

Méta-analyse des effets de l'oligofructose et de l'inuline sur le risque de cancer colorectal dans deux modèles murins : rats traités par un carcinogène et souris Min

THESE

pour obtenir le grade de
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

DIPLOME D'ÉTAT

*présentée et soutenue publiquement en 2006
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

Johanne Mireille Odette Tournié
30 Janvier 1983, Evreux

Directeur de thèse : M. le Professeur Denis CORPET

JURY

PRESIDENT :

M. Roland BUGAT

Médecin oncologue à l'institut Claudius Regaud

ASSEESSEURS :

M. Denis CORPET
M. Fabrice PIERRE

Professeur à L'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE
Docteur des Universités, Chargé de Recherche à L'INRA

Méta-analyse des effets de l'oligofructose et de l'inuline sur le risque de cancer colorectal dans deux modèles murins : rats traités par un carcinogène et souris Min

THESE

pour obtenir le grade de
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

DIPLOME D'ÉTAT

*présentée et soutenue publiquement en 2006
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

Johanne Mireille Odette Tournié
30 Janvier 1983, Evreux

Directeur de thèse : M. le Professeur Denis CORPET

JURY

PRESIDENT :
M. Roland BUGAT

Médecin oncologue à l'institut Claudius Regaud

ASSEESSEURS :
M. Denis CORPET
M. Fabrice PIERRE

Professeur à L'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE
Docteur des Universités, Chargé de Recherche à L'INRA

MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE ET DE LA PÊCHE
ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

Directeur	M.	A. MILON
Directeurs honoraires	M.	G. VAN HAVERBEKE
	M.	P. DESNOYERS
Professeurs honoraires	M.	L. FALIU
	M.	C. LABIE
	M.	C. PAVAU
	M.	F. LESCURE
	M.	A. RICO
	M.	A. CAZIEUX
	Mme	V. BURGAT
	M.	J. CHANTAL
	M.	J.-F. GUELFY
	M.	M. EECKHOUTTE
	M.	D. GRIESS

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

- M. BRAUN Jean-Pierre, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
- M. DORCHIES Philippe, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. EUZEBY Jean, *Pathologie générale. Microbiologie, Immunologie*
- M. TOUTAIN Pierre-Louis, *Physiologie et Thérapeutique*

PROFESSEURS 1^{ère} CLASSE

- M. AUTEFAGE André, *Pathologie chirurgicale*
- M. BODIN ROZAT DE MANDRES NEGRE Guy, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
- M. CORPET Denis, *Science de l'Aliment et Technologies dans les industries agro-alimentaires*
- M. DELVERDIER Maxence, *Anatomie pathologique*
- M. ENJALBERT Francis, *Alimentation*
- M. FRANC Michel, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. MARTINEAU Guy-Pierre, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*
- M. PETIT Claude, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. REGNIER Alain, *Physiopathologie oculaire*
- M. SAUTET Jean, *Anatomie*
- M. SCHELCHER François, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*

PROFESSEURS 2^e CLASSE

- Mme BENARD Geneviève, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
- M. BERTHELOT Xavier, *Pathologie de la Reproduction*
- M. CONCORDET Didier, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
- M. DUCOS Alain, *Zootéchnie*
- M. DUCOS de LAHITTE Jacques, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
- Mme GAYRARD-TROY Véronique, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
- M. GUERRE Philippe, *Pharmacie et Toxicologie*
- Mme HAGEN-PICARD Nicole, *Pathologie de la Reproduction*
- Mme KOLF-CLAUW Martine, *Pharmacie - Toxicologie*
- M. LEFEBVRE Hervé, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. LIGNEREUX Yves, *Anatomie*
- M. PICAVET Dominique, *Pathologie infectieuse*
- M. SANS Pierre, *Productions animales*
- Mlle. TRUMEL Catherine, *Pathologie médicale des équidés et des carnivores domestiques*

INGENIEUR DE RECHERCHE

- M. TAMZALI Youssef, *Responsable Clinique équine*

PROFESSEURS CERTIFIÉS DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

- Mme MICHAUD Françoise, *Professeur d'Anglais*
- M. SEVERAC Benoît, *Professeur d'Anglais*

MAÎTRE DE CONFÉRENCES HORS CLASSE

- M. JOUGLAR Jean-Yves, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*

MAÎTRES DE CONFERENCES CLASSE NORMALE

- M. ASIMUS Erik, *Pathologie chirurgicale*
M. BAILLY Jean-Denis, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
Mme BENNIS-BRET, Lydie, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
M. BERGONIER Dominique, *Pathologie de la Reproduction*
M. BERTAGNOLI Stéphane, *Pathologie infectieuse*
Mme BOUCLAINVILLE –CAMUS, Christelle, *Biologie cellulaire et moléculaire*
Mlle BOULLIER Séverine, *Immunologie générale et médicale*
Mme BOURGES-ABELLA Nathalie, *Histologie, Anatomie pathologique*
M. BOUSQUET-MELOU Alain, *Physiologie et Thérapeutique*
M. BRUGERE Hubert, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
Mlle CADIERGUES Marie-Christine, *Dermatologie*
Mme DIQUELOU Armelle, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
M. DOSSIN Olivier, (DISPONIBILITE) *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
M. FOUCRAS Gilles, *Pathologie du bétail*
M. GUERIN Jean-Luc, *Elevage et Santé Avicoles et Cunicoles*
M. JACQUIET Philippe, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
M. JAEG Jean-Philippe, *Pharmacie et Toxicologie*
Mlle LACROUX Caroline, *Anatomie Pathologie, Histologie*
Mme LETRON –RAYMOND, Isabelle, *Anatomie pathologique*
M. LYAZRHI Faouzi, *Statistiques biologiques et Mathématiques*
M. MATHON Didier, *Pathologie chirurgicale*
M. MEYER Gilles, *Pathologie des ruminants*
Mme MEYNAUD-COLLARD Patricia, *Pathologie chirurgicale*
M. MOGICATO Giovanni, *Anatomie, Imagerie médicale*
M. MONNEREAU Laurent, *Anatomie, Embryologie*
Mme PRIYMENKO Nathalie, *Alimentation*
Mme TROEGELER –MEYNADIER, Annabelle, *Alimentation*
M. VERWAERDE Patrick, *Anesthésie, Réanimation*

MAÎTRES DE CONFERENCES CONTRACTUELS

- M. CASSARD Hervé, *Pathologie du bétail*
Mlle GOSSOT Pauline, *Pathologie Chirurgicale*
M. NOUVEL Laurent-Xavier, *Pathologie de la reproduction*
Mlle RATTEZ Elise, *Médecine*
M. REYNOLDS Brice, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*
M. VOLMER Romain, *Infectiologie*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

- Mlle BIBBAL Delphine, *H.I.D.A.O.A Sciences de l'Alimentation*
M. CONCHOU Fabrice, *Imagerie médicale*
M. CORBIERE Fabien, *Pathologie des ruminants*
Mlle PALIERNE Sophie, *Chirurgie des animaux de compagnie*
M. RABOISSON Didier, *Productions animales*
M. TREVENNEC Karen, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles et porcins*

Remerciements

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

Monsieur Le Professeur Roland BUGAT

Professeur des Universités

Praticien hospitalier

Cancérologie

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence du jury de thèse.
Hommages respectueux.

A NOTRE JURY DE THESE

Monsieur le Professeur Denis CORPET

Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Science de l'Aliment et technologies dans les industries agro-alimentaires

Qui nous a fait l'honneur de nous confier ce travail et de nous encadrer dans son élaboration.
Qu'il trouve ici l'expression de notre profond respect et de notre reconnaissance.

Monsieur le Docteur Fabrice PIERRE

Docteur des Universités

Chargé de Recherche INRA

Qui nous a fait l'honneur de participer à notre Jury de thèse.
Qu'il soit assuré de notre respectueuse considération et de nos sincères remerciements.

A ma maman, mes sœurs Anne-Lyse et Edwige, mon frère Jean. Merci pour vos encouragements et votre soutien tout au long de ce périple. Sans vous rien n'aurait été possible. Je pense à vous et je suis heureuse de voir que la dispersion géographique n'altère en rien les sentiments qui nous unissent.

A Cédric, mon compagnon dans le travail et surtout dans la vie. Merci de partager ma folle existence. Chaque jour passé en ta compagnie est un petit miracle pour moi.

A Sébastien. Avoir un ami comme toi est une chose rare et précieuse. Je garderai de ces années un peu difficiles (surtout pour les pigeons !) un joyeux souvenir grâce à tous ces bons moments.

A Delphine, Elodie, et toute la bande des joueurs. Vivement la prochaine partie !!

A Martin, qui est parti avant nous mais que je n'oublie pas.

A Loïc et Aurélien, dont les yeux ne tomberont sans doute jamais sur cette thèse ! Les aléas de la vie (et aussi les changements d'appartement et de numéros de téléphone) nous ont momentanément séparés mais j'espère bien renouer le contact avec vous ! Merci pour tous ces bons moments à la Résidence.

Table des matières

Introduction	13
Partie 1 : Cancer Colorectal, généralités.....	15
I) Les deux principaux syndromes héréditaires.....	15
II) Les voies du déterminisme génétique.....	17
III) Epidémiologie.....	23
IV) Prise en charge et traitement.....	26
Conclusion de la partie 1.....	29
Partie 2 : Inuline et oligofructose, classification et propriétés...31	
I) Les fibres alimentaires et leurs propriétés.....	31
II) Les oligosaccharides non digestibles : les NDO (Non Digestible Oligosaccharides.....	33
III) Les NDO et les probiotiques.....	37
Conclusion de la partie 2.....	39
Partie 3 : modèles animaux et biomarqueurs du cancer colorectal.....	41
I) Les modèles animaux.....	41
II) Les biomarqueurs de la cancérogenèse.....	42
Conclusion de la partie 3.....	48
Partie 4 : Méta-analyse des effets de l'inuline et de l'oligofructose sur la cancérogenèse, dans deux modèles murins.....	49
I) Objectifs et principes de la méta-analyse.....	49
II) Aspects statistiques de la méta-analyse.....	51
III) Hypothèses testées.....	54

IV) Réalisation de la méta-analyse.....	55
V) Résultats et Discussion.....	59
Conclusion de la partie 4.....	73
Conclusion générale.....	75

Introduction

En l'an 2000, le nombre de nouveaux cas de cancer colorectal diagnostiqués dans le monde a été estimé à plus de 940 000, près de 500 000 nouveaux cas chez les hommes et plus de 445 000 nouveaux cas chez les femmes (Boyle et Leon 2002 [1]). L'incidence globale, indépendamment de l'âge, est plus élevée chez les hommes que chez les femmes. Cette maladie est souvent perçue comme un phénomène lié au mode de vie occidental, mais en réalité plus d'un tiers des nouveaux cas sont décrits en dehors des pays industrialisés. Aux Etats-Unis, le cancer colorectal est la forme la plus fréquente de cancer chez les personnes âgées de plus de 75 ans ; le vieillissement de la population des pays industrialisés laisse présager d'une augmentation importante des cas de cancers colorectaux dans les années à venir (Boyle et Leon 2002 [1]). En 1999 en France, et chez les hommes, le cancer colorectal est le troisième cancer le plus meurtrier (environ 9 000 décès), après le cancer du poumon (plus de 20 000 décès) et le cancer de la prostate (près de 10 000 décès). Chez la femme, c'est le second (plus de 8 000 décès) après le cancer du sein (plus de 10 000 décès) (Hill et Doyon 2003 [2]).

Le traitement du cancer colorectal repose sur la résection chirurgicale de la tumeur primaire ainsi que des nœuds lymphatiques de la région. Cette chirurgie peut être associée à la chimiothérapie et à la radiothérapie (préopératoire et/ou postopératoire) selon le stade et la localisation des tumeurs (Patwardhan *et al.* 2006 [3]). Le pourcentage de guérison est variable chez les patients atteints de cancer colorectal, en fonction du stade de la maladie au moment du diagnostic. Les patients ayant des tumeurs colorectales de stade A sur l'échelle de Duke ont un taux de survie à cinq ans de 80% après résection chirurgicale. Pour les cancers plus avancés, quand la résection thérapeutique est possible, la survie des patients est de 45% pour les tumeurs au stade B (échelle de Duke) et tombe à 30% pour le stade C. L'un des axes les plus importants de la recherche est donc l'amélioration des techniques de diagnostic et d'évaluation des risques du cancer colorectal (Boyle et Leon 2002 [1]).

Cependant, une grande partie de ces décès sont susceptibles d'être évités : le cancer n'est pas une conséquence inéluctable du vieillissement. En effet de nombreuses preuves conduisent à penser que les principales causes du cancer sont environnementales, comme le souligne le récent rapport du WCRF (World Cancer Research Found) sur le sujet : « *Food, Nutrition, Physical Activity and the Prevention of Cancer: a Global Perspective* ». (World Cancer Research Fund / American Institute for Cancer Research. Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Cancer: a Global Perspective. Washington DC: AICR, 2007 [4]). Cette publication analyse la littérature scientifique concernant le régime alimentaire, l'activité physique et la prévention du cancer. Il s'agit d'interpréter et de rendre publiques les données actuelles concernant le sujet. Cet examen des données actuelles conduit le WCRF à formuler 8 recommandations pour la prévention et le contrôle du cancer : être aussi mince que possible en restant dans les valeurs normales de poids corporel, avoir une activité physique régulière, limiter la consommation des aliments riches en énergie et éviter les boissons sucrées, manger principalement des aliments d'origine végétale, limiter les apports en viande rouge et éviter les viandes transformées, limiter les boissons alcoolisées, limiter la consommation de sel et éviter les céréales et légumineuses moisies et enfin essayer d'assurer les besoins nutritionnels sans le secours des compléments alimentaires.

L'alimentation joue donc un rôle prépondérant dans la prévention du cancer colorectal. Il est peut-être possible d'aller plus loin et de penser que certains aliments « protègent » du cancer. Nous avons choisi de nous intéresser à des composés naturellement présents dans l'alimentation mais qui sont utilisés dans l'industrie alimentaire pour leurs capacités à donner un goût sucré aux aliments sans augmenter leur valeur énergétique. Il s'agit de l'inuline et de l'oligofructose, deux oligosaccharides qui sont également ajoutés pour augmenter les « qualités nutritionnelles » du produit, qui est alors dit « enrichi en fibres ».

Après une première partie abordant le déterminisme génétique, l'épidémiologie, la prise en charge et le traitement du cancer colorectal, nous étudierons les propriétés physico-chimiques de ces deux agents potentiellement protecteurs que sont l'inuline et l'oligofructose, ainsi que leur place dans l'alimentation. Nous décrirons dans une troisième partie les modèles animaux et les marqueurs biologiques qui permettent d'étudier les effets d'un agent sur le risque de cancer colorectal. Enfin dans la quatrième partie nous présenterons les principes de la méta-analyse, puis notre travail personnel: la méta-analyse des effets de l'inuline et de l'oligofructose sur la cancérogenèse dans le modèle animal et ses résultats, suivis d'une discussion.

Partie 1 : Cancer colorectal, généralités

I) Les deux principaux syndromes héréditaires

Des études épidémiologiques ont montré que environ 15% des cancers colorectaux étaient hérités génétiquement. (Cannon-Albright *et al.*, 1988 [5] ; Houlston *et al.*, 1992 [6]). Parmi ceux-ci deux formes familiales sont bien définies : la polypose adénomateuse familiale (FAP : Familial adenomatous polyposis) et le cancer colorectal héréditaire sans polypes (HNPCC : hereditary non polyposis colorectal cancer).

1) La HNPCC

Cette maladie représente de 2% à 4% des cancers colorectaux en occident (Lynch *et al.* 1996 [7]). Les patients présentent un cancer colorectal sans émergence préliminaire de polypes dans l'intestin.

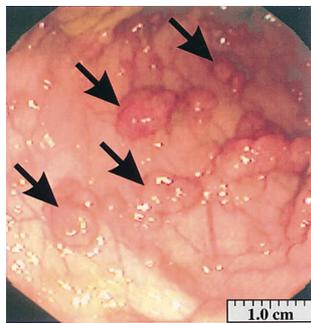
La nature héréditaire de la HNPCC est une découverte relativement récente. Elle est liée à un type particulier d'instabilité génétique, « l'instabilité des microsatellites ». Ces microsatellites sont des séquences de nucléotides répétés dispersées dans le génome de l'organisme. On parle d'instabilité de ces microsatellites lorsqu'il y a des variations importantes du nombre de répétitions des nucléotides entre les régions microsatellites des tumeurs et celle du génome initial (Worthley *et al.* 2007 [8]). Ce phénomène suggère une instabilité de la réplication ou de la réparation de séquences simples répétées dans l'ensemble du génome. Cette instabilité proviendrait de mutations (germinales dans le cas de la HNPCC) des « gènes de réparation » de l'Homme (Mismatch Repair genes: MMR genes). Le taux de mutations dans ces cellules type HNPCC ont un ordre de grandeur deux à trois fois plus élevé que dans une cellule normale (Kinzler et Vogelstein 1996 [9])

Il existe également des tumeurs colorectales sporadiques présentant une instabilité des microsatellites. Ces tumeurs représentent environ 13% des cancers colorectaux. Sans être héréditaires, certaines d'entre elles impliquent les mêmes « gènes de réparations » que la HNPCC. D'autres mettent en jeu des « gènes de réparation » rarement mutés chez les patients atteints de HNPCC, ou encore n'ont pas de mutation de « gènes de réparation » (Kinzler et Vogelstein 1996 [9]). Le mode de développement des cancers colorectaux par des mécanismes d'instabilité des satellites sera revu plus en détails dans une partie ultérieure (paragraphe II.2.)

