



L'essentiel de l'information
scientifique et médicale

www.jle.com

Le sommaire de ce numéro

http://www.john-libbey-eurotext.fr/fr/revues/bio_rech/abc/sommaire.md?type=text.html



paru dans

Annales de biologie clinique, 2014, Volume 72, Numéro 4

Ce tiré à part numérique vous est délivré pour votre propre usage et ne peut être transmis à des tiers qu'à des fins de recherches personnelles ou scientifiques. En aucun cas, il ne doit faire l'objet d'une distribution ou d'une utilisation promotionnelle, commerciale ou publicitaire.

Tous droits de reproduction, d'adaptation, de traduction et de diffusion réservés pour tous pays.

© John Libbey Eurotext, 2014

Mesure de la capacité antioxydante globale du plasma : une revue critique

Determination of the plasma global antioxidant capacity: a critical review

Joël Pincemail¹

Josiane Cillard²

Jean Nève³

Jean-Olivier Defraigne²

¹ Service de chirurgie cardiovasculaire et Credec, Université de Liège-CHU de Liège, Belgique

² Laboratoire Mouvement sport santé (EA1274), Université de Rennes 1, France

³ Université Libre de Bruxelles, Faculté de pharmacie, Bruxelles, Belgique

Résumé. Dans un cadre de prévention potentielle des maladies cardiovasculaires et des cancers, les professionnels de la santé s'intéressent de plus en plus à la mesure sanguine des antioxydants (vitamines C et E, caroténoïdes, glutathion, coenzyme Q₁₀, enzymes antioxydantes...). Le problème majeur de ces analyses est leur coût d'autant que celui-ci est souvent à la charge du patient. À la demande des professionnels de la santé, les laboratoires de biologie médicale proposent un test plus général : la mesure de la capacité antioxydante globale (CAG) du plasma, en remplacement de la mesure individuelle des antioxydants. Le présent travail montre que ce test présente de très nombreuses lacunes dont la principale est qu'il est essentiellement dépendant de la concentration plasmatique en acide urique et en protéines. Sur la base de neuf arguments, nous montrons que la mesure de la CAG du plasma ne peut en aucun cas être un marqueur d'un stress oxydant chez un individu ni conduire à la décision de prescrire tel ou tel complément alimentaire antioxydant.

Mots clés : antioxydant, capacité antioxydante globale (CAG) du plasma

Abstract. With respect to prevention of cardiovascular diseases and cancers, the healthcare professionals are more and more interested in the blood determination of antioxidants (vitamins C and E, carotenoids, glutathione, ubiquinone, antioxidant enzymes). The major problem of these analysis is their elevated cost. At the request of the healthcare professionals, the laboratories of clinical biology suggest the measurement of the plasma global antioxidant capacity (GAC) as a replacement of the individual determination of all these antioxidants. The present review shows that such a test presents a large number of gaps, the major one being that it essentially reflects the plasma concentration of uric acid and proteins. On basis of nine arguments, we show that the measurement of the plasma GAC cannot be considered as an *in vivo* marker of oxidative stress nor lead to the prescription antioxidant complement

Key words: antioxidant, plasma global antioxidant capacity (GAC)

Article reçu le 19 décembre 2013,
accepté le 07 février 2014

Récemment, le stress oxydant a été redéfini comme étant un déséquilibre entre les oxydants que sont les espèces oxygénées activées (EOA incluant radicaux libres, peroxyde d'hydrogène, oxygène singulet, acide hypochloreux), et les antioxydants en faveur des premiers, ce qui conduit à une rupture de la signalisation redox et de son contrôle avec ou

sans dommages moléculaires (oxydation des lipides, des protéines et de l'ADN) [1].

Cette définition importante permet de tenir compte à la fois des effets toxiques des EOA mais aussi de leurs effets physiologiques importants. Ainsi, les EOA à faibles doses agissent comme des messagers secondaires (transmission d'informations à la cellule) en régulant l'activité de facteurs de transcription qui contrôlent l'expression de gènes codant pour diverses protéines. Les EOA peuvent déclencher de la sorte ce mécanisme protecteur très important pour

Tirés à part : J. Pincemail

l'organisme qu'est le phénomène de l'apoptose (mort cellulaire programmée de la cellule à un stade pré-cancéreux). Face à une production modérée d'EOA, c'est-à-dire à un niveau légèrement supérieur aux quantités physiologiques, l'organisme réagit en sur-exprimant ses défenses antioxydantes enzymatiques (exemple : superoxyde dismutase ou SOD) via l'activation du système Keap1/Nrf2/ARE [2]. Ce phénomène, connu sous le nom d'hormésie, est une réponse biologique favorable suite à l'exposition à de faibles doses de toxiques ("mithridatisation"). Des études récentes indiquent que les polyphénols, ces antioxydants contenus dans les aliments (fruits et légumes, vin rouge, chocolat noir, thé vert...), sont susceptibles d'exercer par ce mécanisme d'action leurs effets protecteurs (activation du système antioxydant Keap1/Nrf2/ARE) en matière de prévention des maladies cardiovasculaires et de certains cancers [3].

Différents facteurs internes (inflammation, ischémie-reperfusion) ou liés à notre mode de vie (tabagisme, exposition au soleil, à l'amiante, aux nanoparticules et aux radiations, prise de la pilule contraceptive, hyperglycémie, exercice physique intense, faible consommation de fruits et légumes...) contribuent à augmenter la production d'EOA dans notre organisme d'une manière excessive. Il est bien admis que les dommages oxydatifs induits par les EOA au niveau des lipides (peroxydation lipidique) et de l'ADN sont respectivement impliqués dans le développement des maladies cardiovasculaires et des cancers [4, 5].

