

ÉTUDE R.E.S. SUR LE SÉRUM ET LE SANG TOTAL HUMAIN EN RELATION AVEC LE VIEILLISSEMENT, LA PATHOLOGIE ET LE TRAITEMENT BIOTROPHIQUE AU GÉROVITAL H₃

LIVIA BRAZDEȘ, C. T. CRĂESCU, CORNELIA RUSU

*Institut National de Gérontologie et de Gériatrie,
Bucarest, Roumanie*

Résumé. On a déterminé la concentration de centres paramagnétiques par des mesures R.E.S. effectuées sur 110 épreuves de sérum et de sang total humain prélevées à 30 sujets jeunes (20-39 ans), 36 sujets âgés orthogères (60-85 ans) et 34 sujets âgés (60-90 ans) aux tares pathologiques (affections cardio-vasculaires). Les épreuves de sérum provenant des sujets âgés orthogères présentent une concentration de centres paramagnétiques manifestement plus grande ($p < 0,02$) que celle du sérum des sujets jeunes. Entre la concentration de centres paramagnétiques du sérum des sujets âgés aux tares pathologiques et celle du sérum des sujets âgés aux tares pathologiques soumis à un traitement de longue durée au Gérovital H₃, la différence est aussi significative du point de vue statistique ($p < 0,02$).

INTRODUCTION

Le vieillissement des organismes vivants représente un phénomène très complexe, consistant dans une décroissance continue de la capacité intégrative et adaptative de l'organisme jusqu'il atteint un stade incompatible à la vie. Cette définition du processus en tant qu'une totalité couvre un grand nombre de changements structuraux et fonctionnels spécifiques des paramètres aux niveaux moléculaire et surmoléculaire.

Une telle complexité des faits explique les difficultés rencontrées dans les essais d'élaborer une théorie unique, scientifique, hypothétique-déductive du processus de vieillissement.

Un de ces essais, « la théorie des radicaux libres », permet l'interprétation de certains aspects du vieillissement, en supposant que le nombre des réactions des radicaux libres de l'organisme et les effets qu'ont sur celui-ci, augmentent avec l'avancement en âge. Les radicaux libres, du fait de leur grande réactivité chimique, peuvent induire des processus d'altération fonctionnelle et structurale de l'intégrité de l'organisme [1], [2].

L'augmentation avec l'âge des lipo-peroxydes qui s'accumulent dans les membranes cellulaires et dans des formations spéciales (dénommées pigments d'âge) [3], la décroissance du taux de mortalité des rats soumis à une diète aux acides gras non saturés [4] et l'augmentation de la durée moyenne de vie à la suite de la médication aux anti-oxydants, tels que vitamine E, 2-mercapto-éthylamine, hydroxytoluène butylate [5] constituent quelques épreuves expérimentales à l'appui de la théorie du rôle des radicaux libres dans le processus de vieillissement.

La cellule vivante contient du fer, du cuivre, du manganèse et autres ions paramagnétiques, qui, par leur action de diminution de l'énergie d'activation facilitent la production de radicaux libres par la décomposition des produits peroxydiques. Les ions paramagnétiques et les radicaux libres organiques, qui constituent les centres paramagnétiques dans les épreuves biologiques, peuvent être détectés et évalués quantitativement par la technique de la résonance paramagnétique de spin (R.E.S.).

Ce travail expose les résultats d'une recherche expérimentale effectuée sur sérum humain normal et sur sérum humain prélevé aux sujets ayant des tares pathologiques (affections cardiovasculaires); on présente aussi les implications du traitement au Gérovital H₃ sur la concentration de centres paramagnétiques du sérum.

MATÉRIAUX ET MÉTHODES DE TRAVAIL

Les mesures de spectroscopie électronique de spin (R.E.S.) ont été effectuées sur 110 épreuves de sérum et de sang total prélevée à 30 sujets jeunes (20—39 ans), 36 sujets âgés orthogères (60—85 ans) et 34 sujets âgés (60—90 ans) aux tares pathologiques (affections cardio-vasculaires). De plus, on a effectué 10 mesures sur des épreuves provenant des sujets âgés ayant des affections cardio-vasculaires, soumis à un traitement de longue durée au Gérovital H₃.

