

Maisons-Alfort, le 28 avril 2010

AVIS

de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif aux risques liés à la consommation de corossol et de ses préparations

LE DIRECTEUR GÉNÉRAL

1. RAPPEL DE LA SAISINE

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 2 juin 2008 par la Direction générale de la santé d'une demande d'appui scientifique et technique relative au risque lié à la consommation de corossol (*Annona muricata* L.) et de ses préparations.

2. METHODE D'EXPERTISE

L'expertise collective a été réalisée par le Comité d'experts spécialisés (CES) « Nutrition humaine » réuni le 23 avril 2009, le 28 mai 2009, le 25 juin 2009 et le 9 juillet 2009, les éléments d'éclairage suivants peuvent être dégagés.

3. ARGUMENTAIRE

L'argumentaire de l'Afssa est fondé sur l'avis du Comité d'experts spécialisé « Nutrition humaine » dont les éléments sont présentés ci-dessous :

Contexte

Depuis 1999, sur la base d'observations menées au CHU de Pointe-à-Pitre, un lien entre la consommation de certaines plantes tropicales et la surreprésentation de syndromes parkinsoniens atypiques a été suggéré. Le CHU de Pointe-à-Pitre a observé une fréquence de l'ordre de 70 % de syndromes parkinsoniens atypiques en Guadeloupe contre 30 % pour la maladie de Parkinson, alors que ce rapport est inversé en Europe.

Le CHU de Pointe-à-Pitre a étudié plus particulièrement l'hypothèse de l'implication de la consommation d'Annonaceae dans cette pathologie et notamment la consommation de nectar, jus et infusions de corossol (*Annona muricata* L.).

L'Afssa, dans le contexte d'une approche concertée avec l'Afssaps, suggérait alors de conduire des études chez l'animal, avec diverses préparations traditionnelles de *Annona muricata* L.

Cette demande d'appui scientifique et technique repose notamment sur les travaux et publications de l'équipe du CHU de Pointe-à-Pitre et sur une thèse de Pharmacie (Champy, 2004b) étudiant les neurotoxines d'*Annona muricata* L. et leurs possibles implications dans la survenue des syndromes parkinsoniens atypiques en Guadeloupe. Trois périodes successives peuvent être distinguées dans le recueil et le traitement des informations :

- entre 1995 et 2001 : observations de cas cliniques en Guadeloupe et premières hypothèses proposées par l'équipe du CHU de Pointe-à-Pitre ;
- entre 2001 et 2005 : étude phytochimique et toxicologique de *Annona muricata* et poursuite des études épidémiologiques ;

- entre 2005 et 2009 : étude des mécanismes d'action de l'annonacine et implication possible de ce composé dans les syndromes parkinsoniens atypiques.

Mise en évidence d'un lien potentiel entre syndromes parkinsoniens atypiques et consommations d'annonacées

En 1999, une publication de Caparros-Lefebvre et collaborateurs a évoqué l'association de la consommation de plantes tropicales en Guadeloupe à une fréquence anormalement élevée de syndromes parkinsoniens atypiques. Sur l'ensemble des 87 cas observés dans cette publication, 65 patients présentaient ce type de syndrome.

Caparros-Lefebvre et son équipe (1999) ont noté que la majorité (94 %) des patients souffrant de PSP, 100% de ceux présentant d'autres syndromes parkinsoniens atypiques, 60% des témoins (personnes atteintes de symptômes bénins sans troubles neuro-dégénératifs) et ceux atteints de la maladie de Parkinson avaient l'habitude de consommer des fruits d'Annonaceae. Les auteurs suggéraient alors le rôle possible des Annonaceae dans ces dégénérescences. Les Annonaceae sont des plantes à alcaloïdes isoquinoléiques, utilisées dans les Caraïbes dans l'alimentation et en médecine traditionnelle comme par exemple:

- *Asimina triloba* (L.) Dunal (asiminier ou « pawpaw »);
- *Annona squamosa* L. ou attier ou pomme cannelle : les infusions de feuilles sont consommées comme purgatif et réputées aphrodisiaques;
- *Annona muricata* L. corossolier : consommé sous forme de fruit et/ou de tisanes de feuilles considérées sédatives, somnifères et relaxantes.

A l'appui de cette hypothèse, Lannuzel et ses collaborateurs (2001) ont montré que les alcaloïdes isoquinoléiques de *Annona muricata* L., peuvent diffuser passivement dans le milieu intracellulaire et sont des inhibiteurs du transporteur de la dopamine.

