

Effet d'une association de *Porphyra umbilicalis*, de *Polypodium leucotomos* et de vitamines C et E sur la dose érythémateuse minimale chez des volontaires sains

Effect of a Combination of *Porphyra umbilicalis*, *Polypodium leucotomos*, and Vitamins C and E on the Minimal Erythematous Dose in Healthy Volunteers

I. Guinobert · C. Blondeau · H. Burnet · K. Antonowicz · A. Guilbot

© Lavoisier SAS 2016

Résumé Les produits de protection solaire topiques protègent efficacement contre les ultraviolets mais présentent une efficacité de courte durée souvent limitée par une utilisation inadéquate. Des produits systémiques ont donc été développés en complément des méthodes de photoprotection externe. Nous avons évalué l'effet d'une association de *Porphyra umbilicalis*, de *Polypodium leucotomos* et de vitamines C et E sur la dose érythémateuse minimale (DEM). Cette étude en ouvert, avec comparaisons intra-individuelles, a été réalisée chez des volontaires sains de phototypes II et III ayant pris cette association pendant 14 jours. La DEM a été évaluée à j0, j3, j7 et j14. À j14, une augmentation statistiquement significative de la DEM de 19 % ($p < 0,001$) a été observée chez 82 % (18/22) des volontaires. Cette augmentation a été significative dès j7 (+10 % ; $p = 0,002$). L'analyse par phototype a montré que l'augmentation de la DEM était significative dès j3 chez les volontaires de phototype II ($n = 13$; +7 % ; $p = 0,009$), et à partir de j14 chez les volontaires de phototype III ($n = 9$; +17 % ; $p = 0,011$). Ces résultats suggèrent que l'association de *Porphyra umbilicalis*, de *Polypodium leucotomos* et de vitamines C et E pourrait renforcer les capacités de photoprotection chez un individu se protégeant déjà par voie externe.

Mots clés Photoprotection orale · *Porphyra umbilicalis* · *Polypodium leucotomos* · Vitamine C · Vitamine E

Abstract Topical products for photoprotection are effective but for a short period of time and their efficacy is often limited by inadequate use. Systemic products have been developed to complement external methods of photoprotection. We assessed the effect of a combination of *Porphyra umbilicalis*, *Polypodium leucotomos*, and vitamins C and E on the minimal erythematous dose (MED). This was an open study with intra-individual comparisons performed in phototype II and III healthy volunteers who received the combination for 14 days. The MED was assessed at D0, D3, D7, and D14. At D14, a statistically significant MED increase of 19% ($P < 0.001$) was observed in 82% (18/22) of the volunteers. This MED increase was significant from D7 (+10%; $P = 0.002$). The analysis per phototype showed that the MED increase was significant from D3 in phototype II volunteers ($N = 13$; +7%; $P = 0.009$) and only from D14 in phototype III volunteers ($N = 9$; +17%; $P = 0.011$). These results suggest that the combination of *Porphyra umbilicalis*, *Polypodium leucotomos*, and vitamins C and E could strengthen the photoprotection capacity of individuals already protecting themselves by external means.

Keywords Oral photoprotection · *Porphyra umbilicalis* · *Polypodium leucotomos* · Vitamin C · Vitamin E

Introduction

Les rayons ultraviolets (UV) ont sur la peau des effets néfastes aigus et chroniques - érythème, hyperpigmentation, vieillissement et carcinogenèse, par exemple - largement reconnus et documentés.

