

# SOMMAIRE

<b>I. INTRODUCTION</b> .....	2
<b>II. LA REACTION DE MAILLARD</b> .....	3
<b>A. Les grandes étapes</b> .....	3
1. L'étape initiale.....	3
• Glycation	
• Réarrangement d'AMADORI	
• Réarrangement d'HEYNS CARSON	
2. L'étape intermédiaire.....	4
• Déshydratation modérée	
• Déshydratation forte	
• Dégradation de STRECKER	
3. L'étape finale.....	6
<b>B. Les facteurs influents</b> .....	7
<b>III. LA TOXICITE DES PRODUITS DE LA REACTION DE MAILLARD</b> .....	8
<b>A. La réaction de MAILLARD dans les aliments</b> .....	8
1. La méthodologie et les tests de toxicités .....	8
a . Le test de AMES	
2. Les principaux Produits toxiques de la Réaction de MAILLARD.....	10
a . Les Produits de la Réaction de MAILLARD	
b . Les amines hétérocycliques	
c . L'acrylamide	
• La formation de l'acrylamide dans les aliments	
• La toxicité de l'acrylamide	
<b>B. La réaction de MAILLARD <i>In Vivo</i></b> .....	21
1. La formation des Produits Terminaux de Glycation.....	21
2. La pentosidine.....	23
3. Les inhibiteurs.....	24
<b>IV. CONCLUSION</b> .....	26

## I. INTRODUCTION

« Nous sommes aujourd'hui en mesure de réaliser individuellement la condensation d'un amino-acide défini sur un sucre défini ». C'est ainsi que Louis-Camille MAILLARD fit part de sa découverte surprenante à l'Académie des Sciences le 8 janvier 1912. Alors qu'il travaillait sur la synthèse de protéines par chauffage, il obtint par hasard des substances aromatiques et colorées qu'il identifia comme étant des mélanoidines, polymères bruns responsables de la couleur et de la saveur de nombreux aliments : croûte du pain, bière, café et chocolat torréfiés ...

La réaction de MAILLARD, également connue sous le nom de brunissement non enzymatique, est présente dans de nombreux systèmes biochimiques depuis les aliments jusqu'au cœur de nos cellules. Si la compréhension de son mécanisme général remonte à environ une cinquantaine d'années, on découvre régulièrement de nouveaux intermédiaires. L'enchaînement des réactions, dans les systèmes alimentaires et biologiques, est commun pour les étapes initiales. Ensuite la nature des composés varie, ils sont appelés PRM (Produits de la Réaction de MAILLARD) pour les aliments et AGE (Advanced Glycation End products) ou PTG (Produits Terminaux de Glycation) pour les composés «endogènes». Les effets et les conséquences de ces composés sont multiples et parfois mal connus.

En agro-alimentaire, ces réactions sont recherchées et contrôlées dans le but d'améliorer les qualités organoleptiques de certains aliments. Dans le même temps les conséquences nutritionnelles peuvent être importantes. Il a été prouvé que la réaction entraînait la destruction de la vitamine C et une diminution de la valeur nutritive des aliments, du fait de la transformation des sucres et des acides aminés essentiels.

Les PRM présentant un risque sont nombreux et les plus connus sont les amines hétérocycliques, isolées de viande ou poisson grillé, qui, dans des conditions expérimentales, montrent des propriétés mutagènes et cancérigènes. A cela il faut ajouter la découverte récente d'acrylamide dont l'origine serait due aux réactions de MAILLARD. Des travaux très actuels examinent les risques de développement de cancers chez l'homme.

*In-vivo*, la réaction de MAILLARD apparaît comme intervenant dans le processus de lente dégradation de molécules telles que le collagène qui entre notamment dans la constitution des tissus des artères, des tendons, de la peau et du cristallin. Lors du vieillissement de l'organisme, des cellules telles que neurones, hépatocytes, myocytes, fibroblastes, lymphocytes, accumuleraient des PTG. Les principaux mécanismes relèvent de liaisons et réticulations entre protéines modifiant ainsi leurs propriétés fonctionnelles et augmentant leurs résistances à la protéolyse. Ce phénomène serait plus important chez les personnes souffrant de diabète et il interviendrait dans le développement des cataractes. Pour MONNIER (1989), la réaction de MAILLARD est au cœur de la théorie du vieillissement.

Dans le cadre de la présente étude nous regarderons dans un premier temps le mécanisme général de cette réaction. A partir des découvertes de L.C. MAILLARD, d'autres chercheurs ont mis au point un schéma global servant de base à toutes les études actuelles. Nous décrirons donc les trois étapes menant à la formation de composés potentiellement toxiques. Nous examinerons ensuite l'ensemble de ces PRM présents dans les aliments et, après avoir défini ce qu'on entend par toxicité, quels sont les moyens de la mesurer. Nous noterons leurs structures et leurs effets. Enfin nous regarderons les PTG, plus particulièrement la pentosidine, leurs mécanismes de formation et leurs effets.

## II. LA REACTION DE MAILLARD

Louis-Camille MAILLARD (1878–1936), docteur en médecine, a travaillé à l'Université de Nancy, puis à la tête du groupe de biochimie de l'Université de chimie de Paris à partir de 1914. C'est en travaillant sur la synthèse des protéines qu'il a découvert une succession de réactions entre des sucres et des acides aminés.

En voulant obtenir une méthode de synthèse des peptides, plus douce que celle de Fischer, MAILLARD a utilisé le glycérol comme agent de condensation des acides aminés. Une première publication en 1911 décrit l'obtention de cycloglycylglycine et de pentaglycylglycine. MAILLARD a alors utilisé des sucres pour étudier la formation de polypeptides par la réaction d'acides aminés avec des oses. Il a montré que les fonctions aldéhydes sont beaucoup plus réactives que les groupements hydroxyles. Ces expériences l'ont amené à la découverte de la réaction qui porte aujourd'hui son nom. Il rapporte brièvement en 1912 ces réactions entre les sucres et les acides aminés, puis de manière plus détaillée en 1916.

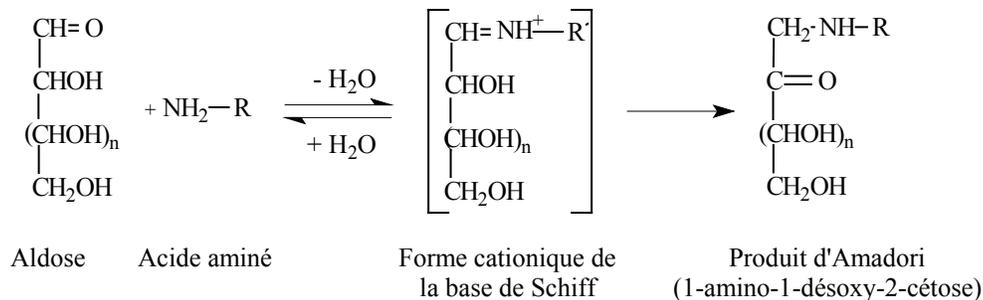
Il faut attendre 1953 pour voir publier un rapport par HODGE dont le remarquable schéma général du mécanisme de brunissement dans des systèmes amine-sucre sert encore aujourd'hui de référence. Son étude complète et développe les découvertes de MAILLARD. Depuis, de nombreuses études ont précisé l'intérêt agronomique ou médical des produits de cette réaction. Paradoxalement d'autres études ont montré l'apparition, à chaque grande étape de cette réaction, de composés plus toxiques.

### A. Les grandes étapes

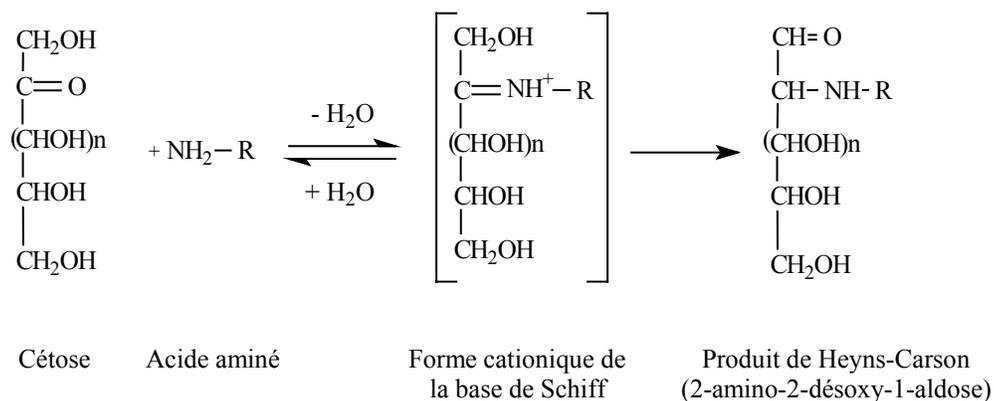
Les réactions de MAILLARD se composent de trois étapes principales. Une première étape conduit à la glycation, correspondant à une liaison covalente entre le groupement carbonyle d'un sucre réducteur et le groupe  $\alpha$  ou  $\varepsilon$ -NH<sub>2</sub> d'un acide aminé libre ou protéique. Puis une seconde étape aboutit à des produits bruns ou fluorescents appelés AGE (Advanced Glycated End products) ou PTG (Produits Terminaux de Glycation) pour décrire ceux formés *in vivo*. Dans les aliments, cette étape conduit à de nombreux composés. Certains deviennent des molécules aromatiques mais d'autres sont potentiellement toxiques. Enfin, l'étape finale conduit à la polymérisation en mélanoidines.

#### 1. L'étape initiale

La glycation est la formation non enzymatique d'une liaison covalente entre le groupement carbonyle d'un aldose ou d'un cétose et le groupement amine libre d'un acide aminé (*figures 1 et 2*). Il en résulte un produit d'addition hautement instable en solution aqueuse qui, en perdant une molécule d'eau, conduit à une base de Schiff. Ces réactions sont réversibles et en milieu fortement acide, le sucre et l'acide aminé peuvent se régénérer totalement. Toutefois, une isomérisation irréversible de la base de Schiff donne des produits plus stables, les **produits d'Amadori** à partir d'aldoses (cétosamines) et les **produits de Heyns-Carson** à partir de cétoles (aldosamines).



**Figure 1:** Première étape de la réaction de MAILLARD entre un acide aminé et un aldose.

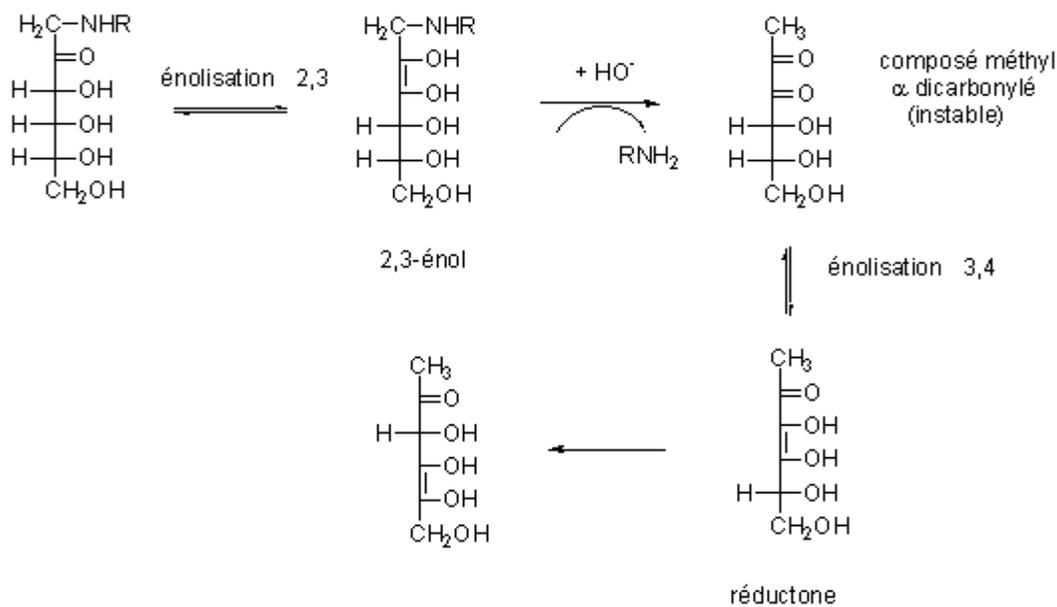


**Figure 2:** Première étape de la réaction de MAILLARD entre un acide aminé et un cétose.

## 2. L'étape intermédiaire

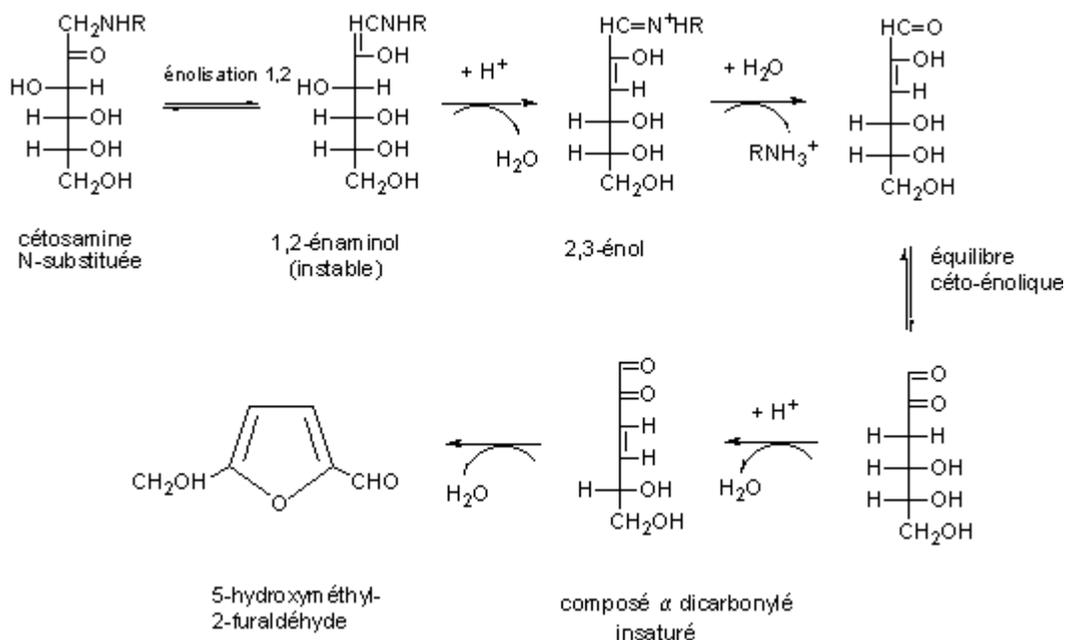
Cette étape est plus complexe car composée de différentes réactions. Toutefois, trois voies se distinguent : deux selon le pH, et une troisième de scission des aldosamines ou cétosamines.