Les défenses antioxydantes

Afin de réguler (et non d'inhiber totalement) la production des EOA, notre organisme dispose d'une très large batterie de défenses antioxydantes. Ces systèmes se composent :

- de molécules antioxydantes de petite taille (glutathion, acide urique, bilirubine, vitamines A, C, E, ubiquinone ou coenzyme Q₁₀, caroténoïdes, polyphénols) ;
- de protéines de transport et de stockage du fer et du cuivre (transferrine, ferritine, céruloplasmine) qui empêchent ces métaux de transition de participer à la réaction de Fenton, génératrice de radicaux libres ;
- de protéines antioxydantes comme l'albumine ou les protéines de choc thermique (HSP) ;
- d'enzymes antioxydantes telles que les superoxydes dismutases (Cu-Zn et Mn qui éliminent l'anion superoxyde), la catalase, les glutathion peroxydases (destruction des lipides oxydés et du peroxy-nitrique), le couple thiorédoxine-thiorédoxine réductase ou encore la hème oxygénase ;
- d'oligo-éléments indispensables pour l'activité des enzymes antioxydantes. Ainsi, le cuivre et le zinc sont les cofacteurs pour la bonne activité de la superoxyde dismutase (SOD) tandis que c'est le sélénium qui l'est pour les

glutathion peroxydases (GPx) et la thiorédoxine réductase (TrxR).

Un système de défense secondaire composé d'enzymes dont le rôle consiste à empêcher l'accumulation dans la cellule de protéines (protéasome) ou d'ADN oxydés (ligase, endonucléases) et à dégrader leurs fragments toxiques, complète la panoplie des moyens de protection contre les EOA.

Apports en antioxydants

Pour diverses raisons (mégadoses utilisées, hétérogénéité des populations étudiées...), la très grande majorité des études d'intervention avec des antioxydants de synthèse comme les vitamines C et E ou les caroténoïdes n'a pas permis à ce jour de démontrer un effet préventif notable dans l'apparition des maladies cardiovasculaires ou de cancers [8]. Seule l'étude française SUVIMAX initiée en 1986 sur 15 000 personnes (5 000 hommes et 10 000 femmes) a montré des données intéressantes avec un apport quotidien pendant 7,5 ans de 120 mg de vitamine C, 30 mg de vitamine E, 6 mg de β -carotène, 100 μ g de sélénium, 20 mg de zinc versus un placebo [9]. Aucun effet préventif des maladies cardiovasculaires de cette complémentation n'a été retrouvé chez les femmes et les hommes. Par contre, cet apport nutritionnel de vitamines et minéraux antioxydants a permis de réduire l'incidence des cancers, tous sites confondus, de 31 % (et de 37 % le risque de décès) mais ceci uniquement chez les hommes qui présentent des apports nutritionnels faibles en antioxydants. Chez les femmes dont le statut initial en antioxydants est meilleur en raison d'une consommation naturellement plus importante en fruits et légumes que les hommes, l'effet de la complémentation n'est pas décelable. Dans un groupe restreint de femmes, elle s'accompagne même d'une augmentation du cancer de la peau. Les auteurs de cette vaste étude concluent que les actions réelles positives ou négatives des antioxydants de synthèse dépendent en grande partie du statut sanguin basal en antioxydants des sujets qui est différent selon le sexe ou les apports nutritionnels.

Depuis quelques années, les professionnels de la santé accordent de plus en plus d'importance à la nutrition en matière de prévention santé. C'est ainsi que nous assistons à l'émergence d'une médecine nutritionnelle qui vise à conserver le plus longtemps possible la santé en optimisant les fonctions des cellules, des tissus et des organes sous l'action de nutriments naturels de qualité. Une attention particulière est donc donnée à la correction des déficits sanguins en vitamines, minéraux, acides gras essentiels, acides aminés ou encore en antioxydants. Dans ce contexte, les fruits, les légumes, le thé vert, l'huile d'olive, le chocolat noir ou encore le vin rouge qui sont tous des aliments très

riches en antioxydants (et tout particulièrement en polyphénols) font l'objet de plus en plus d'attention en matière de recherches.

Mesure *in vivo* du statut sanguin en antioxydants

Doser la teneur sanguine des antioxydants présente un intérêt certain dans un cadre de prévention santé. De très nombreuses études épidémiologiques ont en effet montré que plus la teneur sanguine en antioxydants était basse, plus le risque de développer des maladies cardiovasculaires et des cancers était élevé. Ceci a été particulièrement bien démontré pour les vitamines C et E ainsi que pour le β -carotène dans la fameuse étude WHO Monica menée sur une cohorte de plusieurs milliers de sujets issus de 14 pays européens. Des valeurs sanguines critiques en antioxydants ont ainsi pu être établies : < 6 mg/L pour la vitamine C et $< 0,22$ mg/L pour le β -carotène [6]. Dans l'étude ELAN menée en province de Liège, nous avons montré comment le tabagisme, la non-consommation de fruits, l'absence de pratique d'un exercice physique régulier, la prise de la pilule contraceptive et le surpoids contribuent à obtenir des valeurs plasmatiques en dessous de ces valeurs seuils [7]. D'une façon générale, diverses situations pathologiques (cancers, diabète, arthrite rhumatoïde, maladies cardiovasculaires...) associées à une production excessive d'EOA s'accompagnent d'une diminution plasmatique d'antioxydants (glutathion, ubiquinone, superoxyde dismutase...).