En l'absence de données précises sur les habitudes de consommation des patients atteints de syndromes parkinsoniens, l'AFSSA considère que la responsabilité d'autres causes, aussi bien environnementales que génétiques, ne peut être exclue (Angibaud et al. 2004, Caparros et al. 2006, Aubeneau et al. 2008).

Données botaniques relatives à *Annona muricata* L.

Le corossol, fruit du corossolier *Annona muricata*, présente une peau vert sombre hérissée d'épines souples. L'intérieur du péricarpe, granuleux et de couleur crème, se sépare en carpelles (fruit pseudosyncarpique) avec une chair blanche riche en sucs. Un fruit peut contenir jusqu'à 200 graines (une graine par carpelle). La pulpe du fruit, peu fibreuse, peut être consommée crue ; elle peut être pressée pour en extraire un jus ou être incorporée à des sorbets. Cette pulpe peut aussi être fermentée aux Antilles, donnant une boisson rappelant le cidre.

Si plusieurs Annonaceae ont des utilisations en médecine traditionnelle, d'autres sont connues pour être toxiques et sont parfois utilisées comme insecticides naturels et ichtyotoxiques. Il est rapporté en médecine traditionnelle des utilisations de tisanes de feuilles de corossolier à des fins sédatives et antidiarrhéiques et des utilisations de graines à des fins pédiculicides et insecticides. Comme pour la plupart des Annonaceae, on trouve des alcaloïdes isoquinoléiques dans la plupart des organes de *Annona muricata* (feuilles, écorce, racines et à un moindre degré dans le fruit et les graines).

Caractéristiques chimiques et effets biologiques de différentes substances présentes dans *Annona muricata* L.

Des études phytochimiques et toxicologiques (Champy et al. 2004a, Champy, 2004b) confirment la présence d'alcaloïdes et d'acétogénines dans *Annona muricata* L.

1- Les alcaloïdes isoquinoléiques

Les estimations quantitatives et qualitatives ont montré que : (i) la teneur en alcaloïdes de la pulpe du fruit peut atteindre 0,1% ; (ii) celle du nectar est infime (15 ppm) ; (iii) les alcaloïdes présents dans les feuilles passent à 90% dans les préparations traditionnelles ; (iiii) la réticuline est la plus abondante.

Etant donné que certaines isoquinoléines sont des inhibiteurs du complexe I de la chaîne respiratoire mitochondriale et de l' α -cétoglutarate deshydrogénase, ainsi que des perturbateurs du métabolisme et du transporteur de la dopamine. Des études *in vitro* ont appuyé cette hypothèse en montrant notamment que les alcaloïdes isoquinoléiques de *Annona muricata* L., pouvaient diffuser passivement dans le milieu intracellulaire et étaient des inhibiteurs du transporteur de la dopamine (Lannuzel et al., 2001).

Les alcaloïdes isoquinoléiques extraits des feuilles sont toxiques (apoptose) pour les cellules PC12, modèles de neurones catécholaminergiques, et inhibent la respiration mitochondriale (Champy, 2004b).

Si la cytotoxicité des alcaloïdes isoquinoléiques a été démontrée *in vitro*, les études de toxicité des alcaloïdes isoquinoléiques *in vivo* fournissent des résultats contradictoires. Le mode d'administration le plus souvent employé, à savoir des injections sous-cutanées ou intrapéritonéales, n'est pas le plus pertinent pour tester l'hypothèse d'une toxicité des alcaloïdes d'Annonaceae dans ses usages traditionnels et alimentaires (Champy, 2004b).

L'Afssa estime que ces modèles, très ciblés, ne peuvent refléter les conditions d'exposition de la population par voie orale

2- Les acétogénines

Ce sont des composés lipophiles à longues chaînes qui dérivent d'acides gras (polyacétates issus de la voie des acétates d'où cette appellation « acétogénines »). Ce sont des métabolites secondaires, caractéristiques des Annonaceae, découverts initialement dans les graines dont certaines sont connues depuis longtemps comme insecticides ou antiparasitaires. Ces composés ont la propriété d'inhiber le complexe I de la chaîne respiratoire mitochondriale (NADH-ubiquinone oxydoréductase). A ce jour, 400 acétogénines sont répertoriées et plus d'une centaine d'acétogénines d'*A. muricata* sont connues (57 dans les graines, 34 dans les feuilles et 28 dans les racines). L'annonacine est relativement abondante dans les graines et les racines, à hauteur de 72 % du *totum* des acétogénines.