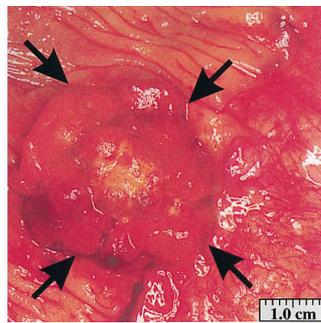
2) La FAP et le gène APC (Kinzler et Vogelstein 1996 [9])

La FAP est une maladie héréditaire, dominante, qui touche 1 personne sur 7000. La maladie est liée à la mutation d'un gène sur le chromosome 5, appelé « adenomatous polyposis coli gene » : gène APC. Cependant les personnes possédant un allèle muté du gène APC ne développent pas nécessairement un cancer colorectal : le nombre de tumeurs

colorectales semble être dépendant de la mutation somatique de l'allèle « sauvage » obtenu du parent non affecté. Les patients souffrant de ce syndrome développent des centaines de tumeurs colorectales bénignes (adénomes, ou polypes adénomateux) pendant la première moitié de leur vie. Une tumeur est peu dangereuse par elle-même, mais le grand nombre d'adénomes conduit à une importante chance de voir se développer une ou plusieurs tumeurs malignes (carcinomes). De plus, les patients atteints de FAP peuvent présenter d'autres troubles tels que lésions rétinienne, tumeurs cérébrales, ostéomes, tumeurs desmoïdes de la peau. Ces autres symptômes peuvent parfois être expliqués par les différentes mutations du même gène ; Cependant, des personnes ayant des mutations identiques du gène APC peuvent avoir des signes cliniques tout à fait différents. Par exemple, seule une petite partie des patients atteints de FAP développent une tumeur cérébrale, un hépatoblastome, ou un cancer de la thyroïde, bien que la mutation du gène APC prédispose à ces maladies (Giardiello *et al.*, 1993 [10]; Hamilton *et al.*, 1995 [11]).



FAP



HNPCC

Figure 1- Exemple de tumeurs colorectales apparaissant chez les patients souffrant de FAP et de HNPCC. A gauche, une petite portion du colon d'un patient atteint de FAP vue par colonoscopie, illustrant les multiples tumeurs bénignes (adénomes) caractéristiques (Flèches). A droite, une tumeur unique après résection chez un patient atteint de HNPCC (Kinzler et Vogelstein 1996 [8]).

La mutation germinale du gène APC est responsable du syndrome FAP, mais sa mutation intervient également dans la grande majorité des cancers colorectaux dits « somatiques » (c'est-à-dire non familiaux). La mutation intervient alors dans les cellules épithéliales du colon, ce qui provoque la synthèse de protéines APC tronquées comme chez les patients atteints de FAP. A l'inverse, environ 15% des cancers colorectaux synthétisent uniquement des protéines APC « entières », donc non tronquées via une mutation (Smith *et al.*, 1993 [12]). L'hypothèse a été émise que le gène APC pouvait constituer une sorte de « gardien » de la prolifération des cellules épithéliales du colon. Son inactivation conduirait à un déséquilibre permanent entre la division cellulaire et la mort cellulaire (Kinzler et Vogelstein 1996 [9])

Bien que ces deux syndromes ne décrivent qu'une partie des cas de cancer colorectal, leur étude a permis de rassembler des indices importants sur les mécanismes du développement de cette maladie. Nous allons maintenant nous intéresser à ces mécanismes.

II) Les voies du déterminisme génétique

Le développement de la plupart des cancers nécessite une instabilité du génome. Sans cette instabilité, l'acquisition des mutations cellulaires surviendrait trop lentement pour qu'un cancer se déclare durant la vie d'une personne. En effet le cycle cellulaire et les étapes-clés de la mitose sont soumis à une étroite surveillance dans une cellule normale ; si des erreurs impossibles à corriger surviennent, elle évite de les disséminer en engageant le processus d'apoptose (Worthley *et al.* 2007 [8]). Trois types d'instabilité du génome sont connus de nos jours, constituant trois voies de développement du cancer. Celle qui survient le plus souvent est l'instabilité chromosomique ; les évènements génétiques surviennent alors à travers des erreurs dans le nombre ou la structures des chromosomes (aneuploïdie). Le second type est « l'instabilité des microsatellites » citée plus haut ; enfin, il a été suggéré que des facteurs épigénétiques seraient impliqués dans le développement de certains polypes et cancers, constituant une troisième voie de développement appelée « la voie de la néoplasie dentelée » (Worthley *et al.* 2007 [8]).

1) Le développement via l'instabilité chromosomique

De 70 à 85% des cancers colorectaux se développent selon cette voie, appelée également voie « traditionnelle » (Grady 2004 [13]). La lésion la plus précoce associée à ce type de développement est l' ACF (aberrant crypt focus) ou foyer de cryptes aberrantes, qui forme ensuite un polype macroscopique (Takayama *et al.* 2001 [14]). Les ACF ainsi que les autres types de lésions précoces seront abordés en II, en tant que marqueurs du développement du cancer colorectal.

Cette voie « traditionnelle » est associée à la mutation du gène APC ou à la perte de 5q (gène APC), mutation du gène K-ras, perte de 18q et enfin délétion de 17p, qui contient l'important gène suppresseur de tumeurs p53 (figure 2). Cependant, seule une petite proportion des cancers colorectaux se développant par instabilité chromosomique réunit toutes ces erreurs moléculaires. Il est possible que plusieurs de ces étapes puissent être contournées par d'autres évènements génétiques conduisant aux mêmes modifications biologiques. (Worthley *et al.* 2007 [8])

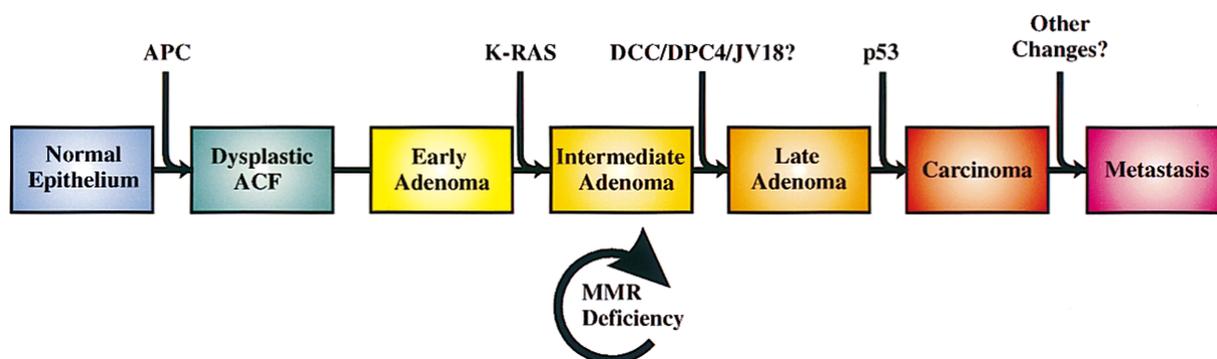


Figure 2- Les changements génétiques associés au développement du cancer colorectal. Les mutations du gène APC initient le processus néoplasique, et la progression de la tumeur résulte des mutations des autres gènes indiqués. Les patients atteints de FAP héritent de mutations du gène APC et développent de nombreux ACF (aberrant crypt foci). Certains progressent en acquérant les autres mutations indiquées sur le schéma.

a) Les rôles de la protéine APC et les conséquences de sa mutation

La protéine APC peut fixer la β -caténine

L'étude de la protéine APC a montré qu'elle possède plusieurs sites de liaison avec d'autres molécules. Le deuxième tiers de sa longueur est occupé par deux sites de fixation à la β -caténine, l'un d'eux étant modulé par phosphorylation (Rubinfeld *et al.*, 1996 [15]). La fixation de la β -caténine ainsi que d'autres protéines cytoplasmiques (telles que l'axine) pour former un complexe multi-protéique conduit à la dégradation de la β -caténine cytoplasmique (Mathers *et al.* 2003 [16]). Souvent, au moins l'un des sites de fixation de la β -caténine est absent chez les protéines APC mutées (Kinzler et Vogelstein 1996 [9]). Les mutations somatiques du gène APC sont principalement trouvées dans la moitié proximale du gène et résultent en l'impossibilité de la dégradation de la β -caténine par la protéine APC (Mathers *et al.* 2003 [16]). Occasionnellement, une mutation de la β -caténine elle-même peut survenir et la rendre résistante à la dégradation par APC, constituant ainsi une voie alternative à la mutation du gène APC (Worthley 2007 [8])

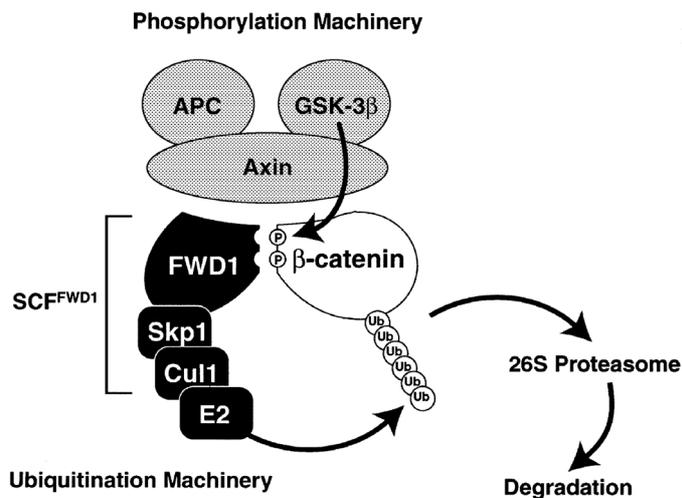


Figure 3- Modèle de la régulation de la dégradation de la β -caténine. L'axine/ la GSK-3 β / la APC forment un complexe, jouant le rôle de kinase sur la β -caténine (en gris). L'axine, la FWD1 et la β -caténine forment un complexe trimoléculaire et les trois composants semblent nécessaires pour la liaison. FWD1 recrute l'appareil d'ubiquitination Skp1/Cul1/E2 (en noir), ce qui conduit à la multiubiquitination de la β -caténine phosphorylée. La β -caténine multi-ubiquitinée est reconnue par le proteasome 26S et dégradé (Kitagawa *et al.* 1999 [18]).

Le rôle de la β -caténine dans la prolifération cellulaire

Des études ont montré que les caténines jouaient un rôle dans l'adhésion cellulaire. En effet ce sont des protéines cytoplasmiques capables de se lier aux cadhérines (famille de molécules d'adhésion cellulaire calcium-dépendantes). Les β -caténines sont nécessaires à l'adhésion cellulaire cadhérines-dépendante. Sachant que les β -caténines ne peuvent se lier à la fois à la protéine APC et aux cadhérines, l'APC pourrait avoir un rôle de régulation de l'adhésion (Kinzler et Vogelstein 1996 [9]). Plus récemment, il a été prouvé que la β -caténine fonctionne également comme activateur de la transcription quand elle est complexée à des molécules de la famille Tcf des protéines de fixation à l'ADN (Molenaar *et al.* 1996 [17] ; Behrens *et al.* 1996 [19]). Le complexe β -caténine-Tcf entraîne l'expression de gènes qui

pourraient être impliqués dans la prolifération cellulaire et/ou l'apoptose, (Korinek *et al.* 1997 [20]; Wetering *et al.* 1997 [21] ; Jeon *et al.* 1998 [22]), tels que c-myc ou la cycline D1 (He *et al.* 1998 [23]; Tetsu et McCormick 1999 [24]).

Modulation de la concentration en β -caténine par le gène Wnt

La régulation de la concentration de la β -caténine met en jeu plusieurs protéines et gènes ; parmi eux, Wnt, l'équivalent du gène *Wingless* de la drosophile. Ce gène est impliqué dans de nombreux mécanismes de développement, normaux et cancéreux (Nusse et Varmus 1992 [25]). Dans les cellules exprimant Wnt1 (comparées à des cellules mutées ne l'exprimant pas), les protéines caténines sont stabilisées, et donc plus disponibles pour former des complexes avec les protéines APC, les cadhérines, et avec d'éventuelles autres protéines cibles. Un excès de caténines libres peut conduire à la formation de complexes protéiques inappropriés. Wnt1 jouerait un rôle dans l'adhésion cellulaire (le complexe cadhérine/ β -caténine est stabilisé par l'expression de Wnt1. L'adhésion cellule/cellule est alors plus forte), et dans d'autres signaux de transduction. La combinaison de ceux-ci définirait des fonctions telles que la croissance, la différenciation, la transformation cellulaire (Papkoff *et al.* 1996 [32]; Hinck *et al.* 1993 [27]).

Mutation du gène APC et régulation de la β -caténine

Il a été montré que dans une lignée de cellules cancéreuses n'exprimant que des protéines APC mutées, l'introduction de la protéine APC « sauvage » permettait la régulation négative de la concentration cytoplasmique en β -caténine. Cette fonction semble être définie par la région centrale de la protéine, région typiquement absente de la protéine mutée. Par contre les APC mutées conservent en général la capacité de se lier à la β -caténine. Par conséquent, l'absence de l'APC sauvage pourrait conduire à une croissance cellulaire imprévue, l'APC mutée étant incapable de réguler la concentration en β -caténine (Papkoff *et al.* 1996 [25]).

Les rôles de la protéine APC dans la régulation des fonctions cellulaires (Mathers *et al.* 2003 [16])

En plus de son rôle dans la modulation de la concentration en β -caténine, l'APC est également impliquée dans plusieurs aspects de la vie cellulaire :

- la régulation de la prolifération cellulaire, la différenciation et l'apoptose
- la régulation de l'adhésion intercellulaire et de la migration cellulaire
- le maintien de la stabilité chromosomique pendant la mitose
- la régulation du cycle de fission des cryptes

La protéine APC joue donc des rôles variés ; aujourd'hui on ignore encore si une seule fonction moléculaire peut expliquer ces effets.

b) Le gène k-ras

On retrouve des mutations du gène *K-ras* 35% à 42% des cancers colorectaux, ainsi que dans une proportion similaire des adénomes développés, mais peu souvent dans les petits adénomes (Worthley *et al.* 2007 [8]). Une mutation de *K-ras* dans une cellule colorectale « normale » ne suffit pas à conduire à sa cancérisation (Jen *et al.* 1994 [31]). En effet, les

cellules avec une mutation du gène *K-ras* sont assez communes et conduisent à la formation d'îlots de cellules hyperprolifératives (Pretlow *et al.* 1993 [32]). Toutefois, ces cellules ont une organisation intracellulaire et extracellulaire normale. Ces informations suggèrent que si la mutation du gène APC apparaît en premier, elle conduirait à la formation d'un focus de cryptes aberrantes dysplasiques, ayant la capacité de progresser. Cette progression serait ensuite dirigée par des mutations ultérieures du gène RAS et d'autres gènes (Jen *et al.* 1994 [31]). Le rôle du gène *k-ras* n'est pas restreint à la voie de développement « traditionnelle », il est également impliqué dans la voie de néoplasie dentelée.

c) Les gènes SMAD2, SMAD4 et DCC (Worthley 2007 [8])

Ces trois gènes sont situés sur 18q21.1, et une perte d'allèle à ce site est détecté dans jusqu'à 60% des cancers colorectaux. SMAD2 et SMAD4 sont impliqués dans la voie de signalisation de TGF- β , qui joue un rôle important dans la régulation de la croissance cellulaire et de l'apoptose. DCC code pour un récepteur transmembranaire qui induit l'apoptose en l'absence de son ligand, netrin-1. Contrairement à SMAD4, DCC et SMAD2 sont rarement mutés dans les tumeurs colorectales. SMAD4 est donc peut-être plus important dans la carcinogenèse colorectale ; de plus, la mutation germinale de ce gène peut causer un syndrome juvénile de la polypose, associé au cancer colorectal.

d) Le gène p53

Le gène suppresseur de tumeur p53 est muté dans plus de 80% des cancers colorectaux (Baker *et al.* 1990 [28]). Sa perte résulte le plus souvent de la perte d'un allèle sur 17p. C'est souvent un phénomène tardif dans le développement du cancer colorectal, et cela signe le passage de la maladie à un stade invasif (Worthley *et al.* 2007 [8]). La protéine p53 fonctionnelle est stabilisée par les lésions de l'ADN. C'est un facteur important de la transcription, qui induit l'expression des gènes ralentissant le cycle cellulaire. La cellule a ainsi plus de temps pour réparer les lésions de l'ADN. Quand ces modifications de l'ADN sont trop importantes pour être réparées efficacement, p53 induit la transcription de gènes pro-apoptotiques.