La première est appelée **déshydratation modérée**. Elle est favorisée aux pH neutres et légèrement alcalins, et consiste en une énoisation irréversible entre les carbones 2 et 3 et une perte du résidu aminé (*figure 3*). Le composé intermédiaire, 1-méthyl-2,3-dicarbonyl, est une réductone (dicétone) responsable du caractère autocatalytique de la réaction de MAILLARD via la dégradation de STRECKER. Cette réductone se décompose de manière complexe en une grande variété de composés à fonction mono et dicarbonyl : furanones, cyclopentanones, isomaltols.



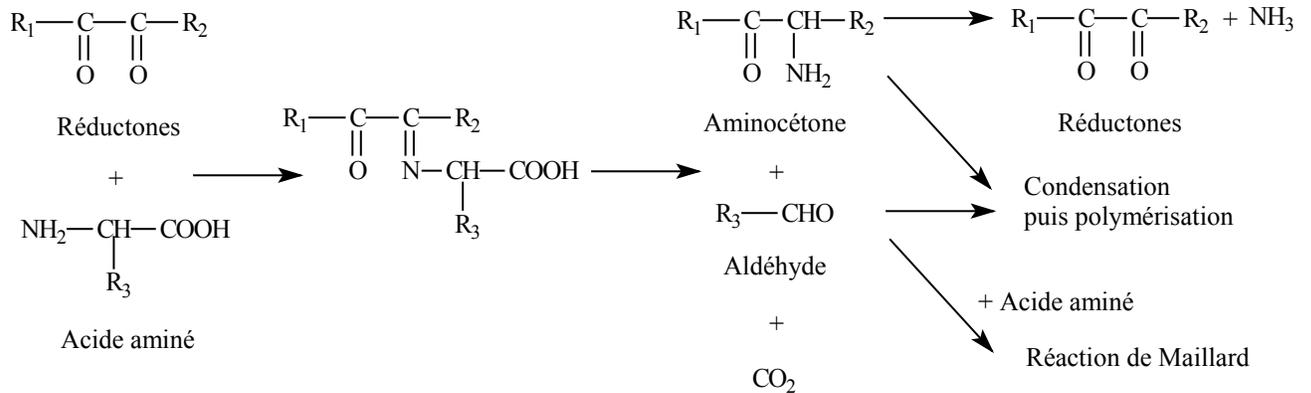
**Figure 3:** *Seconde étape de la réaction de MAILLARD, déshydratation modérée .*

La deuxième est appelée **déshydratation forte**, favorisée par les pH acides. Elle est la principale voie de dégradation des cétoamines (*figure 4*). Elle débute par la formation d'un éne-diol entre les carbones 1 et 2 de la glycosylamine N-substituée. Puis un réarrangement conduit à une double liaison 2, 3 et à la désamination du carbone 1. Ce produit intermédiaire est aussi une réductone participant à la dégradation de STRECKER. La perte d'une molécule d'eau donne un composé dicarbonylé insaturé qui, par cyclisation, amène aux furfuraldéhydes, dont fait partie l'hydroxyméthyl furfural (HMF).



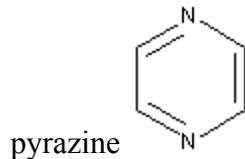
**Figure 4:** *Seconde étape avancée de la réaction de MAILLARD, déshydratation forte.*

Ces deux premières voies sont suivies par la **dégradation de STRECKER**. Cette réaction est autocatalytique dans le sens où les réductones réagissent avec les acides aminés selon le même schéma que la réaction initiale de MAILLARD (*figure 5*). Ainsi, elle provoque un dégagement de CO<sub>2</sub>, pouvant former des mousses dans les produits à longue durée de conservation ; elle libère un aldéhyde pouvant de même réagir et par désamination elle régénère la réductone, augmentant considérablement le brunissement. Cette réaction détruit donc les acides aminés sans blocage, induisant de fortes pertes après initiation. Néanmoins, les aldéhydes formés sont des composés aromatiques importants (LEDL et SCHLEICHER, 1990).



**Figure 5:** *Seconde étape de la réaction de MAILLARD, dégradation de STRECKER ou décarboxylation oxydative et désamination des acides aminés.*

La condensation de deux aminocétones, produits secondaires de la réaction de STRECKER, donne des pyrazines, substances aromatiques très actives. Elles sont présentes dans les produits alimentaires auxquels elles donnent des arômes particuliers plus ou moins désirables.



Les réductones donnent également, par réaction avec des acides aminés puis par de multiples réactions intramoléculaires, des composés très colorés.

La troisième voie est la scission. Une coupure des cétosamines et des aldoses obtenues peut conduire à la formation de petites molécules carbonylées ou acides, qui, par condensation aldolique, donneront les polymères et produits odorants caractéristiques de la réaction de MAILLARD.

### 3. L'étape finale

Les composés obtenus lors des réactions précédentes donnent :

- par scission : des produits volatils et odorants.
- par condensations aldoliques : des mélanoidines.

## B. Les facteurs influents

Plusieurs facteurs influent sur la vitesse et les voies de réaction: la température, le pH, l'activité de l'eau, la présence de certains sels et vitamines.

La température est certainement le facteur le plus influent par sa participation dans l'équation d'Arrhénius. En effet, la vitesse de réaction est en moyenne doublée lorsque la température augmente de 10 °C ( $Z = 33$  °C). Pourtant il faut noter que la réaction a lieu même à 4 °C et qu'il faut prendre en compte le couple temps-durée. En effet, les acides aminés substrats sont aussi sensibles à la chaleur ; ainsi, à 50 °C il y a peu de perte en lysine mais un brunissement, alors qu'à 100 °C la perte est grande mais le brunissement est ralenti.

Ces réactions sont favorisées par un pH alcalin du fait de la réactivité de l'amine libre sous sa forme basique et de la valeur de son point isoélectrique dans le cas d'un peptide. AMES *et al.*, (1993) ont montré que l'inhibition de la réaction de MAILLARD est proportionnelle à la teneur en eau car elle est un produit de réaction; inversement, à très faible teneur en eau, la réaction est freinée par l'absence d'eau solvante.

L'initiation de la réaction de MAILLARD dépend de plusieurs paramètres, la nature des sucres, la nature de la source aminée et les conditions physico-chimiques. De manière générale, les pentoses provoquent un brunissement plus important que les hexoses. ASSOUMANI *et al.*, (1993) ont montré que l'intensité du brunissement est plus élevée de 34,15 % pour la perte en lysine avec les pentoses, contre 21,15 % avec les hexoses. Les sucres de petite taille sont de meilleurs substrats car ils pénètrent plus aisément dans les protéines. Par ailleurs, DILLS (1993) rapporte que la vitesse de réaction de la première étape semble plus élevée avec les cétooses qu'avec les aldoses.

Il existe d'autres molécules ayant des fonctions réductrices entrant dans les réactions de MAILLARD. Les aldéhydes issus de la caramélisation des sucres participent largement à l'augmentation du brunissement, notamment dans un système fructose-glycine (BUERA *et al.*, 1987). ARNOLDI *et al.*, (1990) ont établi que les lipides peroxydés forment des aldéhydes pouvant réagir avec les acides aminés pour donner des bases de Schiff. YEN et LAI (1987) ont étudié l'effet de l'addition de certains antioxydants: l'acide ascorbique ou l' $\alpha$ -tocophérol provoquent une baisse du blocage de la lysine disponible dans un système modèle caséine-lactose.

ASHOOR et ZENT (1984) ont étudié la réaction de MAILLARD en fonction des acides aminés communs. Les plus réactifs sont la lysine, la glycine et la méthionine, les moins réactifs étant la cystéine, l'acide glutamique et l'asparagine. Il convient de rappeler que les principales sources aminées de la réaction de MAILLARD sont des protéines, leurs fonctions amines en  $\alpha$  formant des liaisons peptidiques. Les seuls substrats sont alors les acides aminés en position N-terminale ou ayant une fonction amine sur leur chaîne latérale : la lysine, l'arginine et l'histidine.

## II. LA TOXICITE DES PRODUITS DE LA REACTION DE MAILLARD

La réaction de MAILLARD est à l'origine de très nombreux composés aussi bien dans les aliments qu'*in vivo*. Il apparaît que beaucoup de ces molécules sont liées à certains troubles voire à des pathologies graves. A ce stade, il convient de séparer l'étude des produits de la réaction de MAILLARD dans les aliments de celle des produits de glycation dans l'organisme.

### A. La réaction de MAILLARD dans les aliments

#### 1. La méthodologie et les tests de toxicités

Afin d'évaluer les dangers toxicologiques pour les êtres humains, les techniques sont diverses. Elles ne doivent pas se restreindre à la carcinogenèse, mais être élargies à de nombreux systèmes: hormones et reproduction, immunité, cognition, défense anti-oxydante, système cardio-vasculaire...

Les études sur les PRM portent surtout sur leurs effets mutagènes et cancérigènes, et les tests sont nombreux.

ANDERSON (1988) a classé ces tests en trois catégories concernant les mutations géniques, les dommages chromosomiques et l'endommagement/réparation de l'ADN. Les tests de mutations géniques consistent à altérer une ou plusieurs paires de bases de l'ADN par une substitution, une délétion ou une insertion. Le gène choisi est spécifique d'une caractéristique afin de détecter une éventuelle mutation, par exemple la biosynthèse d'adénine, l'auxotrophie à l'histidine ou l'activité hypoxanthine guanine phosphoribosyl transférase. Les dommages chromosomiques sont détectés par des méthodes génétiques et toxicologiques mesurant des changements dans la structure ou dans le nombre de chromosomes (ovocytes de Hamster). Les tests sur l'endommagement/réparation de l'ADN sont basés sur la faculté du génome à se réparer par lui-même. Les mesures sont réalisées par comparaison des réparations chez une souche bactérienne sauvage et chez une souche incapable de réparer son ADN ou par l'observation de cassure de l'ADN, de recombinaison mitotique ou de conversion de gènes.

Les études les plus récentes ont porté sur l'analyse et la détection d'adduits à l'ADN de certains PRM. Par exemple ZHU *et al.*, (2003) ont rapporté des résultats à partir de prélèvement de tissus des seins de femmes porteuses d'un cancer pour les comparer à ceux de femmes en bonne santé. De plus une autre étude a évalué *in vitro* les effets des PRM sur les bactéries du tube digestif de l'homme (AMES *et al.*, 1999). Enfin on peut noter l'utilisation de souris transgéniques pour étudier *in vivo* l'induction de tumeurs par les PRM (DASHWOOD, 2003).

Les organismes vivants le plus couramment utilisés sont des bactéries (*Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*), des levures (*Saccharomyces cerevisiae*), des insectes (*Drosophila melanogaster*), des cellules mammifères *in vitro* (ovocytes de Hamster) et des mammifères (rat, souris).

##### a. Le test de AMES

La méthode la plus utilisée aujourd'hui pour comparer le maximum de PRM connus reste le test de AMES qui détermine les mutations géniques. Ce test est basé sur l'utilisation de souches bactériennes hypersensibles aux mutagènes et donc aux cancérigènes (AMES *et al.*, 1975; MARON et AMES, 1983). Il consiste à examiner si un agent chimique est capable d'induire une mutation sur un des gènes d'une souche de *Salmonella typhimurium*. La bactérie est porteuse d'une mutation la

rendant incapable de pousser sur un milieu sans histidine (his-). Si le composé chimique testé possède un effet mutagène, il induit une réversion de cette mutation et donne à la bactérie la possibilité de se développer sur le milieu sans histidine (his+). Les souches utilisées possèdent des mutations His- différentes pour tester des agents mutagènes variés. TA98 est la plus efficace pour une étude globale de la mutagénéité, TA100 est plus sensible mais possède un taux de révertants spontanés plus élevé. De même, en utilisant la souche TA1978 en combinaison avec TA1358, on obtient un test basé sur l'endommagement/réparation de l'ADN permettant de savoir si le composé agit en endommageant l'ADN. Afin de tester aussi l'effet des dérivés métaboliques du composé chimique, on ajoute au milieu de culture un homogénat de foie de rat (S9). En effet, la grande majorité des produits pénétrant dans un organisme humain sont détoxifiés afin d'être rapidement éliminés. Les systèmes enzymatiques qui interviennent dans ces réactions se situent principalement au niveau du foie et exigent des cofacteurs (oxygène et NADPH). Ils sont aussi inductibles. Dans le test de AMES, ce métabolisme est mimé en mélangeant cet homogénat avec les bactéries et les cofacteurs nécessaires (Mix).

