

Nutrition & Cancer

Tour d'horizon sur les cancérogènes alimentaires

5 et 8 octobre 2012

M2R Elaboration de la Qualité & de la Sécurité des Aliments ENSAT

M2P Qualité des Produits & Sécurité Alimentaire ENSAT

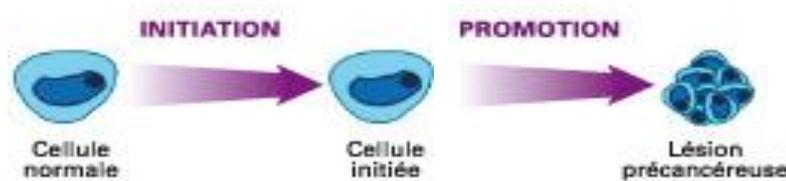
M2P Biologie intégrative & Toxicologie UPS

Océane MARTIN

Thèse CIFRE ADIV (Pôle Nutrition & Santé)/INRA (E9 : Prévention de la Cancérogenèse par l'Alimentation)

Introduction

- **Définition du cancer** : Maladie caractérisée par une croissance cellulaire incontrôlée résultant de changement des informations génétiques des cellules (WCRF).
- **Etapes de la cancérogenèse (vue simplifiée)** :



Etape d'initiation :

Produit électrophile = Lésion à l'ADN
Lésion non réparée + multiplication = Mutation
Activation de proto-oncogènes
Inactivation de gènes suppresseurs de tumeurs

Etape de promotion :

Stimulation de la prolifération cellulaire
Inhibition d'apoptose
Ajout de mutations

Etape de progression :

Instabilité génétique = mutations + prolifération cellulaire

Introduction

- 5 à 10 % des cancers sont héréditaires



Le reste? \Rightarrow Facteurs environnementaux et style de vie!

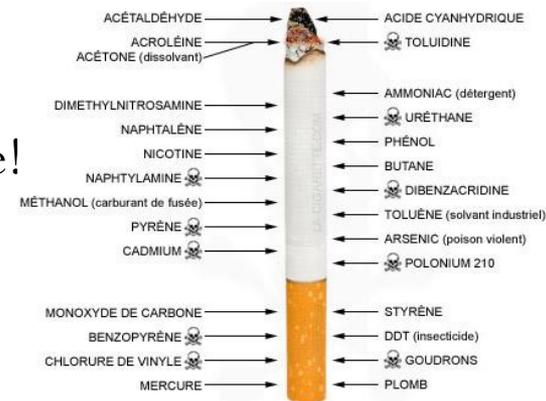


30-35% = Alimentation

25-30% = Tabac

4-6% = Alcool

0,5% = Pollution



Qui sont les agents cancérogènes que l'on peut retrouver dans l'alimentation?

Comment agissent-ils?

Comment les étudier?

Comment les classer?

PARTIE 1

Comment savoir si en mangeant cet aliment, j'ai plus de risque de développer un cancer plus tard ?



Avec les études scientifiques !



Une 1^{ère} piste : Les études épidémiologiques

- Observations de populations ou d'individus
 - Etudes de corrélation

Exemple : Ce sont dans les pays où l'on consomme le plus de viandes rouges qu'il y a le plus de cancer colorectal.

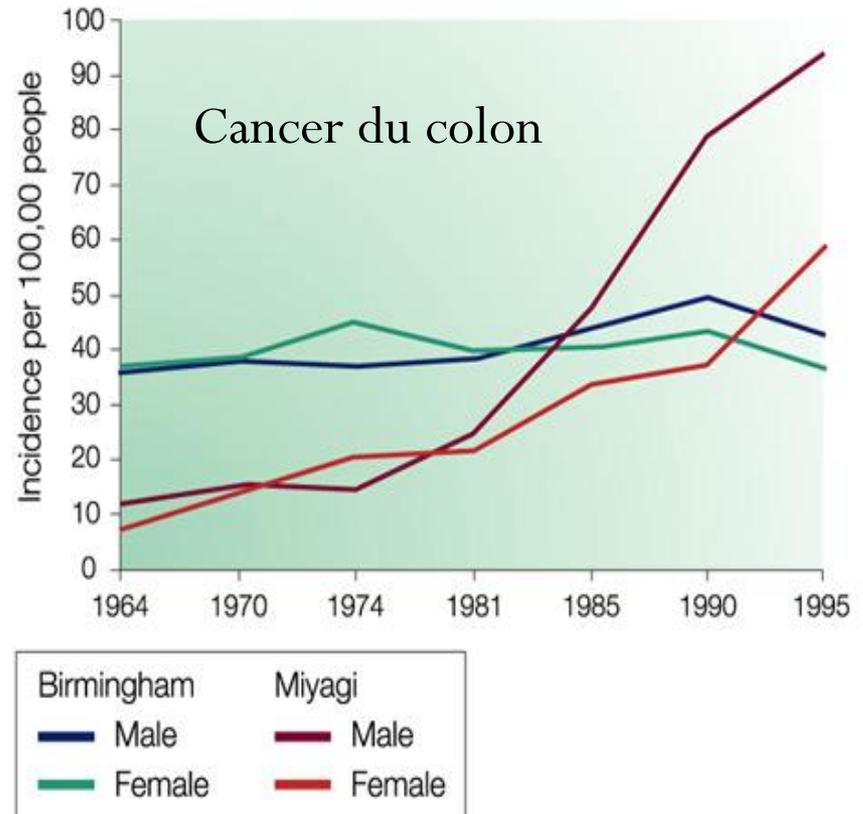
CE N'EST PAS UNE PREUVE !

