



Article Original

Effet de l'Âge sur l'Activité Antioxydante du Plasma de Sujets Sains par Piégeage du Radical ABTS+

Effect of age on the antioxidant activity of the plasma of healthy subjects by trapping the ABTS+ radical

N'negue ép. Mezui-Mbeng M-A¹, Makoyo Komba O², Bang Ntamack J A², Nkolo Ovouele J-C¹, Lendoye E¹, Edou Engonga P³

RÉSUMÉ

Introduction. Le vieillissement est un processus lent et progressif différent de la maladie, dont la cause principale est la présence des radicaux libres et les attaques oxydatives de l'ADN mitochondriale dans l'organisme. La fréquence des délétions de l'ADN mitochondriale augmenterait de façon exponentielle à partir de 50 ans pour atteindre des niveaux considérables chez des personnes plus âgées. **Objectif.** Mesurer l'activité antioxydante du plasma de femmes saines sans pathologie chronique dont l'étiologie serait liée au stress oxydatif, et dont l'âge est inférieur ou égal à 50 ans, par piégeage du radical libre ABTS⁺. L'étude vise à observer l'évolution de la capacité antiradicalaire du sang avec la prise d'âge, jusqu'à 50 ans. **Résultats.** L'activité antiradicalaire moyenne des femmes d'âges > 40 ans était de 2,2% supérieure à celle des femmes d'âges ≤ 40 ans. L'activité antiradicalaire des femmes en surpoids avec une IMC supérieure à 25 kg/m² et un âge moyen de 42,16 ± 7,78 ans est plus ou moins équivalente à celle des femmes à corpulence normale avec un IMC inférieur à 25,25 kg/m² ayant un âge moyen de 36,25 ± 8,95 ans. L'activité antiradicalaire moyenne des femmes ayant moins de 3 gestités et un âge moyen de 32,25 ± 7,13 % ans est peu différente de celle des femmes ayant une gestité ≥ 3 avec un âge moyen de 44,83 ± 4,35% ans. L'activité antiradicalaire moyenne des femmes avec des parités inférieures à 3 et un âge moyen de 35 ± 7,32 ans est équivalente à celle des femmes de parités supérieures ou égales à 3 avec un âge moyen de 47,83 ± 2,16% ans. L'activité antiradicalaire du plasma des femmes consommant 2 à 3 fruits et légumes par jour avec un âge moyen de 43,6 ± 4,39 ans est supérieur de 3,5% environ à celles des femmes ne consommant que 1 fruit et légume/jour d'un âge moyen de 36 ± 10,07 ans. **Conclusion.** L'évaluation de la capacité antioxydante totale du sang des femmes par piégeage du radical montre qu'un léger stress oxydatif s'installe déjà progressivement dans le plasma sanguin de la femme d'âge inférieur ou égale 50 ans. La consommation des fruits et légumes enrichie l'organisme en composés antioxydants. Une gestité et une parité supérieures ou égales à 3 freinent l'apparition du stress oxydatif.

ABSTRACT

Introduction. Aging is a slow and progressive process different from disease, the main cause of which is the presence of free radicals and oxidative attacks on mitochondrial DNA in the body. The frequency of mitochondrial DNA deletions would increase exponentially from the age of 50 to reach considerable levels in older people. **Objective.** To measure the antioxidant activity of the plasma of healthy women without chronic pathology whose etiology would be linked to oxidative stress, and whose age is less than or equal to 50 years, by trapping the free radical ABTS⁺. The study aims to observe the evolution of the antiradical capacity of the blood with increasing age, up to 50 years. **Results.** The average antiradical activity of women aged > 40 years was 2.2% higher than that of women aged ≤ 40 years. The antiradical activity of overweight women with a BMI greater than 25 kg/m² and an average age of 42.16 ± 7.78 years is more or less equivalent to that of women of normal build with a BMI less than 25.25 kg/m² with an average age of 36.25 ± 8.95 years. The mean antiradical activity of women with less than 3 gestations and an average age of 32.25 ± 7.13% years is little different from that of women with a gestation ≥ 3 with an average age of 44.83 ± 4.35 % year. The average antiradical activity of women with parities less than 3 and an average age of 35 ± 7.32 years is equivalent to that of women with parities greater than or equal to 3 with an average age of 47.83 ± 2.16% year. The antiradical activity of the plasma of women consuming 2 to 3 fruits and vegetables per day with an average age of 43.6 ± 4.39 years is higher by about 3.5% than those of women consuming only 1 fruit and vegetable / day with a mean age of 36 ± 10.07 years. **Conclusion.** The evaluation of the total antioxidant capacity of women's blood by radical scavenging shows that a slight oxidative stress is already gradually settling in the blood plasma of women aged less than or equal to 50 years. The consumption of fruits and vegetables enriches the body with antioxidant compounds. Gestivity and parity greater than or equal to 3 slow down the onset of oxidative stress.

¹Laboratoire de Chimie-Biochimie de la Faculté de Médecine. Université des Sciences de la Santé B.P. 4009. Libreville-Gabon.

²Service de gynécologie.

Centre Hospitalier Universitaire Mère Enfant Fondation Jeanne Ebori. BP :50 Libreville-Gabon.

³Ecole Normale Supérieure, Département des Sciences Physiques, Laboratoire Pluridisciplinaire des Sciences (LAPLUS), Avenue des Grandes Ecoles, BP: 17009, Libreville-Gabon.

