonce du diagnostic et le décès survient par une complication générale due à l'état grabataire ou par mort subite.

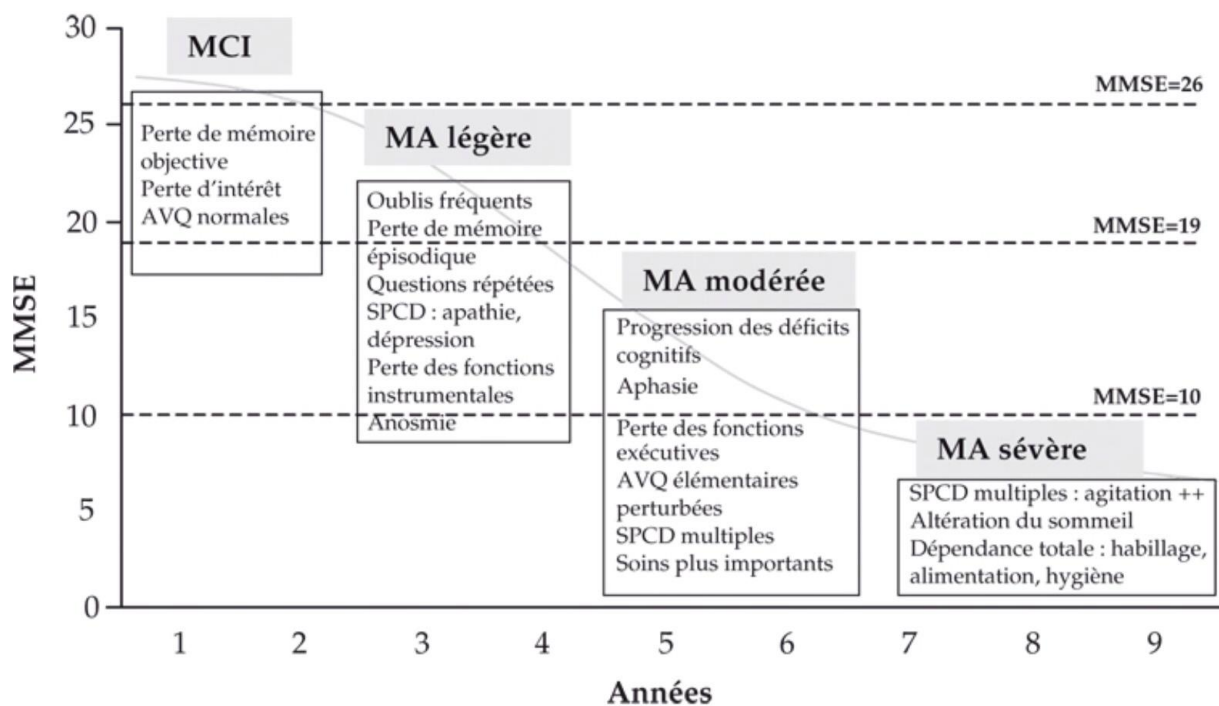


Figure 10: Progression des symptômes de la maladie d'Alzheimer (d'après Feldman et Woodward, 2005), MMSE : Mini Mental State Examination ; MCI : Mild Cognitive Impairment ; MA : Maladie d'Alzheimer ; AVQ : Activités de la vie quotidienne ; SPCD : Symptômes psychologiques et comportementaux des démences.

Afin d'évaluer l'évolution et la progression de la pathologie nous disposons d'un test: le test du MMSE de Folstein (« Mini Mental State Examination ») dans sa version consensuelle établie par le groupe de recherche et d'évaluation des outils cognitifs (GRECO) [Annexe 2]. Ce test simple est utilisé pour évaluer les fonctions cognitives, mais il ne préjuge d'aucune étiologie et n'est pas un outil de diagnostic. Il permet d'explorer 30 points, en sachant que le chiffre 30 décrit des fonctions cognitives intactes :

- l'orientation dans le temps (jour, année, ...),
- l'orientation dans l'espace (quartier, ville, pays...),
- les capacités de calcul,
- les capacités de mémoire à court terme (capacité de retenir 3 mots durant quelques minutes),
- la compréhension des demandes simples.

La progression des symptômes distingue donc trois stades correspondant à une échelle de score :

- Le stade léger avec un MMSE > 20
- Le stade modéré avec un MMSE compris entre 10 et 19
- Le stade sévère avec un MMSE < à 10

Ce test n'est évidemment pas spécifique de la maladie d'Alzheimer et a l'inconvénient de dépendre du niveau d'éducation du patient. L'âge, le niveau socio- culturel, l'activité professionnelle et sociale, ainsi que l'état affectif (anxiété et dépression) et le niveau de vigilance du patient doivent être pris en considération dans l'interprétation du résultat. Cependant c'est un moyen simple pour évaluer les fonctions cognitives et de relation. Ce score peut aider au suivi clinique des malades (Folstein *et al.* 1975).

6. TRAITEMENTS ACTUELS ET LEURS LIMITES.

Actuellement il n'existe aucun traitement curatif capable de guérir cette pathologie. Nous pouvons seulement agir sur les symptômes, ralentir l'évolution de la maladie, maintenir de la dignité, de l'autonomie et du lien social pour les patients, ainsi qu'apporter un soutien aux aidants.

6.1- Traitements médicamenteux

Les effets de ces médicaments permettent globalement de retarder d'un an l'évolution de la maladie, mais leur efficacité reste considérée comme plutôt modeste (Birks J, 2006) et le traitement est fonction de la symptomatologie. En particulier, ces traitements médicamenteux ne ralentissent pas l'atrophie hippocampique.

La MA est caractérisée par une anomalie des transmissions nerveuses, notamment celles cholinergiques et glutamatergiques. C'est pourquoi, seules les molécules capables d'interférer avec cette perturbation de l'influx nerveux sont actuellement utilisées en thérapie.

Selon l'autorisation de mise sur le marché (AMM) la primo-prescription de ces traitements médicamenteux est réservée aux médecins spécialistes en neurologie, en psychiatrie ou aux médecins spécialistes ou généralistes titulaires de la capacité de gériatrie.

On peut proposer en fonction de l'évolution de la pathologie :

- au stade léger : MMSE>20 : un inhibiteur de l'acétylcholinestérase
- au stade modéré : MMSE compris entre 10 et 20 : soit un inhibiteur de l'acétylcholinestérase soit un antiglutamate
- au stade sévère : MMSE<10 : un antiglutamate. Il faudra bien sûr prendre en compte d'autres facteurs que nous allons voir par la suite.

6.1-1. La voie cholinergique

Les patients atteints de la maladie d'Alzheimer ont des lésions affectant principalement les voies cholinergiques. La conséquence est une baisse massive des taux de neurotransmetteurs circulants dans le cerveau. Dans les formes les plus sévères le déficit d'acétylcholine peut atteindre 90% du taux normal. L'acétylcholine (Ach) est synthétisée dans le neurone pré-synaptique à partir d'acétylcoenzyme A et de choline, par l'enzyme choline acétyl-transférase (CAT). L'acétylcholine libérée dans la fente synaptique se lie aux récepteurs post-synaptiques afin de transmettre le signal nerveux. Elle est ensuite rapidement métabolisée en choline par l'acétylcholinestérase (AchE), puis recaptée via un transporteur spécifique (CT) et remise à disposition. Les récepteurs post-synaptiques, muscariniques et nicotiques, en répondant à l'acétylcholine vont entraîner la transmission de signaux intracellulaires qui permettent le processus de cognition et de mémorisation.

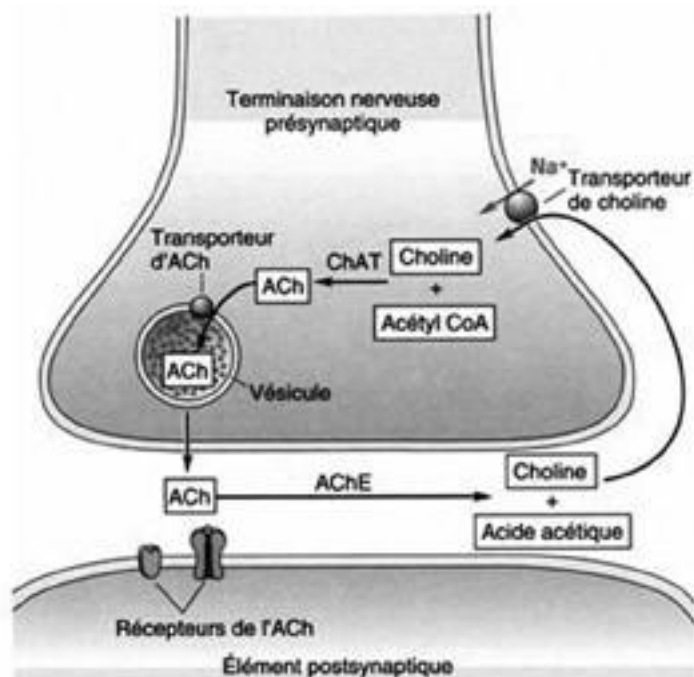


Figure 11: Synapse cholinergique

Au cours de la pathologie d'Alzheimer, la perte de neurones cholinergiques entraîne un défaut d'acétylcholine. La présence de plaques amyloïdes, connues comme modulateurs cholinergiques négatifs, perturberait les sites récepteurs de la choline et donc son recyclage qui serait alors amoindri. De plus, la dégénérescence neurofibrillaire pourrait aussi être impliquée mais l'origine reste encore controversée.

On pourrait croire qu'une augmentation d'apport en acétylcholine serait la solution mais ce n'est pas le cas, les résultats obtenus ont été loin des résultats attendus. Cependant l'inhibition de l'acétylcholinestérase permet d'augmenter le taux d'acétylcholine responsable du suivi des informations.

Les traitements utilisés aujourd'hui augmentent donc l'acétylcholine en inhibant l'acétylcholinestérase, ce qui entraîne une augmentation de la biodisponibilité de l'acétylcholine dans le cerveau.

Ces médicaments sont indiqués dans le cadre d'une atteinte légère à modérée (MMSE compris entre 10 et 26). Ils peuvent chez environ 10 % des patients, améliorer les fonctions cognitives ou retarder leur dégradation d'environ 6 mois (Takeda et coll. 2006), stabiliser, voire améliorer les activités de la vie quotidienne en diminuant les troubles du comportement. Mais ils sont incapables de rompre la cascade pathologique qui entraîne ces dysfonctions synaptiques et donc ces déficits. De plus, leur coût moyen s'élève à plus de 50 euros pour un mois de traitement, et ils ne sont efficaces que s'ils sont administrés précocement.

Aujourd'hui il existe 3 inhibiteurs d'acétylcholinestérase commercialisés pour le traitement de la MA, sachant que la Tacrine, (Cognex®) a été retirée du marché à cause de sa grande toxicité hépatique (Amieva *et al.*, 2007):

- **Le Donépézil, Aricept®**

Aricept® commercialisé par le laboratoire Pfizer est l'IAC le plus vendu en France (55% de parts du marché). Sa posologie initiale est de 5mg par jour en une prise le soir au couché, et la dose d'entretien recommandée et la dose maximale sont de 10 mg par jour en une seule prise (Environ 50euros/mois).

- **La Galantamine, Reminyl®**

La Galantamine est un alcaloïde commercialisé en 2000 sous le nom de Reminyl®. Il existe sous forme de comprimés de 4 à 12mg et nécessite deux doses quotidiennes, à doses progressives, par pallier (environ 60euros/mois). La posologie initiale est de 8mg par jour pendant un mois, en une prise pour la forme LP et en deux prises pour la forme à action immédiate. La dose d'entretien est de 16mg par jour maintenue pendant au moins 4 semaines et la posologie maximale d'entretien est de 24mg par jour en une prise (forme LP) ou en deux prises (formes à action immédiate).

Le Donépézil et la Galantamine sont des inhibiteurs spécifiques, compétitifs et réversibles de l'acétylcholinestérase en potentialisant l'action intrinsèque de l'acétylcholine sur les récepteurs nicotiniques, au niveau central.

- **La Rivastigmine, Exelon®**

La Rivastigmine est un carbamate commercialisé en France en 1998 et appartenant à la famille des stigmines. Il n'agit pas tout à fait de la même façon que le Donépézil et la Galantamine. Il s'agit d'un inhibiteur de l'acétyl et de la butyrylcholinestérase. Sa forme commercialisée par le laboratoire Novartis, Exelon®, est disponible sous forme orale (gélule et solution buvable) et sous forme de dispositif transdermique. La posologie initiale est de 3 mg par jour *per os* en deux prises de 1,5 ou 4,6mg par jour par voie transdermique. La dose d'entretien est de 6 à 12mg par jour *per os* en deux prises ou 9,5mg par jour par voie transdermique (environ 60euros/jour).

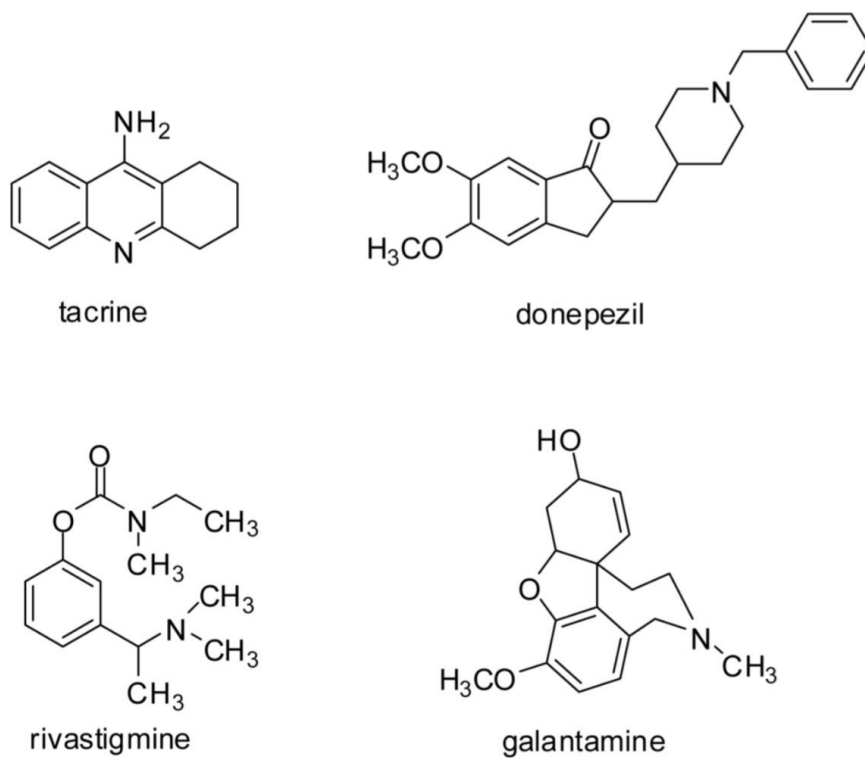


Figure 12: Structure des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase (Bajda et al., 2013).

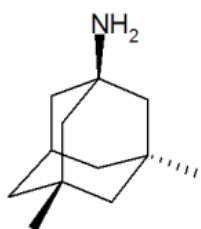
Les effets indésirables les plus fréquents des médicaments anticholinestérasiques sont surtout d'ordre digestifs (diarrhées, nausées et vomissements) et cardiovasculaires (risque de bradycardie et de troubles du rythme cardiaque). On peut aussi observer quelques troubles neuropsychiatriques (hallucinations, agitation, comportements agressifs, insomnies avec cauchemars, céphalées, douleurs, vertiges...). Il est donc nécessaire de faire bien attention à l'association de ces médicaments avec les bêtabloquants. En effet, cette association augmente le risque de bradycardie et de trouble du rythme cardiaque. Tout comme l'association concomitante aux médicaments anticholinergiques qui risque d'abaisser l'efficacité du traitement et l'association aux AINS qui augmente le risque de troubles digestifs.

Avant l'instauration du traitement il est donc important d'effectuer un électrocardiogramme afin d'écartier tout trouble cardiovasculaire qui pourrait empêcher l'instauration d'un inhibiteur d'acétylcholinestérase.

6.1-2. La voie Glutamatergique ou de l'acide glutamique.

La **Mémantine, Ebixa®** est un dérivé de l'Amantadine, antagoniste des récepteurs N-méthyl-D-aspartate (NMDA) du glutamate d'affinité modérée. Elle ralentit la libération de glutamate, qui est le neurotransmetteur excitateur le plus répandu dans le cerveau et qui possède un rôle dans les fonctions cérébrales d'apprentissage et de mémorisation. Par contre, en excès, le glutamate possède un rôle dans la dégénérescence neuronale. De plus, la Mémantine permet aussi d'améliorer les fonctions cognitives et l'état global du patient, et retarde la détérioration cognitive et les troubles du comportement.

Figure 13: Structure de la Mémantine



Ebixa®, commercialisé par le laboratoire Lundbeck, a reçu son AMM en 2002, en France. Il est prescrit lorsque la maladie est au stade modérément sévère à sévère, c'est à dire lorsque le MMS est compris entre 3 et 19. La posologie initiale est de 5mg (soit ½ comprimé ou 0,5ml de solution équivalent à une pression) le matin. Et la dose d'entretien et la dose maximale sont de 20mg le matin. Ses effets indésirables les plus fréquents sont des troubles digestifs (diarrhées, constipation, nausées, vomissements), et des troubles neuropsychiatriques (hallucinations, confusions, vertiges, céphalées et fatigue). De plus, la Mémantine n'est pas recommandée dans les cas d'insuffisance rénale sévère. Dans les cas d'insuffisance rénale modérée (clairance de la créatinine comprise entre 40 et 60 ml/min/1,73m²) la dose quotidienne doit être abaissée à 10mg.

De plus, il est impossible d'associer deux anti-cholinestérasiques et l'association des deux classes vues plus haut est courante en pratique mais se fait hors AMM.

Médicament	Dose de départ	Dose minimale efficace	Dose maximale	Indication (Santé Canada)
Donépézil (Aricept)	5 mg, 1 f.p.j.	5 mg, 1 f.p.j.	10 mg, 1 f.p.j.	Maladie d'Alzheimer de légère à grave
Galantamine (Réminyl ER)	8 mg, 1 f.p.j.	16 mg, 1 f.p.j.	24 mg, 1 f.p.j.	Maladie d'Alzheimer de légère à modérée
Rivastigmine (Exelon)	1,5 mg, 2 f.p.j.	3 mg, 2 f.p.j.	6 mg, 2 f.p.j.	Maladie d'Alzheimer de légère à modérée
Rivastigmine (Exelon Patch)	5 cm ² , 1 f.p.j.	10 cm ² , 1 f.p.j.	10 cm ² , 1 f.p.j.	Maladie d'Alzheimer de légère à modérée
Mémantine (Ebixa)	5 mg, 1 f.p.j.	5 mg, 2 f.p.j.	10 mg, 2 f.p.j.	Maladie d'Alzheimer de modérée à grave

Tableau 3: Résumé sur des médicaments indiqués dans la maladie d'Alzheimer (Massoud, 2009).

6.1-3. Traitements adjuvants des troubles cognitifs.

Les autres traitements médicamenteux ont pour but de limiter les troubles de l'humeur et du comportement comme l'agressivité ou le délire. Il s'agit des psychotropes. La rispéridone est le plus souvent utilisée dans le traitement de courte durée (maximum 6 semaines) de l'agressivité persistante chez les patients atteints d'une maladie d'Alzheimer modérée à sévère ne répondant pas aux traitements non médicamenteux, et lorsqu'il existe un risque de préjudice pour le patient lui-même ou pour son entourage.

Le traitement de la maladie d'Alzheimer est donc purement symptomatique, il ne fait que retarder l'évolution de la maladie et les effets restent modestes.

6.2- Traitements non médicamenteux :

La définition de la démence inclut deux dimensions : la détérioration cognitive et la perte d'autonomie. C'est pour pallier à cette deuxième dimension que nous allons voir les traitements non médicamenteux.

En premier lieu, les déficiences sensorielles aggravant les difficultés cognitives et d'interactions sociales comme la surdité ou les troubles visuels, mais aussi les facteurs aggravants curables (anémie, médicaments psychotropes, déficits sensoriels, hématome sous dural,...) doivent être traités. Une surveillance accrue de l'état nutritionnel sera aussi nécessaire dans les   tats de démence sévère.

De plus, la maladie d'Alzheimer nécessite une prise en charge psychologique, sociale et environnementale :

- l'aménagement de l'environnement du patient est essentiel pour renforcer le repérage. Le patient peut s'aider de calendriers, éphémérides, de carnets... Et il est nécessaire d'aménager la maison avec du matériel médical.
- la stimulation cognitive avec des activités telles que la lecture quotidienne des journaux, faire des jeux de sociétés, du jardinage... permettent de retarder la progression de la pathologie.
- la stimulation physique comme la marche à pied, faire participer le patient aux taches quotidiennes... vont permettre de retarder la perte d'autonomie.

Toutefois, tout changement dans l'organisation de vie du patient est susceptible d'exacerber ses troubles. Il est recommandé, dans la mesure du possible, de maintenir les repères existants et d'éviter par exemple les d  m  nements. La survenue d'une agitation, d'une agressivité ou d'hallucinations peuvent être liés à l'environnement (par exemple : un changement relationnel, de mauvaises relations avec les aidants, un réseau social insuffisant ...)

Afin d'éviter le retrait social et l'absence de stimulations physiques et cognitives des patients et pour soutenir les familles, de nombreuses mesures ont été prises.

Tout d'abord des **aides humaines** permettent un soutien logistique (aide à domicile) et psychologique des aidants (psychothérapie, groupes de parole, associations de famille, les CLIC, des guides pratiques de l'aidant). Pour les patients des centres d'accueil de jour ont été créés afin de stimuler leurs fonctions cognitives (club de loisirs ou de sport, kinésithérapie, orthophoniste, les ESA). Depuis 2009, un concept venu d'Amérique du Nord, les MAIA, Maisons pour l'autonomie et l'intégration des malades Alzheimer ont été créées dans le but de favoriser une meilleure articulation entre les structures de soins, d'information et d'accompagnement, dans une perspective d'intégration de l'ensemble des acteurs qui participent à la prise en charge des malades souffrant de la maladie d'Alzheimer et de leurs aidants (Tillement *et al.*, 2014).

C'est une maladie pénible pour la personne elle-même avant qu'elle ne perde conscience de son état mais plus encore pour **son entourage**. La prise en charge du patient par son entourage est une charge physique et morale très lourde car les troubles du comportement, comme l'agitation ou le délire, ont lieu de jour comme de nuit. Le parent le plus proche du patient doit sans cesse être sur le qui-vive et la famille perd toute relation avec les voisins, les amis... Il est donc nécessaire que le parent prenne soin de lui, qu'il puisse se ménager des moments de repos et de détente, et rendre régulièrement visite au médecin, pour lui-même. Puis lorsque le maintien à domicile devient trop lourd ou tout simplement impossible, des maisons de retraites médicalisées adaptées dites « EHPAD » prennent le relais. Mais dans la réalité, peu de familles placent le malade en institution ou en milieu hospitalier par peur de culpabiliser.

De plus, comme on l'a vu précédemment cette pathologie représente une véritable **charge financière** lourde et croissante. D'après le rapport de Gallez de 2005, une personne atteinte par la pathologie d'Alzheimer représente en moyenne un coût de 22 099 euros par an. Et près de 55% du coût total resteraient à la charge des familles, soit environ 12 146 euros par individu et par an. Pour palier à cette dépense des aides financières ont été mises en place :

- Allocation personnalisée à l'autonomie (APA), en fonction des revenus et du degré de perte d'autonomie.
- Prise en charge à 100 %.
- Mesures de protection médico-légale, type sauvegarde de justice ou tutelle si nécessaire.

Il y a peu de temps, de nombreux facteurs de risque modifiables ont été reconnus à mi-vie et leur correction pourrait ralentir l'apparition des troubles spécifiques de la maladie. De la même manière, certains travaux sur les effets protecteurs de certaines habitudes de vie et de traitements spécifiques pourraient aussi permettre d'importantes et prometteuses campagnes de santé publique.

7. SUR LA PISTE DE NOUVEAUX TRAITEMENTS.

A l'heure actuelle, plusieurs molécules thérapeutiques sont en cours de développement grâce aux recherches sur la physiopathologie de la maladie d'Alzheimer. Le but est de ralentir et de retarder l'apparition des premiers symptômes. Par exemple, il suffirait de retarder l'apparition des symptômes de cinq ans pour diminuer la fréquence de la maladie de 50%. En France, ça représenterait la suppression de 500 000 cas (Orgogozo, 2012). Et ensuite, le but ultime et pour l'instant illusoire serait d'essayer de traiter cette affection.

Les approches thérapeutiques nouvelles pour la maladie d'Alzheimer sont très nombreuses comme par exemple : les inhibiteurs de β - et γ -sécrétases, les activateurs de l' α -sécrétase, les activateurs des enzymes de dégradation du peptide A β , les agents réducteurs du cholestérol, les anti-inflammatoires non stéroïdiens, les substituts hormonaux, les anti-oxydants, les chélateurs de métaux, l'immunothérapie, la thérapie génique, les inhibiteurs de kinases, les activateurs de phosphatases ... (Amieva et al., 2007)

Cependant, la majorité de ces traitements visent à empêcher l'accumulation des peptides amyloïdes en inhibant la formation ou l'agrégation du β A ou d'autres, cherchent à lutter contre l'agrégation des protéines tau.

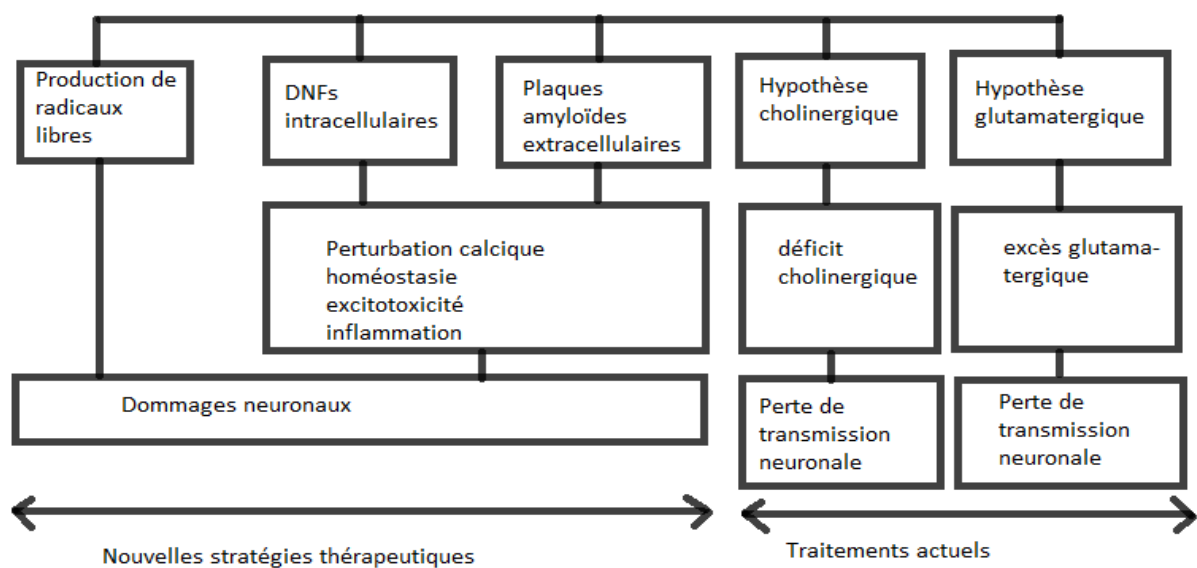


Figure 14: hypothèses majeures dans la maladie d'Alzheimer.

La piste la plus développée à l'heure actuelle est celle de l'**immunothérapie**, utilisée pour éliminer le peptide β -amyloïde (Orgogozo, 2012). Cependant, durant ces dix dernières années il y eu des revers, avec notamment des effets indésirables graves inattendus, il faut donc rester très prudent. Cette méthode consiste à injecter des anticorps hautement spécifiques dirigés contre le peptide (immunothérapie passive) ou à vacciner contre lui (immunothérapie active). La deuxième stratégie consiste à l'injection d'un peptide de structure proche, pour stimuler le système immunitaire et augmenter son efficacité à éliminer les protéines amyloïdes qui s'accumulent dans le cerveau.

A l'heure actuelle, les résultats des essais cliniques se sont avérés décevants. La stratégie entraîne bien une réaction immunitaire, mais sans diminution apparente des symptômes.

Néanmoins, aujourd'hui deux essais sont en cours dans des formes familiales à début précoce (avant 65ans), formes dans lesquelles il est possible d'identifier les patients à risque avec une quasi-certitude grâce à des tests génétiques. Il s'agit de l'essai DIAN-TU (Dominantly Inherited Alzheimer Network Trial Unit). En France cet essai est coordonné au CHU de Rouen. L'objectif est d'éliminer le peptide amyloïde du cerveau des membres du DIAN concernés par la maladie d'Alzheimer autosomique dominante. Les deux produits testés sont : le gantenerumab (un anticorps monoclonal administré en injection sous-cutanée toutes les 4 semaines) et le solanezumab (un autre anticorps monoclonal délivré par voie intraveineuse, également toutes les 4 semaines).

En Colombie, un autre essai a actuellement lieu parmi les membres d'une très grande famille qui sont touchés par la forme héréditaire de la maladie d'Alzheimer. C'est l'essai API (Alzheimer's Prevention Initiative). Les scientifiques ont identifié la mutation responsable de la pathologie chez plus de 500 personnes de cette famille. Ils ont commencé un essai d'immunothérapie, ciblant également la protéine β -amyloïde. La molécule testée est un troisième anticorps monoclonal (Crenezumab).

Des anticorps dirigés contre la protéine tau phosphorylée sont également à l'essai, ainsi que des vaccins immunisant contre cette protéine (notamment le vaccin ACI-35 : Amouyel, 2014).

D'autres études sont dirigées vers la recherche de composés dits « protecteurs » comme les polyphénols.

8. EST-IL POSSIBLE DE PREVENIR OU RETARDER L'APPARITION DE LA MALADIE D'ALZHEIMER A L'HEURE ACTUELLE.

8.1- L'âge.

L'âge, étant un facteur de risque majeur de la maladie d'Alzheimer, et compte tenu du constant vieillissement de la population mondiale, ceci va conduire à une augmentation sans précédent de cette pathologie. En effet, le vieillissement de la population est accompagné par un accroissement du nombre de personnes souffrant de maladies chroniques incluant le diabète, le cancer, les maladies cardiovasculaires, respiratoires et musculo-squelettiques, et les maladies neurodégénératives. En 2005, 24,3 millions de personnes dans le monde souffraient de la maladie d'Alzheimer, aujourd'hui plus de 30 millions sont atteints de cette affection. Partout dans le monde, les dépenses consacrées à la santé et aux services sociaux ont augmenté de manière significative au cours de la dernière décennie. Sachant qu'une personne est diagnostiquée toutes les 7 secondes (soit 4,6 millions de nouveaux cas chaque année), en 2040 il pourrait y avoir 81,1 millions de personnes touchées par cette pathologie.

8.2- Physiopathologie

Comme nous l'avons vu précédemment la physiopathologie de cette maladie n'est pas encore totalement et parfaitement comprise. Il est donc évident que les traitements curateurs ou même les traitements pouvant modifier le cours naturel de la maladie ne sortiront pas sur le marché cette année, mais peut être d'ici une dizaine d'années...

8.3- « La réserve cognitive »

Stimuler son cerveau tout au long de sa vie, afin de développer ce que l'on appelle la « réserve cognitive » permettrait de retarder les effets de la pathologie. Lire, apprendre, jouer, permet d'entretenir une activité intellectuelle. Pour stimuler sa mémoire, le Pr Francis Eustache, neuropsychologue, conseille de « pratiquer une activité- plaisir, qu'il s'agisse de jardiner, voyager, faire des mots croisés ou regarder un documentaire. Et d'entretenir des relations sociales qui forcément remettent en cause et obligent à sortir du ron-ron » (Orgogozo, 2012). De plus, cette compensation serait proportionnelle au niveau d'études. Plus le niveau d'éducation est élevé, plus la maladie d'Alzheimer se développerait tardivement. L'hypothèse biologique sous-jacente est que l'éducation (éducation de longue durée), le niveau de stimulation cérébrale (la complexité et la responsabilité de la profession, la pratique de loisirs intellectuellement stimulants) et les liens sociaux stimuleraient le développement d'un réseau neuronal dense qui permettrait de compenser plus longtemps les lésions induites par la maladie d'Alzheimer. En effet, le cerveau possède la capacité de mettre en place des circuits neuronaux compensatoires ou bien de renforcer des circuits neuronaux pré-existants afin de faire face aux processus neuro-dégénératifs ayant lieu au cours du vieillissement et davantage durant la maladie d'Alzheimer. Ce sont donc de « bons » protecteurs de la maladie démentielle. Chacune des activités énoncées précédemment diminuerait quasiment de moitié son apparition.

8.4- De nouveaux facteurs de risque.

Aucune médication « modificatrice des processus pathogéniques » ne pourra être mise sur le marché avant au moins une longue décennie, il est donc important de prêter attention à la recherche des facteurs de risque et à celle des facteurs protecteurs car comme le disait, en 1989, Khatchaturian : « retarder de 5 ans le début de la maladie d'Alzheimer pourrait permettre de réduire de 50% sa prévalence au grand âge » (Tillement *et al.*, 2012).

8.4-1. Syndrome métabolique

Le syndrome métabolique définit un ensemble d'anomalies comprenant : l'hypertension artérielle, l'hypercholestérolémie et l'hypertriglycéridémie, l'obésité abdominale et l'insulino-résistance. Lorsqu'au moins trois de ces critères sont réunis, on parle de syndrome métabolique.

- **L'hypertension artérielle** mal contrôlée à mi-vie (vers quarante ans), est le seul facteur de risque vasculaire pour lequel un traitement médicamenteux a montré des preuves d'efficacité dans la prévention de la maladie d'Alzheimer. Mais cet effet protecteur pourrait être spécifique des inhibiteurs calciques. L'étude « Honolulu Heart » a mesuré et analysé à partir de 1955 et pendant 16 ans, l'hypertension artérielle de 3703 japonais. Puis, 20 ans plus tard, en 1991 les survivants ont été examinés sur le plan cognitif. Il est apparu clairement, que chez les patients non traités pour l'hypertension artérielle, le risque de développer une démence ou une maladie d'Alzheimer était lié à la pression artérielle (autant la systolique que la diastolique) (Kivipelto *et al.*, 2001 et 2002 ; Orgogozo *et al.*, 2006).

- **Les Dyslipédémies.** La dyslipidémie est une augmentation de la concentration de triglycérides, cholestérol et autres lipides dans le sang. Chez les patients atteints de la MA, on a pu mettre en évidence une diminution du taux de cholestérol cérébral dans les régions hippocampiques et corticales, à l'exception du cortex cérébelleux, et une diminution des phospholipides et de l'épaisseur de la membrane plasmique au niveau des régions frontales et temporales. Ces altérations ont suggéré qu'une élévation du cholestérol total plasmatique avec des taux élevés de LDL et faibles de HDL pourrait être associée au risque de MA. En effet, un taux de cholestérol élevé vers quarante ans (6,5mmol/l) est un facteur prédictif de MA. De plus, il semblerait que les Statines (inhibiteur de l'HMG-Coa-réductase et donc de la synthèse du cholestérol) pourraient avoir un effet protecteur sur la MA (d'après des études épidémiologiques et précliniques), d'autant plus qu'elles sont capables de traverser la barrière hémato-encéphalique (Kivipelto *et al.*, 2001 ; Kivipelto *et al.*, 2005).

- **L'Obésité abdominale.** Un IMC supérieur à 30 kg/m² aux environs de la quarantaine, représente un risque de démence à l'âge tardif (c'est à dire plus de trente ans plus tard), alors qu'un IMC inférieur à 25kg/m² à mi-vie est considéré comme un risque de démence nul (Kivipelto *et al.*, 2005).

8.4-2. Le diabète de type 2.

Les effets du diabète de type 2 sont : une résistance à l'insuline et une hyperinsulinémie réactionnelle. D'après plusieurs études, il semblerait que l'insuline joue un rôle central dans la physiopathologie de la MA et donc une anomalie de son métabolisme pourrait être un facteur de risque pour cette pathologie.

Au final l'association du diabète au risque de MA reste incertaine. Son rôle favorisant, par l'intermédiaire d'une augmentation du risque cérébrovasculaire, reste cependant vraisemblable.

8.4-3. Les accidents vasculaires cérébraux (AVC).

Un AVC est un déficit neurologique résultant d'une obstruction (ischémique) ou de la rupture d'un vaisseau sanguin cérébral (hémorragique) ou à destination cérébrale. On peut penser que le lien entre l'AVC et la MA est dû au fait que les deux pathologies aient les mêmes facteurs de risque vasculaire (obésité, hypertension artérielle, hypercholestérolémie) mais il n'est pas le seul, d'autres mécanismes interviennent aussi. En effet, lors d'un AVC, des dommages peuvent apparaître dans des régions du cerveau impliquées dans les fonctions mnésiques, ou encore, peuvent entraîner la formation de dépôts amyloïdes, ce qui va contribuer à la perte des fonctions cognitives. De plus, lors de l'AVC une réponse inflammatoire se met rapidement en place entraînant la libération de cytokines pro-inflammatoires qui vont créer des liaisons neuronales importantes et ainsi favoriser la phosphorylation de la protéine TAU (Tillement *et al.*, 2014).

8.4-4. Le tabac

Le tabac, que l'on pensait autrefois bénéfique, concernant l'effet sur la maladie d'Alzheimer, est en réalité délétère. En effet, une étude réalisée entre 1978 et 1985 sur 21 123 personnes, a montré que les fumeurs actifs (plus de 2 paquets de cigarettes par jour) sont plus à risque de développer des troubles cognitifs que les non-fumeurs (après ajustement de tous les autres facteurs de risque).

8.4-5. Les agents anesthésiques.

En France, les agents anesthésiques peuvent appartenir à trois catégories :

- Les agents anesthésiques volatils : les plus courants sont les agents halogénés.
- Les agents anesthésiques intraveineux : la kétamine (n'est plus trop utilisée), le propofol ou le penthotal.
- Le protoxyde d'azote, administré par voie inhalée

Ces agents anesthésiques entraînent une perte de conscience due à de nombreux effets sur le système nerveux central. Ce sont donc des candidats potentiels pouvant provoquer des troubles cognitifs visibles après l'opération. On parlera de dysfonction cognitive post-opératoire (DCPO) (Tillement *et al.*, 2014).

D'après une étude réalisée en 2010 aux Etats-Unis, les mécanismes de la DCPO ne sont pas clairement établis mais il semblerait qu'ils pourraient être semblables à ceux de la maladie d'Alzheimer, et que la DCPO pourrait être associée à un mode d'entrée dans la MA (Vanderweyde *et al.*, 2010). Cependant ces observations ne sont pas un fait puisque d'autres études ne retrouvent pas de lien entre l'exposition à l'anesthésie générale et la survenue de la maladie d'Alzheimer (Avidan *et al.*, 2009). L'ensemble de ces études est donc peu concluant.