Afin de répondre à une demande croissante du monde médical, beaucoup de laboratoires de biologie clinique ont développé en routine les dosages des vitamines C et E, du β -carotène, du CoQ₁₀, du glutathion, des protéines à groupements thiols, de la superoxyde dismutase et de la glutathion peroxydase [10]. Insistons ici sur le fait qu'il convient de respecter des conditions drastiques de prélèvement et de traitement de l'échantillon sanguin afin de réaliser un dosage correct permettant d'interpréter les données. Un inconvénient majeur est que le coût de l'analyse individuelle de tous ces antioxydants est assez élevé : moyenne de 6 € pour la vitamine C, de 10 à 20 € pour la vitamine E ainsi que pour le CoQ₁₀, de 15 € pour le glutathion et de 6 € pour la superoxyde dismutase et la glutathion peroxydase. Tout ceci étant à la charge du patient.

La mesure de la capacité antioxydante globale du plasma et ses risques

Afin de contourner ce problème économique, les laboratoires de biologie clinique proposent sous la pression

du monde médical la mesure de la capacité antioxydante globale (CAG) du plasma. Le principe général consiste à produire dans un tube à essai des EOA (radicaux libres, peroxyde d'hydrogène) qui peuvent interagir avec une sonde. L'oxydation de celle-ci est suivie au cours du temps par spectrophotométrie, fluorimétrie ou par luminescence. En présence de plasma, cette oxydation sera donc théoriquement inhibée de façon proportionnelle à la quantité d'antioxydants présents dans l'échantillon.

Plusieurs méthodes ont été développées entre les années 1985 et 1999 pour la mesure de la CAG du plasma (tableau 1), mais seules trois d'entre elles ont fait l'objet d'applications dans le cadre d'une routine clinique. Il s'agit des tests ORAC (*Oxygen radical antioxidant capacity*) [11], TEAC (*Trolox equivalent antioxidant capacity*) commercialisé en kit sous le nom de TAS ou *Total antioxidant status* [12] et FRAP (*Ferric reducing antioxidant power*) [13].

Nous voudrions ici développer neuf arguments montrant tous les risques inhérents à l'utilisation de ce type de test quant à l'interprétation des résultats.

Absence de pertinence biologique

Les deux premières méthodes utilisent des principes de mesure qui sont fondamentalement différents : production de radicaux libres peroxydes hydrophiles (à partir du 2,2'-azobis (2-amidinopropane) dichlorhydrate ou AAPH) qui attaquent une sonde fluorescente (dichlorofluorescéine di-acétate ou DCFH-DA) dans le test ORAC ; transformation du sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS) en sa forme radicalaire sous l'action de la peroxydase de rai-fort en présence de peroxyde d'hydrogène dans le test Teac (ou TAS). Dans le test FRAP, aucun radical libre n'est produit. Il s'agit d'étudier la réduction du complexe tripyridyltriazine ferrique (TPTZ-Fe³⁺) sous sa forme Fe²⁺ par les antioxydants présents dans l'échantillon. Les radicaux libres générés dans les tests ORAC et TEAC sont de nature chimique et ils n'ont aucune commune mesure avec ceux qui sont générés *in vivo* : anion superoxyde ou radical hydroxyle. En ce qui concerne le test FRAP, le fer ferreux n'existe pas sous la forme du complexe tripyridyltriazine dans l'organisme. Par ailleurs, le fer ferrique (Fe³⁺) n'est pas un pro-oxydant, alors que c'est le cas pour le fer ferreux (Fe²⁺) dans la réaction de Fenton. Toutes ces observations posent donc d'emblée la question de la pertinence biologique de ces trois tests.

Absence de corrélation entre les valeurs des différents tests

Une étude menée en 1998 par Cao et Prior [14] a comparé la valeur de la CAG du plasma humain avec ces trois tests.

Tableau 1. Aperçu non exhaustif des différents tests pour la mesure de la capacité antioxydante globale du plasma et des matrices alimentaires.

Méthode	Nom	Générateur de radicaux libres/oxydant	Standard	Mesure/calcul
Tests SET				
TEAC	<i>Total equivalent antioxidant capacity</i>	ABTS + horseradisch peroxydase + peroxyde d'hydrogène → formation du radical (ABTS ^{•+})	Trolox	Décoloration du radical ABTS ^{•+} ; $\lambda = 734$ nm unité : équivalent Trolox
FRAP	<i>Ferric reducing ability of plasma</i>	Réduction du Fe(III)(TPTZ) ₂ Cl ₃	Fe(II)	Changement d'absorbance, à $\lambda = 593$ nm unité : Frap par rapport à une solution de Fe(II)
CUPRAC assay	<i>Cupric reducing antioxidant capacity</i>	Réduction du cuivre (II) néocuproïne	Acide urique	Absorbance à $\lambda = 450$ nm unité : équivalent d'acide urique
DPPH assay	2,2-diphenyl/L-picrylhydrazyl	DPPH	Trolox	Diminution de l'absorbance à $\lambda = 515$ nm unité : équivalent Trolox
Tests HAT				
Crocin Bleaching assay		2,2'-azobis (2-amidinopropane) dichlorohydrate (AAPH) → radicaux peroxydes de nature hydrophyle	Trolox	Blanchiment de la crocine à $\lambda = 443$ nm unité : équivalent Trolox
TRAP assay	<i>Total radical trapping parameter</i>	2,2'-azobis (2-amidinopropane) dichlorohydrate (AAPH) → radicaux peroxydes de nature hydrophyle *	Trolox	Diminution de la fluorescence de la β -phycoérythrine ($\lambda_{ex} = 495$ nm et $\lambda_{em} = 575$ nm) unité : équivalent Trolox
ORAC assay	<i>Oxygen radical antioxidant capacity</i>	2,2'-azobis (2-amidinopropane) dichlorohydrate (AAPH) → radicaux peroxydes de nature hydrophyle*	Trolox	Diminution de la fluorescence de la fluorescéine f ($\lambda_{ex} = 485$ nm ; $\lambda_{em} = 520$ nm) unité : équivalent Trolox