Les épreuves prélevées ont été introduites et conservées en azote liquide et ensuite lyophilisées. La lyophilisation des épreuves a été effectuée en petits flacons de pénicilline, quatre-cinq heures étant nécessaires pour une épreuve. Après la lyophilisation, les épreuves ont été pesées et introduites dans des tubes de quartz. La lyophilisation a été effectuée à l'aide d'un appareil du type SECFROID LYOLAB-C-3021. Pour éviter le contact à l'air, l'installation a été lavée et remplie d'azote-gaz. Pour l'enregistrement des spectres R.E.S. des épreuves biologiques on a utilisé un spectromètre R.E.S. du type JES-ME-3X à cavité de résonance cylindrique, la fréquence de résonance $f_0 = 9455$ MHz et la modulation intérieure du champ magnétique statique (100 kHz). Les spectres R.E.S. ont été enregistrés à la température ambiante et dans des conditions de travail identiques pour l'entier ensemble. Pour la détermination du nombre « N » de centres paramagnétiques de l'épreuve, on a utilisé une méthode relative de détermination de la concentration, par comparaison au nombre de centres paramagnétiques « N_e » d'une épreuve-étalon — DPPH (diphénylpierylhydrazyl)

$$N = N_e \cdot \frac{m}{m_e} \cdot \frac{H_{pp}^2 \cdot A \cdot \rho}{H_{pp}^2 \cdot A_e \cdot \rho_e} \cdot \frac{H_{mod}^2}{H_{mod}^2}$$

L'indice e se rapporte à l'épreuve-étalon. On a noté par m , la masse de l'épreuve exprimée en grammes, ρ est la densité de l'épreuve en g/cm³, H_{mod} — l'amplitude du champ magnétique de modulation, H_{pp} — la largeur de la ligne de résonance mesurée entre les sommets de la déviation, et A — l'amplitude de la ligne de résonance.

$$N_e = 1,52 \cdot 10^{21} \text{ centres paramagnétiques.}$$

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

Les spectres R.E.S. obtenus des épreuves de sang total diffèrent des spectres R.E.S. obtenus du sérum des mêmes personnes, à cause, probablement, des produits d'oxydation ou de scission de l'hémoglobine.

Pour les épreuves de sérum (fig. 1), les spectres R.E.S. sont composés, pour la majorité des épreuves, d'une ligne de résonance caractérisée par un facteur de

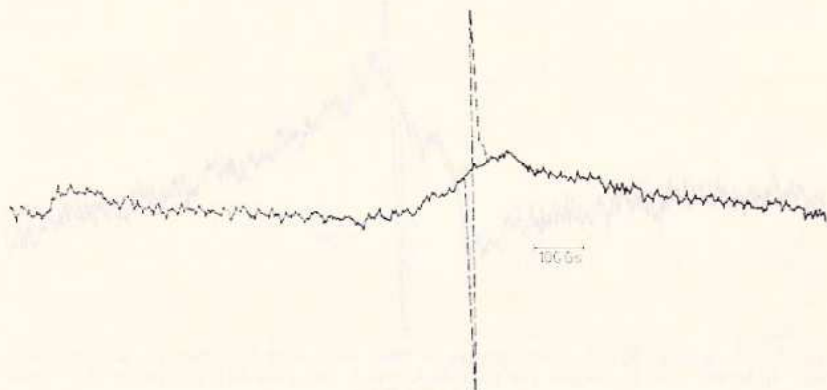


Fig. 1. — Le spectre R.E.S. d'une épreuve de sérum dans la région $g = 2.0$. Conditions de travail: modulation: 10 gauss; puissance de micro-ondes: 20 mW; amplification: 2000; temps de balayage: 10 minutes. (en pointillé: le spectre de l'étalon: D.P.P.H.)