Auteur correspondant

N'negue ép. Mezui-Mbeng Marie-Andrée

BP : 4009, Libreville / Gabon

Tél : + 241 77 62 27 28

Mail : negmarie@yahoo.fr

Mots-clés : Femmes saines – Plasma – Age–Capacité antioxydante totale – ABTS⁺.

Keywords : Pregnant women – Plasma – Age–full antioxydative capacity– ABTS⁺

INTRODUCTION

Dans les systèmes biologiques, la production d'espèces réactives de l'oxygène (Reactive Oxygen Species : ROS, en anglais) est contrebalancée par les systèmes antioxydants tels que l'α-tocophérol, l'acide ascorbique, et des enzymes dont les plus représentatives sont la

catalase, la famille des superoxydes dismutases, la glutathion peroxydase, la glutathion réductase [1-5]. Cet équilibre est rompu dans certaines conditions telles qu'une augmentation de la production des formes activées de l'oxygène (exposition à des concentrations élevées en O₂, infection bactérienne, etc.) ou une diminution de l'efficacité des systèmes anti-oxydants [5]. On observe

alors une augmentation des concentrations intracellulaires des ROS responsables du stress oxydant [6-8]. Chez l'être humain, les dommages oxydatifs que subissent l'ADN, les lipides et des protéines sont associés à certaines maladies chroniques telles que les maladies cardiovasculaires [9], certains cancers [10], le diabète [11], les maladies inflammatoires, la maladie d'Alzheimer et d'autres maladies neurodégénératives [12], ainsi qu'au processus de vieillissement [5].

Le vieillissement est un ensemble de processus physiologiques et psychologiques qui modifient la structure et les fonctions de l'organisme à partir de l'âge mûr [13-15]. C'est un processus lent et progressif qui diffère de la maladie, dont la cause principale est la présence des radicaux libres dans l'organisme.

Etant donné que la prise de l'âge s'accompagne de dommages oxydatifs des biomolécules avec une augmentation possible des ROS, nous nous proposons dans cette étude d'évaluer l'activité antioxydante du plasma des sujets de même sexe, de différents âges, sans maladie chronique liée au stress oxydant. Ceci permettra de mettre en évidence l'effet de l'âge sur la capacité antioxydante totale du sang humain. L'activité antiradicalaire a été mesurée par piégeage du cation radicalaire de l'acide 2,2'-azinobis [3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique] (ABTS⁺) selon la méthode mise au point par Re *et al.* [16] et optimisée par N'negue *et al.* [17] avec l'acide gallique comme antioxydant de référence. Selon Fischer *et al.* [18], la méthode ABTS peut être utilisée en routine pour prédire la capacité antioxydante du sang, le plasma étant un meilleur substrat que sérum.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Échantillonnage

Dix échantillons de sang ont été prélevés sur des femmes sans aucune pathologie chronique, âgées de 24 à 50 ans. Une Numération Formule Sanguine et un dosage de la CRP ont été effectués afin d'éliminer tout processus inflammatoire et/ou infectieux pouvant impacter sur les résultats. Un consentement éclairé a été signé par toutes les femmes. L'ABTS (acide 2,2'-azinobis[3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique]), l'acide gallique, le persulfate de potassium (K₂S₂O₈) et le dihydrogénophosphate de sodium hydraté ont été achetés auprès de Sigma-Adrilch (Saint-Quentin Fallavier, France). L'eau utilisée a été distillée par l'équipement du laboratoire « Milli-Q Labo » (Millipore Japan, Tokyo, Japan). Tous ces produits sont de qualité pour analyses. L'activité anti-radicalaire a été déterminée par spectrophotométrie UV : Spectrophotomètre V-200 (BOECO, Germany). La lecture de la densité optique a été faite à 734 nm, longueur d'onde d'absorption.

Préparation des échantillons de sang

Le sang de 10 sujets féminins sains, âgées de 24 à 50 ans a été prélevé au niveau veineux dans des tubes avec anticoagulant EDTA pour l'obtention du plasma. Tous les tubes ont été centrifugés à 3000 tours/minute pendant 5

minutes. Les échantillons de plasma ont été dilués 100X au moment de la lecture au spectrophotomètre.

Préparation des solutions d'acide gallique, « antioxydant de référence »

L'acide gallique (acide 3,4,5-trihydroxybenzoïque) est un composé organique aromatique, utilisé comme composé anti-radicalaire de référence. Dix solutions de travail, de concentrations décroissantes, allant de 0,5 à 5 µM, ont été préparées par dilution de l'acide gallique dans de l'eau distillée.