Autres tests moins utilisés en raison d'une application difficile en routine : *Total oxyradical scavenging capacity* (TOSC), inhibition de la production de l'anion superoxyde par le système xanthine/xanthine oxydase suivie par la technique de la résonance paramagnétique électronique (RPE). SET : *single electron transfert* ; HAT : *hydrogen atom transfert*.

Les auteurs concluent "qu'il existe une corrélation positive faible mais significative entre les valeurs ORAC et FRAP du sérum ; par contre aucune corrélation n'est observée entre les valeurs ORAC et TEAC et les valeurs FRAP et TEAC". L'étude récente NuAge [15] menée au Canada sur 94 personnes consommant des aliments riches en antioxydants n'a montré aucune corrélation entre la valeur ORAC des aliments et la valeur de la CAG du plasma mesurée par le test TEAC (ou TAS). Une corrélation très faible mais significative ($r = 0,22$, $p < 0,05$) se dégage néanmoins entre la valeur CAG et l'estimation de la consommation des aliments via un questionnaire portant sur les habitudes alimentaires de 24 heures. Il est intéressant de noter que nous avons montré cette même absence de corrélation entre ces trois tests dans des matrices alimentaires [16].

Variabilité inter- et intra-laboratoires

Pour un même test, l'expérience montre que les valeurs peuvent varier très fort d'un laboratoire à l'autre et, au sein

d'un même laboratoire, d'un expérimentateur à un autre. Un facteur important sous-estimé est que la valeur de CAG plasmatique obtenue dépend fortement de la dilution de l'échantillon comme cela a été observé pour le test TEAC avec le plasma et pour le test ORAC avec les matrices alimentaires [14, 17]. En réalité, aucune standardisation n'existe pour ces différents tests d'autant plus que chaque laboratoire de biologie clinique les adapte en fonction du matériel qu'il utilise.

Interférence de l'acide urique et des protéines

Un élément important souvent ignoré est que la CAG du plasma ou du sérum est essentiellement liée à la concentration de l'acide urique et des protéines totales lorsque des radicaux libres de type hydrophile sont générés dans le tube à essai. Dès 1981, Ames *et al.* [18] ont mis en évidence que plus de 50 % de la CAG du plasma était liée à l'acide urique. En 1986, Wayner *et al.* [19] confirment avec le test TRAP (*Total (peroxyl) radical-trapping antioxidant*

parameter, test proche de l'ORAC) que l'acide urique contribue pour 35-65 % de la CAG du plasma humain, la vitamine C pour 0-24 %, la vitamine E pour 10 %, le β -carotène pour 0 % et les protéines totales pour 10-50 %. Récemment, nous avons montré qu'il existe une haute corrélation positive et significative entre la concentration de l'acide urique et la valeur de la CAG mesurée par le test TEAC ou TAS (figure 1).

Ces résultats s'expliquent très logiquement. En effet, l'acide urique possède une vitesse de réaction ($k = 10^9$ mol/L/sec) avec les radicaux libres (de nature hydrophile) qui est

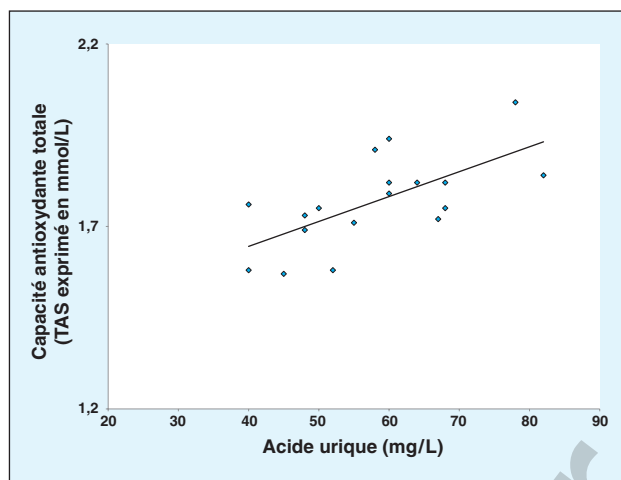


Figure 1. Corrélation entre le taux plasmatique d'acide urique et la valeur de la CAG du plasma mesurée par le test TEAC ou TAS ($r = 0,66$; $p = 0,0030$, $n = 20$). Données du Service de chirurgie cardiovasculaire, CHU de Liège, Belgique.