Grâce à ce test, il est possible de comparer les résultats obtenus grâce à de nombreuses études réalisées sur des cancérigènes connus comme l'aflatoxine B1 et le Benzo[a]pyrène (*Tableau I*).

**Tableau I:** *Activités mutagènes d'amines hétérocycliques présentes dans les aliments sur les souches de Salmonella typhimurium TA100 et TA98 avec activation S-9 (d'après WONG et SHIBAMOTO, 1996).*

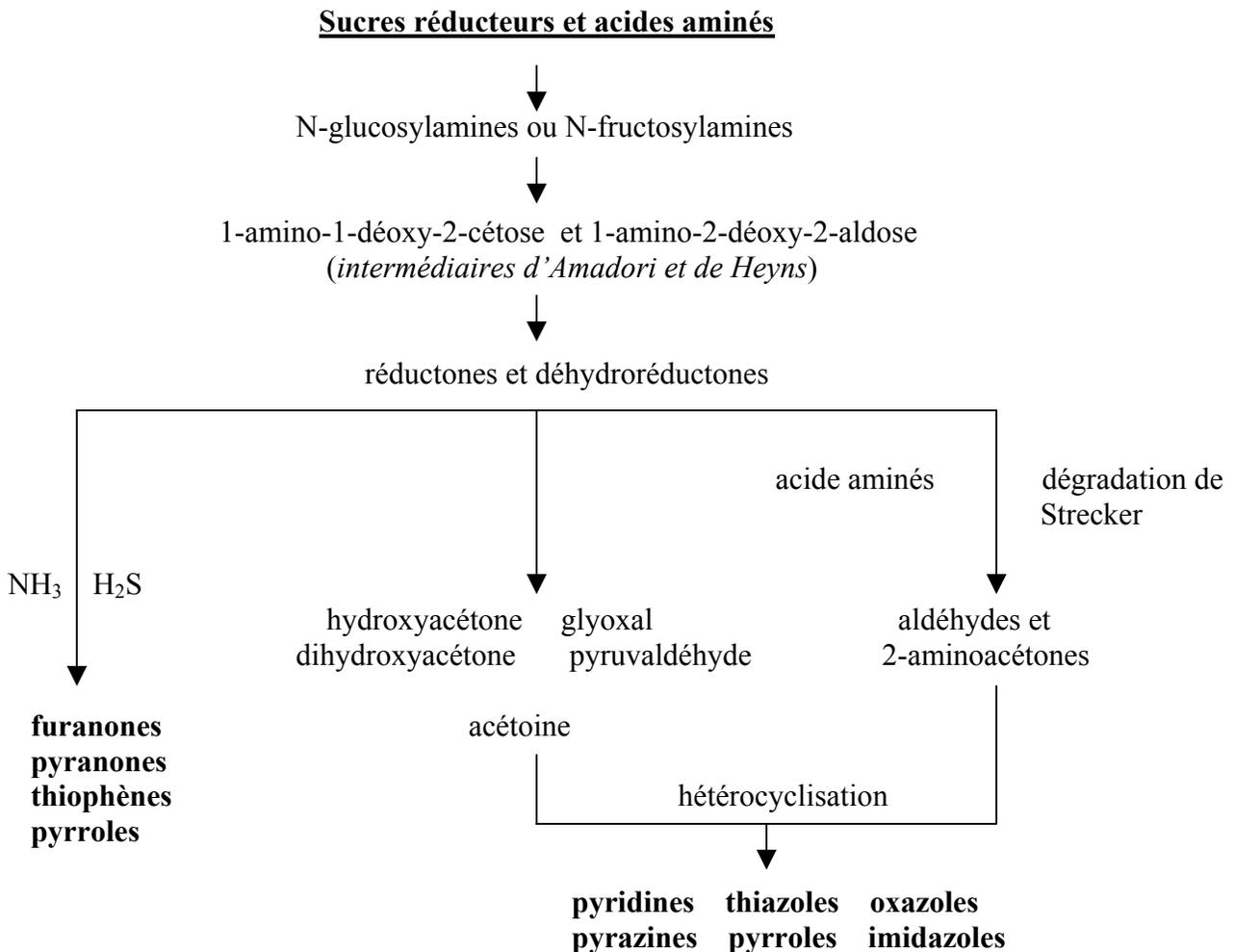
Mutagène	Nombre de révertants par µg de mutagène	
	TA98	TA100
<b>IQ</b> (2-amino-3-méthylimidazo-[4,5-f]quinoline)	433000	7000
<b>MeIQ</b> (2-amino-3,4-diméthylimidazo-[4,5-f]quinoline)	661000	30000
<b>Iqx</b> (2-amino-3-méthylimidazo-[4,5-f]quinoxaline)	75000	1500
<b>MeIQx</b> (2-amino-3,8-diméthylimidazo-[4,5-f]quinoxaline)	145000	14000
<b>4,8-DiMeIQx</b> (2-amino-3,4,8-diméthylimidazo-[4,5-f]quinoxaline)	183000-206000	8000
<b>7,8-DiMeIQx</b> (2-amino-3,7,8-diméthylimidazo-[4,5-f]quinoxaline)	163000-189000	9900
<b>PhIP</b> (2-amino-1-méthyl-6-phenyl-1H-imidazo[4,5-b]pyridine)	1800-2000	120
<b>Trp-P-1</b> (3-amino-1,4-diméthyl-5H-pyrido[4,3-b]indole)	39000	1700
<b>Trp-P-2</b> (3-amino-1-méthyl-5H-pyrido[4,3-b]indole)	104200	1800
<b>Glu-P-1</b> (2-amino-6-méthyl-dipyrido[1,2-a:3',2'-d]imidazole)	49000	3200
<b>Glu-P-2</b> (2-aminodipyrido[1,2-a:3',2'-d]imidazole)	1900	1200
<b>Phe-P-1</b> (2-amino-5-phenylpyridine)	41	23
<b>AαC</b> (2-amino-9H-pyrido[2,3-b]indole)	300	20
<b>MeAαC</b> (2-amino-3-méthyl-9H-pyrido[2,3-b]indole)	200	120
<b>Aflatoxine B1</b>	6000	28000
<b>Benzo[a]pyrène</b>	320	660

## 2. Les principaux PRM toxiques

Nous examinerons dans un premier temps les principaux PRM, en traitant séparément les Hétérocycles Aminés (HCA) qui apparaissent comme les plus nombreux et les plus étudiés. Nous commenterons ensuite les résultats des études les plus récentes, notamment celles consacrées à l'acrylamide.

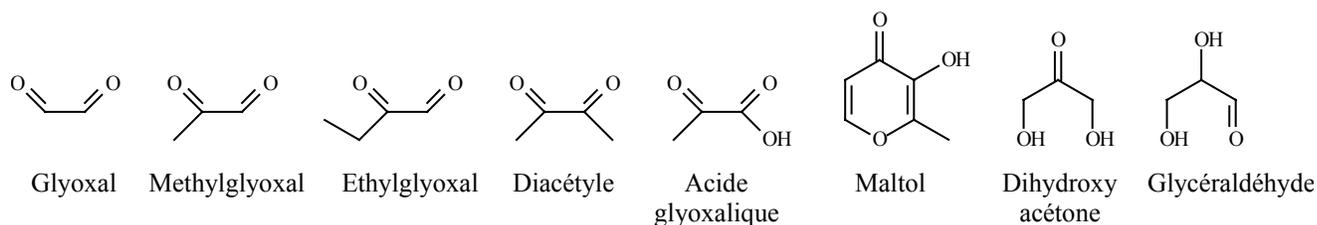
### a. Les PRM

Il faut attendre la fin des années 1970, avec l'apparition de la technique GC/MS (chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse) pour pouvoir identifier un très grand nombre de PRM (Figure 6).



**Figure 6:** Formation des hétérocycles dans les aliments par réaction de MAILLARD (d'après FERNADEZ et al., 2002).

### • Les composés dicarboxylés

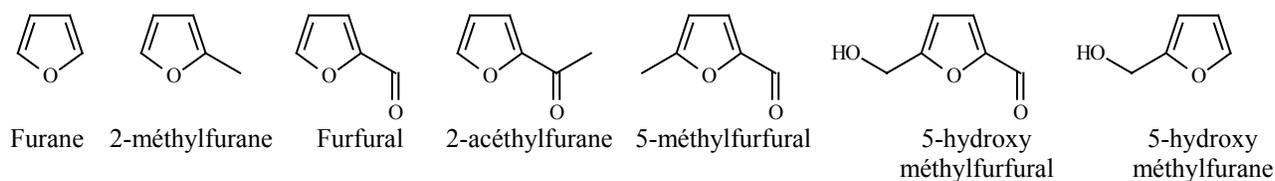


**Figure 7:** Principaux composés dicarboxylés produits par la réaction de MAILLARD (d'après WONG ET SHIBAMOTO, 1996).

De nombreux composés dicarboxylés sont issus de la réaction de MAILLARD (figure 7). Le maltol et le glyoxal sont présents dans le café et les produits céréaliers. NAGAO *et al.*, (1986) ont identifié le glyoxal et ses dérivés alkyls dans de nombreuses boissons (café, thé, vin, bourbon,...), dans le pain, et les dérivés du soja. Le mutatest d'AMES a montré que le diacétylglyoxal, le glyoxal et le maltol sont mutagènes pour TA98 et TA100 avec ou sans activation S-9; le méthylglyoxal, le glycéraldéhyde, le dihydroxyacétone et l'acide glyoxalique sont, eux, mutagènes pour TA100 sans activation S-9.

### • Les furanes et furfurals

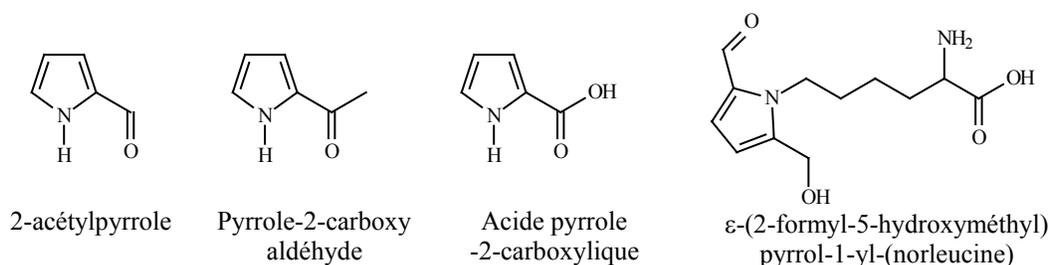
Les furanes produits par la réaction de MAILLARD entre les fonctions amine et carbonyle sont relativement peu mutagènes. SHINOHARA *et al.*, (1986) montrent que le furfural, le 5-MF et l'HMF sont mutagènes pour TA100 avec S-9 et qu'en présence de  $\text{Cu}^{2+}$ , ils peuvent rompre l'ADN. L'HMF est le plus actif de cette classe. D'autre part, KONG *et al.*, (1989) ont constaté une activité anti-mutagène des furanes, 2-méthylfurane, 2-acétylfurane, 2-hydroxyméthylfurane, furfurals, 5-MF et HMF (figure 8) qui inhibent les actions mutagènes de certaines amines hétérocycliques, illustrant parfaitement le rôle paradoxal de certains PRM vis-à-vis de leur mutagénicité.



**Figure 8:** Principaux furanes et furfurals produits par la réaction de MAILLARD (d'après WONG et SHIBAMOTO, 1996).

### • Les pyrroles

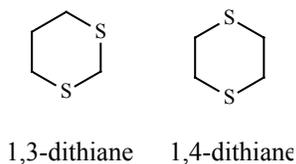
Les pyrroles sont présents dans beaucoup d'aliments, certains sont importants dans la saveur de boissons, de puddings et de crèmes glacées. YEN et LEE (1986) ont évalué leur mutagénicité et montré que les composés pyrroliques représentés figure 9 ne sont pas actifs pour TA97, TA98, TA100, TA102, TA104, avec ou sans activation S-9. Cependant, après incubation à 50 °C pendant 24h avec de l'acide nitreux à pH 3, le 2-acétylpyrrole-nitrite est très mutagène pour toutes ces souches. La variation de cette activité en fonction du pH suggère une influence de la fonction carbonyle.



**Figure 9:** Principaux composés pyrroliques produits par la réaction de MAILLARD (d'après WONG et SHIBAMOTO, 1996).

### • Les dithianes

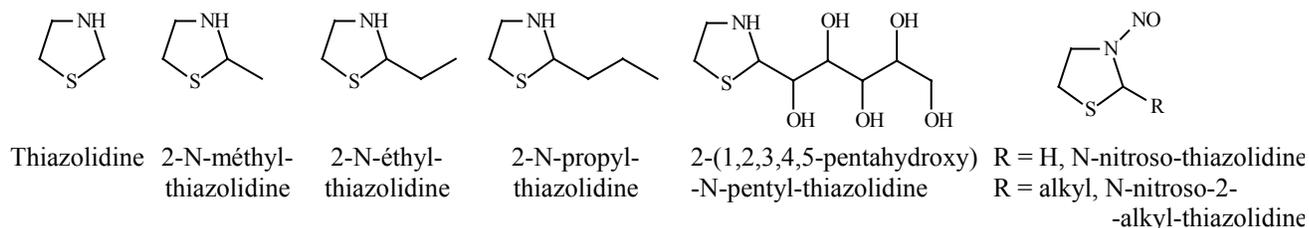
Les composés représentés *figure 10* ont été extraits du jus de rôti de porc et testés en comparaison à d'autres PRM par LEE *et al.*, (1994). Le 1,4-dithiane est faiblement mutagène, mais le 1,3-dithiane présente une forte activité de l'ordre de celle des HMF et méthylglyoxal; cependant il ne semble pas être cancérigène.



