

Entretiens
De Bichat
Thérapeutique
13 sept. 2004
Amphi A
12h30

Intérêt de la Papaye Fermentée sur notre santé : Effets bénéfiques sur le stress oxydant et l'immunité

TR

Modérateur : Dr. P. Mantello ^{1,2}

Participants : Pr. L. Montagnier ^{2,3}, **Pr. L. Packer** ⁴, **Pr. F. Marotta** ⁵

¹ Osato Research Institute, # 1956 Inatomi Ono-Cho Ibi-Gun GIFU 501-0501 JAPAN

² Centre d'Etudes et de Prévention, 57 rue Cortambert 75116 PARIS

³ Fondation Mondiale Recherche et Prévention SIDA, 1 rue Miollis 75015 PARIS

⁴ University of Southern California 1985 Zonal Avenue Los Angeles, California, 90089-9121 USA

⁵ Medical Science Dept S.Guiseppa Hosp Milano, 4 Via Pisanello, 20146 MILAN Italie

STRESS OXYDANT & MALADIES CHRONIQUES

Intervention du Pr. Luc Montagnier*

La notion de stress oxydant est bien connue des biochimistes mais elle a fait son entrée seulement récemment dans le monde médical. Il s'agit en fait d'un déséquilibre de l'état redox au niveau des cellules, des tissus et de l'organisme.

Le métabolisme respiratoire générateur d'ATP au niveau des mitochondries produit également des molécules très réactives dérivées de l'oxygène (ROS ou radicaux libres), dont l'anion superoxyde (O_2^-), le radical hydroxyle (OH \cdot), l'hydrogène peroxyde (H_2O_2), le nitrosyl-peroxyde.

A des niveaux physiologiques, ces molécules jouent un rôle important dans les signalisations intracellulaires et l'activation de facteurs de transcription impliqués dans l'expression des gènes de division cellulaire ou d'inflammation. Secrétées par les macrophages et les polynucléaires, elles ont un rôle bactéricide important. Leur excès est normalement compensé par les défenses anti-oxydantes de l'organisme qui comprennent des produits fournis par l'alimentation (vitamines) et des enzymes et produits générés par l'organisme (superoxyde-dismutase, glutathion-peroxydase, thioredoxine, glutathion). Ce n'est que lorsque ces défenses sont dépassées qu'il existe un excès pathologique de molécules oxydantes et que l'on peut parler de stress oxydant.

* avec la collaboration des Drs. M.Brack, H.Chenal & P.Mantello

Beaucoup de facteurs endogènes et exogènes peuvent générer un stress oxydant ;

Parmi les facteurs d'environnement, citons les radiations (UVA et UVB, les rayons X des tubes cathodiques), les polluants aériens (particules de carbone recouvertes par des cancérogènes, ozone de basse altitude), la fumée de tabac, les pesticides présents dans l'alimentation.

Parmi les facteurs internes à l'organisme, les infections, notamment les infections chroniques, les réactions inflammatoires (liées ou non aux précédentes), la diminution des capacités mitochondriales liée au vieillissement, sont les facteurs les plus importants.

Si l'on ajoute qu'il existe un polymorphisme de gènes codant pour les enzymes antioxydants, on conçoit que les pathologies qui en résultent sont complexes et multifactorielles.

C'est précisément le cas de beaucoup de pathologies chroniques qui augmentent avec l'âge, telles les cancers, les maladies neurodégénératives, l'athéromatose. Bien que ces maladies aient des causes qui leur sont spécifiques, elles ont cependant toutes en commun d'être associées à un stress oxydant.

En fait, ce domaine doit quitter son empirisme actuel et entrer de plein droit dans la Médecine pour deux raisons :

1) Il existe maintenant des tests biochimiques, à la portée des laboratoires de biologie clinique spécialisés, pour déterminer les différents paramètres du stress oxydant à partir d'une simple prise de sang. Ces tests permettent d'évaluer la capacité totale anti-oxydante du sang, la teneur en vitamines C et E du plasma, les

glutathions réduit et oxydé, les activités enzymatiques (superoxyde-dismutase, glutathion-peroxydase), le contenu en micro-éléments nécessaires à ces activités (sélénium, zinc, cuivre), ainsi que le niveau de stress oxydant (LDL oxydées, anticorps anti-LDL oxydées, ADN oxydé). Il est donc possible de déterminer un profil de l'état redox du sujet, et d'instituer des traitements rationnels visant à corriger les anomalies constatées.

2) La gamme d'antioxydants utilisables s'est récemment élargie et dépasse les vitamines et micronutriments usuels (vitamine C et E, bêta-carotène, sélénium, zinc, etc.). Des produits considérés antérieurement comme non utilisables par la voie orale sont maintenant disponibles pour être utilisés par cette voie.

Citons notamment :

- **la superoxyde dismutase (SOD)** préparée à partir de melon et combinée à une protéine du germe de blé, la gliadine [1] qui la protège de la destruction gastrique et la rend absorbable au niveau intestinal.

- **le glutathion réduit** qui, associé avec la vitamine C (permettant la formation d'un complexe de transfert de charge) est lui aussi absorbable par la voie orale [2] et peut ainsi atteindre de fortes concentrations plasmatiques et tissulaires.

- enfin, **l'extrait de fruit de papaye fermenté (FPP)** pour lequel nous disposons déjà d'une assez grande expérience clinique.

L'EXTRAIT DE PAPAYE FERMENTEE : FPP

Cet extrait, fabriqué au Japon, ne contient plus les composants antioxydants du fruit frais (vitamines) pas plus que la papaine. En revanche, sa fermentation, de longue durée et à basse température, l'a enrichi en composés nouveaux, qui demandent à être caractérisés. Outre une activité anti-oxydante directe (piégeur de radicaux libres) vérifiée par technique de résonance du spin de l'électron (ESR), il a également la capacité de renforcer les défenses anti-oxydantes de l'organisme : augmentation du glutathion réduit, induction de l'activité SOD [3,4,5]. Il stimule aussi le système immunitaire [6,7], par les oligosaccharides qu'il contient (induction d'interféron gamma). In vitro, chez le rat, il induit une activation des macrophages en augmentant la production d'oxyde nitrique [8,9] (Cf. exposé de L. Packer).

Les résultats des essais cliniques en cours vont permettre de préciser l'utilisation de ce complément alimentaire en appoint de thérapeutiques spécifiques.

D'une façon générale, l'utilisation appropriée d'antioxydants nous paraît indiquée dans deux types de situation :

- en appoint de thérapeutiques spécifiques
- en médecine de prévention

LE FPP COMME COMPLEMENT ALIMENTAIRE DE THERAPEUTIQUES SPECIFIQUES

FPP en appoint à la trithérapie anti-rétrovirale

Nous décrivons ici les premiers résultats d'essais ouverts du FPP en appoint thérapeutique chez des patients sidéens traités par thérapie anti-rétrovirale. Cet essai a été effectué dans le Centre Intégré de Recherches Biocliniques d'Abidjan (CIRBA) en Côte-d'Ivoire.

Ces patients infectés par le VIH avaient été préalablement traités par thérapie anti-rétrovirale classique (2 inhibiteurs de la transcriptase inverse, un inhibiteur de protéase) pendant 6 à 12 mois et avaient tous une charge virale plasmatique indétectable (inférieure à 200 copies d'ARN viral/ml).

Cependant, comme il arrive assez souvent, la restauration de leur système immunitaire n'avait pas accompagné la chute de la charge virale, même après plusieurs mois, et leur taux de lymphocytes T CD4⁺ n'avait pas augmenté de façon significative.

Comme le montre la figure 1, la prise de FPP (6 sachets de 3g./jour) a entraîné une augmentation (doublement) du nombre de lymphocytes CD4 après 1-3 mois. Ce taux s'est maintenu même après l'arrêt de la prise de FPP, après 6 mois.

Par contre, il était nécessaire de maintenir la trithérapie anti-rétrovirale en même temps que la prise de FPP. Un des patients qui avait arrêté la trithérapie sans FPP a vu ses lymphocytes CD4 retomber au niveau antérieur.

La condition des patients s'est également améliorée avec la prise de FPP (prise de poids, augmentation du taux d'hémoglobine).

Un second essai, en double aveugle avec placebo, est actuellement en cours pour confirmer ces résultats. Des tests de stress oxydant seront également opérés durant l'essai.

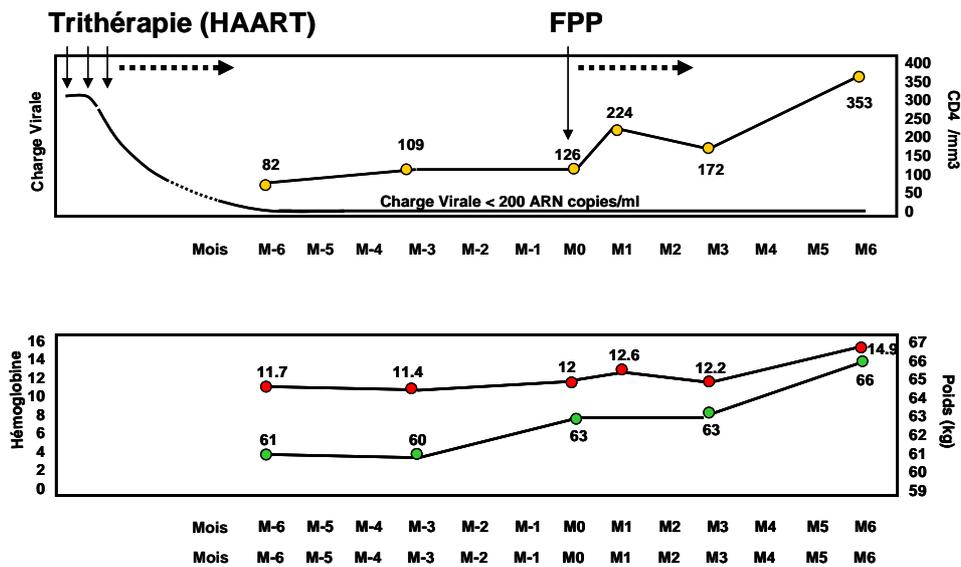


Figure 1 : Evolution du nombre de cellules CD4+ (Moyenne de 10 patients) en fonction du traitement par HAART et FPP (Fermented Papaya Preparation)

FPP en appoint des pathologies avec stress oxydant

Deux autres situations particulières nous paraissent justifier l’essai clinique d’antioxydants : le stress oxydant (et l’immunodépression) induits par une chimiothérapie anticancéreuse intensive et les inflammations intra artérielles occasionnées par la pose de stent au niveau des coronaires.

Actuellement, dans ce dernier cas, on utilise des stents enrobés de cytostatiques pour diminuer la réaction lymphocytaire. Chez plusieurs patients, nous avons obtenu le même résultat par la prise régulière de glutathion par la voie orale.[10]

Enfin, douze patients thalassémiques ont vu leur taux érythrocytaires et plaquettaires de glutathion réduit remonter avec corrélativement une diminution du taux des espèces réactives de l’oxygène après un traitement de FPP pendant 6 semaines. Etude préliminaire du Pr. E. Rachmilewitz. [11] Cf. figure 2.

Cette diminution du stress oxydant est certainement à l’origine de la récupération rapide du nombre d’érythrocytes et de leucocytes après radio- ou

chimiothérapie observée chez des patients qui reçoivent du FPP.

Ces résultats préliminaires, effectués en essais ouverts, demandent naturellement confirmation par des essais contrôlés avec placebo en double aveugle, qui sont déjà en cours dans plusieurs des situations évoquées ci-dessus.