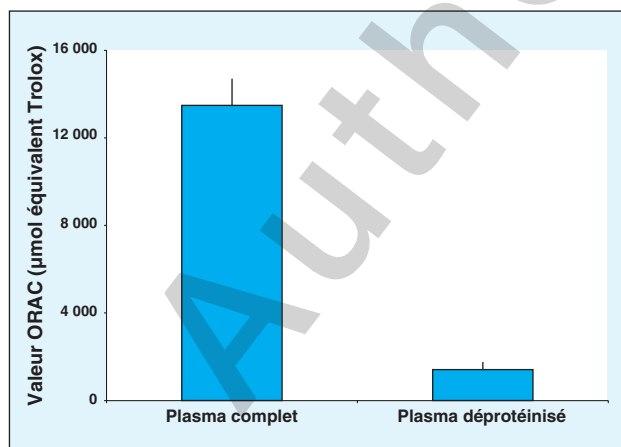


Figure 2. Contribution des protéines plasmatiques à la capacité antioxydante globale du plasma ($n = 10$) mesurée par le test ORAC (exprimées par rapport au Trolox comme antioxydant de référence). Travail de fin d'études de Mademoiselle Alexandra Machado réalisé au Service de chirurgie cardiovasculaire CHU de Liège, Belgique ; Determination and validation of the ORAC assay using the Fluorokan Ascent FL in a clinical laboratory of the CHU of Liège, Belgium, 2007.

très largement supérieure à celles des vitamines C et E. Par ailleurs, sa concentration plasmatique est de l'ordre de 210-420 μM soit une valeur beaucoup plus élevée que la vitamine C (60 μM) et la vitamine E (30 μM). L'albumine est la plus abondante des protéines (60-70 %). Or, l'albumine possède de très nombreux groupements thiol (-SH), ce qui lui confère un pouvoir antioxydant important. En utilisant le test ORAC, nous avons montré que la précipitation des protéines plasmatiques par de l'acide métaphosphorique se traduit par une diminution de la CAG plasmatique de près de 90 % (figure 2).

Mesure partielle du pool d'antioxydants plasmatiques

Toutes ces observations indiquent qu'il est quelque peu usurpé de parler de CAG du plasma étant donné que des antioxydants lipophiles aussi importants que la vitamine E ou le β -carotène contribuent pour très peu à la valeur de celle-ci. Pour cela, il faudrait utiliser un autre système (2,2'-azo-bis(2,4-diméthylvaléronitrile ou AMVN), générant des radicaux à caractère lipophile. En ce qui concerne le test TEAC (ou TAS), peu d'informations existent sur le type d'antioxydants qui interagissent avec le radical ABTS. Initialement, cette méthode a été développée sur le même principe pour la mesure de la capacité antioxydante des aliments riches en polyphénols [20].

Précisons enfin que quel que soit le test utilisé, la CAG du plasma ne donne aucune information sur la contribution des enzymes antioxydantes (superoxyde dismutase et glutathion peroxydase) et des oligoéléments (zinc, sélénium).

Interprétations faussées des résultats

Sur la base de ces observations, il convient de rester particulièrement prudent quant à l'interprétation des données. Un sujet peut très bien avoir une valeur haute de CAG tout simplement parce que son uricémie est élevée en raison d'une consommation excessive de viande ou de vin rouge, de problèmes de goutte ou de maladies rénales. La conclusion qui pourrait s'imposer est que son statut sanguin en antioxydants est adéquat et qu'il est donc nul besoin de modifier ses habitudes alimentaires ou de prescrire une complémentation de nature antioxydante. Et ceci, alors que l'analyse individuelle des antioxydants peut très bien mettre en évidence que le sujet présente en réalité de faibles concentrations sanguines en vitamine C ou β -carotène. *A contrario*, une valeur basse de CAG n'est pas nécessairement synonyme de la nécessité d'une complémentation antioxydante. En effet, les femmes présentent naturellement un taux d'acide urique plus bas que les hommes (150-360 μM (25-60 mg/L) vs 210-420 μM (35-70 mg/L)) alors qu'il est bien établi qu'elles possèdent un meilleur statut antioxydant.

Risque d'apport inadéquat en antioxydants

Quand bien même la CAG du plasma serait le reflet du vaste réseau sanguin d'antioxydants, se poserait alors la question de savoir quel type d'intervention il conviendrait d'apporter. Faut-il donner un antioxydant seul et, si oui, lequel et à quelle dose ? Faut-il s'orienter vers un complexe d'antioxydants et, si oui, de quelle composition ? Le risque est donc grand de ne pas donner l'antioxydant qui serait responsable d'une diminution de la CAG, mais bien d'apporter un autre antioxydant dont la concentration est suffisante. Par ailleurs, très peu d'études ont montré quel était l'impact réel d'un apport exogène en antioxydants sur la valeur CAG. Le travail de Cao *et al.* [21] a montré une augmentation de la CAG (mesurée par le test ORAC) de 45 % après une absorption de 1,250 mg de vitamine C. Précisons qu'il s'agit là d'une dose 10 fois supérieure à l'apport journalier recommandé en vitamine C (70-100 mg). Ceci n'est donc pas réaliste au niveau nutritionnel d'autant plus qu'il a été démontré que des mégadoses en antioxydants peuvent augmenter la mortalité [22].

Problématique liée aux polyphénols des fruits

Actuellement, la famille des polyphénols connus pour leurs propriétés antioxydantes *in vitro* fait l'objet de beaucoup d'attention en matière de nutrition. Ces polyphénols se répartissent en plusieurs sous-groupes : les acides phénoliques, les flavonols, les flavanols, les flavanones, les anthocyanes et les tanins. Ils sont majoritairement présents dans les fruits et les légumes, le thé vert, le vin rouge et l'huile d'olive. Parmi les fruits, ce sont les baies (canneberge, myrtille, cerises, raisin rouge, fraises) qui en sont les plus riches principalement sous la forme d'anthocyanes. Quelques études parcellaires [21, 23] ont montré que la consommation de ces baies était à même d'augmenter la CAG du plasma mesurée par les trois tests précités.