**Figure 10:** Principaux dithianes produits par la réaction de MAILLARD (d'après WONG et SHIBAMOTO, 1996).

### • Les thiazolidines et N-nitrosothiazolidines

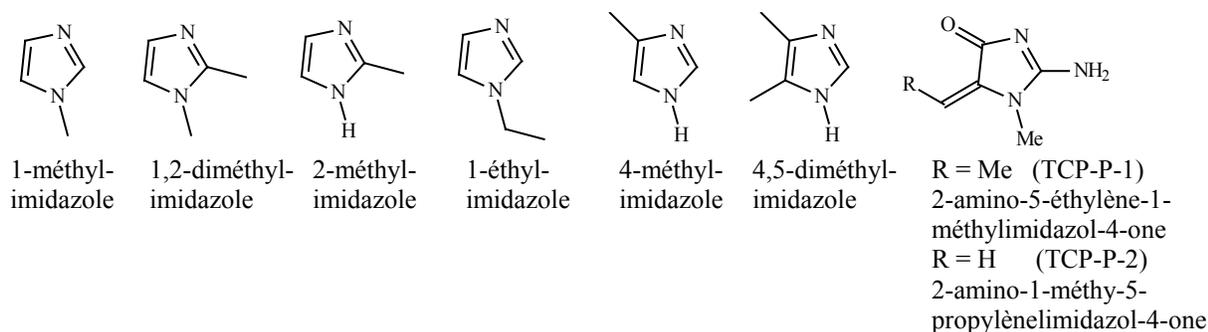
Ces molécules apparaissent avec les acides aminés contenant du soufre. Les travaux de MIHARA et SHIBAMOTO (1980) montrent que les dérivés alkyles de la thiazolidine (*figure 11*) obtenus à partir d'un système modèle cystéamine-glucose sont faiblement mutagènes et que cette activité dépend du radical alkyl. Avec un autre modèle, cystéamine-acétaldéhyde-nitrite, ils ont isolé des N-nitroso-2-alkylthiazolidines (*figure 11*) qui sont beaucoup plus réactifs que leurs équivalents non N-nitroso substitués. Ceux-ci se retrouvent dans les aliments riches en nitrite, notamment les viandes salées comme le bacon et le jambon (UMANO *et al.*, 1984).



**Figure 11:** Principaux composés thiazolidines produits par la réaction de MAILLARD (d'après WONG et SHIBAMOTO, 1996).

### • Les imidazoles

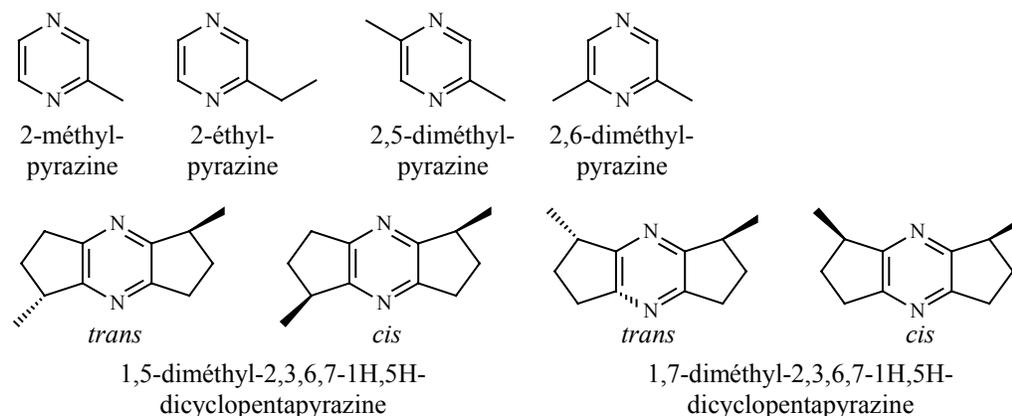
Selon SHIBAMOTO et BERNHARD (1980), 31 imidazoles et nitroimidazoles sont mutagènes. Cependant, SHIBAMOTO (1982) précise que les alkylimidazoles (*figure 12*) ne le sont pas. JONES et WEISBURGER (1985) ont découvert une classe mutagène : les aminométhylimidazol-4-one, dont le 2-amino-1-méthylimidazol-4-one et le 2-amino-5-éthylène-1-méthylimidazol-4-one (*figure 12*) qui ont été isolés et testés positifs au mutatest de AMES.



**Figure 12:** Principaux composés imidazoles produits par la réaction de MAILLARD (d'après WONG et SHIBAMOTO, 1996).

### • Les pyrazines

Les pyrazines sont des pigments du brunissement non enzymatique. L'intensité de la couleur jaune des systèmes modèles est proportionnelle à leur concentration. Il en est de même pour la mutagénicité. STICH *et al.*, (1980) ont étudié quatre alkylpyrazines (*figure 13*) qui ne sont pas mutagènes pour *Salmonella typhimurium* mais qui le sont pour *Saccharomyces cerevisiae*. Elles augmentent la fréquence des aberrations chromosomiques pour les ovocytes de hamster chinois. SHIBAMOTO (1980) a isolé à partir de milieux modèles des pyrazines tricycliques mutagènes pour *S. typhimurium* TA98 sans activation S-9, qui n'ont pas été caractérisées dans les aliments.



**Figure 13:** Principaux composés pyrazines produits par la réaction de MAILLARD (d'après WONG et SHIBAMOTO, 1996).

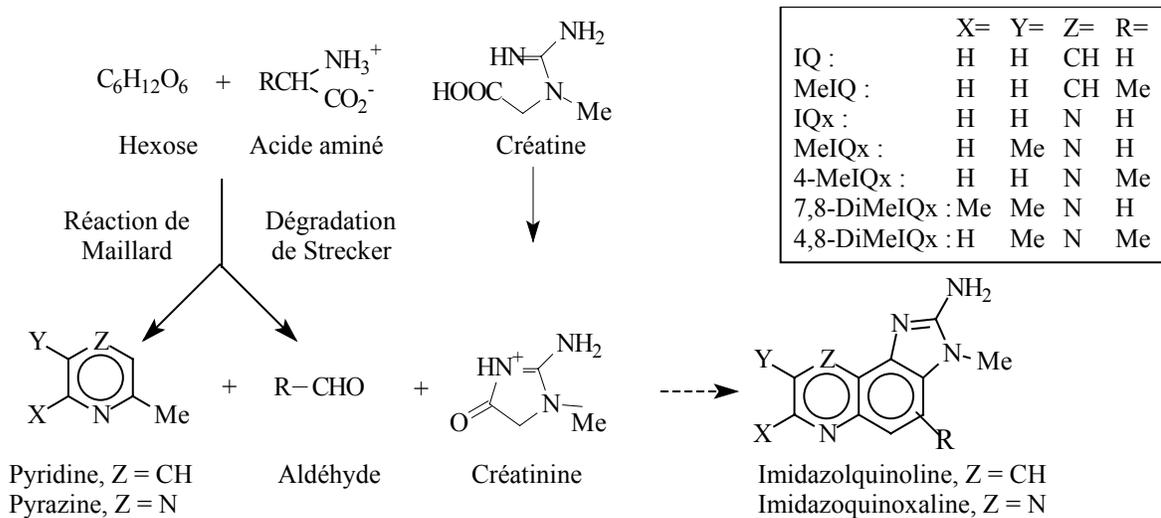
*b. Les amines hétérocycliques*

A la fin des années 1970, NAGAO *et al.*, (1977) découvrent la présence de composés mutagènes à la surface de viandes et poissons cuits. L'isolement et l'identification de ces composés a montré une nouvelle famille d'amines hétérocycliques (HCA). Des données épidémiologiques montrent que les consommateurs de viande ont un risque plus élevé de cancer du sein ou du colon. Les HCA induisent des cancers chez le rat dans ces organes mais aussi dans la prostate et le pancréas. De plus il apparaît certain qu'ils affectent le système vasculaire (WEISBURGER, 2002). SUGIMURA (2002) estime que les HCA peuvent également avoir d'autres effets toxiques comme l'atrophie des glandes salivaires.

Dans certains cas, pour être cancérigènes, les HCA doivent être métabolisés par des enzymes comme le cytochrome P450 1A2, la N acétyltransférase 1 et/ou la N acétyltransférase 2 (ISHIBE *et al.*, 2002). Plus récemment MOONEN *et al.*, (2002) ont montré un autre mécanisme de toxicité : la formation de radicaux libres durant la conversion de l'acide arachidonique en prostaglandine via la prostaglandine H synthase (PHS).

Il existe deux groupes de HCA. D'une part les aminoimidazoazaarènes (AIA) comprenant les imidazoquinolines, les imidazoquinoxalines et les imidazopyridines, et d'autre part les carbolines ou pyrido-imidazoles et pyrido-indoles (ROBBANA-BARNAT *et al.*, 1996). Leur quantité dépend du type de viande et du mode de cuisson.

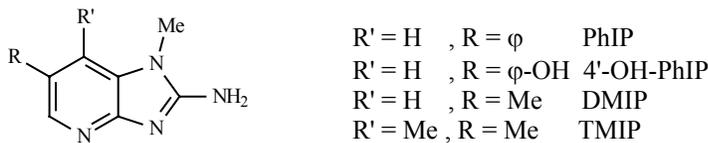
Les imidazoquinolines et imidazoquinoxalines sont relativement bien connues et très étudiées (FELTON *et al.*, 1986 ; FELTON et KNIZE, 1990 ; JAGERSTAD et SKOG, 1991 ; SKOG, 1993 ; EISENBRAND et TANG, 1993 ; ROBBANA-BARNAT *et al.*, 1996). Elles sont formées à partir de la créatinine par condensation avec un produit issu de la dégradation de STRECKER (figure 14 et tableau II). Les imidazopyridines sont présentées dans la figure 15 et le tableau III.



**Figure 14:** Voies de synthèses supposées et structures des amines hétérocycliques de type IQ et IQx (d'après FRIEDMAN, 1996).

**Tableau II:** Amines hétérocycliques présentes dans les aliments : les imidazoquinolines et imidazoquinoxalines (d'après FELTON et al., 1986 ; FELTON et KNIZE, 1990).

Abréviation	Mutagène	Source
<b>IQ</b>	2-amino-3-méthylimidazo-[4,5-f]quinoline	Extrait de bœuf, poisson grillé, œufs frits
<b>MeIQ</b>	2-amino-3,4-diméthylimidazo-[4,5-f]quinoline	Poisson grillé, porc, café grillé
<b>IQx</b>	2-amino-3-méthylimidazo-[4,5-f]quinoxaline	Créatine, porc, bœuf
<b>MeIQx</b>	2-amino-3,8-diméthylimidazo-[4,5-f]quinoxaline	Thréonine, créatinine et glucose, poisson, porc, bœuf
<b>4-MeIQx</b>	2-amino-3,4-diméthylimidazo-[4,5-f]quinoxaline	
<b>4,8-DiMeIQx</b>	2-amino-3,4,8-diméthylimidazo-[4,5-f]quinoxaline	Thréonine, créatine et glucose, poisson, porc
<b>7,8-DiMeIQx</b>	2-amino-3,7,8-diméthylimidazo-[4,5-f]quinoxaline	



**Figure 15:** Structures d'amines hétérocycliques de la classe imidazopyridine (d'après FRIEDMAN, 1996).

**Tableau III:** Amines hétérocycliques présentes dans les aliments : les imidazopyridines. (d'après FELTON et al., 1986 ; FELTON et KNIZE, 1990).