8.5- De nouveaux facteurs protecteurs.

8.5-1. L'activité physique.

La pratique de l'activité physique est un des meilleurs moyens pour bien vieillir. Il a été observé, dans des études prospectives comme dans celle de Larson *et al.*, en 2006, que les individus qui pratiquent une activité physique régulière modérée ou intensive ont un risque plus faible de développer la MA. Ces effets peuvent être directs par un meilleur apport sanguin contenant des substrats énergétiques et l'oxygénation, mais aussi indirects par ses effets anti-obésité, ses effets sur l'amélioration de la résistance à l'insuline, et parce que l'activité physique diminue le stress oxydant, la neuro-inflammation et améliore le métabolisme cérébral. On peut donc dire que ses bénéfices sont multiples, que ce soit pour la santé ou pour les capacités fonctionnelles et cognitives.

8.5-2. Régime alimentaire

Tout d'abord, nous savons que nous développons des habitudes de consommation en fonction de notre environnement, de notre culture et de nos connaissances. Nous savons aussi que le risque de développer la maladie d'Alzheimer est fonction de la qualité nutritionnelle, il est donc primordial de bien expliquer les consignes d'une « bonne alimentation » aux patients. Une alimentation grasse, riche en sucre et graisses favorise l'apparition de dyslipidémies et favorise la MA. A l'inverse un régime dit « méditerranéen » (riche en légumes, fruits, céréales, huile d'olive et pauvre en viande et produits laitiers) est associé à un risque plus faible de développer une MA. Plusieurs nutriments comme les vitamines (A, C et E), les acides gras polyinsaturés et les minéraux offrent un bénéfice pour la cognition. La consommation de vitamines A, C et E permet de réduire le stress oxydant et ainsi réduire la mort neuronale, et la consommation d'acides gras polyinsaturés (surtout des oméga 3) permet une diminution de la pression artérielle et semble ralentir le déclin cognitif lié au vieillissement normal.

Plusieurs études ont démontré que la consommation de fruits et de légumes est protectrice pour tous les types de démences. Nous pouvons citer comme exemple l'étude des 3 Cités (menée à Bordeaux, Dijon et Montpellier) qui a débuté en 1999. 9294 personnes de 65 ans ou plus, tirées au sort sur les listes électorales de ces trois grandes villes, ont été suivies jusqu'à aujourd'hui par des chercheurs afin de suivre leurs performances cognitives au fil du temps. Depuis 2010, plus de 80 articles ont déjà été publiés dans des revues scientifiques internationales. Concernant les habitudes alimentaires il est apparu que la consommation de fruits, de légumes et de poisson est plus importante chez les personnes ayant fait de longues et grandes études. Ils ont aussi observé que les femmes consomment plus de fruits et de légumes mais moins d'alcool que les hommes et que les personnes âgées vivantes seules ont une consommation alimentaire plus faible que les plus jeunes et les personnes vivantes en couples. Il semble aussi que le poisson est un aliment bénéfique pour la santé et que chez les personnes ayant une alimentation riche en fruits, légumes et acides oméga 3, le risque de démence diminue de 30 à 40%.

Les chercheurs ont aussi étudié la relation entre la consommation de thé et l'état des carotides (les artères d'où partent les vaisseaux qui irriguent le cerveau). A l'échographie, les personnes buvant beaucoup de thé, c'est-à-dire au moins 3 tasses par jour, ont présenté moins de lésions carotidiennes : parois artérielles moins épaissies et moins de dépôts graisseux. Mais les différences ne sont pas considérables : 44% des femmes qui ne boivent pas de thé ont des plaques carotidiennes, alors que 33% seulement de celles buvant au moins 3 tasses par jour en ont.

Remarque : La consommation modeste à modérée d'alcool est toujours le sujet de débat, mais d'après certaines études les buveurs modestes/modérés de 75 ans ou plus, quel que soit le type d'alcool ingéré, auraient moins de risques de développer un état démentiel. (Weyerer *et al.*, 2011). Une consommation modérée de vin rouge protègerait de la MA en raison des polyphénols qu'il contient. De plus, la caféine, a elle aussi démontré dans plusieurs études, que sa consommation est associée à un ralentissement du déclin cognitif au cours du vieillissement et à un risque plus faible de développer la maladie d'Alzheimer.

La correction des « mauvaises » habitudes de vie et l'adoption d'un style de vie bénéfique pour la santé pourrait retarder l'apparition des symptômes spécifiques de la maladie d'Alzheimer, du moins, en attendant que les moyens pharmacologiques puissent agir avec plus d'efficacité pour contrer la perte de la cognition et traiter la démence.

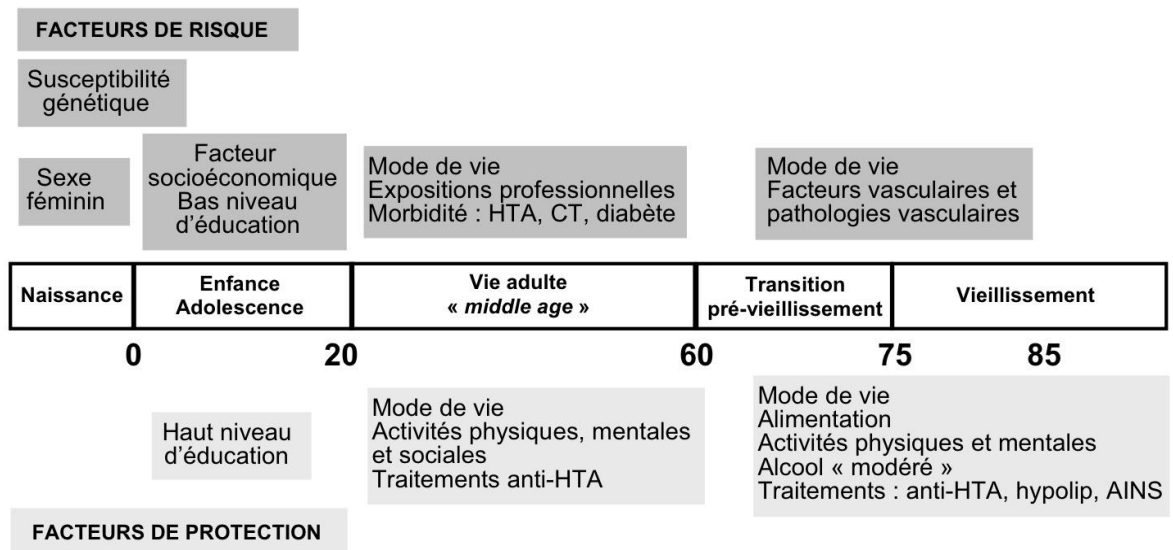


Figure 15: Schéma étiologique proposé pour la maladie d'Alzheimer (d'après Frattiglioni et al., 2004) HTA : hypertension artérielle ; CT : cholestérol total ; hypolip : hypolipidémiant ; AINS : anti-inflammatoire non stéroïdien.

9. NOTRE CONSEIL À L'OFFICINE.

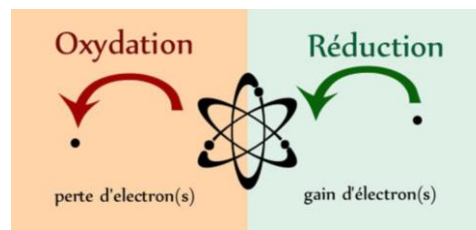
- Informer l'entourage des signes avant-coureurs de la MA. Nous pouvons leur citer quatre activités qui sont régulièrement perturbées (signalées par France Alzheimer) :
 - Des difficultés à retrouver un numéro de téléphone, ne sait plus le composer ou évite de téléphoner.
 - Le proche refuse de conduire seul et ne veut plus prendre les transports en commun.
 - Il ne prend pas ses médicaments ou oublie les doses et/ou les horaires.
 - Il ne règle pas ses factures, ne remplit plus ses chèques et a besoin d'aide pour gérer son budget.
- Conseiller une consultation médicale dès que des comportements anormaux et répétitifs sont perçus. Le dépistage peut se faire chez un médecin généraliste qui fera des tests simples afin d'évaluer l'autonomie (échelle IADL) et des tests psychométriques (MMSE).

- Indiquer qu'il existe des centres de mémoire de ressource et de recherche (CM2R) qui ont une vocation plus large que les centres mémoires. Ils peuvent par exemple participer au diagnostic des cas difficiles.
- Parler des bracelets et des colliers de géolocalisation (BlueGard...). Chaque bracelet ou collier est associé à un ou plusieurs aidants (par ex : les voisins, la famille...) qui pourront se rendre physiquement auprès de la personne porteuse du bracelet.
- Rappeler qu'il existe des traitements médicamenteux traitants les symptômes et qui pourraient ralentir la progression des lésions cérébrales.
- Et indiquer les coordonnées des associations, fondations ou Instituts spécialisés dans cette pathologie.

Partie 2 : Le stress oxydant.

L'oxygène est la source de vie pour tous les organismes aérobies multicellulaires, en leur permettant de produire de l'énergie, mais il peut aussi être une source d'agression pour ces mêmes organismes lorsqu'une faible partie de cet O₂ est converti en métabolites potentiellement toxiques.

L'oxydation, ou réaction d'oxydoréduction, est une réaction chimique mettant en scène une molécule d'oxygène. Lors de cette réaction, un élément chimique, désigné comme le réducteur de la réaction, cède des électrons (particules élémentaires avec une charge de signe négatif et qui font partie des composants de l'atome avec les neutrons et les protons) à un atome d'oxygène, désigné, lui, comme l'oxydant de la réaction chimique. Les nombreuses oxydations se déroulant dans le corps humain ont pour principale fonction de fournir assez d'énergie à nos différentes cellules.



1- RADICAUX LIBRES ET STRESS OXYDANT.

1.1- Présentation des radicaux libres.

Les radicaux libres sont des espèces chimiques possédant un électron célibataire non apparié sur leurs couches périphériques. Cela leur confère une instabilité énergétique et cinétique et donc une durée de vie très courte de 10⁻³ à 10⁻⁶ secondes. A cause de leur instabilité énergétique, ces espèces ont tendance à revenir à un état stable en prenant un électron ou en le donnant à une autre molécule.

Il existe trois principales catégories de radicaux libres :

- Les espèces réactives de l'oxygène (ERO). Elles incluent les radicaux libres comme le radical superoxyde ou le radical hydroxyle, et les composés réactifs oxydants non radicalaires (sans électron libre sur leur couche périphérique) comme le peroxyde d'hydrogène H₂O₂, l'acide hypochloreux (HOCl) et l'ozone (O₃).
- Les espèces réactives de l'azote (ERN), comme par exemple le radical peroxydinitrite (ONOO[·]), le dioxyde d'azote (N₂O[·]) ou le monoxyde d'azote (NO[·])
- Et les espèces réactives du soufre (ERS), comme le radical thiyl (RS[·]).

Qu'est-ce qu'un radical libre ?

Un radical libre est une espèce chimique possédant un électron célibataire (non apparié).

Radicaux libres centrés sur l'oxygène

$O_2^{\cdot -}$: radical superoxyde

HO_2^{\cdot} : radical perhydroxyle

$\cdot OH$: radical hydroxyle

RO_2^{\cdot} : radical peroxyde

RO^{\cdot} : radical alkoxyde

Autant les ERO que les ERN peuvent entraîner l'oxydation des lipides, des protéines et de l'ADN. Les ERS, eux, ont pour effet l'oxydation des protéines, de l'ADN et la production d'ERO (Bouzid, 2014).

1.2- Formation des espèces réactives de l'oxygène (ERO)

La majeure partie du dioxygène que l'on respire subit une réduction tétravalente, c'est-à-dire une addition de quatre électrons. Cette réduction catalysée par la cytochrome oxydase conduit à la production de molécule d'eau.

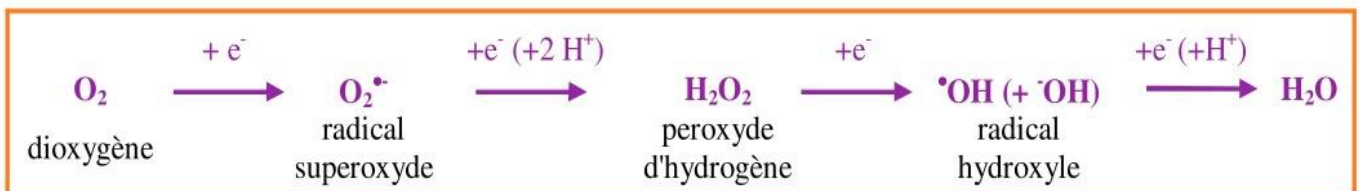
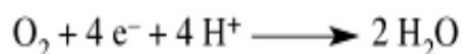


Figure 16: Réduction tétravalente du dioxygène conduisant à la formation d'eau.

Soit en résumé :



Le dioxygène, molécule bi-radicalaire, possède deux électrons célibataires sur des orbitales différentes. Il est donc capable de récupérer 4 électrons, mais ses capacités radicalaires sont limitées par une barrière cinétique importante.

Les intermédiaires respectifs des quatre étapes de la réaction ($O_2^{\cdot -}$ réduction à 1 électron, H_2O_2 réduction à 2 électrons, et $\cdot OH$ réduction à 3 électrons) sont appelés espèces radicalaires de l'oxygène (ERO) ou encore espèces activées de l'oxygène. Ces espèces sont beaucoup plus réactives que l'oxygène qui leur a donné naissance. Les ERO peuvent être de deux natures différentes : les radicalaires et les non-radicalaires. Par exemple, $O_2^{\cdot -}$ est un ERO radicalaire, alors que H_2O_2 possède tous ces électrons appariés sur la couche périphérique, il est donc un ERO non-radicalaire.

Cependant, lors de cette chaîne, une fuite d'électron a lieu, entraînant la réduction monoélectronique de l'oxygène et donnant naissance à des ERO.



De plus, lorsqu'un rayonnement UV, d'une longueur d'onde similaire aux UV A et B atteint une molécule de dioxygène, l'apport énergétique entraîne une inversion du spin électronique donnant naissance à l'oxygène singulet. Celui-ci possède une durée de vie d'à peine une microseconde dans une solution aqueuse, mais il possède une très grande réactivité vis-à-vis des molécules riches en électrons. Il pourrait donc jouer un rôle dans plusieurs phénomènes biologiques.

Dans le phénomène de stress oxydant, les radicaux libres qui interviennent ont une caractéristique commune, celle d'avoir un électron célibataire sur un atome d'oxygène. On parle alors de radicaux libres « centrés » sur l'oxygène (Delattre *et al.*, 2005).

Le stress oxydant se définit comme un déséquilibre entre l'exposition à des pro-oxydants avec production exagérée de radicaux libres, et les systèmes de défense antioxydante (enzymatique et non-enzymatique), le premier prenant le dessus sur le second, avec comme conséquences des dégâts souvent irréversibles dans la cellule.

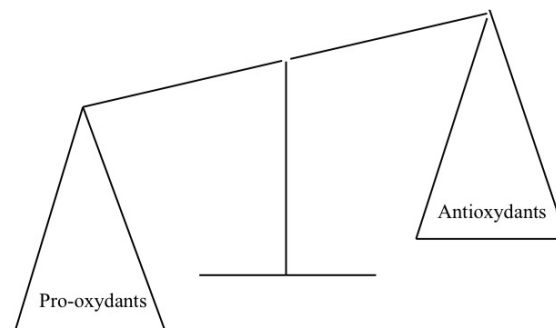


Figure 17: Déséquilibre de la balance entre antioxydants et pro-oxydants (Boubekkri, 2014).

Ces dégâts peuvent être des modifications oxydantes au niveau :

- des lipides (AGPI) avec oxydation des phospholipides des membranes entraînant la formation de peroxydes lipidiques,
- de l'ADN avec des mutations des coupures ou des délétions,
- et des protéines avec des modifications oxydatives multiples qui les rendent non fonctionnelles. Les cibles les plus courantes sont les acides aminés comme la cystéine, la méthionine et la tyrosine. Ensuite, les protéines endommagées sont normalement prises en charge par les protéasomes afin de les éliminer. Cependant dans les cerveaux de patients atteints de la maladie d'Alzheimer les protéasomes sont inhibés. L'oxydation des protéines est impliquée dans plusieurs pathologies comme l'athérosclérose, l'emphysème pulmonaire, la maladie de Parkinson ou encore la maladie d'Alzheimer...

A des degrés variables, l'exposition chronique au stress oxydant est donc impliquée dans le vieillissement, dans le développement des maladies cardiovasculaires, des cancers, du diabète ou encore des maladies neurodégénératives et pour finir dans la mort cellulaire.

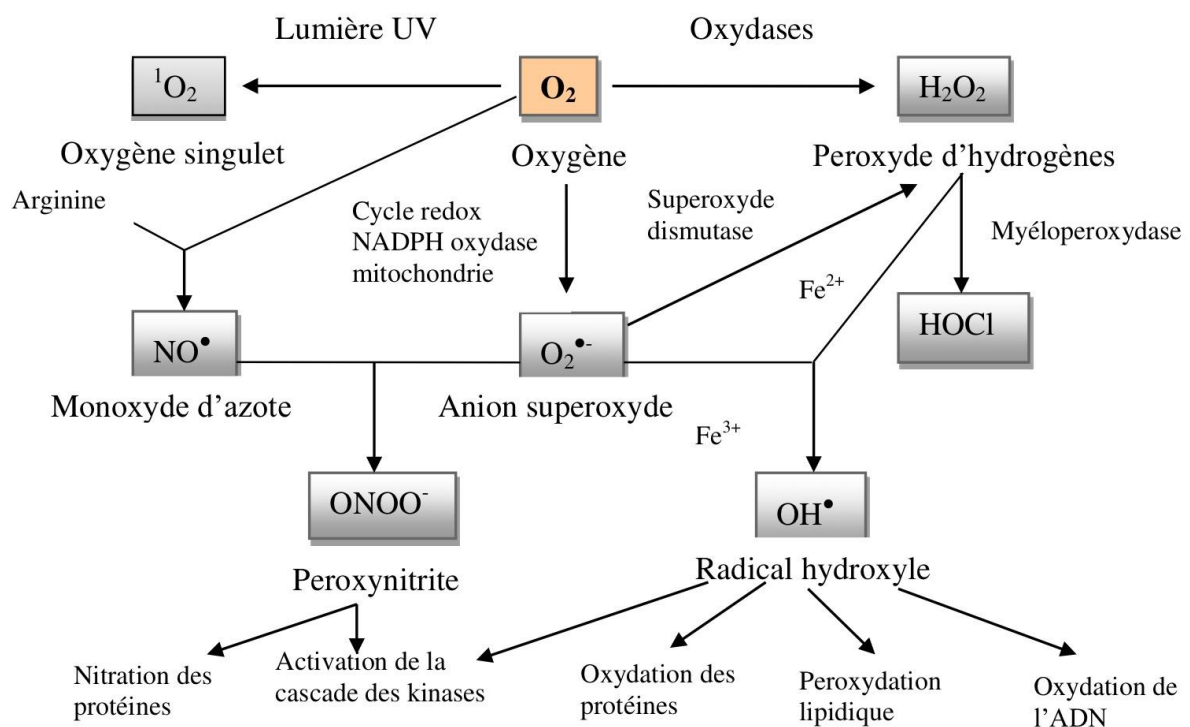


Figure 18: Les processus de formation des ERO (Sabiha, 2013)

Cependant, il serait erroné de ne voir les ERO que comme des espèces toxiques. Ils ont aussi un rôle physiologique considérable à jouer, en particulier dans les cascades de signalisation.

1.3- Origines des ERO.

1.3-1. Sources endogènes

Les radicaux libres ne sont pas produits uniquement lors du stress oxydant. Ils peuvent aussi être générés au cours du métabolisme normal de l'oxygène, *in vivo*, par de nombreuses sources intracellulaires :

- Au niveau des **mitochondries** (organites intracellulaires où siège le métabolisme énergétique de la cellule dans toutes les cellules eucaryotes) : Chez l'Homme la plupart des ERO sont produites au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale, encore appelée cycle de Krebs. Il existe deux sites précis de formation de ces radicaux : les complexes I et III (Bouزيد, 2014). Au cours du cycle, l'énergie chimique contenue dans les aliments est transformée par phosphorylation oxydative, en liaisons phosphates à haute énergie (ATP)(De Robertis, 1983).

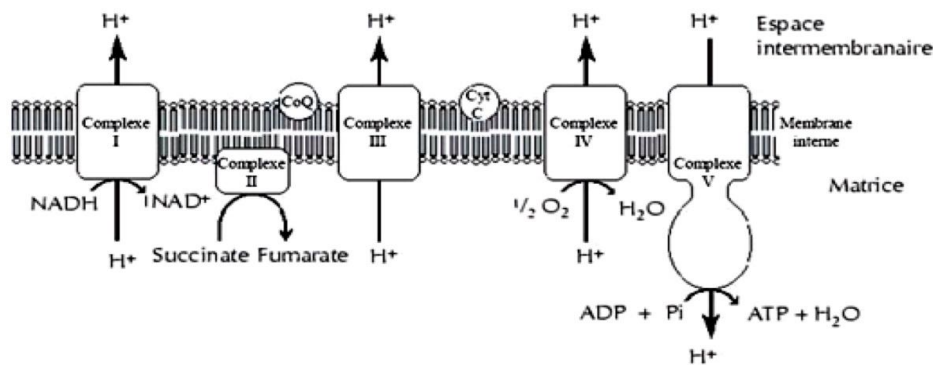


Figure 19: Représentation de la chaîne respiratoire mitochondriale (Boubekri, 2014)

85% de l'oxygène est métabolisé par ce processus. Cependant, à ce moment là, des fuites d'oxygène peuvent avoir lieu. L'O₂ peut alors subir une réduction partielle et donner naissance aux ERO.

Il semblerait que cette fuite d'origine mitochondriale soit la source majoritaire d'ERO dans la cellule, devant les activités de la NAD(P)H oxydase membranaire (sauf lors de l'explosion oxydative des cellules phagocytaires activées) et de la xanthine oxydase (Delattre *et al.*, 2005).

- Au niveau du **noyau** de la cellule : Même si la fonction des cytochromes oxydases et de la chaîne de transport d'électrons restent encore inconnue au niveau du noyau, le fait que la génération d'espèces toxiques se fasse proche de l'ADN nucléaire doit être pris au sérieux. Ce phénomène pourrait être fonctionnellement important, du fait de la capacité à générer des lésions oxydatives au niveau de l'ADN (Halliwell et Gutteridge, 1999).

Les radicaux libres ne sont pas produits uniquement lors du stress oxydant, une très faible quantité est aussi produite au cours du métabolisme normal de l'oxygène *in vivo* au sein de la chaîne respiratoire mitochondriale par exemple.

- Au niveau des **peroxysomes** : Dans ces organites intracellulaires de nombreux enzymes (glycolate oxydase, D-aminoacide oxydase, urate oxydase, hydroxyacide oxydase, acétylCoA oxydase...) sont capables de générer des ERO. Ils constituent une source cellulaire de peroxyde d'hydrogène. Mais ce H₂O₂ est utilisé au cours de la bêta-oxydation des acides gras et pour la détoxification de molécules toxiques comme l'éthanol dans certains tissus comme le foie et les reins, et il semblerait que seulement une partie très faible s'en échappe. A ce jour, aucun rôle spécifique des espèces réactives de l'oxygène d'origine peroxysomale n'a été décrit (Delattre *et al.*, 2005).

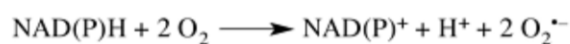
- Au niveau des **lysosomes** : la myéloperoxydase (MPO) lysosomale est une enzyme importante dans le stress oxydant car elle est responsable de la formation de l'acide hypochloreux (HOCl) qui donnera secondairement d'autres ERO.

- Au niveau du **reticulum endoplasmique lisse** : Dans ce compartiment cellulaire, nous retrouvons les enzymes de la famille des cytochromes P₄₅₀. Ces enzymes entraînent l'oxydation des acides gras insaturés et réduisent l'oxygène moléculaire en O₂^{•-} et/ou en H₂O₂.

Mais la production d'ERO n'a pas seulement lieu au niveau intracellulaire, elle peut aussi avoir lieu au niveau membranaire par l'intermédiaire le plus souvent d'oxydases :

- **NAD(P)H oxydase membranaire :**

La NAD(P)H oxydase est une enzyme membranaire qui peut catalyser la réduction mono-électrique de l'oxygène. Le donneur d'électron est le NADPH ou bien le NADH. Il en résulte la formation de radicaux superoxyde toxiques pour les bio-organismes comme on pourra le voir ensuite.



Cette enzyme est présente de façon constitutionnelle dans toutes les cellules. Sa forme active est retrouvée dans tous les types de cellules à part dans les phagocytes quiescents où l'on retrouve plutôt la forme inactive. Dans tous les cas, l'enzyme est ancrée dans toute l'épaisseur membranaire. C'est grâce à cette disposition que l'enzyme peut interagir avec le substrat intracellulaire (NADPH,H⁺ ou NADH,H⁺) pour donner naissance préférentiellement à l'extérieur (pour les cellules phagocytaires) ou à l'intérieur (pour les cellules non-phagocytaires) à l'anion superoxyde O₂^{•-}.

- **Xanthine oxydase**

La xanthine oxydase, encore appelée xanthine oxydoréductase (XOR) est une molybdo-enzyme permettant de catalyser, au cours du métabolisme des purines, l'oxydation de l'hypoxanthine et de la xanthine. La XOR est présente dans toutes les espèces vivantes (y compris les Procaryotes), et chez les mammifères elle est même ubiquitaire (Parks et Granger, 1986). La plus grande proportion de XOR se situe au niveau du cytosol, essentiellement dans la zone périnucléaire, mais on peut en retrouver une faible partie au niveau de la surface externe de la membrane cellulaire.

Deux types de cette enzyme existent : la xanthine déshydrogénase (XDH) qui prédomine *in vivo*, et la xanthine oxydase (XO). Il est possible de passer d'une forme à l'autre de façon réversible par addition d'agents réducteurs ou de façon irréversible par protéolyse. La XDH réduit préférentiellement le NAD^+ en NADH, H^+ alors que la XO ne peut pas le faire. Cette dernière préfère l'oxygène moléculaire. Par contre, toutes les deux peuvent réduire l' O_2 pour former le radical superoxyde $\text{O}_2^{\cdot-}$ selon la réaction :

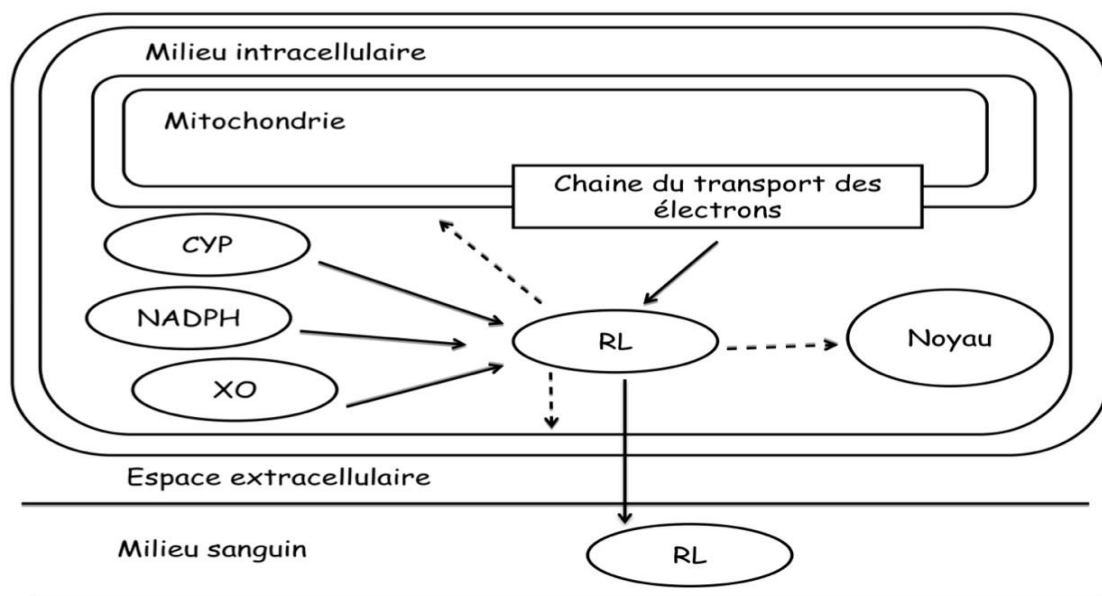


- Cytochrome P450

Le système des cytochromes P450 peut entraîner au cours de la détoxification des xénobiotiques (par exemple les toxines et les médicaments), au niveau du reticulum endoplasmique, la formation de radicaux superoxydes.

Ce radical superoxyde sera ensuite pris en charge par la superoxyde dismutase (dans la partie « défenses anti-oxydantes »), pour former du peroxyde d'hydrogène, qui sera à son tour pris en charge par la catalase ou bien par les glutathion peroxydases.

Ainsi, la mitochondrie, la membrane plasmique et le reticulum endoplasmique sont les sièges principaux de libération d'ERO.



RL : radicaux libres, XO : xanthine oxydase, NADPH : nicotinamide adénine dinucléotide phosphate, CYP : Cytochromes P450, —————> : production des RL, - - - - -> : attaque radicalaire.

Figure 20 : Sources principales de production des radicaux libres au niveau cellulaire (Bouzid, 2014).

1.3-2. Sources exogènes

Les espèces réactives de l'oxygène peuvent aussi être générées sous l'effet d'oxydants environnementaux. Une exposition aux rayonnements UV (comme une exposition prolongée au soleil) ou aux rayonnements X, aux radiations ionisantes, aux toxiques environnementaux, une consommation excessive d'alcool, le tabagisme, et l'exercice physique intense pourrait entraîner une surproduction d'ERO dans notre organisme. Cette production excessive serait alors susceptible de dépasser nos défenses antioxydantes naturelles, ce qui provoquerait de nombreux dégâts cellulaires.

La peroxydation des lipides insaturés (acides gras et cholestérol), encore appelée lipoperoxydation, est à l'origine de nombreuses maladies. Elle provient en grande partie de notre alimentation. En effet, le stockage, le mode de préparation (friture, grillade, rôtisserie) et certains aliments (viandes et poissons) apportent un cocktail de radicaux libres, de lipoperoxydes et de divers métabolites issus de la lipoperoxydation qui sont nocifs pour notre santé (Morelle-Lauzanne, 2006). En 2003, Jean Morelle a décrit dans son livre quelque chose de nouveau : « les conditions dans lesquelles la cuisine de tous les jours intervient dans l'oxydation extrêmement fâcheuse de graisses, autrement bénéfiques » (Morelle, 2003). Il a aussi étudié les conditions de conservation de ces graisses qui, exposées à la simple lumière, s'oxydent, se détériorent et deviennent plus dangereuses pour notre organisme. Pour cela, il a effectué plusieurs expériences. Il a chauffé différentes huiles contenant des matières grasses (ERO) à 150-200°C pendant trois minutes et il a observé l'augmentation des oxygènes actifs en µg d'oxygène pour 1g d'huile. Il a mis en évidence le fait que, plus la durée de conservation de l'huile est longue, plus cette huile sera riche en oxygène fixé après la chauffe.

Matières grasses	Aliments	µg d'oxygène pour 1 g d'huile	
		Avant cuisson	Après cuisson
Huile d'arachide	Pain	40	360
Huile d'arachide	P de T frites)*	40	170
Huile d'arachide	P de T (frites)**	40	2000
Huile d'arachide	Steak	40	600
Huile d'arachide	Steak***	470	980
Huile d'arachide	Mouton	60	360
Huile d'arachide	Porc	60	140
Huile d'olive	Pain	140	440
Huile d'olive	Pain	172	420
Huile d'olive	Lard	172	200
Huile d'olive	Lard	140	200
Huile d'olive	Steak	172	460
Huile d'olive	Steak	220	450
Huile d'olive	Steak	200	960
Huile d'olive	Mouton	172	290
Huile d'olive	Mouton	200	550
Huile d'olive	Aubergine	172	300
Huile OTC	Pain	120	450
Huile OTC	Porc	120	600
Beurre	Steak	0	400
Beurre	Veau	0	90

*Conservé sous vide après usage.

** Bassine à frites, plusieurs mois à l'air (mousse).

*** En usage sur 3 mois, restant 10 % dans la bouteille de plastique incolore.

De plus, la lipoperoxydation provoquée par le chauffage varie en fonction de la nature de l'huile. Certaines huiles comme l'huile d'olive ont un taux d'oxygène actif supérieur à celui de l'huile d'arachide avant chauffage, mais après chauffage on remarque que l'huile d'olive se lipoperoxyde moins que l'huile d'arachide. (voir tableau) (Morelle-Lauzanne, 2006).

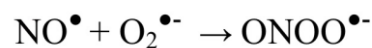
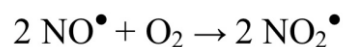
Tableau 4: Augmentation des oxygènes actifs par chauffage des matières grasses (ROS) exprimée en µg d'oxygène pour 1g d'huile.

1.4- Le monoxyde d'azote.

Le stress oxydant est une des causes majeures de souffrance cellulaire associée à de fortes concentrations en $\cdot\text{NO}$. D'après Darblade *et al.*, en 2000, le monoxyde d'azote radicalaire ($\cdot\text{NO}$), gaz incolore à température ambiante, est synthétisé à partir d'une molécule d'oxygène et d'un atome d'azote (du radical guanidium de l'acide aminé L-arginine). Ses effets sont visibles sur la plupart des grandes fonctions physiologiques de l'organisme. Il peut avoir des effets protecteurs par rapport au stress oxydant en limitant la peroxydation lipidique, mais aussi un rôle délétère notamment au niveau des lésions neuronales dégénératives. Il est donc important de ne pas avoir ni trop ni pas assez de $\cdot\text{NO}$ dans l'organisme afin de garantir l'homéostasie corporelle. De plus, le monoxyde d'azote radicalaire possède un rôle de bio-messenger dans les processus de transduction (régulation des MAP kinases, des protéines kinase C), de transcription et sur la chaîne respiratoire mitochondriale. Ses rôles bénéfiques ou délétères pour la santé expliquent pourquoi autant de publications lui soient consacrées chaque année.

1.4-1. Synthèse du $\cdot\text{NO}$

La production de monoxyde d'azote radicalaire a lieu par voie enzymatique à partir d'un atome d'azote de la L-Arginine et d'une molécule d'oxygène. Les réactions du $\cdot\text{NO}$ avec l'oxygène et $\text{O}_2^{\cdot-}$ forment respectivement le dioxyde d'azote (NO_2^{\cdot}) et l'anion peroxynitrite ($\text{ONOO}^{\cdot-}$). Cette formation a lieu dans plusieurs types de cellules, notamment les cellules endothéliales et les macrophages, grâce aux NO synthases (Ghedira, 2005).



Les NO synthases (NOS), ou monoxyde d'azote synthases sont des métalloenzymes possédant un groupement hémique.

1.4-2. Propriétés physico-chimiques du $\cdot\text{NO}$.

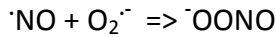
- Réaction avec l'oxygène.

Dans un environnement aqueux, le produit final stable de l'oxydation est l'ion nitrite NO_2^- .



- Réaction avec des radicaux oxygénés

La réaction de l'ion superoxyde avec le $\cdot\text{NO}$ forme le peroxyde nitrite (OONO). Ensuite, après protonation, le $\cdot\text{NO}$ est transformé en nitrate :



- Réaction avec les fonctions thiols

Le $\cdot\text{NO}$ forme avec les groupements thiols des S-nitrothiols. D'après Wink et Mitchell en 1998 et Loscalzo en 2000, la S-nitrosylation de protéines est responsable de certaines propriétés biologiques.

- Réaction avec les métaux

Le $\cdot\text{NO}$ peut se fixer sur le fer ferrique ou ferreux, héminique ou non, sur la catalase, sur le cytochrome P450, et sur l'oxyhémoglobine entraînant l'inhibition des enzymes et la formation de méthémoglobine.

1.4-3. Les mécanismes d'action du $\cdot\text{NO}$.

Le $\cdot\text{NO}$, composé gazeux et radicalaire, peut réagir avec de nombreuses molécules (ERO, enzymes, ADN) mais il participe aussi aux voies de signalisation cellulaire. Son mécanisme d'action découle principalement de ses propriétés physico-chimiques. Comme les espèces réactives de l'oxygène, le $\cdot\text{NO}$ et plus généralement les espèces réactives de l'azote (ERN) peuvent entraîner le processus de stress oxydant. Dans ce cas le $\cdot\text{NO}$ réagit avec le radical superoxyde $\text{O}_2^{\cdot-}$ pour donner naissance au peroxyde nitrite OONO . Ce dernier est capable d'endommager les protéines, les lipides et les acides nucléiques grâce à sa très grande réactivité. De plus, il diffuse facilement et rapidement dans les membranes ce qui fait qu'on retrouve sa toxicité dans des tissus très éloignés du lieu de synthèse.

En 2000, Kroncke *et al.* publièrent un article sur le stress nitrosant, dû à l'exposition moléculaire à de faibles concentrations de $\cdot\text{NO}$. En présence de $\cdot\text{NO}$, le glutathion réduit, intracellulaire, subit une S-nitrosylation conduisant au glutathion oxydé. Ce mécanisme risque alors d'endommager la cellule qui aura perdu par conséquent une grande partie de sa capacité de défense contre les ERO et les ERN.

Un autre des mécanismes d'action possible du $\cdot\text{NO}$ est l'interaction avec les enzymes impliquées dans les grandes fonctions cellulaires, en les activant ou bien en les inhibant.

Enzymes	Fonction
<i>Activation</i>	
Guanylate cyclase	Formation du GMPc
Cyclo-oxygénase ¹	Synthèse d'eicosanoïdes
<i>Inhibition</i>	
Aconitase	Cycle de Krebs
NADH : ubiquinone oxydoréductase	Transfert d'électron
Succinate : ubiquinone oxydoréductase	Transfert d'électron
Ribonucléotide réductase	Synthèse d'ADN
Glycéraldéhyde-3-phosphate deshydrogénase	Glycolyse / Gluconéogénèse
Cytochrome P ₄₅₀	Métabolisme
NADPH oxydase	Synthèse d'ERO
Cyclo-oxygénase ¹	Synthèse d'eicosanoïdes

1. La cyclo-oxygénase est activée par de faibles concentrations en 'NO et inhibée par de fortes concentrations (d'après Billiar, 1995).