Protéger sa peau des effets néfastes des UV nécessite d'adopter différentes stratégies protectrices qui incluent se protéger par des vêtements, porter un couvre-chef et des lunettes de soleil et appliquer un produit de protection solaire

I. Guinobert · C. Blondeau (✉) · A. Guilbot
Laboratoire PiLeJe, 37, quai de Grenelle,
F-75015 Paris cedex 15, France
e-mail : c.blondeau@larenasante.com

H. Burnet · K. Antonowicz
Pharmascan, groupe DermScan,
114, boulevard du 11-Novembre-1918,
F-69100 Villeurbanne, France

topique [1,2]. Le bénéfice des produits topiques peut s'avérer limité en raison d'une application trop souvent non homogène, à des doses et des fréquences inadéquates. Par conséquent, des produits systémiques plus faciles à utiliser, qui procurent une protection uniforme sur toute la surface cutanée et dont l'efficacité ne peut pas être limitée par des facteurs extérieurs (sueur et baignade, par exemple), ont été développés en complément des méthodes de protection externes.

Dans ce cadre, de nombreuses substances présentent un intérêt dont *Porphyra umbilicalis*, *Polypodium leucotomos* et certaines vitamines comme les vitamines C et E.

Porphyra umbilicalis est une algue rouge alimentaire qui contient des mycosporines, capables d'absorber les UV [3]. L'extrait contenu dans l'association à l'étude (Porphyral HSP® [HSP : *heat shock proteins*]) a des propriétés antioxydantes, protectrices de l'ADN et est capable de stimuler in vitro certaines protéines de choc thermique [4]. *Polypodium leucotomos* est une fougère tropicale qui, grâce à ses propriétés immunomodulatrices, anti-inflammatoires et antioxydantes, inhibe certains mécanismes moléculaires à l'origine des dommages cutanés causés par les UV [2,5]. Enfin, les vitamines C et E ont une structure particulière qui leur confère des propriétés antioxydantes [1,6]. Naturellement présentes dans la peau, il a été montré que leur concentration diminue lorsque l'exposition aux UV est intense [7]. La vitamine C étant essentielle à la régénération de la vitamine E, ces deux vitamines sont souvent associées dans un même produit pour une administration par voie orale ou topique [2].

L'objectif de l'étude présentée ici a été d'évaluer l'effet de l'administration d'une association de ces quatre ingrédients, *Porphyra umbilicalis*, *Polypodium leucotomos* et vitamines C et E, sur la dose érythémateuse minimale (DEM) chez des volontaires sains.

Matériel et méthodes

Cette étude a été réalisée en ouvert, chez des volontaires sains avec comparaisons intra-individuelles, afin d'évaluer l'effet d'une association de *Porphyra umbilicalis*, de *Polypodium leucotomos* et de vitamines C et E sur la DEM. L'étude a été conduite conformément aux Bonnes pratiques cliniques (ICH-E6) et selon le protocole défini par l'Association européenne des cosmétiques (Cosmetics Europe ex-COLIPA, norme ISO 2444:2010).

Pour participer à l'étude, les volontaires sains devaient avoir entre 18 et 60 ans, être de sexe féminin, présenter un phototype I à III sur l'échelle de Fitzpatrick et avoir donné par écrit leur consentement libre et éclairé. Brièvement, selon l'échelle de Fitzpatrick, le phototype I correspond à une peau très claire (taches de rousseur) et des cheveux roux

ou blonds ; le phototype II à une peau claire et des cheveux blonds à châtain ; le phototype III à une peau intermédiaire et des cheveux châtain à bruns ; les phototypes IV, V et VI correspondent respectivement à une peau foncée, très foncée et noire [8]. L'étude a été réalisée aux mois de janvier et février 2014, en Pologne. Les volontaires ne devaient avoir pris aucun traitement topique ou systémique (en particulier, aucun complément alimentaire solaire) susceptible d'interférer avec l'évaluation de l'association testée moins d'un mois avant le début de l'étude. Les volontaires ne devaient pas présenter de pathologie cutanée, de grains de beauté, de tatouages ou de taches de rousseur sur la région médiane du dos étudiée. Ils ne devaient pas non plus avoir d'allergie connue au soleil, présenter de coup de soleil ou s'être exposés au soleil ou aux UV de manière immodérée pendant le mois précédant l'étude.