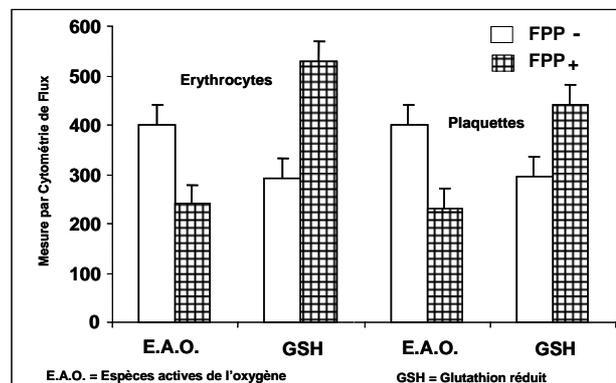


Figure 2 : Effets de la Fermented Papaya Préparation (FPP) chez des patients beta-Thalassémiques

Des essais cliniques réalisés chez des patients éthyliques en double aveugle contre placebo mettent en évidence les propriétés anti-oxydantes du FPP et son utilité dans ces pathologies (Cf. exposé du Pr. F. Marotta).

D'une façon générale, on peut considérer que dans toutes les pathologies où existe un stress oxydant, il y a lieu de corriger les anomalies biologiques constatées, par l'utilisation judicieuse d'antioxydants. Afin de couvrir l'ensemble des anomalies et du fait du manque de données pour connaître le pouvoir correcteur de chaque préparation anti-oxydante, on peut conseiller, au moins à titre temporaire, de procéder par tâtonnements successifs en utilisant plusieurs antioxydants en combinaison.

Dans les pathologies neurodégénératives lourdes (Parkinson, Alzheimer, SLA) où il existe un fort stress oxydant Cf. tableau 1, l'utilisation combinée de FPP et de glutathion/vitamine C, a permis de réduire en partie les anomalies biologiques existantes (chute de la vitamine C plasmatique, augmentation du glutathion oxydé, des LDL oxydées).

	Vit. C/Vit. E	GSH/GSSG	GPX	LDL oxydées
Valeurs de références	>1.3	156<x<705	30-55	26-117 U/I
Patients				
JPC	1.27	8.14	77	26.36
JM	1.14	33.53	43	259
CP	0.60	33.57	68	130.66
JAD	0.37	4.44	51	278.95
VV	0.77	129.55	76	423.14

Tableau 1 : Stress oxydant chez des Parkinsoniens

Des améliorations de la condition des patients, devenus peu répondeurs aux traitements classiques à base de L-Dopamine ont été également constatées : diminution du tremblement, amélioration de l'élocution.

De nouveaux essais sont nécessaires pour établir une formulation optimale.

Il est clair que beaucoup de lésions sont irréversibles dans ces maladies (plaques de la maladie d'Alzheimer, apoptose des neurones des noyaux gris centraux dans le Parkinson) et que l'on peut au mieux espérer une stabilisation ou un ralentissement de la détérioration clinique.

Plus performante serait bien entendu une intervention thérapeutique sur les facteurs étiologiques de ces maladies. Ils sont probablement multiples, mais on ne peut écarter le rôle de facteurs infectieux exogènes. A cet égard, grâce à des techniques moléculaires ultrasensibles dérivées de la PCR, il nous est maintenant

possible de rechercher le rôle de bactéries dans ces pathologies.

Du fait de l'usage massif des antibiotiques et de la pression du système immunitaire, certaines espèces de bactéries peuvent prendre des formes latentes intracellulaires, ou exister sous forme filtrantes extrêmement petites (nano-formes, nano-bactéries).

L'induction par des bactéries d'un stress oxydant peut résulter soit de la réponse cellulaire excessive, soit de la génération par les bactéries elles-mêmes de radicaux libres (peroxyde d'hydrogène en particulier du fait du manque de catalase).

Cette hypothèse est en tout cas vérifiable expérimentalement.

Ceci nous amène à mentionner une deuxième application potentielle des antioxydants, dont le FPP : leur utilisation à titre préventif.

ANTIOXYDANTS ET PREVENTION

Même sans l'apparition de pathologies lourdes, une tendance générale dans nos populations est une **apparition du stress oxydant lié à l'âge**, débutant autour de 45/50 ans. Ce stress peut se manifester notamment par une augmentation de glutathion oxydé plasmatique et une chute de vitamine C. L'origine peut en être multiple ; le vieillissement des mitochondries qui aboutit à une plus grande génération de radicaux libres, l'expansion d'infections microbiennes liée au déclin de l'immunité cellulaire associé à l'involution du thymus et l'action de facteurs d'environnement physiques ou chimiques (Figure 3).

Dès notre naissance (0), nous entrons dans une spirale qui nous conduit irrévocablement à notre disparition (+). Un programme génétique contrôle le déclin progressif du thymus, un organe-clé pour la mise en oeuvre de nos défenses immunitaires, en particulier la programmation de cellules destinées à tuer les cellules infectées par des virus, des bactéries, des parasites.

Ce programme génétique peut dépendre de l'allumage de rétrovirus qui sont dans notre ADN, dans notre génome depuis des millions d'années. On ne peut rien faire actuellement contre ce déclin. Mais on peut agir sur ses conséquences.

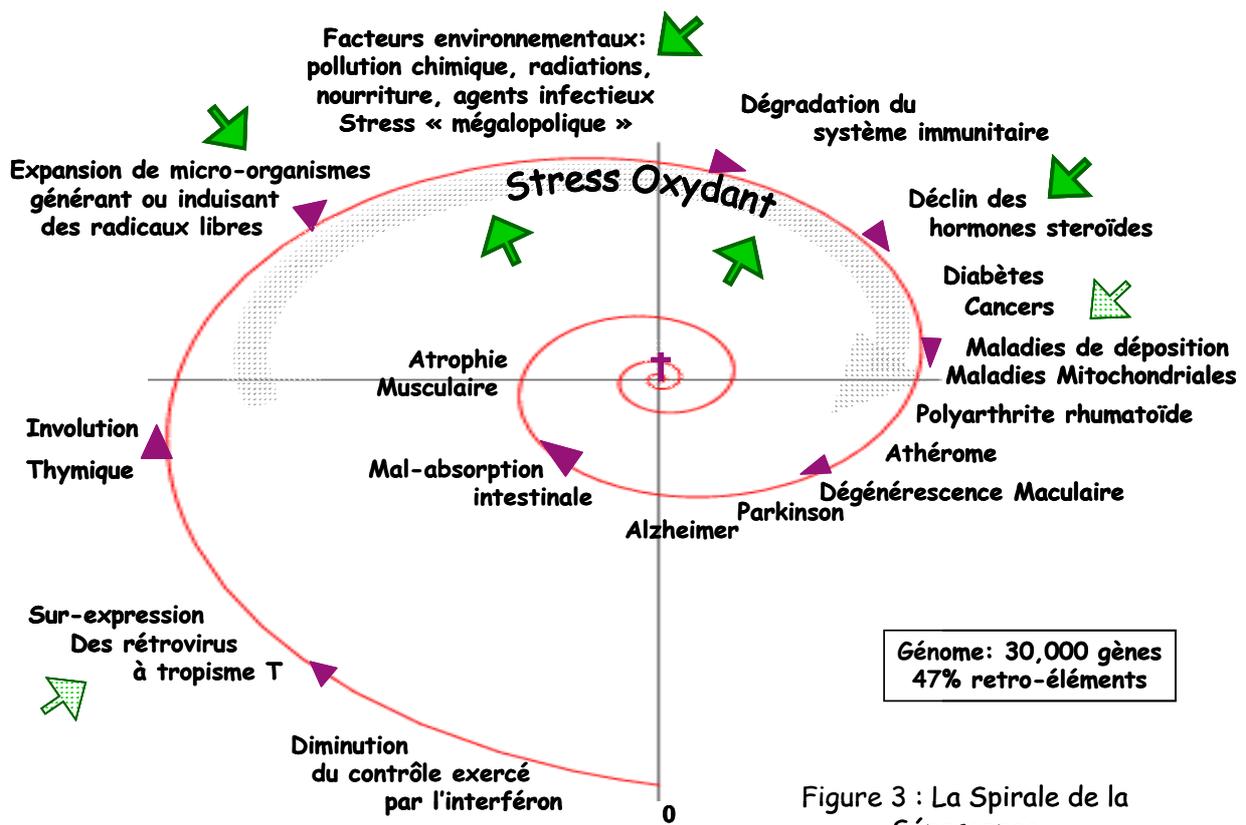


Figure 3 : La Spirale de la Sénescence

En effet, nous sommes chroniquement infectés par des germes, virus, bactéries, champignons qui sont au début parfaitement inhibés mais persistent à l'état latent grâce à nos défenses immunitaires. Lorsque celles-ci commencent à faiblir, dans le 2^{ème} quart de notre spirale (25-50 ans), ces germes commencent à se répandre et à causer des maladies. Ils génèrent notamment, dans leur phase intracellulaire des radicaux libres, les molécules réactives dérivées de l'oxygène, qui vont causer des dommages à nos tissus. Ils induisent également la formation de radicaux libres par une réaction de défense de certains de nos globules blancs.

S'ajoutant aux facteurs d'environnement extérieur et au mauvais fonctionnement des mitochondries, commence alors un stress oxydant, c'est-à-dire, un déséquilibre entre un excès de radicaux libres et une insuffisance des antioxydants que nous fabriquons (glutathion, enzymes) ou que nous ingérons (vitamines, micro-éléments). Le stress oxydant est un facteur commun à toutes les maladies chroniques qui se développent dans les 2 derniers quarts de notre vie.

Les flèches indiquent que l'on peut agir en luttant contre ce déséquilibre par une alimentation, une hygiène de vie appropriée et la prise contrôlée d'antioxydants. La suppression de ces maladies de la sénescence nous permettrait de gagner vingt ans de vie active, une révolution !!

En fait, même des sujets plus jeunes, apparemment en bonne santé ou déclarant une fatigue, sont en stress oxydant sans le savoir. Il nous apparaît qu'il s'agit d'un facteur de risque pour l'apparition d'infections, de cancers, de maladies cardiovasculaires et neurodégénératives.

On retrouve d'ailleurs dans les résultats d'analyses du stress oxydant, le reflet de comportements à risques (tabagie, éthylisme, s'ajoutant à la prise d'oestrogènes chez les femmes).

Nous formulons donc le postulat - vérifiable seulement par des études à long terme - que la correction de l'état de stress oxydant par des changements de comportement, une nutrition appropriée et si besoin, l'apport de compléments antioxydants, réduiront le

risque de ces maladies chroniques, qui handicapent terriblement les sujets âgés et obèrent les systèmes de sécurité sociale.

A cet égard, les résultats récemment rapportés de l'étude SU.VI.MAX sont encourageants :

Les sujets masculins ayant pris pendant 8 ans des suppléments antioxydants classiques (vitamine C, E, bêta-carotène, sélénium et zinc) ont eu une réduction significative dans l'apparition des cancers de la prostate (- 37%).

CONCLUSION

Il est certainement possible de faire mieux avec une utilisation rationnelle - selon les résultats des tests de laboratoire - d'une gamme élargie d'antioxydants. Une telle approche de médecine préventive implique :

1) d'une part la mise en œuvre de tests de stress oxydant par des laboratoires de biologie clinique spécialisés (auxquels s'ajouterait éventuellement la recherche d'infections microbiennes existantes).

2) d'autre part, une interprétation médicale correcte de ces tests et leur suivi (nécessité d'une formation médicale permanente et d'un enseignement universitaire spécialisé)

3) des prescriptions d'antioxydants ayant fait leurs preuves, adaptées dans le temps selon les résultats de stress oxydant.

4) enfin et surtout, un changement d'état d'esprit des citoyens, appelés à consulter régulièrement leur médecin traitant pour un check-up élargi et non simplement pour faire appel à lui en période de crise.

Les Pouvoirs Publics pourraient massivement aider à ces changements de comportement, par l'éducation et des incitations financières.

L'objectif à atteindre n'est pas hors de portée : il s'agit non pas de prolonger à tout prix la durée de la vie humaine, mais de permettre que le dernier quart de vie ne soit plus une lutte permanente contre les handicaps et un fardeau insupportable pour la société des actifs.