scission spectroscopique $g_{eff} \approx 2,003$ (valeur moyenne). La largeur de la ligne de résonance est d'environ 20 gauss. Certaines épreuves présentent en plus dans le spectre R.E.S. une autre ligne de résonance caractérisée par un facteur de scission spectroscopique $g_{eff} = 4,00$, la largeur de la ligne étant de 100–200 gauss. On attribue cette ligne à la présence de l'ion Fe^{3+} dans l'épreuve. La ligne de résonance à $g_{eff} = 2,003$ est attribuée à la présence dans l'épreuve de certains centres paramagnétiques complexés [6]. Nous supposons que dans cette ligne de résonance est incluse encore une ligne de résonance qui est attribuée à un radical libre, ligne qui est caractérisée par un g_{eff} rapproché de celui de l'électron libre; la largeur de la ligne a la valeur de 2–10 gauss.

De ce fait, ces deux lignes de résonance se superposent et, de la sorte, il n'a pas été possible, en partant des mesures effectuées, de mettre en évidence la ligne correspondante du radical libre. Dans l'hypothèse de l'existence des radicaux libres dans l'épreuve, leur mise en évidence par la méthode R.E.S. pourrait être réalisée en mesurant le temps de relaxation spin-réseau (T_1) des centres paramagnétiques et du radical libre. Ces mesures supposent l'utilisation de la méthode de la saturation progressive de la ligne de résonance, à de basses températures et à de grands niveaux de puissance des micro-ondes. La technique est laborieuse et exige une installation annexe au spectromètre de résonance standard.

On n'a mis en évidence la présence dans 27% des épreuves du sérum d'aucuns centres paramagnétiques.

Pour les épreuves de sang total (fig. 2), les spectres R.E.S. se composent d'une ligne de résonance à $g_{\text{eff}} \approx 2$, qui apparaît à 97% des épreuves.

Une deuxième ligne de résonance est caractérisée par $g_{\text{eff}} \approx 4$. Ces deux lignes de résonance sont attribuées à la présence dans l'épreuve des ions paramagnétiques complexés, respectivement, Fe^{3+} . Les largeurs des lignes de résonance sont d'environ 20 gauss, respectivement 100–200 gauss.

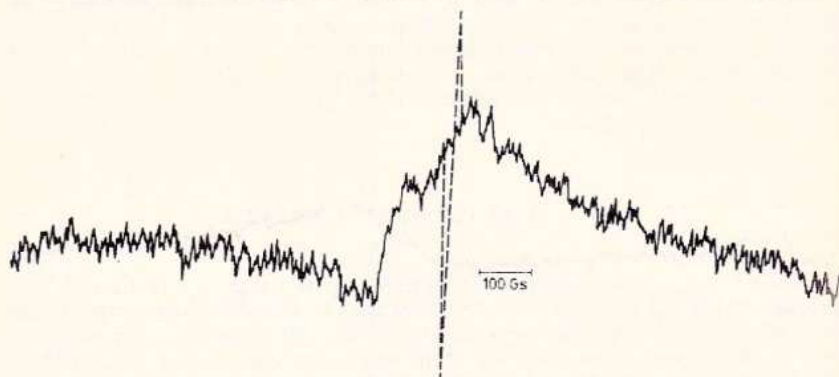


Fig. 2. — Le spectre R.E.S. d'une épreuve de sang total dans la région $g = 2.0$. Les conditions de travail sont les mêmes que pour la figure 1 (en pointillé: le spectre de l'étalon: D.P.P.H.)

Nous supposons également qu'au-dessus de la ligne de résonance caractéristique aux ions paramagnétiques ($g_{\text{eff}} \approx 2$) se trouve superposée la ligne caractéristique d'un éventuel radical libre, qui a la largeur de la ligne comprise entre approximativement 2–10 gauss.

Pour les spectres de résonance des épreuves de sang total est caractéristique le fait que la majorité des épreuves présente un spectre composé de 2–3 lignes, tandis que les épreuves de sérum présentent, dans leur grande majorité, un spectre de résonance composé d'une seule ligne. Le nombre moyen de centres paramagnétiques des épreuves du sérum (tableau 1) provenant du groupe de sujets âgés orthogères est manifestement plus grand ($p < 0,02$) que la concentration de centres paramagnétiques du sérum provenant du groupe de sujets jeunes.