Pourtant, les personnes portant un allèle muté du gène p53 n'ont pas un risque de cancer colorectal particulièrement élevé (Garber *et al.* 1991 [29]). P53 jouerait un rôle dans la cancérogenèse colorectale mais ne pourrait pas pour autant être déclencheur comme le gène APC (Kinzler et Vogelstein, 1996 [9]).

Les connaissances rassemblées sur le modèle de l'instabilité chromosomique ne permettent pas d'expliquer pourquoi la majorité des adénomes bénins ne se transforment pas en cancers invasifs. Une étude a en effet suggéré que pour les polypes de grandes tailles, le risque de voir survenir un cancer n'était que de 2,5%, 8% et 24% à 5, 10 et 20 ans respectivement (Stryker *et al.* 1987 [30]). Il semblerait qu'ils existe des barrières qui ne sont que rarement franchies avec le concours de l'instabilité chromosomique et du hasard. Il convient donc d'examiner les autres voies de développement du cancer colorectal.

L'instabilité chromosomique a été la première voie de développement du cancer colorectal étudiée et correspond à la séquence théorique dite « adénome-carcinome ». Ce mécanisme permet d'expliquer en partie le syndrome « FAP », mais pas le syndrome

« HNPCC ». Les mutations conduisant à la progression rapide d'une tumeur unique vers la malignité doivent être expliquées par une autre forme d'instabilité du génome.

2) Le développement via l'instabilité des microsatellites (Worthley et al. 2007)

a) Une voie distincte

Cette instabilité est le second mécanisme après la voie « traditionnelle ». En effet il représente le mode de développement d'environ 20% des cancers colorectaux. Le système de réparation mis en échec ne permet plus de réparer les erreurs survenant dans la séquence de l'ADN au moment de la réplication. Le système de réparation est composé d'au moins 7 protéines : hMLH1, hMLH3, hMSH2, hMSH3, hMSH6, hPMS1 et hPMS2. L'ADN polymérase étant susceptible de faire des erreurs dans les petites séquences répétées, un système de réparation défectueux se traduit par des différences entre l'ADN tumoral et l'ADN de l'organisme au niveau de ces séquences.

Pour pouvoir étudier ce mécanisme, 5 sites microsatellites standard ont été définis pour la Recherche et la pratique clinique et pathologique.

b) Les cancers à forte instabilité des microsatellites

Les cancers ayant une instabilité importante des microsatellites (instabilité pour plus de 40% des 5 sites microsatellites examinés) ont invariablement un génome diploïde, ce qui montre que ce mécanisme suffit à fournir une instabilité du génome suffisante pour l'émergence de la maladie, sans la participation de l'instabilité chromosomique (voie traditionnelle).

Chez les patients atteints de HNPCC, il y a une mutation germinale des gènes de réparation (*hMSH2* et *hMLH1* étant les deux gènes les plus touchés). Une seconde mutation somatique rend la cellule incapable d'effectuer des réparations précises de l'ADN. Cependant la grande majorité des cancers avec une importante instabilité des microsatellites sont sporadiques et résultent de l'inactivation épigénétique de *hMLH1*.

c) Les cancers à faible instabilité des microsatellites

Il existe également des cancers colorectaux montrant seulement une faible instabilité des microsatellites (un seul des 5 sites microsatellites présente une instabilité). Le gène de réparation le plus souvent concerné est alors *MSH6*. Ces cancers impliquent une mutation du gène *APC* mais ont un taux de mutation de *k-ras* à la fois plus élevé que les cancers émergeant par la voie « traditionnelle » et que les cancers se développant à partir d'une forte instabilité des microsatellites.

Dans ce type de cancers, une inactivation épigénétique du gène de réparation *MGMT* a été détectée. *MGMT* est un gène réparant les erreurs liées au remplacement de la guanine par d'autres nucléotides. Cette inactivation est associée à une mutation particulière de *k-ras* (transversion de G à A). Il est possible que cette inactivation épigénétique contrebalance le système de réparation entier, ce qui provoquerait les cancers à faible instabilité des microsatellites.

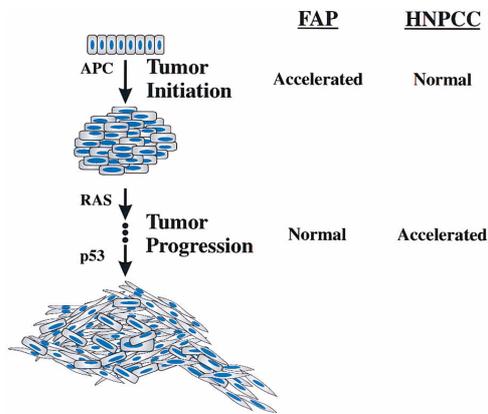


Figure 4- Comparaison du développement du cancer chez les patients atteints de FAP et ceux atteints de HNPCC. (Kinzler et Volgestein 1996 [9])

Les déficiences des gènes de réparations de l'ADN expliquent les erreurs qui surviennent lors de la réplication. La fréquence de ces erreurs conduit à un risque accru de voir se produire une mutation sur un gène lié à la cancérogenèse, ce qui peut conduire à la formation d'une tumeur maligne. Cependant l'inactivation de ces gènes-clé peut être provoquée par un mécanisme différent de la mutation génétique.

3) La méthylation (Worthley *et al.* 2007)

Il s'agit d'une modulation épigénétique de l'expression des gènes qui constituerait une troisième voie de développement du cancer. La méthylation se produit généralement sur la cytosine des dimères cytosine-guanine (CpG); elle peut intervenir physiologiquement dans les séquences promotrices de gènes, les rendant silencieux. Dans le génome des patients atteints de cancer colorectal, on a remarqué une hypométhylation globale mais une hyperméthylation des séquences de promotion de certains gènes stratégiques. Dans le processus de carcinogenèse, la méthylation de dimères CpG dans des séquences de promotion équivaut à une mutation inactivant les gènes concernés. Elle peut ainsi empêcher l'expression de un ou plusieurs gènes suppresseurs de tumeurs.

Les mécanismes régissant cette méthylation n'ont pas encore été déterminés avec précision. Il est possible que des facteurs lumineux et environnementaux jouent un rôle dans la mise en place de cette voie du cancer colorectal.

Nous venons de voir que le cancer colorectal se développe chez l'Homme par des mécanismes génétiques complexes. Une partie seulement de cette maladie s'explique par l'existence de deux syndromes génétiques. Les mutations du génome de certains individus pour des gènes tels que APC les prédispose à l'émergence de polypes, dont le nombre important augmente les risques de voir se développer une tumeur maligne. Chez d'autres

personnes, les gènes de réparations de l'ADN déficients ne permettent plus d'éviter les mutations des gènes impliqués dans la cancérogenèse.

Il reste néanmoins beaucoup d'incertitudes quant aux autres facteurs qui prédisposent à cette maladie, en particulier l'environnement direct de la muqueuse du colon et du rectum. Il est donc utile de s'intéresser à la distribution de cette maladie dans la population et aux facteurs de risques afin de mieux la comprendre et éventuellement la prévenir.

III) Epidémiologie

1) Epidémiologie descriptive

a) Distribution en fonction de l'âge et du sexe

Comme nous l'avons déjà souligné, l'incidence du cancer colorectal est plus élevée chez les hommes que chez les femmes. Des études menées aux Etats-Unis montrent que cette incidence commence à augmenter chez les personnes atteignant l'âge de quarante ans. Cette élévation devient très importante à partir de cinquante ans (92% des cancers colorectaux sont diagnostiqués chez des personnes de cinquante ans ou plus). Les personnes âgées de quatre-vingt ans ou plus présentent toujours un risque de cancer colorectal (12,5% des cas diagnostiqués après 85 ans.) (Benson 2007 [34]).

b) Cancer colorectal et la population mondiale (Boyle et Leon 2002 [])

Chez les hommes, 7 des 10 plus hautes incidences de cancer du colon, calculées par rapport à un âge standard, concernent des populations vivant aux Etats-Unis, les 3 autres s'appliquant à des populations vivant au Canada, au Japon et en Nouvelle-Zélande. Ces taux élevés sont trouvés dans des groupes ethniques variés, dont des Noirs à Détroit, Los Angeles, San Francisco, Atlanta et La Nouvelle Orléans, des Japonais et des blancs à Hawaï, et des personnes n'appartenant pas aux populations autochtone en Nouvelle-Zélande (Maori). Les dix plus faibles incidences sont rapportées pour des populations vivant dans des pays non industrialisés, le taux le plus bas concernant Sétif en Algérie (0,4 sur 100 000). Chez les femmes, on trouve l'Amérique du Nord et la Nouvelle-Zélande parmi les pays présentant les plus hautes incidences, et l'Algérie ainsi que l'Inde pour les plus faibles.

Ces différences entre les différentes populations ethniques ainsi que des études concernant les populations migrantes suggèrent que les facteurs environnementaux jouent probablement un rôle important dans l'étiologie de la maladie. Par exemple, en Israël, les hommes d'origine Juive nés en Europe ou en Amérique ont plus de risques de développer un cancer colorectal que ceux nés en Afrique ou en Asie. De même, ce risque a augmenté chez les enfants de Japonais ayant migré vers les Etats-Unis, pour devenir aussi voire plus important que les Blancs de la même population et trois ou quatre fois plus élevé que pour les Japonais vivant au Japon.

c) Evolution de la mortalité liée au cancer colorectal dans le monde (Boyle et Leon 2002 [])

La mortalité a diminué aux Etats-Unis au cours des dernières années, principalement grâce aux contrôles réguliers mis en place chez les médecins (« screening » en anglais) qui

permettent de diagnostiquer les cancers du colon et du rectum à des stades de plus en plus précoces, et à l'évolution des traitements (Cf. infra).

Dans le reste du monde, le taux de mortalité dû aux cancers du colon et du rectum connaît une augmentation dans les pays Nordiques, mais une diminution en Angleterre et dans le Pays de Galles. Ce taux de mortalité reste constant en Irlande.

Dans les pays que l'on considérait exposés à un moindre risque, la mortalité a fortement évolué. Par exemple, elle a été multipliée par 5 au Japon depuis 1950 et par 4 en Corée depuis 1983.

Le cancer colorectal ne touche pas de façon identique les différentes populations. L'âge joue un rôle important, mais également l'ethnie et la nationalité. Cela s'explique peut-être par les différences de modes de vie et d'alimentation que l'on observe entre ces groupes. Analyser l'épidémiologie va nous permettre de dégager un certain nombre de facteurs de risques.

2) Epidémiologie analytique

Comme nous l'avons vu précédemment, les mécanismes génétiques jouent un rôle important dans le développement d'un cancer du colon ou du rectum, mais ne sont déterminant à eux seuls que pour une petite partie des cas (cancers familiaux). D'autres facteurs influent sur l'apparition des tumeurs.

a) facteurs de risques sans rapport direct avec l'alimentation et/ou l'activité physique (Benson 2007 [34])

Il existe peu de facteurs qui ne concernent pas l'alimentation et qui sont impossibles à moduler. Ils ont été décrits pour une personne vivant aux Etats-Unis comme étant les suivants :

- avoir un âge supérieur à 50 ans
- avoir eu un cancer du colon ou du rectum précédemment
- présenter des polypes de l'intestin
- appartenir à une famille dont un ou plusieurs membres ont présenté un cancer colorectal ou des polypes adénomateux
- présenter une maladie inflammatoire du colon : une colite ulcéreuse ou la maladie de Crohns

b) facteurs de risques qu'il est possible de prévenir et facteurs protecteurs (Boyle et Leon 2002 [])

Activité physique, index de masse corporelle et valeur énergétique de la ration

Les hommes pratiquent une activité physique de loisir ou dans le cadre de leur activité professionnelle ont un risque de cancer du colon diminué. Cet effet a été constaté à la fois dans des études de cohorte qui concernaient des personnes physiquement actives et dans des études cas-contrôles qui mesuraient par exemple la fréquence cardiaque. Une étude de cohorte a également montré une association entre la pratique de sports de loisirs et la diminution de risque de cancer colorectal chez les femmes (Martinez et al. 1997 [35]). La même étude indiquait qu'un index de masse corporelle important était facteur de risque pour le cancer colorectal. La raison exacte de l'association entre l'exercice et le risque de cancer n'a pas encore été clairement identifiée, mais il a été suggéré qu'elle provenait des effets de l'exercice

sur la durée du transit intestinal, sur le système immunitaire, et/ou sur le métabolisme du cholestérol sérique et des acides biliaires.

Plusieurs études ont décelé un lien positif entre la valeur énergétique de la ration alimentaire et le risque de cancer colorectal. Ce lien est cependant complexe car une personne pratiquant une activité physique régulière consomme en général plus d'énergie dans son alimentation ; or l'activité physique est protectrice. Le lien positif entre obésité et cancer du colon fait penser que le métabolisme et donc la capacité à utiliser l'énergie de la ration joue un rôle dans le développement du cancer du colon et du rectum.

L'importance de l'alimentation dans la modulation du risque de cancer

Il a été suggéré que le régime alimentaire pourrait être à l'origine de 90% des variations d'incidence entre les différents pays (Doll et Peto 1981 [36]; Boyle *et al.* 1985 [37]).

Consommation de fruits et légumes

Pendant plusieurs années il a été considéré comme certain qu'une importante consommation de fruits et légumes protégeait contre le cancer du colon et du rectum. Cependant deux études de cohorte, L' Etude de la Santé des Infirmière et l'Etude Suivie des Professionnels de la Santé, concernant respectivement plus de 88000 femmes et plus de 47000 hommes, n'ont pas trouvé d'association significative entre la consommation de fruits et légumes et l'incidence du cancer colorectal (Michels *et al.* 2000 [38]).

D'après le rapport du WCRF ([4]), seul l'oignon présente une diminution du risque de cancer colorectal « probable », et les éléments indiquant une protection par les légumes sans amidon sont encore « limités » ([4]). Cependant, le WCRF suggère de privilégier la consommation d'aliments d'origine végétale. En effet ces aliments permettent de couvrir une grande partie des besoins nutritionnels avec un faible apport énergétique et « protègent probablement contre les cancers de sites variés ».

Consommation de viande et de graisses animales

Plusieurs études, écologiques, animales, cas-contrôle et de cohorte, ont montré que la consommation de viande est liée au risque de cancer colorectal (bien qu'elle puisse être par ailleurs une source importante de nutriments). Une cuisson importante de la viande conduirait à la formation de substances carcinogènes et augmenterait également le risque de cancer (Boyle et Leon 2002 []). Une méta-analyse portant sur 13 études prospectives a trouvé une augmentation du risque de 12 à 17% pour une augmentation de 100g par jour de la consommation de viande, et une augmentation du risque de 49% par 25g de viande transformée supplémentaire par jour (Sandhu *et al.* 2001 [39]). Le lien entre la consommation de graisse animale et cancer du colon et du rectum n'est pas clairement démontré. Des études montrent des résultats contradictoires. De plus, il n'est pas toujours possible de distinguer l'effet des graisses de l'effet de la valeur énergétique brute de la ration (Boyle et Leon 2002 []).

Consommation de fibres alimentaires

Le rôle des fibres alimentaires dans la modulation du risque de cancer colorectal est controversé. Les fibres sont classées en plusieurs catégories qui n'ont pas toutes les mêmes propriétés. Leurs effets seront examinés plus loin dans cette thèse.

Diversité du régime alimentaire

Il semblerait que la diversité du régime alimentaire joue un rôle protecteur. L'étude basée sur des cas-contrôles menée par Fernandez *et al.* en Italie met en évidence un risque relatif multivarié de 0,7 pour les personnes ayant le régime le plus diversifié, par rapport au groupe opposé (Fernandez *et al.* 1996 [40]). On peut émettre l'hypothèse selon laquelle cette diversité permettrait la mise en contact de la muqueuse digestive avec un plus grand nombre de composés bénéfiques présents dans l'alimentation.

Alcool et Tabac

Un certain nombre d'études ont montré une association entre la consommation d'alcool et l'augmentation du risque de cancer colorectal, mais il n'a pas été déterminé si cette association provient des effets de l'alcool en lui-même et non de sa valeur calorique ou du régime alimentaire des consommateurs d'alcool.