- Etudes d'évolution dans le temps

On étudie l'évolution d'un type de maladie dans un pays, **au cours du temps** pour essayer de « deviner » ce qui a changé = Indices

CE N'EST PAS UNE PREUVE !

a Incidence rates of colorectal cancer



Etudes épidémiologiques

- Observations de populations ou d'individus
 - Etudes cas-témoins (rétrospectives)

On va "au lit du **malade**" → On l'interroge sur son mode de vie **passé** : **CAS**

De même pour des non-malades similaires : **TEMOINS**

On compare les réponses des "cas" à celles des "témoins "



Avantage :

- Rapide (tous les cas et les témoins "sont déjà là": suffit de les interroger)

Inconvénients :

- On se souvient mal (biais de mémorisation)
 - temps et maladie = fausse réponse*
- Pas de témoin idéal (Hôpital? Maison? Rue?)
- Facteurs de confusion possibles



"Well, if I recall correctly, on April 17, 1991, at 6:37 p.m. Eastern Time, I ate 6 ounces of grilled salmon steak, farm raised, 2/3 cup of rice, 1/2 cup steamed broccoli, 1 cup of mixed salad greens with 2 tablespoons of French dressing, a 12 ounce glass of unsweetened iced tea and 3 scoops of Tin Roof ice cream for dessert."

Etudes épidémiologiques

- **Observations de populations ou d'individus**
 - Etudes de cohortes (prospectives)

On choisit une grande cohorte bien-portante → On l'interroge sur son mode de vie actuel

Des années plus tard, on compare les réponses des "malades" à celles de tous les "autres"

On calcule le risque relatif (RR) et son intervalle de confiance (IC 95%)

[Si différent de 1 : significatif]

Avantages :

- Pas de biais de mémorisation (Questions sur le présent, à des gens non-malades)
- Témoins idéaux: au départ tous les mêmes

Inconvénients:

- Très long (attendre que gens "tombent malades")
- Très cher (faut énormément de gens)
- Et toujours: facteurs de confusions possibles



Etudes d'intervention chez l'homme

- **Les essais cliniques :**

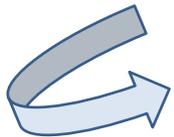
Modèle de protocole : Essais cliniques des médicaments

Traitement choisi par tirage au sort (*randomized trial*)

Traitement comparé à un traitement placebo

Etude en double aveugle (*double blinded*) : Ni le volontaire, ni le médecin ne sait si c'est un traitement ou un placebo qui est pris

Les essais clinique randomisés en double aveugle contre placebo sont les **seules vraies preuves** qu'un aliment change une maladie



Mais **Un** essai d'**Un** nutriment ou un aliment coûte entre 10 et 70 millions de dollars, et prend entre 3 et 10 ans. On comprend qu'il y en ai très peu !

& On ne peut tester que des nutriments ou aliments protecteurs!

Alors comment savoir ?

Etudes *in vivo* chez les animaux

- 3 grands types de modèles animaux

- Tumeur humaine greffée (Souris Nude)



Tester *in vivo* l'effet des anticancéreux cytotoxiques

- Tumeur spontanée (Souris mutées ou transgéniques)



Souris Min : Mutation du gène *Apc*

- Tumeur induite chimiquement ou physiquement (Chez tout animal)

Exemples cancérigènes colons :

Hydrazines (noix de cycas, champignons)

DMH (DiMéthylHydrazine), AOM, MAM

Nitrosamines (charcuteries, bières, endogène)

MNU (MéthylNitrosoUrée), MNNG, ...

Amines hétérocycliques (viande grillée)

PhIP, IQ, MeIQ



Intérêt du modèle animal

- **Screening vite et beaucoup :**

- Identifier des cancérigènes
- Tester procédés & aliments nouveaux (protecteurs ou promoteurs)
- Explorer des variants de molécules connues
- Tester protocoles et mixtures variés dans modèles précliniques



- **Explorer des marqueurs :**

Identifier & valider des marqueurs biologiques utilisables ensuite chez l'homme



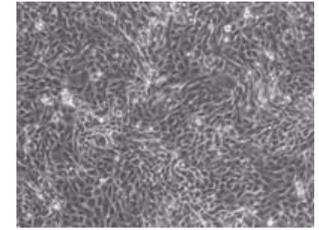
- **Comprendre les mécanismes :**

Exemple : Souris KO pour un gène, Microflore spécifique



Inconvénient majeur = La distance à l'homme

Etudes *in vitro* & *ex-vivo*



- Cellules humaines ou animales

- Stades terminaux de la cancérogenèse :

Exemples : HT29; Caco2

Adaptées pour traitements

- Stades précoces :

Exemples : Apc min/+; Apc +/+

Adaptées pour études de prévention

- Tissus isolés, Gènes isolés...

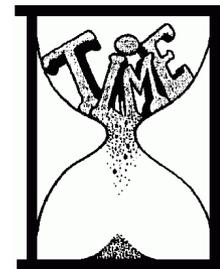


- Intérêts :