REFERENCES

1. VOULDOUKIS, M. CONTI, P. KRAUSS, C. KAMATE, S. BLASQUEZ, M. TEFIT, D. MAZIER, A. CALENDA, B. DUGAS
Supplementation with a Gliadin-combined plant superoxide dismutase extract promotes antioxidant defences and protects against oxidative stress. In press in *Phytotherapy research*.
2. DEMOPOLOS, H.B. ; SELIGMAN, M.L. - Pharmaceutical preparations of glutathione and methods of administration thereof United States Patent 6,586,404 July 1, 2003.
3. SANTIAGO, L.A., OSATO, J.A., LIU, J., MORI, A. - Age-related increases in superoxide dismutase activity and thiobarbituric acid-reactive substances : Effect of fermented papaya preparation FPP in aged rat brain. *Neurochemical Research*, Volume 18 Number 6, 1993; pp. 711-717 .Medline 8389992.
4. KORKINA, E., OSATO, J.A., CHIVILYEVA, I., SAMOCHATOVA, E., AFANAS'EV, I. - Radioprotective and Antioxidant Effect of Zinc Aspartate et Fermented Papaya Preparation (FPP) in Children with Acute Myelo and Lympholeukemias. *Nutrition*, Volume 11 Number 5 (Supplement), 1995. Medline 8748221
5. F. MAROTTA, REIZAKOVICH I., P. SAFRA, BARBI, G. - FPP (Fermented Papaya Preparation), a novel natural antioxidant, prevents abstinence-induced lipoperoxidation in moderate drinkers *Hepato-Gastroenterology* 44 : 1360-1366, 1997 Medline 9356856
6. A. KISHI; K. UNO; Y. MATSUBARA; J.A. OSATO; T. KISHIDA - Effects of dietary supplement on IFN producing capacity in humans *Journal of Interferon Research*. Vol. 14 (Supplement) 1; 1994.
7. SANTIAGO, L.A., UNO, K., KISHIDA, T., MIAGAWA, F., OSATO, J.A., MORI, A - Effects of FPP (Fermented Papaya Preparation) on serum components and immunological functions in humans. *Neurosciences* Volume 20 (Supplement) 1994; pp.149-159
8. KOBUCHI and L. PACKER - FPP (Fermented Papaya Preparation) modulates interferon- γ induced nitric oxide production in the mouse macrophage cell line RAW 264.7 Medline 9315292 *Biochemistry and Molecular Biology Intl*: 1997 Sep. 43:1, 141-52
9. G. RIMBACH, Y.C.PARK; Q. GUO; L. PACKER and coll - Mode of action of a fermented papaya preparation (FPP) on NO synthesis and TNF- α secretion in the mouse macrophage cell line RAW 264.7 *Life Science* 67 (2000) ; p679-694.
10. L. MONTAGNIER Unpublished data.
11. E.FIBACH, E. ; RACHMILEWITZ ; A. GOLDFARB.- In vivo and in vitro analysis of the effect of FPP treatment on thalassemic red blood cells. *Preliminary research report* .Service d'Hématologie de l'hôpital universitaire Hadassah, Jerusalem, 91120, ISRAEL.

et *in vivo*, et agit sur les cellules du système immunitaire. Dans les neutrophiles, le FPP induit une « bouffée oxydative » responsable de la production de peroxyde d'hydrogène et il induit la production d'oxyde nitrique et de cytokines dans les macrophages. Les implications de l'action du FPP sur l'activité antioxydante et sur le système immunitaire pour un vieillissement sain sont étudiées.

MÉCANISMES ANTI-OXYDANTS

Les radicaux libres (oxydants) sont des « atomes ou groupes d'atomes avec un ou plusieurs électrons non appareillés », cette propriété les rendant très instables et hautement réactifs, cherchant à récupérer l'électron manquant d'autres composés pour rétablir leur stabilité. Quelques radicaux libres, tel le très toxique radical hydroxyle (*OH) ou le moins réactif radical superoxyde (O₂*-), apparaissent normalement au cours du métabolisme oxydatif. De même, les cellules du système immunitaire comme les neutrophiles et les macrophages génèrent des taux élevés de radicaux libres qui sont cytotoxiques vis-à-vis des virus et des bactéries. Les facteurs environnementaux tels la pollution, les radiations, la fumée de cigarette produisent aussi des radicaux libres. Ils sont en continue interaction avec nos systèmes biologiques, qu'ils proviennent de notre métabolisme ou bien qu'ils soient de sources environnementales générant de l'oxydation.

Alors que les radicaux libres possèdent une définition chimique précise, les « antioxydants » font référence à un large éventail de substances ayant la capacité de neutraliser les radicaux libres en cédant un de leurs propres électrons, c'est-à-dire une anti-oxydation. Ils présentent de nombreuses propriétés dans les systèmes biologiques et de ce fait, aucune définition précise ne leur est attribuée. En général, pour être dénommé antioxydant, un composé doit être capable de donner un électron et/ou un atome d'hydrogène ou bien de prévenir et/ou retarder l'oxydation d'un substrat sensible à l'oxydation. Les antioxydants peuvent agir de différentes manières : par chélation d'un métal (prévention de la formation de radicaux libres), par capture des radicaux libres, agissant comme un briseur de chaîne (en stoppant la propagation des radicaux libres), et en agissant directement sur le réseau des antioxydant redox ou en le renforçant et/ou en régulant les signaux cellulaires et l'expression des gènes. Une activité anti-oxydante peut aussi résulter d'une induction de la phase 2 d'enzymes ou réagir avec, ou produire des substances qui vont agir sur des cibles cellulaires spécifiques.

ACTION D'UNE PREPARATION DE PAPAYE FERMENTÉE, LE FPP, SUR LES CELLULES DU SYSTÈME IMMUNITAIRE

Intervention du Pr Lester Packer
Département de Pharmacologie Moléculaire
et Toxicologie
Université de Californie du Sud
Los Angeles, CA 90089 USA
Packer@usc.edu

et le

Département de Biologie Cellulaire et Moléculaire
Université de Californie à Berkeley
Berkeley, CA 94720 USA
Packer@socrates.berkeley.edu

Vieillir en bonne santé et prévenir les maladies par l'utilisation de micronutriments est un domaine qui intéresse de plus en plus la Santé Publique et la recherche biomédicale. Il a été largement démontré que le vieillissement et les maladies chroniques sont amplement évitables en modifiant son style de vie. Les facteurs les plus importants intervenant sur la santé sont la prévention du stress oxydant, l'amélioration de la défense anti-oxydante et l'amélioration du système immunitaire. Le FPP, préparation de papaye

TABLEAU I
Mécanismes Anti-oxydants.

'Electron et/ou donneur de proton 'Prévient ou
retarde l'oxydation de substrats sensible à l'oxydation

"Activité Anti-oxydante"

Élimination de radicaux libres : Maintien l'équilibre Redox, Prévient le Stress Oxydant

Chélation d'ion métallique : Prévient la formation de radicaux libres

Réseau des anti-oxydants

Induction de la phase 2 d'enzymes

Ex : Bioflavonoïdes, curcumine,
sulphorophanes

Défense Anti-oxydante,

détoxification et
Chimio-prévention

Réaction avec cibles moléculaires

Récepteurs, facteurs de transcription,
avec haute spécificité

Protéines signaux cellulaires,
et expression des gènes

Les principaux antioxydants naturels de l'alimentation incluent la vitamine C (acide ascorbique) et la vitamine E, les polyphénols ou bioflavonoïdes, les caroténoïdes, et des micronutriments variés de minéraux essentiels pour l'activité des enzymes anti-oxydants tel le sélénium, le cuivre, le zinc, le manganèse et le fer. D'autres facteurs biologiques importants dans les antioxydants sont l'acide lipoïque, et le Co-enzyme Q qui peut-être synthétisé en petites quantités par le corps [1].

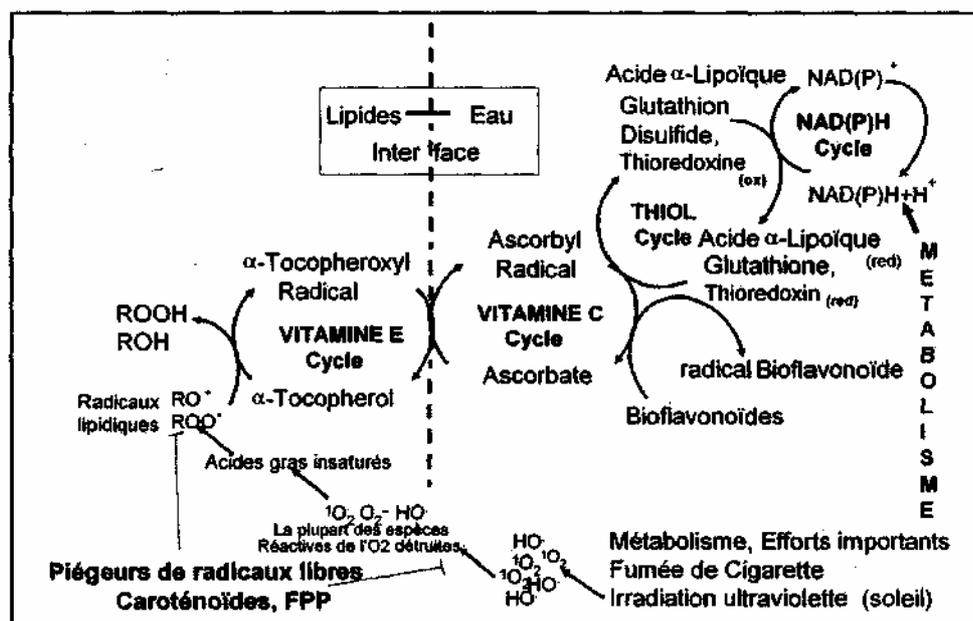
Lorsque des anti-oxydants polyphénoliques, tels la Vitamine E, C, ou les bioflavonoïdes donnent un électron ou un atome d'hydrogène pour éliminer un radical libre, ils deviennent des radicaux libres. Cependant, dès que l'électron non appareillé est délocalisé par résonance autour de son cycle aromatique, cela lui confère une plus grande stabilité et donc une moindre réactivité. Les radicaux libres d'anti-oxydants naturels sont donc moins dangereux que les radicaux qu'ils ont détruits.

STRESS OXYDANT ET LE RÉSEAU ANTI-OXYDANT

Oxydants et anti-oxydants doivent être équilibrés afin de minimiser les dommages moléculaires, cellulaires et tissulaires car si l'équilibre est en faveur des oxydants, le « stress oxydant » apparaît. Le terme de « stress oxydant » a été inventé par Helmut Sies en 1986 [2] se basant sur le déséquilibre qui intervient quand l'exposition aux oxydants modifie le statut redox normal de la plupart des antioxydants tissulaires, spécialement pour le glutathion (GSH), le premier anti-oxydant préventif de la cellule. Le gluta-

thion est habituellement présent à des taux millimolaires dans les compartiments aqueux des cellules et de leurs organelles. Dans les conditions normales, le glutathion existe sous sa forme réduite (GSH). Cependant, après exposition aux oxydants produits dans la chaîne respiratoire (cytochrome P450), aux réactions de transport d'électron impliqués dans la métabolisation de composés étrangers, à l'interaction ligand/membrane avec récepteur, à l'activation du système immunitaire, ou encore à l'exposition aux oxydants environnementaux, le GSH est oxydé en glutathion disulfide (GSSG), ce qui modifie son statut redox. Ce changement du ratio réduit/oxydé du glutathion est un exemple de « stress oxydant ». L'élimination du déséquilibre oxydatif requiert l'implication de réactions du métabolisme de réduction dépendant du NADPH et du NADH et du réseau antioxydant redox.