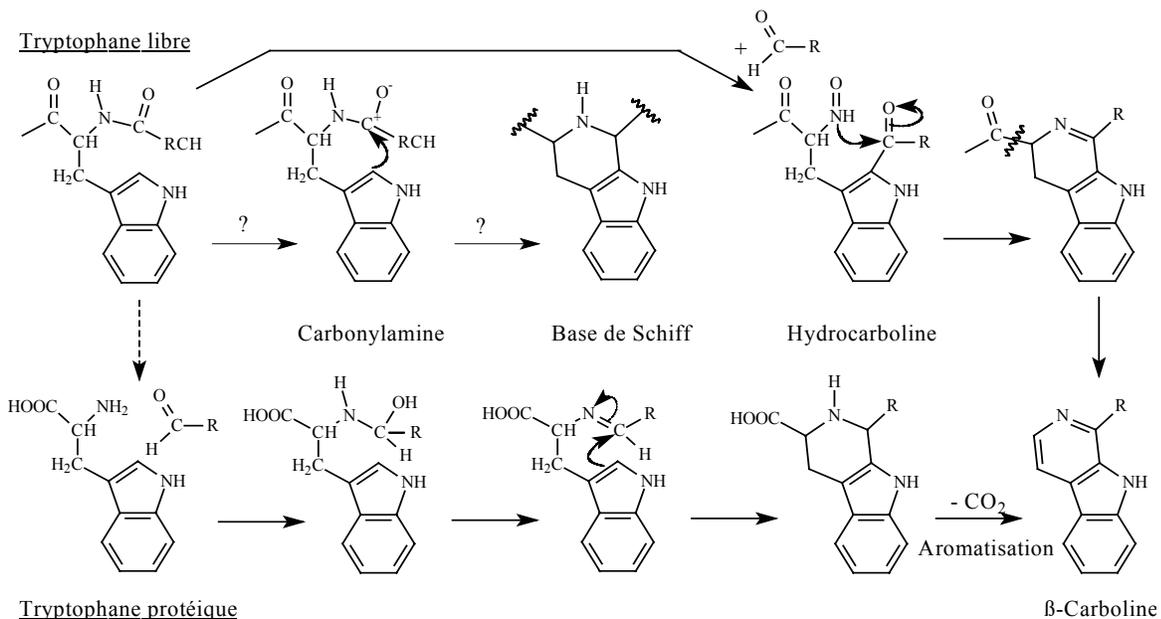
Abréviation	Mutagène	Source
<b>PhIP</b>	2-amino-1-méthyl-6-phenyl-1H-imidazo[4,5-b]pyridine	Poisson, bœuf et porc frits
<b>4'-OH-PhIP</b>	2-amino-1-méthyl-6-(4-hydroxyphenyl)-1H-imidazo[4,5-b]pyridine	Créatinine, tyrosine et glucose
<b>DMIP</b>	2-amino-1,6-diméthyl-1H-imidazo[4,5-b]pyridine	Viande supplémentée en créatinine
<b>TMIP</b>	2-amino-n,n,n-triméthyl-1H-imidazo[4,5-b]pyridine	Bœuf frit

LOPRIENO *et al.*, (1991) ont réalisé une étude extensive de mutagénicité/génotoxicité sur les mutagènes IQ et MeIQx. L'IQ et le MeIQx sont inducteurs de mutations géniques chez *Salmonella typhimurium* TA98, mais pas chez les cellules de hamster chinois V79. MONTGOMERY *et al.*,

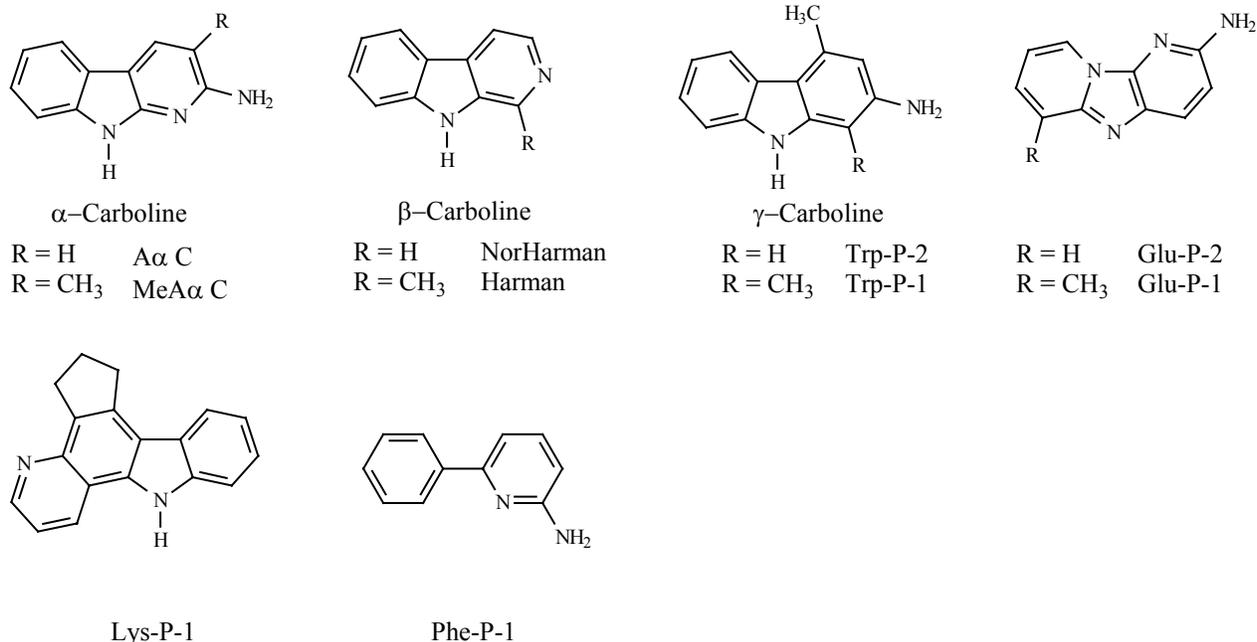
(2002) ont montré que les IQ, MeIQ, MeIQx et PhIP sont mutagènes au test de AMES et induisent des tumeurs chez des animaux de laboratoires, notamment le singe. L'IQ induit des aberrations chromosomiques seulement chez les ovocytes de hamster chinois et les cultures de lymphocytes humains. Le nombre d'adductions dans le foie de souris est corrélé avec la dose de IQ ou de MeIQx administrée. Non seulement mutagènes, les AIA se révèlent aussi génotoxiques pour *Drosophila melanogaster* et cancérigènes pour le rat et le singe *Cynomolgus* (EISENBRAND et TANG, 1993). Toutes les données utilisées montrent les conséquences possibles d'un régime à base de viande cuisinée pour la population humaine (GROSS *et al.*, 1993).

Le Ph-IP est l'HCA la plus fréquemment trouvée dans les viandes et poissons, par exemple dans le maquereau (GU *et al.*, 2002). Son activité mutagène est faible pour *S. typhimurium* mais elle est plus élevée pour les cellules de mammifères. S'il n'est pas cancérigène pour le foie, le fait qu'il soit principalement excrété par les fèces l'implique dans le cancer du colon, et par ailleurs, dans le cancer des glandes mammaires de souris. Le Ph-IP est converti en deux produits, le N-OH-Ph-IP, mutagène pour *S. typhimurium*, et le 4'-OH-Ph-IP qui semble être un produit de détoxication. Le 4'-OH-Ph-IP et le N-OH-Ph-IP peuvent créer des adductions avec l'ADN provoquant des cassures (ITO *et al.*, 1991 ; NAGAO et SUGIMURA, 1993).

Les carbolines ou pyrido-imidazoles et pyrido-indoles (figures 16, 17 et tableau IV) sont présents dans les pyrolysats du tryptophane (Trp-P-1, Trp-P-2), de l'acide glutamique (Glu-P-1, Glu-P-2), de la lysine (Lys-P-1), de la phénylalanine (Phe-P-1), de la créatine et de l'ornithine. Leur taux de formation est dépendant du temps et de la température de chauffage. FRIEDMAN et CUQ (1988) rapportent que seules deux  $\gamma$ -carbolines (Trp-P-1, Trp-P-2) et deux  $\alpha$ -carbolines (A- $\alpha$ -C, Me-A- $\alpha$ -C) sont mutagènes pour *S. typhimurium* et qu'il existe un effet synergique des  $\gamma$ -carbolines avec ces quatre derniers. SUGIMURA (1986) suggère que les  $\gamma$ -carbolines étant cancérigènes pour la souris le seraient également pour l'homme au niveau des poumons, du colon et du pancréas.



**Figure 16:** Voies de synthèse supposée des  $\beta$ -carbolines durant le chauffage du tryptophane libre ou protéique (d'après SKOG, 1993).



**Figure 17:** Structures des carbolines (d'après FRIEDMAN, 1996).

**Tableau IV:** Amines hétérocycliques présentes dans les aliments : les pyrido-imidazoles et pyrido-indoles (d'après FELTON et al., 1986 ; FELTON et KNIZE, 1990).

Abréviation	Mutagène	Source
A $\alpha$ C	2-amino-9H-pyrido[2,3-b]indole	Soja et tryptophane, fumée de cigarette, poulet grillé
MeA $\alpha$ C	2-amino-3-méthyl-9H-pyrido[2,3-b]indole	Soja et tryptophane, fumée de cigarette, poulet grillé, maquereau, albumine
Trp-P-1	3-amino-1,4-diméthyl-5H-pyrido[4,3-b]indole	Tryptophane, poisson, caséine
Trp-P-2	3-amino-1-méthyl-5H-pyrido[4,3-b]indole	Tryptophane, poisson, caséine, poulet grillé, albumine
Glu-P-2	2-aminodipyrido[1,2-a:3',2'-d]imidazole	Acide glutamique, Albumine, caséine, fumée de cigarette
Glu-P-1	2-amino-6-méthyl-dipyrido[1,2-a:3',2'-d]imidazole	Acide glutamique, caséine, fumée de cigarette
Lys-P-1	3,4-cyclopentenopyrido-[3,2-a]carbazole	Lysine
Phe-P-1	2-amino-5-phenylpyridine	
TCP-1	2-amino-1,5-dihydro-1-méthyl-5-propylidène-4H-imidazole-4-one	
TCP-2	2-amino-1,5-dihydro-1-méthyl-5-ethylidène-4H-imidazole-4-one	

*c. L'acrylamide*

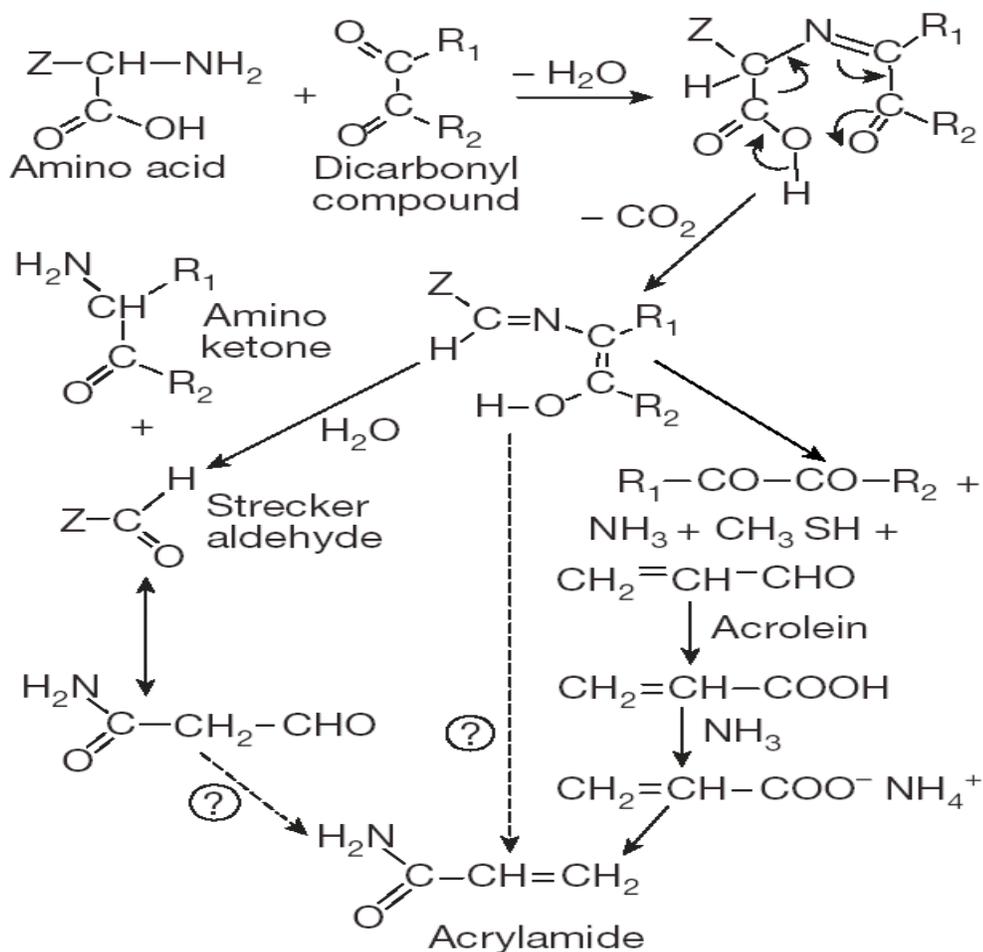
Au mois d'avril 2002, l'Agence Suédoise des Aliments (Swedish National Food Administration) annonçait avoir découvert la présence d'acrylamide dans certains aliments cuits. En France l'AFSSA (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments) est en charge de faire le point sur les risques et l'exposition de la population à l'acrylamide dans les aliments. En Février 2003 elle publie un premier bilan avec plus de 200 données provenant de l'industrie agro-alimentaire et de l'AFSSA. Elles ont été regroupées selon la classification du *Codex alimentarius*.