Tableau 5: Enzymes cibles du 'NO

Au niveau de l'ADN, ce radical libre peut aussi être responsable de modifications structurelles. Les bases puriques et pyrimidiques réagissent sous l'effet de réaction de nitrosation, pour produire de la nitrosamine qui se transforme rapidement en radical hydroxyle.

Toujours au niveau des organites intracellulaires, le 'NO a une action au niveau mitochondrial. On distingue deux cas : à faibles concentrations, et pendant une courte période d'exposition, le 'NO inhibe de façon réversible la cytochrome c oxydase, alors qu'à de fortes concentrations et pendant une période plus longue l'inhibition peut devenir irréversible. De plus, il inhibe l'aconitase mitochondriale entraînant l'inhibition du cycle de Krebs.

Et pour finir, le 'NO peut influencer les voies de transduction cellulaire en les activant ou en les inhibant, il peut moduler certains facteurs de transcription et il contribue au maintien de l'homéostasie en participant à la régulation des processus apoptotiques.

Cependant, dans certaines conditions spécifiques la présence de 'NO peut être bénéfique pour la cellule. La combinaison du 'NO avec les radicaux alkoxy (RO') ou alkylperoxy (ROO') entraîne la formation de composés peu diffusibles et favorise la terminaison des réactions en chaîne de peroxydation. Il semble donc que ce soit plutôt une dysrégulation de sa production qui soit impliquée dans les processus pathologiques.

1.4-4. Rôles physiologiques du 'NO au niveau du système nerveux et implication dans les maladies du système nerveux central.

Le 'NO est impliqué dans les mécanismes du sommeil, de la douleur et de la thermorégulation au niveau central et dans les phénomènes d'apprentissage et de mémorisation au niveau du système nerveux central (Wiesinger, 2001).

Lorsque le gène APP, codant pour l'amyloïde dans la maladie d'Alzheimer, est muté il se produit une augmentation de son activité et un accroissement des plaques amyloïdes. Cette accumulation d'amyloïde produit de nombreuses perturbations cellulaires et biochimiques qui activent la NOS, augmentent la production de 'NO, ce qui augmente la production radicalaire et ce qui est responsable de la mort cellulaire (Law *et al.*, 2001).

2. Stress oxydant dans les systèmes neuronaux

Les systèmes oxydants et antioxydants sont en équilibre constant. Dès qu'un maillon de cette chaîne est défaillant, le système perd de son efficacité et il devient alors nécessaire d'avoir un apport extérieur antioxydant par l'alimentation pour palier à cette anomalie.

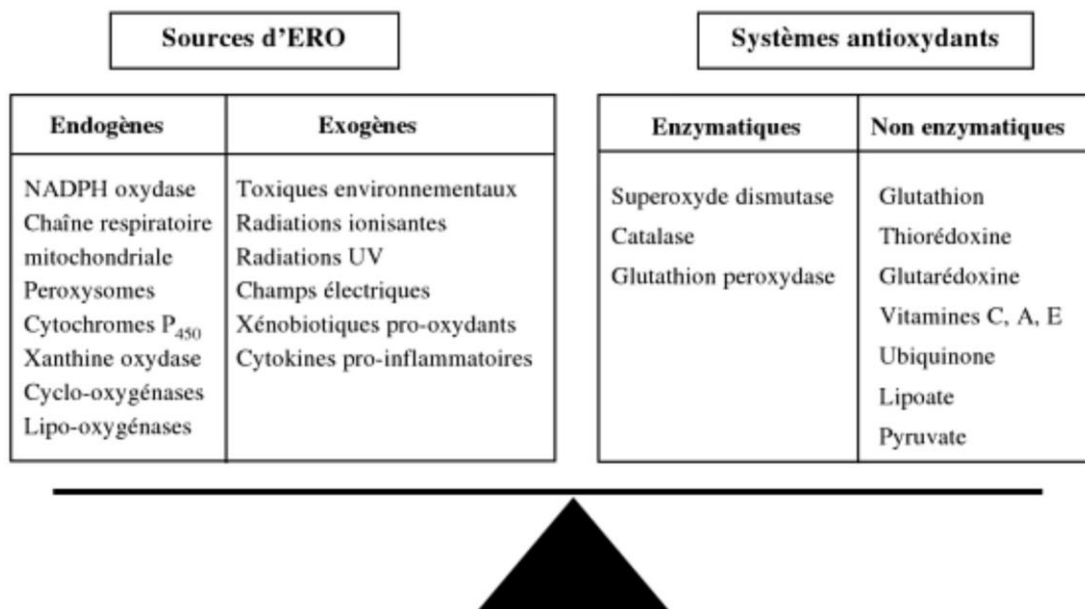


Figure 21: Principales sources d'ERO (endogènes et exogènes) et les systèmes antioxydants naturels (Delattre *et al.*, 2005).

Normalement, il existe un équilibre entre les espèces oxydantes toxiques et les systèmes antioxydants de protection. Mais cet équilibre reste fragile et il arrive que les systèmes antioxydants soit dépassés et que la balance penche plus du côté pro-oxydant. C'est à ce moment-là que les effets toxiques des radicaux libres apparaissent.

Dans cette partie nous développerons les avancées montrant l'importance du stress oxydant dans les mécanismes du processus neurodégénératif et de la mort neuronale. Les pathologies majeures sont : la maladie d'Alzheimer (MA), la maladie de Parkinson (MP) et la sclérose latérale amyotrophique (SLA). Le stress oxydant est intimement lié à plusieurs composantes du processus neurodégénératif comme : le dysfonctionnement mitochondrial, la toxicité de l'oxyde nitrique, l'inflammation... En *post mortem*, des marqueurs de la neurodégénérescence tels que l'oxydation et la nitration de protéines, de l'ADN et des lipides ont pu être observés. Mais il n'est pas possible, à partir de cette analyse *post mortem* de déterminer si le stress oxydant est la cause ou s'il est une conséquence terminale de la neurodégénérescence. A ce jour, des études basées sur des modèles expérimentaux pertinents mettent en évidence le fait que la formation des espèces oxydantes ne serait pas simplement due à un dysfonctionnement du métabolisme aérobie mais également plutôt à des processus actifs des défenses immunes non spécifiques du cerveau. Il semblerait que ces processus soient activés de façon inappropriée pour causer la mort neuronale.

Comme on l'a vu au niveau des origines exogènes des ERO, le stress oxydant paraît être le lien logique entre les facteurs environnementaux tels que les pesticides, herbicides et métaux lourds dans les maladies de Parkinson, d'Alzheimer et la SLA.

2.1- Sources des oxydants dans le cerveau

La forte utilisation de l'oxygène par les cellules du cerveau et sa richesse en acides gras polyinsaturés fortement peroxydables, en font un organe très vulnérable au stress oxydant. Ce mécanisme peut, entre autre, induire apoptose et/ou nécrose au niveau des neurones. Le rôle des oxydants peut aussi être plus subtil en compromettant l'intégrité de la barrière hémato-encéphalique. De plus, il est important de savoir que les oxydants sont produits par toutes les cellules du cerveau. Pour exemple, on retrouve la NAD(P)H oxydase (enzyme endogène à l'origine de la formation d'anions superoxydes) non seulement dans les microglies mais aussi dans les astrocytes et les neurones. Cependant, à des concentrations physiologiques ni les radicaux superoxydes, ni le peroxyde d'hydrogène ne sont toxiques pour les cellules du cerveau.

2.2- Le stress oxydant dans les pathologies neurodégénératives.

2.2-1. Marqueurs biologiques du stress oxydant dans les pathologies neurodégénératives.

Depuis qu'on connaît et qu'on comprend mieux la nature chimique des espèces oxydatives qui attaquent les biomolécules, les scientifiques ont pu identifier de nouveaux marqueurs permettant d'étudier le cerveau *post mortem* et de mettre en évidence un dommage oxydant. On les retrouve dans les mêmes régions du cerveau que celles affectées par certaines pathologies neurodégénératives. Ce sont par exemple : les nitrotyrosines des protéines, les dérivés carbonylés des protéines, les produits d'oxydation des acides gras ou encore les bases oxydées de l'ADN (Hensley et al., 1998 ; Giasson et al., 2000 ; Beal et al., 1997). La question à se poser maintenant est : Est-ce-que ces marqueurs sont la cause de la pathologie neurodégénérative ou bien sont-ils une conséquence de cette pathologie ? Cependant, un lien direct entre les marqueurs et la pathologie est encore difficile à démontrer.

2.2-2. Agrégation protéique, inflammation et production d'ERO dans les maladies neurodégénératives.

Les maladies neurodégénératives sont associées à une agrégation protéique et à une activation des cellules microgliales comme on a pu le voir dans la partie 1. C'est principalement l'accumulation de plaques constituées de peptides amyloïdes dans la MA, l'alpha-synucléine dans la MP, de protéines huntingtines dans la maladie de Huntington et la superoxyde dismutase à cuivre et à zinc mutée dans la SLA, qui contribuent à l'activation des cellules microgliales. Cette activation microgiale entraîne les étapes d'initiation et de propagation de l'inflammation par le biais de la libération de cytokines proinflammatoires, de prostaglandines et de radicaux libres oxygénés. Ce processus producteur d'ERO conduit ensuite directement ou indirectement à la mort des neurones avoisinants par apoptose et/ou par nécrose (Ceballos-Picot, 1997 et Liu *et al.*, 2002). On peut donc dire qu'un haut niveau de stress oxydant cause la nécrose directement, alors qu'un faible niveau va induire la mort neuronale mais par un mécanisme indirect.

3. LES DEFENSES ANTIOXYDANTES.

Il y a des milliards d'années, alors que l'atmosphère de la terre était très pauvre en oxygène, l'association de rayonnements solaires et d'eau provoquait déjà des espèces réactives oxygénées. Ce phénomène imposa sans doute aux organismes primitifs des mécanismes de détoxification (Barouki, 2006). Le développement de systèmes anti-oxydants physiologiques très efficaces contre la production des radicaux libres dérivés de l'oxygène, permit alors une protection totale du milieu cellulaire au cours des réactions d'oxydoréduction.

Selon Halliwell et Gutteridge en 1990, le terme antioxydant désigne « toutes substances qui, présentes à faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable, retardent ou inhibent significativement l'oxydation de ce substrat ». Il est donc habituel de dire qu'un bon antioxydant est un bon « capteur » de radicaux libres. Dans cette catégorie les systèmes de défense enzymatiques sont reconnus comme étant les plus performants (Delattre *et al.*, 2005).

3.1- Systèmes enzymatiques anti-oxydants.

Trois types d'enzymes antioxydantes ont pour but la destruction des espèces réactives de l'oxygène. : les superoxyde dismutases (SOD), la catalase et les glutathion-peroxydases (GPx).

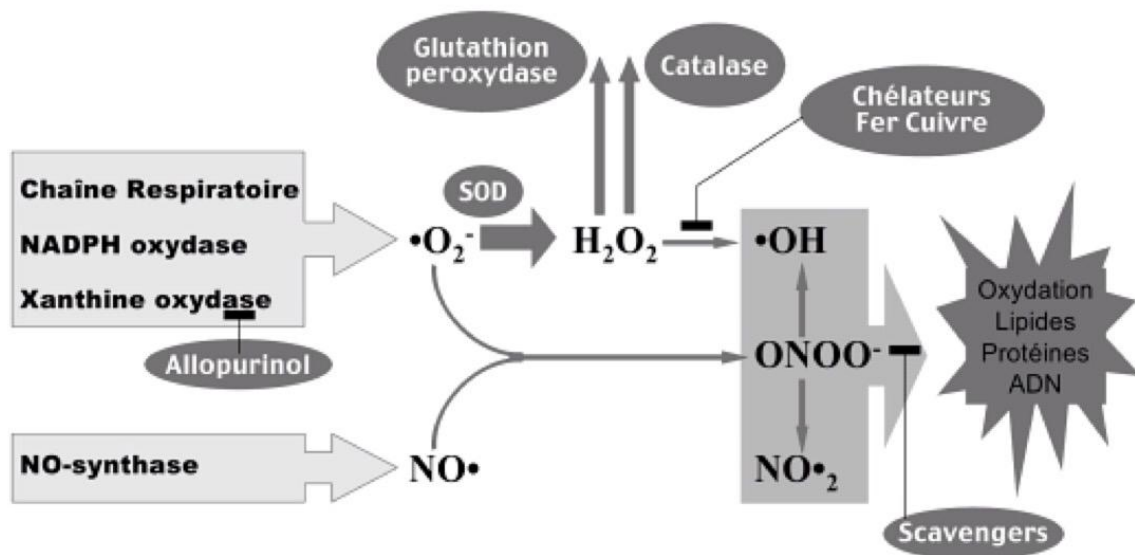
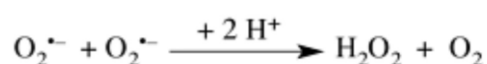


Figure 22: Action des antioxydants au cours du métabolisme des dérivés réactifs de l'oxygène (Boubekri, 2014).

3.1-1. Les superoxyde dismutases (SOD)

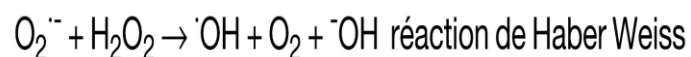
Comme on l'a vu plus haut, la réduction monoélectrique d'un électron avec une molécule d'oxygène entraîne la formation d'un radical superoxyde lors du métabolisme normal de la cellule et de celui de xénobiotiques comme les médicaments ou les toxiques. Les radiations ionisantes peuvent aussi conduire à sa formation (Delattre *et al.*, 2005). Les radicaux superoxyde $O_2^{\cdot-}$, espèces potentiellement toxiques, sont régulés par des enzymes qui catalysent leur dismutation : les superoxyde dismutases.



Les SOD, découvertes en 1969 par Fridovitch, sont des métalloenzymes ubiquitaires chez les eucaryotes. Il en existe trois isoenzymes qui diffèrent selon la localisation chromosomique du gène, leur contenu métallique, leur structure quaternaire et leur localisation cellulaire :

- SOD1, superoxyde dismutase à cuivre et à zinc : Le site actif de cet enzyme contient du cuivre et du zinc, ce qui lui confère une couleur bleu-vert. Les ions cuivre (Cu^{2+}) sont nécessaires à son activité catalytique alors que les ions zinc (Zn^{2+}) stabilisent la molécule. Sa localisation est cytoplasmique.
- SOD2, superoxyde dismutase à manganèse : le site actif contient du magnésium, ce qui lui confère une couleur rose. C'est la première SOD à avoir été isolée. A la différence de la SOD1, la SOD2 est retrouvée dans les mitochondries (surtout au niveau de la membrane interne). De plus, elle est fortement exprimée dans le coeur, le cerveau, le foie et les reins, mais pas dans les érythrocytes qui, ne possédant pas de mitochondries, n'ont pas d'activité SOD2.
- SOD3, superoxyde dismutase à cuivre et à zinc extracellulaire : On la retrouve surtout au niveau de la matrice extracellulaire des tissus et à degré moindre dans les liquides extracellulaires comme le plasma, la lymphe, ou le liquide synovial. A l'heure actuelle, les données structurales concernant la SOD3 restent partielles à cause des difficultés rencontrées dans sa purification.

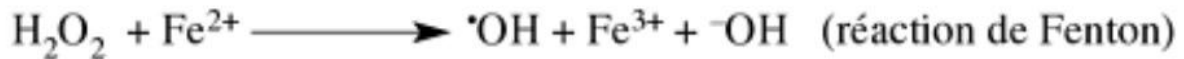
Ces enzymes à activité anti-oxydante, présentent chez pratiquement tous les organismes vivants, protègent les érythrocytes, les cellules hépatiques, les cellules de la peau et les cellules du cerveau chez l'Homme, des effets toxiques des radicaux libres et de la peroxydation lipidique. Les SOD sont en première ligne pour éliminer les ERO comme le radical superoxyde $\text{O}_2^{\cdot-}$ et constituent un système de défense essentiel à la survie des organismes vivants en milieu aérobie. Parmi tous les radicaux libres du stress oxydant et contrairement au radical hydroxyle, le radical superoxyde est celui qui a la réactivité la plus faible par rapport aux substrats bio-organiques (acides nucléiques, protéines, lipides et leurs constituants). Même si les valeurs de son potentiel d'oxydoréduction sont élevées, ses constantes de vitesse sont très faibles, ce qui n'en fait ni un bon oxydant ni un bon réducteur. Plusieurs hypothèses concernant la toxicité indirecte de ce radical ont été émises faisant appel à la génération d'espèces secondaires qui elles, sont plus toxiques et dommageables que les radicaux initiateurs $\text{O}_2^{\cdot-}$. En effet en réagissant avec l'eau oxygénée, les radicaux superoxydes peuvent engendrer des radicaux hydroxyles par la réaction dite de Haber-Weiss (en présence de Fe^{3+}) :



Les radicaux superoxyde peuvent aussi réagir avec les radicaux $\cdot\text{NO}$ pour former les peroxy-nitrites que l'on a vu un peu plus haut.

3.1-2. La catalase et les glutathion-peroxydases

Le peroxyde d'hydrogène (ou eau oxygénée, ou H₂O₂) n'est pas un radical libre mais plutôt une molécule. Il peut être produit après action de la superoxyde dismutase mais aussi lors de la réduction biélectrique de la molécule d'oxygène en présence d'oxydases. C'est un intermédiaire relativement toxique *via* des réactions de type « réaction de Fenton ». De plus, un excès d'eau oxygénée présente un danger notamment par exemple dans les infections rhumatologiques et dans les dégénérescences maculaires (rétine).



La réaction de Fenton se produit en présence de cations métalliques tels que le Fe²⁺, le Cu²⁺... (Wardman et Candeias, 1996). Le peroxyde d'hydrogène donne alors naissance à deux espèces chimiques distinctes. L'une, OH⁻ possède tous ses électrons périphériques appariés et l'autre, le radical hydroxyle ·OH est de toute évidence une des espèces radicalaires les plus délétères du stress oxydant vis-à-vis de très nombreux substrats bio-organiques. Ce radical hydroxyle est un oxydant puissant car son potentiel standard d'oxydoréduction est très élevé mais aussi car ses constantes de vitesse sont très importantes. Il peut oxyder un substrat selon trois modes d'action différents :

- Arrachement d'un électron



- Arrachement d'un atome d'hydrogène sur un substrat organique RH



- Addition sur une double liaison



Par exemple, dans le cas de l'ADN, le radical hydroxyle réagit avec les bases en s'additionnant sur les doubles liaisons. Il peut aussi agir avec les acides gras polyinsaturés des phospholipides membranaires et des lipoprotéines, initiant ainsi des chaînes de peroxydation lipidique. Et pour finir, les AA des protéines sont aussi très sensibles à cette attaque. Alors, afin d'éviter la formation de ce dernier radical très toxique et donc de réguler la concentration de peroxyde d'hydrogène pour éviter la réaction de Fenton, deux enzymes entrent en jeu :

- La catalase :



La catalase, enzyme héminique située dans les peroxysomes de nombreux tissus (organites cellulaires bordés d'une seule membrane et équipés d'enzymes effectuant des réactions d'oxydation utilisant l'oxygène moléculaire) et dans les érythrocytes, accélère la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire. La dismutation étant la réaction d'une molécule (ou d'un radical) sur elle-même, générant simultanément une espèce plus oxydée et une espèce plus réduite que la molécule de départ. En 1901, Loew lui donna le nom de « catalase » à cause de sa capacité à décomposer le peroxyde d'hydrogène.

- Les glutathion-peroxydases (GPx):



GSH : glutathion réduit ; GSSG : glutathion oxydé.

L'activité des glutathion-peroxydases fut découverte en 1957 par Mills. Les GPx catalysent la dismutation du peroxyde d'hydrogène par le glutathion (tripeptide soufré, GSH), en molécules d'eau. Il existe 5 isoenzymes de la GPx chez les Eucaryotes : la GPx1 cytoplasmique et mitochondriale, la GPx2 gastrointestinale, la GPx4 ou encore appelée PH-GPx que l'on retrouve à l'interface de la membrane interne et du cytoplasme et la GPx5 épидидymaire. Dans ce cas le substrat est le glutathion mais d'autres peroxydases existent utilisant le cytochrome c (cytochrome c peroxydases) ou utilisant le NADH (NADH peroxydases).

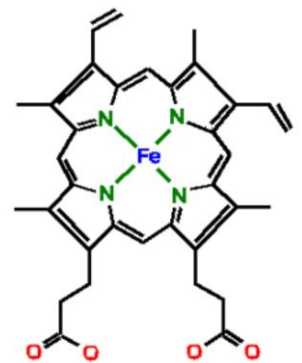
Une coopération étroite existe entre ces différentes enzymes antioxydantes. En effet l'activité SOD qui dismute l'ion superoxyde conduit à la formation de peroxyde d'hydrogène qui est lui même un composé oxydant. La catalase et les peroxydases devront alors compléter son action pour éviter l'accumulation de ce peroxyde d'hydrogène. Cependant selon les tissus, les activités de ces systèmes enzymatiques ne sont pas identiques. Et en plus de ces systèmes enzymatiques, il existe des défenses anti-oxydantes non enzymatiques.

3.1-3. Le système thiorédoxine (les thiorédoxines et la thiorédoxine réductase)

Les thiorédoxines (TRx) sont des enzymes à activité antioxydante intrinsèque (comme toutes les protéines à groupement thiol -SH). Cette protéine est constituée de 105 acides aminés pour 12 000 Daltons. Sa forme oxydée est réduite par la thiorédoxine réductase (TRxR) et le tout constitue le système thiorédoxine. Il permet la protection des protéines à groupements thiols libres dans le milieu intra-cellulaire qui est plutôt réducteur (alors que le milieu extracellulaire est plutôt oxydant) contre la formation des ponts disulfures, régule l'activité des récepteurs de fixation à l'ADN, et prévient l'apoptose.

3.1-4. Le système de l'hème oxygénase (HO).

L'hème est une porphyrine (molécule à structure cyclique impliquée dans le transport de l'oxygène lorsqu'elle possède un atome de fer) constituée de quatre noyaux pyrrole, chacun composé d'un atome d'azote et de quatre atomes de carbone. Elle est impliquée dans les processus de transport, de liaison et de métabolisation de l'oxygène. Sa biosynthèse a lieu dans les cellules érythrocytaires et dans le foie.



Lors d'hémolyse importante au cours de pathologies (le paludisme, la drépanocytose...), les capacités d'élimination de l'hème se trouvent dépassées, ce qui entraîne des effets toxiques comme des réactions d'oxydations entraînant d'importants désordres vasculaires dus à la formation d'ERO.

Il paraît donc important de contrôler la biosynthèse et le catabolisme de l'hème afin de maintenir un équilibre.

Le système de l'hème oxygénase (oxydo-réductase), identifié en 1968 (Choi et Alam, 1996), est à ce jour, le seul mécanisme connu capable de dégrader l'hème. Il est constitué de 3 isoenzymes :

- la forme de l'HO-1, inductible, est l'isoforme réduite en réponse à divers stress (hypoxie, cytokines...),
- la forme de l'HO-2, est l'isoforme constitutive exprimé dans des conditions normales d'homéostasie,
- et la forme de l'HO-3, qui est sans activité catalytique propre.

L'hème oxydase dégrade l'hème suivant cette réaction :



Cet ensemble libère 3 dérivés actifs principaux : le fer, le CO et la biliverdine-bilirubine.

L'effet protecteur de l'HO contre les stress oxydant est indirect puisqu'il est relié au fait que la biliverdine se transforme en bilirubine à action anti-oxydante et que le fer produit stimule la synthèse de la ferritine, qui est aussi impliqué dans la réponse anti-oxydante (Milane, 2004).

De plus, les propriétés anti-oxydantes de l'HO-1 dépendent de l'équilibre entre la quantité d'hème libre et l'activité de l'enzyme. Si la concentration en hème libre est inférieure à 1 μM , il y aura induction de la production d'hème oxygénase, par contre si la concentration en hème libre est très élevée il y aura libération de quantités importantes de Fe^{2+} par l'hème oxygénase, ce qui peut être potentiellement délétaire si les capacités de stockage de la ferritine sont dépassées (Saïd, Tamion, Leplingard *et al.*, 2007).

3.2- Systèmes non-enzymatiques anti-oxydants

3.2-1. Anti-oxydants endogènes

Les principaux systèmes non-enzymatiques, dans l'organisme humain, sont : le glutathion, la bilirubine, les hormones sexuelles, l'acide urique, le coenzyme Q, la mélanine, la mélatonine et l'acide lipoïque.

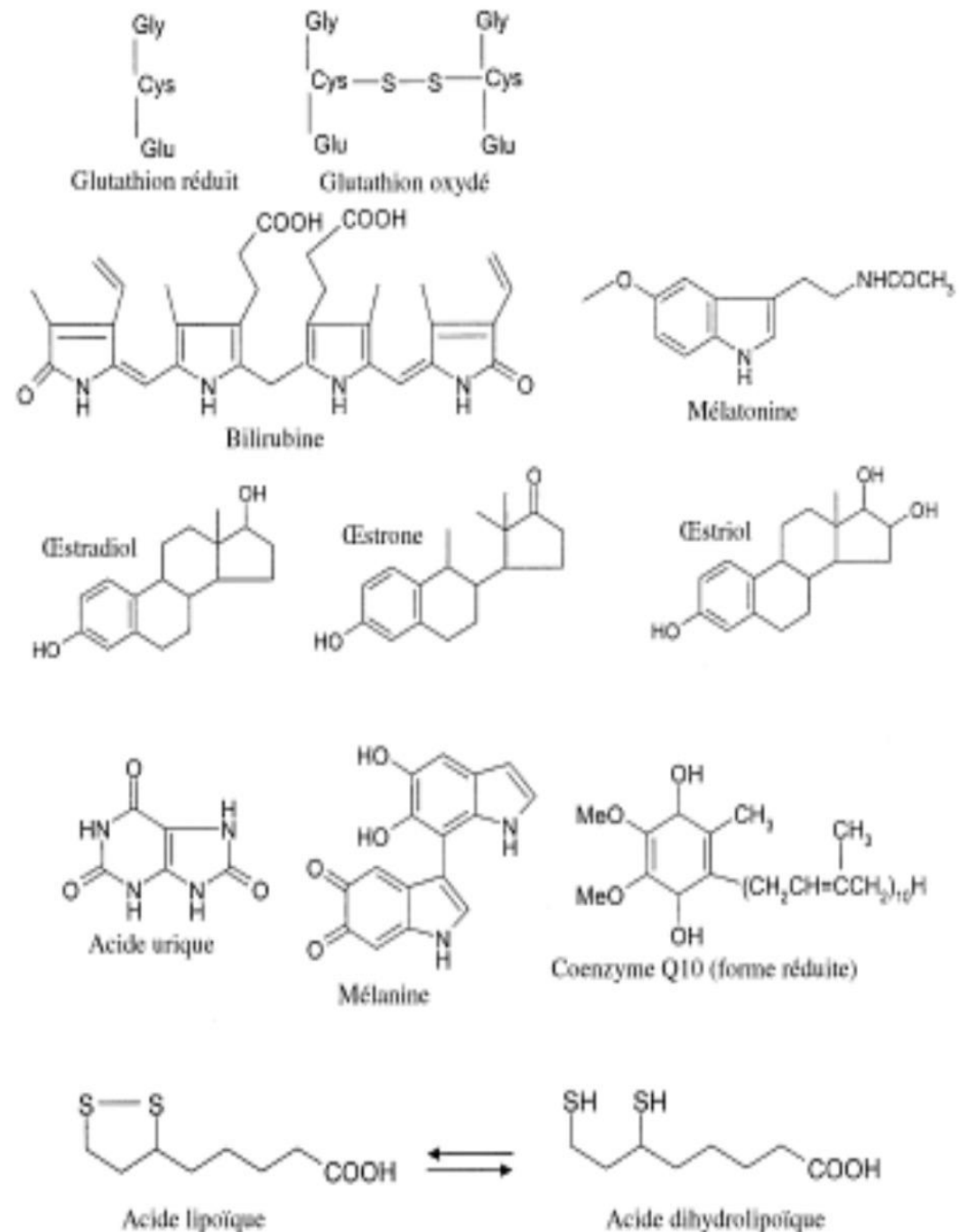
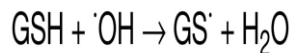


Figure 23: Principaux antioxydants non enzymatiques endogènes.

- **Le glutathion** : Selon Barhoumi *et al.*, en 1993, le glutathion est un tripeptide (acide glutamique-cystéine-glycine) impliqué dans la prévention de l'oxydation des groupements thiols et dans le maintien des communications intercellulaires. Le glutathion est un thiol synthétisé *in vivo*. La fonction thiol lui confère un pouvoir antioxydant qu'il exerce vis-à-vis de l'eau oxygénée et des radicaux hydroxyles (Piquet *et al.*, 2007).



Les radicaux thiyles GS \cdot formés sont loin d'être inoffensifs puisque leurs réactions ultérieures peuvent aussi générer de nouveaux radicaux libres pouvant aussi entraîner des dommages moléculaires. L'usage des thiols reste donc très limité.

- **Bilirubine** : La bilirubine est capable de piéger les radicaux peroxydes RO $_2\cdot$ et l'oxygène singulet (Stocker *et al.*, 1987).

- **Hormones sexuelles (oestrogènes)** : L'oestradiol, l'oestrone et l'oestriol peuvent inhiber la peroxydation lipidique des LDL *in vitro* à des concentrations micromolaires (Keaney *et al.*, 1994).

- **Mélanines** : Les mélanines sont des pigments formés par oxydation et polymérisation de la tyrosine. Les produits terminaux contiennent de fortes concentrations d'o-quinone (espèce oxydante) et d'o-hydroquinone (espèce réductrice). Les mélanines noires et marron, que l'on retrouve au niveau de la peau, se comportent comme des piègeurs de radicaux libres, ce qui permet de protéger la peau des rayonnements ultraviolets. En revanche la phéomélanine (pigment jaune ou brun-rouge), présent chez les personnes à peau claire, est un bien plus mauvais piègeur de radicaux libres (Chedekel *et al.*, 1978).

- **Mélatonine** : La mélatonine est une hormone produite par la glande pinéale, par méthylation de la sérotonine, qui régule les rythmes circadiens. Cette hormone est capable de piéger les radicaux $\cdot\text{OH}$, le radical peroxyde, le peroxyde d'hydrogène, l'oxygène singulet, et des espèces réactives dérivées de l'azote (Reiter *et al.*, 2001). Il semblerait que les effets antioxydants soient plus indirects que directs. En effet, les effets directs sont observés *in vitro* à des concentrations bien supérieures à celles présentes *in vivo*. Par contre, d'après Reiter *et al.* en 2000, la mélatonine semble induire la synthèse de défenses antioxydantes chez l'animal, telles que la superoxyde dismutase, la glutathion peroxydase et la glutathion réductase.

- **Acide lipoïque (ou acide thioctique)** : Les deux formes oxydées de l'acide lipoïque sont capables de piéger les radicaux libres $\cdot\text{OH}$, RO $_2\cdot$, l'acide hypochloreux HOCl et l'oxygène singulet (Packer *et al.*, 2001). Il a aussi la capacité de se lier aux ions du fer et du cuivre pour donner des formes faiblement réactives sur le plan catalytique.

- **Acide urique (Ames *et al.*, 1993) et coenzyme Q**

3.2-2. Anti-oxydants exogènes apportés par l'alimentation.

Hippocrate disait déjà il y a 2400 ans : « Laisse ta nourriture être ton remède et ton remède ta nourriture ». A partir d'études (Allouchery, 2006), les chercheurs ont pu révéler qu'une alimentation riche en fruits, légumes et produits dérivés peut agir en complément de nos défenses naturelles. En effet, la consommation de produits végétaux apporte un nombre important et varié de substances inhibitrices de l'activité néfaste des oxygènes actifs (Prior, 2003). Parmi ces substances on trouve principalement les vitamines C et E, les caroténoïdes et les polyphénols.

L'ascorbate (ou vitamine C) est un très bon capteur de radicaux libres. En effet, il peut agir non seulement avec les radicaux hydroxyles mais aussi avec les radicaux superoxydes, ce qui n'est pas négligeable puisque ces derniers sont connus comme étant très peu réactifs. Dans l'alimentation, on le retrouve dans les fruits, surtout les agrumes et les fruits exotiques, dans les fruits rouges, les légumes et surtout dans la famille des choux et des légumes à feuilles (Fain, 2004).

En France, les apports conseillés pour un adulte sont de 110 mg/jour, avec des apports supplémentaires chez les fumeurs (20 à 40 mg/jour en plus ; Delattre *et al.*, 2005). La plupart des plantes et des animaux peuvent synthétiser l'acide ascorbique sauf les singes et les humains en raison du manque de l'enzyme gulonolactone oxydase (Naidu, 2003).

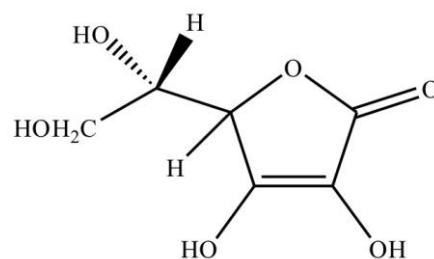


Figure 24: Acide ascorbique

La **vitamine E** est le terme désignant la famille des tocophérols. Cette famille est constituée de quatre composés liposolubles, parmi lesquels l' α -tocophérol est la substance la plus active biologiquement (Frigelius-Flohe *et al.*, 1999 ; Wang et Quinn, 2006). Elle est capable de capter l'oxygène singulet et les radicaux hydroxyles, mais son rôle principal est de capter les radicaux peroxydes lipidiques RO_2 , qui propagent les chaînes de peroxydation, pour donner un radical tocophéryle. Par ailleurs, il est important de préciser que la vitamine E agit en synergie avec les autres systèmes de défenses antioxydantes comme la vitamine C ou le glutathion. Les principales sources de vitamine E sont les huiles végétales, les graines

oléagineuses, les crustacés, et certains légumes comme les brocolis, les épinards et l'avocat, et les besoins d'un adulte sont d'environ 12mg/jour.

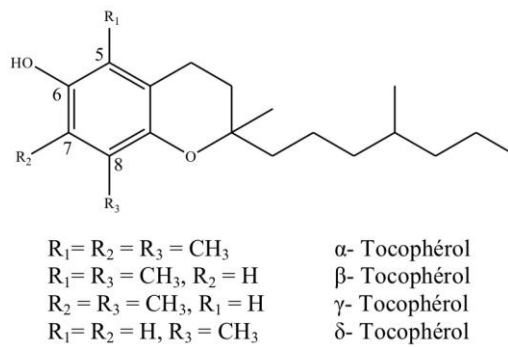


Figure 25 : Structure des tocophérols

Les **caroténoïdes**, quant à eux, constituent une grande famille de pigments fabriqués par les végétaux. Les plus importants sont le β -carotène (précurseur du rétinol ou vitamine A), l' α -carotène, la lutéine, la zéaxanthine et le lycopène (le plus efficace) (Boubekri, 2014). Ils ont un rôle efficace puisqu'ils sont capables de capter l'oxygène singulet permettant alors une protection contre les rayons ultra-violet de la lumière solaire connus pour entraîner des dommages. Ce sont de très puissants anti-radicalaires. Les carotènes sont retrouvés dans les carottes, la lutéine dans les épinards et les haricots verts, la zéaxanthine dans le maïs et le lycopène dans les tomates et le melon. En France, les apports nutritionnels recommandés en bêta-carotène sont de 1,5 à 2,5 mg/jour (Delattre *et al.*, 2005), pour un adulte, en sachant que les variations individuelles sont très importantes.

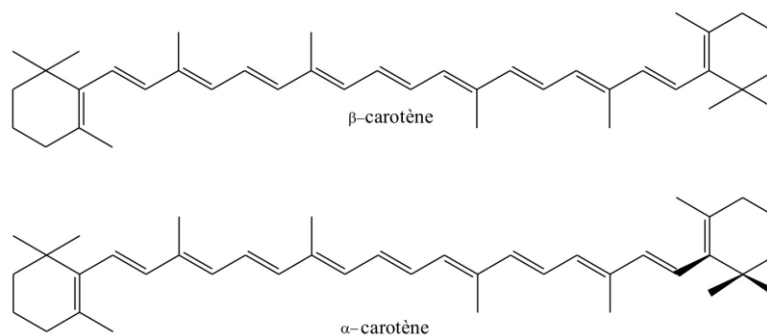


Figure 26: Deux exemples de structures des caroténoïdes.

De plus, les végétaux sont riches en **polyphénols** ou en structures polyphénoliques. La teneur en structures phénoliques reste fonction de plusieurs paramètres comme l'ensoleillement, l'altitude, le terrain... et varie largement d'une structure à l'autre. Leur activité antioxydante est plus élevée que celle de la vitamine E et comme nous allons le voir dans la partie suivante les polyphénols sont présents dans les épices comme la cannelle, dans les plantes aromatiques comme le thym ou le romarin, dans les boissons comme le thé, la bière, le vin ou encore dans le chocolat.

Généralement les caroténoïdes et les polyphénols sont de bons capteurs de radicaux libres, mais il apparaît qu'ils sont moins efficaces pour inhiber les chaînes de lipoperoxydation (ou peroxydation lipidique) que la vitamine E.

De plus, les cofacteurs importants des enzymes antioxydants peuvent aussi être apportés par l'alimentation. Par exemple on peut retrouver le cuivre dans les champignons, l'ail, les artichauts, les bananes, les citrons, les poires..., le manganèse dans les betteraves, les petits pois et les légumes secs, le soufre dans les asperges, l'ail, l'oignon, l'échalote, la ciboulette..., le magnésium dans le chocolat, les bananes, les framboises, les épinards..., le zinc dans les huitres ou dans le foie de veau cuit, et le sélénium dans les aliments riches en protéines animales (viandes, oeufs, poissons, lait), dans les céréales et certains fruits secs.

L'ensemble de ces propriétés pourraient donc expliquer en partie les bénéfices apportés par les régimes alimentaires basés sur une consommation de fruits, de légumes, de thé et de vin rouge (en quantité modérée bien sûr).