Le Stress oxydant [3] peut venir du métabolisme, d'exercices violents et/ou traumatiques, de l'exposition à des stress environnementaux tels l'irradiation ultraviolette et la fumée de cigarette, d'infections (microorganismes, virus, parasites, etc.), et enfin avec l'âge. Les marqueurs moléculaires des dommages oxydants occasionnés aux lipides (ex : isoprostanes, peroxydes lipidiques, tâches de vieillissement ou lipofuscines), aux protéines (ex : dérivés carbonylés et dérivés nitrotyrosine des protéines) et à l'ADN (produits de fragmentation de l'ADN et bases oxydées telle la 8-hydroxy-2-deoxyguanosine) s'accumulent pendant le vieillissement et prédisposent les tissus des sujets âgés aux maladies. D'ailleurs, de faibles taux d'espèces actives de l'oxygène (EAO) comme le peroxyde d'hydrogène, l'oxyde nitrique, et les



Rg. 1. — Le réseau anti-oxydant.

peroxynitrites affectent la signalisation cellulaire et donc l'expression des gènes [4, 5].

Tous les anti-oxydants basés sur le statut redox apparaissent agir avec un autre parmi ceux du « réseau anti-oxydant », impliquant des réactions non-enzymatiques ou enzymatiques. De cette manière, les antioxydants sont recyclés ou régénérés par des composés réducteurs biologiques.

Les anti-oxydants Redox actifs provenant de l'alimentation ou de compléments alimentaires soutiennent les défenses anti-oxydantes et aident à prévenir les dommages oxydatifs en agissant comme des pièges à radicaux libres. Les caroténoïdes, n'étant pas des antioxydants de type redox, ont aussi un effet important pour aider la défense anti-oxydante en agissant comme des « réceptacles » pour capturer les espèces actives de l'oxygène aussi bien que les radicaux peroxy-lipidiques. La présence d'un système extensif de double liaison dans leur chaîne d'hydrocarbones leur permet de capter de nombreux impacts en détruisant les radicaux libres. FPP peut aussi servir de piège à radicaux libres et spécialement pour les radicaux hydroxyles.

INDUCTION D'UNE ACTIVITÉ ANTI-OXYDANTE

Les oxydants et de nombreuses substances naturelles, préparations et extraits de plantes, et une large variété de produits chimiques réagissant avec des groupes sulfhydryls induisent la phase 2 d'enzymes.

L'induction de la phase 2 des enzymes entraîne un accroissement de l'expression des gènes et l'activité enzymatique de la défense anti-oxydante.

Des exemples de phase 2 d'enzymes, de protéines et de produits importants dans la défense antioxydante incluent la Glutamate-cysteine ligase (un taux d'enzyme limitant la synthèse de GSH), l'Hème Oxy-génase-1, la Mn Superoxyde dismutase, la NAD(P)H : Quinone réductase, la Dihydrodiol déhydrogénase, l'Expoxyde hydrolase, la Leukotriène B4 déhydrogénase, l'Aflatoxine B1 déhydrogénase, ainsi que la principale protéine liant le fer, la Ferritine. La régulation positive de ces systèmes protège contre les espèces actives de l'oxygène et la toxicité électrophile et est de ce fait très importante dans défense antioxydante, la détoxification, et la prévention du cancer [6].

RÉGULATION REDOX DE L'EXPRESSION DES GÈNES

Les antioxydants affectent l'expression des gènes de deux principales manières, soit en changeant le statut redox de la cellule [5, 7] soit directement par des interactions spécifiques avec des cibles moléculaires, et ce à basse concentration et haute spécificité.

Quelques modes de signalisation sont très sensibles aux oxydants et aux changements du statut redox de la cellule. De ce fait, les radicaux libres et les anti-oxydants doivent réguler l'expression des gènes.

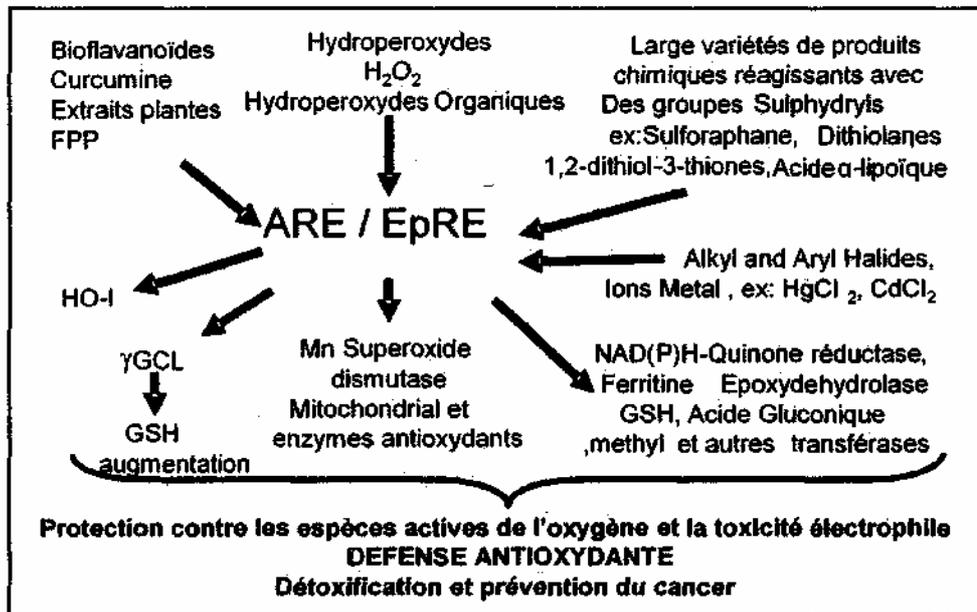


Fig. 2. — Inducteurs potentiels de la phase 2 des enzymes.

L'activation de la NADPH oxydase de la membrane plasmique, et le métabolisme mitochondrial peut générer la formation de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), quelquefois pris comme un second messenger. La production de H_2O_2 modifie le ratio gluta-thion/glutathion disulphyde, créant un environnement oxydant, lequel peut interférer sur la liaison de facteurs de transcription activés avec leur séquence d'ADN. H_2O_2 affecte aussi les cascades de signalisation comme la MAP kinase et les facteurs de transcription comme le NfKB, et inhibe les phosphatases, provoquant une hyper-phosphorylation des enzymes et des protéines lesquelles interviennent de manière importante dans la régulation cellulaire. Tous ou chacun de ces événements vont moduler l'expression des gènes. Cependant les anti-oxydants et les préparations ayant une activité antioxydante sont importantes pour la croissance, le développement, la différenciation et la fonction cellulaire [1, 8-10].

FPP - CAPTURE DES RADICAUX LIBRES ET ACTIVITÉ ANTI-OXYDANTE

FPP est produit par une fermentation avec des levures du glucose de *Carica papaya* Linn. FPP a fait l'objet de nombreuses études dans notre laboratoire et d'autres laboratoires, montrant sa capacité à éliminer *in vitro* les EAO tels les radicaux hydroxyles et superoxydes en utilisant des techniques ESR [11] et sa capacité à protéger *in vivo* le cerveau de rongeurs

âgés chez lesquels était induit un stress oxydant, par adjonction de fer [12] ou par une épreuve d'ischémie-reperfusion.

De plus, l'accumulation de produits de peroxydation lipidique et de protéines oxydées (carbonyls) a été abaissée, comparé à des contrôles, dans des homogénats de cœur d'animaux supplémentés en FPP et exposés à des radicaux peroxylys [13-16]. De ces études, il a été suggéré que les effets bénéfiques du FPP devaient être en partie à l'élimination des radicaux libres et à l'activité antioxydante. Cependant, les mécanismes sous-jacents par lesquels le FPP montre une activité anti-oxydante ne sont pas bien connus.

Le cycle Redox de transition des métaux comme le fer et le cuivre sont connus pour produire des EAO. L'action Redox du fer est généralement présente libre en solution ou sous une forme légèrement liée. L'acide Nitritotriacétique (NTA) est une substance qui forme des complexes solubles dans l'eau à pH neutre avec le fer, complexes qui sont hautement toxiques. La toxicité du NTA est due à la production de radicaux libres résultant des dommages oxydatifs créés aux lipides, protéines et ADN. Nous utilisons le NTA comme modèle d'investigation pour établir la capacité du FPP à inhiber les dommages causés par le Fe-NTA à l'ADN *in vitro* et dans les lymphocytes T humains [17].

FPP *in vitro* est capable de protéger contre les cassures des simples et doubles brins du plasmide d'ADN superhelical pUCIS induites par le Fe-NTA/ H_2O_2 .

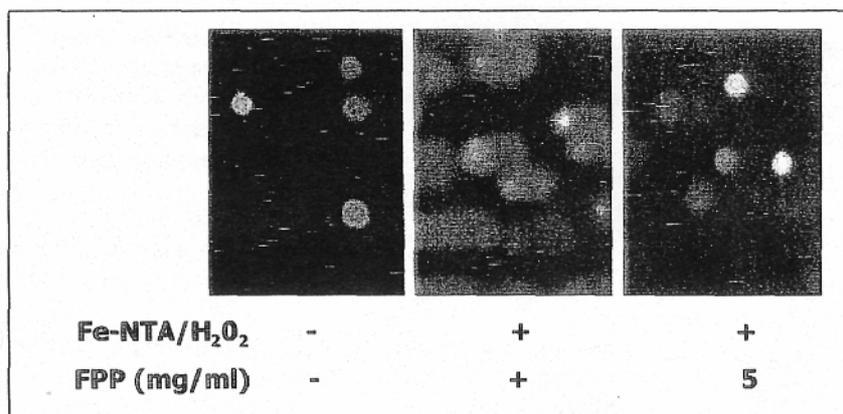


Fig. 3. - FPP protège les T-Lymphocytes contre les dommages oxydatifs de l'ADN. Les dommages de l'ADN sont mesurés par un test cornet par électrophorèse en microgel. Les T lymphocytes sont traités avec et sans Fe-NTA/H₂O₂ en absence ou présence de FPP.

Les T-Lymphocytes ont été traités avec et sans Fe-NTA/HgOg en absence ou présence de FPP. Les dommages de l'ADN ont été mesurés par un test Cornet. Des photographies des microgels d'électrophorèses des lymphocytes T sont rapportées figure 3. Le score relatif des dommages de l'ADN dans les lymphocytes T induits par le Fe-NTA/H₂O₂ est significativement diminué par la présence de FPP.

Le traitement des lymphocytes T avec Fe-NTA/H₂O₂ diminue significativement les taux de GSH cellulaire d'environ 40 p. cent comparé aux cellules contrôles non traitées (concentration absolue en GSH = 2,20 T)mol/10⁶ cellules). Cependant, après une complémentation avec des concentrations croissantes de FPP, les taux diminués de GSH par le traitement des lymphocytes T avec le Fe-NTA plus H₂Og ont été restaurés. Cet effet doit être réalisé par une induction de Phase 2 d'enzymes.

SYNOPSIS DE L'ACTION ANTI-OXYDANTE DU FPP

Parmi les critères remplis par le FPP pour être un anti-oxydant, nous avons la capture et l'élimination des radicaux libres de l'oxygène, et par ordre décroissant les radicaux hydroxyl, superoxyde, peroxy, et oxyde nitrique. Bien que des substances cédant un proton ou un électron n'aient pas été identifiées, le FPP apparaît comme ne possédant pas d'anti-oxydants de type redox mais peut renforcer le réseau anti-oxydant en agissant comme un piègeur de radicaux libres. Cependant le FPP montre une activité anti-oxydante bien déterminée comme le rapporte de nombreuses études démontrant une protection connue les dommages oxydatifs des lipides, des protéi-

nes et de l'ADN et une capacité à restaurer les taux de GSH de cellules en stress oxydant. Ces effets doivent être dus par induction de phase 2 d'enzymes, immuno-stimulation ou par induction d'autres systèmes.