**Tableau V:** *Tableau récapitulatif des résultats de dosage de l'acrylamide sur des produits issus des chaînes de production ou achetés dans le commerce, répartis dans 10 groupes d'aliments (analyses réalisées en 2002 et 2003) (d'après l'AFSSA, 2003).*

<b>Produits</b>	<b>Niveaux d'acrylamide (µg/kg)</b>	<b>Limite de quantification selon les matrices (µg/kg)</b>	<b>Moyenne (µg/kg)</b>	<b>Ecart type (µg/kg)</b>
<b>Céréales pour petit déjeuner</b>	<50-140	50	127	107
<b>Chocolat et barres chocolatées</b>	<60-186	60,50,10	75	49
<b>Pain grillé, biscottes et crackers</b>	18-250	10	91	81
<b>Snacks salés extrudés à base de pomme de terre</b>	18-250	10	428	299
<b>Biscuits et pâtisseries</b>	<10-550	10,20	191	161
<b>Produits infantiles</b>	<10-109	10,20	41	29
<b>Produits laitiers</b>	<10-36	10	13	7
<b>Plats cuisinés</b>	<20-83	20	35	23
<b>Boissons café et succédané de café</b>	161-1300	50	485	353
<b>Frites et chips</b>	<20-830	10,20,50	395	573

• Formation de l'acrylamide dans les aliments

L'acrylamide est un composé chimique cristallin ( $\text{CH}_2\text{CHCONH}_2$ ), utilisé dans la synthèse des polyacrylamides. Ces substances interviennent dans de nombreuses applications industrielles telles que: flocculants pour le traitement des eaux, matériaux de conditionnement, adjuvants de fabrication dans l'industrie du papier, modificateurs de viscosité dans l'industrie pétrolière, cosmétiques... Fumer constitue aussi une source d'exposition à l'acrylamide. Une des premières publications sur le mécanisme de formation de l'acrylamide dans les aliments est celle de MOTTRAM *et al.*, (2002) (figure 18).



**Figure 18:** Proposition de mécanisme de formation de l'acrylamide après dégradation de STRECKER des acides aminés asparagine et méthionine avec la présence de composés dicarbonyl issus de la réaction de MAILLARD (MOTTRAM *et al.*, 2002).

MOTTRAM *et al.*, montrent qu'une des voies prédominantes serait celle qui implique, au cours de la réaction de MAILLARD, l'interaction entre l'asparagine et des sucres réducteurs libres. Le contenu en asparagine représente 40 % des acides aminés totaux dans les chips, 14 % dans la farine de blé et 18 % dans des produits à base de seigle, riche en protéines. Ceci expliquerait les fortes variations en acrylamide observées dans différents produits manufacturés d'origine végétale

(céréales, pomme de terre). Une seconde étude de BIEDERMAN *et al.*, (2002) illustre la complexité du rôle des différents paramètres physico-chimiques (température et temps de cuisson, taux d'humidité, pH). De même YAYLAYAN *et al.*, (2003) explorent la complexité de cette réaction pour en conclure que les carbohydrates et une haute température sont indispensables à la formation d'acrylamide. Enfin RYDBERG *et al.*, (2003) démontrent que la quantité d'acrylamide présente dans les aliments résulte de réactions complexes de formation et d'élimination simultanée de ce composé.

L'ensemble des études confirme que de nombreux paramètres jouent un rôle dans la formation de l'acrylamide dans le produit fini et que les effets de ces paramètres sont étroitement imbriqués. Il apparaît en conséquence difficile à l'heure actuelle de dégager l'influence de chaque paramètre à des fins de maîtrise du processus.

- *Toxicologie de l'acrylamide*

L'acrylamide est une substance classée par le CIRC (Centre International de Recherche contre le Cancer) en 2 A : « probablement cancérigène pour l'homme ».

Jusqu'en 2003, seuls des résultats d'études à partir d'acrylamide pure sont disponibles (Afssa, 2001).

L'acrylamide n'est pas mutagène dans le test de AMES ni dans d'autres tests de mutagenèse in vitro mais elle est seulement positive dans le test sur lymphomes de souris. De ce fait, elle est considérée comme faiblement mutagène.

Dans le cas des essais in vivo sur cellules germinales, l'acrylamide a été capable d'induire des mutations transmissibles. De plus, ce composé est positif dans le test de dominance létale. Du fait de la forte capacité de l'acrylamide à se lier aux protéines, les adduits à l'hémoglobine constituent des marqueurs d'exposition chez l'homme. La réactivité envers l'ADN est plus faible et on note essentiellement des méthylations à forte dose. Le mécanisme d'activation doit probablement passer par une époxydation de la double liaison en 2-3.

Les études de cancérogenèse réalisées chez le rat à partir d'acrylamide ajoutée à l'eau de boisson montrent un effet cancérigène à 2 mg/kg avec apparition de tumeurs bénignes et malignes, thyroïdiennes, mammaires, du scrotum et du système nerveux central. A la dose de 0,5 mg/kg, on n'observe plus d'effet cancérigène. Chez l'homme, aucun effet cancérigène n'a été observé dans le cas d'exposition professionnelle. La formation d'adduits à l'hémoglobine servant de marqueur d'exposition, on note seulement des niveaux élevés d'adduits à l'hémoglobine chez les travailleurs exposés à l'acrylamide.

La seule étude actuellement disponible sur la relation entre exposition à l'acrylamide par voie alimentaire et cancer est une étude réalisée sur une population de 538 personnes en bonne santé et 938 personnes atteintes de cancers, par MUCCI *et al.*, (2003). Ils ont recherché si une consommation importante de certains aliments riches en acrylamide, comme les chips, frites, biscottes ou pain grillé, augmentait le risque de cancer du gros intestin, de la vessie et des reins. Ils concluent à l'absence de relation entre la consommation alimentaire à risques et la survenue de cancer.

L'ensemble des PRM que nous venons de répertorier peuvent être qualifiés d'exogène parce qu'ils sont synthétisés dans les aliments avant d'avoir une action éventuellement sur la santé après leur ingestion. Il existe d'autres composés que l'on peut appeler endogènes car ils sont formés directement dans les cellules et ont un impact.

## B. La réaction de MAILLARD *In Vivo*

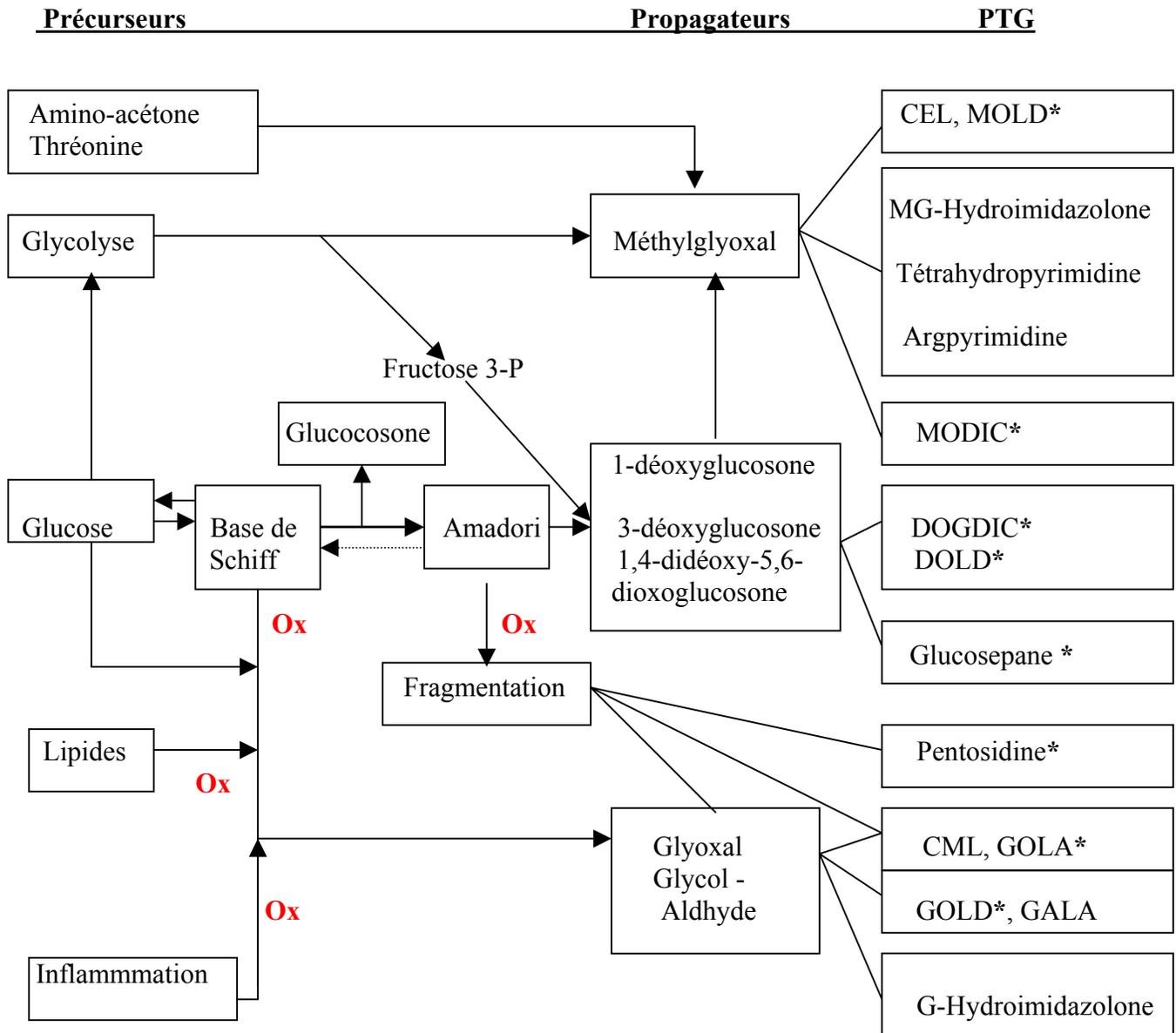
Depuis ces vingt dernières années, l'intérêt porté aux réactions de MAILLARD *in vivo* a énormément progressé. Le nombre de publications est passé de 20 à 500 par an (MONNIER, 2003). La formation de produits de la réaction de MAILLARD endogènes est plus connue sous le nom de réaction de glycosylation ou glycation. Les composés issus de ces réactions sont communément appelés AGE (Advanced Glycation End products) ou PTG (Produits Terminaux de Glycation). Ils sont à l'origine de mécanismes de vieillissement de l'organisme, mais aussi de dysfonctionnement du métabolisme de nos cellules. L'importance de la formation de ces composés est fortement liée à l'hyperglycémie.

Pour la toxicité des produits de glycation, on peut noter une altération d'activités enzymatiques liée à la présence de résidus lysine au voisinage du site actif ou à des modifications conformationnelles. Ces PTG sont aussi à l'origine de réticulation des protéines et formation d'agrégats ; cela explique l'augmentation des espaces intermoléculaires du collagène responsable d'hyperperméabilité ou des modifications structurales du cristallin. On relèvera aussi l'altération de la liaison de molécules de régulation, telles que le 2,3-diphosphoglycérate sur l'hémoglobine. De même, ces PTG sont responsables de la résistance à la protéolyse ce qui explique leur accumulation avec l'âge. Celle du collagène et de la membrane basale contribue à l'irréversibilité de l'épaississement des basales. Enfin on note des troubles de la fonction des acides nucléiques, le glucose favorisant la réticulation de protéines au niveau des résidus aminés des nucléotides de l'ADN. Un tel phénomène est responsable des cassures chromosomiques, des atteintes au processus de réparation, réplication et transcription, de la sénescence cellulaire et de la genèse des malformations congénitales lors des grossesses diabétiques. BAYNES (2002) rapporte que ces modifications sont souvent des mutations silencieuses qui varient de cellule en cellule et peuvent passer une génération. De plus, ces dommages ne sont pas détectables par des techniques analytiques conventionnelles.

### 1. La formation des PTG

Le processus de formation des PTG commence par la première étape de la réaction de MAILLARD (*figure 19*). En effet il y a, dans un premier temps, la formation d'une base de Schiff par combinaison de la fonction aldéhyde du glucose avec les résidus aminés de la protéine, principalement la lysine et la fonction amine N-terminale, le taux de formation étant égal au taux de dissociation. Le réarrangement d'Amadori qui suit atteint un équilibre après quelques semaines, la constante de dissociation ne représentant que 1,6 % de la constante de formation. Cette étape aboutit aux produits de glycation dits précoces et caractérise les protéines de demi-vie brève ou intermédiaire, l'hémoglobine étant l'exemple le mieux décrit (LAPOLLA *et al.*, 2003). De même PARK *et al.*, (2003) ont montré comment le méthylglyoxal (MG) pouvait induire l'augmentation de radicaux libres dans la cellule en inhibant l'activité de la glutathion peroxydase. Le MG modifie le site actif au niveau des acides aminés arginine en position 184 et 185.

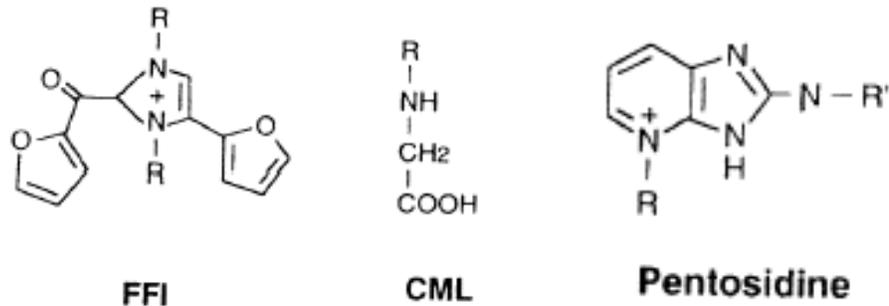
Dans un second temps, il y a une accumulation lente et irréversible, par réarrangement, transfert d'hydrogène et formation d'intermédiaires très réactifs comme les déoxyglucosones, de produits terminaux de glycation, caractérisant les protéines structurales de durée de vie prolongée, et dont les traits biochimiques principaux sont leur pigmentation brune, leur fluorescence, et leur implication dans la formation de liaisons croisées entre protéines.