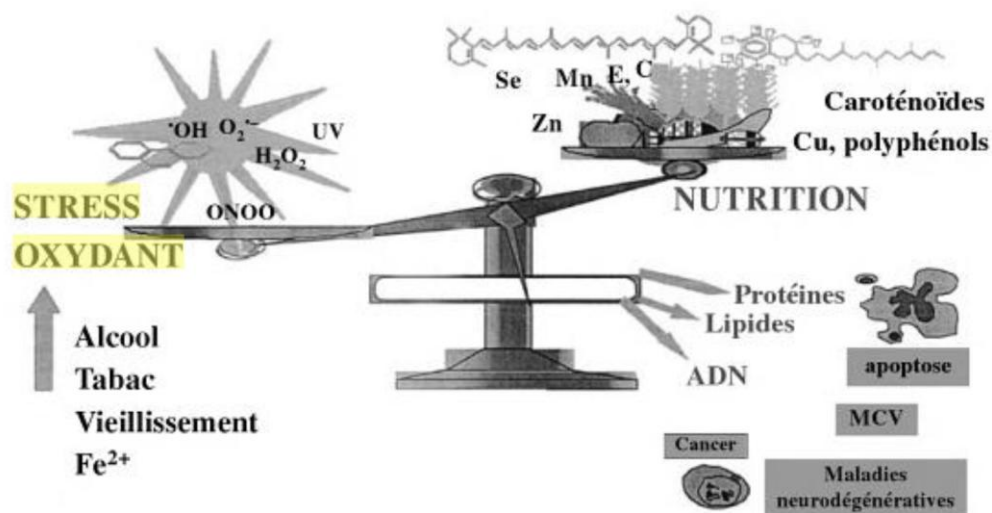


Figure 27 : Stress oxydant et nutrition (MCV = maladies cardiovasculaires ; Delattre et al., 2005)

Cependant, même dans les sociétés industrialisées, une grande partie de la population, quantité non négligeable, reçoit des apports inférieurs aux besoins ou présente des signes de déficits en plusieurs antioxydants d'origine alimentaire. Ce déficit peut être dû à un régime pauvre en fruits, légumes, thé et vin rouge mais aussi à un appauvrissement de la teneur des aliments en antioxydants (en relation avec des transformations technologiques).

Dans la population générale, quelque soit le pays, des groupes à risque de stress oxydant élevé ont été identifiés depuis déjà plusieurs années. Il s'agit : des femmes ménopausées, des personnes âgées, des obèses et des fumeurs. Ces personnes présentent des défenses antioxydantes diminuées ou bien une production de radicaux libres augmentée. Chez les personnes âgées, le vieillissement provoque une augmentation de la production d'ERO par les mitochondries. De plus, alors que les besoins en antioxydants augmentent, les personnes âgées présentent des apports diminués en antioxydants (folates, vitamine C, sélénium et zinc) ainsi qu'une baisse de l'absorption intestinale du zinc et du β -carotène. Il en est de même chez le sujet obèse qui est à haut risque de stress oxydant. Il cumule à la fois une hyperproduction d'ERO et des défenses antioxydantes abaissées. En 2002, Olusi *et al.* ont observé le phénomène de stress oxydant chez les personnes obèses. Ils ont découvert que l'obésité androïde (chez l'Homme) entraîne une baisse d'activité plasmatique et érythrocytaire des enzymes antioxydantes Cu-Zn SOD et Se GPx et que plus l'Indice de Masse Corporelle (IMC) est élevé, plus ce dysfonctionnement est important. Autant chez les enfants que chez les adultes obèses les taux d' α -tocophérol, de vitamine C et de caroténoïdes plasmatiques sont bas (Myara *et al.*, 2003). Les femmes ménopausées, elles, présentent des altérations du statut en micronutriments antioxydants tels que des déficits d'apport et de statut en cuivre, sélénium et en zinc. Et pour finir, concernant le tabagisme, il entraîne aussi une augmentation de production de radicaux libres.

Partie 3 :
Les Polyphénols et en
particulier ceux
présents dans le vin
rouge.

Généralités.

Les polyphénols végétaux, anciennement appelés « tanins végétaux », représentent un groupe de métabolites secondaires complexes, exclusivement synthétisés dans le règne végétal (plus de 8000 molécules). Ils sont définis comme des « composés phénoliques hydrosolubles, de poids moléculaire compris entre 200 et plus de 30000 Daltons, et ayant, outre les propriétés habituelles des phénols, la capacité de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et autres protéines» (www.ifr.ac.uk). On les trouve dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits. Ils ne sont pas strictement indispensables à la vie de la plante mais les polyphénols ont un rôle primordial dans les interactions du végétal avec son environnement, ce qui permet la survie de l'organisme dans son écosystème. Ils peuvent avoir un faible poids moléculaire de 500 Da pour les acides phénols jusqu'à un très haut poids moléculaire de plus de 30 000 Da pour les tanins par exemple. De plus, leurs structures chimiques sont très diversifiées.

S'ils ont d'abord été étudiés chez les plantes pour leurs effets protecteurs contre les agents pathogènes ou le rayonnement UV, aujourd'hui on leur connaît, en plus, des propriétés antioxydantes et des effets présumés bénéfiques pour la santé humaine. Tous les polyphénols sont capables de piéger les radicaux libres générés en permanence par notre organisme ou formés en réponse à des agressions de notre environnement et préviennent ainsi des diverses maladies chroniques associées, telles que cancers, maladies cardiovasculaires ou ostéoporose. Ils sont aussi décrits comme pouvant avoir la capacité de limiter ou même d'inverser, les détériorations de la mémoire et de la cognition liées à l'âge, mais aussi de retarder la progression de la démence. Cependant, aujourd'hui, il n'y a pas suffisamment de données qui associent clairement la consommation de polyphénols à l'amélioration de la santé neurologique, mais beaucoup d'études sont en cours.

L'attribution d'effets bénéfiques pour la santé à la consommation de vin remonte à la plus haute Antiquité. Mais simultanément le vin a ses détracteurs, conséquence d'une consommation excessive avec les effets néfastes bien connus liés à la présence de l'alcool. C'est ainsi qu'Hippocrate recommandait le vin à ses patients. Mais Pythagore le condamnait. Cette dualité s'est poursuivie au cours du temps.

On pourrait penser qu'une augmentation des apports en polyphénols pourrait être une solution mais un apport excessif entraîne de fâcheuses conséquences pour la santé (statut en fer, effets pro-oxydants, effets goïtrogènes ...). Il est donc nécessaire de mesurer précisément les niveaux d'apports les plus favorables au maintien d'une bonne santé. Plusieurs centaines de molécules ont été identifiées dans les aliments : nous pouvons citer par exemple les anthocyanes responsables de la couleur des fruits rouges, les tannins responsables de l'astringence des divers fruits, les flavanones responsables de l'amertume des agrumes...

1- LES DIFFERENTES FAMILLES DE POLYPHENOLS

Tous les polyphénols sont caractérisés par la présence d'au moins un noyau benzénique portant plusieurs groupements hydroxyles, modifiés ou non. La classification est donc basée sur la structure, le nombre de noyaux aromatiques et les éléments structuraux qui lient ces noyaux.

Ils peuvent être classés en 4 catégories (selon Collin et Cruzet, 2011):

- Les **flavonoïdes** (flavonols, flavanoïdes, chalcones et dihydrochalcones, anthocyanidines et tannins condensés)
- Les **acides phénoliques** de type benzoïque ou cinnamique, les coumarines et les tannins hydrolysables (gallotanins et les ellagitannins)
- Les **stilbènes**
- Les **lignines et subérines**

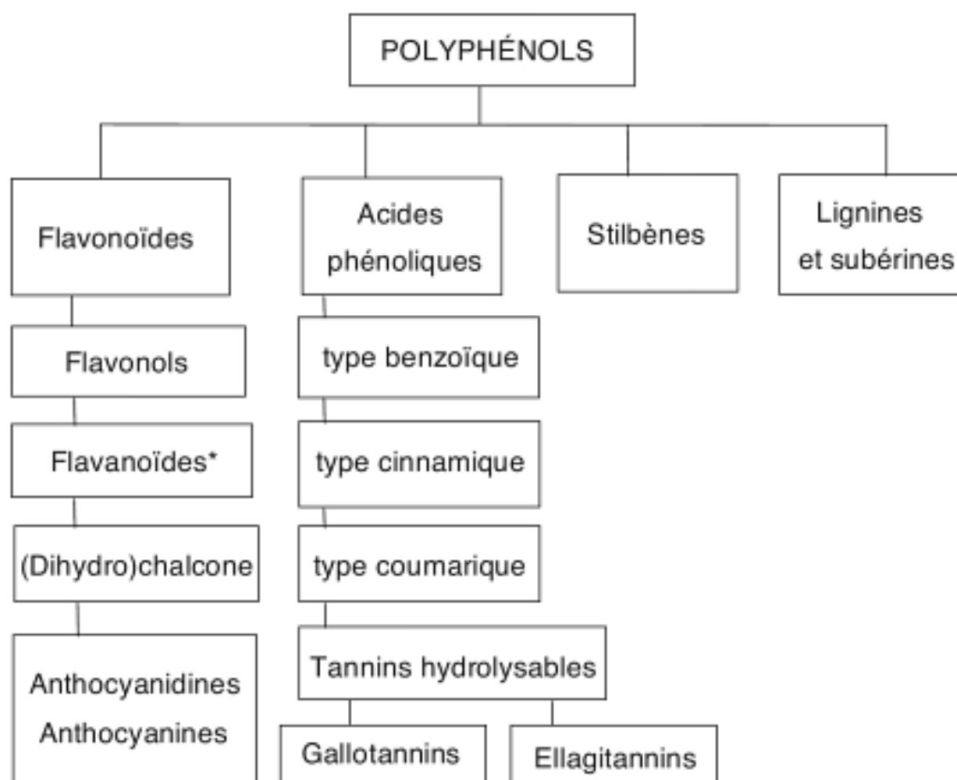


Figure 28: Différentes familles de polyphénols (Collin et Cruzet, 2011).

1.1- Les Flavonoïdes (C6-C3-C6)

Les flavonoïdes sont les composés les plus abondants parmi tous les composés phénoliques (plus de 4000 molécules différentes) et constituent un groupe de substances polyphénoliques de faible poids moléculaire (Aherne et O'Brien, 2002). Ils sont les pigments, quasiment universels, des végétaux qui sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Ils interviennent aussi dans les processus de défense contre le rayonnement UV, les herbivores et les attaques microbiennes.

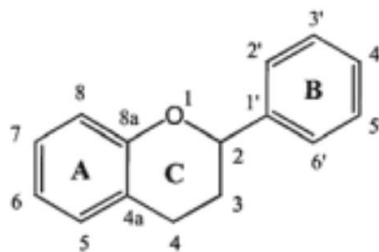


Figure 29: Structure de base des flavonoïdes

Le squelette de tous les flavonoïdes (*flavus* = jaune) est formé de 15 atomes de carbone (C6-C3-C6) car leur origine biosynthétique est commune.

Le cycle A (cycle aromatique fusionné) peut être méta-dihydroxylé pour le type résorcinol ou, métra-trihydroxylé, on parle alors de phloroglucinol. Le cycle B (phényl substitué) peut être de mono- à tri-hydroxylé et, suivant la substitution, l'oxydation et la saturation du cycle C (hétérocycle), les flavonoïdes peuvent être classés en 7 groupes : flavanones, flavones, flavonols, isoflavanones, anthocyanes, flavan-3-ols, et tannins condensés.

Selon le degré d'oxydation de l'hétérocycle C et la présence ou non de groupement hydroxyle sur ce cycle, les flavonoïdes comprennent plusieurs sous-groupes.

Sous-groupe	Structure	Molécules représentatives
Anthocyanidines R=H Anthocyanosides R=D-glucose		R1 = OH ; R2 = H : cyanidine R1 = OCH3 ; R2 = H : péonidine R1 = R2 = OCH3 : malvidine R1 = R2 = OH : delphinidine R1 = OCH3 ; R2 = OH : pétunidine
Flavanols		R1 = OH ; R2 = H ; R = H : (+)-catéchine R1 = H ; R2 = OH ; R = H : (-)-épicatéchine R1 = OH ; R2 = H ; R = OH : (+)-gallocatéchine R1 = H ; R2 = OH ; R = OH : (-)-épigallocatéchine
Flavonols		R1 = H ; R2 = OH ; R3 = OH : quercétine R1 = H ; R2 = OH ; R3 = OGlc : quercitrine R1 = OH ; R2 = OH ; R3 = OH : myricétine R1 = H ; R2 = H ; R3 = OH : kaempférol R1 = H ; R2 = OH ; R3 = O-Glc-Rha : rutine

(Glc = D-glucose; Rha = L-rhamnose)

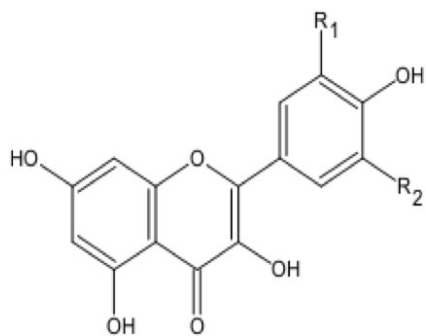
Figure 30 : Classification des principaux flavonoïdes.

Les flavonoïdes sont présents dans une grande variété d'aliments comme les fruits et légumes, les céréales, les jus de fruits, le thé et le vin. Dans le raisin, deux familles de composés sont principalement représentés, les flavan-3-ols et les anthocyanes, auxquels s'ajoutent des flavonols et des flavanonols.

1.1.1 Flavonols

Les flavonols sont des pigments de couleur jaune pâle présents dans les raisins de toutes les variétés (voir tableau en bas). On les retrouve uniquement dans la pellicule de la baie de raisin. Ils sont caractérisés par un hétérocycle oxygéné relativement oxydé (Riviere, 2008). Ils existent principalement sous des formes glycosylées (glucose, xylose, arabinose, galactose, rhamnose).

Parmi eux, on trouve principalement la quercétine et en plus faibles quantités la myricétine, le kaempférol et l'isorhamétine.



Flavonols	R ₁	R ₂
Kaempferol	H	H
Quercétine	OH	H
Myricétine	OH	OH
Isorhamétine	OCH ₃	H
Syringétine	OCH ₃	OCH ₃
Laricitrine	OH	OCH ₃

Figure 31 : Structures aglycones des flavonols du raisin.

Ces composés sont réputés être les antioxydants les plus efficaces de tous les flavonoïdes grâce à des dérivés de syringétine et de laricitrine qui ont récemment été mis en évidence dans les variétés rouges (Mattivi *et al.*, 2006). De plus, on leur octroie des propriétés favorables dans le traitement des maladies du cœur et des cancers (Bohm *et al.*, 1998).

1.1.2- Flavanols ou flavan-3-ol.

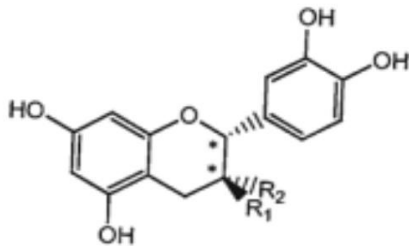
La structure de base est la même que pour tous les flavonoïdes. Les flavanols constituent un terme regroupant les monomères et les tanins, nom commun donné aux oligomères et polymères de flavanols qui, du fait de leur affinité avec les protéines, ont des propriétés « tannantes ». D'après Bate-Smith et Swain en 1862, « les tanins sont des composés hydrosolubles phénoliques capables de précipiter la gélatine, certains alcaloïdes et autres protéines. » Le terme tanin dérive alors de la capacité de tannage de la peau animale en la transformant en cuir par le dit composé.

Les flavanols existent dans le raisin à l'état de monomères (les catéchines) et sous forme plus ou moins polymérisées (proanthocyanidines aussi appelés tanins condensés) (d'Archivio *et al.*, 2007). Ils sont concentrés au niveau de la pellicule, les pépins et les rafles du raisin. Les tanins sont des composés réactifs qui peuvent faire soit des réactions avec eux-mêmes, soit avec les anthocyanes pour former de nombreux dérivés tanins-tanins ou anthocyanes-tanins dans les vins. Ils ont aussi des propriétés physico-chimiques particulières et peuvent former des agrégats et interagir avec les protéines et les polysaccharides. Par ailleurs, les tanins ont un rôle important dans les qualités organoleptiques des vins, notamment dans la sensation d'astringence.

- **Les monomères.**

Au sein des flavan-3-ols, la structure des cathéchines fait apparaître 2 carbones asymétriques. La stéréochimie du carbone C2 est généralement R, mais il existe quelques exceptions.

Les deux principales unités monomériques sont la (+)-catéchine et la (-)-épicatéchine qui diffèrent par la stéréochimie au niveau de leur carbone C3.



Flavan-3-ols	R ₁	R ₂
(+)-catéchine	OH	H
(-)-épicatéchine	H	OH

Figure 32 : Structures chimiques des catéchines, unités monomériques.

Ces monomères vont se condenser pour former des proanthocyanidines de degré de polymérisation supérieur. Ces molécules sont nommées procyanidines et sont constituées uniquement de monomères dihydroxylés en B, et prodelphinidines lorsqu'elles sont trihydroxylées. En milieu chaud et acide, les proanthocyanidines libèrent des anthocyanes (Bate-Smith, 1954).

- **Les dimères (les tanins condensés).**

Les tanins condensés sont des polyphénols de masse molaire élevée. Deux catégories sont possibles :

- Les procyanidines de type B résultent de la condensation, par liaison interflavane, de 2 unités flavan-3-ols, entre le C4 de l'unité supérieure et le C8 ou le C6 du cycle A de l'autre unité.
- Les procyanidines de type A présentent une liaison éther supplémentaire entre le C2 et les hydroxyles 5 et 7 du noyau A.

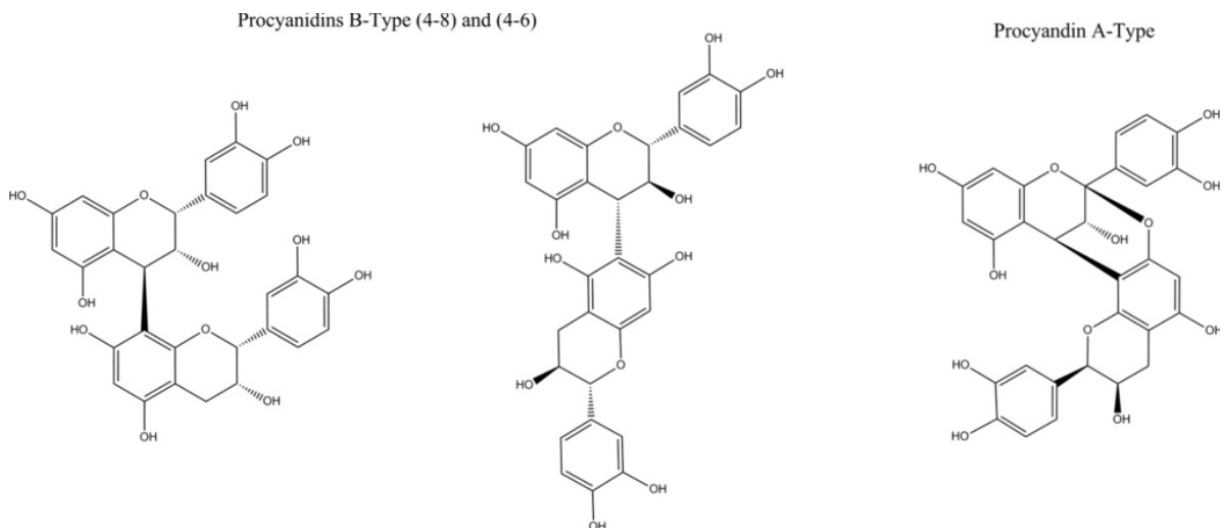
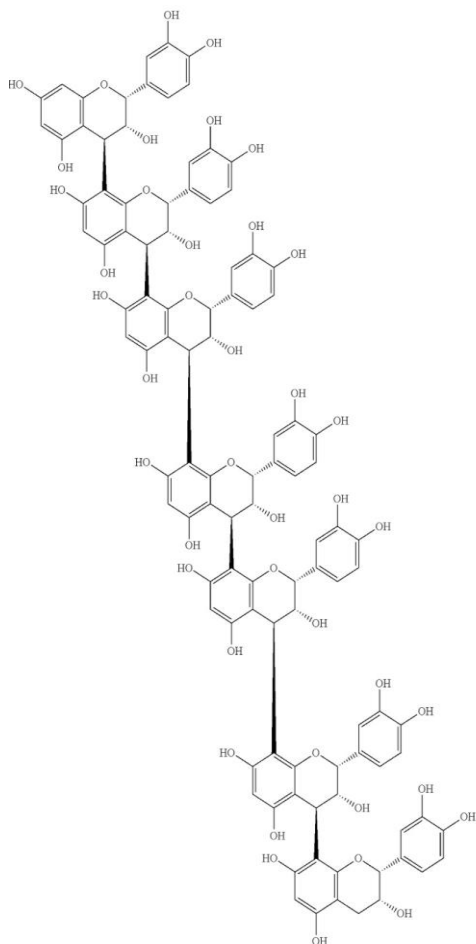


Figure 33 : Structures des procyanidines dimères A et B

- **Les oligomères et polymères.**



Les procyanidines oligomères sont constituées de 3 à 10 unités flavanols reliées entre-elles par des liaisons C4-C6 ou C4-C8. Leurs poids moléculaires sont donc compris entre 900 et 3000 g.mol⁻¹, voire au-delà pour les polymères de plus de 10 unités.

De plus, en raison de leur complexation avec les protéines salivaires, les tanins condensés sont responsables de l'astringence caractéristique des fruits avant maturité (raisin, pêche, pomme, poire...), de certaines boissons (vin, cidre, thé...) et de l'amertume du chocolat.

L'appellation de flavanoïdes simples sera conservée jusque 7 à 8 unités. Pour un plus grand nombre d'unités monomériques, la terminologie tannin sera retenue.

Figure 34 : Structure de procyanidines oligomères par des liaisons C4-C8.

1.1.3- (Phényl)chalcones et dihydrochalcones

Ce sont des structures ouvertes de flavonoïdes ne possédant pas d'hétérocycle C central. Le plus souvent ils sont phénylés sur le noyau A tandis que le noyau B reste peu ou pas substitué. Cette phénylation peut être cyclique du type pyrano ou furano.

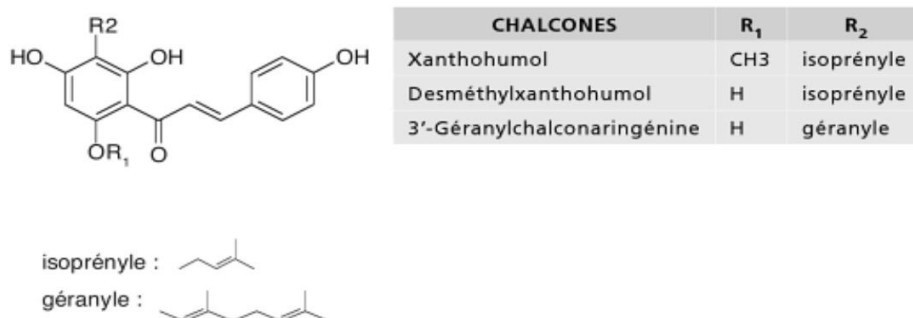


Figure 35: Structures chimiques de quelques prénylchalcones

Les dihydrochalcones sont des molécules ouvertes ne possédant pas la double liaison conjuguée au carbonyle.

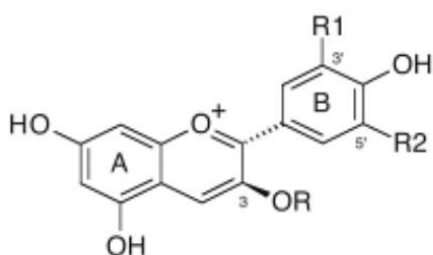


Figure 36 : Structures chimiques de quelques dihydrochalcones

1.1.4- Anthocyanes ou anthocyanidines

« Les anthocyanes » (du grec *Anthos*, fleur et *Kuanos*, bleu violet) est un terme général qui regroupe les anthocyanidols et leurs dérivés glycosylés. Leur structure de base est caractérisée par un noyau « flavonoïde » chargé positivement (C6-C3-C6). Ce dernier portera le nom d'anthocyanidine ou d'anthocyanine suivant qu'il soit glycosylé ou non. L'aglycone appelée anthocyanidine, molécule non glucidique, constitue le groupement chromophore du pigment.

Ils constituent l'un des plus importants groupes de pigments végétaux, responsables de la couleur des fleurs, des fruits et des baies en bleu, rouge, mauve, rose ou orange. Leur présence dans les plantes est donc détectable à l'œil nu. Ce sont des pigments instables qui conduisent à de nombreux pigments stables et responsables de la couleur, notamment celle des vins rouges.



Anthocyanidines R = H, R* = glucose * : forme monoglucoside	R ₁	R ₂
Malvidine	OCH ₃	OCH ₃
Péonidine	OCH ₃	H
Delphinidine	OH	OH
Pétunidine	OCH ₃	OH
Cyanidine	OH	H

Figure 37 : Structures chimiques de quelques anthocyanidines.

Dans le raisin et dans le vin, on distingue cinq anthocyanidines : la malvidine, la péonidine, la delphinidine, la pétunidine et la cyanidine. Ils sont présents essentiellement sous forme glycosylées en position 3 dans les vins. Par exemple, la malvidine-3-O-glucoside est l'anthocyane majeure des vins de Bordeaux à base de Cabernet sauvignon.

Les anthocyanes, principalement présentes dans la pellicule de la baie, diffusent rapidement dans le moût dès le début de la vinification.

1.2 Les acides phénoliques et tanins hydrolysables

1.2.1 Acides hydroxybenzoïques (C6-C1)

Ils sont dérivés de l'acide benzoïque avec une structure de base de type C6-C1 (D'Archivio *et al.*, 2007). Les structures varient suivant les hydroylations et les méthoxylations sur le cycle phénolique aromatique. Ces composés se trouvent aisément dans les végétaux et les aliments comme dans les épices, les fraises, certains fruits rouges et dans l'oignon. Dans ce dernier, les concentrations peuvent atteindre plusieurs dizaines de mg par kg d'oignons frais (Sabiha, 2013). Dans le raisin, le principal représentant est l'acide gallique.

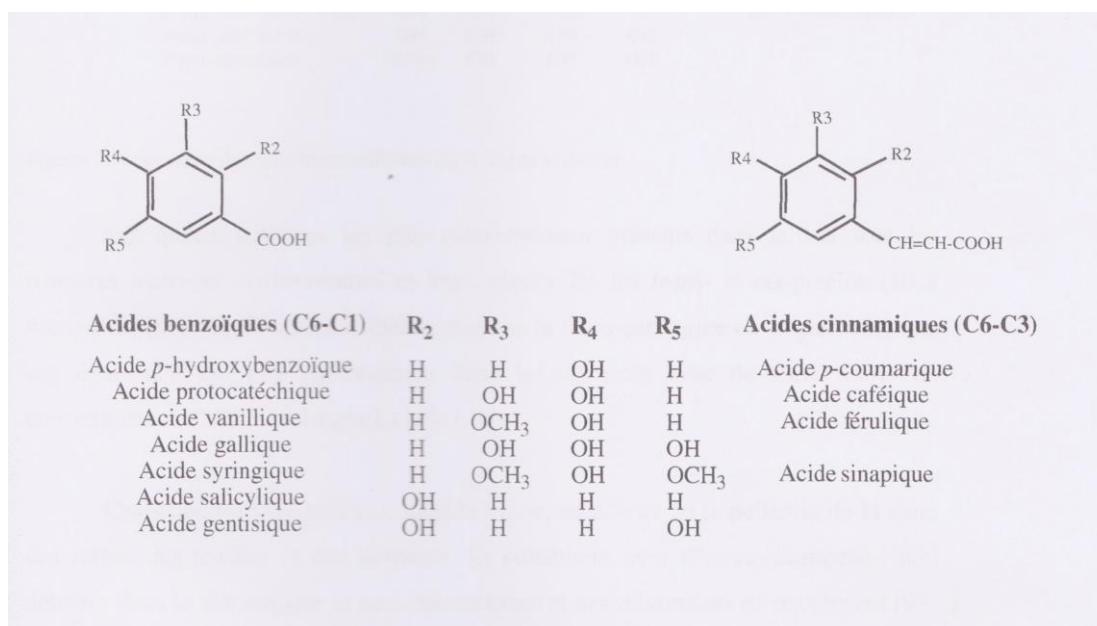


Figure 38 : Structure des principaux acides phénols du vin

1.2.2 Acides hydroxycinnamiques (C6-C3)

Les acides hydroxycinnamiques dérivent de l'acide hydroxycinnamique et ont une structure de base de type C6-C3. Ils peuvent exister sous une forme estérifiée par l'acide quinique contrairement aux acides hydroxybenzoïques qui se présentent majoritairement sous forme libre. Le principal représentant de cette catégorie est l'acide caféique que l'on retrouve dans de nombreux végétaux comme la graine de café, la tomate, l'olive ou la pomme (Sabiha, 2013). Dans les raisins ils sont identifiés en faible quantité sous forme libre, surtout dans les vacuoles des cellules de la pellicule et de la pulpe, sous forme d'ester tartrique. Ils peuvent aussi être des hétérosides de glucose (El Darra, 2013).

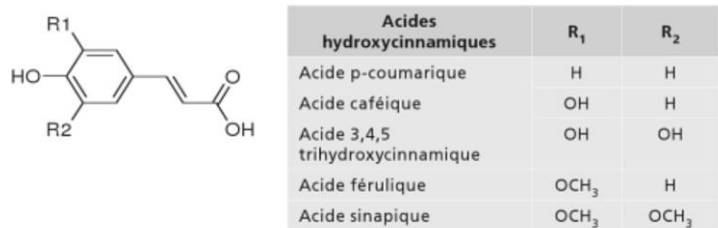


Figure 39: Structures chimiques de quelques acides hydroxycinnamiques (C6-C3).

1.2.3 Coumarines (C6-C3)

Aujourd'hui, près de 1000 composés coumariniques ont été isolés dans plus de 800 espèces de plantes et dans les microorganismes. Les coumarines, produites en grandes quantités dans de nombreux végétaux, sont avant tout un système de défense face aux attaques biotiques ou abiotiques. Ces composés sont connus pour leurs propriétés anti-coagulantes.

1.2.4 Tannins hydrolysables

Les tannins hydrolysables sont des esters d'acides phénoliques (acide gallique ou acide ellagique) associés à un polyol (le plus souvent du glucose). Ces substances sont facilement hydrolysables par voie chimique ou enzymatique (tannase).

Cette structure osidique a la particularité de pouvoir être sous forme cyclique ou bien ouverte. Elle résulte du couplage oxydatif intramolécule (de type C-C) entre deux galloyles voisins. La polymérisation s'effectue, elle, par un couplage intermoléculaire (de type C-O).

Ils sont divisés en deux classes (Vivas de Gaulejac, 2001) :

- Les gallotannins

Ils résultent de l'introduction de nouvelles unités galloyles liées aux premières par des liaisons métadepsides. Ils libèrent par hydrolyse à l'eau chaude ou par action enzymatique de l'acide gallique.

- Les ellagitannins

Leur formation est due aux couplages oxydatifs biaryliques entre les unités galloyles fixées sur le noyau polyol. Ils libèrent par hydrolyse de l'acide ellagique.

1.3 Les stilbènes (C6-C2-C6)

Composés	R1	R2	R3	R4
Aglycones				
Pinosylvine (<i>trans</i> -3,5-dihydroxystilbène)	-OH	-OH	-H	-H
Resvératrol (<i>trans</i> -3,4',5-trihydroxystilbène)	-OH	-OH	-H	-OH
Picéatannol ou astringinine (<i>trans</i> -3,3',4',5-tétrahydroxystilbène)	-OH	-OH	-OH	-OH
Ptêrostilbène (<i>trans</i> -3,5-diméthoxy-4'-hydroxystilbène)	-OCH ₃	-OCH ₃	-H	-OH
Rhapontigénine (3,3',5-trihydroxy-4'-méthoxystilbène)	-OH	-OH	-OH	-OCH ₃
Glycosides				
Picéide ou polydatine (<i>trans</i> -3,4',5-trihydroxystilbène-3-O-β-D-glucopyranoside)	-O-Glc	-OH	-H	-OH
Resvératroloside (<i>trans</i> -3,4',5-trihydroxystilbène-4'-O-β-D-glucopyranoside)	-OH	-OH	-H	-O-Glc
Astringine (<i>trans</i> -3,3',4',5-tétrahydroxystilbène-3-O-β-D-glucopyranoside)	-O-Glc	-OH	-OH	-OH
Rhaponticine (<i>trans</i> -3,3',5-trihydroxy-4'-méthoxystilbène-3-O-β-D-glucopyranoside)	-O-Glc	-OH	-OH	-OCH ₃

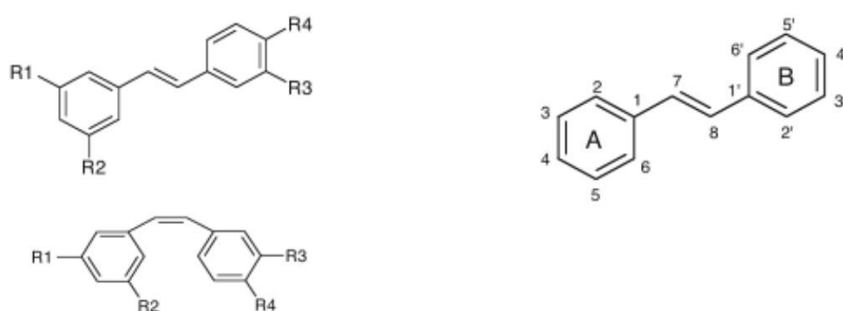


Figure 40: Structure de base des stilbènes . Forme *trans*-stilbène (*E*) en haut à gauche. Forme *cis*-stilbène (*Z*) en bas à gauche.

Plus de 1000 stilbènes et glycosides de stilbènes sont présents naturellement dans le règne végétal (Collin et Crouzet, 2011). Ils sont présents dans de nombreuses familles de végétaux supérieurs, mais le raisin est considéré comme la plus importante source alimentaire de ces substances (Rodriguez-Delgado *et al.*, 2001). Dans la vigne, au niveau de la pellicule de la baie, des rafles, des feuilles, et des sarments, et dans le vin, nous trouvons principalement l'isomère *trans-resvératrol* et son dérivé glucosylé le picéide, ainsi que les oligomères, comme le resvératrol trans-déhydrodimère et l'épsilon-viniférine (2 dimères). Ils sont absents dans les pépins (Collin et Crouzet, 2011).

La molécule de resvératrol (monomère aglycone) a été découverte par un japonais, en 1940 pour la première fois, puis en 1976 dans la feuille de vigne et en 1992 dans le vin. Le *trans-resvératrol* présente un bon pouvoir antioxydant et a suscité un grand intérêt chez les scientifiques après avoir été identifié. C'est une molécule simple et facile à obtenir par synthèse chimique grâce aux réactions de Witting, de Perkin, de Claisen, de Heck ou encore grâce à la métathèse croisée (Nicks, Borguet, Delfosse *et al.*, 2009), ce qui explique le grand nombre d'études faites à ce jour sur ce polyphénol.

La structure de base du resvératrol est composée de deux cycles aromatiques joints par un pont méthylène, et de trois fonctions phénol. Les deux formes isomères (*cis* et *trans*) ont des propriétés chimiques et biologiques différentes et des inter-conversions *trans/cis* ont été observées en présence de chaleur ou de rayonnements UV.

1.4 Les lignines et subérines.

Ce sont des précurseurs de polymères pariétaux des plantes constituant des facteurs de défense contre les agents pathogènes.

Les lignines constituent une classe importante de produits naturels dans le règne végétal et seraient formées par polymérisation oxydative de monolignols (monomères) qui sont les 3 alcools *p-coumarique*, coniférique et sinapique. Ces composés de haut poids moléculaire contribuent à former, avec la cellulose et les dérivés hémicellulosiques, la paroi des cellules végétales.

Les subérines, elles, sont des polyesters des acides férulique et *p-coumarique* avec des acides aliphatiques.

Beaucoup d'autres classifications sont aussi de rigueur concernant les polyphénols. On peut trouver par exemple une classification en deux parties : les polyphénols simples et les polyphénols complexes. Parmi les polyphénols simples, on peut trouver les flavonoïdes (flavanones, flavonols, flavan-3-ols et anthocyanidines), les acides phénoliques (type benzoïque et cinnamique, les coumarines) et les stilbènes. Et parmi les polyphénols complexes, on retrouve les tanins hydrolysables et les tanins condensés. Ou encore, il existe le classement des flavonoïdes et des non flavonoïdes (tous les autres).

2- BIOSYNTHESE.

Comme tous les composants d'un végétal, les polyphénols naissent à partir de la photosynthèse. C'est pourquoi, la molécule qui est à l'origine de ces acides est le glucose. Les composés phénoliques des végétaux peuvent être issus de 2 grandes voies d'élaboration de cycles aromatiques :

2.1- La voie de l'acide shikimique (ou voie des shikimates).

La voie des shikimates est sans doute la voie la plus courante et la voie la plus importante pour la biosynthèse des composés aromatiques dans les plantes et les micro-organismes, y compris les acides aminés aromatiques : la phénylalanine, le tryptophane et la tyrosine.