EFFETS DU FPP SUR LE SYSTÈME IMMUNITAIRE

Le FPP a été décrit comme un stimulant de la production de superoxyde induit par le phorbol ester ou le zymosan dans les macrophages péritonéaux de rats, un stimulant des cellules tueuses naturelles et du taux d'IFN-γ dans le sang humain [cf. 14,18, 19]. De telles preuves indiquent que le FPP possède la capacité de réguler les fonctions des cellules immunitaires en plus de son action directe d'élimination des radicaux libres et de son action anti-oxydante. Cependant, le mode d'action du FPP et les constituants du FPP qui en sont responsables ne sont pas encore bien déterminés et font l'objet d'investigations.

EFFETS DU FPP SUR LA SYNTHÈSE DE NO ET SUR LA SÉCRÉTION DE TNF-α PAR LES MACROPHAGES [14]

L'oxyde nitrique synthétase inductible (iNOS) des macrophages génère des quantités massives d'oxyde nitrique (NO) qui contribue à la défense immunitaire de l'hôte contre les virus et les bactéries. Les monocytes-macrophages stimulés par un composant des parois bactériennes, le lipopolysaccharide (LPS) et par les cytokines comme l'interféron-γ (IFN-γ) expriment l'iNOS. De plus, le facteur de nécrose tumorale-α (TNF-α), une importante cytokine

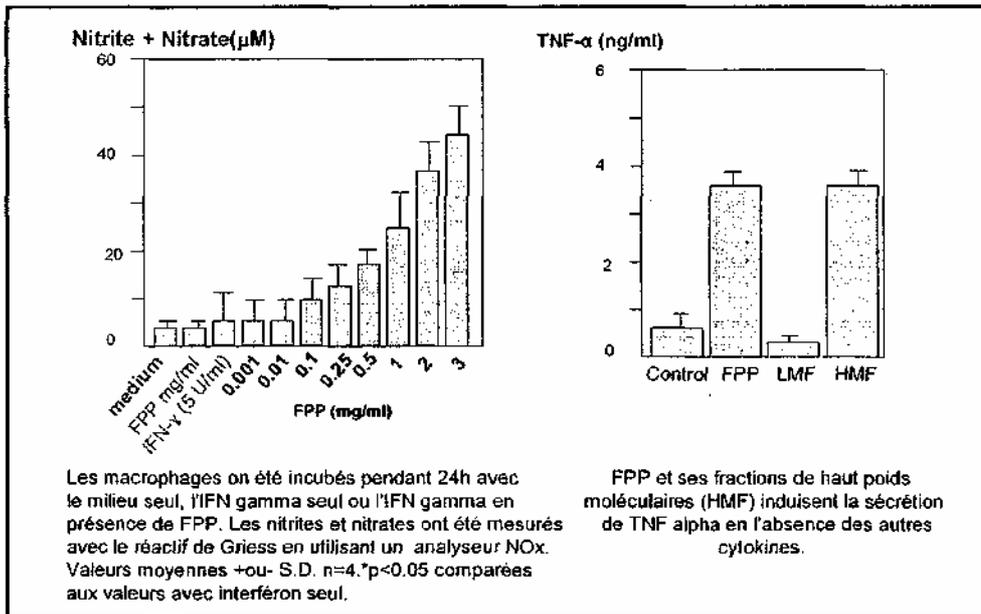


Fig. 4. — Le FPP induit la production de NO et la sécrétion de TNF- α par les macrophages.

régulatrice de l'activité antimicrobienne des macrophages agit en synergie avec l'IFN- γ dans l'induction de la synthèse du NO. A cause du rôle pivot du NO dans les activités antimicrobiennes et tumoricides des macrophages, il existe un grand intérêt de développer des agents thérapeutiques qui régulent la production de NO. Nous avons trouvé que le FPP est un puissant inducteur dans les macrophages de la production de NO et de la sécrétion de TNF- α . Le TNF- α est une des cytokines régulatrices principales dans l'induction des activités antimicrobiennes des macrophages. Le TNF- α agit en synergie avec l'IFN- γ et induit la synthèse de NO. Cependant, il était intéressant de déterminer si le FPP ou ses hautes et basses fractions de poids moléculaires préparées à partir du FPP interviennent dans la sécrétion du TNF- α . Les macrophages non activés sécrètent des quantités négligeables de TNF- α dans le milieu, alors que l'IFN- γ plus FPP augmente substantiellement la production de TNF- α . Le traitement concomitant d'IFN- γ avec le FPP, ou avec ses basses et hautes fractions moléculaires, entraîne une augmentation postérieure de la sécrétion de TNF- α . Cependant, en l'absence d'IFN- γ , la sécrétion de TNF- α était significativement améliorée uniquement par le FPP ou sa fraction de haut poids moléculaire (HMF). Dans les macrophages non stimulés, la sécrétion de TNF- α a été améliorée seulement par la HMF ou le FPP. Depuis nous avons trouvé que les fractions solubles dans l'eau du FPP ne contenaient pas de lipide A,

nos résultats indiquent que le FPP est un activateur des macrophages qui augmente la synthèse de NO et la sécrétion de TNF- α indépendamment des lipopolysaccharides. Il est donc évident que le FPP contient des substances non encore identifiées qui induisent la sécrétion de TNF- α .

ANTIOXYDANTS ET FONCTION DU SYSTÈME IMMUNITAIRE DANS LE VIEILLISSEMENT SAIN

Les facteurs essentiels d'un vieillissement sain et d'une extension de la moyenne de la durée de vie humaine ont été attribuées à trois modifications majeures du style de vie : Les avancées médicales dans le contrôle des maladies infectieuses, une meilleure hygiène de vie, et une meilleure alimentation. Les fonctions qui limitent la durée de vie humaine ont été prédites par la théorie du vieillissement sur le contrôle primordial de l'entretien du corps. On retrouve en exergue la réparation de l'ADN et sa réplication, la synthèse des protéines, la suppression des tumeurs, le stress des protéines, les micronutriments, les antioxydants et le fonctionnement du système immunitaire. Puisque le principal facteur déterminant l'équilibre optimal est le niveau de la mortalité environnementale, on peut prédire qu'en moyenne il en sera de même pour la longévité [20].

Chez un même individu, une fonction peut avoir une longévité prévue plus longue qu'une autre. Il est clair que les facteurs de style de vie peuvent être modifiés,

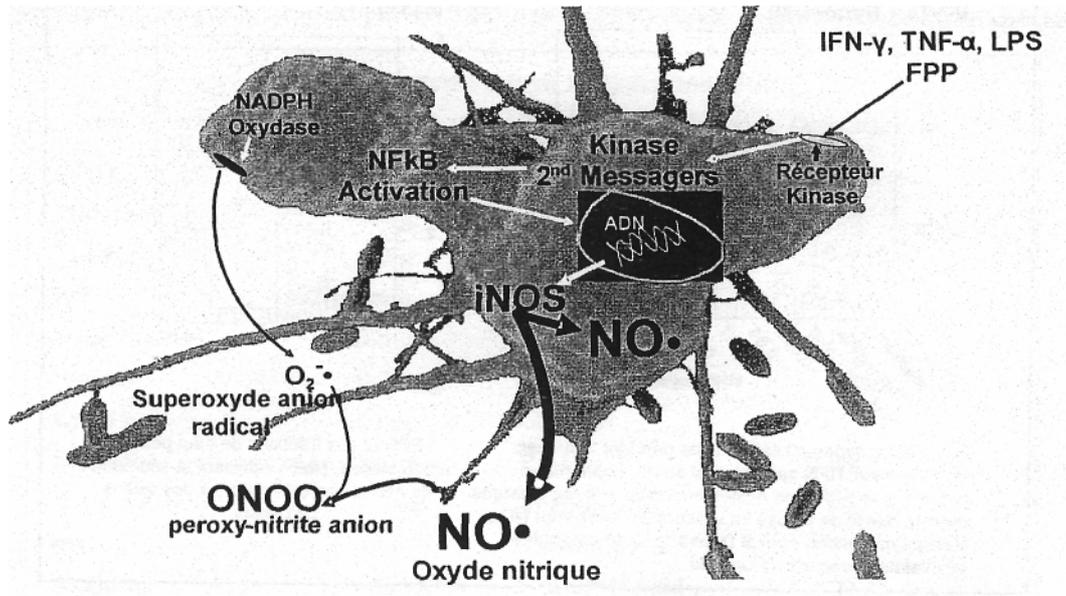


Fig. 5. - Production d'oxyde nitrique dans les macrophages est induit après activation par les cytokines et autres immunostimulants.

La formation de $O_2^{\cdot-}$ et de NO dans le même environnement entraîne la réaction rapide de formation de peroxynitrite hautement toxique.

ce qui permettrait d'améliorer l'activité anti-oxydante et le fonctionnement du système immunitaire. De tels changements de style de vie sont supposés être de fort déterminants d'un vieillissement sain.

En effet, des études sur des centaines donnent d'importants indices sur les modifications des facteurs de style de vie pour un vieillissement sain. Le groupe de recherches du Professeur C. Franceschi a réalisé depuis 1988 une étude à l'échelle nationale sur les centenaires italiens. Il était important de remarquer que quelques capacités de réponses immunitaires étaient diminuées alors que d'autres étaient augmentées ou restaient inchangées ; En 1995, le Professeur Franceschi a proposé « une théorie modifiée de l'immuno sénescence. Nous citerons leurs trois principales conclusions tirées d'une récente publication [21].

L'immuno sénescence humaine se présente comme un remodelage complexe, dans laquelle l'immunité de type clonal se détériore, pendant que l'immunité innée ancestrale est largement conservée.

Des expositions continues aux antigènes entraînent un stress antigénique chronique constant, qui est responsable, associé à l'involution du thymus, de l'accu-

mulation de cellules T mémoires et fonctionnelles et de l'épuisement des cellules T immatures. Le vieillissement est caractérisé par un état inflammatoire chronique particulier que nous proposons d'appeler 'inflammaging' que l'on peut transposer en Français par « inflammaging », qui apparaît être sous contrôle génétique, et qui est au détriment de la longévité, ce qui est plus évident chez l'homme que chez la femme. L'« Inflammaging », qui correspond à une surrégulation d'une variété de réponses anti-stress à un niveau cellulaire et moléculaire, est la conséquence de la capacité de l'organisme à s'adapter et contrer les effets d'un grand nombre de facteurs de stress, qui entraînent l'accumulation de cicatrices cellulaires et moléculaires. L'inflammaging est considéré comme le fil conducteur le plus commun et important des pathologies liées à l'âge, telles la neurodégénération, l'athérosclérose, les diabètes et la sarcopénie, parmi d'autres, qui partagent toutes une pathogénie inflammatoire. On peut prédire à partir de cette théorie de l'immunosénescence que les individus soumis à des mauvaises conditions de style de vie comme l'hygiène, l'alimentation ou un manque de traitements anti-infectieux, auront en moyenne des durées de vie plus courtes que ceux ayant des conditions de vie meilleures.

Des études réalisées dans 13 pays européens, où existent des données fiables à partir des registres de naissance et de décès, mettent en évidence l'allongement significatif de la durée de vie durant le dernier siècle, constat accompagné d'une réduction de 60 p. cent de la mortalité [20]. Cette diminution conséquente de la mortalité et un tel changement de la durée de vie ont peu de chance de se reproduire avant longtemps. Dans le futur, il sera important d'ajuster avec soin des stratégies médicales (ex : médicaments) et nutritionnelles (ex : le FPP), et de diminuer les expositions à des facteurs de stress environnementaux tels la fumée de cigarette ou l'exposition prolongée au soleil afin d'améliorer le style de vie et l'espace de santé humain. D'une façon intéressante, les centenaires montrent un statut antioxydant exceptionnel caractérisé par des niveaux plasmatiques et érythrocytaires élevés de Vitamine A et Vitamine E [2].

EN CONCLUSION

Une forte activité antioxydante et un système immunitaire performant sont des propriétés essentielles pour vieillir en bonne santé et combattre efficacement infections et maladies [3, 10, 23]. Le FPP possède ces propriétés.