Mesure de l'activité anti-radicalaire

Le principe du test de mesure de l'activité anti-radicalaire par la méthode ABTS est basé sur la diminution de l'absorbance à 734 nm du cation radicalaire ABTS⁺ (coloration bleu-vert) en présence d'un composé potentiellement anti-radicalaire qui réduit le radical cation. La diminution de la forme radicalaire d'ABTS⁺ entraîne une décoloration de la solution. L'ion radicalaire ABTS⁺ est obtenu en faisant réagir la molécule d'ABTS (7 mM) avec le persulfate de potassium (2,45 mM), dans de l'eau distillée pendant 16 heures à température ambiante et à l'abri de la lumière. La solution d'ABTS⁺ obtenue est diluée avec du tampon phosphate de sodium (5 mM, pH = 7,4), afin d'obtenir une solution mère ayant une valeur initiale d'absorbance à 734 nm située entre 0,65 et 0,70. Le cation radicalaire (ABTS⁺) est stable pendant plus de 2 jours lorsqu'il est stocké à température ambiante et à l'abri de la lumière. Tous les dosages ont été réalisés trois fois et l'activité anti-radicalaire est calculée selon la formule ci-après : Activité anti-radicalaire (%) = $[1 - (Ar-Ab)/(Ai-Ab)] \times 100$. Avec Ar= activité restante d'ABTS⁺, Ai= activité initiale d'ABTS⁺ et Ab= Activité du blanc. En fait, la réduction du radical cation ABTS⁺ revient donc à déterminer l'activité anti-radicalaire et au total, les propriétés antioxydantes du plasma, comparativement aux propriétés antioxydantes de l'acide gallique (étalon). L'activité anti-radicalaire a été déterminée par spectrophotométrie UV dans des cuves de 1cm de trajet optique (volume réactionnel de 2 mL). Le temps d'incubation est de 6 minutes à température ambiante.

RÉSULTATS

Validation de la méthode ABTS avec un antioxydant de référence « Acide gallique »

➤ Activité anti-radicalaire de l'acide gallique en fonction de la concentration

Le pourcentage (%) d'activité anti-radicalaire augmente linéairement en fonction de la concentration en acide gallique (Figure 3). Le radical ABTS⁺ disparaît en présence de l'antioxydant de référence. En effet, une activité anti-radicalaire de $14,39 \pm 2,35$ % a été enregistrée pour une concentration de 0,5 µM d'acide gallique. Cette activité passe à $98,9 \pm 1,95$ % pour une concentration de 4,5 µM. Selon nos résultats, l'IC₅₀ de l'acide gallique, qui est la concentration nécessaire à la réduction de 50% de l'activité anti-radicalaire (ou à la disparition de 50% de forme radicalaire ABTS⁺) est de 2 µM (0,37 µg.mL⁻¹).

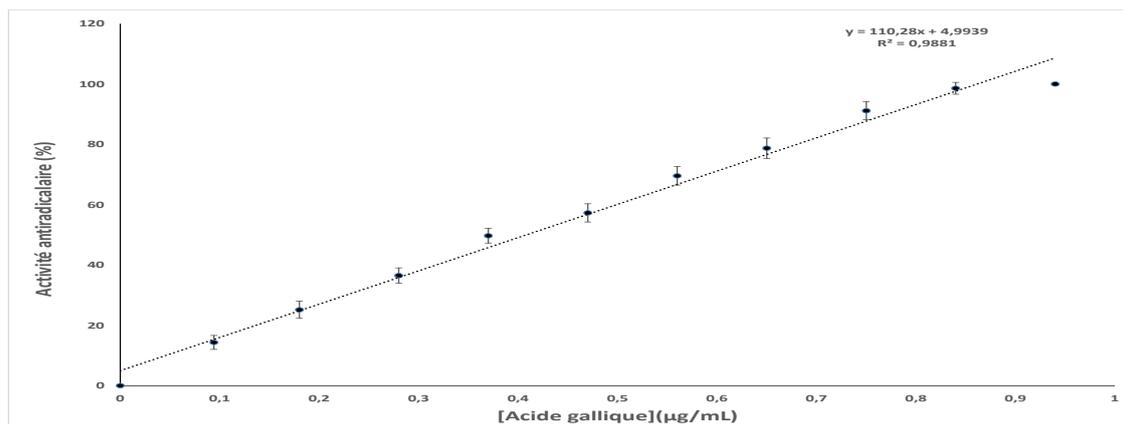


Figure 1 : Activité anti-radicalaire en fonction de la concentration de l'acide gallique après 6 minutes d'incubation. La proportion ABTS⁺ transformée en ABTS en présence d'acide gallique est calculée à partir de la variation d'absorbance à 734 nm mesurée par spectrophotométrie. L'équation de droite est la suivante : $y = 110,28x + 4,9$ ($R^2 = 0,98$) ; $n = 3$.

Caractéristiques générales de la population d'étude

N°	Age	IMC	PAS/PAD	Gestité	Parité	Fruit/légume	Activité anti-radicalaire(%)
1	24	22,5	126/82	0	0	1/jour	31,9±0,01
2	29	30,45	119/85	2	1	1/jour	29,71±0,4
3	36	21,40	123/80	1	1	2-3/jour	37,3± 1,4
4	37	26,35	116/74	5	2	1/jour	30,24±0,7
5	40	24,5	110/60	1	0	1/jour	34,7 ±2,9
6	44	29,4	110/70	4	2	2-3/jour	38,28±0,9
7	45	23,90	101/66	4	3	2-3/jour	32,55±1,7
8	46	28,37	110/70	5	3	2-3/jour	34,95±1,4
9	47	26,50	1280/79	7	5	2-3/jour	34,73±0,5
10	50	29	135/87	7	4	1/jour	34,28±1,5

Remarques : d'après les données listées sur les tableaux ci-dessus, il n'existe pas d'hypertendue dans la population d'études ; 5 personnes sur 10 sont en surpoids (IMC >25). La moitié des femmes consomme 2 fruits et légumes par jour, l'autre moitié ne consommant qu'un fruit et légume. Toutes les femmes de l'étude sont non fumeuses.