Les volontaires sains inclus ont pris l'association de *Porphyra umbilicalis*, de *Polypodium leucotomos* et de vitamines C et E pendant 14 jours (de j0 à j13), à raison d'un comprimé par jour, le matin au petit déjeuner. Les volontaires devaient compléter une fiche de suivi journalier. Un comprimé contenait 125 mg de Porphyral HSP® [4], extrait de *Porphyra umbilicalis* (extrait hydroalcoolique du thalle), 300 mg d'un extrait de *Polypodium leucotomos* (extrait aqueux de feuilles), 80 mg de vitamine C et 12 mg de vitamine E (α -tocophérol). Les doses de vitamines apportées par l'association testée dans notre étude correspondent aux valeurs nutritionnelles de référence [9].

Le critère d'évaluation principal était l'évolution de la DEM, définie comme la dose minimale de rayonnement UV standardisé capable de provoquer une réaction érythémateuse sur plus de 50 % de la surface exposée, 24 heures après l'exposition. Une prédétermination de la DEM a été effectuée deux jours avant le début de l'administration (j-2) pour définir la DEM de référence propre à chaque volontaire. Six zones circulaires de 8 mm de diamètre ont été délimitées dans la région médiane du dos. Ces zones ont été exposées aux UV (UVA et UVB ; lampe Xénon Solar Light type Multiport 601-300W, spectre de 290 à 400 nm) pendant 30 secondes, la dose étant augmentée de 25 % à chaque zone. La lecture du résultat a été effectuée 24 heures après l'exposition (j-1). Cette DEM de référence a ensuite été utilisée pour déterminer la DEM à j0, juste avant la première prise de l'association, puis à j3, j7 et j14. Les doses d'irradiation utilisées étaient alors incrémentées de 15 % à chaque zone.

Les pourcentages d'évolution des DEM moyennes mesurées entre j0 et j3, j7 et j14 ont été comparés par un test *t* de Student sur données appariées. Le seuil de significativité a été fixé à 5 %. Les analyses ont été réalisées avec le logiciel PASW® Statistics 19 (SPSS®).

Les événements indésirables ont été recueillis pendant toute la durée de l'étude.

Résultats

Vingt-deux volontaires sains ont été inclus dans l'étude. Tous étaient des femmes, âgées en moyenne de 24 ans (18–44 ans), 13 étaient de phototype II et neuf de phototype III sur l'échelle de Fitzpatrick (aucun volontaire de phototype I n'a été recruté). Aucune déviation au protocole n'a été constatée au cours de l'étude.

Au terme de la période d'administration (j14), une augmentation statistiquement significative de la DEM de 19 % ($+3,29 \text{ mJ/cm}^2 \pm 0,58$ [moyenne \pm SEM]) a été observée dans la population totale ($n = 22$), la DEM passant de $17,61 \text{ mJ/cm}^2 \pm 12,5$ à j0 à $20,9 \text{ mJ/cm}^2 \pm 14,5$ à j14 ($p < 0,001$). Cette augmentation significative de la DEM a été observée chez 82 % (18/22) des volontaires.

Dans la population totale, une augmentation de la DEM a été rapportée dès j3. Cependant, l'augmentation de 4 % ($+0,7 \text{ mJ/cm}^2 \pm 0,47$) observée n'était pas significative ($18,31 \text{ mJ/cm}^2 \pm 11,9$ à j3 versus $17,61 \text{ mJ/cm}^2 \pm 12,5$ à j0, $p = 0,2$). Le seuil de significativité n'a été atteint qu'à partir de j7, avec une augmentation de 10 % ($+1,79 \text{ mJ/cm}^2 \pm 0,48$; de $17,61 \text{ mJ/cm}^2 \pm 12,5$ à j0 à $19,4 \text{ mJ/cm}^2 \pm 13,7$ à j7, $p = 0,002$). À j7, 64 % (14/22) des volontaires présentaient une augmentation significative de la DEM.