REFERENCES

1. PACKER L., COLMAN C. - The Antioxidant Miracle. New York, NY, John Wiley & Sons. 1999, 1-256.
2. SIES H. - Biochemistry of Oxidative Stress. *Angewandte Chemie Int. Ed.*, 1986, 25, 1058-1071.
3. MONTAGNIER L., OLIVIER R., PASQUIER C. (eds.) - Oxidative Stress in Cancer, AIDS and Neurodegenerative Diseases. From: the Oxidative Stress and Disease Series, PACKER L., CADENAS E. (Series eds.), M. DEKKER Inc, New York, 1998.
4. PACKER L., YODOI J. - Redox Regulation of Cell Signaling and its Clinical Application, From: the Oxidative Stress and Disease Series, PACKER L., CADENAS E. (Series eds.), M. DEKKER, New York, 1999.
5. SEN C.K., SIES H., BAEUERLE P. (eds.) - Antioxidant and Redox Regulation of Genes. Académie Press, 1999, 1, 556.
6. TALALAY P. - Chemoprotection against cancer by induction of phase 2 enzymes. *Biofactors*. 2000, 12(14), 5-11.
7. SEN C.K., ROY S., PACKER L. - Antioxidant and redox regulation of gene transcription. *FASEB Journal*, 1996, 70, 709-720.
8. CADENAS E., PACKER L. - Handbook of Antioxidants From: the Oxidative Stress and Disease Series, Packer L. and Cadenas E. (Series eds.), M. DEKKER Inc. New York, 2001, 1, 711.
9. PACKER L., TRABER M.G., KRAEMER K., FREI B. - The Antioxidant Vitamins C and E, AOCs press Champaign I, P. 2002, 1, 298.
10. SURH Y.J., PACKER L. eds. - Oxidative Stress, Inflammation and Health. Oxidative Stress and Disease Series, PACKER L., CADENAS E. (Series eds.) M. DEKKER Inc. New York (in press).
11. NODA Y., KOHNO M., MORI A., PACKER L. - Automated electron spin resonance free radical detector assays for antioxidant activity in natural extracts. *Methods in Enzymology*. 1999, 299, 28-34.
12. SANTIAGO L.A., OSATO J.A., LIU J., MORI A. - Age-related increases in superoxide dismutase activity and diobarbituric acid-reactive substances: Effect of fermented papaya preparation FPP in aged rat brain. *Neurochemical Research*, 1993, 18(6): 711-717. Medline 8389992.
13. KOBUCHI H., PACKER L. - FPP (Fermented Papaya Preparation) modulates interferon- γ induced nitric oxide production in the mouse macrophage cell line RAW 264.7 Medline 9315292 Biochemistry and

Molecular Biology Intl: 1997, 43, 141-152.

14. RIMBACH G., PARKY C., GUO Q., PACKER L. and coll-Mode of action of a fermented papaya preparation (FPP) on NO synthesis and TNF- α secretion in the mouse macrophage cell line RAW 264.7 *Life Science*, 2000, 67, 679-694.
15. KORKINA E., OSATO J.A., CHILYEVA I., SAMOCHATOVA E., AFANAS'EV I. - Radioprotective and Antioxidant Effect of Zinc Aspartate and Fermented Papaya Preparation (FPP) in Children with Acute Myeloid and Lympholeukemias. *Nutrition*, 11 (5), (Supplément), 1995. Medline 8748221.
16. MAROTTA F., REIZAKOVICHI., SAFRAP., BARBIG. - FPP (Fermented Papaya Preparation), a novel natural antioxidant, prevents abstinence-induced lipoperoxidation in moderate drinkers Hepato-Gastroenterology, 1997, 44, 1360-1366. Medline 9356856.
17. RIMBACH G., GUO Q., AKIYAMA T., MATSUGO S., MOINI H., VIRGILI F., PACKER L. - Ferrie Nitrotriacetate Induced DNA and Protein Damage: Inhibitory Effect of a Fermented Papaya Preparation. *Anticancer Research*, 2000, 20, 2907-2914.
18. KISHI A., UNO K., MATSUBARA Y., OSATO J.A., KISHIDA T. - Effects of dietary supplement on IFN producing capacity in humans. *Interferon Research*. 1994, 14 (Suppl.) 1.
19. Santiago L.A., Uno K., Kishida T., Miagawa F., Osato J.A., Mori A. - Effects of FPP (Fermented Papaya Preparation) on serum components and immunological functions in humans. *Neurosciences*. 1999, 20 (Suppl.), 149-159.
20. T.B.L. - Kirkwood in Longevity: The Limits and Beyond. Ed. By J. M. Robins et al, Springer: Heidelberg, 1997.
21. FRANCESCHI C., BONAFE M. - Centenarians as a model for healthy aging. *Biochemical Society Transactions*. 2000, 31 (2), 457-461.
22. MECOCCHI P., POLIDORI M.C., TROIANO L., CHERUBINI A., CECCHETTI R., FINI G., STRAATMAN M., MONTI D., STAHL W., SIES H., FRANCESCHI C., SENIN U. - Plasma antioxidants and longevity: a study on healthy centenarians. *Free Radical Biology and Medicine*. 2000, 28 (8), 1243-1248, 2000. erratum in: *Free Radical Biology and Medicine*. 2000, 29(5), 486.
23. MONTAGNIER L. - Oxidative Stress & Chronic diseases. Fermented papaya preparation advantage on health: Benefit of Oxidative Stress and Immunity. *Entretiens De Bickat Thérapeutique*. 2004.

FPP & GASTROENTEROLOGIE : APPORTS BÉNÉFIQUES DE LA PAPAYE FERMENTÉE

**Intervention du Professeur Francesco Marotta
(Milan)**

INTRODUCTION

Quatre études cliniques publiées, réalisées en double aveugle contre placebo, ont montré l'effet bénéfique du FPP sur les perturbations biologiques rencontrées chez les buveurs modérés ou chez les alcooliques. Le pouvoir antioxydant du FPP est principalement à l'origine des effets protecteurs sur la muqueuse gastrique, de l'amélioration des perturbations rhéologiques (diminution de la peroxydation lipidique) et d'une normalisation de l'absorption de la vitamine B12. D'autres effets sur l'hépatite C ont montré des résultats prometteurs.

Nous rapportons ici les études réalisées sur un produit naturel dérivé d'un fruit (la papaye) que nous avons testé lors d'études cliniques utilisant des paramètres mesurés avec des méthodologies scientifiques strictes. En effet, depuis un peu plus de 5 ans, nous

TABLEAU I

Composition de la préparation de papaye fermentée (FPP) certifiée par un laboratoire spécialisé.

Fermented Papaya Préparation (100 g)			
<i>Japon Food Research Lab., report n. 3971 00396-007 Tokyo, December 16, 1997</i>			
CHD	90,7g	Phenylalanine	11 mg
Moisture	8,9g	Tyrosine	9mg
Protein	0,3g	Leucine	18mg
Fat	none	Isoleucine	9mg
Folic acid	2mg	Methionine	5 mg
Niacin	0,24 [µg]	Valine	13 mg
Lysine	6mg	Glycine	11 mg
Histidine	5 mg	Proline	8mg
Aspartic acid	27 mg	Tryptophan	2mg
Serine	11 mg	Threonine	8mg
Arginine	16 mg	Glutamic acid	37 mg

avons mené des études cliniques sur une préparation de papaye fermentée (Immun'ge, Osato Research Institute, Gifu, Japon, composition reportée tableau I) dont il a été prouvé qu'elle était dotée d'importantes propriétés anti-oxydantes, propriétés résistantes à la chaleur et l'acidité.

scopique (fig 1). Une étude encore plus détaillée a aussi permis de mettre en évidence une diminution significative de la production de radicaux libres induite par l'éthanol au niveau de la muqueuse gastrique (fig. 2).

PROTECTION DE LA MUQUEUSE GASTRIQUE

Des études préliminaires ont de plus démontré que ce produit (FPP, Fermented Papaya Préparation) administré à des sujets sains à minuit et 3 h avant ingestion de 80 g d'éthanol, pouvait diminuer significativement les dommages gastriques, qu'il soient mesurés par technique microscopique ou macro-

AMÉLIORATION DE L'ABSORPTION DE LA VITAMINE B12

Un tel effet antioxydant a aussi été confirmé dans une série d'études ex vivo chez des alcooliques. En effet, la muqueuse gastrique de patients alcooliques, incubée in vitro avec de la cyanocobalamine marquée et du facteur intrinsèque a montré une dégradation marquée de la liaison de ce dernier. D'un autre côté,

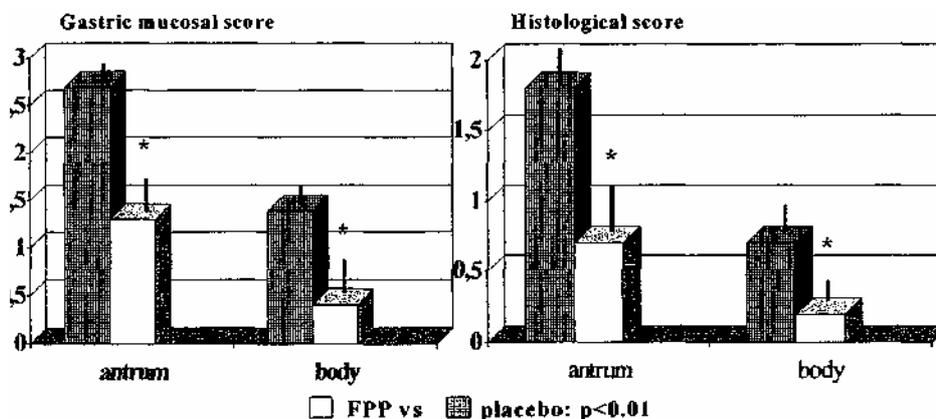


Fig. 1. - Score histologique et de la muqueuse gastrique après ingestion d'alcool : effet du FPP.

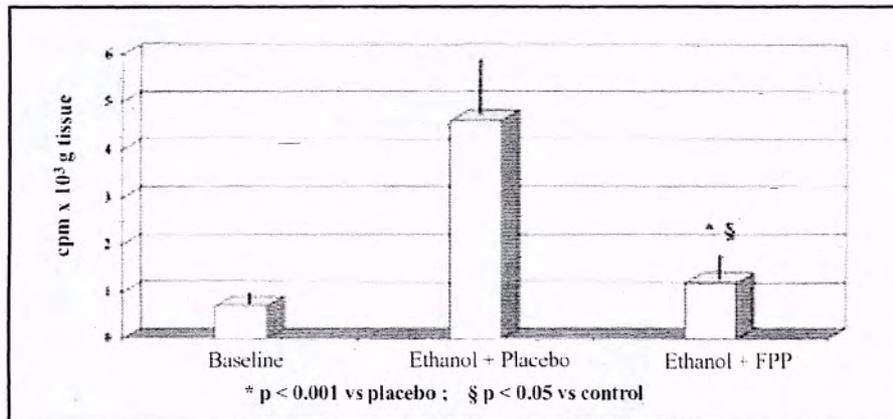


Fig. 2. - Réaction de chemiluminescence après ingestion d'alcool : effet du FPP.