Modèle simplifié, Simple d'utilisation

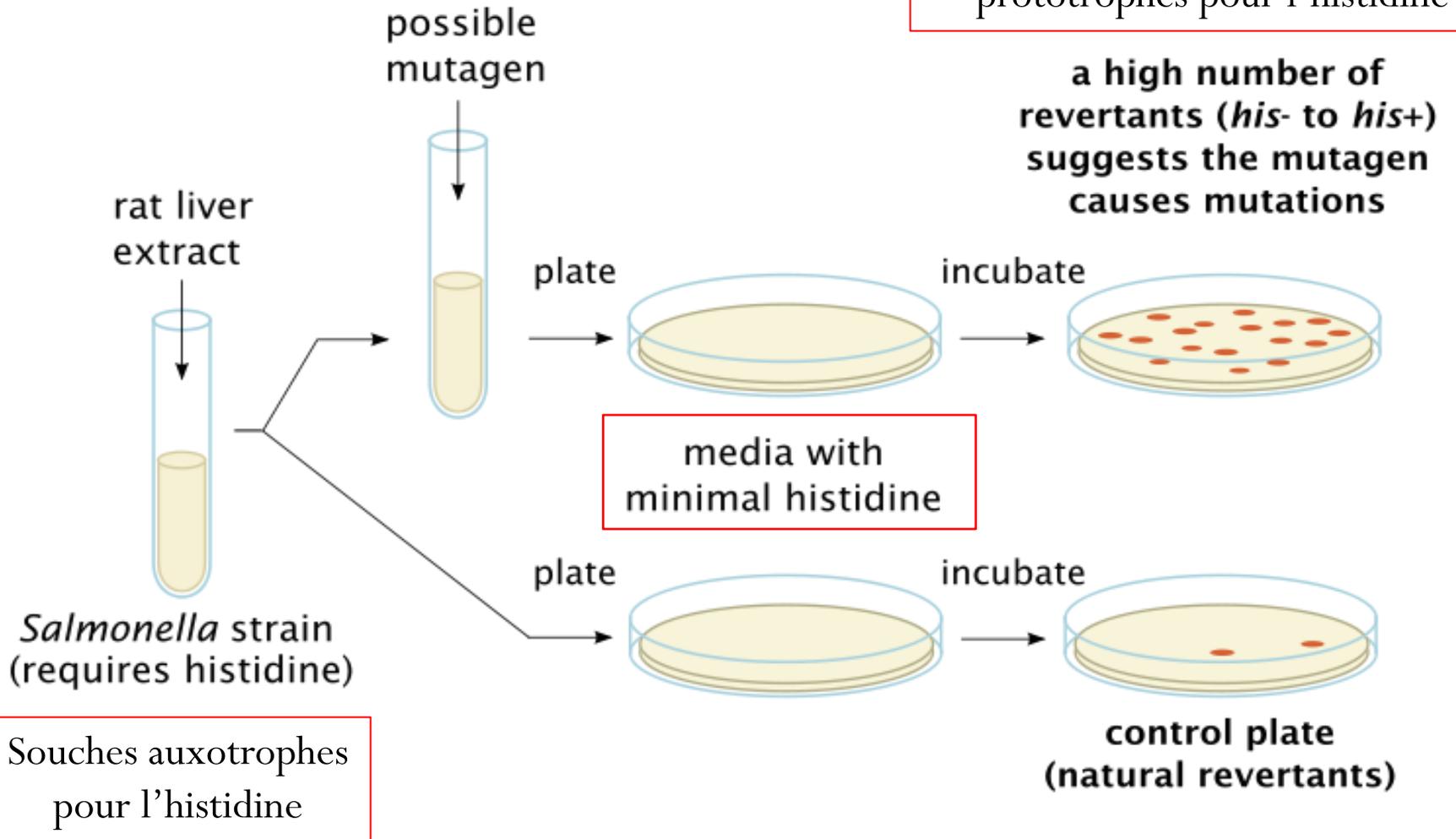
Rapide

Peu cher



Test de Ames (inventé par Bruce Ames)

- Ce produit est-il mutagène?



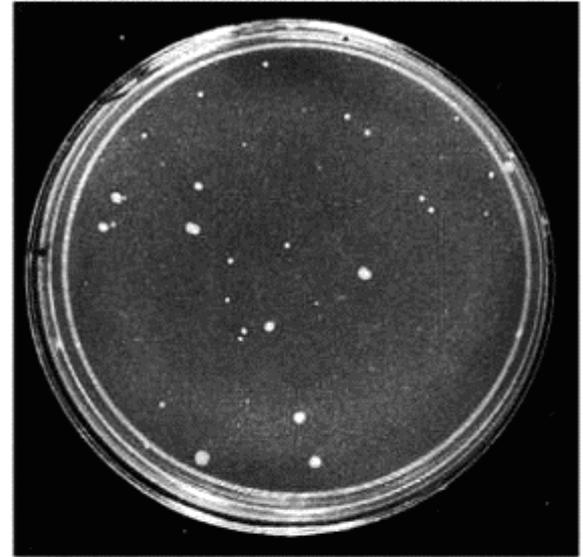
Test de Ames (inventé par Bruce Ames)

- **Résultats :**

Boite témoin

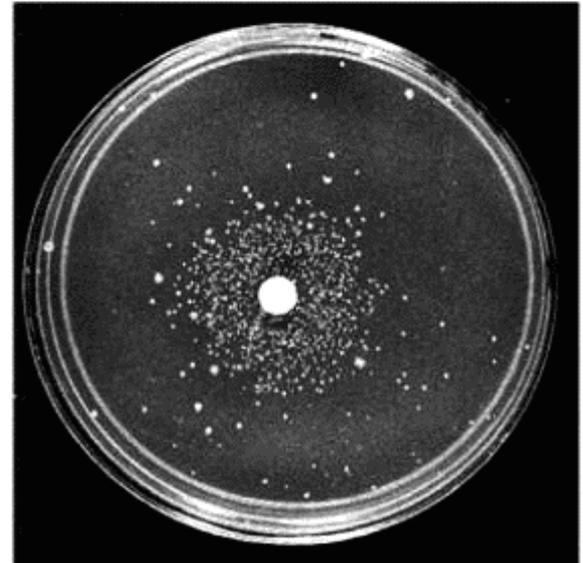
(milieu sans histidine, pas de mutagène ajouté):

Quelques colonies de révertants spontanés His⁺



Boite test

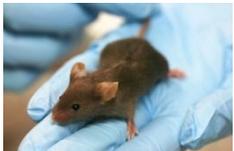
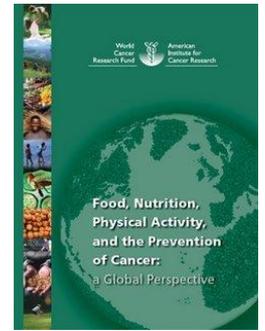
Le produit ajouté sur le disque buvard augmente le nombre de révertants His⁺ : c'est donc un **Mutagène**



Plusieurs outils possibles

- **Classement du WCRF (Hiérarchie de robustesse) :**

- 1) Etudes *in vivo* chez des volontaires : essais cliniques & épidémiologie (MA -> cohortes -> cas/témoins)
- 2) Etudes *in vivo* sur animaux transgéniques modèles de la cancérogenèse de l'homme
- 3) Etudes *in vivo* sur rongeurs modèles
- 4) Etudes *in vitro/ex vivo*



Toutes ces études sont complémentaires !