Le profil d'augmentation de la DEM était différent selon le phototype des volontaires. Chez les 13 volontaires de phototype II, l'augmentation de la DEM a été statistiquement significative dès j3 (+7 %), puis à j7 (+11 %) et j14 (+21 %) [$p < 0,05$] (Tableau 1). À j3, cette augmentation de la DEM a été observée chez 46 % (6/13) des volontaires de phototype II, puis la proportion a augmenté pendant la période d'administration pour atteindre 85 % (11/13) à j14 (Tableau 1). Chez les neuf volontaires de phototype III,

14 jours d'administration ont été nécessaires pour constater une augmentation significative de la DEM : +17 % à j14 ($p = 0,011$). Cette augmentation a été rapportée chez 78 % (7/9) des volontaires de phototype III (Tableau 1).

Aucun événement indésirable n'a été rapporté au cours de l'étude.

Discussion

Dans notre étude, la prise quotidienne par voie orale d'une association de *Porphyra umbilicalis*, de *Polypodium leucotomos* et de vitamines C et E a induit une augmentation de la DEM chez des volontaires sains de phototypes II et III, de 10 % après sept jours d'administration, et cet effet a été quasi doublé après 14 jours (augmentation de la DEM de 19 %). L'effet a été observé plus rapidement — dès le troisième jour d'administration — chez les individus de phototype II, plus sensibles au soleil que les individus de phototype III.

Les ingrédients présents dans l'association testée n'avaient, à notre connaissance, jamais fait l'objet d'une évaluation clinique en étant associés, mais *Polypodium leucotomos* et les vitamines C et E ont montré individuellement des effets favorables sur la DEM [2,3,5,6,10-14]. Des sujets sains, des patients atteints d'un mélanome malin ou d'un syndrome du naevus atypique et des patients souffrant de psoriasis par exemple ont été moins sensibles aux UV ou à la photothérapie après l'administration de *Polypodium leucotomos* par voie orale [2,5]. Dans une étude récente conduite chez dix volontaires sains de phototypes II et III [10], l'administration quotidienne par voie orale de 480 mg de *Polypodium leucotomos* pendant 15 jours a induit une augmentation significative de la DEM de 20 %, similaire à celle

Tableau 1 Augmentation de la DEM chez des volontaires sains de phototypes II et III après administration pendant 14 jours d'une association de *Porphyra umbilicalis*, de *Polypodium leucotomos* et de vitamines C et E.

	DEM moy \pm SEM (mJ/cm ²)	Variation versus j0		p	Volontaires avec une augmentation significative de la DEM (%)
		Moy \pm SEM (mJ/cm ²)	% sur la moyenne		
Phototype II (n = 13)					
J14	17,02 \pm 0,86	+2,93 \pm 0,59	21	< 0,001	85
J7	15,59 \pm 0,74	+1,49 \pm 0,30	11	< 0,001	69
J3	15,10 \pm 0,75	+1,0 \pm 0,32	7	0,009	46
J0	14,10 \pm 0,57	NA	NA	NA	NA
Phototype III (n = 9)					
J14	26,49 \pm 2,31	+3,81 \pm 1,17	17	0,011	78
J7	24,91 \pm 2,11	+2,23 \pm 1,13	10	0,084	56
J3	22,95 \pm 1,84	+0,27 \pm 1,09	1	0,811	22
J0	22,68 \pm 1,99	NA	NA	NA	NA

NA : non applicable ; seuil de significativité : $p < 0,05$.

observée dans notre étude réalisée avec une dose moindre (300 mg), mais associée à d'autres composés. L'effet des vitamines C et E sur la DEM a été évalué au cours de plusieurs études cliniques dont les résultats n'ont pas toujours été concordants [6,11-14]. Néanmoins, les résultats de quelques études sont en faveur d'un effet sur la DEM plus important lorsque les deux vitamines sont associées [6,11,12], avec une limite cependant : les doses administrées dans ces études étaient bien supérieures aux doses administrées dans notre étude et aux valeurs nutritionnelles de référence. À notre connaissance, aucune donnée clinique n'a été publiée sur *Porphyra umbilicalis*, en particulier, sur un éventuel effet sur la DEM.