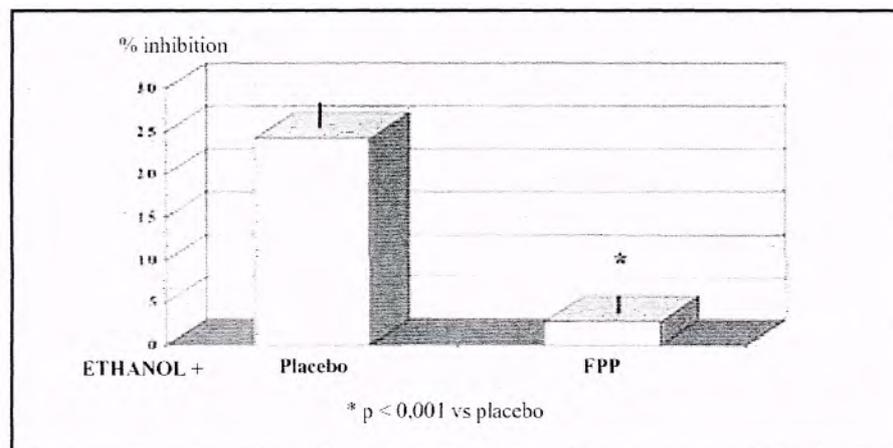


Fig. 3. - Effet du FPP dans l'amélioration de la liaison entre facteur intrinsèque et cyanocobalaminé.

quand les mêmes patients sont supplémentés avec du FPP, l'inhibition de la liaison précédemment rencontrée est significativement améliorée (fig. 3). D'un point de vue clinique, bien que la totalité des alcooliques montraient un test de Shilling à 2 isotopes (DIST), comparable aux sujets sains, un sous-groupe de patients avec une absorption anormale de vitamine B12 identifiée (DIST < 10 p. cent) a significativement amélioré son DIST par une complémentation régulière en FPP (fig. 4).

FPP AGENT POTENTIEL DE LA PREVENTION DES GASTRITES CHRONIQUES ATROPHIQUES HP NEGATIVES

Tous les résultats précédents sont importants en regard du fait qu'il y a une quasi évidence de l'implication des espèces actives de l'oxygène (EAO) dans le stade initial de la carcinogenèse [1]. En effet, un des composés résultant l'attaque des radicaux libres sur

l'ADN, la 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OhdG) a récemment été reconnu comme un marqueur biologique potentiel [2]. La 8-hydroxyguanine est un des produits majeurs résultant des dommages causés aux bases quand l'ADN est exposé à des systèmes physiologiques produisant les radicaux hydroxyles et superoxydes. Le but de cette recherche était de tester l'effet d'une supplémentation orale d'un produit à base de papaye fermentée référencé (Immun-Age) [3], sur des anomalies enzymatiques et sur des paramètres relatifs aux dommages de l'ADN dus aux radicaux libres associés aux modifications pré-cancéreuses de la muqueuse gastro-intestinale haute.

Matériels et Méthodes

Soixante patients avec une gastrite atrophique connue et une métaplasie intestinale, associé à un résultat récent de test respiratoire à l'urée négatif ont été

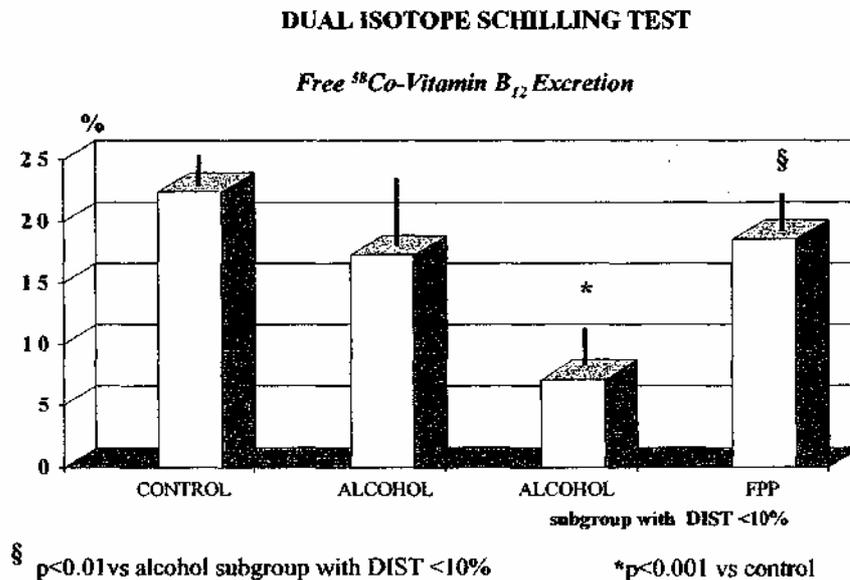


Fig. 4. — Effet de l'administration de FPP dans l'amélioration du test d'absorption de cyanocobalamine.

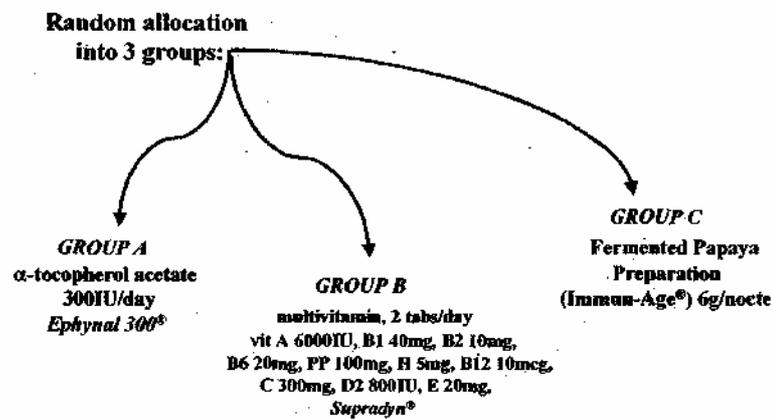


Fig. 5. - Schéma d'étude d'une supplémentation orale d'antioxydant chez des patients présentant une gastrique clonique atrophique.

sélectionnés comme notre groupe d'étude. Chacun de ces patients a été soigneusement interviewé aussi bien sur ses habitudes alimentaires avec une attention sur une estimation d'ingestion de vitamines, d'alcool, de médicaments, de consommation de tabac que sur une éventuelle consommation de neutraceutiques. En particulier, les patients ont été conviés à n'utiliser aucune vitamine ni complément alimentaire pendant la durée de l'étude.

Tous les sujets ont été soumis à des endoscopies de routine du tractus gastro-intestinal haut avec biopsies multiples au niveau de l'antrum. Les échantillons des biopsies ont été testés par une histologie de routine avec une attention particulière sur les métaplasies intestinales et la présence d'*Helicobacter Pylori*. Les autres échantillons ont été analysés pour la détection de:

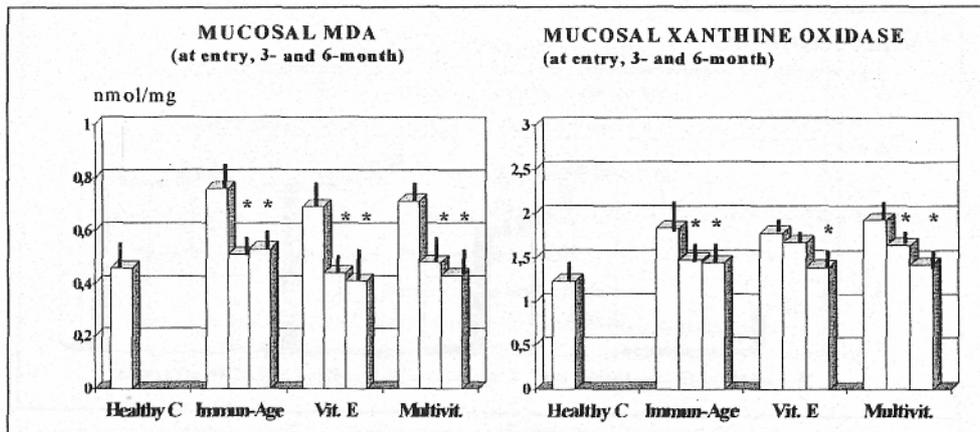


Fig. 6. - Effet de supplémentation antioxydant sur les marqueurs de stress oxydant de la muqueuse.

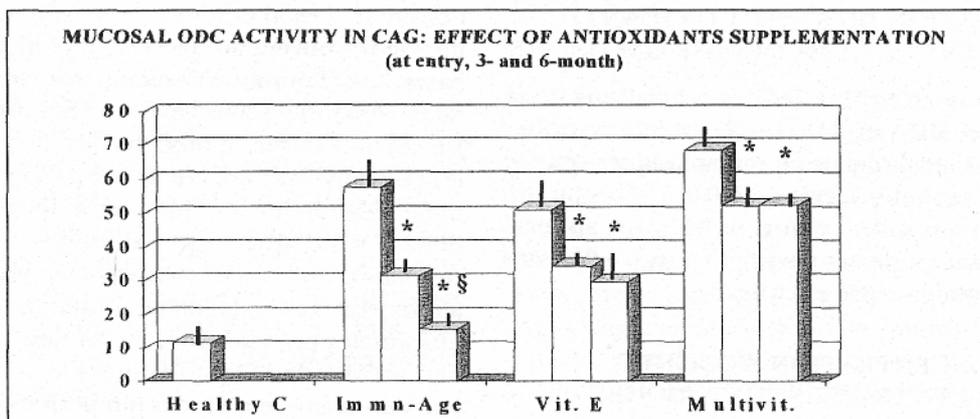


Fig. 7. — Effet d'une supplémentation non oxydant sur l'activité de l'ODC.

l'alpha-tocophérol, le malonyldialdéhyde (MDA), la xanthine oxidase (XO), l'Ornithine Décarboxylase (ODC) et la 8OHdG. Une mesure de la capacité antioxydante totale du plasma a été réalisée au début de l'étude. Les sujets ont été divisés en trois groupes d'âge, de comportement tabagique et alcoolique comparable.

Après une nuit totale à jeun, tous les sujets ont été soumis à une évaluation de base de paramètres sanguins décrits ci-dessous. Tous les sujets ont été distribués au hasard dans un des essais suivants de 6 mois de supplémentation :

- Immun'Âge 3 g/jour le soir (obtenu par une bio fermentation de la papaye de Carica, Osato Research Institute, Gifu, Japon).
- Vitamine E 300 mg/jour le soir.
- une préparation multivitaminique (Supradyn®, Roche, Suisse) 2 cachets/jour le soir (fig. 5).

Tous les paramètres histologiques et biochimiques précités ont été analysés à 3 et 6 mois. Les analyses

histologiques ont été réalisées de manière aveugle et contrôlées par un chercheur expérimenté.

Résultats

Il n'y avait pas de différence statistique parmi les groupes étudiés en ce qui concerne les régimes alimentaires pendant la durée de l'étude. Les examens sanguins de routine étaient dans la norme au début de l'étude et n'ont pas changé pendant celle-ci, quel que soit le traitement suivi.

Statut oxydant / Antioxydant du Plasma

L'évaluation du statut oxydant/antioxydant au départ de l'étude, déterminé par mesure du taux sérique d'alpha-tocophérol, du malonyldialdéhyde, de la superoxyde dismutase, des hydroperoxydes et de la glutathion peroxydase, était dans les limites normales et n'a pas changé pendant l'étude quel que soit le traitement antioxydant utilisé.

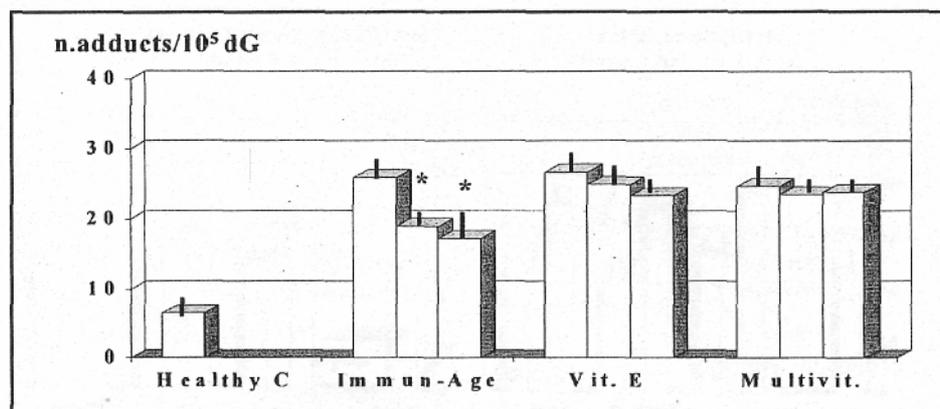


Fig. 8. - Effet d'une supplémentation en antioxydants sur le taux de 8-OHdG de la muqueuse gastrique (au début 3 et 6 mois)

Evaluation du statut oxydant / antioxydant de la muqueuse gastrique

Comparée aux contrôles, les concentrations de la muqueuse en MDA et XO chez les sujets ayant des modifications atrophiques ou métaplasiques ont été significativement plus élevés ($p < 0,05$). Chacun des trois traitements antioxydants utilisés ont apporté une normalisation de ces paramètres ($p < 0,05$) sans différence notable entre eux (fig. 6).