Une première étude (Lannuzel et al. 2003) a été réalisée sur des embryons de rat Wistar dont les neurones mésencéphaliques ont été isolés et mis en culture. Il a été montré une inhibition spécifique de l'activité du complexe I mitochondrial pour une concentration de 100 nM d'annonacine. La CI_{50} est estimée à environ 30 nM. Une atteinte des neurones dopaminergiques est visible pour des concentrations supérieures à 20 nM. Une comparaison sur la toxicité neuronale est réalisée avec 2 témoins positifs : la roténone¹ et le MPTP². Cette mesure d'activité cytotoxique à 24h a révélé que l'annonacine est deux fois plus toxique que la roténone (CI_{50} de 18 nM contre 34 nM) et 100 fois plus que le MPP⁺, métabolite du MPTP. En 2007, des travaux plus spécifiques ont été réalisés *in vitro/vivo* (Escobar-Khondiker, 2007). Il a été montré que l'annonacine induit la mort cellulaire des neurones du striatum ainsi qu'une augmentation et une redistribution de la protéine tau pour des concentrations comprises entre 25 et 100 nM. Cette redistribution de la protéine tau résulte de l'inhibition du complexe I mitochondrial. Des effets similaires sur la protéine tau peuvent être assimilés aux observations

¹ insecticide d'origine végétal

² Le 1-méthyl-4-phénylpyridinium est utilisée comme substance de référence pour induire pharmacologiquement une pathologie de type maladie de Parkinson chez l'animal.

faites après examens anatomo-pathologiques de sujets guadeloupéens décédés de syndromes parkinsoniens atypiques (Caparros-Lefebvre et al. 2002). Il est également observé une fragmentation des microtubules qui jouent un rôle dans le transport intracellulaire des vésicules de dopamine.

L’Afssa estime que ces données in vitro confirment le mécanisme d’action de l’annonacine mais estime que ces modèles, très ciblés, qui ne peuvent pas être extrapolés aux conditions d’exposition de la population.

Différentes études *in vivo* chez l’animal ont envisagé la toxicité neurologique de l’annonacine. Le passage de la barrière intestinale par les acétogénines (lipophiles) avait déjà été démontré (Duret, 1997). Des essais d’intoxication sub-chronique sur 28 jours (injections chez le rat, dans la veine fémorale, d’annonacine à des doses de 1,26 et 7,6 mg/kg/j), ont été réalisés afin de vérifier à la fois le passage de la barrière encéphalique et ses effets (Champy et al. 2004 ; Champy, 2004b). Le comportement, la masse corporelle, la locomotion spontanée, l’instabilité posturale, l’adaptation des membres antérieurs à une translation forcée ainsi que l’apparence des différents organes (cœur, poumons, rate, reins...) n’ont pas été altérés. Les principales observations portent sur une pénétration et une accumulation d’annonacine dans le parenchyme, une baisse très significative d’ATP au niveau du cortex cérébral, une inhibition de l’activité du complexe I de même intensité (50%) que celle exercée par la roténone avec diminution de la phosphorylation oxydative. Une dégénérescence neuronale des aires dopaminergiques du mésencéphale est également observée. D’autres régions cérébrales sont modérément touchées : une perte de neurones au niveau de la zone striatale et nigrée, une vacuolisation cytoplasmique et neuronique, une perte des neurones dopaminergiques, une réduction du nombre des neurones dopaminergiques du striatum, ainsi qu’une vacuolisation cytoplasmique des interneurons cholinergiques ont été observées (Champy, 2004b).

L’Afssa considère que ces résultats expérimentaux mettent en évidence une neurotoxicité de l’annonacine in vivo.

Cependant, les résultats de l’étude d’intoxication sub-chronique à l’annonacine sur modèle animal peuvent difficilement être extrapolés à l’homme : la voie d’administration choisie (intraveineuse) diffère de la voie d’exposition humaine et les données de cinétique (biodisponibilité, métabolisme de la molécule) sont absentes.

D’autre part, l’Afssa considère que l’absence de mise en évidence chez l’animal d’un effet-dose et de définition d’une dose sans effet rend très difficile l’interprétation de cette neurotoxicité.