Une revue des indices épidémiologiques a montré que les personnes ayant fumé en quantités importantes sur long terme avaient un risque de présenter un adénome colorectal multiplié par deux ou trois par rapport à un non fumeur (Giovannucci 2001 [41]).

L'épidémiologie analytique nous montre que les risques liés au cancer colorectal peuvent être modulés par le mode de vie. Eviter de fumer, de boire de l'alcool de façon excessive permet de réduire ces risques, de même qu'avoir une alimentation équilibrée et un mode de vie actif. Malheureusement, le cancer colorectal concerne encore de nombreuses personnes, que ce soit à cause d'un défaut de prévention ou à cause des prédispositions génétiques. Le dépistage et le traitement de cette maladie sont donc primordiaux.

IV) Prise en charge et traitement

1) Symptômes

Ils sont peu spécifiques et peuvent passer inaperçus, tels que la présence de faibles quantités de sang occulte dans les selles, ou une hématochezie (sang dans les selles) plus importante ou du méléna. Ces symptômes plus ou moins impressionnants pour le patient ne conduisent donc à la consultation d'un médecin que dans une partie des cas. Parfois, une anémie détectée lors d'une consultation de routine peut conduire à des examens plus poussés et révéler un cancer du colon par ailleurs asymptomatique. Un autre symptôme commun est un changement de la fréquence des défécations, particulièrement si la tumeur est située dans le rectum ou dans le colon sigmoïde. (Benson 2007 [34]).

2) Détermination du stade de la maladie

CE Dukes a étudié en 1932 l'extension du cancer colorectal et son rapport avec le pronostic pour les patients (Dukes 1932 [43]). Il a alors jeté les bases de la classification en stades du cancer colorectal. Cette classification sera plus tard modifiée par Kirklin, Dockerty,

et Waugh en 1949 (Kirklin *et al.*, 1949 [44]) puis par Astler et Coller en 1954 (Astler et Coller, 1954 [45]).

La classification est la suivante:

- Type A, lésions limitées à la muqueuse
- Type B1, Lésions atteignant la musculature, mais ne la pénétrant pas, avec des nœuds lymphatiques non envahis
- Type B2, lésions pénétrant la musculature, avec les nœuds lymphatiques non envahis
- C1, Lésions limitées à la paroi digestive, envahissant les nœuds lymphatiques
- C2, Lésions traversant toutes les couches de la paroi digestive, envahissant les nœuds lymphatiques.

Classification TNM et classification de Dukes

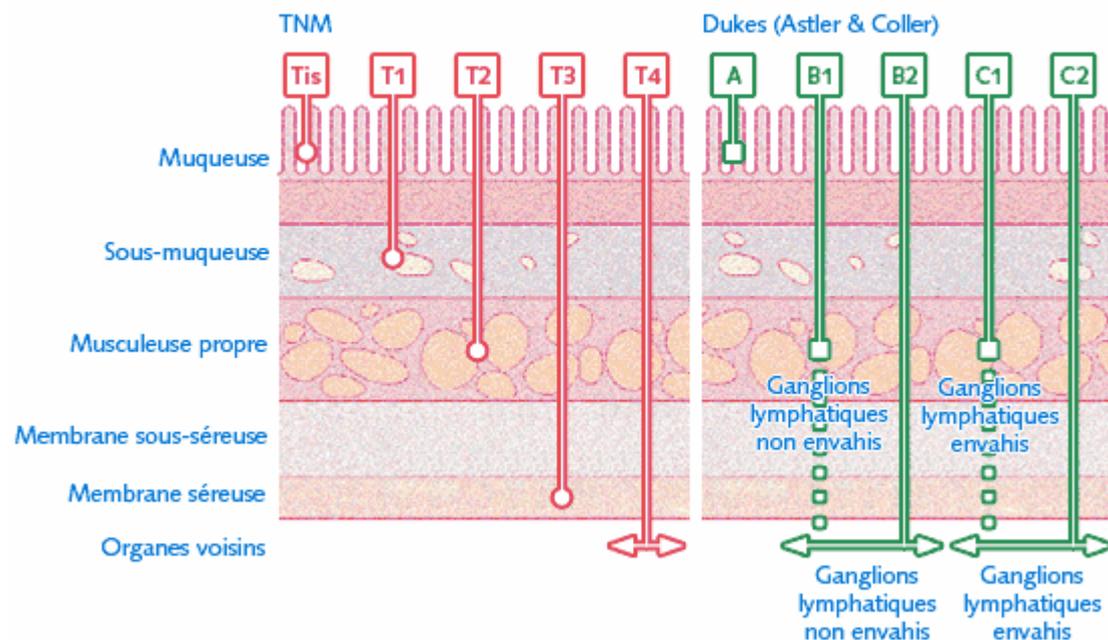


Figure 5- Illustration des classifications des stades du cancer colorectal (www.sanofi-aventis.com/healthcare/cancer_research/pathologic/colorectal)

Moins le stade est avancé, plus le taux de survie des patients à cinq ans sera important.

Le traitement de la maladie a d'autant plus de chances d'être efficace qu'il est précoce. Les symptômes, peu spécifiques, ne suffisent pas pour diagnostiquer le cancer colorectal de façon suffisamment efficace. Il est donc nécessaire de développer une stratégie de dépistage systématique.

3) Dépistage

L'examen de dépistage et de diagnostic le plus intéressant actuellement est la coloscopie. Une rectosigmoïdoscopie ne permet d'examiner que le rectum et le côté gauche du colon. Or les patients souffrant du syndrome de HNPCC présentent le plus souvent un cancer silencieux du colon droit (Benson 2007 [34]). C'est pourquoi Benson suggère qu'une rectosigmoïdoscopie souple soit pratiquée tous les cinq ans chez les personnes de plus de cinquante ans, couplée avec un examen des selles. Si la présence de sang occulte est détectée dans les selles et que la rectosigmoïdoscopie est négative, le patient doit être examiné par coloscopie. Le lavement baryté en double contraste est également considéré comme un outil de dépistage utile, aux Etats-Unis. L'approche standard de la prévention aux Etats-Unis est de pratiquer des examens de dépistage de routine et de retirer les polypes par chirurgie.

En France, la rectosigmoïdoscopie souple n'est pas très pratiquée en France et n'a pas été retenue dans le consensus français car il ne répond pas aux critères d'acceptabilité et d'innocuité d'un test de dépistage. Les performances diagnostiques du lavement baryté en double contraste sont considérées comme insuffisantes. L'utilisation de la coloscopie comme outil de dépistage de masse est controversée car elle est considérée comme un examen imparfait qui ne permet pas de détecter la totalité des cancers et des polypes colorectaux. De plus elle exposerait le patient à des risques non négligeables de complications. Enfin, elle représente un coût important. La coloscopie, en France, est donc recommandée pour les sujets présentant un risque élevé de cancer colorectal (antécédents familiaux, pancolite, antécédents personnels). L'outil de dépistage de masse le plus utilisé est la recherche de sang occulte dans les selles (ANAES 2001 [42]).

4) Traitement (Benson 2007 [34])

Les patients atteints d'un cancer colorectal localisé sont le plus souvent traités par chirurgie, qui s'avère fréquemment curative. La survie des patients souffrant d'un cancer de stade B atteignant 75% à 80% après une chirurgie seule, l'utilisation associée de la chimiothérapie reste controversée. Les cancers de stade C sont traités par chirurgie et chimiothérapie. La radiothérapie associée à la chimiothérapie est utilisée avant ou après la chirurgie chez la plupart des personnes qui ont une tumeur rectale de stade B ou C.

Il n'existe pas de stratégie unique qui convienne pour tous les patients. Il faut tenir compte de la présence éventuelle de métastases et de leur localisation.

De nombreuses études ont comparé la survie à cinq ans (le patient est alors considéré comme « guéri ») des patients atteints de cancer avec métastases. Cette survie va de 25% à presque 60% pour les patients subissant une chirurgie, et de 5 à 10% quand la chirurgie n'est pas possible.

Conclusion de la Partie 1 :

Bien que les méthodes de dépistage progressent, le traitement reste difficile et le taux de survie faible, surtout si le stade de la maladie est avancé au moment du diagnostic. Il est donc urgent de développer des stratégies de prévention.

Contrairement à d'autres maladies génétiques, provoquées par des mutations induisant des symptômes précis, le cancer colorectal n'est pas entièrement fixé par une mutation initiale. D'autres mutations sont nécessaires, dont le taux sera affecté par l'environnement. Ceci est bien illustré par les différences d'incidence d'une région du globe à l'autre et par l'augmentation de la proportion des cancers chez les populations ayant migré de zones à faible incidence vers des zones à forte incidence. Dans le cadre de cette maladie, l'environnement est modifié par les substances se trouvant dans le tube digestif. L'alimentation influence donc fortement l'incidence du cancer, comme le montrent les études épidémiologiques.

L'une des pistes de la prévention consiste donc à rechercher des aliments qui réduisent le risque de cancer colorectal.

Nous avons choisi de nous intéresser à l'inuline et à l'oligofructose, qui ont certaines des propriétés des fibres alimentaires mais également des qualités particulières.

Partie 2 : Inuline et oligofructose, classification et propriétés

Nous allons nous intéresser aux qualités des fibres alimentaires dans le contexte de la prévention du cancer du colon et du rectum. Nous verrons que les oligosaccharides non digestibles, dont l'inuline et l'oligofructose, partagent certaines de leurs qualités mais ont également des propriétés qui leurs sont propres.

I) Les fibres alimentaires et leurs propriétés

1) Définition des fibres alimentaires

Harris et Ferguson donnent une définition pour les fibres alimentaires : « elles sont composées de parois de cellules végétales ainsi que des composants obtenus de ces parois. Elles comprennent aussi les polysaccharides en excluant l'amidon (non-starch polysaccharides) provenant de sources autres que ces parois de cellules végétales » (Harris et Ferguson 1993 [46]).

On peut séparer les fibres alimentaires en deux catégories, les fibres solubles dans l'eau et les insolubles. Les fibres solubles sont digérées rapidement dans le petit intestin, contrairement aux fibres insolubles qui sont digérées plus lentement, voire incomplètement. Le plus souvent, ce sont les fibres insolubles qui sont associées à une protection contre le cancer.

2) Les fibres alimentaires diminueraient le risque de cancer colorectal

Des études chez le rat concluent qu'un régime riche en fibres et pauvre en gras diminue l'incidence du cancer colorectal ; inversement, un régime « à risques », pauvre en fibres et riche en matières grasses, augmenterait cette incidence (Hambly *et al.* 1997 [47]).

Cependant, des effets contradictoires des fibres alimentaires ont aussi été notés ; certaines ont même pu favoriser le cancer colorectal. Il est important de prendre en compte la grande diversité d'éléments représentés par le terme de « fibres alimentaire ». Certaines ont montré un effet protecteur dans les études sur le modèle murin, d'autre un effet favorisant le cancer colorectal, et d'autres encore n'ont montré aucun effet. (Harris et Ferguson 1999 [48]). Les mécanismes qui expliquent une partie de ces effets seront développés dans les paragraphes suivants.

3) Mécanismes d'action possibles des fibres alimentaires dans la modulation du risque carcinogène (Harris et Ferguson, 1999 [48])

a) Rôle dans le transit et l'absorption intestinale

Chez les monogastriques, dont l'homme, les fibres ne sont pas dégradées jusqu'à leur arrivée dans le petit intestin. L'estomac se vide plus lentement et l'absorption des nutriments au niveau du petit intestin est augmentée (effet des fibres solubles).

b) Production d'acides gras à chaînes courtes (SCFA)

Dans le gros intestin, les fibres alimentaires peuvent être dégradées par des enzymes bactériennes. Le produit de cette dégradation est alors fermenté pour donner des acides gras à chaînes courtes (Short Chained Fatty Acids, SCFA en anglais¹), principalement acide acétique, propionique et butyrique, et d'autres composés tels que de l'eau, de l'hydrogène, du dioxyde de carbone, du méthane. Ce processus a lieu à différents degrés selon le type de fibre concerné.

Le butyrate est l'acide gras à chaîne courte qui montre les effets les plus prometteurs. En effet, il constituerait une source d'énergie essentielle pour les cellules épithéliales du colon (Roediger 1982 [49]). Sur des tissus en culture, des études ont montré qu'il augmente la différenciation cellulaire notamment en inhibant l'action de remodelage de la chromatine de la histone déacétylase (Davie 2003 [50]). Le butyrate aurait également un effet sur l'expression des gènes liés au cancer dans les cellules cancéreuses ainsi que sur l'apoptose (Lupton 2004 [51]). Une étude a montré que le butyrate pouvait augmenter la concentration de Glutathione transférase π dans les cellules du colon. La Glutathione transférase π est une enzyme importante impliquée dans la détoxification des produits électrophiliques et des composés associés au stress oxydatif (Treptow-van Lishaut *et al.* 1999 [52])

Peu d'études ont mis en évidence un effet significatif du butyrate sur la cancérogenèse *in vivo*. Cependant, Perrin *et al.* ont montré que le butyrate était associé à une protection aux stades de l'initiation du cancer du colon, chez le rat, indépendamment de la source de fibres alimentaires Perrin *et al.* 2001).

Il est difficile de déterminer l'effet exact du butyrate dans l'organisme vivant. Les conditions physico-chimiques dans le colon (pH, disposition des cellules...) sont différentes de celles qu'on peut observer dans les expériences *in vitro*. De plus, il a été suggéré que cet effet dépend du stade de développement de la maladie (le butyrate serait protecteur aux stades précoces). La concentration de ce métabolite jouerait également un rôle important : selon certaines études, la prolifération cellulaire serait stimulée par de faibles concentrations de butyrate, mais inhibée par fortes concentrations. Enfin, les études qui évaluent l'effet du butyrate en utilisant des fibres alimentaires comme source de SCFA ne permettent pas de dissocier l'effet du butyrate de l'effet protecteur attribué aux autres propriétés des fibres alimentaires décrites plus loin (Lupton 2004 [51]).

c) Fibres et volume fécal

Les fibres insolubles ont la capacité d'augmenter le volume fécal et de diminuer le temps de transit gastro-intestinal. De plus, il a été montré que les parois végétales subéreuses

¹ Les abréviations couramment utilisées dans les publications en anglais sont laissées dans cette langue pour une meilleure consultation des références.

et lignifiées, toutes deux des fibres insolubles, ont la possibilité d'absorber des carcinogènes alimentaires hydrophobiques in vitro.

d) Fibres alimentaires et augmentation du risque de cancer colorectal

Il existe quelques mécanismes possibles par lesquels les fibres pourraient augmenter la cancérogenèse. En augmentant la viscosité du chyme, elles pourraient conduire à une moins bonne résorption des sels biliaires, lesquels seraient donc produits en plus grande quantité par l'organisme, puis atteindraient le colon. Les enzymes bactériennes les transformeraient alors en acides biliaires puis acides biliaires secondaires, connus pour être promoteurs tumoraux dans le modèle animal (Narisawa *et al.* 1974 [53])

Certains carcinogènes sont détoxifiés par l'organisme par conjugaison avec de l'acide glucuronique. Or, certaines fibres alimentaires solubles, comme la gomme et la pectine, pourraient augmenter l'activité des glucuronidases, des enzymes bactériennes du colon capables de libérer ces carcinogènes dans le colon. Par contre, certaines fibres alimentaires insolubles pourraient diminuer l'activité de ces enzymes.

L'irritation de la muqueuse du colon conduit probablement à une augmentation du cancer colorectal. En effet, la régénération cellulaire pourrait mettre en suspens l'apoptose et limiter la multiplication de cellules mutées ; de plus, la prolifération cellulaire pourrait augmenter la fixation des mutations. Or, certaines fibres alimentaires insolubles pourraient conduire à l'abrasion de la muqueuse du colon par le chyme, par exemple à cause de la silice dans des céréales peu dégradées, en particulier dans la partie distale du colon, quand une grande proportion de l'eau a été absorbée. D'autre part, la production de SCFA entraîne une diminution du pH dans le colon. Cette diminution est habituellement considérée comme bénéfique vis-à-vis du cancer colorectal. Cependant un pH trop bas pourrait augmenter la prolifération cellulaire au niveau de la muqueuse du pH.

Les fibres alimentaires présentent des effets controversés sur le risque de cancer. Elles participent à certains mécanismes potentiellement protecteurs, en particulier la fermentation pour donner du butyrate, mais également la modulation de la vitesse du transit, l'augmentation du volume fécal et l'absorption de certains carcinogènes. Cependant il existe des arguments allant dans le sens opposé : diminution de la résorption des sels biliaires, effet sur les enzymes libérant des carcinogènes, irritation de la muqueuse...