Comparaison de l'activité antiradicalaire de l'ensemble des femmes

Les résultats de l'activité antiradicalaire du plasma de toutes les femmes saines âgées de 24 à 50 ans sont représentés sur la figure 2. Ces résultats ne laissent pas entrevoir une relation claire entre l'activité antiradicalaire et l'âge des femmes pris individuellement. En effet, nous pouvons observer soit une faible augmentation, suivie d'une légère diminution ou inversement, de l'activité antiradicalaire avec l'âge. Exemple : l'activité antiradicalaire du plasma du sujet âgé de 37 ans est 30,2% ; elle est de 38,28 % pour le sujet âgé de 44 ans et rechute à 34,28 % pour le sujet âgé de 50 ans.

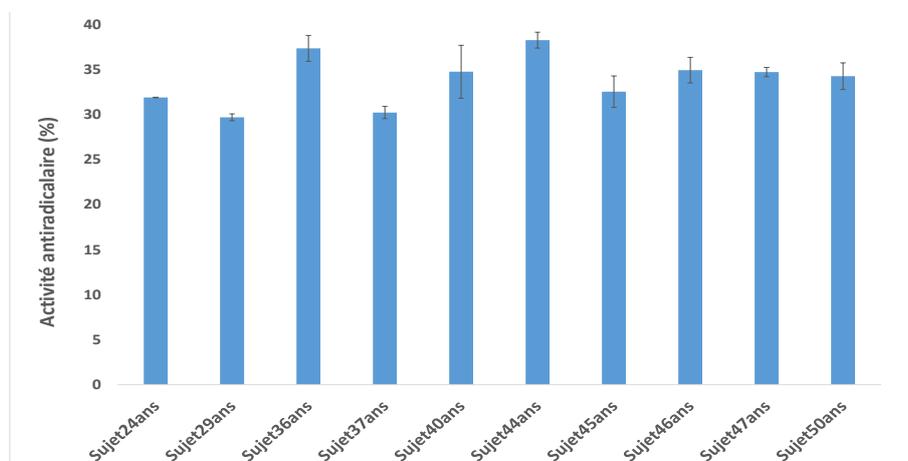


Figure 2 : Activité anti-radicalaire des différents échantillons de plasmas (dilués au 1/100ème) de femmes saines âgées de 24 à 50 ans. La proportion ABTS⁺ transformée en ABTS en présence d'échantillons plasmatiques est calculée à partir de la variation d'absorbance à 734 nm mesurée par spectrophotométrie ; $n = 2$.

Effet de l'âge sur l'activité antiradicalaire

Nous avons divisé les femmes en deux groupes selon l'âge, et nous avons regardé l'évolution de l'activité antiradicalaire dans les 2 groupes. Le groupe 1 regroupe les femmes d'âges inférieurs ou égales à 40 ans et le groupe 2 celles dont l'âge allait de plus de 40 ans à 50 ans. Les résultats obtenus sont représentés sur la figure 3 ci-dessous. Selon ceux-ci, l'activité antiradicalaire moyenne des femmes d'âges > 40 ans était de 2,2% supérieure à celle des femmes d'âges ≤ 40 ans. En effet, cette activité moyenne est de $34,96 \pm 2,08\%$ pour les sujets d'âges > 40 ans et de $32,8 \pm 3,22\%$ pour les d'âges ≤ 40 ans.

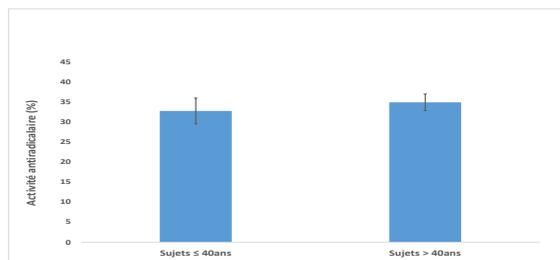


Figure 3 : Activité anti-radicalaire moyenne des échantillons de plasmas (dilués au 1/100ème) de femmes saines d'âges ≤ 40 ans et des femmes saines d'âges > 40 ans. La proportion ABTS⁺⁺ transformée en ABTS⁺ en présence d'échantillons plasmatiques est calculée à partir de la variation d'absorbance à 734 nm mesurée par spectrophotométrie ; n = 2.

Effet de l'IMC et de l'âge sur l'activité antiradicalaire

L'activité antiradicalaire moyenne de femmes saines avec un IMC inférieur à 25 kg/m² et un âge moyen de $36,25 \pm 8,95$ ans a été comparée à celle de femmes saines en surpoids d'un âge moyen de $42,16 \pm 7,78$ ans avec un IMC supérieur à 25kg/m². Les résultats obtenus sont regroupés sur la figure 6 ci-dessous. Selon les résultats, l'activité antiradicalaire des femmes en surpoids avec une IMC supérieur à 25 kg/m² et un âge moyen de $42,16 \pm 7,78$ ans est plus ou moins équivalente à celle des femmes avec un IMC inférieur à 25kg/m² ayant un âge moyen de $36,25 \pm 8,95$ ans. L'activité antiradicalaire des femmes avec une IMC < 25 est légèrement supérieure à celle des femmes avec un IMC > 25 kg/m². En effet, l'activité antiradicalaire moyenne est de $34,15 \pm 2,469\%$ pour les femmes avec un IMC < 25 contre $33,69 \pm 3,22\%$ ans pour celles avec un IMC > 25kg/m².