L'augmentation de la DEM observée dans notre étude est similaire à celle précédemment observée dans d'autres études pour des durées d'administration courtes [10,12]. La photoprotection, en termes d'indice de protection (calculé à partir de la DEM), délivrée par un produit systémique, est de manière générale toujours plus faible que celle d'un produit topique [15]. Néanmoins, la photoprotection par voie orale peut être considérée comme complémentaire de la photoprotection topique, l'une ne devant pas exclure l'autre, notamment parce que nous sommes principalement exposés aux UV par inadvertance, c'est-à-dire lorsque aucune protection topique n'est utilisée [15]. En outre, les données disponibles sur les ingrédients de l'association testée montrent qu'ils présentent différentes propriétés d'intérêt en termes de photoprotection. L'extrait de *Porphyra umbilicalis* (Porphyral HSP[®]) présent dans l'association à l'étude contient plusieurs composés actifs intéressants (données internes non publiées) : le floridoside, un ose de réserve qui aurait un effet anti-inflammatoire [16] ; la taurine qui a des effets antioxydant et anti-inflammatoire [17] ; et des acides aminés de type mycosporine (shinorine et porphyra 334) qui absorbent les UV [3,18,19] et ont des effets antioxydant, anti-inflammatoire [20] et anti-âge cutané [21]. Porphyral HSP[®] a la capacité de stimuler l'expression de protéines de choc thermique uniquement en situation de stress, comme une exposition aux UV [4]. Il a également été montré in vitro que Porphyral HSP[®] a des propriétés antioxydantes et protectrices vis-à-vis de l'ADN lors d'une exposition aux UV [4]. Dans une étude récente réalisée chez la souris [3], l'application cutanée pendant cinq jours d'un produit contenant 5 % d'un autre extrait de *Porphyra umbilicalis* a diminué le risque de coup de soleil ainsi que l'expression de marqueurs de l'apoptose (p53 et caspase-3) dans la peau.

Également, il a été montré que *Polypodium leucotomos* possédait des propriétés immunomodulatrices, anti-inflammatoires et antioxydantes [2,5]. L'effet photoprotecteur de *Polypodium leucotomos* serait lié à sa teneur en polyphénols (benzoates et cinnamates) [10]. Enfin, en plus de ses propriétés antioxydantes, la vitamine C est notam-

ment un cofacteur essentiel de la synthèse de collagène et peut atténuer la pigmentation en inhibant la tyrosinase [22]. Il serait intéressant d'évaluer les effets de l'association sur d'autres paramètres que la DEM, de même que ses effets sur l'aspect de la peau (épaisseur, rugosité et hydratation, par exemple).

Conclusion

Les effets observés sur la DEM dans notre étude suggèrent que l'association de *Porphyra umbilicalis*, de *Polypodium leucotomos* et de vitamines C et E testée pourrait renforcer les capacités de photoprotection chez un individu se protégeant déjà par voie externe.

Liens d'intérêts : A.G., C.B. et I.G. sont respectivement, responsable scientifique, rédactrice scientifique et médicale, et chef de projets Recherche au sein du laboratoire PiLeJe. H.B. et K.A., chefs de projet chez Pharmascan, ont réalisé l'étude pour le laboratoire PiLeJe.