Données de consommation

D’après les estimations quantitatives, un consommateur de tisanes, à raison d’une tasse par jour (2 mg/tasse), peut ingérer 700 mg d’alcaloïdes totaux en un an, ce qui représente un apport de 10 mg/kg/an. Cet apport cumulé d’alcaloïdes totaux (10 mg/kg/an) peut également être atteint par un consommateur de nectar, à raison de 1 litre par semaine (Champy, 2004b).

En ce qui concerne l’annonacine, sa concentration dans le nectar commercial est de l’ordre de 100 mg/litre. Il a été montré que les acétogénines des feuilles passent dans une infusion, sans altération, à raison de 0,14 mg par tasse pour les feuilles froissées (rendement d’extraction d’environ 15%) et 0,4 mg/tasse pour les feuilles broyées (rendement d’extraction d’environ 50 %).

En 2007, un questionnaire d’enquête alimentaire *a posteriori*, concernant la consommation cumulée de *Annona muricata* L. (fruits et infusions de feuilles) pendant les 10 années précédentes a été soumis à 69 sujets malades ainsi qu’à 88 sujets non malades (Lannuzel et

al. 2007). Les consommateurs ont été classés en deux groupes : consommateurs occasionnels (consommation annuelle inférieure à 10 fruits) et forts consommateurs (consommation annuelle supérieure ou égale à 10 fruits).

Dans cette publication, les auteurs ont estimé qu'un fruit de taille moyenne ou un verre de jus de fruits apporte 15 mg d'annonacine et une tasse d'infusion 0,14 mg. La consommation déclarée a été traduite en apport d'annonacine pour une masse corporelle de 70 kg et extrapolée selon l'ancienneté de l'habitude de consommation³. Les apports cumulés, sur toute la vie écoulée, ont été estimés par les auteurs à 150 g d'annonacine chez des sujets atteints de syndromes parkinsoniens atypiques contre 20-30 g chez des sujets atteints de maladie de Parkinson ou chez les témoins sains.

Concernant les apports alimentaires en annonacine présentés ici, l'Afssa considère que leur estimation mériterait, pour en déduire les effets chez l'homme, d'être précisée par des enquêtes rigoureuses de consommation, tenant compte des teneurs présentes dans les différentes parties du végétal et dans les préparations consommées.

Éléments nécessaires à prendre en compte pour envisager des recommandations nutritionnelles

Afin de pouvoir procéder à une évaluation plus précise des risques liés à la consommation de ce type de végétal qu'encourt la population, les informations suivantes s'avèreraient nécessaires :

- une évaluation précise des teneurs en annonacine et des dérivés présents dans les végétaux concernés ainsi que des données pertinentes sur le niveau de leur consommation par la population ;
- des données de toxicité complémentaires sur l'annonacine, notamment une étude à long terme (13 semaines par voie orale).

4. CONCLUSION

Un lien entre la consommation des Annonaceae et la surreprésentation de syndromes parkinsoniens atypiques en Guadeloupe a été suggéré par l'équipe du CHU de Pointe-à-Pitre. Des études sur modèles animaux et cellulaires ont mis en évidence une neurotoxicité avérée de l'annonacine (acétogénine), et une cytotoxicité des alcaloïdes isoquinoléiques présents dans le corossol (*Annona muricata* L.).

Cependant, à ce jour, sur la base des données expérimentales disponibles, il n'est pas possible d'affirmer que les cas de syndromes parkinsoniens atypiques observés en Guadeloupe sont liés à la consommation d'Annonaceae telles que *Annona muricata* L.

Dans l'état actuel des connaissances, il n'est donc pas possible de proposer des recommandations quantitatives précises de consommation du corossol dans la population, mais les préparations à base de corossol devraient faire l'objet d'une attention particulière au regard du risque d'extraction de composés toxiques.

Compte tenu du risque neurologique potentiel de ces composés végétaux chez l'Homme, l'Afssa estime que des recherches sur l'annonacine sont nécessaires pour mieux caractériser le risque lié à la consommation de corossol, portant notamment sur :

³ Le recueil des données s'est effectué pendant des périodes de 10 années successives. Il est à noter que les auteurs ont considéré que la consommation de 2 fruits/an pendant 10 ans, la consommation de 1 fruit/ an pendant 20 ans ou la consommation de 4 fruits/an pendant 5 ans sont toutes équivalentes à la consommation de 20 « fruits-année ».

- les propriétés cinétiques de la molécule (biodisponibilité orale, métabolisme...);
- sa toxicité à long terme afin de pouvoir évaluer le risque de l'exposition du consommateur à ces composés végétaux;
- une quantification précise des apports quotidiens en annonacine.