Nous allons présenter les oligosaccharides et leurs propriétés et leurs qualités nutritionnelles. Certaines sont communes avec les fibres alimentaires mais d'autres sont spécifiques.

II) Les oligosaccharides non digestibles : les NDO (Non Digestible Oligosaccharides)

1) définition et importance des NDO

Les NDO sont composés de nombreux monosaccharides reliés de différentes façons. Ils ont des caractéristiques chimiques variables, mais tous résistent à la digestion dans le petit intestin de l'Homme et sont donc des substrats potentiels pour les bactéries qui colonisent le gros intestin. Les NDO ont donc certaines propriétés proches des fibres alimentaires, et on été considérés comme tels dans certaines publications, ou ont été jugés comme une catégorie

d'hydrates de carbone distincte de celles des fibres alimentaires (Van Loo *et al.* 1999 [54]). Par conséquent, on a émis l'hypothèse qu'ils pourraient également avoir un effet protecteur contre le cancer colorectal (Harris et Ferguson 1999 [48]). Contrairement à la plupart des polysaccharides des fibres alimentaires, les NDO sont solubles dans une solution à 80% d'éthanol, à pH2 et 0°C pendant 30 minutes. Cela permet de les distinguer, des polysaccharides. Il existe également des méthodes pour identifier et quantifier les NDO, en particulier les fructanes de type inuline (en séparant d'abord les NDO par chromatographie puis en appliquant une technique d'hydrolyse acide pour les convertir en monosaccharides ; il existe des standards de quantification des monosaccharides). Cela permet d'étudier leur teneur dans les aliments et de mettre en place des protocoles précis dans les études de chémo-prévention (Van Loo *et al.* 1999 [54]).

Les NDO ont depuis longtemps été présents dans l'alimentation, mais à des doses inconnues. Ils sont trouvés dans plus de 36000 espèces végétales (Carpita *et al.* 1989 [55]), notamment le blé, la banane, l'oignon, l'ail, l'asperge (Verghese *et al.* 2002 [56]). Ils sont aussi utilisés dans l'industrie de l'alimentation, et peuvent être produits de trois façons différentes :

- à partir de sources naturelles (Par exemple l'inuline est produite par extraction à partir de racines de chicorée (*Cichorium Intybus*))
- à partir de sources naturelles mais soumis à une hydrolyse partielle par traitement enzymatique (les oligofructoses et les xylo-oligosaccharides)
- synthétisés par l'action de transférases sur des disaccharides comme le sucrose et le lactose (ex, transgalacto-oligosaccharides) (Harris et Ferguson 1999 [48])

2) Propriétés laxatives des NDO

Les NDO restent en solution dans le chyme, contribuant ainsi à la pression osmotique. L'augmentation de celle-ci crée un appel d'eau. Les NDO sont fermentés par les bactéries du colon, ce qui libère des gaz, SCFA et lactate. Ces gaz affectent la motilité intestinale. La fermentation des NDO résulte également en la production de biomasse, ce qui explique leurs propriétés déconstrictives (Harris et Ferguson, 1999 [48]).

3) Production de SCFA par la fermentation des NDO

Les différents NDO stimulant différentes bactéries dans l'écosystème du colon, leur fermentation se traduit par l'émission de différents gaz volatils : les fructanes de type inuline augmentent la production d'acétate et de butyrate, les galacto-oligosaccharides augmentent la production d'acétate et de propionate, et les xylo-oligosaccharides seulement celle de l'acétate (Campbell *et al.* 1997 [57]; Djouzi et Andrieux 1997 [58]). (Pour plus de détails Cf. supra Partie 2. I. 3.b.)

4) Stimulation des probiotiques

Les NDO peuvent stimuler la croissance de bactéries dites « probiotiques » Parmi les NDO susceptibles de permettre cette croissance, on trouve en particulier les β (2-1) fructanes de type inuline (pour détails Cf. infra Partie 2. III.). Les oligosaccharides transgalactosylés (TOS en anglais) n'ont montré de résultats que dans certaines études (Ito *et al.* 1993 [59]; Bounnik *et al.* 1997 [60]; Alles *et al.* 1999 [61]).

5) Absorption des minéraux

Plusieurs études sur le modèle murin ont confirmé que les fructanes de type inuline, les TOS et les GOS (Galactooligosaccharides) augmentent l'absorption des minéraux Ca^{2+} , Mg^{2+} et Fe^{2+} (Coudray *et al.* 1997 [62] ; Lemort et Roberfroid 1997 [63] ; Ohta *et al.* 1993 [64] ; 1995 [65] et 1997 [66] ; Scholz-Ahrens *et al.* 1998 [67] ; Shimura *et al.* 1991 [68]). L'augmentation de l'absorption se fait principalement au niveau du gros intestin. Cette meilleure absorption permet l'augmentation de la densité osseuse. Des études chez l'Homme (Van den Heuvel *et al.* 1999a [69]) montrent que les fructanes de type inuline permettraient une meilleure absorption du calcium (Van Loo *et al.* 1999 [54]) et donc aideraient l'organisme à lutter contre l'ostéoporose (Taguchi *et al.* 1995 [70]).

6) NDO et le métabolisme lipidique

Chez le rat, les β (2-1) fructanes semblent avoir un effet sur le métabolisme lipidique (diminution de l'activité des enzymes hépatiques lipogènes, de la concentration postprandiale en triacylglycerol...). Chez l'Homme, certaines informations indiquent que la prise de petites doses d'inuline et d'oligofructose pourrait également avoir un effet sur le métabolisme lipidique. Des études plus poussées doivent encore être menées (Van Loo *et al.* 1999 [54]).

7) Inuline et fructooligosaccharides (FOS)

Parmi ces composés, les fructooligosaccharides (ou oligofructoses) et l'inuline, sont deux β (2-1) fructanes. Ils font partie des oligosaccharides non digestibles. La consommation en fructanes de type inuline par les populations ayant une alimentation de type occidental n'est pas connue avec précision mais a été estimée à environ 4g/ jour par Van Loo et al (Van Loo *et al.* 1995 [71]).

a) structure moléculaire

L'inuline n'est pas simplement une molécule. C'est un mélange d'unités de polymères linéaires de fructose et d'oligomères de fructose, dans lequel les unités de fructose sont reliées par des liaisons β (2-1). Il y a souvent une molécule de glucose à l'extrémité de chacune de ces chaînes de fructose, attaché par une liaison α (1-2). Les chaînes de fructoses sont constituées de 2 à 60 unités. Ce mélange est appelé β (2-1)-fructane polydisperse. L'inuline peut être fractionnée en une longue chaîne à fermentation lente, ou en oligofructose à fermentation rapide. (Femia *et al.* 2002 [72])

Les fructooligosaccharides ou oligofructoses (OF) sont issus de la dégradation de l'inuline ou présents tels quels dans les végétaux. Ils sont définis comme des oligosaccharides de fructose contenant de 2 à 10 monosaccharides reliés par des liaisons glycosidiques (Hoebregs 1997 [73], *IUB-IUPAC Joint Commission on Biochemical Nomenclature* 1982 [74]). L'oligofructose extrait de la chicorée est constitué à la fois de chaînes de fructose simple (F_m) et de chaînes de fructose terminée par une unité de glucose. Les oligofructoses synthétisés ne sont formés que par les chaînes terminées par un glucose (GF_n). Les deux types de chaînes comprennent les liaisons et ont les mêmes propriétés biologiques (Niness 1999 [75]).

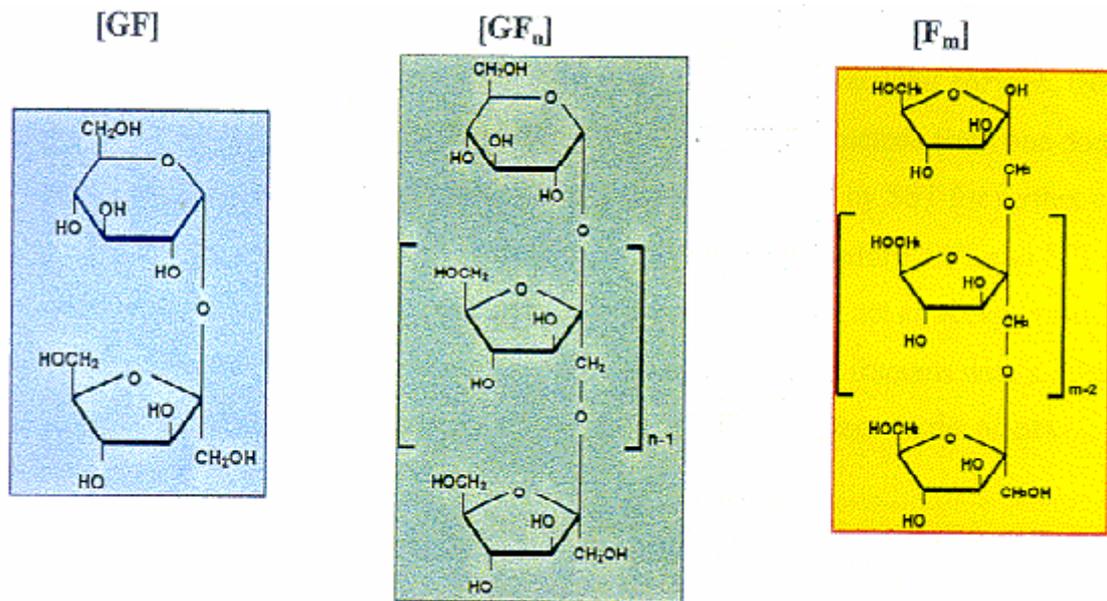


Figure 6- Structure du sucrose (à gauche), de l'inuline (au centre), de l'oligofructose (chaîne F_m, à gauche) (Bryan C. Tungland, inulin, A Comprehensive Scientific Review 2000 [76])

b) Propriétés nutritionnelles et utilisation de l'inuline et de l'oligofructose dans l'industrie alimentaire

Du fait de leurs liaisons glycosidiques β (2-1) résistantes aux enzymes de dégradation intestinales, l'inuline et l'oligofructose ont une faible valeur calorique. Cette propriété en fait des molécules de choix pour remplacer le sucrose dans les aliments industriels. Comme il n'a pas été détecté d'influence de ces composés sur la concentration en glucose sérique, de stimulation de la sécrétion d'insuline ou de glucagon (Beringer et Wenger 1995 [77]), l'inuline et l'OF ont depuis longtemps été utilisés par les diabétiques.

Ces substances présentent également les effets bénéfiques des NDO : elles stimulent le transit, peuvent lever certaines constipations, agiraient positivement sur le métabolisme lipidique (Brighenti *et al.* 1995 [78], Fiordaliso *et al.* 1995 [79]).

L'inuline et l'OF ont également un intérêt certains pour l'industrie alimentaire. Du fait de la longueur supérieure de ses chaînes, l'inuline forme des cristaux quand elle est mélangée à de l'eau ou du lait. Ces cristaux ne sont pas perceptibles directement au goût, mais ils donnent une texture crémeuse à la préparation. On utilise donc l'inuline pour remplacer la graisse dans de nombreux produits tels que les produits de boulangerie, les desserts glacés, etc... L'oligofructose est utilisé principalement pour ses propriétés sucrantes, car il est plus soluble que le sucrose et a une valeur énergétique plus faible. De plus, il n'a pas d'arrière-

goût et peut masquer celui d'autres édulcorants comme l'aspartame ou l'acesulfame K. Comme il a certaines propriétés physiques du sucre, il est utilisé pour rendre des pâtisseries peu grasses craquantes et il abaisse le point de solidification des desserts glacés. Enfin, l'inuline et l'oligofructose sont considérés comme des fibres alimentaires. Ils permettent l'élaboration de produits dits « riches en fibres », mais avec un goût de préparations « normales », sans augmenter la viscosité (Niness 1999 [75])

Les NDO, et en particulier l'oligofructose et l'inuline, présentent plusieurs propriétés physico-chimiques et nutritionnelles. Ils modifient le transit, le métabolisme lipidique, l'absorption des minéraux... Ces qualités influent peut-être sur leur capacité à moduler le risque de cancer colorectal. Cependant l'une de leurs caractéristiques les plus importantes reste leur faculté de stimuler les probiotiques.

III) Les NDO et les probiotiques

1) Inuline et fructooligosaccharides, des prébiotiques

N'étant pas digérés dans la partie proximale du tube digestif, les FOS et l'inuline sont dégradés en monomères par la microflore du colon, ce qui fournit un excellent substrat pour les bifidobactéries (Hidaka *et al.* 1986 [80]).

En effet, des études ont montré qu'une complémentation en FOS et en GOS (galactooligosaccharide, un autre sucre non digestible dans le petit intestin) pouvait augmenter les concentrations de *bifidobacterium* dans l'intestin (Rowland *et al.* 1993 [81] ; Buddington *et al.* 1996 [82]). Le terme « prébiotiques » a été choisi pour désigner les molécules favorisant l'établissement et le développement des probiotiques dans l'intestin. La définition selon Gibson et Roberfroid d'un prébiotique est « un ingrédient alimentaire non digestible qui affecte l'hôte de façon bénéfique en stimulant de façon sélective la croissance et/ou l'activité d'une ou d'un nombre limité de bactéries dans le colon » (Gibson et Roberfroid 1995 [83]). L'ensemble des probiotiques et des prébiotiques leur servant de substrat est appelé « synbiotiques ».

2) Les effets protecteurs des probiotiques vis-à-vis du cancer colorectal

Un probiotique a été défini comme étant un supplément alimentaire microbien viable qui affecte de façon bénéfique l'hôte par ses effets dans le tractus intestinal (Roberfroid 2000 [84]). Par exemple, les bifidobactéries et les lactobacilles font partie des probiotiques.

Plusieurs observations expérimentales semblent indiquer un effet potentiellement protecteur des bactéries produisant de l'acide lactique contre le développement de tumeurs du colon (Wollowski *et al.* 2001 [85]).

La capacité des bactéries produisant de l'acide lactique (Lactic Acid Bacteria ou LAB en anglais) à prévenir les mutations de l'ADN a été explorée de façon extensive. Les produits laitiers obtenus par fermentation en utilisant diverses souches des genres *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*, et *Bifidobacterium* ont montré des propriétés antimutagéniques (*in vivo*, sur *Salmonella typhimurium*) variables, en rapport avec les procédés de fermentation

et dépendant de la quantité de bactéries. *In vitro*, l'association de LAB ou de yoghourt prévient les lésions de l'ADN provoquées par l'administration d'un carcinogène par voie orale à des rats (Wollowski *et al.* 2001 [85]). Plusieurs mécanismes ont été étudiés :

- L'ingestion de bactéries produisant de l'acide lactique (LAB) a une influence sur l'activité enzymatique de la flore intestinale associée à la cancérogenèse du colon, comme le montrent plusieurs études chez l'homme (Revue par Wollowski *et al.* 2001 [85]). Les LAB telles que *Bifidobacterium* et *Lactobacillus* ne produiraient qu'une faible proportion de β -glucuronidase, azoréductase, nitro- et nitrate réductases, enzymes impliquées dans la cancérogenèse, par rapport aux autres bactéries anaérobies du système digestif de l'Homme (Hughes et Rowland 2001 [87], Saito *et al.* 1992 [88]).
- Par ailleurs, la production d'acide lactique par ces bactéries diminue le pH de l'intestin. Le pH obtenu ne convient pas aux bactéries néfastes telles que *E.coli* et *C.clostridium*, ce qui crée un micro-environnement favorable dans l'intestin. (Reddy *et al.* 1997 [89])
- *In vitro* et en fonction du pH du milieu, les LAB peuvent fixer les amines hétérocycliques, qui sont mutagènes. Cette capacité à fixer les mutagènes est attribuée à la paroi des bactéries. Cependant le mécanisme *in vivo*, l'intérêt des mutagènes étudiés pour la cancérogenèse du colon et l'éventuelle formation d'autres substances cancérogènes pendant le procédé de fermentation ne sont pas encore parfaitement connus (Wollowski *et al.* 2001 [85]).
- Il a été observé que *Bifidobacterium infantis* peut stimuler l'immunité antitumorale et modifier l'expression des cytokines (Sekine *et al.* 1995 [86]).

Conclusion de la partie 2

L'oligofructose et l'inuline sont des composés naturellement présents dans l'alimentation mais également utilisés dans l'industrie alimentaire. Ils ont des propriétés communes avec les fibres alimentaires au sens strict, notamment au niveau de la production de butyrate, un acide gras à chaîne courte dont les effets sur plusieurs facteurs de la cancérogenèse sont bien démontrés in vivo. En tant qu'oligosaccharides non digestibles, ils présentent des qualités essentielles, en particulier la capacité de stimuler une partie de la flore du colon, notamment les bactéries dites « probiotiques ». Plusieurs études mettent en évidence un effet protecteur de ces probiotiques sur le risque de cancer du colon. Les NDO modifient également l'absorption de certains minéraux (dont le calcium) et peut-être le métabolisme lipidique, ces deux dernières propriétés pouvant également avoir un effet indirect sur la cancérogenèse. Après une présentation des modèles qui vont nous permettre d'étudier les effets de l'inuline et de l'oligofructose sur le cancer colorectal, nous allons rassembler et examiner les publications qui traitent de ce sujet.