PARTIE 2

Quels sont les cancérigènes alimentaires démontrés scientifiquement ?



2 types d'agents cancérigènes :

- Agents génotoxiques (micro-constituants)
- Facteurs non génotoxiques (macro-constituants)

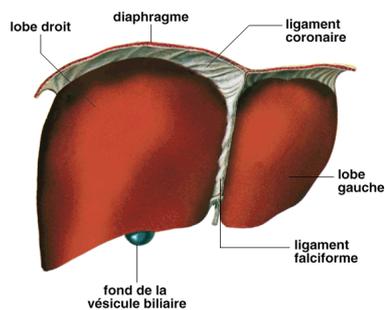
Les agents génotoxiques

- Comment agissent-ils ?



Pro-cancérogène

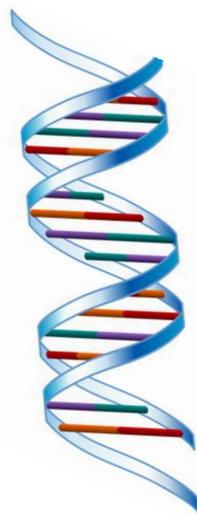
Absorption



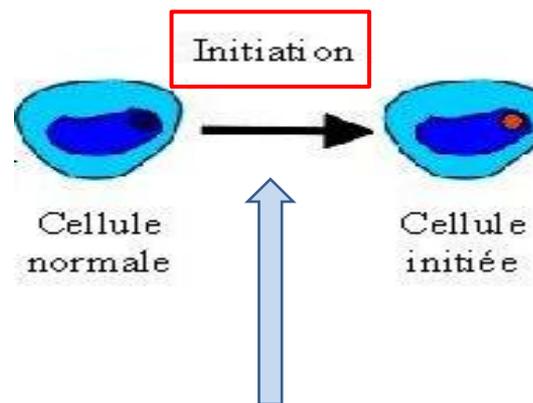
Activation métabolique

par cytochromes P450 (enz. Phase I)

Cancérogène génotoxique



Propriétés électrophiles
puissantes



Mutations ADN

Activation de proto-oncogènes
ou
Inactivation gènes suppresseur
de tumeurs

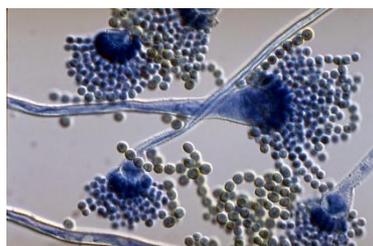
Echec des systèmes de
réparation de l'ADN

Dommages à l'ADN

Altération de structures
Formation d'adduits

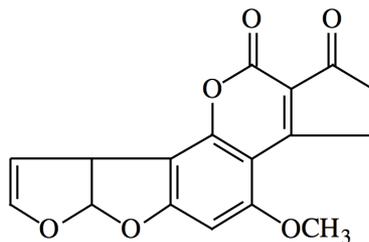
Les agents génotoxiques

- Qui sont-ils ? (1/5)
 - Aflatoxine B1

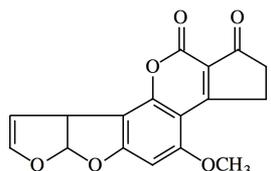


Aspergillus flavus

Mycotoxine

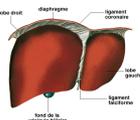


Aflatoxine B1



Aflatoxine B1

Activation métabolique
par cytochrome P450



Adduits - G - C

Transversion en
T - A

Cancer du foie

Prolifération de
cellules anormales

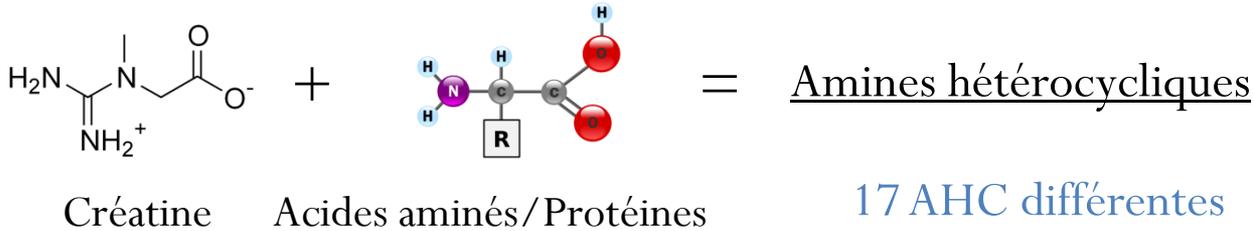
Inactivation de p53

Gène suppresseur de tumeur qui
contrôle la croissance cellulaire

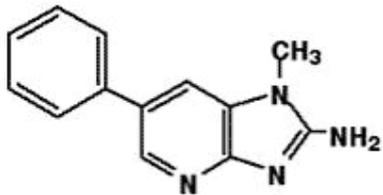
Les agents génotoxiques

- Qui sont-ils ? (2/5)

- Amines hétérocycliques (AHC)

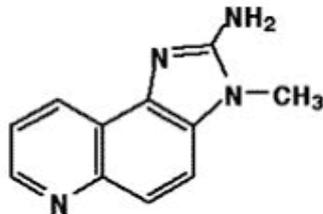


Sources :