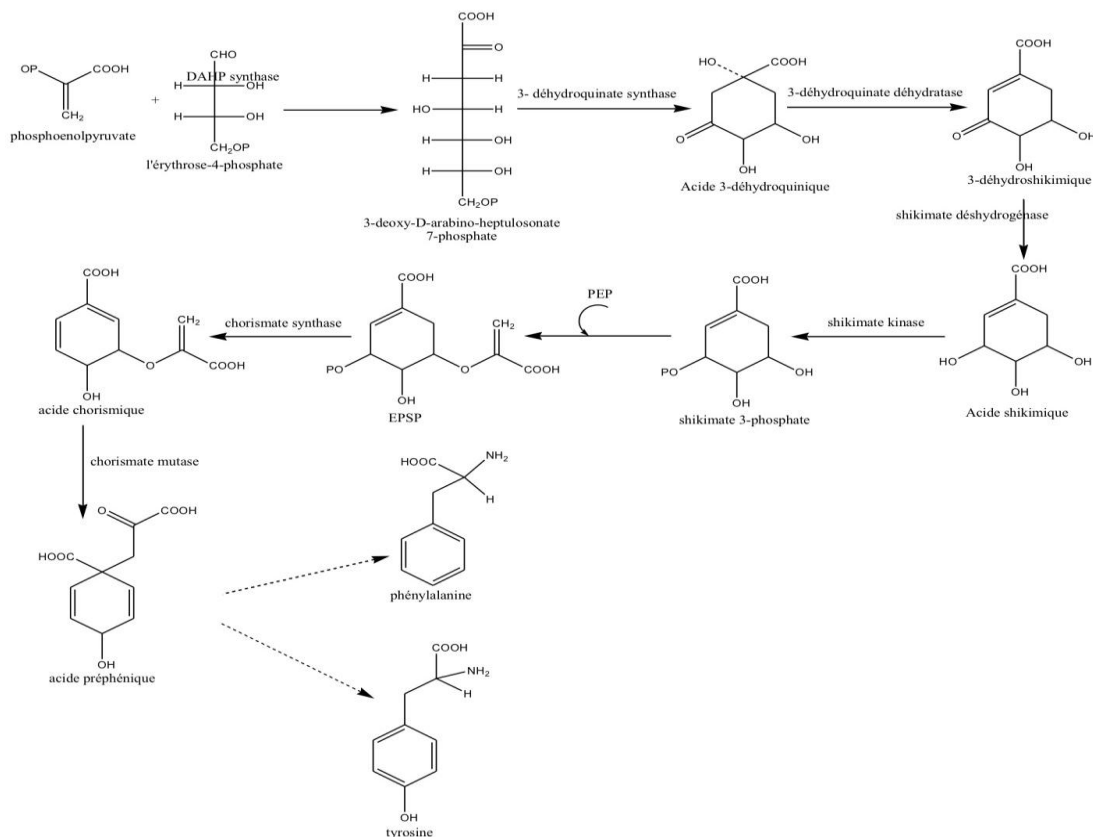


Figure 41 : Voie de l'acide shikimique

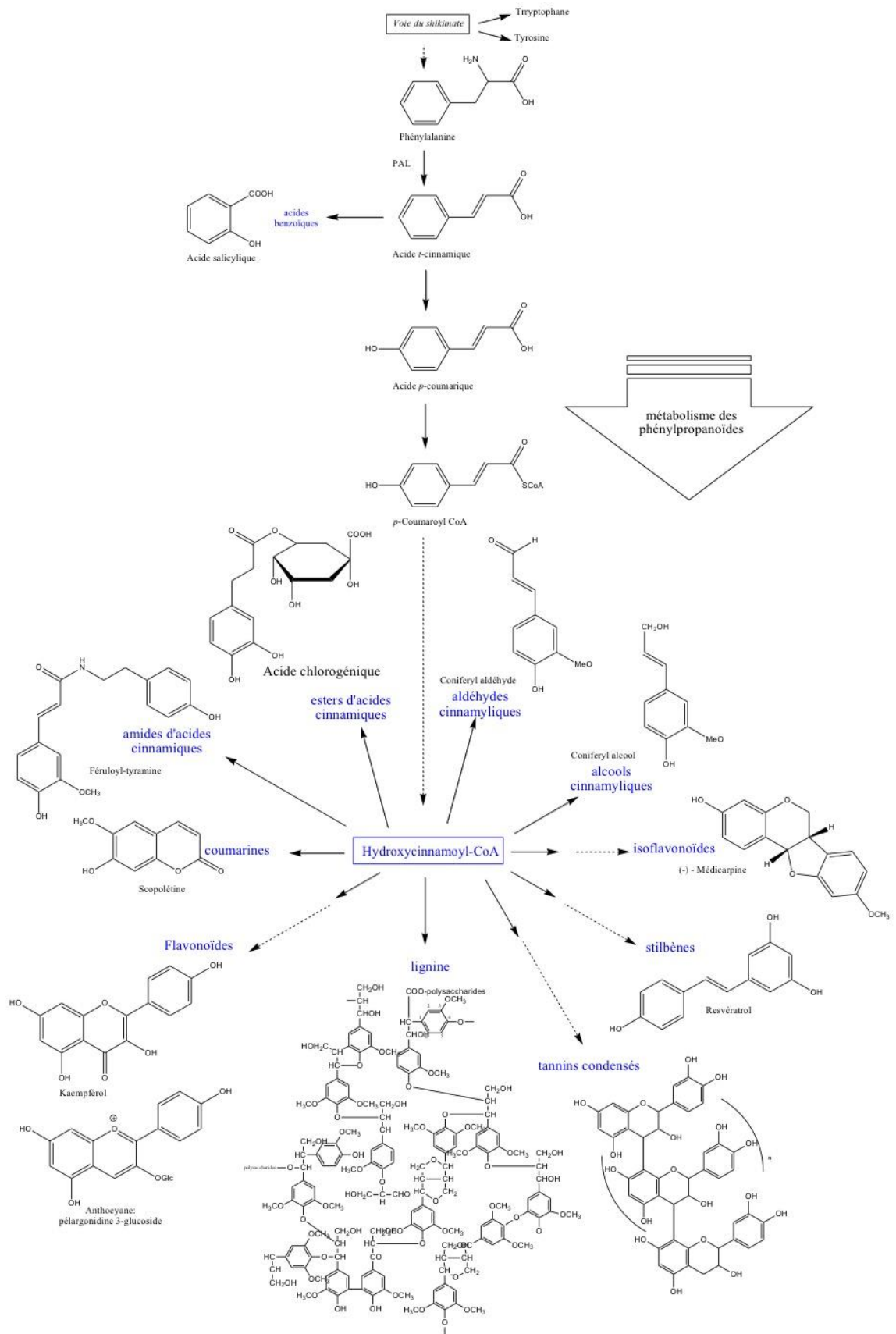


Figure 42: Métabolisme des phénylpropanoïdes conduisant aux principaux groupes de composés phénoliques (Hoffman, 2003).

La désamination de la phénylalanine (grâce à l'action de la PAL, Phénylalanine Ammonia Lyase) conduit à l'acide *trans*-cinnamique qui est le premier phénylpropane formé. La PAL est l'enzyme permettant le lien entre le métabolisme primaire du shikimate et le métabolisme secondaire des phénylpropanoïdes. L'acide *trans*-cinnamique est ensuite transformé en acide coumarique par l'enzyme cinnamate-4-hydroxylase (C4H) puis en 4-coumaroyl-coenzyme A par l'enzyme CoA-ligase (4CL). Cette étape conduit directement à la voie du phénylpropanoïde conduisant à la synthèse des différents composés phénoliques (Atta-ur-Rahman, 2003). Cette variabilité structurale reflète les nombreuses activités et fonctions biologiques de ces composés. La régulation du métabolisme des phénylpropanoïdes et de la voie de l'acide shikimique est coordonnée, afin de mieux contrôler le flux de carbone injecté dans la voie des phénylpropanoïdes, par l'intermédiaire de la PAL (Hoffman, 2003).

2.2- La voie de l'acide acétique/mévalonate (ou voie polyacétate):

La glycolyse et la β -oxydation aboutissent à la formation de l'acétyl-CoA donnant le malonate. C'est à travers cette voie que s'effectue la cyclisation des chaînes polycétoniques, obtenues par condensation répétée d'unités « acétate » qui se fait par carboxylation de l'acétyl-CoA. Cette réaction est catalysée par l'enzyme acétyl-CoA carboxylase. Cette voie ne conduit qu'à peu de polyphénols.

De plus, certains composés sont d'origine mixte : flavonoïdes, stilbénoides ...

3- PROPRIETES DES POLYPHENOLS.

Aujourd'hui de nombreuses expériences, essentiellement *in vitro*, ont démontré le pouvoir anti-oxydant des polyphénols. Ils sont capables de piéger les radicaux libres afin de protéger notre organisme contre les effets délétères de l'oxygène, d'inhiber l'oxydation des lipides et de réduire l'activation des plaquettes sanguines. De plus, des évidences s'accumulent en faveur des rôles anti-radicalaires et chélateurs de métaux des flavonoïdes, deux propriétés qui participeraient au pouvoir antioxydant de ces composés. Les propriétés physico-chimiques des polyphénols sont dues à leur structure (aromaticité, présence de nombreux hydroxyles...).

Les radicaux libres sont des espèces chimiques instables et très réactives car ils possèdent un électron non apparié. Leur durée de vie est de l'ordre de la microseconde. Le contrôle de ces composés est exercé par des antioxydants : la cassure de cet équilibre fragile entraîne un stress oxydant. Le système d'autodéfense est assuré par des antioxydants extracellulaires (principalement enzymatiques comme la superoxyde dismutase, la catalase,...). Ces molécules antioxydantes peuvent interagir selon trois modes d'action : la chélation des ions métalliques, par le piégeage des radicaux libres ou par la complexation des macromolécules. De plus, ils ont aussi des effets sur les mécanismes anti-oxydants et anti-inflammatoires.

3.1- Rappels sur les rôles physiologiques des polyphénols dans la plante

Même si les polyphénols ne sont issus que du métabolisme secondaire de la plante, leurs rôles restent très importants au sein de celle-ci. Tout particulièrement, les composés phénoliques sont nécessaires à la plante pour la pigmentation, la croissance, la reproduction et la résistance aux agents pathogènes... (Lattanzio *et al.*, 2006)

- **Rôle structurel** : En 2003, Williams et Hopkins ont mis en évidence l'implication de deux flavonols (le kampférol et la quercétine) dans la croissance des plantes.
- **Rôle de molécule signal** : Après la reconnaissance de l'agent pathogène, des régulateurs orchestrent l'expression de gènes impliqués dans la défense de la plante. Ces gènes codent ensuite pour des protéines ou des enzymes de la voie des phénylpropanoïdes en particulier de la voie de biosynthèse des stilbènes (Vandelle *et al.*, 2006).
- **Autres fonctions** :
 - **Rôle de défenses** : Les polyphénols permettent de protéger la plante contre les agressions : les herbivores, les rayons UV, l'hyperthermie, les bactéries, les virus, les champignons, les plantes concurrentes... (Mohammedi, 2006). Nous pouvons citer comme exemple le resvératrol qui possède des propriétés anti-fongiques, anti-bactériennes et anti-virales (Nicks, Borguet, Delfosse *et al.*, 2009). De plus les flavonoïdes, toxiques pour certains insectes, servent à les éloigner s'ils s'avèrent néfastes pour la plante.
 - **Allélopathie** : Il s'agit de l'ensemble des interactions biochimiques directes ou indirectes, positives ou négatives, d'une plante à l'autre au moyen de métabolites secondaires (acides phénoliques, flavonoïdes, terpénoïdes et alcaloïdes). Ces composés sont ensuite libérés dans l'air et/ou dans le sol afin de permettre à la plante d'obtenir le soleil et les substances nutritives nécessaires à la germination et à sa croissance. C'est un véritable phénomène de compétition entre les plantes.
 - **Attraction et pollinisation** : Pour les plantes et particulièrement pour les fleurs, les flavonoïdes ont une « fonction » majeure qui est la couleur. La couleur de la plante représente un signal visuel pour les insectes pollinisateurs. C'est par la couleur de ses fleurs que la plante exerce un effet attracteur sur les insectes et les oiseaux pollinisateurs, assurant par ce biais une étape fondamentale de sa reproduction. Les flavonoïdes et les acides phénols ont donc un rôle dans l'attraction des insectes et dans la pollinisation.

3.2- Les rôles thérapeutiques des polyphénols en santé humaine.

3.2-1. Propriétés antifongiques, antibactériennes et antivirales.

L'activité anti-infectieuse des polyphénols s'expliquerait par leurs effets sur les facteurs de développement des micro-organismes. En effet, les polyphénols peuvent inhiber les enzymes microbiennes extracellulaires, ils ont une action anti-oxydante et ils peuvent entraîner la complexation de substrats ou de fer nécessaires à leurs croissances (Wang *et al*, 2008). Les flavonoïdes, eux, sont capables d'agir au niveau de la synthèse des protéines virales. Des chercheurs ont démontré qu'il existe une corrélation entre l'effet inhibiteur de certains flavonoïdes sur divers virus de l'herpes et leur capacité à augmenter les taux intracellulaires en AMPc dans les cellules infectées (Muecsi et Pragai, 1985). De plus en 1989 Speddin *et al.* ont démontré que les flavonoïdes sont de bons inhibiteurs de reverse transcriptase sur le rétrovirus HIV. Et par ailleurs, les stilbènes sont aussi connus depuis longtemps pour leurs propriétés anti-fongiques.

De plus, de nombreuses études épidémiologiques montrent qu'une alimentation riche en polyphénols diminue le risque de développer des maladies chroniques. Nous allons voir ci-dessous les plus importantes :

3.2-2. Polyphénols et protection cardio-vasculaire

Il est reconnu depuis l'an 2000, que les flavonols et les flavanoïdes sont à l'origine d'un effet cardioprotecteur car lorsqu'ils arrivent au niveau des artères, ils ont des effets antioxydants au niveau des LDLs qui sont un des facteurs de risque de l'athérosclérose. Une étude menée au Pays-Bas (Zulphen Elderly Study) auprès de 805 sujets de sexe masculin a mis en évidence la corrélation inverse entre la consommation de flavonoïdes alimentaires comme par exemple dans le thé, les oignons, les pommes, et les maladies cardiovasculaires (Hertog, Année, Feskens *et al.*, 1993). De plus, d'autres polyphénols comme le *trans*-resvératrol inhiberaient l'activité plaquettaire en inhibant l'agrégation plaquettaire impliquée dans le phénomène de thrombose qui pourrait conduire à l'occlusion des artères. Et enfin, ils possèderaient des propriétés vasodilatatrices (Pior *et al.*, 2001 ; Santos-Buelga et Scalbert, 2000).

La diminution du nombre de maladies coronariennes observées chez les buveurs de vin, et ce malgré une alimentation très riche en graisses saturées, est communément appelée le « French Paradox » (Renaud et Debord, 1992). C'est en 1980 que l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a mis en évidence ce « French paradox » vérifiant l'hypothèse qu'une consommation de vin rouge à dose raisonnable (un ou deux verres par jour) préviendrait le développement des maladies cardiovasculaires. On attribue de tels effets aux polyphénols et à une meilleure hygiène de vie. D'où, le fait que le taux de mortalité cardiovasculaire soit plus bas chez les français que chez leurs voisins européens. Les polyphénols contribuent très probablement à cet effet protecteur (Rimm *et al.*, 1996 ; Frémont, 2000). Mais attention, il est important de garder un oeil critique sur ce « French Paradox » qui est fréquemment

remis en question, car à ce jour de nombreuses équipes de recherche tentent encore de mieux comprendre ce phénomène.

3.2-3. Polyphénols et activité anti-cancérigène

Bien que l'éthanol soit un des principaux responsables de cancers, la consommation modérée de polyphénols dans le vin est connue pour avoir des effets bénéfiques sur la santé. En 2000, Gronbaek *et al.* ont publié des études épidémiologiques montrant que la consommation modérée de 1 à 3 verres de vin par jour était liée à une diminution de 22% des cancers.

Déjà en 1997, une étude a montré que la consommation de quercétine dans les oignons (0,3 mg/g de masse fraîche) et les pommes (1mg/g de masse fraîche de la peau de pommes) est inversement corrélée au risque de cancer du poumon (Knekt *et al.*, 1997). La catéchine, présente dans tous les types de thé et en particulier dans le thé vert, a montré une activité anti-tumorale. D'après Jodoin *et al* en 2002, cette activité serait due à la capacité de ce polyphénol à inactiver l'action de la P-glycoprotéine qui est impliquée dans la résistance phénotypique des cellules cancéreuses. De plus, de nombreuses études ont montré que trois types de cancers (sein, prostate et digestif) peuvent être fortement influencés par l'alimentation notamment l'apport en lipides et en antioxydants et que l'huile d'argan pourrait grâce à sa teneur en polyphénols, contribuer à la prévention de certains cancers tels que le cancer de la prostate (Bennani *et al.*, 2009).

Les polyphénols permettraient de lutter, à tous les stades de la cancérogénèse, contre de nombreux cancers comme celui du colon, de l'estomac, du foie, du sein, de la prostate, du poumon, de la peau, de la vessie...(Hadi, Bhat *et al.*,2007). Cependant, après de nombreuses études, les preuves de leurs effets chez l'Homme restent encore insuffisantes.

3.2-4. Polyphénols et activité anti-inflammatoire.

L'inflammation est la réponse principale de l'organisme à une agression et est précisément régulée afin de limiter les atteintes possibles des structures de l'organisme. Cependant, une régulation inappropriée de ce phénomène peut conduire à un état inflammatoire chronique (Boubekri, 2014). Ces processus inflammatoires sont impliqués dans le développement de la plupart des pathologies chroniques majeures comme l'athérosclérose, le diabète de type II, l'obésité, les maladies neurodégénératives et le cancer. Les flavonoïdes et le *trans*-resvératrol altèrent la synthèse des éicosanoïdes qui sont des médiateurs de l'inflammation. De plus, les flavonoïdes peuvent inhiber la formation de certains médiateurs pro-inflammatoires du métabolisme de l'acide arachidonique en inhibant directement l'activité de la phospholipase 2, des cyclooxygénases et des lipooxygénases (Alcaraz et Hoult, 1985 ; Ghedira, 2005). Les polyphénols diminueraient donc les marqueurs de l'inflammation et agirait sur de nombreuses cibles moléculaires au centre des voies de signalisation de l'inflammation.

3.2-5. Polyphénols et protection contre les maladies neurodégénératives.

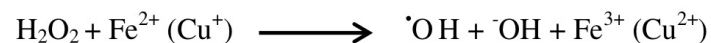
Depuis de nombreuses années, beaucoup d'études ont été menées à bien afin de démontrer l'effet bénéfique des polyphénols sur les maladies neurodégénératives comme la maladie de Parkinson, d'Huntington, d'Alzheimer ou encore la sclérose en plaques. Ces pathologies semblent être déclenchées par des événements multi-factoriels comme la neuro-inflammation, une augmentation du stress oxydant, de fer et/ou une diminution des antioxydants endogènes.

L'effet anti-oxydant des polyphénols est sans doute le lien entre tous ces effets mais depuis peu les chercheurs ont découvert d'autres mécanismes d'action plus complexes. Nous développerons plus ce sujet dans la partie 4.

3.3- Les mécanismes d'action des polyphénols.

3.3-1. Chélation des ions métalliques.

Selon leur structure, les polyphénols peuvent présenter des « pinces » capables de chélater divers métaux de transition tels que les ions Al^{2+} , Fe^{2+} , Cu^+ ... qui sont impliqués dans les mécanismes d'oxydation. Ceci a un grand intérêt biologique puisque ces ions peuvent être responsables de la production du radical $\cdot OH$ par la réduction de H_2O_2 lors de la réaction de Fenton :



De plus, l'autoxydation des ions Fe^{2+} et Cu^+ est une source de O_2 et de H_2O_2 . Ainsi, la chélation des ions du fer et du cuivre sous forme de complexes inertes va empêcher l'activité du cycle redox, qui dans des conditions aérobies, produit des espèces réactives de l'oxygène ou ERO. Ce mécanisme pourrait jouer un rôle important dans le pouvoir antioxydant des polyphénols. En effet, ceci permet de protéger les lipides polyinsaturés contre les phénomènes générateurs de radicaux (Nkhili, 2009 ; Sabiha, 2013).

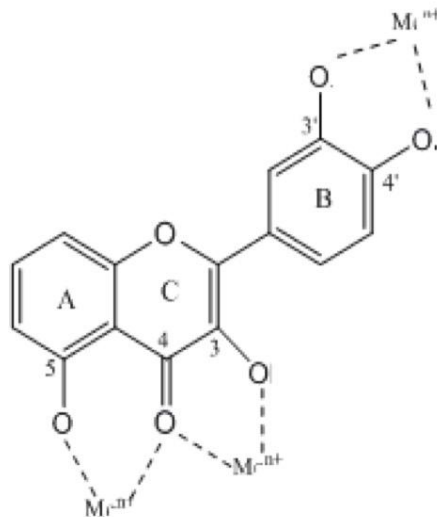


Figure 43 : Les flavonoïdes et leurs sites proposés pour la chélation des ions métalliques (M^{n+}) (Nkhili, 2003).

En 1989, Afanas'ev *et al.* et en 1993 Morel *et al.* ont montré que les polyphénols comme la catéchine, la quercétine, la rutine et le *trans*-resvératrol ont une bonne capacité de chélation du fer et du cuivre.

3.3-2. Le piégeage des radicaux libres

La fonction « hydroxyle phénolique », permet aux polyphénols, de réagir avec les espèces réactives de l'oxygène comme le radical superoxyde $O_2^{\cdot-}$ et le radical hydroxyle $\cdot OH$, en cédant un électron, pour produire des radicaux phénoxy stables.

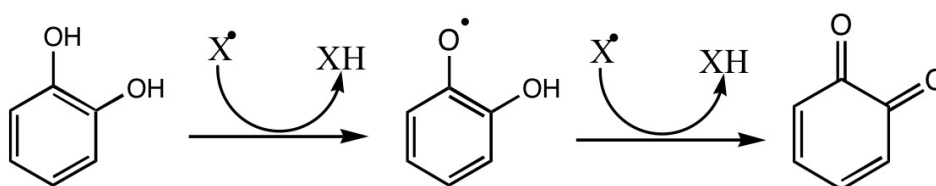


Figure 44 : Propriété réductrice des polyphénols

Les polyphénols peuvent donner un électron et un hydrogène afin de réduire et stabiliser les radicaux libres des acides gras poly-insaturés présents dans les lipoprotéines de basse densité (LDL) et les membranes. Les flavan-3-ols sont des antioxydants très puissants. Les polyphénols sont donc de bons antioxydants car ce sont de bons piégeurs de radicaux libres.

3.3-3. Complexation des macromolécules.

Les tanins ont la grande propriété de pouvoir complexer les macromolécules comme les protéines, les polysaccharides ou l'ADN. Cette complexation peut être réversible ou irréversible et pour que ce phénomène ait lieu, le milieu dans lequel se trouve les deux acteurs (la protéine et le polyphénol) est très important. L'affinité entre les deux sera plus ou moins importante en fonction de ce milieu. Un « équilibre triangulaire » s'établira entre les trois.

Si l'un des trois partenaires subit une modification (taille, pH, ...), l'équilibre sera rompu et les interactions seront perturbées.

3.3-4. Effet pro-oxydant ?

Les flavonoïdes sont connus pour leurs effets antioxydants mais ils sont susceptibles de présenter une activité pro-oxydante (Kessler et al., 2002). En effet, ils sont capables d'induire une auto-oxydation et de générer des ERO. Le peroxyde d'hydrogène nécessaire à la réaction est produit par autoxydation des ions de basse valence. Par leurs effets pro-oxydants, certains flavonoïdes peuvent promouvoir, en présence d'ions fer libres (non liés aux protéines), la dégradation oxydante de l'ADN, des lipides et d'autres biomolécules.

On aurait pu penser qu'une augmentation des apports de polyphénols serait bénéfique mais suite à l'administration de doses pharmacologiques chroniques excédant la dose moyenne absorbée via l'alimentation, des effets indésirables ont été rapportés. Pour des doses allant de 1 à 1,5 g de flavonoïdes par jour, des cas de défaillance rénale, de fièvre, d'anémie et des réactions cutanées ont été observées (Sabiha, 2013).

Des études complémentaires sont donc nécessaires pour déterminer la frontière entre l'effet anti-oxydant et l'effet pro-oxydant des polyphénols.

4. PHARMACOCINETIQUE ET BIODISPONIBILITE DES POLYPHÉNOLS

Quelles sont les capacités des polyphénols à franchir la barrière digestive ? Sous quelle forme se trouvent-ils dans le plasma ? Et à quelle concentration ? Le devenir des polyphénols dans l'organisme est sujet depuis longtemps à controverse (Allouchery, 2006 ; Gayraud, 2011).

4.1- Absorption

La première étape, l'absorption, se réalise dans la partie haute du tube digestif (Damianaki *et al.*, 2000). Les polyphénols sont absorbés par diffusion passive avant de rejoindre la veine porte. A ce moment là, les polyphénols glycosylés doivent être convertis en aglycone par des enzymes appelées glycosidases. Ces enzymes sont présentes soit dans l'alimentation, soit dans la muqueuse gastrointestinale ou alors dans la flore microbienne du côlon (Yang *et al.*, 2001). Cependant, il existe aussi une absorption directe des polyphénols glycosylés, sans transformation en aglycones, car certains flavonoïdes glycosylés ont été retrouvés dans le plasma.

4.2- Distribution

Les sites de distribution principaux sont : les tissus cardiaques, hépatiques et rénaux (Damiaki *et al.*, 2000). Et en 2008, aucune donnée ne montraient que ces composés atteignaient le cerveau (Aron et Kennedy, 2008), même s'il était déjà démontré qu'une alimentation riche en polyphénols est bénéfique pour le fonctionnement du cerveau humain. En 2012, Schaffer et Halliwell ont décrit le fait que les polyphénols peuvent diffuser à l'extérieur du SNC, à travers la barrière hémato-encéphalique et à l'intérieur du SNC (Janle, Chen, Kritchevsky *et al.*, 2014).

4.3- Métabolisation

Les polyphénols possèdent de nombreux sites permettant différentes réactions chimiques. Au niveau de l'intestin grêle, du foie et d'autres organes il peut se produire une conjugaison rapide des polyphénols par glucuronidation, sulfatation ou méthylation. De plus, les enzymes du cytochrome P450 peuvent les oxyder en donnant des groupements phénoliques supplémentaires ou en déméthylant les groupes O-méthylés. Cependant, ces réactions ne peuvent avoir lieu qu'avec des polyphénols peu hydroxylés et faiblement lipophiles, substrats aux enzymes du CYP450.

4.4- Elimination

Tous les polyphénols qui ne sont pas absorbés dans la partie haute du tube digestif se retrouvent dans le côlon. Les métabolites conjugués de faible masse moléculaire sont majoritairement excrétés par voie urinaire alors que ceux de plus haute masse moléculaire sont principalement excrétés dans la bile (Manach *et al.*, 2006). Au niveau des intestins, les bactéries possèdent des β -glucuronidases capables de dissocier les aglycones des métabolites conjugués sécrétés dans la bile. Les aglycones peuvent alors être réabsorbés ce qui entraîne un cycle entérohépatique.

5. DANS L'ALIMENTATION ET EN PARTICULIER DANS LA VIGNE ET LE VIN ROUGE.

Les polyphénols constituent un groupe de métabolites secondaires large et répandu dans le règne végétal. Ils sont présents à de fortes concentrations dans le vin, l'huile d'olive, le thé, les noix, les baies, le cacao, et une grande variété de fruits, de légumes et de plantes culinaires (et médicales). D'après de nombreuses études épidémiologiques, leur consommation ainsi que la consommation modérée de vin et de thé seraient corrélées à une diminution du risque de pathologies chroniques, liées au stress oxydant comme les maladies cardio-vasculaires, les maladies neuro-dégénératives et les cancers. D'ailleurs, une étude a comparé l'activité plaquettaire *ex vivo* chez des volontaires humains avant et après avoir bu du jus de raisin noir, du jus d'orange ou du jus de pamplemousse pendant sept à dix jours pour chaque boisson (Keevil *et al.*, 2000). Il en est ressorti que boire du jus de raisin noir pendant une semaine baisse l'agrégation plaquettaire sanguine de 77% alors que les deux autres jus n'ont aucun effet sur ce paramètre. Le jus de raisin noir contenait environ trois fois plus de polyphénols que les autres jus d'agrumes.

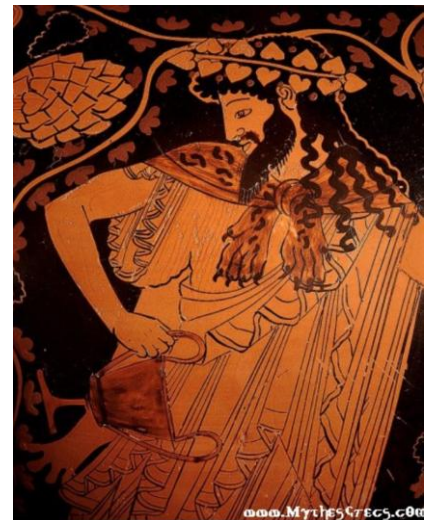
Selon le rapport de l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) concernant le marché mondial du fruit, le raisin, fruit de la vigne *Vitis vinifera*, représente le deuxième fruit le plus cultivé au monde après l'orange (Chira *et al.*, 2008). Il représente, à lui seul, 14,6% de la production mondiale de fruits. Les plus grands producteurs de raisin sont la France, l'Espagne et l'Italie et environ 80% des récoltes sont utilisées pour la production de vin (Kammerer *et al.*, 2004). Son fruit est une baie classée dans le groupe des fruits charnus contenant des pépins et la pulpe représente 80 à 85 % du poids de la grappe. Et à sa maturité, le raisin contient principalement de l'eau (80 à 90%) et des sucres (glucose, fructose et polysaccharide) (El Darra, 2013).

La définition du vin datant de la loi Griffe du 14 août 1889 est tout « produit exclusif de la fermentation du raisin frais ou du jus de raisin ». A cette époque, le vin manquait et des boissons frelatées, à base de raisins de Corinthe par exemple, inondaient le marché. C'était une période de fraude générale. Depuis le 17 mai 1999, une nouvelle définition donnée par l'Union Européenne est rentrée en vigueur : le vin est « le produit obtenu exclusivement par la fermentation alcoolique, totale, ou partielle, de raisins frais, foulés ou non, ou de moûts de raisins ». Il en découle donc qu'aucun autre produit, ne venant pas de la fermentation alcoolique du jus de raisin frais, ne pourra avoir l'appellation de vin. En 1973, l'Office international de la Vigne et du Vin (OIV) définit pour la première fois un titre alcoométrique général, qui ne pourra être inférieur à 8,5% en volume. La France fait partie des 45 états membres de l'OIV qui représente 85% du vignoble mondial ainsi que 95% environ de la production et de la consommation mondiale du vin. (www.oenologie.fr/droit/legislation/definition-vin.php).

5.1- Rappel sur l'histoire du vin.

- 7000 ans avant J.-C. : Pendant la période du néolithique, on retrouve les premières traces de la culture de la vigne et de la domestication de cette plante sauvage dans les régions du Proche Orient et de l'Asie occidentale (chez les Babyloniens, les Egyptiens, les Hébreux, les Phéniciens, les Assyriens et les Sumériens) (Gayraud, 2011).
- De 7000 à 1500 ans avant J.-C. : C'est durant cette période que le vin a dû naître mais il est très difficile de savoir quand précisément. Dans les mêmes régions que des siècles auparavant, les pionniers de la viticulture se sont rendus compte que le jus de raisin fermentait tout seul lorsqu'on le stockait et qu'il en demeurait toujours comestible après ça. La production et la consommation de cette boisson ont alors débutées mais très vite le problème de la conservation se posa. Après adjonction de différents produits au vin, il semblerait qu'ils aient trouvé que la résine de térébinthe empêchait le vin de tourner au vinaigre et qu'il lui conférait une bonne odeur. La résine de térébinthe, retrouvée à l'état de trace dans des céramiques en Iran, est considérée comme l'un des premiers agents conservateurs.
- De 1500 à 500 ans avant J.-C. : Pendant 1000 ans, la viticulture s'est étendue dans tout le bassin méditerranéen que l'on appelle « le berceau de la civilisation ».

Chez les Grecs, cette boisson, produisant un plaisir gustatif et surtout de l'ivresse, a été élevée au rang de plaisir terrestre mais aussi céleste. D'après le mythe, Dionysos (fils de Zeus et de Sémélé) a parcouru la Méditerranée afin de répandre le vin aux peuples. Et d'ailleurs, comme on peut encore le voir aujourd'hui dans la littérature de l'époque, pour les Grecs, la vigne est devenue un symbole de civilisation. Avec eux, le commerce s'est largement développé se faisant dans des amphores scellées spécifiant l'origine du produit.



Arrivées en territoire romain (Sicile, Italie, Espagne), les techniques de culture ont été développées. Sous l'oeil de leur dieu Bacchus, les Romains ont procédé aux premières sélections de cépages et à l'identification des meilleurs terroirs. A cette époque, les vins sont forts en goût par rapport à aujourd'hui, très épicés et souvent allongés à l'eau de mer.

- 600 ans avant l'ère chrétienne : Sous le règne de Jules César la culture de la vigne s'est étendue vers l'ouest et a gagné le bordelais et même la région parisienne. Ce développement est rapide du fait de la richesse que procure le vin et de ses difficultés de transport. Les gaulois, eux, ont apporté la production vinicole et les procédés de vinification avec le vieillissement en fûts de chêne.

- 476 après J.-C. : La chute de l'empire Romain, met un frein au développement de l'agriculture gauloise.



- VII^e siècle : Chez les chrétiens, le vin représente le sang du Christ. A cette époque, les moines sont les garants des pratiques viticoles et vont s'atteler à améliorer la qualité du vin. Certains d'entre-eux sont déjà de véritables oenologues. Les goûts vont évoluer et les consommateurs délaissent les vins capiteux au profit des vins plus clairs et plus légers.

- 1305 : Arnaud de Villeneuve, médecin, alchimiste, théologien et astrologue célèbre découvre le principe de la distillation. En utilisant le vin comme produit à distiller il crée « l'eau-de-vie ».

- 1360 : C'est le début des appellations officielles en France. Une ordonnance royale établit une première classification des vins en 3 catégories : les vins français (Ile-de-France), les vins de Bourgogne, et les vins de grand prix (Beaujolais, St Pourçain).

- 12 octobre 1492 : Christophe Colomb découvre l'Amérique. Après cette découverte la vigne sera diffusée petit à petit sur ces nouvelles terres. Cependant, en rentrant de leurs longs voyages, les explorateurs ramenèrent les premières bières, le thé, le café, le chocolat. Jusqu'alors la seule boisson stockable et sûre, le vin est menacé par toutes ces nouvelles boissons.

- 1828 : Création de la première ligne de chemin de fer en France. Ce sera un véritable tremplin pour la commercialisation du vin.

- 1852 : Apparition du champignon oïdium en Europe. L'oïdium entraîne l'apparition d'un feutrage (poudre) blanc à blanc-grisâtre, d'aspect farineux à la surface des feuilles, des tiges et parfois des fruits. C'est pourquoi son surnom est « meunier ». Il peut aussi provoquer une déformation des feuilles qui se gondolent et se boursouflent. Afin de l'éviter plusieurs mesures de prévention peuvent être mises en oeuvre (espacement suffisant des plantes, nettoyages réguliers autour des plantations, suppression rapide des parties ou des sujets atteints, et traiter préventivement les sujets sensibles).



- 1855 : Lodi-Martin Duffour-Dubergier, président de la chambre de commerce, s'investit pour mettre en place le classement des vins de Bordeaux. Il s'agit d'une référence établie à la demande de l'empereur Napoléon III pour l'exposition universelle de Paris. Il compte 60 crus du Médoc et 1 cru de Pessac-Léognan (Château Haut Brion) qui se répartissent en cinq catégories : 5 premiers Crus, 15 deuxièmes Crus, 14 troisièmes Crus, 10 quatrièmes Crus et 18 cinquièmes Crus. Cette classification n'a été revue qu'une seule fois en 1973.
- 1864 : Apparition du phylloxéra. Il s'agit d'un minuscule puceron dévoreur de vigne, originaire d'Amérique du Nord. L'agriculture française n'avait jamais connu un tel désastre. Lors de son passage dans la deuxième partie du 19^e siècle, ce fut une véritable catastrophe pour les vignobles français et européens. Le phylloxéra entraîne le dessèchement des sarments et des feuilles, entraînant la mort des ceps (c'est à dire des pieds de vigne).
- 1868 : Jules Planchon, botaniste de formation, réalise un greffage du pied de vigne française, avec une vigne américaine, aguerrie au puceron parasite. L'épidémie de phylloxéra prend fin. De nos jours, quasiment toutes les vignes sont plantées avec ce porte greffe. (Legros, 2008).
- 1907 : Après une surproduction, une baisse des prix du vin et l'absence de loi contre la fraude, les vigneronns se soulèvent. Cette révolte aboutit au vote de la loi du 29 juin 1907. Cette loi prévoit des peines pour les personnes voulant frauder lors de la fabrication du vin.
- 1919 : La première loi sur les appellations d'origine est promulguée.
- 1935 : L'institut National des Appellations d'Origine et des AOC est créé.
- 1950 : L'agrochimie fait son apparition avec les engrais de synthèse.
- 1953 : 16 Crus distingués soit pour le vin rouge, soit pour le vin blanc sec, parfois pour les deux, obtiennent l'appellation « classement des Graves ». Aujourd'hui l'appellation Pessac-Léognan recouvre la totalité des Crus Classés des Graves.
- 1955 : Le diplôme national d'oenologue est créé.
- 1956 : Ce sont les grandes gelées, une terrible vague de froid et de gel s'abat sur la France. Peu de vignobles sont épargnés.
- 1960 : C'est l'apparition des premiers désherbants.
- 1981 : Depuis cette année là, le salon Vinexpo Bordeaux (réservé aux professionnels) à lieu chaque année impaire et depuis 1998 la fête du vin chaque année paire.

- 10 janvier 1991 : La loi Evin est votée. Cette loi est relative à la lutte contre le tabagisme et l'alcoolisme. Par rapport à l'alcool, elle limite drastiquement le droit de faire de la publicité pour les boissons alcoolisées dans le but de protéger les jeunes des opérations de marketing. La publicité n'est autorisée que sur certains supports et doit être accompagnée d'un message informant des dangers de l'abus d'alcool.
- 2004 : Cette loi pour les vins est assouplie.
- 2005 : L'affichage du logo « Agriculture Biologique » est possible pour les vins européens.



5.2- Les différentes étapes de la vinification

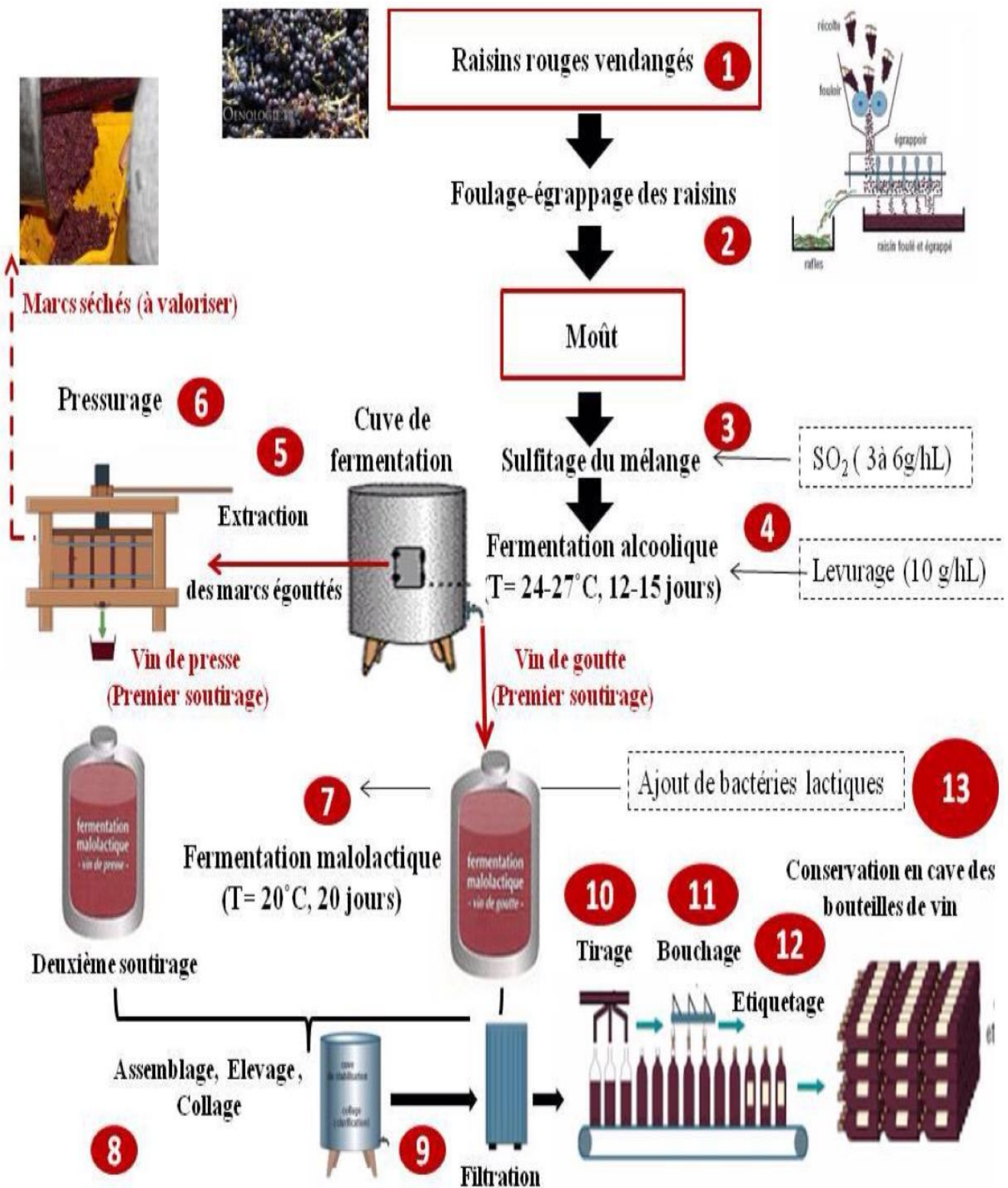


Figure 45 : Schéma de la vinification en vin rouge (El Darra, 2013).