Partie 3 : Modèles animaux et biomarqueurs du cancer colorectal

I) Les modèles animaux

Il existe trois grands types de modèles, qui se basent tous trois sur l'utilisation des rongeurs.

1) Tumeurs humaines greffées sur souris Nude

Ce modèle permet de tester in vivo l'effet d'anticancéreux cytotoxiques (D. Corpet, ENVY et INRA [90]). Les publications que nous allons étudier ne concernent pas ce modèle.

2) Tumeurs spontanées chez des souris « mutées » : les souris $Apc^{Min/+}$ (multiple intestinal neoplasia mice)

Ces souris ont un allèle muté du gène *Apc*, l'équivalent murin du gène *APC* de l'Homme, ce qui conduit à la production de la protéine *Apc* tronquée (Moser *et al.* 1990 [91]). Ces souris sont génétiquement « programmées » pour développer de nombreux adénomes dans leur intestin (particulièrement le petit intestin). Les études consistent donc à modifier leur alimentation ou à leur administrer le produit à tester, pendant les premières semaines de leur vie. Les souris sont ensuite sacrifiées et leur intestin examiné pour compter les adénomes qui se sont développés. L'avantage de ce modèle est qu'il fournit des animaux présentant assez rapidement un grand nombre de tumeurs (et non des lésions préneoplasiques ; Cf. infra pour la définition des lésions préneoplasiques). Par contre, les souris $Apc^{Min/+}$ (ou Souris Min) développent la plus grande partie de ces adénomes plutôt dans le petit intestin, tandis que les patients atteints de cancer colorectal ont le plus souvent des tumeurs dans le colon (les polypes dans le syndrome FAP apparaissent également en priorité dans le colon). Cette constatation soulève des questions sur l'équivalence entre ce modèle et l'Homme. Qu'est ce qui explique cette différence de localisation : mécanisme génétique, développement différent ?

3) Tumeurs ou lésions préneoplasiques induites chimiquement

L'administration d'un carcinogène à des groupes de rats est suivie du comptage des tumeurs ou des lésions préneoplasiques présentes dans le petit intestin et le colon, après un temps déterminé. Avant 1990 (date à laquelle on a commencé à utiliser des marqueurs différents, notamment les foyers de cryptes aberrantes), le comptage des tumeurs macroscopiques était l'indicateur standard de la cancérogenèse. Cependant il présente trois inconvénients importants : la croissance d'une tumeur est longue (5 à 8 mois), chaque tumeur doit être identifiée histologiquement, ce qui est long et coûteux, enfin chaque animal n'apporte que peu d'informations pour une étude, car il a soit une seule soit aucune tumeur par rat (D. Corpet, ENVY et INRA [90]). Il est donc plus intéressant de déterminer le nombre

de lésions préneoplasiques émergeant après l'induction chimique. Ces lésions ou biomarqueurs apparaissent plus tôt que les tumeurs et sont nombreuses. Cela permet une évaluation semi quantitative de l'effet du produit testé, qui sera administré ou mélangé dans l'aliment des animaux, avant et/ou après le carcinogène. Les lésions préneoplasiques les plus utilisées sont les foyers de cryptes aberrantes ou ACF (Cf. infra). Elles ont l'avantage d'avoir des critères de détermination précis (Cf. infra) ce qui permet une cohérence entre les différentes études qui utilisent ce type de modèle, et de les compter rapidement. Cependant, le lien entre le nombre d'ACF et l'incidence du cancer colorectal est parfois discuté (Nous aborderons cette question au cours de l'analyse des résultats la méta-analyse).

Nous allons maintenant examiner ces marqueurs de la cancérogenèse plus en détails.

II) Les biomarqueurs de la cancérogenèse

Il est utile de connaître l'histologie normale du colon pour mieux comprendre la nature des lésions préneoplasiques qui serviront de biomarqueurs de la cancérogenèse.

1) Histologie normale du colon (chez l'homme).

L'épithélium de la muqueuse du colon, qui est constitué d'une majorité de cellules caliciformes et de quelques entérocytes, s'invagine pour former des cryptes dites « cryptes de Lieberkhun ». Le chorion est riche en tissu lymphoïde.

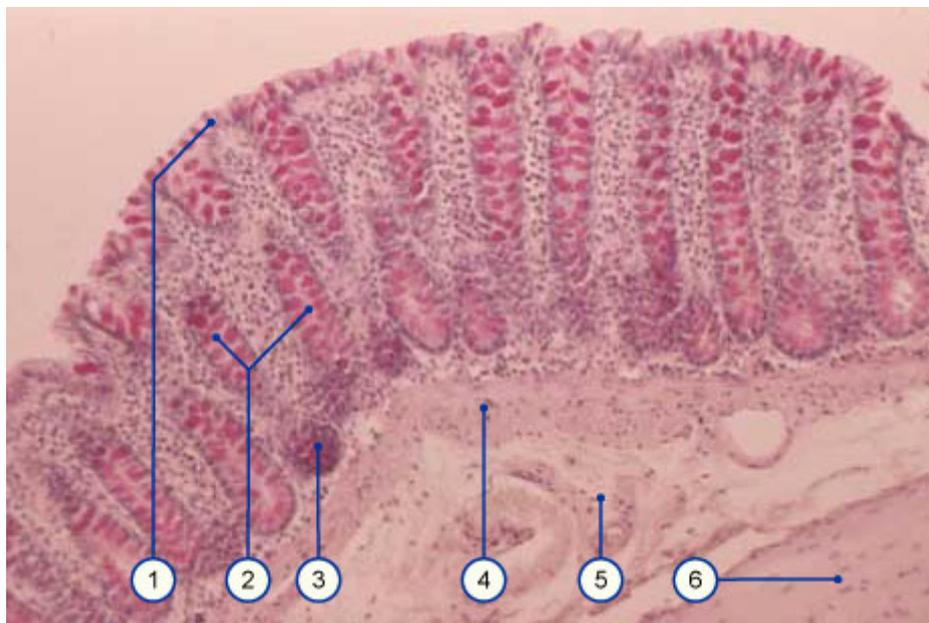


Figure 7- Vue d'ensemble de la tunica mucosa et submucosa de la paroi du colon chez l'homme. Légende : 1-cellules épithéliales de surface ; 2- Cryptes de Lieberkhun ; 3- follicule lymphoïde ; 4- Lamina muscularis mucosae ; 5- Tunica submucosa ; 6- couche circulaire de la Tunica muscularis (© Anatomy, University of Fribourg, Switzerland).

2) Les lésions précancéreuses ou prénéoplasiques

On considère généralement que le développement du cancer colorectal suit une séquence dite « séquence adénome-carcinome », c'est-à-dire que les tumeurs malignes se forment à partir de polypes adénomateux (Eric R. Fearon et Bert Vogelstein 1990 [33]), eux même émergeant à partir de lésions précoces, appelées lésions prénéoplasiques (Voir Partie 1 pour le déterminisme génétique).

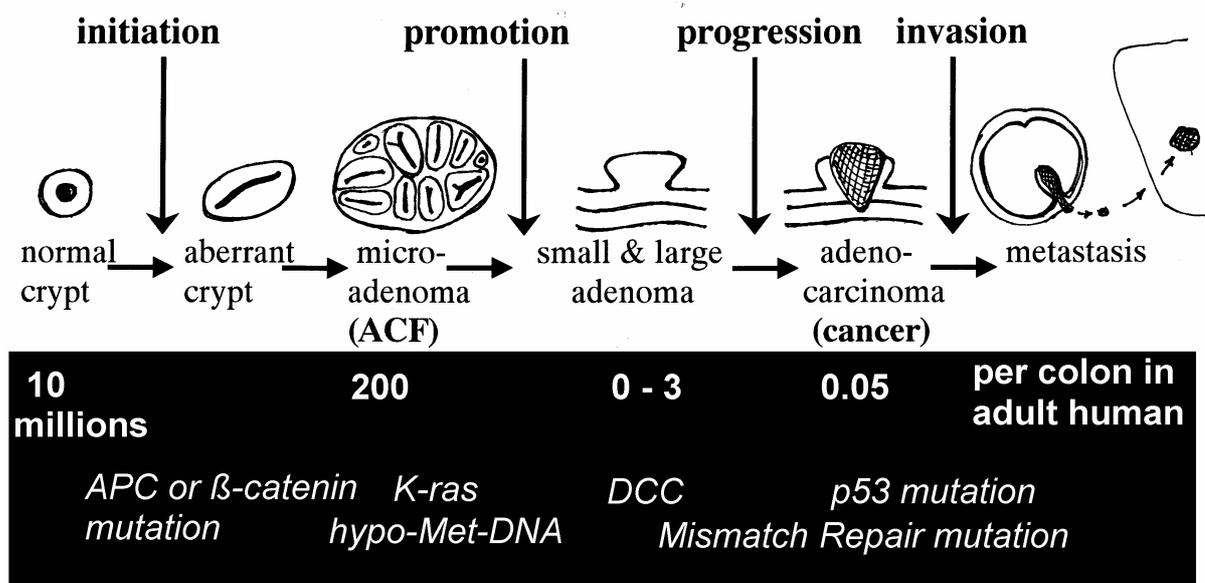


Figure 8- Modèle de carcinogénèse du colon, adapté de *Bruce et Corpet, 1996*. Les mutations sont adaptées de *Kinzler & Vogelstein, 1996*. (Illustration tirée de *Corpet et Tache 2002 [92]*)

3) ACF (aberrant crypt foci).

En 1987, Ranjana Bird découvre des lésions dans le colon de rongeurs ayant reçu un carcinogène quelques semaines auparavant. Ce sont des ACF (aberrant crypt foci). Ces foyers de cryptes aberrantes seraient des lésions précurseurs de cancer colorectal, se formant avant les adénomes (Bird 1987 [93]).

Pretlow *et al.* montrent en 1991 que des lésions semblables apparaissent fréquemment sur la muqueuse du colon de patients atteints de cancer, et ce, de façon beaucoup plus importante que dans le colon de personnes autopsiées n'ayant pas présenté de cancer. (Pretlow *et al.* 1991 [94]). De plus, ces ACF ont une distribution dans le colon semblable à celle des tumeurs colorectales, apparaissant plutôt dans le colon distal, à la fois chez l'Homme et dans le modèle murin. Les cryptes aberrantes ont un épithélium hyperprolifératif (Roncucci *et al.* 1993 [95] ; Dashwood *et al.* 2001 [96]; Nakagama *et al.* 2002 [97])

La taille des ACF peut augmenter avec le temps, et l'atypie nucléaire dans les ACF rappelle celle des cryptes des adénocarcinomes dans le colon (McLellan *et al.* 1991 [98]). Dans les ACF, l'expression immunohistochimique d'antigène carcinoembryonnaire et de β -caténine est augmentée. Les mutations *K-ras*, *APC*, *P53*, important dans le mécanisme de la cancérogénèse colorectale, ont été identifiées dans les ACF. (Cheng *et al.* 2003 [99])

Ces observations suggèrent que les cryptes aberrantes sont en effet des lésions « prénéoplasiques ». De plus, la similarité de ces lésions « prénéoplasiques » et de celles

observées dans le modèle murin semble indiquer une certaine validité de ce modèle pour l'étude du cancer chez l'Homme.

Ces cryptes aberrantes sont identifiées au microscope par des critères précis (Cheng *et al.* 2003 [99])

- Elles sont de plus grande taille (deux à trois fois plus grandes)
- Elles ont un contour plus épais que les cryptes normales, coloré plus profondément par le bleu de méthylène.
- Elles présentent une grande zone péricryptale (Corpet et Tache 2000 [92])
- Elles peuvent être rassemblées en foyers comprenant de une à cent cryptes
- Elles peuvent être légèrement surélevées par rapport à la muqueuse les entourant
- elles ont souvent une lumière ovale ou en forme de fente.

Les différents types histopathologiques d'ACF (Cheng *et al.* 2003 [99])

-ACF non dysplasiques : ACF avec une muqueuse normale, pas de modification importante de l'épithélium entourant les cryptes, des cryptes augmentées en taille, avec des *nucléi* légèrement allongés ou augmentés de taille, pas de stratification, pas de déplétion en mucine. Les ACF peuvent ne pas être dysplasiques mais seulement légèrement hyperplasiques.

-ACF dysplasiques : Les cryptes et les cellules sont anormales à différents degrés, avec des nucléi augmentés en taille, allongés, et parfois stratifiés et dépolarisés. Le nombre de cellules caliciformes est fortement diminué et il y a déplétion de mucine. Des ACF dits « dentelés » peuvent avoir des caractéristiques histopathologiques similaires aux adénomes « dentelés ». Les ACF dysplasiques sont communs chez les patients atteints de FAP. Ils apparaissent également chez des patients atteints de cancer colorectal sporadique ; ils ont alors des caractéristiques légèrement différentes (mutations APC, méthylations...).

Les ACF peuvent passer d'un type histopathologique à l'autre. Il a été observé des ACF avec un carcinome in situ, ou une sévère dysplasie dans des zones focalisées du colon de l'Homme, et avec des carcinomes invasifs chez le rat. Ces caractéristiques constituent des indices du caractère précancéreux de ces lésions. (Cheng *et al.* 2003 [99])

Du fait de leur apparition précoce et de ces critères de détermination précis, rapides et faciles à mettre en oeuvre, le comptage des ACF est fréquemment utilisé pour les études de prévention du cancer colorectal, dans le modèle murin (voir comparaison des différents types d'études de prévention).

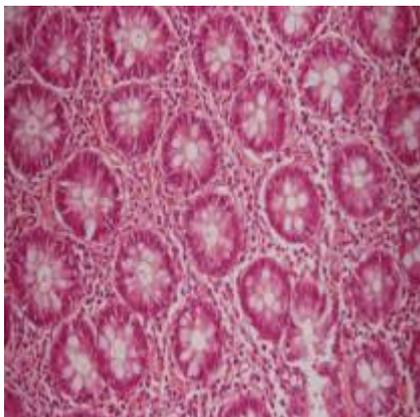


Figure 9- Coupe histologique de cryptes régulières de la couche superficielle muqueuse du rectum (Revue : Possibilités des nouvelles techniques endoscopiques: coloration vitale et endomicroscopie confocale in vivo dans la détection des lésions précancéreuses et du cancer précoce chez les patients porteurs de colite ulcéreuse (KIESSLICH et. NEURATH 2004 [100]).

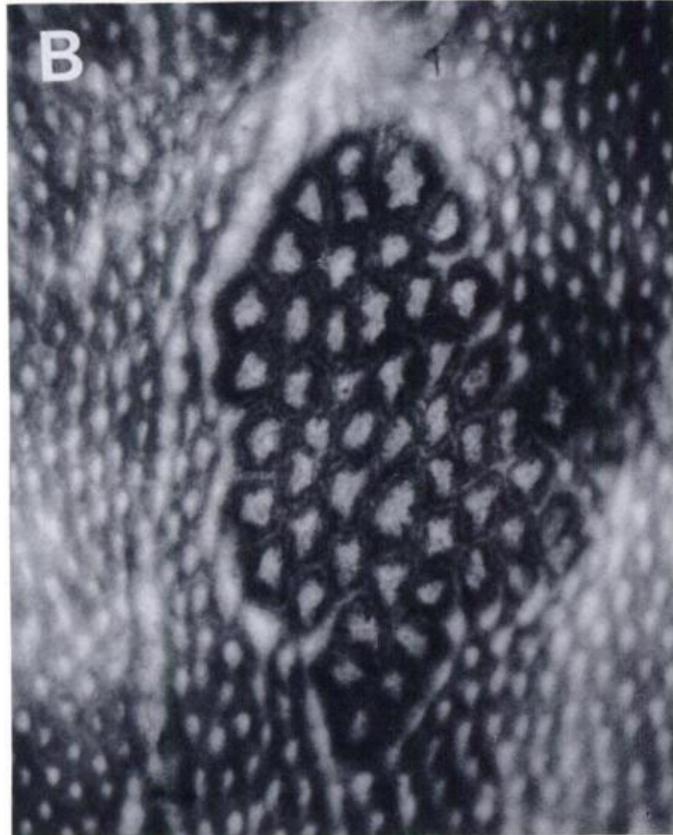


Figure 10- Segment de muqueuse du colon d'apparence macroscopique normale chez un patient atteint de cancer, coloré au bleu de méthylène. On peut voir un foyer de cryptes aberrantes surélevé par rapport au reste de la muqueuse ; la mise au point du microscope est faite sur le foyer et non sur la muqueuse qui l'entoure. (Pretlow *et al.* 1991 [30])

4) MDF (Mucin depleted foci)

En 2003, Giovanna Caderni *et al.* mettent en évidence une nouvelle lésion apparaissant chez des rats traités par un carcinogène (azoxyméthane) : les MDF, ou Mucin Depleted Foci. (Caderni *et al.* 2003 [101]). En observation sur microscope après coloration par la procédure High-Iron Diamine Alcian Blue (HID-AB), les MDF ont été identifiés par les critères suivants :

- Absence ou faible production de mucine
- Distorsion de l'ouverture de la lumière des cryptes comparées à celles qui entourent la lésion
- Elévation de la lésion par rapport à la surface du colon
- Multiplicité (nombre de cryptes par focus) supérieur à trois.