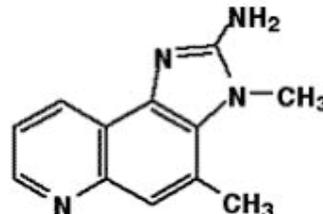
PhIP

2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo-[4,5-b]pyridine



IQ

2-amino-3-methylimidazo-[4,5-f]quinoline



MelQ

2-amino-3,4-dimethylimidazo-[4,5-f]quinoline

Cancers du sein, du colon et de la prostate



Bioactivation

N-hydroxylation par CYP1A2

Estérification →

Ions nitrénium - G →

Altérations de l'ADN



Les agents génotoxiques

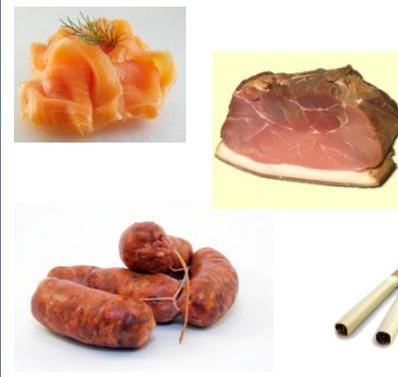
- **Qui sont-ils ? (3/5)**

- Hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP)

Formés durant la combustion incomplète de la matière organique

➡ Fumage des viandes ou poissons

Sources :



Animaux de laboratoire :

Tumeurs du tractus digestif supérieur

Tumeurs du poumons

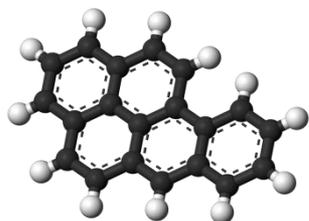
Homme :

Lien entre consommation d'HAP et cancer du colon

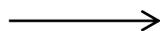


Inactivation de p53

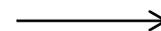
Gène suppresseur de tumeur qui contrôle la croissance cellulaire



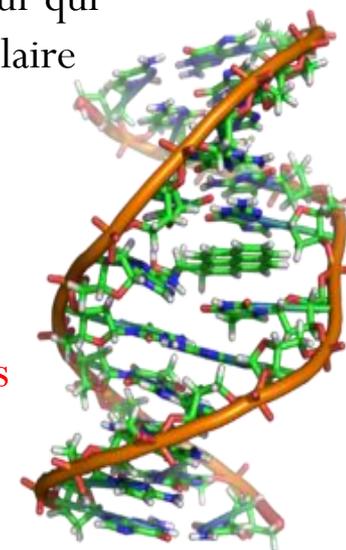
Benzo(a)pyrène



Bioactivation par
CYP1A et CYP1B



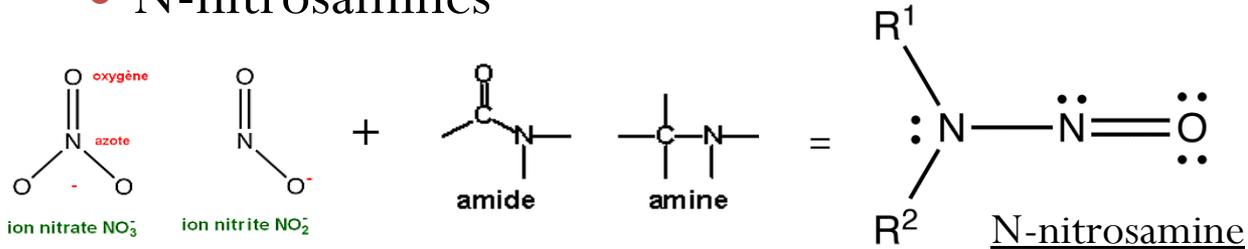
Adduits
B(a)P



Les agents génotoxiques

- Qui sont-ils ? (4/5)

- N-nitrosamines

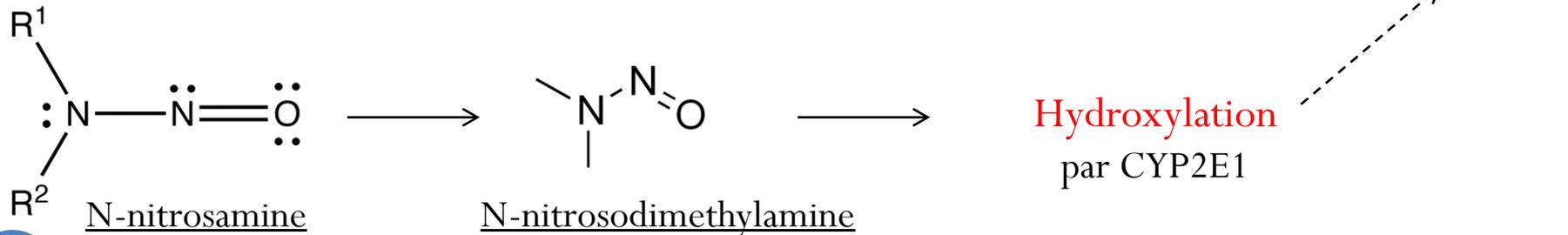


Sources :



Sels nitrités utilisés en Industrie AgroAlimentaire (IAA) pour préservation et coloration

Cancers du poumon, foie, reins, glandes mammaires, estomac, pancréas, vessie ou œsophage



Les agents génotoxiques

- Qui sont-ils ? (5/5)
 - Alcool

Sources :

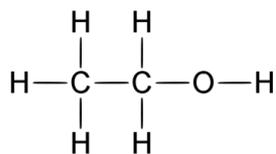


Données épidémiologiques :

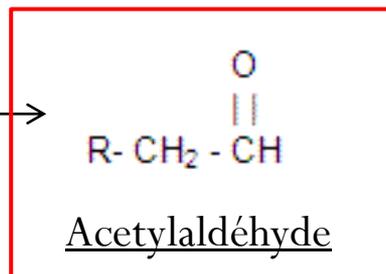
Consommation chronique d'alcool & cancers du tube digestif supérieur

Animaux de laboratoire :

L'éthanol n'est pas cancérigène mais c'est un co-cancérogène et/ou un promoteur de tumeur



Ethanol



Mécanismes :