Toutefois, deux remarques essentielles s'imposent par rapport à ces observations. La première est liée au fait qu'une augmentation de la concentration plasmatique en acide urique est également observée après l'absorption de ce type d'aliments. En accord avec les observations de Lolito et Frei [24], Godycki et Cwirko [25] ont montré que l'augmentation de la CAG du plasma mesurée (tests FRAP et DPPH) après l'absorption d'un jus de pommes n'était nullement liée à une augmentation sanguine des polyphénols totaux mais bien à celle de l'acide urique. Ceci s'explique pour deux raisons. La première est que la concentration sanguine en polyphénols reste toujours très faible (1-10 μM) même après l'absorption d'un repas riche en ces antioxydants [26]. Une telle concentration ne peut dès lors pas contribuer à la CAG du plasma. La deuxième raison connue depuis longtemps est que la dégradation du fructose

(présent dans les fruits riches en polyphénols) conduit à une augmentation de l'acide urique sérique [27]. Récemment, il a été montré aux Etats-Unis qu'il existait d'ailleurs une prévalence accrue de goutte qui est à mettre en relation avec l'augmentation de la consommation de sodas riches en fructose [28].

Outre la problématique de l'acide urique, la seconde remarque concerne le fait qu'il faut en réalité des apports importants en fruits pour voir la CAG du plasma augmenter dans des proportions relativement modestes. Dans l'étude de Cao *et al.* [21], il est nécessaire d'ingérer 240 g de fraises, 294 g d'épinards ou 300 mL de vin rouge pour que la CAG du plasma s'élève d'une dizaine de pourcents. Il faut noter que ces effets sont transitoires et ne s'observent que durant les premières heures qui suivent l'ingestion (phase postprandiale) des aliments. D'un point de vue pratique, rappelons que les prises de sang pour l'évaluation du statut antioxydant sanguin se font toujours en étant à jeun depuis 12 h. Ceci diminue donc fortement les chances de voir des modifications interprétables dans les variations de valeurs de la CAG du plasma. Par ailleurs, les quantités de fruits ingérées pour observer une augmentation de la CAG du plasma dans ces études ne sont absolument pas réalistes d'un point de vue nutritionnel. En effet, une portion de fruits est définie selon les recommandations de l'Organisation mondiale de la santé à 80 grammes de l'aliment et pour le vin rouge à 125 mL. Une autre étude a montré que la CAG du plasma augmentait à peine de 10 % suite à une consommation de 10 à 12 portions de fruits et légumes par jour pendant une période de 15 jours [29]. Là aussi, ceci ne correspond pas à des critères nutritionnels puisque, sur la base de l'étude des régimes crétois et méditerranéen en général, c'est le chiffre de 5 portions (de façon plus précise 400 g) de fruits et légumes qui est préconisé [30]. Dans cette étude en particulier, il convient de préciser que la concentration en acide urique n'a pas été mesurée.

Interférence médicamenteuse

Enfin terminons ce tour d'horizon concernant la CAG du plasma en mentionnant que celle-ci peut être potentiellement influencée par la prise d'un ensemble de médicaments bien connus pour avoir une activité antioxydante (*tableau 2*). Cet élément important n'est jamais pris en compte.

Conclusion

La mesure de la CAG du plasma, quel que soit le test utilisé (ORAC, TAS, FRAP), ne peut en aucun cas être un

Tableau 2. Liste non exhaustive de médicaments ayant une activité antioxydante potentielle

Type de médicaments	Nom générique	Action antioxydante possible
Anti-inflammatoires non stéroïdiens	Asprine, indométhacine, kétoprofène, fluprofène	Réaction avec HOCl et radical hydroxyle, piègeur de métaux
Antagonistes calciques	Vérapamil, nitrendipine, diltiazème	Inhibition d'ions calciques
β-bloquants	Carvédilol, morine	Piégeur de HOCl, inhibiteur de la peroxydation lipidique
Inhibiteurs d'ECA	Captopril, énalapril, lisonopril	Piégeurs des EOA
Anticancéreux	Raloxifène étoposide	Piégeur du radical hydroxyle inhibiteur de la peroxydation lipidique
Hypolipidémiant	Probucol, AG1-1067, fluvastatine, simvastatine	Inhibiteur de la peroxydation lipidique
Antagonistes de récepteur à l'histamine H2	Cimétidine, ranitidine, nizatidine	Piégeur du radical hydroxyle et de HOCl
Divers	Mélatonine, DHEA, NAC	

Tiré de M. Ablise, Thèse de doctorat 2004, Université de Nancy, France.

indicateur du statut sanguin en antioxydants de nature hydrophile (vitamine C, glutathion réduit) et/ou lipophile (vitamine E, caroténoïdes) ou de la présence de cet état aussi complexe qu'est le stress oxydant. Cette mesure ne donne en effet aucune indication sur les dommages oxydatifs au niveau des lipides ou de l'ADN. Dans certains tests, le sang complet ou les LDL isolées à partir du plasma ont été utilisés comme matrices d'analyse. Il s'agit soit d'évaluer la résistance des globules rouges à l'hémolyse induite par le AAPH [31], soit de mesurer la susceptibilité des LDL du plasma à s'oxyder en présence de cuivre [32]. Ces analyses sont plus spécifiquement dépendantes de la concentration en vitamine E dans ces deux matrices au vu des propriétés lipophiles de celle-ci. Toutefois, ces méthodes nécessitant un traitement immédiat de l'échantillon sont lourdes à mettre en place (lavage répété des globules rouges, ultracentrifugation des LDL). Outre le fait qu'elles nécessitent des temps d'analyse particulièrement longs (cinétique de 4 à 5 h), il est également très difficile d'obtenir des normes de référence. Tout ceci rend leur application peu compatible avec une routine clinique d'autant qu'au final ces méthodes n'évaluent majoritairement qu'un antioxydant, en l'occurrence la vitamine E.