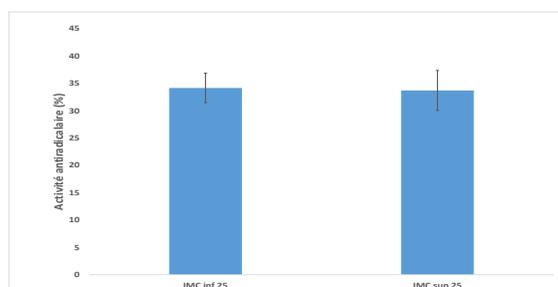


Figure 4 : Activité anti-radicalaire moyenne des différents échantillons de plasmas (dilués au 1/100ème) de femmes saines âgées de $36,25 \pm 8,95$ ans en moyenne avec un IMC < 25 ; et de femmes saines avec un IMC > à 25 âgées en moyenne de $42,16 \pm 7,78$ ans. La proportion ABTS⁺⁺ transformée en ABTS⁺ en présence d'échantillons plasmatiques est calculée à partir de la variation d'absorbance à 734 nm mesurée par spectrophotométrie ; n = 2.

Effet de la gestité et de l'âge sur l'activité antiradicalaire

L'activité antiradicalaire moyenne a été comparée chez des femmes avec des gestités inférieures à 3 et un âge moyen de $32,25 \pm 7,13$ %, et des femmes de gestités supérieures ou égales à 3 avec un âge moyen de $44,83 \pm 4,35\%$. Les résultats obtenus sont regroupés sur la figure 5 ci-dessous. Selon ces résultats, l'activité antiradicalaire moyenne du groupe des femmes ayant moins de 3 gestités et un âge moyen de $32,25 \pm 7,13$ % est peu différente de celle des femmes ayant une gestité ≥ 3 avec un âge moyen de $44,83 \pm 4,35\%$. En effet, les activités antiradicalaires obtenues sont respectivement de $33,44 \pm 3,3$ % et de $34,17 \pm 2,67\%$ (figure 5).

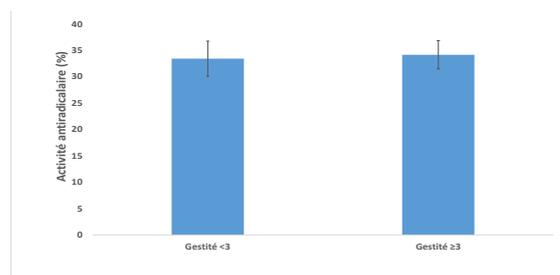


Figure 5 : Activité anti-radicalaire moyenne des différents échantillons de plasmas (dilués au 1/100ème) de femmes saines âgées de $32,25 \pm 7,13$ ans en moyenne avec une gestité inférieure à 3, et des femmes avec une gestité supérieure ou égale à 3 et un âge moyen de $44,83 \pm 4,35$ ans. La proportion ABTS⁺⁺ transformée en ABTS⁺ en présence d'échantillons plasmatiques est calculée à partir de la variation d'absorbance à 734 nm mesurée par spectrophotométrie ; n = 2.

Effet de la parité et de l'âge sur l'activité antiradicalaire

Les résultats des activités antiradicalaires moyennes des femmes saines avec des parités inférieures à 3 et un âge moyen de $35 \pm 7,32$ ans, et des femmes de parités supérieures ou égales à 3 avec un âge moyen de $47,83 \pm 2,16\%$ ans sont représentés sur la figure 6. Selon ceux-ci, les valeurs des activités antiradicalaires des deux groupes de femmes sont plus ou moins identiques. En effet, l'activité antiradicalaire moyenne du plasma des femmes avec une parité inférieure à 3 est de $33,71 \pm 3,65\%$ contre $34,13 \pm 1,08$ % pour celles dont la parité est supérieure ou égale à 3 (figure 6).

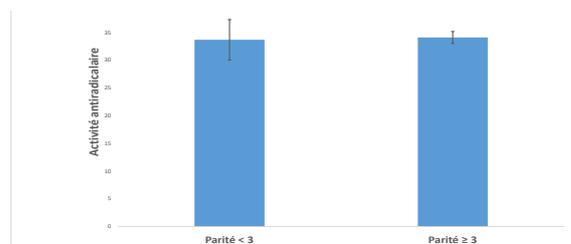


Figure 6 : Activité anti-radicalaire moyenne des différents échantillons de plasmas (dilués au 1/100ème) de femmes saines avec une parité inférieure à 3 et une moyenne d'âge de $35 \pm 7,32$ ans ; et des femmes âgées de $47 \pm 2,16$ ans en moyenne ayant une parité supérieure ou égale à 3. La proportion ABTS⁺⁺ transformée en ABTS⁺ en présence d'échantillons plasmatiques est calculée à partir de la variation d'absorbance à 734 nm mesurée par spectrophotométrie ; n = 2.

Effet de la consommation des fruits et des légumes et de l'âge sur l'activité antiradicalaire

L'activité antiradicalaire moyenne du plasma de femmes avec un âge moyen de $36 \pm 10,07$ ans et consommant un fruit et légume par jour a été comparée à celle des femmes consommant 2 fruits et légumes par jour avec un âge moyen de $43,6 \pm 4,39$ ans. D'après les résultats obtenus (figure 7), l'activité antiradicalaire du plasma des femmes consommant 2 à 3 fruits et légumes par jour est supérieur de 3,5% environ à celles des femmes ne consommant qu'un fruit et légume/jour. En effet, l'activité antiradicalaire moyenne du plasma est de $32,16 \pm 2,27\%$ chez les femmes ne consommant qu'un fruit et légume par jour et de $35,56 \pm 2,26\%$ chez celles consommant 2 à 3 fruits et légumes (figure 7).