- ✓ Liaison à l'ADN et aux protéines
- ✓ Interférence avec les systèmes de réparation de l'ADN (inhibition des O6 methyl-guanyltransferase : réparation d'adduits)
- ✓ Induction Cyt P450 (augmentation radicaux libres, activation des composés pro-cancérogènes)

Les facteurs non-génotoxiques

- **Comment agissent-ils ?**

Pas d'activation métabolique

Pas de modification structurale de l'ADN

Action indirecte

- Quelques mécanismes :

- Modifications morphopathologiques

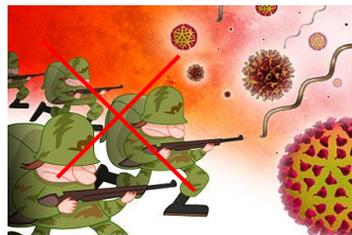
Exemple : inflammation, hyperplasie

- Modification de l'expression des gènes

- Modifications biochimiques

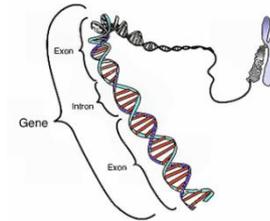
Exemple : hyperméthylation de régions promotrices (Epigénétique)

- Modifications immunitaires

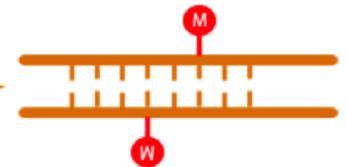


Action en tant que promoteur

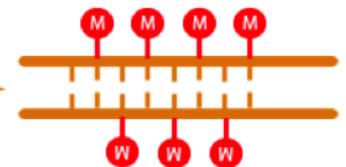
Modulation de la croissance et de la mort cellulaire



normal cell:



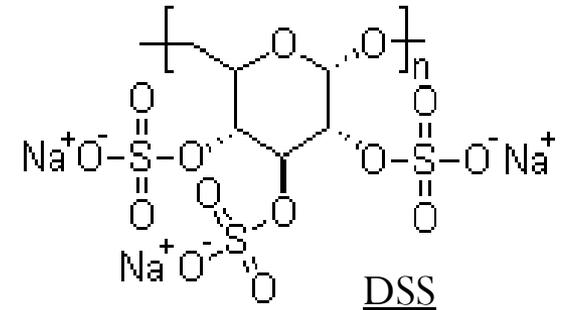
cancer cell:



Les agents non-génotoxiques expérimentaux

- **Définition :**

Substances non mutagènes qui lorsqu'elles sont administrées à des rats favorisent l'apparition de cancers



- **Dextran Sodium Sulfate**

Inflammation du tube digestif → Tumeurs colorectales

Modèle des atteintes inflammatoires humaines du tube digestif

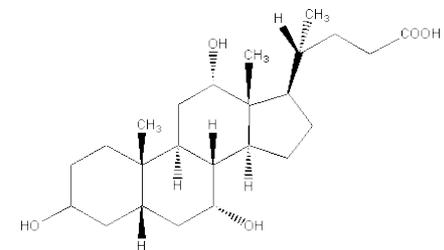
- **Carraghénanes (E407) dégradés**

Polysaccharides d'algues utilisés comme agents épaississant et stabilisateur en IAA



- **Acides biliaires**

Métabolisés par le microbiote -> Acides biliaires secondaires promoteurs



Acide cholique

Les facteurs non-génotoxiques

- **Qui sont-ils? (1/3)**

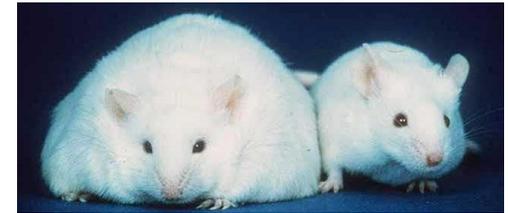
- Excès calorique = Manger trop, trop gras, trop sucré!

Exemple expérimental (Roe, 1991) :

Rats (30 mois) nourris *ad-libitum* vs restreints de 20%

Résultats : 30% cancers vs 15%

Une restriction alimentaire de 20% réduit de moitié l'incidence des cancers spontanée ou induits chimiquement.



American Cancer Society : 14 % des cancers mortels chez l'homme et 20% des cancers mortels chez la femme = Excès de poids!

Associations positives entre obésité & cancers œsophage, colorectal, foie, vésicule biliaire, pancréas, reins, estomac, prostate, sein, utérus, col de l'utérus et ovaires.



Les facteurs non-génotoxiques

• Qui sont-ils? (2/3)

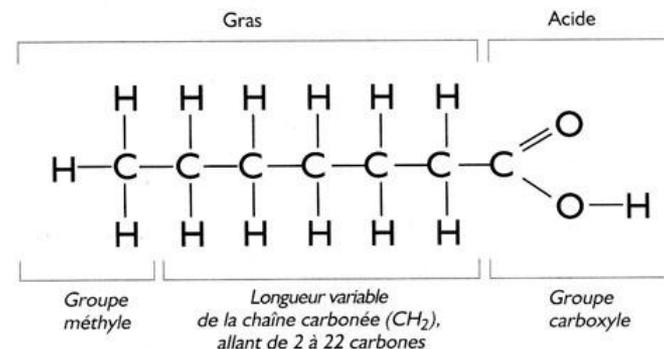
- Acides gras

Exemple expérimental (Reddy et al., 1977) :

Rats induits nourris avec 5% vs 20% de graisse de bœuf

Résultats : 7/30 cancers du colon vs 22/30

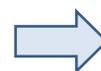
Une diminution de l'apport en acide gras réduit par 3 l'incidence des cancers du colon induits chimiquement.