**Figure 19:** Formation des PTG (d'après MONNIER, 2003).

Ce schéma récapitule toutes les voies possibles aboutissant à l'ensemble des PTG connus à ce jour. Les astérisques mentionnent tous les PTG créant des liaisons croisées entre protéines. Il est à noter que des processus d'oxydation et de lipoxydation peuvent induire la formation de PTG par l'intermédiaire de glyoxal et de glycol-aldehyde.

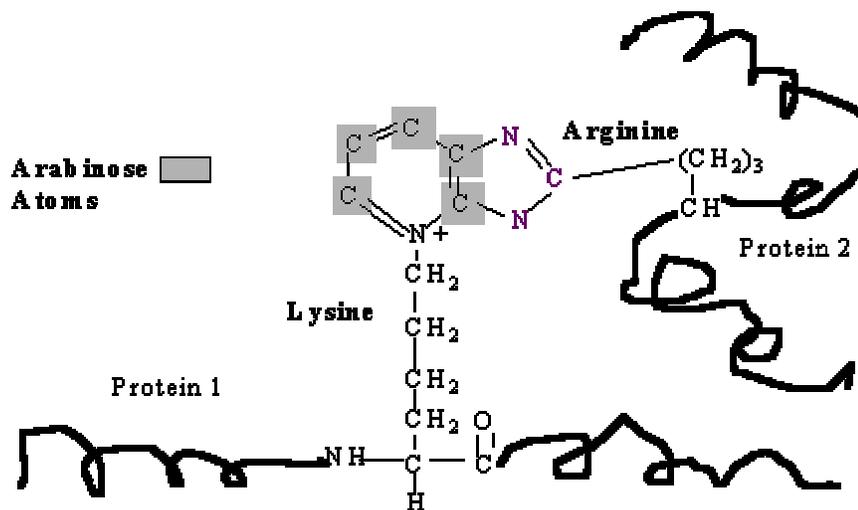
Si la détection des PTG peut être réalisée indirectement par les techniques de fluorescence, la définition chimique de tels composés isolés *in vivo* est plus difficile et ceux caractérisés à ce jour sont peu nombreux : 2-furoyl-4(5)-2-furanyl-1H-imidazole (FFI), carboxy-méthyllisine (CML) et carboxyméthylhydroxylisine (CMhL). La pentosidine est le composé le plus récemment découvert et a fait l'objet de nombreuses publications.



**Figure 20:** Structure du FFI, CML et pentosidine, définis comme PTG.

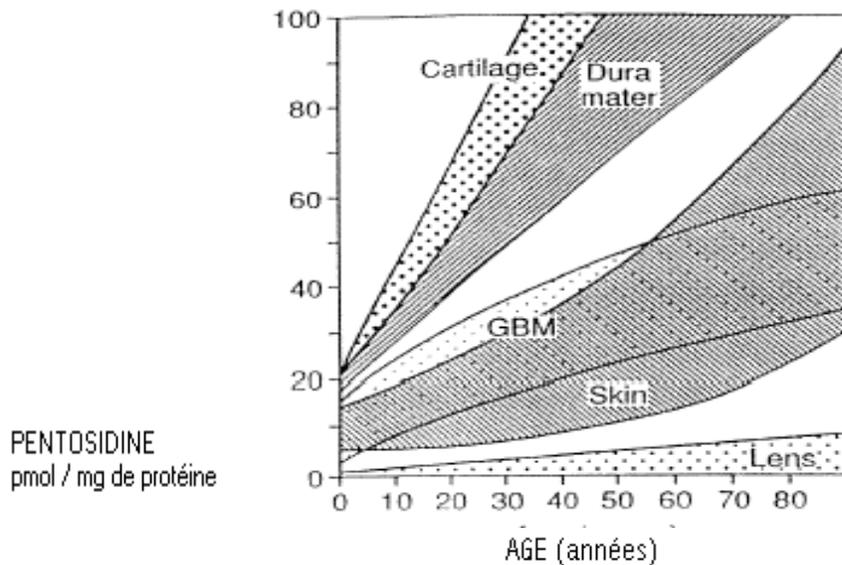
## 2. La pentosidine

A l'origine de la pentosidine, on trouve l'arabinose, un aldose, qui réagit avec le groupe aminé epsilon de la lysine que l'on trouve dans une grande variété de protéines. Le complexe arabinose-lysine va ensuite former une liaison croisée avec un résidu d'arginine d'une protéine voisine, modifiant ainsi leurs structures et fonctions biologiques.



**Figure 21:** Liaison croisée entre protéines par formation de pentosidine.

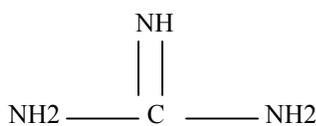
La lysine faisant souvent partie du site actif de nombreuses enzymes, l'activité enzymatique est donc modifiée. De plus, ces liaisons entre protéines ont pour autres effets de diminuer la flexibilité du collagène, d'accroître la résistance des protéines aux protéases mais aussi de participer aux maladies neuronales (KIKUCHI, 2003). En effet, les structures pathologiques associées à la maladie d'Alzheimer sont semblables à celles des pentosidines. Pour COLACO (1996) et REDDY (2002) les lésions caractéristiques que constituent les enchevêtrements neurofibrillaires sont liées à ces PTG. Ces mêmes composés sont mis en cause dans l'autisme (HOF, 1991). La formation de pentosidine augmente avec l'âge mais de façon très différente selon le type de tissus (MONIER et SELL, 1989) (*figure 22*).



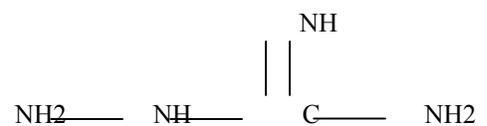
**Figure 22:** Evolution des quantités de pentosidine selon l'âge et les tissus (d'après SELL et MONNIER, 1989).

### 3. Les inhibiteurs

L'inhibiteur le plus connu est l'aminoguanidine, dérivée de la guanidine et commercialisée depuis une dizaine d'années. Elle se lie aux produits précoces de glycation (Glyoxal et méthylglyoxal) en formant un composé inapte à la réticulation.

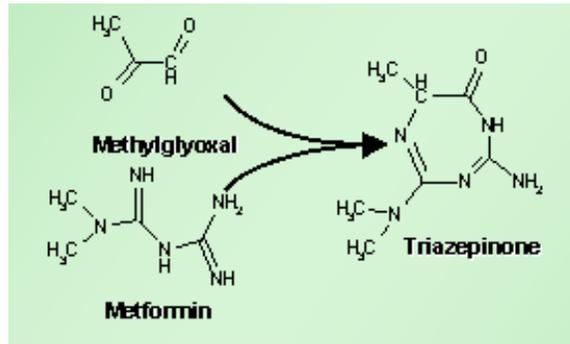


**Guanidine**



**Aminoguanidine**

RUGGIERO-LOPEZ *et al.*, (2003) ont montré que l'utilisation de metformin pouvait inhiber la glycation des protéines en réagissant avec des sucres réducteurs ou avec des produits de glycation intermédiaires. De même la metformin a pu faire baisser le niveau de méthylglyoxal chez des patients atteints de diabète. Enfin la metformin réagit avec le MG pour former du triazepinone qui est détecté dans le plasma et l'urine.



**Figure 23:** Réaction entre la metformin et le MG (d'après RUGGIERO-LOPEZ *et al.*, 2003).

Un autre inhibiteur est la carnosine. La carnosine est le dipeptide bêta-alanyl-L-histidine. Son effet le plus important est l'antiglycation. La carnosine réagit avec les sucres comme le glucose, le galactose et le dihydroxyacétone pour former de la carnosine glyquée. De ces trois sucres, le plus réactif est le dihydroxyacétone. La carnosine réagit avec le dihydroxyacétone plus rapidement qu'avec la lysine, suggérant que ce dipeptide entre en compétition avec d'autres sources d'acides aminés pour la glycation. De plus, la carnosine inactive les protéines glyquées par le dihydroxyacétone. Ainsi, la carnosine permet de réduire la glycation des protéines et la formation des PTG.

Enfin MONNIER et WU (2003) ont montré l'existence d'enzymes de déglycation. La fructosyl lysine oxydase et la fructose lysine 3-phosphokinase catalysent la réaction de déglycation et génèrent des groupements aminés libres.

## IV. CONCLUSION

Il existe donc dans nos aliments comme dans nos cellules une multitude de composés résultant de réactions de MAILLARD complexes. Pour ce qui est des PTG, ils sont clairement liés aux mécanismes de vieillissement de l'organisme. La recherche aujourd'hui s'accroît donc pour trouver des inhibiteurs efficaces des mécanismes de formation de ces composés.

Quant aux aliments, nous avons vu que l'on peut y détecter de nombreux composés, dont les risques mutagène ou cancérigène sur des bactéries ou *in vitro* sont prouvés. L'évaluation de ces risques comme le problème de leurs effets à long terme sur la santé au niveau d'une population est un problème difficile. En dehors des catastrophes sanitaires ou des intoxications professionnelles ou involontaires, il n'est pas possible d'attribuer spécifiquement à un composé une part de la morbidité ou de la mortalité constatée dans la population. Les chiffres avancés résultent la plupart du temps, sinon toujours, d'une extrapolation linéaire: connaissant la mortalité chez l'animal à une dose donnée, on en déduit la mortalité humaine. Cependant cette extrapolation ne prend pas en compte la possibilité d'effets de seuil, liés par exemple aux possibilités de réparation de l'ADN ou aux moyens de défense sophistiqués de l'organisme. Il est encore plus difficile d'évaluer les effets cumulatifs sur les très longues périodes de la vie humaine, les possibilités de synergie ou, au contraire, d'antagonismes entre contaminants.

De tous les composés issus de la réaction de MAILLARD, les amines hétérocycliques apparaissent comme étant les plus dangereuses. L'exposition par l'alimentation de type occidentale, estimée en moyenne à 1µg/ jour, peut contribuer au risque de cancer du colon, du sein voire de la prostate. Faut de pouvoir déterminer des seuils précis, le danger est mesuré grâce à la fréquence d'exposition. Les viandes et poissons grillés à haute température (au-delà de 110°C) sont les principales sources d'amines hétérocycliques. L'ensemble des différentes études biochimiques, biologiques et épidémiologiques rapportées dans cette étude ont permis d'alerter l'opinion publique. Elles ont permis aussi de convaincre les industries agroalimentaires de la nécessité de développer de nouveaux modes de cuisson, tel l'utilisation en pré cuisson du four micro-ondes par exemple. La même sensibilisation doit être faite auprès des particuliers quant aux risques liés à la consommation trop importante de grillades notamment.

Pour l'ensemble de ces composés la difficulté réside dans la détermination des seuils. Pour les nutritionnistes, les risques les plus grands pour la santé humaine sont davantage liés aux déséquilibres trop fréquents de l'alimentation globale qu'aux traces des multiples composés que l'on sait maintenant détecter.

## BIBLIOGRAPHIE

- ADRIAN J. , 1999. *Louis Camille Maillard: de la médecine à l'alimentation*. Tec & Doc, Ed, Paris, 154 p.
- ANDERSON D., 1988. Genetic toxicology. In *Experimental toxicology: the basic principles*. ANDERSON D. and CONNING D.M., Ed., Roy. Soc. Chem., London, 242-286.
- AMES B.N., McCANN J., YAMAKASHI E., 1975. Methods for detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella*/Mammalian-microsome mutagenicity test. *Mutat. Res.*, **31**, 347-364.
- AMES J. M., BATES L., MCDUGALL D.B., 1993. Colour development in an intermediate moisture MAILLARD model system. In *The MAILLARD reactions in chemistry, food and health*. LABUZA T.P., REINECCIUS G.A., MONNIER V.M., O'BRIEN J., BAYNES J.W., Ed., Roy. Soc. Chem., London, 120-126.
- AMES JM., WYNNE A., HOFMANN A., PLOS S., GIBSON GR., 1999. The effect of a model melanoidin mixture on faecal bacterial. *Br.J. Nutr.*, **82**, 489-495.
- ARNOLDI A., ARNOLDI C., BALDI O., GHIZZONI C., 1990. Effect of lipids in the MAILLARD reaction. In *The MAILLARD reactions in food processing, human nutrition and physiology*. FINOT P.A., AESCHBACHER H.U., HURRELL R.F., LIARDON R., Ed., Birkhäuser, 133-138.
- ASHOOR S.H., ZENT J.B., 1984. MAILLARD browning of common amino-acid. *J. Food Sci.*, **49**, 1206-1207.
- ASSOUMANI M.B., MAXIME D., N'GUYEN N.P., 1993. Evaluation of a lysine-glucose MAILLARD model system using three rapid analytical methods. In *The MAILLARD reactions in chemistry, food and health*. LABUZA T.P., REINECCIUS G.A., MONNIER V.M., O'BRIEN J., BAYNES J.W., Ed., Roy. Soc. Chem., London, 43-48.
- BAYNES JW., 2002, The Maillard hypothesis on aging: time to focus on DNA, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **959**, 360-367.
- BIEDERMANN M., NOTI A., BIEDERMANN-BREM S., MOZZETTI V, GROB K., 2002. Experiments on acrylamide formation and possibilities to decrease the potential of acrylamide formation in potatoes. *Official Food Control Authority of the canton of Zurich*.