La vinification représente l'ensemble des étapes qui vont amener les raisins jusqu'au stade de vin. Après la récolte des grappes lors des vendanges, à l'automne, et après le processus de vinification, le jus de raisin est transformé en vin. Un bref rappel sur les techniques de vinification est utile car elles ont une grande importance sur la teneur des vins en polyphénols.

Deux fermentations sont indispensables à la formation de vin rouge (Allouchery, 2006) :

- La fermentation alcoolique.

Quelque soit le type de vin, son élaboration passe par la fermentation alcoolique. Les levures (présentes à l'état naturel dans la pruine, c'est-à-dire dans la poussière blanche de cire qui recouvre certains fruits) transforment le glucose du jus de raisin en éthanol et en dioxyde de carbone par un procédé naturel. Il suffit d'écraser les grappes pour faire débiter la fermentation. Toutefois, il faut faire attention car l'énergie dégagée lors de cette fermentation produit de la chaleur. Lorsque la température atteint 40°C les levures meurent en laissant la place aux bactéries qui produisent des acides lactiques ou acétiques, et la fermentation s'arrête alors qu'il reste encore du sucre.

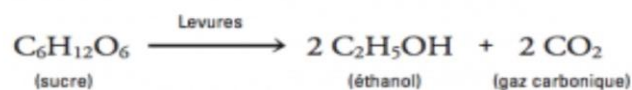


Figure 46 : Equation-bilan de la fermentation alcoolique.

- La fermentation malolactique.

La fermentation malolactique est l'étape qui confère au vin rouge souplesse, rondeur (en diminuant l'acidité) et stabilité microbiologique. Elle correspond à la conversion de l'acide malique en acide lactique par les bactéries lactiques et est obligatoire pour l'élaboration des vins rouges contrairement aux vins blancs où elle peut être réalisée ou non en fonction du choix du viticulteur.

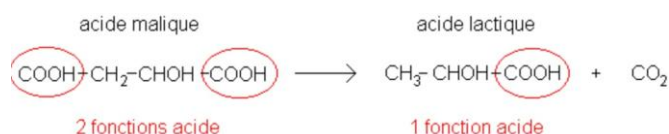


Figure 47: Equation-bilan de la fermentation malolactique.

5.3- Caractères de vinification des différents types de vins.

- Vinification en rouge

Le vin rouge est un vin dit de macération c'est-à-dire que la macération est l'étape essentielle pour cette production. Cette étape différencie le vin rouge du vin blanc. Après la fermentation alcoolique, il est nécessaire d'effectuer la dissolution des constituants des parties solides de la grappe, c'est à dire les pellicules, les pépins et éventuellement les rafles. En résumé, pour obtenir du vin rouge trois étapes sont indispensables : la fermentation alcoolique, la macération et la fermentation malolactique.

- Vinification en blanc

La plupart du temps, pour obtenir du vin blanc on procède à la fermentation alcoolique sans macération des parties solides de la grappe. Ici, ce qui est essentiel est que le pressurage précède la fermentation. C'est ainsi qu'il est possible d'obtenir un vin blanc à partir d'un raisin rouge.

- Vinification en rosé

Il existe plusieurs méthodes de vinification de vins rosés. Les deux techniques les plus utilisées sont le pressurage direct et la saignée. Pour la première, il s'agit d'effectuer un pressurage direct du marc frais avec une courte période de macération (36h maximum). Et pour la seconde, il s'agit d'une macération des parties solides de la grappe, soit directement dans la cage du pressoir, soit dans une cuve de vinification, toujours sur de courtes durées, suivie d'une saignée. Contrairement aux vins rouges et blancs, le vin rosé est caractérisé par un très large panel de couleur rose.

- Vinification du vin rouge dite de « macération carbonique »

Le raisin rouge est mis en cuve pendant 8 à 15 jours sans avoir subi les premières étapes qui sont le foulage et l'éraflage. De plus, l'atmosphère des cuves est enrichie en gaz carbonique. La vendange macérée est ensuite pressée et le jus est mis en fermentation alcoolique.

En France, tous les cépages (variété de plant de vigne) appartiennent au genre *Vitis* et il en existe plusieurs milliers connus à ce jour. Cependant, il n'existe que 136 cépages répertoriés pour produire les grandes appellations françaises. Chaque cépage a ses propres caractéristiques : la couleur des baies, la qualité du moût... qui varient en fonction du climat de l'année, de la nature du sol, de sa richesse agronomique et de la conduite de la vigne. Suivant le cépage, le parfum et le goût du vin seront différents (Chira, 2008). Ces caractéristiques sont très importantes en oenologie. A partir d'un même cépage les vins seront différents selon les terroirs. C'est l'adéquation cépage-terroir qui conditionnera la qualité et le type de production. La composition du vin dépend donc de la qualité du raisin, de la date des vendanges, des conditions dans lesquelles a été effectuée la récolte, du mode de vinification et de l'âge du vin. De plus, à partir d'un même raisin, il peut être élaboré soit un vin rouge, soit un vin blanc. A ce jour, les chercheurs ont identifié plus de mille constituants dans cette boisson alcoolisée.

5.4- Composés du vin rouge.

5.4-1. Les principaux constituants du vin rouge

Tableau 6: Principaux constituants du vin et leur concentration en g/L.

Constituants du vin	Teneur en g/L	Références bibliographiques
Eau	800 à 900 soit 80 à 90%	Wanklyn, 1873
Alcool : Le principal étant l'éthanol, mais on y trouve aussi des polyalcools comme le glycérol, l'arabitol, le manitol... La teneur alcoolique est en général entre 12 et 14 degrés (pourcentage, en volume, d'alcool dans le vin).	50 à 150 ou 8 à 16%	Mazue, 2011
Les Sucres : Les plus importants sont le glucose et le fructose. Ils seront transformés en alcool par l'action des levures. Seuls les sucres résiduels restent présents. Plus la quantité en sucre est importante plus le vin sera doux.	150 à 250	Taillandier, 2005
Les Acides minéraux et organiques : Ils participent avec l'alcool à la protection vis à vis des germes et facilitent la conservation des molécules phénoliques. On trouve : - L'acide tartrique : présent naturellement dans le raisin et le vin, il participe à la conservation. Il se caractérise par sa saveur métallique. On peut aussi l'ajouter afin de corriger l'acidité lors de la mise en cuve. - L'acide malique : se transforme en acide Lactique (plus agréable au palais) lors de la fermentation malo-lactique. Cette fermentation s'impose pour l'ensemble des vins rouges car elle confère souplesse, rondeur et stabilité microbiologique. - L'acide citrique : est un conservateur efficace. Mais la réglementation interdit un taux supérieur à 1g/L. -L'acide acétique : est le responsable du goût de vinaigre quand il est en excès.	5 à 10 0 à 1 <1	Taillandier, 2005 Allouchery, 2006 Gayraud, 2011
Les Micro-organismes : Des levures, des bactéries... qui ne sont pas nocives pour l'homme.		Mazue, 2011

Les Composés phénoliques (le chapitre suivant leur est consacré)	2 à 4	Taillandier, 2005
<p align="center">Les Molécules aromatiques :</p> <p>La plupart de ces molécules proviennent de la pellicule du raisin et lors de la fermentation les arômes passent dans le vin.</p>		Taillandier, 2005
<p align="center">Les sels minéraux :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Le chlore : Les vins récoltés en bord de mer auront une teneur plus élevée en chlore. La quantité est très variable. - Les sulfates : (sous forme de K_2SO_4) Sa teneur augmente si lors de la vendange du moût il y a eu un ajout de sulfites dans un but antiseptique, antioxydant, et antioxydasique. Les sulfites peuvent entraîner de nombreux effets indésirables comme des céphalées, des maux d'estomac et même des oedèmes de Quincke. Si la bouteille en contient la mention « contient des sulfites » est obligatoire selon les normes européennes. - Le soufre (dioxyde de soufre) : protège le vin de l'oxydation et des contaminations microbiennes. C'est l'additif chimique le plus utilisé et le plus controversé. Sa teneur est limitée. - Le phosphore (acide phosphorique) - Le potassium - Le sodium : Comme le chlore, les vins récoltés en bord de mer auront une concentration plus élevée en sodium. - Le calcium et le magnésium 	<p><0,05</p> <p>0,1 à 0,4</p> <p>0,16 à 0,21</p> <p>0,15 à 1</p> <p>0,7 à 1,5</p> <p>0,01 à 0,04</p> <p>0,06 à 0,15</p>	<p>Taillandier, 2005</p> <p>Gayraud, 2011</p> <p>Allouchery, 2006</p>
<p align="center">Les vitamines :</p> <p>thiamine (B1), riboflavine (B2), acide ascorbique (C) ...</p>	En faibles quantités.	Taillandier, 2005
<p align="center">Les oligoéléments :</p> <p>Potassium > Phosphore > Magnésium > Calcium > Sodium > Manganèse > Fer > Zinc ... (en quantité décroissante)</p>	A l'état de traces.	<p>Taillandier, 2005</p> <p>Allouchery, 2006</p>

Le vin est un mélange complexe puisqu'il peut présenter plus de 500 constituants, à l'origine de sa couleur et de ses propriétés organoleptiques. L'alcool, contenu dans le vin rouge, crée un milieu dans lequel les polyphénols restent stables jusqu'à ce que le vin devienne trop vieux, qu'il se décolore et perde ses propriétés organoleptiques. Il permet donc au vin rouge de préserver longtemps ses polyphénols (Ghedira, 2003) .

On pourrait penser que le jus de raisin possède les mêmes propriétés protectrices que le vin car il possède la plupart des substances présentes dans le vin mais des chercheurs ont démontré qu'il faudrait boire trois fois plus de jus de raisin que de vin pour obtenir les mêmes effets (Barsacq, 2010). La raison est sûrement la grande quantité de polyphénols contenus dans le vin rouge et non dans le jus de raisin.

5.4-2. Les composés phénoliques du vin rouge

Le vin rouge, élaboré à partir de raisins noirs frais et mûrs, est très riche en polyphénols. Une étude réalisée par Waterhouse *et al.* a démontré que les vins rouges californiens contenaient entre 1850 et 2200 mg/litre de composés phénoliques totaux alors que les vins blancs présentent des concentrations allant de 220 à 250 mg/litre pour les mêmes composés. Ce sont ces composés phénoliques qui exercent une influence majeure sur la qualité des vins rouges. La connaissance des principaux composés phénoliques du raisin et du vin (les flavonoïdes, les tanins, les acides phénoliques, les stilbènes et les lignanes) est donc primordiale (Allouchery, 2006).

5.4-2.1. Les flavonoïdes

Les **flavonols** sont, entre autres, les pigments jaunes des pellicules du raisin noir et du raisin blanc (Ribéreau- Gayon *et al.*, 2006). Parmi eux, on a essentiellement retrouvé : la quercétine (5-10 mg/kg), la myricétine, le kaempférol et le monoglucuronoside de quercétine dans le raisin noir. Tous ces pigments, excepté le glucoside de la myricétine, se retrouvent aussi dans les pellicules de raisin blanc. La teneur maximale en flavonols varie de 10 à 285 mg/kg dans le raisin mais la moyenne est d'environ 50 mg/kg (Chira *et al.*, 2008). Cette teneur est plus basse dans les vins blancs par rapport aux vins rouges mais il est aussi important de préciser que cette concentration varie en fonction des cépages et en fonction de la température de macération.

Tableau 7: Teneur en flavonols dans le vin.

Flavonols (mg/l)		Cépages	Vinification	Références	
Myrcétine	Quercétine				
2.6	10.4	Cabernet-Sauvignon	Classique	Salagoïty- Auguste <i>et al.</i> , 1984	
6.1	14.8	Merlot			
3.2	7.8	Malbec			
1.1	0.6	Chardonnay	Macération à chaud	Remey <i>et al.</i> , 1986	
2.3	1.6				9°C
3.1	2.3				15°C
5.3	3.0				19.5°C
			27°C		

Les **anthocyanes** sont les pigments rouges du raisin et du vin. Elles sont caractéristiques des vins rouges puisqu'elles apparaissent à la véraison (état des fruits qui commencent à prendre la couleur qu'ils auront quand ils seront mûrs) et s'accumulent principalement dans la pellicule pendant toute la période de maturation, excepté pour les cépages teinturiers où on les retrouve aussi dans la pulpe (Pecket et Small, 1980 ; Amrani et Glories, 1995). Comme elles sont extraites pendant la macération pré-fermentaire et la fermentation alcoolique, cette famille de pigments permet de distinguer les vins rouges des vins blancs. Leur concentration est d'environ 350 à 1100 mg/l pour les vins rouges issus du genre *Vitis vinifera* (Cheynier *et al.*, 1998). De plus, selon les cépages leur quantité varie et leur répartition est très complexe. Par contre, au sein d'un même cépage la quantité en anthocyanes peut varier d'une année à l'autre (la couleur varie) mais la composition anthocyanique est toujours beaucoup plus stable (les mêmes anthocyanes dans les mêmes proportions). On peut alors classer les cépages en 3 catégories :

- Les cépages dits « noirs » ou « gris » (ex : le Carignan, le Grenache) qui contiennent le plus grand nombre d'anthocyanes avec principalement les monoglucosides de malvidine, du pétunidol et du delphinidol.
- Les cépages dits « rouges » (ex : le Molinera) qui contiennent surtout les monoglucosides du paenidol et du cyanidol. Les cépages dits « roses » contenant essentiellement les monoglucosides du cyanidol.
- Les cépages « teinturiers » (ex : le Pinot teinturier et l'Alicante-Bouchet) dont la coloration de la pulpe est due à une constitution anthocyanique différente de celle de la pellicule. Le monoglucoside de paenidol est dominant dans la pulpe alors que dans la pellicule la composition anthocyanique est la même que dans les cépages dits « noirs ».

5.4-2.2. Les tanins hydrolysables et condensés

La capacité des tanins à se lier et à précipiter les protéines salivaires est responsable de la sensation d'astringence des vins. Les tanins peuvent se lier aux protéines de 4 manières différentes : par des liaisons hydrogènes, des liaisons covalentes, des liaisons ioniques ou par des liaisons hydrophobes. De plus, les tanins ont une solubilité supérieure dans l'alcool par rapport à l'eau. Ils vont donc pouvoir diffuser dans le milieu hydroalcoolique qu'est le vin au fur et à mesure que la fermentation alcoolique progresse.

Les tanins sont extraits pendant la fermentation alcoolique et la macération post-fermentaire, et leur concentration dans les vins rouges est comprise entre 1 et 4 g/litre suivant les cépages et suivant le mode de vinification (Ribéreau-Gayon *et al.*, 1998).

5.4-2.3. Les acides phénoliques

Les acides phénoliques sont incolores mais après oxydation ils peuvent devenir jaunes. On les considère à l'origine du brunissement du moût blanc. Le raisin et le vin contiennent 7 dérivés de l'acide benzoïque et 4 dérivés de l'acide cinnamique connus (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2004).

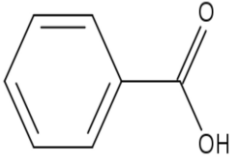
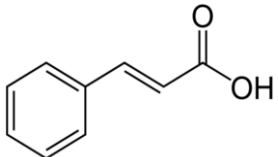
	R2	R3	R4	R5	
Structure des acides benzoïques 	H	H	OH	H	Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque
	H	OH	OH	H	Acide protocatéchique
	H	OCH3	OH	H	Acide vanillique
	H	OH	OH	OH	Acide gallique
	H	OCH3	OH	OCH3	Acide syringique
	OH	H	H	H	Acide salicylique
	OH	H	H	OH	Acide gentisique
Structure des acides cinnamiques 	H	H	OH	H	Acide <i>p</i> -coumarique
	H	OH	OH	H	Acide caféique
	H	OCH3	OH	H	Acide férulique
	H	OCH3	OH	OCH3	Acide sinapique

Tableau 8: Dérivés des acides benzoïques et cinnamiques retrouvés dans le vin (Gayraud, 2011).

Parmi les dérivés de l'acide benzoïque, le principal est l'acide gallique avec une teneur dans le vin comprise entre 100 et 230 mg/kg. Et parmi les dérivés de l'acide cinnamique dans le raisin on retrouve principalement, dans tous, de l'acide caftarique avec un taux de 200 mg/kg (Chira *et al.*, 2008). Dans le vin, la concentration comprenant tous les acides dérivés de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique est de 100 à 200 mg/l de vin rouge et de 10 à 20 mg/litre de vin blanc.

5.4-2.4. Les stilbènes

Généralement, on considère que les stilbènes retrouvés dans les vins se situent au niveau de la pellicule des raisins mais on les retrouve également dans les pépins ou dans les rafles. Les stilbènes les plus abondants sont le resvératrol, et particulièrement le *trans*-resvératrol et son dérivé glucosylé : le picéide. Le resvératrol est une molécule produite par la vigne notamment suite à une infection parasitaire (ex : le *Botrytis cinerea*, champignon responsable de la pourriture grise). On le retrouve dans la peau du raisin et surtout dans le vin rouge avec une concentration de 1mg par verre selon les cépages, mais aussi dans le vin

blanc en quantité beaucoup plus faible (Vitrac *et al.*, 2005 ; Merillon, 2014). De plus, les vins vinifiés de manière traditionnelle (macération avec ou sans rafle) contiendraient des teneurs en resvératrol plus importantes que ceux réalisés par macération carbonique (Sun *et al.*, 2006).

Ces quantités sont croissantes en fonction du vieillissement du vin (Merillon, 2014).

5.4-2.5. Les propriétés des polyphénols dans les vins rouges.

- **Arôme, goût et astringence**

L'amertume est perçue au niveau de la langue, alors que la perception d'astringence résulte du dessèchement de la muqueuse buccale. Elle n'est pas toujours perçue immédiatement et augmente lors d'ingestions répétées. En effet la salive contient des protéines riches en proline qui lubrifient la bouche. Une large gamme de composés peut se lier à ces protéines comme par exemple la majorité des polyphénols, dont les tanins. Les acides phénoliques, les flavonoïdes et probablement les stilbènes, peuvent être responsables de l'astringence. Les acides hydroxybenzoïques et hydroxycinnamiques se caractérisent par des seuils de perception d'amertume ou d'astringence relativement élevés. Les sucres, eux, réduisent l'astringence des polyphénols, tandis que l'oxydation l'augmenterait en élevant le degré de polymérisation. En ce qui concerne la température l'astringence serait plus élevée à 21°C qu'à 7°C.

- **Couleur**

Dans le vin, les polyphénols responsables de la couleur ont été beaucoup étudiés. Par exemple, les flavonols sont des pigments jaunes que l'on retrouve dans toutes les variétés de raisin et les anthocyanes sont responsables de la couleur du vin rouge. Les 5 anthocyanidines du raisin présentent une couleur caractéristique. En effet, lorsqu'il n'y a qu'un seul substituant la couleur est orange, lorsqu'il y en a deux elle est rouge et lorsqu'il y en a trois elle est mauve. Mais la couleur des anthocyanes varie aussi en fonction du pH. Par ailleurs la couleur du vin dépend aussi de la température, de la teneur en anhydride sulfureux du milieu, du degré d'oxydation et du rapport tanins/anthocyanes.

Par ailleurs, il est important de préciser que lorsque le vin rouge vieillit on peut observer la formation de polymères, des réactions d'oxydation, d'hydrolyse et d'autres transformations qui font que les vins rouges vieillis ne possèdent pas forcément les mêmes composés phénoliques que les vins jeunes (Arnous *et al.*, 2001). De plus, selon les techniques de vinification la teneur finale des vins en composés phénoliques n'est aussi pas la même. La présence des pellicules et des pépins lors de la fermentation et/ou un chauffage de moût avant la fermentation permet d'augmenter significativement la concentration en composés phénoliques des vins (Landrault *et al.*, 2000; Netzel *et al.*, 2003).

**PARTIE 4 : LE STRESS
OXYDANT DANS LA
MALADIE
D'ALZHEIMER ET
L'ACTIVITE DES
POLYPHENOLS DU VIN
ROUGE**

1. Le stress oxydant dans la maladie d'Alzheimer

Avec l'augmentation de l'espérance de vie dans nos pays industrialisés, il est certain, en regardant les chiffres, que la prévalence des pathologies neurodégénératives augmentera significativement.

Notre organisme, et en particulier nos neurones, produisent naturellement des radicaux libres (RL). Chez une personne en bonne santé, ces RL sont neutralisés par des enzymes et par des molécules anti-oxydantes mais avec le vieillissement les enzymes sont moins efficaces et un déséquilibre se crée, conduisant à une accumulation de RL et donc au stress oxydant. Dans la littérature, le vieillissement est représenté comme une diminution de la capacité d'un organisme à faire face à son environnement, ce qui se traduit ici par un déséquilibre de la balance pro/antioxydant. On observe alors une hyperproduction mitochondriale d'ERO et une déplétion des défenses anti-oxydantes (car le contenu en antioxydants des cellules diminue) s'installant progressivement avec l'âge. Cette augmentation de stress oxydant chez les personnes âgées se traduit par une incidence plus importante des pathologies comme le cancer, les maladies cardiovasculaires et les maladies neurodégénératives (Roussel et Ferry, 2002). Il est donc nécessaire, à cette période de la vie, d'avoir un apport constant en anti-oxydants exogènes afin de pallier à la diminution des défenses naturelles et pour protéger les tissus contre une dégénérescence précoce.

La MA représente plus de 50% des cas de démences chez les personnes âgées (Delattre *et al.*, 2005). Et d'après plusieurs publications (Perry *et al.*, 2003 ; Ghanbari *et al.*, 2004 ; Migliore *et al.*, 2005), il semble que les processus de stress oxydant interviennent avant l'apparition des premiers symptômes de cette neurodégénérescence. Il a alors été décrit :

- Une augmentation de la production des enzymes oxydantes (xanthine oxydase, lipoxygénases,...),
- Une diminution de la production des enzymes protectrices comme par exemple la catalase, et principalement des enzymes spécifiques au glutathion (glutathion peroxydase, réductase et transférase),
- Une diminution des SOD,
- Et une diminution du glutathion et des acides lipoïques par exemple.

Ce sont tous ces déséquilibres qui vont entraîner le phénomène de stress oxydant. Et comme on a pu le voir précédemment, ce sont les radicaux libres qui sont la cause de dommages occasionnés aux lipides, aux protéines et aux acides-nucléiques.

1.1- Oxydation des lipides

Les acides gras polyinsaturés (AGPi), constituants majeurs des membranes phospholipidiques, ont un rôle fondamental dans les fonctions et les propriétés membranaires. Cependant, ces AGPi sont très vulnérables à l'action des radicaux libres (surtout les AGPi ω 3) à cause de la présence de leurs doubles liaisons qui représentent des cibles d'attaque privilégiées pour les radicaux libres. Il en résulte une réaction en chaîne appelée « lipoperoxydation ».

Lors de cette réaction les acides gras polyinsaturés (AGPi) réagissent avec le radical NO^\bullet ou avec le radical hydroxyle $^\bullet\text{OH}$ pour donner un radical carboné. Ce radical carboné réagit ensuite avec l'oxygène pour donner naissance au radical hydroxyperoxyde (ROO^\bullet) qui assure ensuite la propagation en chaîne de la réaction.

Les réactions de lipoperoxydation entraînent la formation de nombreux dérivés toxiques comme les peroxydes, les radicaux libres, et les diènes conjugués qui sont des composés très instables et rapidement décomposés en produits secondaires (aldéhydes, alcool et cétones). Les composés les plus fréquemment formés, après cette oxydation lipidique, sont les aldéhydes et parmi eux surtout le dialdéhyde malonique (MDA) et le 4-hydroxynonéal (4-HNE). Le MDA, à demi-vie plus longue que celle des radicaux libres et qui diffuse plus facilement, fut le premier marqueur d'oxydation lipidique utilisé pour décrire l'augmentation de la quantité de lipides oxydés dans le cerveau de patients atteints de la MA (Subbarao *et al.*, 1990). Cette description a été faite uniquement dans l'hippocampe, le cortex temporal et l'amygdale des patients. Le 4-HNE, lui, est toxique pour les neurones car il entraîne l'apoptose, il inhibe la croissance des neurones et il altère la structure des microtubules. D'après Markesbery et Lovell en 1998 et Mark *et al.* en 1998, le taux de 4-HNE serait significativement plus élevé dans l'hippocampe et l'amygdale des patients atteints de la MA que chez une autre personne.

La lipoperoxydation finit par entraîner une modification de la perméabilité et de la fluidité des membranes, ce qui conduit à une désorganisation cellulaire. Et sachant que le système nerveux central est constitué de membranes beaucoup plus riches en AGPi que d'autres systèmes, il en devient alors particulièrement sensible aux attaques des radicaux libres.

De plus, le risque de déclin des fonctions cognitives est plus élevé chez les sujets ayant des taux élevés d'AGPi ω 6 et, à l'inverse, il diminue pour les sujets ayant les taux les plus hauts en AGPi ω 3. D'après plusieurs équipes de recherche il y a déjà quelques années, l'oxydation des acides gras polyinsaturés pourrait être responsable du déséquilibre phospholipidique observé dans le cerveau des patients atteints de la MA (Söderberg *et al.*, 1991 ; Nitsch *et al.*, 1992 ; Svennerholm et Gottfries, 1994). En effet l'augmentation de la quantité de lipides oxydés est observée dans les mêmes régions du cerveau que celles lésées au cours de la pathologie.

1.2- Oxydation des protéines

L'oxydation des protéines par les espèces réactives de l'oxygène entraîne la modification de leur structure et par conséquent la perte de leur fonction biologique. Ce changement de conformation peut avoir lieu à deux niveaux différents : le premier entraîne la casse des liaisons peptidiques ce qui modifie la chaîne peptidique et le second modifie les peptides par addition de produits issus de la peroxydation lipidique comme par exemple le 4-HNE. Les protéines oxydées forment alors des agrégats ou des complexes qui ne pourront plus être dégradés par les protéases, et dont l'accumulation peut entraîner la mort cellulaire.

Certains acides aminés sont plus sensibles à l'oxydation que d'autres comme par exemple la lysine, l'arginine et l'histidine. En 1996, Smith *et al.*, ont décrit grâce à des études faites sur cerveaux *post-mortem*, que la quantité de protéines oxydées est remarquablement élevée dans les lobes frontaux, pariétaux et occipitaux, et dans l'hippocampe de patients atteints de la MA.

1.3- Oxydation des acides nucléiques

L'attaque des radicaux libres sur l'ADN (notre support héréditaire) entraîne l'hydroxylation de ses bases. En effet, l'ADN nucléaire est la cible du stress oxydant qui aura des effets mutagènes ou bien qui entrainera l'arrêt des réplifications de l'ADN.

Depuis les années 90, on sait que les niveaux de bases oxydées sont plus importants dans le cerveau des patients atteints de la MA que chez les autres personnes (Mecocci *et al.*, 1994) et que l'expression des protéines réparatrices de l'ADN y est aussi plus élevée. Cette augmentation se limite uniquement aux neurones où on a pu observer une augmentation des lipides et des protéines oxydées. Chez les patients atteints de la MA les taux élevés d'acides nucléiques oxydés se retrouve aussi dans le plasma et dans les lymphocytes (Mecocci *et al.*, 2002). Par ailleurs, un lien entre les mutations héréditaires de l'ADN mitochondrial et de la MA a été mis en évidence et ce sont les gènes des cytochromes oxydases « CO » I et II, au niveau de la chaîne de transport d'électrons de la mitochondrie, qui ont été mis en cause. Ces mutations ont pour conséquences une diminution de l'activité des CO ce qui entraîne une accumulation des ERO.

En résumé, la mutation de l'ADN mitochondrial entraîne la baisse de l'activité des CO qui entraîne une augmentation de la quantité des ERO. Cette augmentation d'ERO dans le cerveau entraîne une augmentation de la lipoperoxydation membranaire qui diminue l'entrée de glucose dans les neurones et par conséquent entraîne une baisse de l'activité des ATPases. Tout ceci finit par augmenter la vulnérabilité des neurones à l'excitotoxicité et à l'apoptose.

Il est donc important de noter que dans le cas de la maladie d'Alzheimer les altérations des lipides, des protéines et des acides nucléiques causées par les ERO entraînent l'apoptose des neurones (ils se « suicident »).

1.4- Rôle du stress oxydant dans l'hypothèse étiologique liée à la protéine β -amyloïde.

Comme on l'a vu dans la partie sur la physiopathologie de la maladie d'Alzheimer, l'APP (« Amyloid Precursor Protein »), située dans la membrane des neurones, est coupée par des enzymes pour former différents fragments de peptides amyloïdes. Ces fragments peuvent être solubles et donc inoffensifs pour l'organisme sain ou alors insolubles et toxiques lorsqu'ils s'accumulent dans le cas de la maladie d'Alzheimer. Dans ce dernier cas l'homéostasie est rompue.

La relation entre les peptides β -amyloïdes et la production de radicaux libres n'est pas seulement dû au fait que les mécanismes oxydants entraînent l'agrégation des β -amyloïdes en plaques séniles (elles-mêmes sources de radicaux libres). Elle est aussi dû au fait que les β -amyloïdes produisent, eux-même, des radicaux libres. Les peptides β -amyloïdes peuvent réagir avec la paroi endothéliale vasculaire des cellules pour produire en excès des facteurs entraînant la lipoperoxydation. Et même si cela concerne l'endothélium vasculaire des cellules et non les neurones ceci approuve l'hypothèse selon laquelle les peptides β -amyloïdes agissent via la production de radicaux libres pour jouer un rôle dans les processus de neurodégénérescence (Christen Y., 2000).

De même et déjà en 1994, Behl *et al.* ont démontré, grâce à la résonance paramagnétique, que les peptides amyloïdes ont la capacité de générer des radicaux libres ou de provoquer l'accumulation de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Les peptides amyloïdes sont donc capables d'induire du stress oxydant. En effet, les marqueurs du stress oxydant comme le 4-HNE ou le Cu/Zn-SOD sont en quantité plus importante au voisinage des plaques amyloïdes.

De plus, il a été rapporté que le peptide $A\beta_{42}$, et dans une moindre mesure $A\beta_{40}$, sont capables de réduire, par eux-même, le Cu^{II} en Cu^I et le Fe^{III} en Fe^{II} , alors que les formes plus courtes (comme le $A\beta_{28}$) ou $A\beta_{40}$ du rat ne le peuvent pas (Huang *et al.*, 1999). Les ions Cu^I et Fe^{II} peuvent ensuite réagir avec les molécules d'oxygène (O_2), de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou avec le radical superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), s'ils ne sont pas éliminés par les mécanismes de défense du milieu biologique, pour produire des radicaux hydroxyles *via* la réaction de Fenton.

En 2012, les chercheurs du CNRS ont mis en évidence le fait que les ions métalliques comme le fer, le cuivre ou le zinc jouent un rôle dans l'agrégation du peptide $A\beta$ et dans la production d'ERO entraînant un stress oxydant (Hureau, 2012).

Il existe donc une relation évidente entre les ERO et la toxicité du $A\beta$ pour les neurones (Bush, 2003). Par ailleurs, il a aussi été démontré qu'il y a une augmentation de la quantité d'isoprostanes dans le cerveau de patients atteints de la MA avant l'apparition des plaques amyloïdes. L'oxydation des lipides n'est donc pas seulement due au dépôt d'amyloïdes (Drake *et al.*, 2003).

1.5- Rôle du stress oxydant dans l'hypothèse inflammatoire

La neurodégénérescence du tissu cérébral dans la maladie d'Alzheimer est associée à des phénomènes inflammatoires. En effet, les marqueurs de l'inflammation sont significativement bien plus importantes dans le cerveau de patients atteints de la MA que chez une autre personne (Suh *et al.*, 2002).

La formation de plaques amyloïdes et certaines modifications oxydantes entraîneraient probablement l'activation des cellules microgliales et l'apparition d'astrocytes en réponse à ces éléments « étrangers » non reconnus. Et, comme on a pu le voir précédemment, les cellules microgliales sont à l'origine de la libération de médiateurs inflammatoires (comme les cytokines, les chémokines ...) et d'une production supplémentaire d'ERO (peroxyde d'hydrogène, peroxydant) qui peuvent induire l'apoptose et faciliter le stress oxydant.

Par ailleurs, on sait que l'interleukine-1 (médiateur inflammatoire) peut entraîner l'activation de l'APP. La production en excès de cet APP pourrait saturer l' α -sécrétase et faire dévier le mécanisme de l'APP vers la protéine β -amyloïde. Et comme on vient de le voir il existe une relation entre les ERO et la toxicité de $A\beta$.

D'autre part, les cellules microgliales sont responsables de la synthèse des ApoE qui jouent elles-aussi un rôle dans l'amyloïdogénèse. L'apoE4, après oxydation, possède une affinité pour l'APP ce qui déclenche à nouveau un phénomène inflammatoire et la génération locale de radicaux libres.

1.6- Stress oxydant et apolipoprotéine E dans la maladie d'Alzheimer.

L'apolipoprotéine E est une protéine connue habituellement pour sa fonction de transporteur du cholestérol. Il semblerait qu'elle ait aussi un rôle lors de la phase précoce de réinnervation neuronale, pour le transport et l'internalisation du cholestérol. En 1994, Poirier a mis en évidence le fait que l'ApoE possède des effets bénéfiques pour la protection neuronale mais que l'allèle Apo E4 présente beaucoup moins d'effets que l'Apo E2 ou l'Apo E3.

Concernant l'allèle Apo E4, la première étude en 1993 montrait que la fréquence de l'allèle E4 atteignait 40% dans une population de patients atteints de formes familiales tardives de la MA (Strillmater *et al.*, 1993). En 1998, Montine *et al.* décrivent le fait que les taux de marqueurs du stress oxydant (ex : 4-HNE) sont plus importants chez les personnes porteuses de l'allèle E4 de l'apoE.

Puis en l'an 2000, Ramassamy *et al.* remarquèrent que les niveaux de MDA sont aussi plus importants dans l'hippocampe et le cortex frontal lorsqu'ils sont associés à la présence de l'allèle E4. Puis ils remarquèrent que le niveau de peroxydation est inversement proportionnel à la concentration d'ApoE ce qui confirme le fait que l'ApoE est un facteur bénéfique contre la lipoperoxydation. Et que ce bénéfice est plus prononcé quand les patients n'ont pas l'allèle ApoE4. De plus certains systèmes antioxydants sont moins importants chez les personnes porteuses de E4. L'ApoE pourrait donc intervenir dans le processus pathologique de la maladie d'Alzheimer en modifiant le métabolisme lipidique cérébral.

2. Etudes, *in vitro*, de la capacité neuro-protectrice des principaux polyphénols du vin rouge.

Il n'existe pas, à l'heure actuelle, de traitements efficaces contre les désordres liés à l'âge. Cependant afin de retarder le processus normal ou pathologique de vieillissement les facteurs nutritionnels sont intéressants. Parmi eux, nous retrouvons le vin rouge, riche en polyphénols, qui est capable de réduire l'incidence de certains désordres neurologiques liés à l'âge. La capacité antioxydante est la propriété « clé » des polyphénols. Elle leur permet d'avoir un effet préventif ou réducteur du stress oxydant, mis en jeu dans de nombreuses pathologies chroniques. On peut donc dire que, par l'intermédiaire de ce pouvoir antioxydant, les polyphénols du vin (et d'autres origines) ont un rôle bénéfique sur plusieurs pathologies humaines. Leur mécanisme principal est celui de l'oxydoréduction c'est à dire qu'ils ont la capacité de transformer les radicaux libres et les autres espèces réactives, afin de les stabiliser. Mais ce n'est pas le seul mécanisme puisque beaucoup d'autres mécanismes indirects entrent aussi en jeu.

Des études *in-vitro* rapportent que certains polyphénols du vin rouge comme la quercétine, la (+)-catéchine et le resvératrol auraient des propriétés protectrices dans différents modèles cellulaires. Parmi les mécanismes d'action des composés phénoliques impliqués dans la prévention de la maladie d'Alzheimer nous pouvons citer :

- l'effet piègeur des radicaux libres,
- l'effet de chélation des cofacteurs d'oxydation des acides gras comme certains métaux (Fe^{2+} , Cu^{2+})
- l'effet inhibiteur des facteurs pro-inflammatoires impliqués dans la maladie d'Alzheimer (les cyclooxygénases, ...),
- un effet d'inhibition de l'agrégation des peptides β -amyloïdes.
- un effet inhibiteur des enzymes oxydatives
- un effet d'économie d'antioxydants endogènes (vitamines E, C et β -carotène),
- un effet d'économie d'enzymes antioxydantes (SOD, catalase et glutathion peroxydase)
- ...

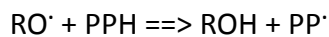
2.1- Effets directs sur les radicaux libres, pouvoir anti-oxydant.

Les polyphénols ont la capacité d'agir comme des antioxydants selon des mécanismes distincts. Leur capacité, due à la présence de leur groupement phénolique, à céder un atome d'hydrogène au radical libre peut être bénéfique lors de réaction comme la lipoperoxydation par exemple.