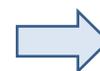
Digestion
Absorption
Métabolisme
Excrétion



Métabolisme oxydatif



Radicaux libres



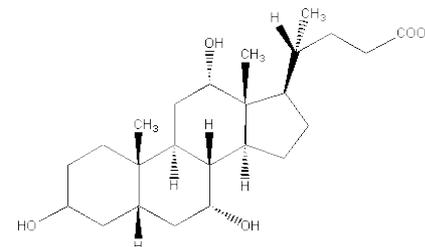
Dommmages à l'ADN



Favorise l'obésité

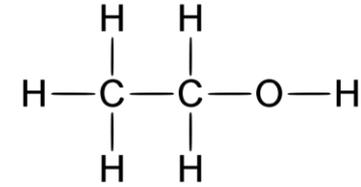


Favorise formation d'acides biliaires



Acide cholique

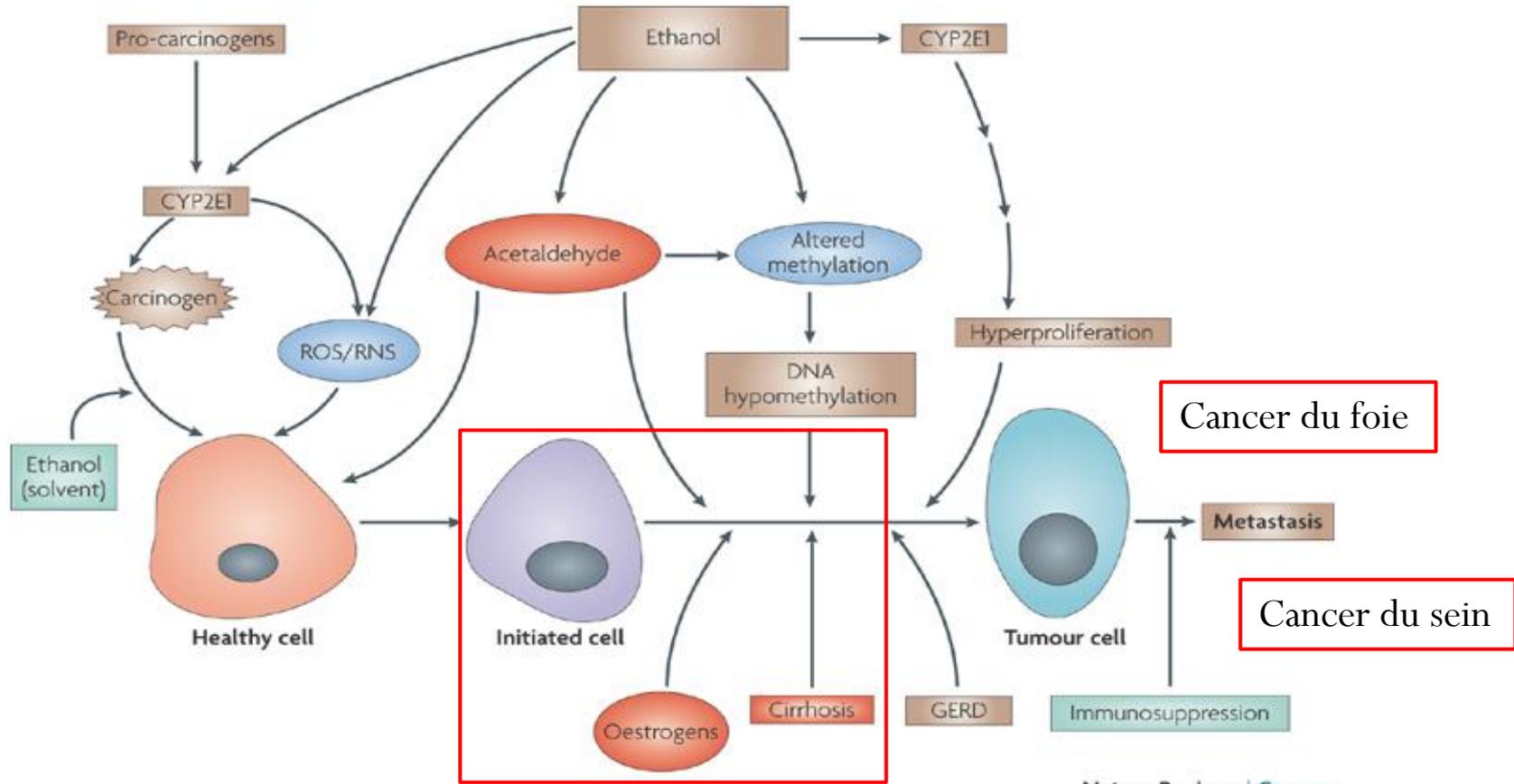
Les facteurs non-génotoxiques



Ethanol

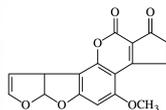
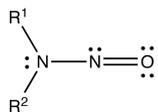
- Qui sont-ils? (3/3)

- Alcool



PARTIE 3

Comment relativiser l'effet des différents cancérigènes?



A votre avis ?

Potentiel Cancérigène des Aliments

- Un exemple :

Bruce Ames & Lois Gold (Science 1992, La Recherche 1999)

- 1) Base de données de **tous les cancérigènes** (génotoxiques) **connus testés chez rats et souris** <http://potency.berkeley.edu>
- 2) **Effet-Dose** TD_{50} : Tumor Dose 50% = dose journalière qui donne un cancer à 50% des rats (souris)
- 3) Comment extrapoler à l'Homme ces données "rongeurs"?
Rapport entre la **DOSE ingérée de chaque cancérigène** (dans l'aliment), et la dose cancérigène chez un rongeur (TD_{50})