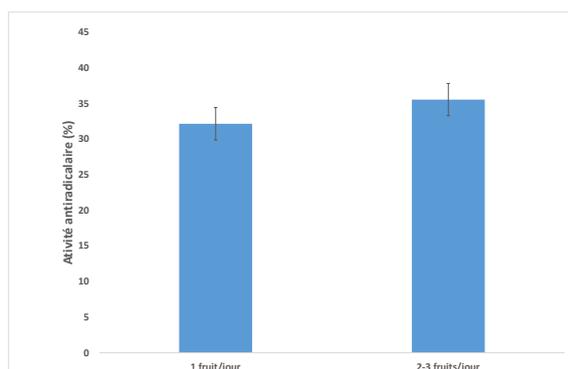


Figure 7 : Activité anti-radicalaire moyenne des différents échantillons de plasmas (dilués au 1/100ème) de femmes saines d'un âge moyen de $36 \pm 10,07$ ans et consommant 1 fruit et légume par jour, et des femmes saines âgées de $43,6 \pm 4,39$ ans en moyenne et consommant 2-3 fruits par jour. La proportion ABTS^{•+} transformée en ABTS⁺ en présence d'échantillons plasmatiques est calculée à partir de la variation d'absorbance à 734 nm mesurée par spectrophotométrie ; n = 2.

DISCUSSION

Notre étude a porté sur l'évaluation de l'activité antiradicalaire du plasma de femmes saines âgées de 24 à 50 ans, sans aucune pathologie chronique ayant un lien prouvé avec la présence d'un stress antioxydant. Ceci afin d'observer l'effet de la prise d'âge ou du vieillissement sur la capacité antiradicalaire du sang. L'activité antiradicalaire a été mesurée par piégeage du radical libre ABTS^{•+} selon la méthode de Re *et al.*[16] optimisée par N'negue *et al.*[17] avec l'acide gallique comme antioxydant de référence. Dans cette méthode, la concentration du cation radicalaire ABTS^{•+} de coloration bleu vert absorbant à 734 nm, diminue en présence d'un composé antioxydant capable de piéger ledit radical et le réduire en molécule non radicalaire ABTS⁺. Ce qui aura pour conséquence une diminution de l'absorbance à 734 nm et une décoloration de la solution. Selon Fischer *et al.*[18], ce test peut être appliqué en routine pour prédire la capacité antioxydante totale du sang. Les résultats de l'activité antioxydante de l'acide gallique (molécule synthétique fortement antioxydante) valident la méthode choisie (figure 1). La valeur de IC₅₀ de l'acide gallique déduite de nos résultats était de 2 µM. Cette valeur est équivalente à celle obtenue par Sadat *et al.*[19] et N'negue *et al.*[17 ; 20], qui ont travaillé dans les mêmes conditions.

Les résultats de l'activité antiradicalaire des plasmas des femmes âgées de 24 à 50 ans présentés sur la figure 4 ne laissent pas apparaître une relation claire entre l'activité antiradicalaire et l'âge des femmes. En effet, nous pouvons observer soit une augmentation légère, suivie d'une diminution ou inversement, de l'activité antiradicalaire avec l'âge des femmes. Cependant, lorsque nous regroupons les femmes en tranches d'âges (figure 5), l'activité antiradicalaire moyenne des femmes âgées de plus de 40 ans est de 2,2% supérieure à celle des femmes d'âges inférieurs ou égales à 40 ans. Nous pouvons expliquer cette légère augmentation de l'activité antiradicalaire au-delà de 40 ans par les deux hypothèses suivantes. La première hypothèse serait la présence d'un léger stress oxydant dans le sang des femmes de plus de 40 ans, avec pour conséquence une augmentation de composés antiradicalaires afin de lutter contre les radicaux libres générés par ce stress oxydant. D'ailleurs selon la littérature, le stress oxydant peut avoir pour conséquence l'augmentation de l'activité oxydante [21]. Rappelons que la cause principale du vieillissement est la présence des radicaux libres dans l'organisme [15 ; 5]. Environ 5% de l'oxygène consommé lors de respiration est perdu dans nos cellules sous forme de radicaux libres oxygénés entraînant une détérioration progressive de l'ADN mitochondriale, signe du vieillissement. La fréquence des délétions de l'ADNmt, et donc la production de radicaux libres oxygénés, augmenterait de façon exponentielle à partir de 50 ans pour atteindre des niveaux considérables chez des personnes plus âgées. La seconde hypothèse serait une augmentation de composés antiradicalaires dans le sang de ces femmes de plus de 40 ans du fait d'une alimentation riche en composés antiradicalaires tels que les fruits et les légumes. En effet selon la littérature, les fruits et les légumes sont riches en composés antiradicalaires tels que les composés phénoliques, les polyphénols, les flavonoïdes, les caroténoïdes, les anthocyanines, les vitamines C et E[22-27]. Nos résultats sur l'effet de la consommation des fruits et légumes et de l'âge, sur l'activité antiradicalaire moyenne des femmes (figure 9) valident nos hypothèses. En effet, selon ces résultats l'activité antiradicalaire moyenne des femmes consommant 2 à 3 fruits et légumes par jour avec une moyenne d'âge de $43,6 \pm 4,39$ ans était supérieure de 3,5% à celle des femmes consommant un fruit et légume par jour ayant un âge moyen de $36 \pm 4,39$ ans. Ces résultats confirment à la fois la présence du léger stress oxydant liée à l'âge et l'augmentation de l'activité antiradicalaire liée à la forte consommation des fruits et légumes.