Dans un excellent article datant pourtant de 1999, Prior et Cao [33] concluent "aucune mesure unique du statut antioxydant n'est suffisante pour établir la présence d'un stress oxydant chez un individu. Pour cela, il est nécessaire d'établir une batterie de tests dont voici un exemple : vitamines C et E, cholestérol, glutathion réduit et oxydé, cuivre, zinc et peroxydes lipidiques [10].

Au vu des nombreux arguments scientifiques développés dans notre article, il est incontestable que la mesure de la CAG du plasma ne peut apporter une quelconque information sur le statut sanguin en antioxydants d'un individu et,

surtout, sur la décision de préconiser une complémentation en antioxydants de quelque nature qu'elle soit. Il convient enfin de préciser que le plasma ne donne aucune indication sur ce qui se passe au niveau cellulaire en matière d'antioxydants. Or, la biologie moderne nous montre que les antioxydants, et tout particulièrement les polyphénols, n'agissent pas via un effet piègeur direct des EOA, mais plutôt par un effet pro-oxydant responsable de la stimulation de gènes codant pour des enzymes antioxydantes. Ces nouvelles avancées doivent ainsi nous amener à repenser complètement notre vision des antioxydants [34]. Dans ce contexte, la mesure de la CAG du plasma apparaît bien comme étant totalement obsolète.

En guise de conclusion, nous invitons le lecteur à prendre connaissance de deux articles concernant la CAG du plasma récemment publiés par le Professeur H. Sies (Université de Düsseldorf, Allemagne), un des plus grands experts mondiaux dans le domaine des antioxydants. Ses conclusions admises dans le milieu scientifique ne laissent planer aucun doute sur la non-validité de la mesure de la CAG du plasma dans le cadre des bilans sanguins de stress oxydant [35, 36]. Pour terminer, nous voudrions apporter une dernière preuve de l'absence de crédibilité scientifique du test de la CAG du plasma en citant les conclusions d'un récent rapport de l'Agence européenne pour la sécurité des aliments (EFSA). Ce rapport stipule clairement que la mise en évidence d'un changement de la CAG du plasma (à l'aide des tests décrits ci-dessus) en réponse à l'ingestion d'un aliment à caractère antioxydant ne peut en aucun cas faire l'objet d'une allégation de santé en matière de protection cardiovasculaire [37].

À travers cet article d'information, nous espérons avoir conscientisé les professionnels de la santé au fait que le test de la CAG du plasma doit être clairement déconseillé dans le cadre de la médecine nutritionnelle.

Liens d'intérêts : Les auteurs déclarent ne pas avoir de lien d'intérêt en rapport avec cet article.