- BUERA P., CHIRIFE J., RESNIK S.L., WETZLER G., 1987. Non enzymatic browning in liquid model systems of high water activity, kinetics of color changes due to MAILLARD's reaction between different single sugars and glycine and comparison with caramelization browning. *J. Food Sci.*, **52**, 1063-1067.
- COLACO CA., LEDESMA MD., HARRINGTON CR., AVILA J., 1996. The role of the Maillard reaction in other pathologies: Alzheimer's disease, *Nephrol. Dial. Transplant.*, **11**, 7-12.
- DASHWOOD RH., 2003. Use of transgenic and mutant animal models in the study of heterocyclic amine-induced mutagenesis and carcinogenesis. *J. Biochem. Mol. Biol.*, **36**, 35-42.
- DILLS W.L., 1993. Protein fructosylation : fructose and the MAILLARD reaction. *Am. J. Clin. Nutr.*, **58**, 779-787.
- EISENBRAND G., TANG W., 1993. Food-borne heterocyclic amines. Chemistry, formation, occurrence and biological activities. A literature review. *Toxicology*, **84**, 1-82.
- FELTON J.S., KNIZE M.G., 1990. New mutagens from cooked food. *Mutagens and carcinogens in the diet*, © WILLEY-LISS, Inc., 19-38.
- FELTON J.S., KNIZE M.G., SHEN N.H., ANDRESEN B.D., BJELDANES L.F., HATCH F.T., 1986. Identification of the mutagens in cooked beef. *Environ. Health Perspect.*, **67**, 17-24.
- FERNANDEZ X., KERVERDO S., DUNACH E., LIZZANI-CUVELIER L., 2002. Les hétérocycles dans la chimie des arômes. *L'actualité Chimique*, 4-14.
- FRIEDMAN M., 1996. Food browning and its prevention : an overview. *J. Agric. Food Chem.*, **44**, 631-653.
- FRIEDMAN M., CUQ J.-L., 1988. Chemistry, analysis, nutritional value and toxicology of tryptophan in food. A review. *J. Agric. Food Chem.*, **36**, 1079-1093.
- GROSS G.A., TURESKY R.J., FAY L.B., STIWELL W.G., SKIPPER P.L., TANNENBAUM S.R., 1993. Heterocyclic aromatic amine in grilled bacon, beef and fish and in grill scrapings. *Carcinogenesis*, **14**, 2313-2318.
- GU YS., KIM IS., AHN JK., PARK DC., YEUM DM., JI CI., KIM SB., 2002. Mutagenic and carcinogenic heterocyclic amines as affected by muscle types/skin and cooking in pan-roasted mackerel. *Mutat. Res.*, **515**, 189-195.

- HODGE JE., 1953. Chemistry of browning reactions in model systems. *J. Agric. Food Chem*, **1** , 928-943.
- ISHIBE N., SINHA R., HEIN DW., KULLDORFF M., STRICKLAND P., FRET LAND AJ., CHOW WH., KADLUBAR FF., LANG NP., ROTHMAN N., 2002. Genetic polymorphisms in heterocyclic amine metabolism and risk of colorectal adenomas. *Pharmacogenetics*, **12**, 145-150.
- ITO N., HASEGAWA R., SANO M., TAMANO S., ESUMI H., TAKAYAMA S., SUGIMURA T., 1991. A new colon and mammary carcinogen in cooked food, 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo(4,5-b) pyrodine. *Carcinogenesis*, **12**, 1503-1506.
- JAGERSTAD M., SKOG K., 1991. Formation of meat mutagens. *Adv. Exp. Med. Biol.*, **289**, 83-105.
- JONES R.C., WEISBURGER J.H., 1985. Characterization of aminoalkylimidazol-4-one mutagens from liquid reflux models. *Mutat. Res.*, **222**, 43-51.
- KIKUCHI S., SHINPO K., TAKEUCHI M., YAMAGISHI S., MAKITA Z., SASAKI N., TASHIRO K., 2003. Glycation: a sweet tempter for neuronal death. *Brain Res. Brain. Res. Rev.*, **41**, 306-323.
- KONG Z.L., SHINOHARA K., MITSUKI M., MURRAKAMI H., OMURA H., 1989. Desmutagenicity of furan compounds towards some mutagens. *Agric. Biol. Chem.*, **53**, 2073-2079.
- LAPOLLA A., FALMINI R., DALLA VEDOVA A., SENESI A., REITANO R., FEDELE D., BASSO E., SERAGLIA R., TRADLI P., 2003. Glyoxal and methylglyoxal levels in diabetic patients: quantitative determination by a new GC/MS method. *Clin. Chem. Lab. Med.*, **41**, 1166-1173.
- LEDL F., SCHLEICHER E., 1990. New aspects of the MAILLARD reaction in foods and in the Human body. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **29**, 565-594.
- LEE H., BIAN S.S., CHEN Y.L., 1994. Genotoxicity of 1,3- and 1,4-dithiane in the CHO/SCE assay and the Salmonelle/microsomal test. *Mutat. Res.*, **321**, 213-18.
- LOPRIENO N., BONCRISTIANI G., LOPRIENO G., 1991. An experimental approach to identifying the genotoxic risk from cooked meat mutagens. *Food Chem. Toxicol.*, **29**, 377-86.
- MAILARD LC., 1911. Condensation des acides aminés en présence de glycérine; cycloglycylglycine et polypeptides, *C.R. Acad. Sci.*, **153**, 1078-80.

- MAILLARD LC., 1912. Action des acides aminés sur les sucres : formation des melanoïdines par voie méthodique, *C.R. Acad. Sci.*, **154**, 66-68.
- MAILLARD LC., 1916. Synthèses des matières humiques par action des acides aminés sur les sucres réducteurs, *Ann. Chim.*, **5**, 258-317.
- MARON D.M, AMES B.N., 1983. Revised method for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutat. Res.*, **113**, 173-215.
- MIHARA S., SHIBAMOTO T., 1980. Mutagenicity of products obtained from cysteamine-amine glucose browning model systems. *J. Agric. Food Chem.*, **28**, 62-66.
- MONNIER VM., 2003. Intervention against the MAILLARD reaction in vivo. *Arch. Biochem. Biophys*, **419**, 1-15.
- MONNIER VM., BAYNES J., 1989, Toward a Maillard reaction Theory of Aging, In *Maillard Reaction in Aging*. Liss Press Publ. New York.
- MONNIER VM., WU X., 2003. Enzymatic deglycation with amadoriase enzymes from *Aspergillus* sp. as a potential strategy against the complications of diabetes and aging. *Biochem. Soc. Trans.*, **31**, 1349-1353.
- MONTGOMERY BA., MURPHY J., CHEN JJ., DESAI VG., McGARRITY L., MORRIS SM., CASCIANO DA., AIDOO A., 2002. Mutagenicity of food-derived carcinogens and the effect of antioxidant vitamins. *Nutr. Cancer*, **43**, 103-110.
- MOONEN HJ., BRIEDE JJ., VAN MAANE JM., KLEINJANS JC, DE KOK TM, 2002. Generation of free radicals and induction of DNA adducts by activation of heterocyclic amines via different metabolic pathways in vitro. *Mol. Carcinog.*, **35**, 196-203.
- MOTTRAM DS., WEDZICHA BL., DODSON AT., 2002, Acrylamide is formed in the Maillard reaction, *Nature*, **419**, 448-9.
- MUCCI LA., DICKMAN PW., STEINECK G, ADAMI HO., 2003. Dietary acrylamide and cancer of the large bowel, kidney and bladder: absence of an association in a population-based study in Sweden. *British journal of Cancer*, **88**, 84-89.
- NAGAO M., YAHAGI T., KAWACHI T., SEINO Y., HONDA M., MATSUKURA N., SUGIMURA T., WAKABAYASCHI K., TSUJI K., KOSUGE T., 1977. Progress in genetic toxicology. *Elsevier/ North Holland*, 259-264.

- NAGAO M., FUJITA Y., WAKABAYASHI K., NUKAYA H., KOSUGE T., SUGIMURA T., 1986. Mutagens in coffee and other beverages. *Environ. Health Perspect.*, **67**, 89-91.
- NAGAO M., SUGIMURA T., 1993. Carcinogenic factors in food with relevance to colon cancer development. *Mutat. Res.*, **290**, 43-51.
- PARK YS., KOH YH., TAKAHASHI M., MIYAMOTO Y., SUSUKI K., DOHMAE N., TAKIO K., HONKE K., TANIGUCHI N., 2003. Identification of the binding site of methylglyoxal on glutathione peroxydase : methylglyoxal inhibits glutathione peroxydase activity via binding to glutathione binding sites Arg 184 and Arg 185, *Free. Radic. Res.*, **37**, 205-11.
- REDDY VP., OBRENOVICH ME., ATWOOD CS., PERRY G., SMITH MA., 2002. Involvement of Maillard reactions in Alzheimer disease, *Neurotox. Res.*, **4**, 191-209.
- ROBBANA-BARNAT S., RABACHE M., RIALLAND E., FRADIN J., 1996. Heterocyclic amines : occurrence and prevention in cooked food. *Environ. Health Perspect.*, **104**, 280-288.
- RUGGIERO-LOPEZ D., LECOMTE M., MOINET G., PATEREAU G., LAGARDE M., WIERNSPERGER N., 1999. Reaction of metformin with dicarbonyl compounds. Possible implication in the inhibition of advanced glycation end product formation, *Biochem. Pharmacol.*, **58**, 1765-1773.
- RYDBERG P., ERIKSSON S., TAREKE E., KARLSSON P., EHRENBORG L., TOMQVIST M., 2003. Investigations of factors that influence the acrylamide content of heated foodstuffs, *J. Agric. Food. Chem.*, **51**, 7012-7018.
- SABAT P., 2000. *La méthode FAST (Fluorescence of Advanced Maillard Products and Soluble Tryptophan) : une méthode alternative pour évaluer l'impact du traitement thermique sur la qualité nutritionnelle des laits de consommation. Optimisation de la méthode et validation de l'appareillage automatique.* Mémoire ingénieur , CNAM, 82 p.
- SELL DR., MONNIER VM., 1989. Structure elucidation of a senescence cross-link from human extracellular matrix. Implication of pentoses in the aging process, *J. Biol. Chem.*, **264**, 21597-21602.
- SELL DR., MONNIER VM., 1989. Isolation, purification and partial characterization of novel fluorophores from aging human insoluble collagen-rich tissue. *Connect. Tissue Res.*, **19**, 77-92.
- SHIBAMOTO T., 1980. Mutagenicity of 1,5 (or 7)-dimethyl-2,3,6,7-tetrahydro-1H-

dicyclopentapyrazine obtained from cyclotene/NH<sub>3</sub> browning model system. *J. Agric. Food Chem.*, **28**, 883-884.

- SHIBAMOTO T., 1982. Occurrence of mutagenic products in browning model systems. *Food Technol.*, **1982**, 59-62.
- SHIBAMOTO T., BERNHARD R.A., 1980. Formation of heterocyclic compounds from the reaction of L-rhamnose with ammonia. *J. Agric. Food Chem.*, **26**, 183-187.
- SHINOHARA K., KIM E., OMURA H., 1986. Furans as the mutagens formed by amino-carbonyl reactions. FUJIMAKI M., NAMIKI M., KATO H., Ed., Kodansha Ltd, Tokyo, 353-362.
- SKOG K., 1993. Cooking procedures and food mutagens : a literature review. *Food Chem. Toxicol.*, **31**, 655-675.
- STICH H.F., STICH W., ROSIN M.P., POWRIE W.D., 1980. Mutagenic activity of pyrazine derivatives : a comparative study with *Salmonella typhimurium*, *Saccharomyces cerevisiae* and Chinese hamster ovary cells. *Food Cosmetics Toxicol.*, **18**, 581-586.
- SUGIMURA T., 1986. Past, present, and future of mutagens in cooked foods. *Environ Health Perspect*, **67**, 5-10.
- SUGIMURA T., 2002. Food and cancer. *Toxicology*, **181**, 17-21
- UMANO K., SHIBAMOTO T., FERNANDO S.Y., WEI C.I., 1984. Mutagenicity of 2-hydroxyalkyl-N-nitrosothiazolidine. *Food Chem. Toxicol.*, **22**, 253-259.
- WEISBURGER JH., 2002. Comments on the history and importance of aromatic and heterocyclic amines in public health. *Mutat. Res.*, **506**, 9-20.
- WONG J.W., SHIBAMOTO T., 1996. Genotoxicity of MAILLARD reaction products. In *The MAILLARD reaction : consequences for the chemical and life sciences*. IKAN R., Ed., John WILEY & Sons Ltd, 129-159.
- YAYLAYAN VA., WNOROWSKI A., PEREZ LOCAS C., 2003. Why asparagines needs carbohydrates to generate acrylamide. *J. Agric. Food Chem*, **51**, 1753-1757.
- YEN G.C., LAI Y.H., 1987. Influence of antioxidant on MAILLARD browning reaction in a caseine model system. *J. Food Sci.*, **52**, 1115-1116.

- YEN G.C., LEE T.C., 1986. Mutagen formation in the reaction of MAILLARD browning products, 2-acetylpyrrole and its analogues, with nitrite. *Food Chem. Toxicol.*, **24**, 1303-1308.
- ZHU J., CHANG P., BONDY ML. , SAHIN AA.,SINGLETARY SE., TAKAHASHI S., SHIRAI T., LI D., 2003. Detection of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]-pyridine-DNA adducts in normal breast tissues and risk of breast cancer. *Cancer Epidemiol.Biomarkers Prev.*, **12**, 830-837.