L'effet de l'IMC et de l'âge sur l'activité antiradicalaire de femmes (figure 6) a montré que les femmes d'une moyenne d'âge de $36,25 \pm 8,95$ ans avec une corpulence normale (IMC < à 25kg/m²) ont une activité antiradicalaire moyenne ($34,15 \pm 2,46\%$) quasi-identique à celle des femmes en surpoids (IMC > à 25kg/m²) d'une moyenne d'âge de $42,16 \pm 7,78$ ans ($33,69 \pm 3,22\%$). L'activité des femmes à corpulence normale étant juste légèrement supérieure à celle des femmes en surpoids. Nous pouvons expliquer la baisse de l'activité antiradicalaire chez les femmes de plus de 40 ans par l'état de surpoids de celles-ci. En effet dans des travaux récents,

N'negue et al.[28] montrent qu'un IMC élevé augmentait le stress oxydant chez les femmes avec des myomes utérins. La diminution de l'activité antiradicalaire du plasma pouvant s'expliquer par une réaction interne préalable entre les molécules antiradicalaires sanguines non enzymatiques (composés phénoliques totaux, les flavonoïdes, l'acide urique, l'acide ascorbique, l'alpha-tocophérol, le bêta-carotène, le glutathion réduit (GSH), la bilirubine, les produits de peroxydation lipidiques etc...) et les radicaux libres plasmatique issus du stress oxydant. Ce qui diminue le taux de molécules antiradicalaires plasmatique susceptibles de piéger le radical libre ABTS⁺. La conséquence étant une diminution de l'activité antiradicalaire mesurée.

L'effet de la gestité et l'âge d'une part et de la parité et l'âge d'autre part, sur l'activité antiradicalaire du plasma des femmes a montré des résultats assez similaires (figures 7 et 8). En effet, selon les résultats obtenus, des femmes d'une moyenne d'âge de 32,25 ± 7,13 ans ayant une gestité inférieure à 3 ont montré une activité antiradicalaire moyenne peu différente de celle des femmes ayant une parité supérieure ou égale à 3 et un âge moyen de 44,83 ± 4,35 ans. De même, des femmes d'une moyenne d'âge de 35 ± 7,32 ans ayant une parité inférieure à 3 ont présenté une activité antiradicalaire moyenne plus ou moins égale à celle des femmes ayant une parité supérieure ou égale à 3 et un âge moyen de 47 ± 2,16 ans. Nous pouvons déduire de ces résultats qu'une gestité et une parité élevées (≥ 3) diminuerait le stress oxydant issu de la prise d'âge. Ce résultat est en accord avec la littérature. En effet, des travaux ont montré que la gestité et la parité auraient des effets protecteurs contre l'apparition du stress oxydant chez des femmes ayant des myomes utérins [28]. Nous pouvons donc par extrapolation dire que la gestité et la parité freinent l'apparition du stress dans les maladies ayant pour étiologie les radicaux libres et dans le processus du vieillissement.

CONCLUSION

Cette étude a permis de mettre en évidence par la méthode ABTS qu'un léger stress oxydant s'installe déjà progressivement dans le plasma sanguin de la femme d'âge inférieure ou égale 50 ans. Que la consommation des fruits et légumes apporte des composés antioxydants capables de piéger les radicaux libres produits par l'organisme tout au long du vieillissement. Ce qui pourrait freiner le processus de vieillissement cellulaire et l'apparition des pathologie chroniques dont l'étiologie serait liée au stress oxydatif. Cette étude montre aussi qu'une gestité et une parité supérieures ou égales à 3 freinent l'apparition du stress oxydatif.