Concentration en 8-OHdG de la muqueuse gastrique

Les patients avec une gastrite atrophique chronique montrent une augmentation significative de la 8-OHdG ($p < 0,05$) sans rapport avec les autres paramètres testés. Cette perturbation n'est corrigée ni par la vitamine E ni par le supplément multivitaminique pendant l'étude. Cependant, Immune-ge apporte une diminution significative, certes partielle, du taux de 8-OHdG à la fin de l'étude ($p < 0,05$) (fig. 8).

Conclusion

Bien que l'incidence du cancer gastrique diminue, il reste toutefois une des causes importantes de la mortalité mondiale due aux cancers. Il existe des preuves substantielles de la responsabilité d'une suite de changements histologiques préliminaires de la muqueuse gastrique dans le développement d'un cancer gastrique. Une gastrite inflammatoire progresse vers une atrophie gastrique, suivie d'une métaplasie intestinale puis d'une dysplasie et finalement vers un cancer intestinal.

D'un autre côté, on retrouve une augmentation des concentrations des produits de peroxydation lipidique dans le sérum des patients ayant un cancer de

l'estomac. Les altérations de l'ADN dues à l'oxydation se retrouvent au niveau d'une modification des bases, une altération des sucres, une cassure des brins ou encore des liaisons type cross-link ADN-protéines. De ces altérations, la modification de la guanine par les radicaux hydroxyl sur le site C-8, plus communément dénommée 8-OHdG, est la lésion la plus étudiée. Il y a d'ailleurs peu d'études rapportant des résultats d'une supplémentation en vitamines ou en antioxydants chez des patients avec des lésions gastro-intestinales pré-malignes, entraînant une réduction de l'activité de l'ODC [3] du fait qu'il subsiste toujours un manque d'études qui permettrait une explication rationnelle. De l'étude présente il apparaît que les patients avec une gastrite chronique atrophique (GAG), bien que maintenant un statut redox plasmatique normal, montrent une dégradation significative de celui au niveau de la muqueuse gastrique. Pratiquement n'importe quelles supplémentations antioxydantes [4] semble améliorer de façon notable ces anomalies. Cependant, c'est la première étude montrant qu'une intervention nutritionnelle avec un produit doté de propriétés sur le système immunitaire et de régulation de la production d'oxyde nitrique [6] associées avec un effet antioxydant sur les protéines et les lipides [7], peut significativement améliorer les marqueurs oncologiques de la muqueuse gastrique. Les résultats préliminaires positifs obtenus dans cette étude sont encourageants quand on considère les résultats plutôt non concluants menés lors d'essais plus récents [5] qui sont susceptibles d'avoir été faussés par des limitations intrinsèques intervenant dans toute large étude épidémiologique de grande ampleur.

En effet, à côté de ces données biochimiques, de tels résultats apportent un important potentiel depuis

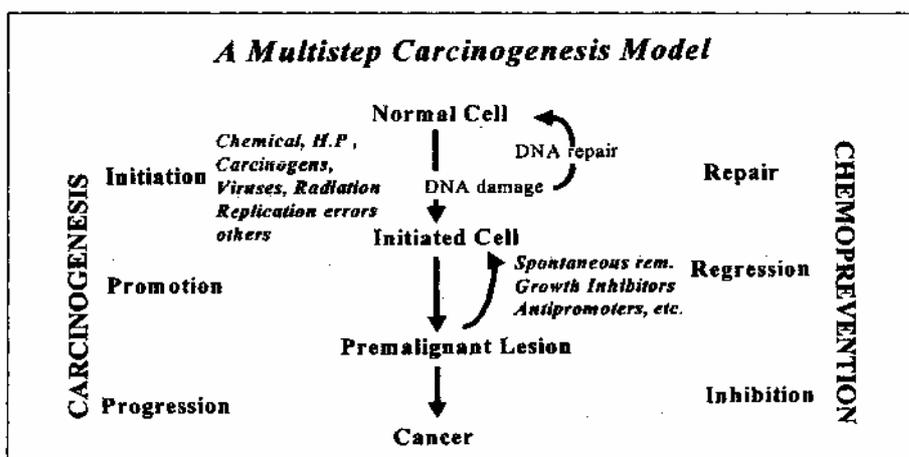


Fig. 9. – Vue d'ensemble de la théorie de carcinogénèse en plusieurs étapes.

Statut Redox de patients HCV cirrhotiques; effet de supplémentation en Vitamine E ou FPP

	contrôle	Vitamine E Cirrhotiques		FPP Cirrhotiques	
		Taux entrée	Après 6mois	Taux entrée	Après 6mois
GSH (µM)	972 ± 52	561 ± 34	786 ± 69 *	521 ± 54	713 ± 72 *
GSSG (µM)	29 ± 3	26 ± 4	27 ± 5 *	29 ± 4	27 ± 8 *
GSH/GSSG ratio	33.5	21.6	29.1 *	18	26.4 *
MUA (µM)	1.1 ± 0.3	3.2 ± 0.6	1.7 ± 0.2 *	3.4 ± 0.5	1.9 ± 0.2 *
α-tocopherol (µmol/l)	29.2 ± 1.2	14.4 ± 0.7	23.8 ± 0.3 *	15.6 ± 0.6	15.9 ± 0.8 *

* p < 0.05

Fig. 10. Statut Redox de patients HCV cirrhotiques : effet de supplémentation en vitamine E ou FPP.

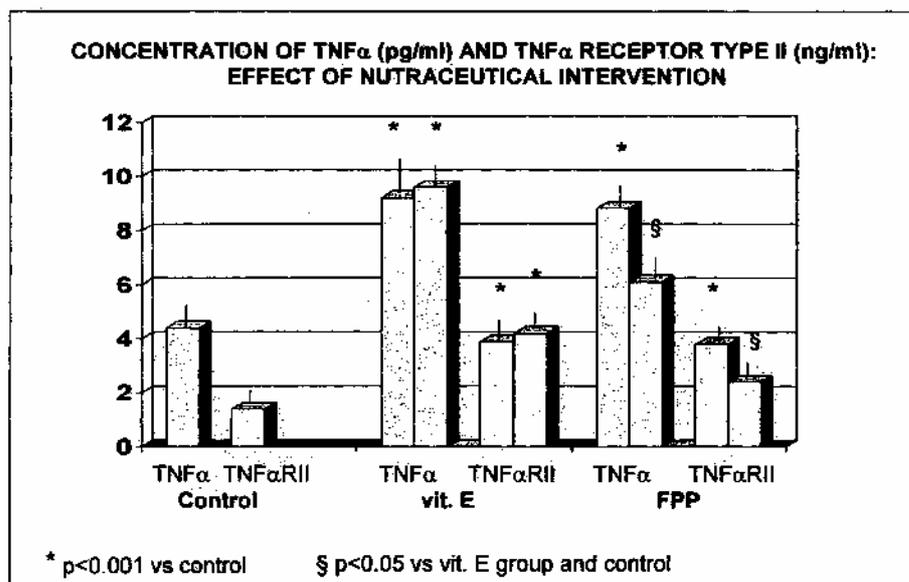


Fig. 11. Concentration of TNFα (pg/ml) and TNFα receptor type II (ng/ml) : effect of nutraceutical intervention.

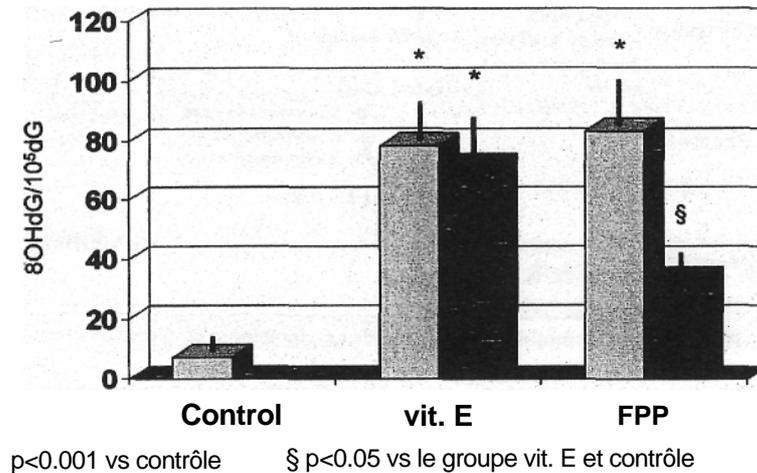


Fig. 12. Concentration du 8OHdG dans les leucocytes circulants : effet d'une supplémentation.

que les cancers gastriques sont reconnus comme possédant nombre critères d'un modèle de carcinogène évoluant en stades multiples où les phases intermédiaires du processus peuvent être théoriquement la cible d'interventions thérapeutiques (fig. 9).

DOMMAGES INFLAMMATOIRES DUS AU STRESS OXYDANT CHEZ LES CIRRHOTIQUES; EFFET DE LA VITAMINE E ET D'UNE PREPARATION DE PAPAYE FERMENTEE

Les dommages oxydatifs de l'ADN interviennent à un stade précoce de l'infection par le virus de l'hépatite C et représente une indication d'un potentiel de carcinogénèse. Le but de cette étude était de tester un nouvel antioxydant/immuno-modulateur dans les cirrhoses dues au virus de l'hépatite C. Le groupe d'étude était constitué de 50 patients avec une cirrhose relative à une hépatite C ayant des taux de transaminases inférieures à deux fois la valeur normale haute (ALT < 80 UI). Les patients étaient soumis à une complémentation standardisée en vitamines et répartis au hasard en deux groupes. Au début, une évaluation sur leur régime alimentaire journalier, leur statut nutritionnel, ainsi que sur leur taux de fer a été réalisée. Puis ils ont reçu soit 600 mg par jour d'alpha-tocophérol pendant 6 mois, soit 9 g par jour de préparation de papaye fermentée (Immun'Age, FPP, Osato Research Institute, Gifu, Japon) au coucher pendant 3 mois. Dix sujets sains servant de groupe contrôle.

Les patients ont été testés mensuellement pour : des tests de routine, leur statut Redox (Glutathion réduit

et oxydé, Glutathion peroxydase), anticorps contre des adduits de l'albumine avec malonyldialdéhyde, alpha-tocophérol plasmatique, 8OHdG et taux sériques de cytokines.

Les patients cirrhotiques ont un statut Redox affecté (taux d'antioxydants bas et marqueurs de stress oxydant élevés) $p < 0,005$ vs contrôles. Les deux complémentations n'ont pas eu d'influence sur le taux de transaminases. Une diminution d'environ 35 p. cent du taux de transaminases a cependant été notée avec le FPP dans une étude préliminaire sur des patients ayant des taux de transaminases plus élevés, 150 UI en moyenne (Résultats non publiés). Cependant, on a noté une diminution significative du taux des ALT avec la vitamine E dans un sous-groupe déficient en vitamine E ($p < 0,05$). Une amélioration significative du statut Redox (fig. 10) a été mise en évidence dans les deux complémentations. Seul, le FPP a permis une diminution du 8OHdG et l'amélioration des taux de cytokines a été significativement meilleure avec le FPP qu'avec la vitamine E ($p < 0,05$) (fig. 11,12).

Ces résultats suggèrent le rôle potentiel protecteur des antioxydants/immunomodulateurs tel le FPP chez les patients ayant une hépatite C.

REFERENCES

1. KENSLER T.W., TAFTE B.C. - Free radicals in tumor promotion. *Advances in Free Radical Biology and Medicine*. 1986, 2, 347-387.