Entre la concentration de centres paramagnétiques du sérum des sujets âgés du groupe orthogère et celle du sérum des sujets âgés aux tares pathologiques il existe une différence non significative ($p > 0,05$).

Entre la concentration de centres paramagnétiques du sérum des sujets âgés appartenant au groupe aux tares pathologiques et celle du sérum des sujets âgés aux tares pathologiques qui suivent un traitement de longue durée au Gérovitil H_3 , la différence est significative du point de vue statistique ($p < 0,02$).

La concentration de centres paramagnétiques des épreuves de sang total des sujets âgés orthogères ne diffère pas de façon significative de celle du sang total des sujets jeunes ($p > 0,05$); entre le groupe de sujets âgés aux tares pathologiques et le groupe de ceux ayant des tares pathologiques, qui ont subi un traitement de longue durée au Gérovitil H_3 , il n'existe non plus de différences significatives du point de vue statistique ($p > 0,1$); entre le groupe de sujets âgés orthogères et

Tableau 1

Le facteur de scission spectroscopique et la concentration de centres paramagnétiques dans les épreuves de sang total et sérum en diverses conditions d'âge, pathologie et traitement (on donne, entre parenthèses, les dispersions des moyennes calculées pour chaque groupe)

Sujets	Nombre de cas	g		Nombre des centres paramagnétiques (10^{16} spin/g)	
		sang	sérum	sang	sérum
Jeunes	10		1,996 (0)		0,335 (0,063)
	20	1,972 (0,041)		2,476 (0,558)	
Âgés orthogères	12		1,992 (0,022)		0,847 (0,377)
	13	2,001 (0)		2,135 (0,321)	
Âgés traités au GH_3	10	2,004 (0)	1,996 (0)	2,678 (0,413)	0,258 (0,141)
Âgés aux tares pathologiques	16	2,009 (0,004)	1,995 (0,003)	1,779 (0,584)	0,661 (0,327)

le groupe de ceux ayant des tares pathologiques il n'y a pas une différence significative du point de vue statistique en ce qui concerne la concentration de centres paramagnétiques des épreuves de sang total.

Les données exposées nous suggèrent la corrélation nécessaire qui existe entre la présence des oligoéléments paramagnétiques et les radicaux libres des produits biologiques, ainsi que l'influence du traitement au Gérovital H3 sur la concentration de centres paramagnétiques, influence qui peut être attribuée à certaines propriétés anti-oxydantes de la médication biotrophique.

Summary. The concentration of paramagnetic centres was evaluated by means of R.E.S. measurements on 110 serum and blood specimens from 30 young (aged 20–39), 36 orthogerous elderly (aged 60–85) and 34 elderly subjects (aged 60–90) with pathological problems (cardiovascular affections). The serum concentration of paramagnetic centers is significantly higher ($p > 0,02$) in orthogerous elderly as against young subjects. The difference is also statistically significant ($p > 0,02$) between the serum concentration of paramagnetic centres in the elderly with pathological problems and that of the elderly subjected to the long-term treatment with Gerovital H₃.

BIBLIOGRAPHIE

1. SLATER T. F. *Free Radical Mechanisms in Tissue Injury*, Pion, London, 1972.
2. PRYOR W. A. *Fed. Proc.* **32**, 1973, p. 1862.
3. — *Sci. Amer.*, **223**, 1970, p. 70.
4. HARMAN D. J. *Amer. Geriatrics Soc.*, **17**, 1973, p. 721.
5. COMMONER B., J. J. HEISE., B. B. LIPPINCOTT, R. E. NORBERG., J. V. PASSONNEAN, J. TOWNSEND, *Science*, **126**, 1957, p. 57.
6. KOZLOV I. P. *Svobodnye radikalny i ikh roli v normalnykh i patologicheskikh protsessakh*. Izd. Moskoskovo Universiteta, 1973.