HE/RP: Human Exposure / Rodent Potency

Potentiel Cancérigène des Aliments

	Relative Risk HE/RP	Daily Food intake g/day	Carcinogene intake/day	TD ₅₀ mg/kg/d rat-mice
+	4,7	Wine (250ml)	Alcohol 30ml	9000
	0,1	Mushroom (15g)	Hydrazines 10mg	20000
	0,1	Apple (230g)	Cafeic acid 25mg	300
	0,07	Mustard (5g)	Isothiocyanate 4,6mg	100
	0,03	Spices	Safrole 1.2mg	60
	0,03	Peanut butter (32g)	Aflatoxin 64ng	0,003
	0,006	Fried bacon (85g)	DiethylNitrosamine 85ng	0,02
	0,005	Coffee (4g sec)	Furfural 630µg	200
	0,002	AntiOxidant (<i>additive</i>)	BHA 700 µg	600
	0,001	Tap water (1l)	Chloroforme 83µg	90
	0,0003	Carbaryl (<i>pesticide</i>)	Carbaryl 2,6µg	14
	0,0001	Fried Salmon (85g)	MeIQx 111ng	2
	0,00008	DDE/DDT (<i>pesticide</i>)	DDE 659ng	12
	0,00006	Fried Hamburger (85g)	PhIP 176ng	4
-	0,000001	Lindane (<i>pesticide</i>)	Lindane 32ng	31

HE/RP: Human Exposure/Rodent Potency : TD₅₀: Tumor Dose 50%

Ranking possible carcinogenic hazards: rodent carcinogens in the American diet (heterocyclic amines in italics)

Possible hazard: HERP (%)	Daily human exposure	Human dose of rodent carcinogen	TD ₅₀ (mg/kg)	
			Rats	Mice
4.7	Wine (250 ml)	Ethyl alcohol, 30 ml	9110	(-)
0.3	Lettuce, 1/8 head (125 g)	Caffeic acid, 66.3 mg	284	(4970)
0.1	1 Mushroom (15 g)			
0.1	Basil (1 g of dried leaf)			
0.07	Mango, 1 whole (245 g; pitted)			
0.07	Brown mustard (5 g)			
0.06	Diet cola (12 oz; 354 ml)	Saccharin, 95 mg	2143	(-)
0.06	Parsnip, 1/4 (40 g)	8-Methoxypsoralen, 1.28 mg	32	(?)
0.03	Safrole: US avg from spices	Safrole, 1.2 mg	(436)	56.2
0.03	Peanut butter (32 g; 1 sandwich)	Aflatoxin, 64 ng	0.003	(+)
0.03	Comfrey herb tea (1.5 g)	Symphytine, 38 µg	1.91	(?)
0.006	Bacon, pan fried (85 g)	Diethylnitrosamine, 85 ng	0.02	(+)
0.005	Coffee, 1 cup (from 4 g)	Furfural, 630 µg	(679)	197
0.003	1 Mushroom (15 g)	Glutamyl <i>p</i> -hydrazino-benzoate, 630 µg	(?)	277
0.003	Bacon, pan fried (85 g)	<i>N</i> -nitrosopyrrolidine, 1.45 µg	(1.05)	0.679
0.002	Apple juice (6 oz; 177 ml)	UDMH, 5.89 µg (from Alar, 1988)	(-)	3.94
0.002	Bacon, pan fried (85 g)			
0.002	Coffee, 1 cup (from 4 g)			
0.002	Coffee, 1 cup (from 4 g)			
0.001	Tap water, 1 liter			
0.001	Heated sesame oil (15 g)	Sesamol, 1.13 mg	1540	(4490)
0.0005	1 Mushroom (15 g)	<i>p</i> -Hydrazinobenzoate, 165 µg	(?)	454 ^a
0.0003	Carbaryl: daily dietary avg	Carbaryl, 2.6 µg (1990)*	14.1	(-)
0.0002	Toxaphene: daily dietary avg	Toxaphene, 595 ng (1990)*	(-)	5.57
0.0001	Salmon steak, baked (3 oz; 85 g)	PhIP, 306 ng	4.29 ^a	(28.6) ^a
0.00008	Salmon steak, baked (3 oz; 85 g)	MeIQx, 111 ng	1.99	(24.3)
0.00008	DDE/DDT: daily dietary avg	DDE, 659 ng (1990)*	(-)	12.5
0.00006	Hamburger, pan fried (3 oz; 85 g)	PhIP, 176 ng	4.29 ^a	(28.6) ^a
0.00003	Whole wheat toast, 2 slices (45 g)	Hexachlorobenzene, 540 ng	(41.2)	22.1
0.00003	Hamburger, pan fried (3 oz; 85 g)			
0.00002	Dicofol: daily dietary avg			
0.00002	Cocoa (4 g)			
0.000005	Hamburger, pan fried (3 oz; 85 g)			
0.000001	Lindane: daily dietary avg	Lindane, 32 ng (1990)*	(-)	30.7
0.0000004	PCNB: daily dietary avg	PCNB (Quintozene), 19.2 ng (1990)*	(?)	71.1
0.0000001	Chlorobenzilate: daily dietary avg	Chlorobenzilate, 6.4 ng (1989)*	(-)	93.9
<0.00000001	Chlorothalonil: daily dietary avg	Chlorothalonil, <6.4 ng (1990)*	828	(-)
0.000000008	Folpet: daily dietary avg	Folpet, 12.8 ng (1990)*	(?)	2280
0.000000006	Captan: daily dietary avg	Captan, 11.5 ng (1990)*	2690	(2730)

1- En premier, les plus "risqués"
Cancérigènes naturels, alcool, plantes

2- Ensuite, moins "risqués"
Cancérigènes néoformés, cuisson viande

3- En dernier, pratiquement aucun risque
Cancérigènes contaminants, pesticides

Potentiel Cancérigène des Aliments

Un verre de **Vin**



Contient 13 g d'**Alcool**

6 700 **Steaks**
de bœuf grillés



Contiennent 1 mg **PhIP**
(très cancérigène, dans le "grillé")

25 million **Pommes**
traitées aux pesticides



Contiennent 3 g **Captan**
(pesticide dans la peau des pommes)



Conclusion

Les risques existent mais sont à relativiser!

La prévention est possible :

30 à 40% des cancers pourraient être prévenus par un mode de vie plus sain et un meilleur régime alimentaire.