La caractérisation histologique de ces lésions a montré des signes dysplasiques caractéristiques du cancer du colon. Caderni *et al.* ont mis en évidence l'augmentation du nombre de MDF dans le temps après l'injection d'AOM. Ce nombre était plus faible chez les rats ayant reçu des symbiotiques (association de raftilose et de Lactobacilles) en traitement que chez les contrôles. Leur nombre et leur multiplicité sont donc corrélés à la carcinogenèse chez le rat. De plus, contrairement aux ACF, le nombre de MDF a le même ordre de grandeur que les tumeurs observées par la suite (<10 MDF/colon et 2 tumeurs/colon, en moyenne). Les MDF seraient donc une sous-catégorie de ACF qui pourrait peut-être prédire l'apparition de tumeurs mieux que les ACF (Caderni *et al.* 2003 [101]). En 2004, A Pietro Femia montre que le nombre total et la multiplicité des MDF sont augmentés par l'acide cholique, tout comme les tumeurs mais contrairement aux ACF. Le nombre de MDF est aussi diminué de façon significative chez les rats ayant reçu du Piroxicam, un inhibiteur du cancer colorectal. (Femia

et al. 2004 [102]). Comme de nombreuses tumeurs colorectales, les cellules des MDF ont une activation du signal Wnt avec une accumulation de β -caténine dans le cytoplasme et le noyau (Femia *et al.* 2005 [103]).

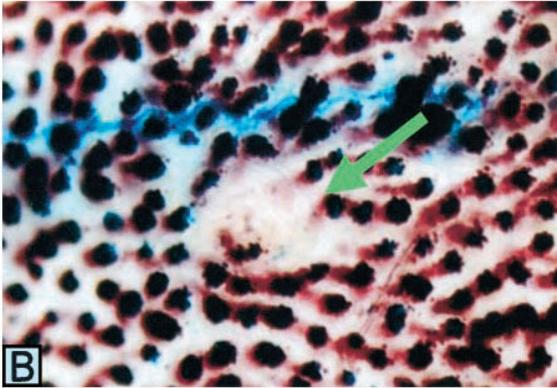


Figure 11- Identification topographique d'une MDF (Flèche) dans un colon coloré par HID-AB (grossissement X40) (Caderni *et al.* 2003 [101])

5) Cryptes accumulant la β -caténine (« β -catenin-accumulated crypts » : BCAC)

Il a été constaté que de nombreuses tumeurs induites chez le rat par l'azoxyméthane révélèrent des mutations du gène de la β -caténine ainsi qu'une accumulation de β -caténine dans les cellules (Takahashi *et al.* 1998 [104]). Yamada *et al.* ont remarqué chez des rats ayant reçu des injections d'azoxyméthane des lésions préneoplasiques apparaissant précocement, avec des cryptes anormales mais d'aspect différent des ACF. Elles comportent des mutations fréquentes du gène codant pour la β -caténine, ainsi qu'une accumulation importante de β -caténine dans le cytoplasme et le nucléus (contrairement aux ACF dans le modèle murin). Ce sont des « β -catenin-accumulated crypts ». Yamada *et al.* ont noté des scores d'anormalité histologique pour ces « cryptes accumulant la β -caténine » supérieurs à ceux des ACF, ainsi qu'une activité proliférative supérieure également. Elles auraient donc plus de chance de se développer en lésions malignes que les ACF (Yamada *et al.* 2000 [105] ; Yamada *et al.* 2001 [106]). Par ailleurs, au contraire des ACF, leur croissance est favorisée par l'acide cholique dans la ration, un acide biliaire primaire qui provoque des tumeurs du colon (Hirose *et al.* 2003 [107])

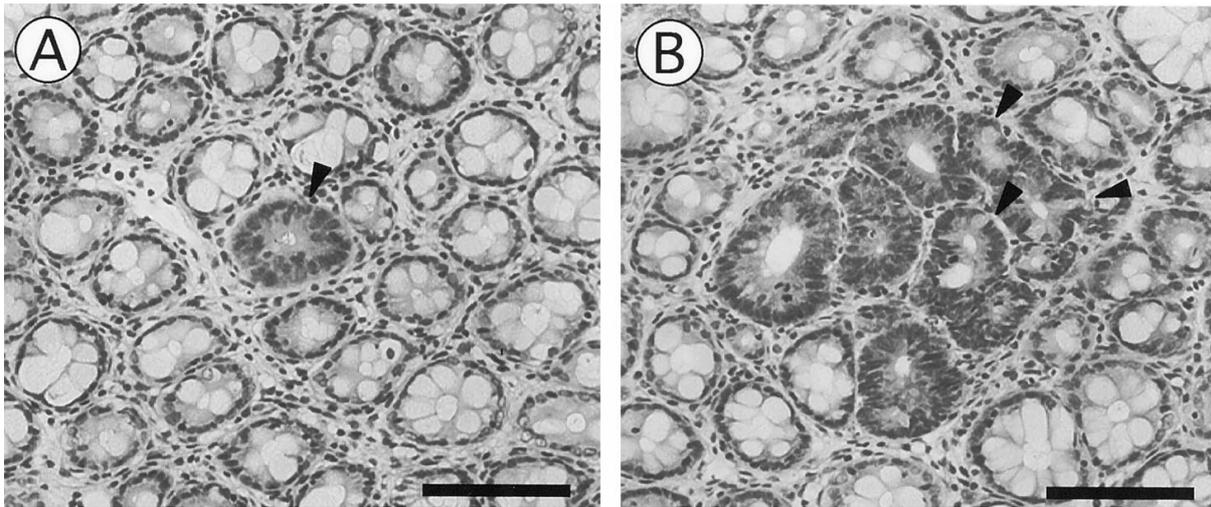


Figure 12- Cryptes accumulant la β -caténine (BCAC) chez le rat. L'épithélium possède des cytoplasmes basophiliques et des nucléi hyperchromatiques, et tend à montrer une perturbation de la polarité des noyaux. La production de mucine est quasiment absente. Les cryptes accumulant de la β -caténine sont détectées même dans de petites lésions ne comprenant qu'une seule crypte (A). Certaines grandes lésions ont des cryptes adénomateuses avec des embranchements extensifs (B). Flèches : Cellules de Paneth accompagnant certaines BCAC. Bien que le rôle des cellules de Paneth ne soit pas clairement défini actuellement, elles sont parfois présentes dans des tumeurs du colon, et rarement dans l'épithélium normal du colon. (Yamada *et al.* 2001 [106]; Yamada et Mori 2003 [108])

L'équivalent des BCAC chez l'Homme n'a pas été déterminé ; cependant, certains ACF chez l'Homme présentent une accumulation de β -caténine. Par ailleurs, des lésions type cryptes aberrantes ont été classifiées selon la forme et la taille de l'ouverture des cryptes. Certaines classes, de petite taille, ainsi définies semblent présenter une dysplasie plus importante que les autres. Ces lésions ne correspondraient pas à des ACF « typiques ». On peut donc envisager l'existence de petites lésions dysplasiques ne ressemblant pas à des ACF, mais qui seraient des précurseurs directs de tumeurs colorectales chez l'Homme (Yamada et Mori 2003 [108]).

6) Les lésions « dentelées »

Elles ont été définies récemment. Ce sont les polypes hyperplasiques traditionnels, les polypes mixtes, les adénomes dentelés, les adénomes dentelés sessiles. En coupe histologique, on distingue une « dentelure » (« serration » en anglais) des cryptes intestinales visible à la surface des lésions (sur les polypes hyperplasiques traditionnels) ou à leurs bases (sur les adénomes dentelés). Elles peuvent présenter des cryptes avec des embranchements, des cryptes dilatées à leur base, en forme de L ou de T... Ces lésions seraient précancéreuses, suivant un schéma d'évolution différent de la traditionnelle séquence « adénome-carcinome ». En effet, bien que sans dysplasie cytologique à proprement parler mais plutôt une dysplasie « architecturale », elles seraient les précurseurs de tumeurs colorectales malignes, en particulier les adénocarcinomes présentant une instabilité des microsatellites (MSI) (Revu dans Snover *et al.* 2005 [109] ; Voir Partie 1 pour plus de détails).

Ces lésions dentelées ne sont pas utilisées actuellement dans les modèles animaux de la cancérogenèse.

Conclusion de la partie 3

Deux modèles animaux permettent l'étude de la cancérogenèse : le modèle souris min et le modèle de chimio-induction de lésions par un carcinogène chez le rat. Il existe plusieurs types de lésions qui peuvent servir de biomarqueurs dans ce deuxième modèle. Celui qui est actuellement le plus utilisé est le foyer de cryptes aberrantes, et c'est ce marqueur qui est étudié dans les publications que nous avons rassemblées pour notre méta-analyse. Nous allons présenter l'intérêt et les principes statistiques de la méta-analyse avant d'étudier les publications portant sur l'effet de l'inuline et de l'oligofructose sur la cancérogenèse dans les deux modèles murins que nous avons présentés.

Partie 4 : Méta-analyse des effets de l'inuline et de l'oligofructose sur la cancérogenèse, dans deux modèles murins

I) Objectifs et principes de la méta-analyse

1) Pourquoi une méta-analyse

Cette démarche a pour but de rassembler un certain nombre de résultats expérimentaux, concordants ou non, dans le but d'obtenir une vue globale de l'efficacité d'un traitement. On a un gain de puissance statistique important par rapport aux résultats d'une seule expérimentation. (Michel Cucherat *et al.* [110])

Cela permet d'avoir un point de vue plus objectif sur les connaissances apportées par des expérimentations parfois nombreuses et en apparences discordantes. Le choix d'un nouveau traitement à utiliser ou à étudier s'en trouve facilité.

Par ailleurs, la méta-analyse peut se révéler particulièrement intéressante dans le cadre de l'expérimentation animale. Cela a bien été illustré par Pound *et al.*, qui mettent en évidence plusieurs arguments en faveur de l'élaboration de revues systématiques des études chez l'animal. En effet, ces revues permettent (Pound *et al.* 2004 [111]):

- d'évaluer l'intérêt de la recherche animale pour les potentiels traitements applicable à l'Homme
- de donner un point de vue sur la validité des études chez l'animal
- de mettre en évidence des problèmes comme le fait que pour certains traitements les études cliniques et les études dans le modèle animal sont menées simultanément
- de mettre en évidence les défauts dans la méthodologie de certaines études
- d'utiliser au mieux les informations fournies par les publications et d'améliorer l'estimation de l'effet à partir des expérimentations animales.

2) Principe de la méta-analyse

Les principes de la méta-analyse sont les suivants : Elle doit porter sur tous les essais disponibles concernant le traitement étudié, positifs et négatifs, publiés et non publiés (recherche exhaustive). Elle doit se faire selon un protocole précis, pour éviter tout biais dans le choix des études incluses. Enfin on applique une méthode statistique pour mettre en perspective la probabilité des résultats des études.

Trois problèmes se posent dans l'analyse actuelle de l'information expérimentale :

-Premièrement, quelle que soit la revue qui les publient, les essais positifs sont beaucoup plus souvent cités que ceux ayant des résultats négatifs. (Un résultat positif a plus d'attrait et paraît plus intéressant).

-Deuxièmement, une analyse de l'ensemble des résultats se fait en fonction du plus grand nombre d'essais penchant pour une hypothèse, selon une impression subjective, sans tenir compte de la nature probabiliste des résultats.

-Enfin, demeure le problème de l'appréciation quantitative de l'effet d'un traitement. La simple sommation de tous les effectifs et des résultats correspondants ne permet pas de répondre à cette problématique. En effet, les conclusions ne tiendraient pas compte de la variabilité dans le choix des individus traités, des risques relatifs de chaque essai, des différences d'effectif...

La méta-analyse répond à ces problèmes. Elle n'extrapole de chaque essai que l'effet traitement (supposé constant). Elle permet également une analyse fine en sous-groupes afin de tester différentes hypothèses.

3) Erreur aléatoire et biais

Lors des essais expérimentaux, on obtient les indices de l'effet d'un produit à tester. Cet effet n'est pas exactement le reflet de la réalité : il dépend aussi de biais systématiques (méthode, choix des sujets...) et de l'erreur aléatoire liée à la variabilité biologique. La méta-analyse, en rassemblant un grand nombre d'essais, diminue considérablement l'erreur aléatoire. Par contre, elle n'efface pas les biais si des essais inclus en introduisent. Elle est tout de même intéressante de ce point de vue car les essais sont sélectionnés (donc on peut éliminer certains biais en excluant certains essais) ; de plus l'erreur liée au biais de certains essais est « diluée » par le nombre d'essais.

4) Le biais de publication

Il est représenté par le fait de n'inclure que des études publiées par la littérature biomédicale dans une méta-analyse. En effet il existe un phénomène appelé « La publication sélective ». La littérature biomédicale tend à publier préférentiellement les études qui mettent en évidence un résultat significatif. De plus, les auteurs des études qui ne démontrent pas un effet ont tendance à s'auto censurer, ils jugent leurs résultats sans intérêt et ne cherchent pas à les faire publier.

L'auteur de la méta-analyse doit donc normalement chercher à inclure le maximum d'études dans leurs méta-analyses, publiées et non publiées. Dans la méta-analyse qui sera présentée ici, nous avons choisi de n'inclure que des études publiées, en raison du temps et de la difficulté à rassembler de façon exhaustive les études non publiées.

La méta-analyse permet d'avoir une vue globale des essais existants pour un sujet particulier. Nous allons expliquer succinctement les principes statistiques qui permettent de combiner les résultats de plusieurs études et de les analyser.

II) Aspects statistiques de la méta-analyse

La phase statistique de la méta-analyse se fait typiquement en deux étapes (Cochrane Collaboration [113]).

Dans la première étape, on crée une statistique qui résume chaque étude. Pour des essais contrôlés, ces valeurs décrivent l'effet observé pour chaque étude. Par exemple, cette statistique peut être un risque relatif si les données à analyser sont dichotomiques ou une différence de moyennes si elles sont continues (Cf. infra pour plus de détails sur la différence de moyenne).

La deuxième étape consiste à calculer un effet du traitement « moyen » comme une moyenne pondérée des effets traitement estimés dans chaque étude. Une moyenne pondérée est estimée de la façon suivante :

$$\text{Moyenne pondérée} = \text{somme des (estimation*pooids)}_i / \text{somme des pooids}$$

Plus le poids attribué à une étude est important, plus elle contribuera à la moyenne pondérée. On essaie donc de définir le poids d'une étude en fonction de la quantité et/ou la qualité de l'information qu'elle fournit [98].

Le choix de ce poids est fonction de l'analyse des données et peut se faire selon deux modèles : le modèle fixe (fixed effect en anglais) et le modèle aléatoire (random effect en anglais).

1) Modèle fixe (d'après Cochrane Collaboration [113])

Dans une méta-analyse avec modèle fixe, on fait l'hypothèse que les études incluses mesurent un effet « vrai » ou fixe, et que toute variation de cet effet entre les différentes études est due au hasard (erreur aléatoire). Le poids de chaque étude est donc estimé d'après l'inverse de leur variance, déterminé à partir de l'écart-type. La méta-analyse utilisant ce modèle calcule donc une moyenne pondérée de l'effet selon la formule :

$$\text{Moyenne pondérée} = \frac{\sum (T_i / S_i^2)}{\sum (1 / S_i^2)}$$

T_i étant l'effet estimé du traitement de l'étude i et S_i l'erreur standard de cette estimation. La sommation se fait sur l'ensemble des études incluses dans la méta-analyse [98].

Remarques (Manuel pratique de méta-analyse des essais thérapeutiques [95]) :

1. L'utilisation de la pondération par l'inverse de la variance est, en quelque sorte, une pondération par la précision des mesures. Lorsque la variance d'un résultat d'un essai est faible, on peut dire que cet essai réalise une mesure précise de l'effet traitement. En particulier, l'intervalle de confiance est étroit. Donc, avec le système de pondération utilisé en méta-analyse, plus un essai est précis, plus son poids dans la méta-analyse est important, précision et inverse de la variance évoluant dans le même sens.