2.1-1. Capacité à piéger les radicaux libres

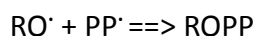
Comme on a pu le voir précédemment dans la partie sur les propriétés des polyphénols, la fonction « hydroxyle phénolique » permet aux polyphénols (PPH) de réagir avec les espèces réactives de l'oxygène comme les radicaux superoxydes, peroxydes (ROO[•]) alkoxydes (RO[•]) et hydroxyle par transfert d'hydrogène, afin de produire des radicaux phénoxy stables.

Par exemple :

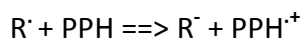


(radical phénoxy)

Ces radicaux phénoxydes peuvent ensuite réagir avec d'autres radicaux libres :



Les polyphénols peuvent aussi céder un électron. Il y aura alors transfert d'un électron du polyphénol vers le radical libre (qui en est déficitaire). Dans ce cas aussi il va se former un radical, à partir du composé phénolique, beaucoup plus stable que le radical libre.



A titre d'exemple, un des rôles les plus importants pour la stabilité génomique est la capacité des polyphénols à piéger les radicaux libres inducteurs de lésions de l'ADN notamment celles des bases oxydées.

2.1-2. Capacité à chélater les métaux lourds.

Il est important de savoir que les plaques amyloïdes contiennent de fortes concentrations d'ions métalliques (comme le cuivre, le zinc et le fer). Ces ions sont supposés jouer un rôle lors de l'agrégation des peptides β -amyloïdes et dans la production d'ERO (Hureau, 2012).

La capacité des polyphénols à chélater les métaux lourds comme les ions cuivre, aluminium, fer... pourra alors empêcher la participation de ces ions dans le processus d'amyloïdogénèse et dans les réactions de Fenton et d'Haber Weiss qui engendrent des radicaux hydroxyles fortement réactifs.

2.1-3. Influence de la structure polyphénolique

Après le piégeage des radicaux libres par les polyphénols, les radicaux phénoxyles formés sont moins réactifs que les autres radicaux à cause de leur stabilisation par résonance. Ces nouveaux radicaux aboutissent à la suppression des réactions en chaînes nocives comme la lipoperoxydation.

La capacité des polyphénols à favoriser l'élimination des radicaux libres pourrait entraîner l'inhibition de l'oxydation des lipides. Et qui dit inhibition de la lipoperoxydation, dit qu'il n'y aura plus de désorganisation cellulaire au niveau de la membrane lipidique des cellules neuronales et donc qu'il n'y aura plus de mort neuronale. Donc par leurs effets directs sur les radicaux libres les polyphénols sont capables d'agir directement sur un des facteurs entraînant ou aggravant la maladie d'Alzheimer.

Beaucoup de chercheurs ont essayé de découvrir quelles structures polyphénoliques sont responsables en plus grande partie de l'activité antioxydante dans le vin rouge et ils ont trouvé qu'il s'agissait principalement des flavonoïdes, du resvératrol et des acides phénoliques (Xia *et al*, 2010).

2.2- Effets indirects neuroprotecteurs des principaux polyphénols du vin rouge.

Comme on le sait maintenant, les vins rouges sont très riches en polyphénols. On y retrouve des molécules, de fortes activités biologiques, comme les anthocyanes, les flavanols les flavonols, le resvératrol (stilbènes) et les acides phénoliques..

Comme on a pu le croire dans le passé, les effets des polyphénols du vin ne sont pas seulement liés à leur pouvoir antioxydant mais sont aussi dus à des mécanismes d'action beaucoup plus complexes au niveau cellulaire et moléculaire. Certains sont capables d'avoir un pouvoir anti-inflammatoire, d'autres peuvent inhiber l'agrégation des peptides β -amyloïdes, ou encore moduler la voie d'expression d'enzymes antioxydantes... Dans cette partie nous nous intéresserons aux nombreuses publications liées à ce sujet.

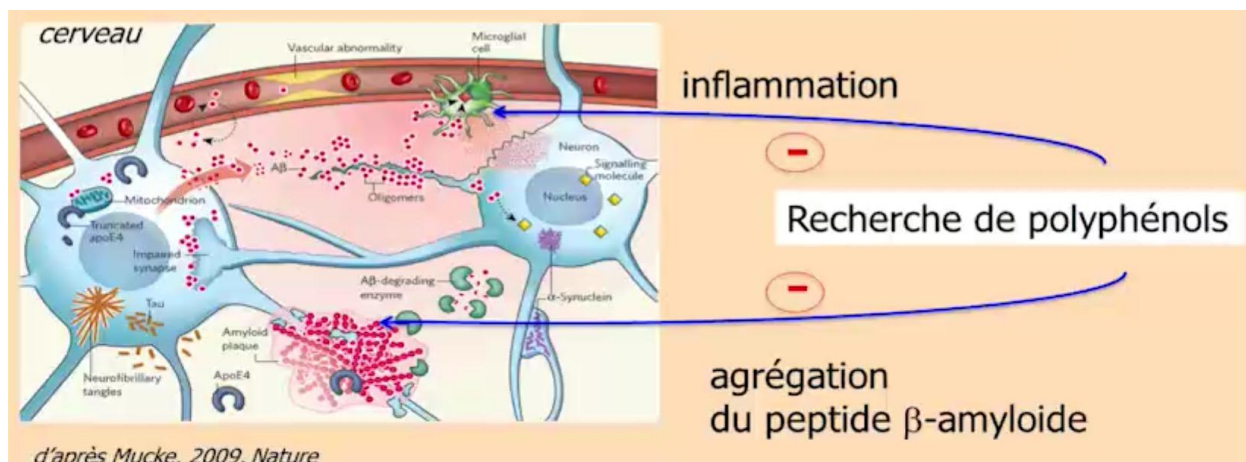


Figure 48: Recherche de polyphénols pouvant agir sur l'inflammation et l'agrégation du peptide β -amyloïde (Merillon, 2014).

2.2-1. Etudes des flavonoïdes (anthocyanes)

Trois éléments sont essentiels pour que les flavonoïdes puissent protéger les cellules neuronales : la présence d'un noyau aromatique, d'un groupement hydroxyle et un caractère hydrophobe. Sur les noyaux A et C l'efficacité de la protection diffère selon la présence ou non du groupement hydroxyle en position C3. Sur le noyau B ce sont les groupements hydroxyles en position C3' et C4' qui influencent la protection. Par exemple la quercétine est plus efficace que le kaempférol.

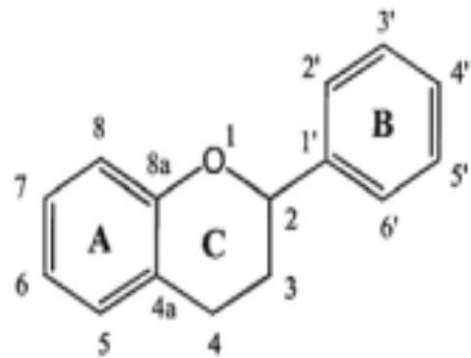


Figure 49: Structure de base des flavonoïdes

De plus, l'insaturation du noyau C des flavonoïdes est essentielle pour protéger les cellules neuronales contre la toxicité du glutamate. La quercétine, avec son noyau C insaturé joue donc un rôle protecteur. Et habituellement plus un flavonoïde est hydrophobe, plus il est efficace contre la toxicité du glutamate (Ishige *et al.*, 2001).

2.2-1.1. Les flavonoïdes et l'activité anti-amyloïde.

En 2003, Ono *et al* ont présenté des travaux reflétant l'activité anti-amyloïde de six polyphénols : la myricétine, la morine, la quercétine, le kaempférol, la catéchine et l'épicatéchine. Ils ont démontré que ces polyphénols sont capables d'inhiber la formation et l'extension de fibrilles amyloïdes et qu'ils peuvent, à des concentrations plus ou moins importantes, entraîner la déstabilisation des fibrilles A β 40 et A β 42 déjà formés. Parmi ces six inhibiteurs prometteurs, la myricétine présente l'activité la plus intéressante.

2.2-1.2. Les flavonoïdes et le pouvoir anti-inflammatoire

Les composés phénoliques du raisin, et spécialement ceux contenus dans les grains de raisin, ont montré, dans de nombreuses études, des effets anti-inflammatoires significatifs sur les rats, les souris et les êtres humains, et ça grâce aux flavonols, aux flavanols et aux procyanidines (Xia *et al*, 2010).

Lors d'une étude réalisée à l'université de Lanzhou en Chine, les chercheurs se sont intéressés à l'effet anti-inflammatoire des flavonoïdes, et en particulier des proanthocyanidines, contenus dans une poudre rouge-brunâtre extraite des pépins de raisins. Les résultats démontrèrent que les flavonoïdes sont capables de diminuer et de supprimer l'oedème inflammatoire présent chez les souris. De plus, les flavonoïdes inhibent la lipoperoxydation et la formation de NO. Nous savons déjà que l'interleukine IL-1 β et le facteur de nécrose tumo-

rale alpha (TNF- α) sont des cytokines pro-inflammatoires et qu'ils peuvent réagir avec d'autres facteurs de l'inflammation comme les PGE₂, le NO et les radicaux libres entraînant la formation et le développement de certaines pathologies inflammatoires. Ici, cette expérience montre que les anthocyanes sont capables d'altérer la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires comme IL-1 β et TNF- α entraînant l'inhibition de l'inflammation. Les flavonoïdes possèdent donc un véritable pouvoir anti-inflammatoire (Li *et al.*, 2001).

A Bordeaux, le Groupe d'Etude des Substances à activité Biologique (GESVAB) en association avec l'UFR de sciences Pharmaceutique de l'université de Bordeaux, a étudié les anthocyanes et plus particulièrement la malvidine. Ils ont développé et breveté une association de malvidine (pigment de la cuticule de raisin, *Vitis vinifera*) et de propolis qui a été commercialisé en mai 2013 sous le nom de Néogil[®]. Ce complément alimentaire est présenté comme une alternative innovante qui agit sur les composantes de l'inflammation et de la douleur sans aucune toxicité. Et cette innovation s'appuie sur les résultats d'une recherche menée depuis plus de 10 ans, suivie de 3 ans de développement et de tests scientifiques spécifiques. Néogil[®] est donc destiné aux patients atteints d'inflammation articulaire en cas de crise aiguë ou en prévention de l'apparition des crises, en complément du traitement habituel.

2.2-1.3. Autres effets des flavonoïdes

⇒ Diminution de la libération d'ERO et augmentation de la synthèse d'enzymes anti-oxydantes.

En 2011, Martin *et al.*, ont étudié les effets neuroprotecteurs des polyphénols du vin rouge (Merlot). Pour ce faire, ils ont utilisé un modèle de lignées de cellules astrocytaires humaines U373 MG. Ces cellules peuvent induire du stress oxydant par des réactions de Fenton, ce qui entraîne la production de peroxyde d'hydrogène, comme on l'a vu dans la partie 2. En premier lieu, ils ont soumis ces cellules à des inducteurs de stress oxydant. Dans un second cas ils ont au préalable incubé ces cellules dans un vin rouge (Merlot) pendant 24h, avant de les soumettre aux mêmes inducteurs de stress oxydant que dans le premier cas et dans des concentrations similaires. Comparées aux cellules du premier cas, celles du second ont montré une augmentation de la viabilité. Le rôle de protection des flavonoïdes a alors été évalué en fonction de la production d'espèces toxiques lors de la réaction de Fenton. Plus le nombre d'espèces toxiques produites est faible, plus les flavonoïdes ont inhibé cette réaction et donc plus ils sont protecteurs. A la fin de l'étude les scientifiques espagnols ont pu conclure que les polyphénols diminuent la libération d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et augmentent l'activité et l'expression des enzymes à activité anti-oxydantes comme la catalase, la superoxyde dismutase, la glutathion réductase et la glutathion peroxydase. De plus, pendant cette étude ils ont mesuré les quantités de polyphénols retrouvés en plus grandes quantités dans le vin rouge Merlot. On retrouve: les catéchines (37,8 mg/l), l'épicatéchine (52,3 mg/l), la quercétine (5,89 mg/l), les acides hydroxybenzoïques et acides galliques (16,7 mg/l) et les alcools phénoliques comme le tyrosol (15,2 mg/l). Et parmi eux, la quercétine et les procyanidines ont montré des effets neuroprotecteurs plus élevés que les autres molécules (Martin *et al.*, 2011).

2.2-2. Etudes des stilbènes (resvératrol).

Le resvératrol est une phytoalexine, c'est-à-dire une substance accumulée par la plante en réponse à l'exposition de celle-ci, à un micro-organisme ou à un stress environnemental. Dans le raisin, le resvératrol est surtout retrouvé dans la pellicule de la baie et en particulier lorsque la baie est verte. Dans le vin rouge, la concentration en resvératrol dépend surtout, et entre-autre, de la durée de macération des peaux dans le jus. Les vins les plus riches en resvératrol sont les vins de Pinot noir, de Merlot, de Grenache ou de Mourvèdre. Cette molécule, très intéressante, est sûrement la molécule la plus étudiée dans le domaine des pathologies neurodégénératives.

Cependant d'autres molécules de stilbène, comme par exemple le ptérostilbène, ont aussi été étudiées plus récemment et ont donné des résultats très prometteurs.

2.2-2.1. Les stilbènes et les peptides β -amyloïdes.

En 2003, Jang et al. démontrèrent que l'apoptose, induite par les peptides β -amyloïdes grâce au stress oxydant qu'ils provoquent dans les cellules de phéochromocytome de rats (PC12), est supprimée par le traitement au resvératrol. En premier lieu, les chercheurs ont démontré la cytotoxicité induite par les peptides β -amyloïdes grâce à une méthode de réduction du MTT. L'inhibition de la réduction du MTT par les peptides β -amyloïdes est un indicateur sensible et rapide de l'altération de l'activité réductrice des cellules. Les peptides β -amyloïdes provoquent une diminution de la réduction du MTT dans les cellules PC12. Et cette activité est partiellement rétablie grâce à la présence de resvératrol. Cependant le MTT ne reflète pas la mort cellulaire liée aux mécanismes qui n'incluent pas les problèmes liés aux fonctions mitochondriales. Ils ont donc utilisé le bleu de trypan et ont découvert que le resvératrol protège mieux les cellules PC12 avec les mêmes concentrations.

De plus, les cellules PC12 traitées avec le peptide β -amyloïdes 25-35 présentent une augmentation du taux de phospho kinase c-Jun N-terminal (JNK). Le resvératrol atténue les changements biochimiques associés au peptide β -amyloïde provoquant l'apoptose, tels que le clivage de la PARP (poly ADP ribose Polymérase), protéine nucléaire clivée spécifiquement par la caspase-3 en deux fragments apoptotiques et la diminution du rapport Bcl-XI/Bax qui est précédé de suppression de la JNK.

En 2007, Jang JH *et al.*, ont aussi démontré que le resvératrol est capable de protéger les cellules neuronales (lignée PC12) traitées par le peptide β A au préalable pendant 24h. Ce stilbène est capable de diminuer la toxicité du peptide et de diminuer la production intracellulaire d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) responsables du stress oxydant.

Toujours en 2007, Marambaud *et al.* ont décrit le fait que le resvératrol est également capable de favoriser la dégradation des peptides β -amyloïdes *via* les protéasomes.

A ce même moment, deux équipes de chercheurs ont testé l'effet du resvératrol sur deux modèles de souris transgéniques.

- Le premier groupe de souris portent le gène muté de l'APP, lié à la forme familiale de la maladie d'Alzheimer et développant d'importantes plaques β -amyloïdes sans perte neuronale.
- Et le second groupe de souris transgéniques sur-expriment la protéine p25, provoquant une dérégulation de la protéine TAU et en plus une dégénérescence neuronale importante.

Puis les scientifiques ont nourri les souris du premier groupe pendant 45 jours avec du resvératrol ajouté à leur nourriture habituelle.

En 2008, Karuppagounder *et al.* ont alors observé une diminution significative de la surface des plaques amyloïdes au niveau du cortex médial, de l'hypothalamus et du striatum mais aucun changement important au niveau de l'hippocampe qui est tout de même le foyer principal de la MA. Kim *et al.*, en 2007, avaient, eux, observé (*in vitro*) que le resvératrol, *via* l'activation de SIRT1, réduit de 50% la mort neuronale. Afin de diminuer *in vivo* la neurodégénérescence au niveau de l'hippocampe, ils ont du injecter directement le resvératrol au niveau des ventricules du cerveau des souris p25. Grâce à ça, ils ont pu observer une augmentation du phénomène d'apprentissage et une diminution du déclin cognitif. Ils ont donc pu en déduire que le resvératrol peut activer SIRT1 qui aura alors un effet neuroprotecteur.

De plus, en 2010, Rivière *et al.* ont étudié le fait que le resvératrol et le ptérostilbène peuvent, en système acellulaire, inhiber spécifiquement et respectivement, l'agrégation du peptide β A à hauteur de 63 et 35%, respectivement.

2.2-2.2. Les stilbènes et l'activité anti-inflammatoire.

La neuro-inflammation est un facteur important dans les pathologies de dégénérescence neuronale. Comme on a pu le voir précédemment les cellules microgliales sont les « gardiens » des processus immunitaires du cerveau. Mais lorsque le cerveau est soumis à des processus inflammatoires, les cellules microgliales vont s'activer et sécréter des médiateurs pro-inflammatoires et neurotoxiques. Ces médiateurs vont ensuite contribuer aux multiples dommages neuronaux que l'on peut observer dans le cerveau *post-mortem* d'une personne atteinte de la maladie d'Alzheimer. Par conséquent, inhiber la sécrétion ou même directement des médiateurs neuro-inflammatoires sécrétés par les cellules microgliales pourrait être une piste thérapeutique pour la maladie d'Alzheimer.

Dans le vin rouge, le resvératrol, présent en grande quantité, a montré des effets bénéfiques pour la santé grâce à son pouvoir anti-inflammatoire.

D'après Zang *et al.*, en 2010, deux études (l'une *in vivo* et l'autre *in vitro*) ont permis de mettre en évidence l'activité anti-inflammatoire du resvératrol et l'augmentation de l'inhibition de l'activité microgliale dans le cerveau. Ils ont démontré que ce stilbène peut réguler les médiateurs de l'inflammation comme les lipoxigénases et les cyclo-oxygénases ou encore la production de cytokines. Ceci pourrait constituer un mécanisme de neuro-protection.

Par ailleurs, d'autres stilbènes, comme le ptérostilbène, semblent aussi être capables de neuro-protection. En effet, le ptérostilbène présente, *in vivo*, une très bonne action anti-inflammatoire. En 2012, Chang *et al.* l'ont démontrée sur un modèle de souris SAMP8.

2.2-2.3. Autres effets des stilbènes.

⇒ Diminution de l'expression d'enzymes pro-oxydantes.

En 2004, Cao *et al.* ont démontré que le resvératrol est capable de diminuer l'expression de l'enzyme NADPH oxydase et de diminuer la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO).

⇒ Augmentation de l'expression d'enzymes anti-oxydantes.

En 2007, Kode *et al.* ont étudié l'effet du resvératrol par rapport au gène Nrf-2 (Nuclear erythroid-related factor 2). Ce gène, localisé dans le cytosol des cellules épithéliales, est un facteur de transcription mis en jeu dans la régulation de plusieurs gènes anti-oxydants. Il incite par exemple la biosynthèse de GSH (glutathion), qui est rappelons-le, un anti-oxydant endogène non enzymatique. Par son action activatrice de Nrf-2, le resvératrol entraîne donc une augmentation de la biosynthèse de GSH et d'autres facteurs enzymatiques ou non anti-oxydants.

En 2013, Agrawal *et al.* ont pu démontrer, grâce à des expériences menées sur des cellules PC12 en condition d'hypoxie, que le resvératrol peut restaurer l'activité enzymatique des enzymes CAT et SOD.

Le ptérostilbène est capable d'augmenter l'expression des gènes codant pour les enzymes catalase (CAT), glutathion peroxydases (GSH), GPx et superoxyde dismutases (SOD) dans plusieurs lignées cellulaires (Li *et al.*, 2013). Cependant il est nécessaire de continuer à faire des études sur cette molécule car on ne connaît pas encore ses mécanismes d'action.

Malgré toutes ces nouvelles avancées récentes et significatives dans la compréhension de la biologie des polyphénols, ils sont encore considérés de façon simpliste comme de simples antioxydants. Par ailleurs, les données récentes suggérant que leurs effets bénéfiques seraient le résultat de leurs capacités à moduler l'expression de gènes codant pour des enzymes antioxydantes, pour des facteurs neurotrophiques et des protéines cytoprotectrices pourraient jouer un rôle important dans la prévention et la progression des pathologies neurodégénératives comme la maladie d'Alzheimer (Boubekri, 2014).

Ces composés polyphénoliques antioxydants donnent vraisemblablement une véritable spécificité au raisin et au vin rouge. Les recherches sur les effets et les mécanismes d'action des composés du vin sur les pathologies chroniques doivent donc se poursuivre afin de peut être trouver enfin un jour un « remède miracle » à la maladie d'Alzheimer.

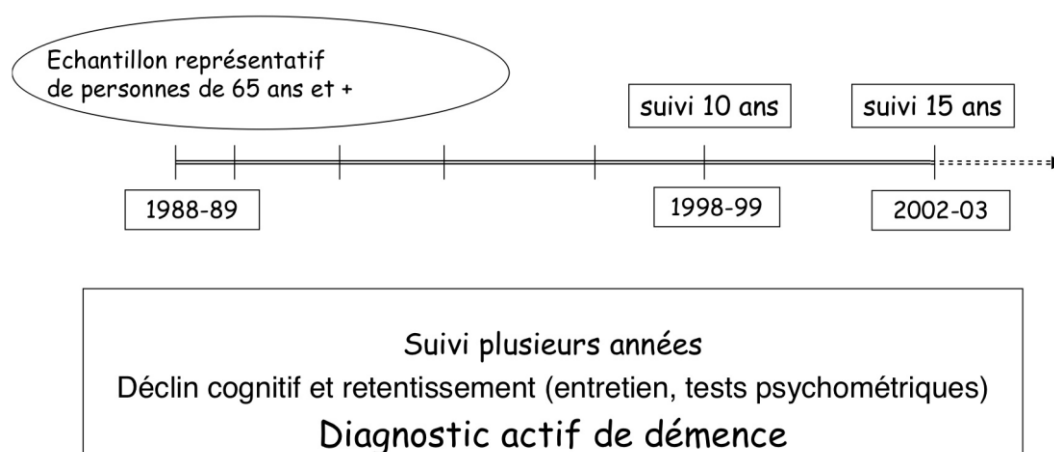
3. Etudes et bienfaits d'une consommation régulière et modérée de vin rouge.

Des études pré-cliniques et épidémiologiques, ont mis en avant le potentiel bénéfique d'une alimentation riche en polyphénols, pour prévenir, voire ralentir la progression de troubles neurodégénératifs.

3.1- Etudes cliniques

En France des études ont permis le suivi prolongé de cohorte de personnes âgées :

L'étude PAQUID (Personnes Agées Quid) est une étude de cohorte prospective ayant débutée en 1988. Elle a pour objectif d'étudier le vieillissement cérébral et fonctionnel (la perte d'autonomie) d'individus âgés de plus de 65 ans dans le but de distinguer les modalités normales et pathologiques. Un échantillon représentatif en termes d'âge et de sexe de la population âgée, vivant à domicile, soit 3777 individus, a été recruté dans deux départements de la France (Gironde et Dordogne). Ils ont bénéficié pendant le suivi d'un dépistage régulier de la démence, soit tous les un, trois, cinq, huit, et dix ans ... après la visite initiale.



Les données sur les caractéristiques socio-démographiques, l'habitat et le mode de vie, l'autonomie, l'état de santé et la symptomatologie dépressive ont été recueillies par un psychologue. Puis une série de tests psychométriques (MMSE, Wechsler, Benton, Isaacs, Zazzo, test des similitudes) a permis un premier dépistage de la démence. Les sujets répondant aux critères du DSM-III R ont ensuite été réévalués par un neurologue pour confirmer le diagnostic et tenter d'en préciser l'étiologie. Au départ le but était donc d'estimer la prévalence, l'incidence et les facteurs de risque de démence et de la maladie d'Alzheimer, puis prédire au moyen des tests neuropsychologiques les individus susceptibles de développer une démence. Concernant l'influence de la consommation de vin l'étude PAQUID a classé ces individus en 4 groupes en fonction de leur consommation:

- les non buveurs,
- les buveurs légers (entre un et deux verres par jour),
- les buveurs modérés (trois à quatre verres par jour). Ce qui correspond à une consommation moyenne de 400,2mg de composés phénoliques totaux par jour et par personne et à une consommation journalière de 83,2mg de flavan-3-ols sous forme de monomères (40% environ) et de dimères (Teissèdre et Landrault, 2000).
- et les gros buveurs (plus de quatre verres par jour).

En fonction des résultats il en est ressorti que la consommation modérée et régulière de vin (soit $\frac{1}{4}$ à $\frac{1}{2}$ litre par jour) est associée à une réduction de plus de la moitié du risque de démence ou de MA trois ans après la visite initiale. De plus, les personnes buvant 3 à 4 verres de vin rouge par jour voient décroître de 80% l'incidence de démence ou de maladie d'Alzheimer. Ces résultats, à prendre avec précaution car ce sont les premiers à aller dans ce sens là, sont à mettre en parallèle avec ceux d'un autre travail réalisé à Nantes, l'étude EVA.

L'étude EVA, réalisée à Nantes a pour objectif d'étudier les déterminants du vieillissement cognitif chez les personnes âgées de 60 à 70 ans indemnes de toute démence. Il a été montré que le fonctionnement cognitif est aussi lié à la consommation d'alcool : une consommation modérée est associée à de meilleures performances cognitives (résultat observé uniquement chez les femmes et non chez les hommes). Cependant cette étude ne prouve en aucun cas l'implication des polyphénols dans cette conclusion.

Par ailleurs, dès les années 2000, les scientifiques se sont rendus compte qu'il existe bel et bien un lien entre la consommation de vin rouge et le risque de développer la maladie d'Alzheimer. Commenges *et al.*, ont étudié le fait que la prise de flavonoïdes pourrait être associée à une plus faible incidence de cette démence. Pour cela, 1367 personnes âgées françaises de plus de 65 ans ont été suivies durant 5 ans entre 1991 et 1996. Le support de l'étude était un questionnaire permettant d'évaluer l'apport en flavonoïdes des sujets étudiés. Ils ont observés 66 cas de démence dont 46 personnes atteintes de la maladie d'Alzheimer. Leur consommation par jour, était d'environ 14,4 mg de flavonoïdes, dont 16,9% apportés par la consommation de vin rouge. C'est là que les scientifiques ont pu observer le lien inverse entre la prise de flavonoïdes et l'apparition de démence.

Ils en ont donc conclu qu'une consommation importante de flavonoïdes pouvait être un facteur efficace pour lutter contre le développement de démence.

Même de l'autre côté de l'Atlantique des chercheurs se sont intéressés à l'action de cette famille de molécules. En effet aux Etats-Unis, une étude a été réalisée sur des souris transgéniques nourries pendant 7 mois avec du vin (Cabernet sauvignon) dans leurs eaux de boisson, ce qui correspond à l'équivalent de 2 à 3 verres de vin par jour chez l'homme. Ils ont pu observer après les 11 mois de recherche une diminution du nombre de cas de maladie d'Alzheimer avec une diminution des troubles cognitifs et une diminution du déclin de mémoire spatiale. De plus, il a été observé une diminution du nombre de peptides β -amyloïdes et une diminution des agrégats de β A. Il convient quand même de rester prudent face à cette étude car comme on a pu le voir précédemment le vin est un mélange de plusieurs molécules et cette étude ne met en relation que la prise quotidienne d'une quantité modérée de vin et les signes associés à la maladie d'Alzheimer (Wang *et al.*, 2006 et 2008 ; Ho *et al.*, 2009).

Aux Pays Bas aussi ce sujet a donné lieu à des études comme celle réalisée en 1990. L'étude portait sur les facteurs de risque de démence de 7983 sujets de plus de 55 ans. Le risque de démence était significativement plus faible chez les consommateurs de un à trois verres par jour. Et le risque était réduit mais non significativement chez les faibles consommateurs et similaires chez les consommateurs de plus de 4 verres par jour ou chez les non-buveurs.

Et pour finir avec une anecdote : En 1999, Broustet conclue son éditorial en affirmant que la consommation journalière d'une demi bouteille de vin rouge avec l'alimentation ne présente pas d'effet nocif pour la santé mis à part 250 Kcal supplémentaires !

3.2- Pourquoi une si faible médiatisation des effets bénéfiques du vin ?

Comme on vient de le voir la consommation modérée de vin rouge peut, grâce à sa composition riche en polyphénols, avoir de nombreux effets bénéfiques sur beaucoup de grandes pathologies humaines dont la maladie d'Alzheimer. Alors pourquoi le vin ne bénéficie pas de « propagande » ou d'allégation de la part des médias et des pouvoirs publics ? Et pourquoi existe-t-il une réticence à prôner de façon publique les effets bénéfiques du vin ?

La cause principale est sans aucun doute : la lutte contre l'alcoolisme. Rappelons quand même que le vin rouge est une boisson alcoolisée et que l'alcoolisme est la deuxième cause de mortalité prématurée en France. Notre pays fait toujours partie des pays de l'Union Européenne les plus consommateurs d'alcool et la lutte contre l'alcoolisme est depuis des années une des priorités des gouvernements. C'est essentiellement pour cette raison que les pouvoirs publics ne peuvent pas mettre en avant les vertus du vin. En effet il est très difficile de faire campagne contre l'excès de consommation de boissons alcoolisées et de promouvoir d'un autre côté la consommation modérée de vin rouge. Même si, encore une fois, tout est question de discernement et de modération de la part du consommateur.

La loi Evin, ou loi du 10 janvier 1991 relative à la lutte contre le tabagisme et l'alcoolisme, limite fortement le droit de faire de la publicité pour les boissons alcoolisées, dans le but de protéger les jeunes des opérations de marketing.

Extrait de la loi Evin : Article L3323-2, Modifié par la LOI n°2009-879 du 21 juillet 2009- art 97 :

La propagande ou la publicité, directe ou indirecte, en faveur des boissons alcoolisées dont la fabrication et la vente ne sont pas interdites sont autorisées exclusivement :

- Dans la presse écrite à l'exclusion des publications à la jeunesse (...)
- Par voie de radiodiffusion sonore (...)
- Sous forme d'affiches et d'enseignes (...) à l'intérieur des lieux de vente à caractère spécialisé, dans des conditions définies par décret en Conseil d'Etat (...)
- Sous forme d'envoi par les producteurs, les fabricants, les importateurs, les négociants, les concessionnaires ou les entrepositaires, de messages, de circulaires commerciales, de catalogues et de brochures (...)
- Par inscription sur les véhicules utilisés pour les opérations normales de livraison de boissons, dès lors que cette inscription ne comporte que la désignation des produits ainsi que le nom et l'adresse du fabricant (...)
- Sur les services de communications en ligne à l'exclusion de ceux qui, (...) apparaissent comme principalement destinés à la jeunesse (...)

- Toute opération de parrainage est interdite lorsqu'elle a pour objet ou pour effet la propagande ou la publicité, directe ou indirecte, en faveur des boissons alcoolisées.

La publicité pour le vin est donc soumise à des règles très strictes et il n'est pas permis de faire tout et n'importe quoi surtout avec la jeunesse. Nous sommes donc bien loin de voir paraître ce genre d'affiche :



Figure 50 : Leonetto Capiello (1875-1942), « Buvez du vin et vivez joyeux », 1933. Lithographie éditée par le Ministère de l'Agriculture.

3.3- Quels conseils donner à l'officine quant à la consommation de polyphénols du vin ?

⇒ Un patient demande si la consommation de un ou deux verres de vin par jour est bonne pour la santé ?

Oui, grâce aux nombreuses études parues, on peut dire que la consommation régulière et modérée de vin est bénéfique pour la santé. Cependant cette consommation doit respecter les limites internationales fixées par les experts de l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) :



Figure 51 : Les repères de modération. Selon le site internet <http://www.vinetsociete.fr/prevention/au-quotidien>

Par ailleurs, il est nécessaire de préciser que le vin rouge est plus riche en polyphénols que les autres vins et qu'il est préférable de varier les régions de production, en conservant bien sûr une alimentation variée et équilibrée.

De plus les pathologies neurodégénératives sont des pathologies liées à l'âge avancé et qui dit personnes âgées dit personnes polymédiquées. Il est donc appréciable d'avertir le patient sur les éventuelles interactions entre un ou plusieurs médicaments qu'il est susceptible de prendre et l'alcool (voir tableau).

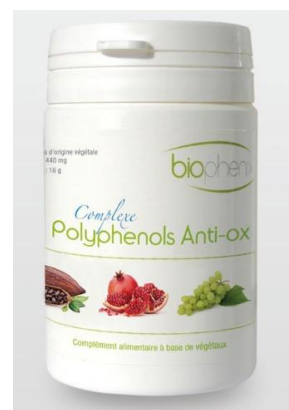
Classes thérapeutiques	Effets dues à l'interaction avec l'alcool
Anesthésiants	Diminution de l'effet anesthésiant risque de lésions hépatiques
Antalgiques	Affaiblissement des fonctions du système nerveux central
Antalgiques anti-inflammatoires	Irritation et saignement de l'estomac et du tube digestif
Anticoagulants	CA : Potentialisation de l'effet anticoagulant, avec risque important d'hémorragie CC : Diminution du potentiel anticoagulant, avec risque de thrombose
Antibiotiques	Nausées, vomissements, migraine, possibilité de convulsions, diminution de l'effet du traitement
Antidépresseurs	Potentialisation de l'effet sédatif, diminution des aptitudes mentales
Antihistaminiques	Potentialisation de l'effet sédatif, somnolence et perte d'attention, étourdissements
Anti-hypertenseurs	Potentialisation de l'effet hypertenseur, forte réduction de la pression sanguine
Anti-ulcéreux	Augmentation de la disponibilité de faibles doses d'alcool. Pour les capsules à libération prolongée, capsule dissoute plus rapidement, le principe actif est libéré sans délai
Neuroleptiques	CA : potentialisation de l'effet sédatif, diminution du potentiel de coordination, difficultés respiratoires CC : lésions hépatiques
Somnifères	Forte potentialisation de l'effet des somnifères, dépression du système nerveux central.
Tranquillisants	Potentialisation de l'effet sédatif, diminution des capacités d'attention et d'appréciation.
Antidiabétiques	CA : Prolongation de l'effet hypoglycémiant CC : Diminution de l'effet hypoglycémiant dans les deux cas : nausées, migraine, réactions sévères et imprévisibles
Capsules à libération prolongée	Capsule dissoute plus rapidement, principe actif libéré sans délai

Tableau 9 : Interactions médicamenteuses avec l'alcool. (Gayraud, 2011).
CA : consommation aiguë d'une forte dose ; CC : Consommation chronique d'alcool.

⇒ Est-il possible de retrouver ces mêmes polyphénols ailleurs dans l'alimentation ?

Bien évidemment oui, il est possible de retrouver des polyphénols ailleurs dans l'alimentation mais ce ne sont pas réellement les mêmes, surtout en ce qui concerne les stilbènes qui ne sont pas présents dans tous les fruits et légumes. A Marseille, l'équipe du Professeur Brat en coordination avec le CIRAD (Centre de coopération International en Recherche Agronomique pour le Développement) a mesuré la teneur en polyphénols totaux des fruits et légumes les plus consommés en France. En haut du classement pour les fruits on trouve la fraise, le litchi et le raisin qui contiennent les plus forts taux de polyphénols totaux et pour les légumes ce sont l'artichaut, le persil ou le chou de Bruxelles. Il faut quand même noter que ce ne sont pas les fruits et les légumes les plus consommés en France.

Nous commençons déjà à voir apparaître sur nos étagères d'officine certains compléments alimentaires à base de polyphénols comme la quercétine ou le resvératrol et il est fort probable que d'ici quelques années le nombre de références augmente considérablement.



CONCLUSION

La maladie d'Alzheimer, décrite au début du siècle par Aloïs Alzheimer est une véritable maladie neurodégénérative liée à l'âge, et non comme on a pu le croire pendant de nombreuses années un simple effet du vieillissement. Elle conduit progressivement et de façon irréversible à la perte des fonctions cognitives (troubles du langage, du jugement, de l'humeur...) ainsi qu'à la perte de la mémoire. La détérioration progressive intellectuelle et physique liée à cette pathologie est très difficilement vécue par l'entourage qui accompagne au quotidien le patient et c'est là que nous avons un rôle à jouer, en tant que pharmacien d'officine.

Du point de vue physiopathologique, deux types de lésions correspondent à deux processus neurodégénératifs différents : les plaques séniles extra-cellulaires et les dégénérescences neurofibrillaires intra-neuronales. Le diagnostic probabiliste du praticien repose sur des tests standardisés permettant seulement de caractériser les déficits mnésiques du patient. Le diagnostic de certitude ne peut avoir lieu que grâce à l'analyse histologique des lésions cérébrales *post-mortem*.

A l'heure actuelle, les traitements mis sur le marché ne sont que des traitements symptomatiques et toutes les recherches pour la conception d'une thérapie curative ont donné lieu à des échecs. Cependant ces échecs ont permis de mieux comprendre la physiopathologie de la maladie et aide déjà à éviter de tomber dans les pièges rencontrés lors du diagnostic, lors du choix de cibles thérapeutiques, lors du choix de candidats pour les nouvelles stratégies thérapeutiques et lors de l'organisation des essais cliniques. Et qui sait, peut être qu'un jour ils permettront de trouver enfin une molécule ou un ensemble de molécules pouvant traiter définitivement cette pathologie. En effet, les voies de recherche sont très variées à cause des multiples mécanismes qui interviennent lors de l'agrégation des peptides β -amyloïdes. Il semble donc évident qu'une seule classe de molécules soit insuffisante pour traiter la maladie, mais que peut-être une combinaison de plusieurs médicaments traitant plusieurs aspects de la voie APP/ β A soit plus rationnelle.

Depuis déjà plus de vingt ans les composés phénoliques, présents entre-autres dans le vin rouge, éveillent la curiosité des scientifiques.

Le vin, est une véritable richesse offerte par notre terre. Il a participé à l'histoire et à la culture en étant l'empreinte de la France, grâce à ses nombreuses qualités et à sa diversité. Mais surtout, je pense que le vin constitue une richesse scientifique non négligeable. Tout d'abord, par sa conception, grâce à un savoir-faire datant de plusieurs milliers d'années et qui évolue encore à l'heure actuelle, la transformation de la baie de *Vitis vinifera* est une succession complexe de réactions chimiques où chaque étape représente un facteur de variation de la qualité du vin. La richesse scientifique est aussi due à sa composition. Nous avons pu constater la complexité et la diversité des polyphénols présents dans le vin. Ils représentent une source d'anti-oxydants multiples que l'on n'exploite pas encore totalement aujourd'hui. Cependant, les scientifiques s'accordent aujourd'hui sur un point : les polyphénols du vin ont des propriétés bénéfiques pour la santé. Des études récentes

suggèrent même que la consommation modérée de vin rouge présente des effets bénéfiques sur les patients atteints de la maladie d'Alzheimer. En effet, grâce à leur pouvoir anti-oxydant et à leurs effets moléculaires et cellulaires plus complexes, les composés phénoliques ont démontré qu'ils étaient capables d'inhiber la formation de plaques amyloïdes et/ou parfois de promouvoir leur dégradation, qu'ils pouvaient avoir une activité anti-inflammatoire et qu'ils pouvaient agir sur les enzymes actifs dans la maladie d'Alzheimer.