Références

1. Skotarczak K, Osmola-Mankowska A, Lodyga M, et al (2015) Photoprotection: facts and controversies. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 19:98-112
2. Jansen R, Wang SQ, Burnett M, et al (2013) Photoprotection: part I. Photoprotection by naturally occurring, physical, and systemic agents. *J Am Acad Dermatol* 69:853.e1-12
3. Mercurio DG, Wagemaker TA, Alves VM, et al (2015) In vivo photoprotective effects of cosmetic formulations containing UV filters, vitamins, *Ginkgo biloba* and red algae extracts. *J Photochem Photobiol B* 153:121-6
4. Leclerc C, Paul F, Breese P, et al (2009) Produit contenant un extrait d'algue rouge du genre *Porphyra* et ses utilisations pour protéger les cellules. Europe patent EP 1443898B1
5. Palomino OM (2015) Current knowledge in *Polypodium leucotomos* effect on skin protection. *Arch Dermatol Res* 307:199-209
6. Mireles-Rocha H, Galindo I, Huerta M, et al (2002) UVB photoprotection with antioxidants: effects of oral therapy with D-alpha-tocopherol and ascorbic acid on the minimal erythema dose. *Acta Derm Venereol* 82:21-4
7. Podda M, Traber MG, Weber C, et al (1998) UV-irradiation depletes antioxidants and causes oxidative damage in a model of human skin. *Free Radic Biol Med* 24:55-65
8. Fitzpatrick TB (1988) The validity and practicality of sun-reactive skin types I through VI. *Arch Dermatol* 124:869-71
9. Règlement (UE) n° 1169/2011 du Parlement européen et du Conseil du 25 octobre 2011 concernant l'information des consommateurs sur les denrées alimentaires. *Journal officiel de l'Union européenne* 22.11.2011 L 304/61. <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:304:0018:0063:FR:PDF>. Dernier accès 10 février 2016
10. Calzavara-Pinton P, Rossi M, Zanca A, et al (2016) Oral *Polypodium leucotomos* increases the anti-inflammatory and melanogenic responses of the skin to different modalities of sun exposures: a pilot study. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 32:22-7

11. Fuchs J, Kern H (1998) Modulation of UV-light-induced skin inflammation by D-alpha-tocopherol and L-ascorbic acid: a clinical study using solar simulated radiation. *Free Radic Biol Med* 25:1006–12
12. Eberlein-Konig B, Placzek M, Przybilla B (1998) Protective effect against sunburn of combined systemic ascorbic acid (vitamin C) and D-alpha-tocopherol (vitamin E). *J Am Acad Dermatol* 38:45–8
13. McArdle F, Rhodes LE, Parslew R, et al (2002) UVR-induced oxidative stress in human skin in vivo: effects of oral vitamin C supplementation. *Free Radic Biol Med* 33:1355–62
14. McArdle F, Rhodes LE, Parslew RA, et al (2004) Effects of oral vitamin E and beta-carotene supplementation on ultraviolet radiation-induced oxidative stress in human skin. *Am J Clin Nutr* 80:1270–5
15. Stahl W, Sies H (2012) Beta-carotene and other carotenoids in protection from sunlight. *Am J Clin Nutr* 96:1179S–84S
16. Kim M, Li YX, Dewapriya P, et al (2013) Floridoside suppresses pro-inflammatory responses by blocking MAPK signaling in activated microglia. *BMB Rep* 46:398–403
17. Schuller-Levis GB, Park E (2003) Taurine: new implications for an old amino acid. *FEMS Microbiol Lett* 226:195–202
18. Mushir S, Fatma S (2011) Ultraviolet radiation-absorbing mycosporine-like amino acids in *Cyanobacterium Aulosira fertilissima*: environmental perspective and characterization. *Curr Res J Biol Sci* 3:165–71
19. Pallela R, Na-Young Y, Kim SK (2010) Anti-photoaging and photoprotective compounds derived from marine organisms. *Mar Drugs* 8:1189–202
20. Ryu J, Kwon MJ, Nam TJ (2015) Nrf2 and NF-κB signaling pathways contribute to porphyra-334-mediated inhibition of UVA-induced inflammation in skin fibroblasts. *Mar Drugs* 13:4721–32
21. Ryu J, Park SJ, Kim IH, et al (2014) Protective effect of porphyra-334 on UVA-induced photoaging in human skin fibroblasts. *Int J Mol Med* 34:796–803
22. Wang SQ, Balagula Y, Osterwalder U (2010) Photoprotection: a review of the current and future technologies. *Dermatol Ther* 23:31–47