RÉFÉRENCES

1. Sies H., Stahl W., Sundquist A.R. Antioxidant functions of vitamins: vitamin E and C, beta-carotene, and other carotenoids. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1992. 669:7-20
2. Liebler D.C. The role of metabolism in the antioxidant function of vitamin E. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 1993. 23:147-169.
3. Halliwell B. Free radicals and antioxidants: a personal view. *Nutr. Rev.* 1994. 52: 253-265.
4. Sharifian A, Gharavi M, Pasalar P, Aminian O. Effect of extremely low frequency magnetic field on antioxidant activity in plasma and red blood cells in spot welders. *Int Arch Occup Environ Health.* 2009 Jan; 82(2): 259-66. doi: 10.1007/s00420-008-0332-2.
5. Kozakiewicz M, Kornatowski M, Krzywińska O, Kędziora-Kornatowska K. Changes in the blood antioxidant defense of advanced age people. *Clin Interv Aging.* 2019 May 1; 14: 763-771. doi: 10.2147/CIA.S201250.
6. Finkel T, Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature.* 2000. 408: 239-247.
7. Nordberg J, Arner ES. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radic. Biol. Med.* 2001. 31: 1287-1312.
8. Sies H. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine. *Redox Biol.* 2015; 4:180-3. doi: 10.1016/j.redox.2015.01.002.
9. Choi S, Liu X, Pan Z. Zinc deficiency and cellular oxidative stress: prognostic implications in cardiovascular diseases. *Acta Pharmacol Sin.* 2018 Jul;39(7):1120-1132. doi: 10.1038/aps.2018.25. Epub 2018 Jun 21. PMID: 29926844; PMCID: PMC6289396.
10. Klaunig JE. Oxidative Stress and Cancer. *Curr Pharm Des.* 2018; 24(40): 4771-4778. doi: 10.2174/1381612825666190215121712. PMID: 30767733.
11. Luc K, Schramm-Luc A, Guzik TJ, Mikolajczyk TP. Oxidative stress and inflammatory markers in prediabetes and diabetes. *J Physiol Pharmacol.* 2019 Dec;70(6). doi: 10.26402/jpp.2019.6.01. Epub 2020 Feb 19. PMID: 32084643.
12. Tönnies E, Trushina E. Oxidative Stress, Synaptic Dysfunction, and Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis.* 2017;57(4):1105-1121. doi: 10.3233/JAD-161088. PMID: 28059794; PMCID: PMC5409043.
13. Collombet J.M, Faure-Vigny H, Mandon G, Dumoulin R, Boissier S, Bernard A, Mousson B, and Stepien G. Expression of oxidative phosphorylation genes in muscle cell cultures from patients with mitochondrial myopathies. *Mol. Cell. Biochem.* 1997. 168 : 73-85.
14. Zeviani M., and Antozzi C. Mitochondrial disorders. *Mol. Human Reprod.* 1997. 3:133-148.
15. Chabi B., Mousson de Camaret B., Duborjal H., Issartel J.-P., and Stepien G. Quantification of mitochondrial DNA deletion, depletion, and overreplication : application to diagnosis. *Clin. Chem.* 49 : 1309-1317.
16. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, and Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Bio.Med.* 1999; 26: 1231-1237.
17. N'Negue ép. Mezui-Mbeng, Ella Ndong J. G., Nguema Edzang R. W., Lendoye E., Ngou Milama. Cinétique d'étude de l'activité antioxydante d'un extrait aqueux de calices séchés d'*Hibiscus sabdariffa* par piégeage de l'ion radicalaire ABTS⁺. *IJAR.* 2020; 6 (11): 361-367.
18. Fischer M.A, Gransier T.J, Beckers LM, Beckers O, Haenen G.R. Determination of the antioxidant capacity in blood. *Clin Chem Lab Med.* 2005. 43(7): 735-40.
19. Sadat L, Cakir-Kiefer C, N'Negue M.A, Gaillard J.-L, Girardet J.-M, Miclo L. Isolation and identification of antioxidative peptides from bovine α -lactalbumin. *Int Dairy J.* 2011. 21(4): 214-221.
20. N'negue ép Mezui-Mbeng M.A, Lendoye E, Nguema Edzang RW, Ella Ndong JG, Mambimba C, Ngo-Thiam E, Ngou Milama E. Evaluation of the anti-radical activity of methanolic and aqueous extracts of stem, stem bark and leaves of *Waltheria indica* by scavenging the free radical cation ABTS. *Plants.* 2021. V9.i4b. 1320.
21. Fletcher N.M, Saed M. G, Abu-Soud H. M, Al-Hendy A, Diamond M. P, and Saed G. M. Uterine fibroids are

characterized by an impaired antioxidant cellular system: potential role of hypoxia in the pathophysiology of uterine fibroids. *J. Assist. Reprod. Genet.* 2013. 30:969–974.

22. Martínez R., Torres P, Meneses MA, Figueroa JG, Pérez-Alvarez JA, Viuda-Martos M. Chemical, technological and in vitro antioxidant properties of mango, guava, pineapple and passion fruit dietary fibre concentrate. *J Food Chem.* 2012. 135 (3) : 1520-6.

23. Diallo A, Deschasaux M, Galan P, Hercberg S, Zelek L, Latino-Martel P, Touvier M. Associations between fruit, vegetable and legume intakes and prostate cancer risk: results from the prospective Supplémentation en Vitamines et Minéraux Antioxydants (SU.VI.MAX) cohort. *Br J Nutr.* 2016. 115 (9) : 1579-85.

24. Galani J.H.Y, Patel JS., Patel NJ., Talati JG. Storage of Fruits and Vegetables in Refrigerator Increases their Phenolic Acids but Decreases the Total Phenolics, Anthocyanins and Vitamin C with Subsequent Loss of their Antioxidant Capacity. *Antioxidants (Basel).* 2017. 6 (3):59.

25. Aguiar J, Gonçalves JL, Alves VL, Câmara J.S. Chemical Fingerprint of Free Polyphenols and Antioxidant Activity in Dietary Fruits and Vegetables Using a Non-Targeted Approach Based on QuEChERS Ultrasond-Assisted Extraction Combined with UHPLC-PDA. *Antioxydants (Bâle)* 2020. 9 (4) : 305.

26. Kang FJ., Lee JK., Park HR., Kim H., Kim HS., Park J. Antioxidant and anti-inflammatory activities of phenolic compounds extracted from lemon myrtle (*Backhousia citriodora*) leaves at various extraction conditions. *Food Sci Biotechnol* 2020. 29(10) :1425-1432.

27. Zacarías-García J., Rey F., Gil JV., Rodrigo MJ., Zacarias L. Antioxidant capacity in fruit of Citrus cultivars with marked differences in pulp coloration: Contribution of carotenoids and vitamin C. *Food Sci Technol Int.* 2021. 27(3) : 210-222.

28. N'negue Mezui-Mbeng M.A, Makoyo Komba O, Bang Ntamack JA and E Lendoye. Comparative Study of Antioxidant Activity of the Plasma of Healthy Subjects and those with Uterine Myomas by Scavenging the ABTS Radical⁺. *Journal of Gynecology Research Reviews & Reports.* 2022. Vol (1): 1-6.