Références

1. Sies H, Jones DP. Oxidative stress. In : Fink G, ed. *Encyclopedia of stress*. San Diego : Elsevier, 2007, p. 45-8.
2. Itoh K, Mimura J, Yamamoto M. Discovery of the negative regulator of Nrf2, Keap1 : a historical overview. *Antioxid Redox Signal* 2010 ; 13 : 1665-78.
3. Birringer M. Hormetics : dietary triggers of an adaptive stress response. *Pharma Res* 2011 ; 28 : 2680-94.
4. Walter M, Jacob RF, Bjork RE, Jeffers B, Buch J, Mizuno Y, et al. Circulating lipid hydroperoxides predict cardiovascular events in patients with stable coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 2008 ; 51 : 1196-202.
5. Caputo F, Vegliante R, Ghibelli L. Redox modulation of the DNA damage response. *Biochem Pharmacol* 2012 ; 84 : 1292-306.
6. Gey KF, Moser K, Jordan P, Stähelin HB, Eichholzer M, Lüdin E. Increased risk of cardiovascular disease at suboptimal plasma concentrations of essential antioxidants : an epidemiological update with special attention to carotene and vitamin C. *Am J Clin Nutr* 1993 ; 57 : 787S-97S.
7. Pincemail J, Vanbelle S, Degruene F, Cheramy-Bien JP, Charlier C, Chappelle JP, et al. Lifestyle behaviours and plasma vitamin C and β -carotene levels from the ELAN population (Liège, Belgium). *J Nutr Metab* 2011 ; Epub March 6.
8. Defraigne JO, Pincemail J. Stress oxydant et antioxydants : mythes et réalités. *Rev Med Liège* 2007 ; 62 : 1-10.
9. Hercberg S. Stress oxydant L'étude SU.VI.MAX, un essai contrôlé randomisé, en double aveugle, testant l'effet de la supplémentation en vitamines et minéraux antioxydants sur la santé. *Ann Pharm Fr* 2006 ; 64 : 397-401.
10. Pincemail J, Le Goff C, Charlier C, Gillion P, Cheramy-Bien JP, Van Honacker E, et al. Evaluation biologique du stress oxydant. Application en routine clinique. *Nutrition & Endocrinologie Spécial Stress Oxydant* 2009 : 16-31.
11. Cao G, Prior RL. The measurement of oxygen radical absorbance capacity in biological samples. *Meth Enzymol* 1999 ; 299 : 50-62.
12. Rice-Evans Cand Miller NJ. Total antioxidant status in plasma and body fluids. *Meth Enzymol* 1994 ; 234 : 279-93.
13. Benzie IFF, Strain J. Ferric reducing/antioxidant power assay : direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Meth Enzymol* 1999 ; 299 : 15-27.
14. Cao G, Prior RL. Comparison of different analytical methods for assessing total antioxidant capacity of human serum. *Clin Chem* 1998 ; 44 : 1309-15.
15. Khalil A, Gaudreau P, Cherki M, Wagner R, Tessier DM, Fulop T, et al. Antioxidant-rich food intakes and their association with blood total antioxidant status and vitamin C and E levels in community-dwelling seniors from the Quebec longitudinal study NuAge. *Exp Gerontol* 2011 ; 46 : 475-81.
16. Tabart J, Kevers C, Pincemail J, Defraigne JO, Dommes J. Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests. *Food Chemistry* 2009 ; 113 : 1226-33.
17. Sipel A, Kevers C, Pincemail J, Grygiel PG, Defraigne JO, Dommes J. Sample dilution influences the determination of antioxidant capacity in food : how to minimize it ? *Food Anal Methods* 2013 ; 6 : 1485-91.
18. Ames BN, Cathcart R, Schwiers E, Hochstein P. Uric acid provides an antioxidant defense in humans against oxidant- and radical-caused aging and cancer : a hypothesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981 ; 78 : 6858-62.
19. Wayner DD, Burton GW, Ingold KU, Locke S. Quantitative measurement of the total, peroxy radical-trapping antioxidant capacity of human blood by controlled peroxidation. *FEBS Lett* 1985 ; 187 : 33-7.
20. Rice-Evans C, Miller N, Bolwell PG, Bramley PM, Pridham JB. The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free Rad Res* 1995 ; 22 : 375-83.
21. Cao G, Russell RM, Lischner N, Prior RL. Serum antioxidant capacity is increased by consumption of strawberries, spinach, red wine or vitamin C in elderly women. *J Nutr* 1998 ; 128 : 2383-90.
22. Bjelakovic G, Nikolova D, Gluud LL, Simonetti RG, Gluud C. Mortality in randomized trials of antioxidant supplements for primary and secondary prevention : systematic review and meta-analysis. *JAMA* 2007 ; 297 : 842-57.
23. Kay CD, Holub BJ. The effect of wild blueberry (*Vaccinium angustifolium*) consumption on postprandial serum antioxidant status in human subjects. *Br J Nutr* 2002 ; 88 : 389-98.
24. Lotito SB, Frei B. Consumption of flavonoid-rich foods and increased plasma antioxidant capacity in humans : cause, consequence, or epiphenomenon ? *Free Radic Biol Med* 2006 ; 41 : 1727-46.
25. Godycki-Cwirko M, Krol M, Krol B, Zwolinska A, Kolodziejczyk K, Kasielski M, et al. Uric acid but not apple polyphenols is responsible for the rise of plasma antioxidant activity after apple juice consumption in healthy subjects. *J Am Coll Nutr* 2010 ; 29 : 397-406.
26. Ottaviani JI, Kwik-Urbe C, Keen CL, Schroeter H. Intake of dietary procyanidins does not contribute to the pool of circulating flavanols in humans. *Am J Clin Nutr* 2012 ; 95 : 851-8.
27. Emmerson BT. Effect of oral fructose on urate production. *Ann Rheum Dis* 1974 ; 33 : 276-80.
28. Choi JWJ, Ford ES, Gao X, Choi HK, Hyon K, Choi. Sugar-sweetened soft drinks, diet Soft drinks, and serum uric acid level : the third national health and nutrition examination survey. *Arthritis Rheum* 2008 ; 59 : 109-16.
29. Prior RL, Gu L, Wu X, Jacob RA, Sotoudeh G, Kader AA, et al. Plasma antioxidant capacity changes following a meal as a measure of the ability of a food to alter *in vivo* antioxidant status. *J Am Coll Nutr* 2007 ; 26 : 170-81.
30. Programme national nutrition-santé (PNNS). France 2001 et Belgique 2006.
31. Niki E, Komuro E, Takahashi M, Urano S, Itos E, Kiyoshi T. Oxidative hemolysis of erythrocytes and its inhibition by free radical scavengers. *JBC* 1988 ; 263 : 19809-14.
32. Pinchuk I, Shoal H, Bor A, Schnitzer E, Dotan Y, Lichtenberg D. Ranking antioxidants based on their effect on human serum lipids peroxidation. *Chem Phys Lipids* 2011 ; 164 : 42-8.

33. Prior RL, Cao G. *In vivo* total antioxidant capacity : comparison of different analytical methods. *Free Rad Biol Med* 1999 ; 27 : 1173-81.
34. Pincemail J. Stress oxydant et antioxydants. Revue critique du mode d'action des antioxydants. Liège, Belgique : Testez Editions, 2014.
35. Sies H. Total antioxidant capacity : appraisal of a concept. *J Nutr* 2007 ; 137 : 1493-5.
36. Pompella A, Sies H, Wacker R, Brouns F, Grune T, Biesalski HK, *et al.* The use of "total antioxidant capacity" as surrogate marker for food quality and its impact on health is to be discouraged. *Nutrition* 2014 ; sous presse.
37. Guidance on the scientific requirements for health claims related to antioxidants, oxidative damage and cardiovascular health. *EFSA journal* 2011 ; 9 : 2474.

Author Offprint