L'Afssa recommande de poursuivre la surveillance épidémiologique des syndromes parkinsoniens atypiques en Guadeloupe, déjà engagée, et de mettre en place, dès à présent, un suivi de toxicovigilance relatif à la consommation de corossol et d'extraits de corossol.

Le directeur général

Marc MORTUREUX

MOTS-CLES

MALADIE DE PARKINSON, *ANNONA MURICATA* L., COROSSOL, ANNONACINE, PLANTES

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Angibaud G, Gaultier C, Rascol O (2004) Atypical parkinsonism and Annonaceae consumption in New Caledonia, *Mov Disord* 19, 603-4.
- Aubeneau L, Bohu PA, Hannequin D, Maltête D (2008) Syndrome parkinsonien chronique chez un homme exposé pendant 10 ans à des pulvérisation d'insecticides, *Rev Neurol*, 164, 374-6.
- Caparros-Lefebvre D, Elbaz A (1999) Possible relation of atypical parkinsonism in the French West Indies with consumption of tropical plants: a case-control study. Caribbean Parkinsonism Study Group, *Lancet*, 354, 281-6.
- Caparros-Lefebvre D, Sergeant N, Lees A, Camuzat A, Daniel S, Lannuzel A, Brice A, Tolosa E, Delacourte A, Duyckaerts C (2002) Guadeloupean parkinsonism: a cluster of progressive supranuclear palsy-like tauopathy, *Brain*, 125, 801-11.

- Caparros-Lefebvre D, Steele J, Kotake Y, Ohta S (2006) Geographic isolates of atypical Parkinsonism and tauopathy in the tropics: possible synergy of neurotoxins, *Mov Disord.*, 21, 1769-71.
- Champy P, Höglinger G U, Féger J, Gleye C, Hocquemiler R, Laurens A, Guérineau V, Laprèvote O, Medja F, Lombès A, Michel P, Lannuzel A, Hirsch E C, Ruberg M (2004a) Annonacin, a lipophilic inhibitor of mitochondrial complex I, induces nigral and striatal neurodegeneration in rats: possible relevance for atypical parkinsonism in Guadeloupe, *J Neurochem*, 88, 63-9.
- Champy P (2004b) "Etude chimique et biologique des neurotoxines d'*Annona muricata* L.(Annonaceae) pouvant être impliquées dans la survenue des parkinsonismes atypiques en Guadeloupe", Thèse de Doctorat de l'Université Paris XI, 30 novembre 2004.
- Duret P (1997) Etude chimique et biologique des acétogénines des racines d'*Annona cherimolla* et des graines d'*Annona atemoya* (Annonaceae), Thèse de Doctorat de l'Université Paris XI, Chatenay Malabry, 1997.
- Escobar-Khondiker M, Höllerhage M, Muriel M P, Champy P, Bach A, Depienne C, Respondek G, Yamada E S, Lannuzel A, Yagi A, Yagi T, Hirsch E C, Oertel W, Jacob R, Michel P P, Ruberg M, Höglinger G U (2007) Annonacin, a Natural Mitochondrial complex I Inhibitor, Causes Tau Pathology in cultured Neurons, *The J Neurosci*, 27, 7827-37.
- Hirano A, Malamud N, Kurland LT (1961) Parkinsonism-dementia complex, an endemic disease on the island of Guam. II : pathological features, *Brain*, 84, 662-79.
- Lannuzel A, Michel PP, Caparros-Lefebvre D, Abaul J, Hocquemiller R, Ruberg M (2001) Toxicity of Annonaceae for dopaminergic neurons : potential role in atypical parkinsonism in Guadeloupe, *Mov Disord*, 15 (Suppl.3), 28-35.
- Lannuzel A, Michel PP, Höglinger G U, Champy P, Jousset A, Medja F, Lombès A, Darios F, Gleye C, Laurens A, Hocquemiler R, Hirsch E C, Ruberg M (2003) The mitochondrial complex I inhibitor annonacin is toxic to mesencephalic dopaminergic neurons by impairment of energy metabolism, *Neurosciences*, 121, 287-96.
- Lannuzel A, Höglinger G U, Verhaeghe S, Gire L, Belson S, Escobar-Khondiker M, Poullain P, Oertel W H, Hirsch E C, Dubois B, Ruberg M (2007) Atypical parkinsonism in Guadeloupe: a common risk factor for two closely related phenotypes? *Brain*, 130, 816-27.