Depuis des milliers d'années, la médecine chinoise a compris qu'un déséquilibre dans la balance du système dans le corps humain pouvait être la raison de maladies. Et par conséquent, que la correction de ce déséquilibre est un point essentiel pour évoluer vers la guérison. Cette théorie peut s'appliquer dans la prévention de pathologies chroniques par le contrôle du niveau d'ERO.

Pour finir, on peut dire que la maladie d'Alzheimer reste toujours une pathologie complexe qui ne nous a pas livré tous ses secrets et qu'à l'heure actuelle la consommation modérée de vin rouge, riche en polyphénols, permettrait d'améliorer l'état des patients.

Annexes :

Echelle d'Activités Instrumentales de la Vie Courante (IADL)¹

<u>Identification du Patient</u> :							
	Date :						

Capacité à ...

Cocher puis relier les points pour visualiser l'évolution :

A – ... Utiliser le téléphone			
1 – De sa propre initiative, cherche et compose les numéros	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2 – Compose un petit nombre de numéros bien connus	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3 – Répond au téléphone mais n'appelle pas	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4 – Incapable d'utiliser le téléphone	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
B – ... Faire les courses			
1 – Fait les courses de façon indépendante	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2 – Fait seulement les petits achats tout seul	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3 – A besoin d'être accompagné quelque soit la course	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4 – Totalement incapable de faire les courses	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
C – ... Préparer les repas			
1 – Prévoit, prépare et sert les repas de façon indépendante	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2 – Prépare les repas si on lui fournit les ingrédients	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3 – Est capable de réchauffer les petits plats préparés	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4 – A besoin qu'on lui prépare et qu'on lui serve ses repas	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
D – ... Entretenir le domicile			
1 – Entretiens seul la maison avec une aide occasionnelle pour les gros travaux	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2 – Ne fait que les travaux d'entretien quotidiens	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3 – Fais les petits travaux sans parvenir à garder un niveau de propreté suffisant	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4 – A besoin d'aide pour toutes les tâches d'entretien du domicile	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5 – Ne participe pas du tout à l'entretien du domicile	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
E – ... Faire la lessive			
1 – Fait toute sa lessive perso. ou la porte lui-même au pressing	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2 – Lave les petites affaires	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3 – Toute la lessive doit être faite par d'autres	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
F – ... Utiliser les moyens de transport			
1 – Peut voyager seul et de façon indépendante	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2 – Peut se déplacer seul en taxi ou par autobus	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3 – Peut prendre les transports en commun s'il est accompagné	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4 – Transport limité au taxi ou à la voiture avec accompagnement	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5 – Ne se déplace pas du tout	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
G – ... Prendre les médicaments			
1 – S'occupe lui-même de la prise (dosage et horaire)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2 – Peut les prendre par lui-même s'ils sont préparés à l'avance	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3 – Incapable de les prendre de lui-même	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
H – ... Gérer son budget			
1 – Totalement autonome (fait des chèques, paye ses factures,...)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2 – Se débrouille pour les dépenses au jour le jour, mais a besoin d'aide pour gérer à long terme	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3 – Incapable de gérer l'argent nécessaire à payer ses dépenses au jour le jour	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Identification de l'IDE (Paraphe) :

--	--	--

Annexe 1 : Test IADL :

Annexe 2 : test du MMSE

Mini-Mental State Examination dans sa version consensuelle établie par le groupe de recherche et d'évaluation des outils cognitifs (GRECO)

Orientation

Je vais vous poser quelques questions pour apprécier comment fonctionne votre mémoire. Les unes sont très simples, les autres un peu moins. Vous devez répondre du mieux que vous pouvez.

1. En quelle année sommes-nous ?
2. En quelle saison ?
3. En quel mois ?
4. Quel jour du mois ?
5. Quel jour de la semaine ?

Je vais vous poser maintenant quelques questions sur l'endroit où nous nous trouvons :

6. Quel est le nom de l'hôpital où nous sommes ?
(si l'examen est réalisé en cabinet, demander le nom du cabinet médical ou de la rue où il se trouve)
7. Dans quelle ville se trouve-t-il ?
8. Quel est le nom du département dans lequel est située cette ville ?
9. Dans quelle région est situé ce département ?
10. À quel étage sommes-nous ici ?

Apprentissage

Je vais vous dire 3 mots. Je voudrais que vous me les répétiez et que vous essayiez de les retenir car je vous les redemanderai tout à l'heure.

11. Cigare
 12. Fleur
 13. Porte
- Répétez les 3 mots.

Attention et calcul

Voulez-vous compter à partir de 100 en retirant 7 à chaque fois ?

14. 93
15. 86
16. 79
17. 72
18. 65

Pour tous les sujets, même ceux qui ont obtenu le maximum de points, demander : voulez-vous épeler le mot MONDE à l'envers : EDNOM. Le score correspond au nombre de lettres dans la bonne position. (Ce chiffre ne doit pas figurer dans le score global.)

Rappel

Pouvez-vous me dire quels étaient les 3 mots que je vous ai demandé de répéter et de retenir tout à l'heure ?

19. Cigare
20. Fleur
21. Porte

Langage

22. Montrer un crayon. Quel est le nom de cet objet ?
23. Montrer votre montre. Quel est le nom de cet objet ?
24. Écoutez bien et répétez après moi : "Pas de mais, de si, ni de et"
25. Poser une feuille de papier sur le bureau, la montrer au sujet en lui disant : Écoutez bien et faites ce que je vais vous dire :
Prenez cette feuille de papier avec la main droite
26. Pliez-la en deux
27. Et jetez-la par terre
28. Tendre au sujet une feuille de papier sur laquelle est écrit en gros caractères :

- "Fermez les yeux" et dire au sujet : *Faites ce qui est écrit*
29. Tendre au sujet une feuille de papier et un stylo, en disant :
Voulez-vous m'écrire une phrase, ce que vous voulez, mais une phrase entière.
Cette phrase doit être écrite spontanément. Elle doit contenir un sujet, un verbe, et avoir un sens.

Praxies constructives

30. Tendre au sujet une feuille de papier et lui demander :
"Voulez-vous recopier ce dessin ?"

Compter 1 point pour chaque bonne réponse.

SCORE GLOBAL/30 (les seuils pathologiques dépendent du niveau socioculturel).

Derouesné C, Poitreneau J, Hugonot L, Kalafat M, Dubois B, Laurent B. Au nom du groupe de recherche sur l'évaluation cognitive (GRECO). Le Mental-State Examination (MMSE): un outil pratique pour l'évaluation de l'état cognitif des patients par le clinicien. Version française consensuelle. Presse Méd. 1999;28:1141-8.

Kalafat M, Hugonot-Diener L, Poitrenaud J. Standardisation et étalonnage français du « Mini Mental State » (MMS) version GRECO. Rev Neuropsychol 2003 ;13(2) :209-36.

Références bibliographiques

A

Aherne, S.A. et O'Brien, N.M. (2002). Dietary flavonols : chemistry, food content, and metabolism. *Nutrition*. 18, 75-81.

Albarracin SL., Stab B., Casas Z., Sutachan JJ., Samudio I., Gonzalez J., Capani F., Morales L., et Barreto GE., (2012). Effects of natural antioxidants in neurodegenerative disease. *NutrNeurosci*. 15:19.

Allouchery P. (2006). Polyphenols du vin : rôle dans la prévention du cancer et de la maladie d'Alzheimer. *Université de Reims Champagne-Ardenne. Thèse d'exercice de pharmacie. 2006REIMP040.*

Ames, B. N., Shigenaga, K. & Hagen, T. M. (1993). Oxidants, antioxidants and the degenerative diseases of aging. *Proc. Natl. Acad. Sci.USA*. 90 : 7915-7922.

Amieva H., Andrieu C., et Buée L., (2007). Maladie d'Alzheimer, Enjeux scientifiques, médicaux et sociétaux. *INSERM*.

Amouyel Philippe et institut national de la santé et de la recherche médicale, (juillet 2014), Alzheimer

Arnous A., Makris DP., et Kefalas P., (2001). Effect of principal polyphenolic components in relation to antioxidant characteristics of aged red wines. *J Agric Food Chem*. 49: 5736-42.

Aron P., et Kennedy A., (2008). Flavan-3-ols : nature, occurrence and biological activity. *Mol. Nutri. Food Res*. 52 : 79-104.

Atta-ur-Rahman. (2003). Studies in natural products chemistry, volume 28, Bioactive natural products (Part I). *Edition Elsevier Science B. V.*, p 652.

Avidan MS, Searleman AC, Storandt M., Barnett K., Vannucci A., Saager L., Xiong C., Grant EA., Kaiser D., Morris JC., et Evers AS., (2009). Long-term cognitive decline in older subjects was not attributable to noncardiac surgery or major illness, 111 : 964-970.

B

Baroukki R. (2006), Stress oxydant et vieillissement. Médecine Sciences.

Barsacq S. (2010) . Les maladies cardiovasculaires et la consommation modérée de vin. Etat actuel des connaissances. *Thèse d'exercice de pharmacie. Université de Bordeaux II. 2010BOR2P047.*

Behl C., Davis JB., Lesley R., et Schubert D., (1994). Hydrogen peroxide mediates amyloid β -protein toxicity. *Cell*. 77 : 817-827.

Bennani, H., Fiet, J. & Adlouni, A. (2009). Impact de l'huile d'argan sur le cancer de la prostate : étude de l'effet antiprolifératif des polyphénols. *Revue Francophone des Laboratoires*. 416 : 23-26.

Bernanose P. (2012). Maladie d'Alzheimer : ApoE4, le variant qui s'attaque au système vasculaire cérébral. *Nature*.

Birks J.(2006) Cholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease. *Cochrane Database Syst Rev* : CD005593

Boubekri C. (2014) Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques. *Thèse de Doctorat à l'Université Mohamed Khider Biskra*. 210.

Bouzi M.A. (2014). Exercice physique, marqueurs antioxydants et peroxydation lipidique : effet de l'âge et du niveau d'aptitude physique. *Thèse de doctorat en Sciences et Technologies des Activités Physiques et Sportives*. 165 : P8-34.

Broustet JP. (1999). Wine and health.. *Heart*. 81 :459-460.

Bush AL., (2003) The metallobiology of Alzheimer's disease. *Trends Neurosci*. 26(4) : 207-214.

Bush AL., Masters CL., et Tanzi RE., (2003). β -amyloid, and Alzheimer's disease : tapping a sensitive connection. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 100(20) : 11193-11194.

C

Ceballos-Picot I., Nicole A., Clement M., Bourre JM., et Sinet PM., (1992). Age-related changes in antioxidant enzymes and lipid peroxidation in brains of control and transgenic mice overexpressing copper-zinc superoxide dismutase. *Mutation Res*, 275 : 281-293.

Chen Z., et Zhong C., (2013). Decoding Alzheimer's disease from perturbed cerebral glucose metabolism : implications for diagnostic and therapeutic strategies. *Prog Neurobiol*. 108 : 21-43.

Chira K., Suh J.H., Saucier C., Teissèdre P.L. (2008). Les polyphénols du raisin, *Phytothérapie* 6 :75-82.

Choi AM. et Alam J. (1996). Heme oxygenase-1: function, regulation, and implication of a novel stress-inducible protein in oxidant-induced lung injury. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, Vol. 15, No. 1, pp. 9-19.
doi: [10.1165/ajrcmb.15.1.8679227](https://doi.org/10.1165/ajrcmb.15.1.8679227)

Christen Y. (2000). Oxidative stress and Alzheimer disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 71 : 621-9.

Collège des Enseignants en Neurologie. Confusion et démences chez le sujet âgé.

Collin S. et Cruzet J., (2011). Polyphénols et procédés, *Lavoisier édition TEC&DOC*. 5-276.

Commenges D., Scotet V., Renaud S., Jacqmin-Gadda H., Barberger-Gateau P., et Dartigues JF., (2000). Intake of flavonoids and risk of dementia. *Eur J Epidemiol*. 16 :357-363.

Coudin G., (2005). Les familles de malades atteints de maladie d'Alzheimer et leur réticence par rapport à l'aide professionnelle.

D

Daccache A., (2011). Etude du mécanisme d'agrégation de la protéine TAU et son inhibition par des composés phénoliques. *Thèse de doctorat en molécules et matières condensées. Université de Lille 1.*

Damianaki A., Bakogeorgou E., Kampa M., Notas G., Hatzoglou A., Panagiotou S., Gemetzi C., Kouroumalis E., Martin PM., et Casranas E., (2000). Potent inhibitory action of red wine polyphenols on human cancer cells. *J Cell Biochem*. 78(3) :429-41.

Delattre J., Beaudoux J.L. et Bonnefort-Rousselot D., (2005). Radicaux libres et Stress oxydant, *Lavoisier édition TEC&DOC*.

De Robertis, E. D. P. et De Robertis, E. M. F. (1983). Biologie cellulaire et moléculaire. *Presses Université Laval*. p 287.

Desport JC., et Couratier P. (2002). Stress oxydant et maladies neurodégénératives. *Nutr Clin Metab*, 16 : 253-260.

Drake J., Link CD., et Butterfield DA., (2003). Oxidative stress precedes fibrillar deposition of Alzheimer's disease amyloid β -peptide (1-42) in transgenic *Caenorhabditis elegans* model. *Neurobiol Aging*, 24 : 415-420.

Donnou S. (2007). Caractérisation des cellules microgliales adultes et de leur potentiel en immunothérapie des tumeurs cérébrales. *Thèse de doctorat Immunologie. Université d'Angers*. 11-39.

Duyckaerts C., Delatour B., et Potier MC., (2009). Classification and basic pathology of Alzheimer disease. *Acta Neuropathol*.

E

El Darra N.(2013). Les composés phénoliques des raisins : étude du potentiel qualitatif et des procédés émergents d'extraction. Thèse de doctorat. Université de Compiègne et Université Saint-Joseph (Beyrouth). 2013COMP2060.

F

Fabre R. (2010). Cholestérol et maladies cardiovasculaires : intérêt des molécules d'origine naturelle. *Thèse d'exercice. Université de Bordeaux II.*

Fain, O. (2004). Mise au point : Carences en vitamine C. *La revue de médecine interne.* 25 : 872–880.

Ferri C.P., Prince M., Brayne C., Brodaty H., Fratiglioni L., Gangulu M., Hall K., Hasegawa K., Hendrie H., Huang Y., Jorm A., Mathers C., Menezes PR., Rimmer E., et Sczufca M., (2005). Global prevalence of dementia : a delphi consensus study. *Lancet.* 366: 2112-7

Folstein MF., Folstein SE., et McHugh PR., (1975). "Mini Mental State: a practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician", *Journal of psychiatric research.* vol.12, n°3 : 189-198.

G

Gallez C. (2005). Rapport sur la maladie d'Alzheimer et les maladies apparentées.

Gardes-Albert M., Bonnefont-Rousselot D., Abedinzadeh Z., et Jore D., (2003). Espèces réactives de l'oxygène, Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ? . *L'actualité chimique.* 91-96

Gatz M, Reynolds CA, Fratiglioni L., Johansson B., Mortimer JA., Berg S., Fiske A., et Pedersen NL., (2006). Role of genes and environments for explaining Alzheimer disease. *Arch Gen Psychiatry.* 63 : 168-74.

Gayraud J.B. (2011). Le vin et les effets bénéfiques de ses polyphénols sur la santé de l'Homme. *Université de Montpellier I. UFR des sciences pharmaceutiques et biologiques. Thèse d'exercice de pharmacie. 2011MON13119.*

Ghedira K. (2003). Effets bénéfiques des métabolites secondaires (alcool et polyphénols) du vin rouge. 2 : 37-41.

Ghedira K., (2005). Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. 162-169.

Gueroix M. (2013). La maladie d'Alzheimer et la place des polyphénols au sein des nouvelles stratégies thérapeutiques : analyse multi-techniques des interactions « polyphénols-peptides tau. *Thèse de doctorat. Université de Bordeaux I, Institut des sciences Moléculaires. 2013BOR14887.*

H

Hadi SM., Bhat SH., Azmi AS., Hanif S., Shamim U., et Ullah MF., (2007). Oxidative breakage of cellular DNA by plant polyphenols : a putative mechanism for anticancer properties. *Seminars in Cancer Biology*. 17 : 370 – 376.

Haute autorité de santé publique. (dec 2011). Recommandation de bonnes pratiques : maladie d'Alzheimer et maladies apparentées, diagnostic et prise en charge.

Hertog MG, Feskens EJ, Hollman PC, Katan MB., et Kromhout D., (1993). Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. *Lancet*. 342: 1007-11.

Ho L., Chen L.H., Wang J., Zhao W., Talcott ST., Ono K., Teplow D., Humala N., Cheng A., Percival SS., Ferruzzi M., Janle E., Dickstein DL., et Pasinetti GM., (2009). Heterogeneity in Red Wine Polyphenolic Contents Differentially Influences Alzheimer's Disease-type Neuropathology and Cognitive Deterioration. *J Alzheimers Dis*. 16(1): 59–72.

HOFFMANN, L. (2003). Etude du métabolisme des phénylpropanoïdes; analyse de l'interaction de la caféoyl-coenzyme A 3-O-méthyltransférase (CCoAOMT) avec son substrat et caractérisation fonctionnelle d'une nouvelle acyltransférase, l'Hydroxycinnamoyl-CoA : shikimate/quinate hydroxycinnamoyl Transférase (HCT). *Thèse de Doctorat : Université de LOUIS PASTEUR-STRASBOURG I*

Huang X., Atwood CS., Hartshorn MA., Multhaup G., Goldstein LE., Scarpa RC., Cuajungco MP., Lim J., Moir RD., Tanzi RE., et Bush AL., (1999). The A β peptide of Alzheimer's disease directly produces hydrogen peroxide through metal ion reduction. *Biochemistry* 38(24) : 7609-7616.

Hureau C. (2012) ions métalliques, cascade amyloïde et maladie d'Alzheimer. *CNRS*.

I

Ishige K. Schubert D., et Sagara Y., (2001). Flavonoids protect neuronal cells from oxidative stress by three distinct mechanisms. *Free Rad Biol Med*. 30(4) : 433-446.

J

Jang M.H., Piao X.L., Kim H.Y., Cho EJ., Baek SH., Kwon SW., et Park JH., (2007). Resveratrol oligomers from *Vitisamurensis* attenuate beta-amyloid-induced oxidative stress in PC12 cells. *Biol Pharm Bull*, 30(6):1130-1134.

Jang JH. et Surh YJ. (2003). Protective effect of resveratrol on beta-amyloid-induced oxidative PC12 cell death. *Free Rad Biol Med*. 34(8) :1100-1110.

Janle E., Chen TY., Kritchevsky J., Hargett K., Feller K., Klobusnik R., Tabaczyk O., Ferruzzi M., et Jouni Z., (2014). Pharmacokinetics and brain distribution of polyphenols from fruit extract in young pigs. *The FASEB Journal*. 28

K

Karuppagounder SS., Pinto JT., Xu H., Chen LH., Beal MF., et Gibson GE., (2008). Dietary supplementation with resveratrol reduces plaque pathology in a transgenic model of Alzheimer's disease, *Neurochemistry International*.

Keevil JG, Osman HE, Reed JD, et Folts JD (2000). Grape juice, but not orange juice or grapefruit juice, inhibits human platelet aggregation. *J Nutr*. 130: 53-6.

Kessler M., Ubeau G., et Jung L., (2002). Anti- and pro-oxydant activity of rutine and quercetin derivated. *J. Pharm. Pharmacol*. 55:1-11.

Kim D. et al. (2007). SIRT1 deacetylase protects against neurodegeneration in models for Alzheimer's disease and amyotrophic lateral sclerosis, *EMBO Journal*, vol. 26, n°13.

Kivipelto M, Helkala EL, Laakso MP., Hanninen T., Hallikainen M., Alhainen K., Soininen H., Tuomilehto J., et Nissien A., (2001). Midlife vascular risk factors and Alzheimer's disease in later life : longitudinal, population based study. *Br Med J*. 322 : 1447-1451

Kivipelto M., Laakso M.P., Tuomilehto J., Nissinen A., et Soininen H., (2002). Hypertension and hypercholesterolaemia as risk factors for Alzheimer's disease : potential for pharmacological intervention. *CNS drugs*. 16 : 435-44.

Kivipelto M., Ngandu T., Fratiglioni L., Viitanen M., Kareholt I., Winblad B., Helkala EL., Tuimilehto J., Soininen H., et Nissinen A., (2005). Obesity and vascular risk factors at midlife and the risk of dementia and Alzheimer disease. 62 : 1556-60.

Knekt P, Jarvinen R, Seppanen R, Heliovaara M., Teppo L., Pukkala E., et Aromaa A., (1997). Dietary flavonoids and the risk of lung cancer and other malignant neoplasms. *Am J Epidemiol* .146: 223-30.

L

Landrault N, Poucheret P, Jenin C, Baconin J., Gasc F., Cros G., et teissedre PL., (2000) Enrichissement phénolique de vin blanc issu du ce page chardonnay. *Ann Fals Exp Chim*. 951: 165-78.

Larson EB, Wang L, Browen JD., McCormick WC., Teri L., Crane P., et Kukull W., (2006). Exercise is associated with reduced risk for incident dementia among persons 65 years of age and older. *Ann Intern Med*. 144 : 73-81.

Legros J.P. (2008) L'invasion du vignoble par les phylloxéra.

Li W., Zhang XY., Wu YJ., et Tian X., (2001). Anti-inflammatory effect and mechanism of proanthocyanidins from grape seeds, *Acta.Pharmacol.Sin.* 22 (12): 1117-1120.

Liu B., Gao HM., Wang JY., Jeohn GH., Cooper CL. Et Hong JS., (2002). Role of nitric oxide in inflammation-mediated neurodegeneration. *Ann NY Acad Sci.* 962 :318-331.

Lobo A., Launer LJ., Fratiglioni L., Andersen K., Di Carlo A., Breteler MM., Copeland JR., Dartigues JF., Jagger C., Martinez-Lage J., Soininen H., et Hofman A., (2000). "Prevalence of dementias and major Subtypes in Europe: a collaboration study of population-based cohorts". *Neurology.* vol.54, n°11 (suppl.5), pp.4-9.

Lock M., (2006). La « molécularisation » de l'esprit et la recherche sur la démence naissante. *Sciences Sociales et Santé.* Vol 24, n°1.

M

Marek Bajda, Anna Wieckowska, Hebda M., Guzio N., Sotriffer C., et Malawska B., (2013). Structure-based search for new inhibitors of cholinesterases. *Int. J. Sci.* 14(3) : 5608-5632.

Markesbery WR et Lovell MA. (1998). Fourhydroxynonenal, a product of lipid peroxidation is increased in the brain in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging,* 19 : 33-36.

Martin S., Gonzales-Burgos E., Carretero M., et Gomez-serranillos MP., (2011). Neuroprotective properties of Spanish red wine and its isolated polyphenols on astrocytes. *Food chemistry,* 128:40-48.

Massoud F. (2009). La maladie d'Alzheimer mise à jour en 2009. *Le Médecin du Québec.* Vol 44, n°4.

Mazue F. (2011). Effet des polyphénols de vin rouge sur la prolifération cellulaire et sur le métabolisme du resvératrol. *Thèse de doctorat à l'Université de Bourgogne.*

Mecocci P., MacGarvey U. , et Beal F., (1994). Oxidative damage to mitochondrial DNA is increased in Alzheimer's disease. *Ann Neurol.* 36 : 747-51.

Mecocci P., Polidori MC., Cherubini A., Ingegneri T., Mattioli P., Catani M., Rinaldi P., Cecchetti R., Stahl W., Senin U., et Beal F., (2002). Lymphocyte oxidative DNA damage and plasma antioxydants in Alzheimer disease. *Arch Neurol.* 59 : 794-8.

Merillon J.M. (2014). vidéo, Polyphénols du vin et santé : quelques exemple

Merillon J.M., Tamsamami H., Delaunay JC., et Krisa S., (2014). Stilbènes : de la chimie à la neuroprotection. *Cahiers de Nutrition et de Diététique.* 49 : 173-180.

Milane H., (2004). La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres ; études et applications thérapeutiques. *Thèse de doctorat de l'université de Louis Pasteur*. 13-36.

Mohammedi Z., (2006). Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. *Thèse de Magistère de l'université Abou Bakr Belkaid de Tlemcen*.

Montine K., Reich E., Neely MD., Sidell K., Olson S., Markesbery W et Montine T., (1998). Distribution of reducible 4-hydroxynonenal adduct immunoreactivity in Alzheimer disease is associated with APOE genotype. *J Neuropathol Exp neuro*. 57 : 415-425.

Morelle J., (2003). L'oxydation des aliments et la santé. Ed. *François-Xavier de Guibert*.

Morelle-Lauzanne E., pharmacien Paris (2006). L'alimentation , le stress oxydatif : sources de lipoperoxydation, comment s'en protéger.

Mucke (2009). Neuroscience : Alzheimer's disease, *Nature*. 461 : 895-897.

Mucsi I. et Pragai BM., (1985). Inhibition of virus multiplication and alteration of cyclic AMP level in cell cultures by flavonoids. *Experientia*. 41(7): 930-1.

Murphy, R.M. (2007). Kinetics of amyloid formation and membrane interaction with amyloidogenic proteins. *Biochimica et biophysica acta (BBA)- Biomembranes*. 1768 : 1923-1934.

Myara I, Alamowitch C., Michel O, Heudes D., Bariety J., Guy-Grand B., et Chevalier J., (2003). Lipoprotein oxidation and plasma vitamin E in nondiabetic normotensive obese patients. *Obes Res*. 11 : 112-120.

N

Naidu, K. A. (2003). Vitamin C in human health and disease is still a mystery? An Overview. *Nutrition Journal*. 2 (7) : 1-10.

Netzel M, Strass G, Bitsch I, Könitz R., Christmann M., et Bitsch R., (2003). Effect of grape processing on selected antioxidant phenolics in red wine. *J Food Eng*. 56: 223-8.

Nicks F., Borguet Y., Delfosse S., Bicchielli D., Delaude L., Sauvage X., et Démonceau A., (2009). Microwave-assisted Ruthenium-Catalysed Reactions, Introduction générale. *Aust. J. Chem*. 62 : 184-207.

Nitsch R., Blusztajn JK., Pittas AG., Slack BE., Growdon JH., et Wurtman RJ., (1992). Evidence for a membrane defect in Alzheimer disease brain. *Proc Natl Acad Sci USA*. 89 : 1671-1675.

Nkhili E. (2009). Polyphénols de l'alimentation : extraction, interactions avec les ions du fer et du cuivre, oxydation et pouvoir antioxydant. *Thèse doctorat. Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse et Université Cadi Ayyad (Marrakech, Maroc) 2009AVI0234.*

O

Olusi SO (2002). Obesity is an independent risk factor for plasma lipid peroxidation and depletion of erythrocyte cytoprotective enzymes in humans. *Int J Obes Relat Metab Disorb.* 26 : 1159-1164.

Ono K., Yoshiike Y., Takashima A., Hasegawa K., Naiki H., et Yamada M., (2003). Potent anti-amyloidogenic and fibril-destabilizing effects of polyphenols in vitro: implications for the prevention and therapeutics of Alzheimer's disease. *J Neurochem.* 87(1) :172-81.

Orgogozo J.M., et al., (mars 2006) Facteurs de risque vasculaire et risque de maladie d'Alzheimer : revue d'études épidémiologiques. 4(1).

Orgogozo J.M. Président du comité de la 3^{ème} édition des «Aquitaine Conférences sur les Neurosciences» (du 5 au 8 novembre 2012) : « Maladie d'Alzheimer : the end of the beginning or the beginning of the end ? », Neurosciences, dossiers de presses kit, Arcachon-France.

P

Pera M., Alcolea D., Sanchez-Valle R., Guardia-Laguarta C., Colom-Cadena M., Badiola N., Suarez-Calvet M., Llado A., et Sepulveda-Falla D., (2013). Distinct patterns of APP processing in the CNS in autosomal-dominant and sporadic Alzheimer disease. *Acta Neuropathol.* 125 : 201-213.

Piquet, M.A. et Hébuterne, X. (2007). Nutrition en pathologie digestive. Edition Wolters a France, p 93.

Poirier J., Bertrand P., Kogan S., Gauthier S., Davignon J., et Bouthillier D., (1993). Apolipoprotein E polymorphism and Alzheimer's disease. *Lancet.* 342 : 170-174.

Poirier J. (1994). Apolipoprotéin E in animal models of CNS injury and in Alzheimer's disease. *Trends Neurosci.* 17 : 525 -30.

Prior RL. (2003). Fruits and Vegetables in the prevention of cellular oxidative damage. *Am J Clin Nutr.* 78 : 570-579.

R

Rapport FAO (2000) Fruit production and consumption, data from World fruit program.

Rissanen TH., Voutilainen S., Virtanen JK., Venho B., Vanharanta M., Mursu J., et Salonen J., (2003). Low intakes of fruits, berries, and vegetables are associated with excess mortality in men : The Kuopio Ischaemic Heart Diseases risk factor (KIHD) Study. *J Nutr*, 133 : 199-204.

Rivière C. (2008). Interactions Polyphénols/ β -Amyloïde : Impact dans la maladie d'Alzheimer. *Thèse de doctorat. Université de Bordeaux II*

Riviere C, Papastamoulis Y, Fortin PY, Delchier N., Andriamanarivo S., Waffo-Teguo P., Kapche G., Amira-Guebalia H., Delaunay JC., Mérillon JM., Richard T., et Monti JP., (2010). New stilbene dimers against amyloid fibril formation. *Bioorg Med Chem Lett.* 20 :3441-3.

Roussel AM., Ferry M., (2002). Stress oxydant, nutrition et vieillissement. *Nutr Biochem.* 13 : 75-79.

S

Sabiha A. (2013). Polyphénols de l'alimentation : extraction, pouvoir antioxydant et interaction avec des ions métalliques. *Thèse de doctorat. Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse et Université A. Mira (Bejaïa, Algérie) 2013AVIG0248.*

Saïd L., Tamion F., Leplingard A., Leplingard A., Beaumont C., Puy H., et Lebreton JP., (2007). Rôles protecteurs de l'hème oxygénase et des catabolites de l'hème. *Hématologie.* 13(4) : 251-65.

Schaffer S. et Halliwell B., (2011). Do polyphenols enter the brain and does it matter ? Some theoretical and practical considerations. *Genes Nutr.* 7 : 99-109.

Sevalle J., (2009). Etude de la production et de la dégradation du peptide amyloïde dans la maladie d'Alzheimer.

Smith et al., (1996). Oxidative damage in Alzheimer's disease. *Nature.* 382 : 120-121.

Société française de gériatrie et gérontologie (2005), « Consensus sur la démence de type Alzheimer au stade sévère ». 30 : 627-640.

Soderberg M., Edlund C., Kristensson K., et Dallner G., (1992). Lipid composition in different regions of the brain in Alzheimer's disease/senile dementia of Alzheimer's type. *J Neurochem.* 59 : 1646-1653.

Spedding G., Ratty A. et Middleton E J., (1989). Inhibition of reverse transcriptases by flavonoids. *Antivir. Res.* 12(2) : 99-110.

Stabbert, N, (1992). complexation of condensed tannins with metal ions in plant polyphenols. *Synthesis, properties, significance*. 421-436.

Stocker R., Yamamoto Y., McDonagh A. F., Glazer A. N. et Ames, (1987). Bilirubin is an antioxidant of possible physiological importance. *Science*. 235(4792) : 1043-1046.

Strittmatter WJ, Saunders AM, Schmechel D, Pericak-vance M., Enghild J., Salvesen GS., et Roses AD., (1993). Apolipoprotein E: high- avidity binding to β -amyloid and increased frequency of type 4 allele in late-onset familial Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci USA*. 90 : 1977-81.

Subbarao KV., Richardson JS. et Ang LC., (1990). Autopsy samples of Alzheimer's cortex show increased peroxidation *in vitro*. *J Neurochem*. 55 : 342-345.

Suh YH. et Checler F., (2002). Amyloid precursor protein, presenilins, and α -synuclein : molecular pathogenesis and pharmacological applications in Alzheimer's disease. *Pharmacol. Rev* 54 : 469-525.

Svennerholm L. et Gottfries CG. (1994). Membrane lipids, selectively diminished in Alzheimer brains, suggest synapse loss a primary event in early-onset form (type I) and demyelination in late-onset form (type II). *J Neurochem*, 62 : 1039-1047.

T

Taillandier P. (2005). Le vin : composition et transformations chimiques, *Editions Tec et Doc*.

Teissède PL, et Landrault N (2000). Wine phenolics: Contribution to dietary intake and bioavailability. *Food Res Intern*. 33 : 461-7.

Tillement J.P., Hauw J.J. et Papadopoulos V., (2012). Le défi de la maladie d'Alzheimer Synergies franco-québécoises, *Lavoisier édition*.

Tillement J.P., Hauw J.J. et Papadopoulos V., (2014). Vieillesse et démences : Un défi médical, scientifique et socio économique, *Lavoisier médecine sciences édition*.

V

Vandelle E., Poinssot B., Wendehenne D., Bentéjac M., et Pugin A., (2006). Integrated signaling network involving calcium, nitric oxide, and active oxygen species but not mitogen-activated protein kinases in BcPG1-elicited grapevine defenses. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 19(4) : 429 – 440.

Vanderweyde T, Bednar MM, Forman SA., et Wolozin B., (2010). Iatrogenic risk factors for Alzheimer's disease : surgery and anesthesia. *J Alzheimer Dis*. 111 : 964-970.

Vitrac X, Bornet A., Vanderlinde R, Bornet A., Valls J., Richard T., Delaunay JC., Mérilon JM., et Teissèdre PL., (2005). Determination of Stilbenes in brazilian wines. *J. Agric. Food Chem.* 53 : 5664-5669.

W

Wang, H., Zhao, M., Yang,B., Jiang, Y., et Rao, G. (2008). Identification of polyphénols in tobacco leaf and their antioxydant and antimicrobial activities. *Food chemistry.* 107 : 1399-1406.

Wang J., Ho L., Zhao Z., Seror I., Humala N., Dickstein DL., Thiyagarajan M., Percival SS., Talcott S., et Pasinetti GM., (2006). Moderate consumption of Cabernet Sauvignon attenuates A β neuropathology in a mouse model of Alzheimer's disease. *FASEB J.* 20:2313-2320.

Wang J, Ho L, Wei Z., et al., (2008). Grape-Derived Polyphenolics Prevent A β Oligomerization and Attenuate Cognitive Deterioration in a Mouse Model of Alzheimer's Disease. *J Neurosci.* 28(25): 6388–6392.

Wang, X. et Quinn, PJ., (2006). The structure and phase behaviour of α -tocopherol- rich domains in 1-palmitoyl-2-oleoyl-phosphatidylethanolamine. *Biochimie.* 88 : 1883-18

Waterhouse AL, et Teissèdre PL., (1997). Levels of phenolics in california varietal wines. In: Watkins TR (ed). Livre : "Wine: nutritional and therapeutic benefits". *American Chemistry Society, Washington, DC.* 11-23.

Weiner H. et Frenkel D., (2006). Immunology and immunotherapy of Alzheimer's disease. *Nat. Rev. Immunol.* 6 : 404-416.

Weyerer S., Scaufele M., Wiese B., Maier W., Tebarth F., Van den bussche H., Pentzk M., Bickel H., et Lupp M., (2011). Current alcohol consumption and its relationship to incident dementia : results from a 3-year follow-up study among primary care attenders aged 75 years and older. 40 : 456-63.

Williamso, M.P., McCrmick, T.G., Nance, C.L. et Shearer, W.T. (2006). Epigallocatechin gallate, the main polyphenol in green tea, binds to the T-czll receptor, CD4 : Potential for HIV-1 therapy. *Journal of allergy and clinical Immunology.* 118 : 1369-1374.

Willian G., Hopkins C.M.E. (2003). *Physiologie végétale*, Edition De Boeck, p14.

Y

Yang Cs, et al., (2001). Inhibition of carconigenesis by dietary polyphenlic compounds. *Annu Rev Nutr.* 21 : 381-406.

Z

Zhang F., Liu J., Shi JS., (2010). Anti-inflammatory activities of resveratrol in the brain: role of resveratrol in microglial activation. *Eur J Pharmacol.* 25 : 1-7.

SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'ordre des Pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit(e) dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

Et aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert(e) d'opprobre et méprisé(e) de mes confrères si j'y manque.

RESUME

Mots clés : maladie d'Alzheimer, polyphénols, stress oxydant, cascade amyloïde, protéine tau, inflammation.

La maladie d'Alzheimer fait partie des maladies neurodégénératives qui préoccupent actuellement la Santé Publique. Elle se caractérise par la formation, au niveau neuronal, de plaques séniles β -amyloïdes et de dégénérescences neurofibrillaires constituées de protéines tau anormalement hyperphosphorylées, conduisant progressivement et irréversiblement à la perte de la mémoire et des fonctions cognitives. Depuis plusieurs dizaines d'années, les scientifiques s'intéressent aux possibles stratégies thérapeutiques et présentent les effets bénéfiques de certaines molécules comme les polyphénols, même si les différents mécanismes physiopathologiques ne sont pas encore totalement élucidés.

Les polyphénols végétaux, anciennement appelés « tanins végétaux » représentent un groupe de métabolites secondaires complexes et exclusivement synthétisés dans le règne végétal. On les retrouve dans les plantes, de la racine jusqu'aux fruits, et dans de nombreux aliments et boissons comme le vin rouge. Et même s'ils ont d'abord été étudiés pour leurs effets protecteurs contre les agents pathogènes et les rayonnements UV chez les plantes, on leur reconnaît aujourd'hui des propriétés anti-oxydantes et des effets présumés bénéfiques pour la santé humaine.

L'objectif de cette thèse était donc d'étudier les interactions de différents polyphénols présents dans le vin rouge (les flavonoïdes et les stilbènes) avec les différents mécanismes physiopathologiques de la maladie d'Alzheimer (peptides β -amyloïdes, inflammation, enzymes pro-oxydantes...). Et ainsi grâce aux nombreuses publications scientifiques, nous pouvons dire que les polyphénols du vin rouge ont des propriétés bénéfiques pour la santé y compris chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer.

Thèse d'exercice
Grade de Docteur en Pharmacie