2. La variance d'un résultat statistique (et donc sa précision) dépend du nombre d'unités statistiques, donc dans un essai du nombre de sujets. Plus un essai porte sur un nombre important de patients, plus la variance de son résultat est petite. Si bien que le poids

d'un essai dans une méta-analyse dépend fortement de sa taille. Les essais de grandes tailles ont un poids plus important que les essais d'effectif faible.

3. La variance dépend également de la fréquence observée des événements dans les deux groupes. Des essais réalisés chez des sujets à faible risque auront, à taille égale, un poids moins important que des essais réalisés chez des sujets à haut risque.

4. Si parmi les essais regroupés dans une méta-analyse, l'un d'eux est de taille nettement supérieure à celle des autres, cet essai occupe une place prépondérante dans l'estimation de l'effet commun. Celle-ci est principalement le reflet du résultat de l'essai prépondérant et tient peu compte des résultats des autres essais.

2) Modèle d'effet aléatoire (d'après Cochrane Collaboration [113])

Une méta-analyse avec effet aléatoire envisage que les études mesurent des effets différents (en fonction du choix des sujets, des variations du protocole...) et que ces différents effets sont distribués selon un schéma particulier. On considère dans ce modèle que les valeurs de l'effet estimé varient d'une étude à l'autre de façon aléatoire et qu'elles auraient alors une distribution symétrique. Le centre de cette distribution décrit la moyenne des effets, et sa largeur le degré d'hétérogénéité. Généralement on choisit d'effectuer les calculs comme si cette distribution était Normale. Il est cependant difficile d'établir la validité de l'hypothèse de distribution que l'on envisage pour décrire ces valeurs, ce qui peut rendre ce modèle critiquable. L'importance de la forme de distribution attribuée n'est pas bien déterminée.

Remarques :

1. Le logiciel Revman, fourni gratuitement par la Cochrane Collaboration® (version 4.2.10, <http://www.cc-ims.net/RevMan/>) a été utilisé pour cette méta-analyse. Dans le cadre du modèle aléatoire, il décrit l'estimation pondérée et l'intervalle de confiance en fonction du centre de la distribution de valeurs, sans interpréter la largeur de cette distribution.

2. Souvent l'estimation pondérée et son intervalle de confiance sont cités pour remplacer l'effet quantitatif trouvé dans un modèle fixe. Dans le modèle aléatoire et contrairement au fixe, l'intervalle de confiance décrit l'incertitude de la position de l'effet moyen estimé au sein de la distribution des effets trouvés dans les études. Il ne décrit pas l'hétérogénéité des études.

3. Si la variation des effets observés est attribuée à la diversité clinique, le centre de la distribution doit être interprété différemment d'une estimation d'un effet fixe. En effet, le modèle aléatoire cherche à répondre à la question « quel est l'effet traitement moyen ? » alors que le modèle fixe cherche à répondre à la question « quelle est la meilleure estimation de l'effet traitement ? ». La réponse à ces questions peut être la même s'il n'y a pas d'hétérogénéité ou si la distribution des effets est plus ou moins symétrique. Sinon, l'effet traitement estimé par le modèle aléatoire ne représente aucun effet existant réellement quand le traitement est appliqué à une population.

4. Le modèle aléatoire attribue un poids plus important aux études avec un petit effectif qu'elles n'en recevraient dans un modèle fixe. La raison de ceci est que les petites études donnent plus d'informations sur la distribution des effets (toutes études confondues) que sur l'estimation d'un potentiel effet commun.

3) Choix du modèle fixe ou aléatoire (d'après Cochrane Collaboration 2002 [112])

Ces deux types de méta-analyse seront approximativement équivalents en l'absence d'hétérogénéité des données (quand il y a hétérogénéité, l'effet d'un essai au moins ne peut pas être considéré comme étant identique à celui des autres essais (Cucherat *et al.* [110])). En cas d'hétérogénéité, il est préférable de choisir d'analyser les données selon le modèle aléatoire.

Il est important de noter qu'avec le modèle aléatoire, l'intervalle de confiance de l'effet moyen est plus large. Avec les mêmes essais, on peut donc avoir un effet significatif avec le modèle fixe et un effet non significatif avec le modèle aléatoire. De plus, si il y a peu d'informations (faible nombre d'études, peu d'évènements examinés dans chacune), la distribution des effets estimée par le modèle aléatoire aura peu de précision.

L'hétérogénéité peut être déterminée à l'aide d'un test spécifique. Un test d'hétérogénéité qui se révèle significatif doit inciter à se demander si le modèle d'analyse choisi est correct (généralement on considère que les données sont hétérogènes si $p < 0.1$). Il convient de rechercher la cause de cette hétérogénéité et de se demander s'il est raisonnable de combiner les essais choisis.

Il a été envisagé que l'hétérogénéité soit inévitable dans une méta-analyse, à cause de la diversité clinique et méthodologique. Une valeur statistique est utile pour quantifier non pas l'hétérogénéité même mais son impact sur la méta-analyse. Cette valeur est $I^2 = [(Q - df)/Q] \times 100\%$, avec Q = statistique chi-deux et df = ses degrés de liberté (Handbook Cochrane [113]).

4) Critères continus et différence des moyennes standardisée ([97])

Au cours de cette méta-analyse, nous allons comparer différentes études mesurant le nombre de lésions préneoplasiques chez des rats. Il s'agit de critères dits « de comptage » (« count data » en anglais). Cependant les comptages de lésions étant représentés par des nombres assez élevés, ces critères seront considérés comme « continus » par opposition à des critères de jugement binaire (par exemple la mort du sujet ; il n'y a que deux possibilités opposées, « rat mort » ou « rat vivant »).

Les critères continus nécessitent une analyse différente des critères de jugement binaires.

Pour mener ces calculs à bien, nous avons choisi La Cochrane collaboration est une organisation internationale indépendante et à but non lucratif, dédiée au rassemblement de l'information concernant la recherche au service de la santé.

Pour analyser un critère continu, ce logiciel donne le choix entre deux méthodes d'analyse statistique : calcul de la différence des moyennes pondérées (Weighted mean difference) ou calcul de la différence des moyennes standardisée (Standardized mean difference). Nous avons choisi d'utiliser la différence des moyennes standardisées car elle est plus adaptée aux études incluses dans cette méta-analyse. En effet, elle permet de combiner des études mesurant un même effet mais avec des échelles différentes. Il est donc intéressant pour nous de choisir cette option, car les études que nous allons combiner utilisent certes le même marqueur pour l'effet mesuré (ACF chez les rats et tumeurs chez les souris min), mais avec parfois des protocoles différant légèrement : induction des lésions tumorales par DMH ou Azoxyméthane (Donc gavages ou injections sous cutanées, avec deux produits différents, à des doses variant légèrement), temps d'alimentation avec le produit testé variable, souches d'animaux différentes... On suppose donc que chaque étude permet de mesurer un même effet, mais à des échelles légèrement différentes les unes des autres. La différence des moyennes standardisées nous permettra donc d'obtenir un résultat en « nombre de déviations

standards », nombre abstrait qui représente l'effet du produit quel que soit l'échelle. Il sera donc possible de vérifier si ce nombre est statistiquement différent de zéro, et donc s'il y a un effet. Ici le nombre absolu de ces déviations importe peu, car l'important n'est pas de mesurer exactement l'éventuelle protection apportée par l'inuline et de l'oligofructose. Comme les études sont basées sur des marqueurs indirects de cette chémo-prévention (modèle animal ; lésions préneoplasiques...), il ne permettent pas de mesurer quantitativement cette chémo-prévention, mais d'avoir des indices sur son existence.

Cette différence des moyennes standardisée se calcule en divisant la différence des moyennes par un écart-type.

Nous avons vu que la méta-analyse consiste à combiner les résultats des essais existants en attribuant à chacun « poids » statistique en fonction de l'information qu'il apporte et de la cohérence entre les études. Nous allons maintenant définir les hypothèses que nous avons posées.

III) Hypothèses testées

Les fibres alimentaires, et en particulier les oligosaccharides non digestibles, possèdent des qualités nutritionnelles indéniables. Mais protègent-elles réellement du cancer colorectal ? La première étape pour répondre à cette question est de vérifier les effets de ces molécules dans le modèle animal, le plus couramment utilisé étant le modèle murin. Cela permet de récolter de premiers indices sur l'efficacité, le mode d'action des molécules. On pourra alors plus ou moins extrapoler ces indices au modèle de carcinogenèse chez l'Homme.

Afin d'évaluer les effets des β (2-1) fructanes sur le cancer du colon chez le rat et la souris, nous allons tenter de répondre à la question suivante :

Un régime alimentaire contenant de l'inuline ou de l'oligofructose diminue-t-il, augmente-t-il ou n'a-t-il aucun effet sur l'incidence du cancer colorectal chez le rat et/ou chez la souris ?

Pour répondre à la question principale, nous allons donc tester deux hypothèses :

- 1) La présence de β (2-1) fructanes dans l'alimentation des rats diminue le nombre D'ACF² comptés dans leur colon après induction par un carcinogène (DMH ou Azoxyméthane).
- 2) La présence de β (2-1) fructanes dans l'alimentation des souris min diminue le nombre et/ou la taille des adénomes qui se développent dans leur intestin.

Nous allons traduire ces deux hypothèses en sous-hypothèses :

1a) La présence d'oligofructose à faible dose (5 à 6% de l'alimentation en poids) ou à forte dose (10 à 15%) dans l'alimentation des rats diminue le nombre D'ACF comptés dans leur colon après induction par un carcinogène (DMH ou Azoxyméthane)

² Nous avons choisi le nombre d'ACF comme marqueur de la carcinogenèse et non le nombre de tumeurs car nous n'avons recensé que 2 études pour ce critère.

1b) La présence d'inuline à faible dose (5% en poids) ou à forte dose (10 à 15%) dans l'alimentation des rats diminue le nombre D'ACF comptés dans leur colon après induction par un carcinogène (DMH ou Azoxyméthane)

2) La présence d'oligofructose ou d'inuline dans l'alimentation des souris min diminue le nombre d'adénomes qui se développent dans leur petit intestin.

Les études basées sur le modèle « souris min » proposent l'analyse de plusieurs aspects des adénomes : nombre total ou dans le petit intestin ou dans le colon, taille moyenne, proportion d'adénomes de petite ou de grande taille. Cependant seul le nombre d'adénomes dans le petit intestin était présenté dans suffisamment d'études pour faire une méta-analyse.

A partir de ces hypothèses, nous avons pu définir les critères de recherche des publications. Nous allons maintenant expliquer comment cette recherche a été faite, quels essais ont été retenus et comment nous les avons analysés.

IV) Réalisation de la méta-analyse

1) Stratégies de recherche des essais à inclure

Il s'agissait de trouver toutes les études concernant l'inuline et/ou l'oligofructose ou fructooligosaccharide (FOS) et la prévention du cancer colorectal ou de l'apparition d'ACF chez le rat et/ou la souris. La recherche a été étendue aux articles publiés de 1987 à Octobre 2007. La date de 1987 a été choisie car il s'agit de l'année de la découverte des lésions appelées Foyers de Cryptes Aberrantes par Ranjana Bird (Bird 1987 [93]). Cette recherche a consisté à consulter les bases de données disponibles :

-Pubmed (base de données disponible en ligne à l'adresse : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez/>). Les termes de recherche spécifiés étaient en anglais, selon le schéma suivant :

“(prebiotic OR FOS OR inulin OR oligofructose OR fructo-oligosaccharides OR fructooligosaccharides) AND (azoxymethane OR colorectal OR tumor OR cancer) AND (protect OR enhances OR inhibits OR chemoprevention) AND (experimental OR rats OR mice)”

D'autres schémas de recherche ont été utilisés, en essayant le maximum de termes liés au sujet et de combinaisons.

-Google scholar (<http://scholar.google.fr/>) permet de rechercher les articles citant une étude en particulier. Si on a trouvé un article à la fois assez vieux et assez pertinent, il est possible de trouver les études similaires qui ont été menées à *posteriori* et qui ont cité cet article. Nous avons utilisé les articles suivant pour cette recherche : Reddy *et al.* 1997 [89]; et Pierre *et al.* 1997 [114], deux articles pertinents pour la méta-analyse. De plus, nous avons examiné attentivement les listes de références à la fin de chaque article retenu.

-The Cochrane Central Register of Controlled Trials (http://www.mrw.interscience.wiley.com/cochrane/cochrane_clcentral_articles_fs.html) est une banque de données mise en place par la Cochrane Collaboration. Elle regroupe tous les essais rassemblés par les personnes qui ont travaillé pour la Cochrane Collaboration, et qui

ont donc cherché des études pour leurs revues et leurs méta-analyses. Nous avons donc cherché attentivement des essais dans cette banque de données, en entrant le plus grand nombre de mots-clés (cités ci-dessus). Aucun essai supplémentaire par rapport aux précédentes recherches n'a été trouvé. Ceci peut être expliqué par le fait que cette banque de données rassemble principalement des études menées chez l'homme, et très peu concernant les rats, bien que la communauté Cochrane soit en faveur de l'élaboration de revues systématiques des études menées chez l'animal [115].

Les essais trouvés par les banques de données ont ensuite été triés. Deux types d'articles ont été retenus, correspondant à deux protocoles :

-Des rats (ou souris) sont répartis en groupes aléatoires. Ils subissent l'administration d'une substance cancérigène, 1,2- diméthylhydrazine (DMH) ou azoxyméthane (AOM), à des doses généralement répétées et qui peuvent varier légèrement. Chaque groupe reçoit un traitement (c'est-à-dire une alimentation soit contrôle, soit contenant un pourcentage variable d'inuline ou d'oligofructose (ou fructooligosaccharide)). Ce traitement peut être commencé avant l'administration de la substance cancérigène (phase d'initiation) soit après (phase de promotion). Après une période donnée, les rats sont sacrifiés, puis leur petit intestin et/ou leur colon sont examinés afin de compter le nombre d'ACF présents sur la muqueuse digestive, selon des critères précis. Ce nombre d'ACF est analysé et comparé d'un groupe à l'autre.

-Des souris *Apc^{min}* sont réparties en groupes aléatoires. Elles reçoivent un régime contrôle ou un régime contenant un pourcentage variable d'inuline ou d'oligofructose (ou fructooligosaccharide). Après une période donnée, les souris *min* sont sacrifiées et leur intestin est prélevé. Les tumeurs (adénomes) sont alors comptées (leur taille est parfois estimée). Le nombre et la taille des adénomes sur tout l'intestin ou une partie sont alors comparés d'un groupe à l'autre.

Les essais qui suivaient l'un de ces protocoles en testant également d'autres traitements (régime incluant du bœuf, d'autres types de fibres, des probiotiques) ont été retenus si il y avait au moins un groupe contrôle et un groupe d'animaux ne recevant que de l'inuline ou de l'oligofructose (les groupes d'animaux recevant dans leur alimentation une association de deux traitements n'ont pas été pris en compte, par exemple ceux qui étaient exposés à un mélange symbiotique = probiotique + inuline ou FOS comme substrat).

24 essais publiés ont ainsi été sélectionnés :

- Bolognani *et al.* 2001 [116]
- Buddington *et al.* 2002 [117]
- Buecher *et al.* 2003 [118]
- Femia *et al.* 2002 [72]
- Gallaher *et al.* 1996 [119]
- Gallaher *et al.* 1999 [120]
- Hsu *et al.* 2004 [121]
- Jacobsen *et al.* 2006 [122]
- Kettunen *et al.* 2003 [123]
- Misikangas *et al.* 2005 [124]
- Misikangas *et al.* 2007 [125]
- Mutanen *et al.* 2000 [126]

- Pajari *et al.* 2003 [127]
- Perrin *et al.* 2001 [128]
- Pierre *et al.* 1997 [114]
- Poulsen *et al.* 2002 [129]
- Rao *et al.* 1998 [130]
- Reddy *et al.* 1997 [89]
- Rowland *et al.* 1998 [131]
- Verghese *et al.* 2002a [132]
- Verghese *et al.* 2002b [133]
- Verghese *et al.* 2005 [134]

2) Critères d'exclusion des articles sélectionnés

Nous avons d'abord lu attentivement tous les articles sélectionnés. Au cours de cette lecture, nous avons vérifié que les expériences étaient réalisables, les parties « matériel et méthode » suffisamment précises : souches d'animaux utilisés, composition de l'alimentation, provenance des produits (inuline et oligofructose), mode d'induction des ACF par l'azoxyméthane ou DMH, repérage et comptage des ACF selon des critères précis (Bird 1987 [93]), repérage et comptage des adénomes. Nous avons vérifié la cohérence entre les résultats et les éléments de départ (animaux, régime). Cette lecture nous a permis d'éliminer une étude : Femia *et al.* 2005, une étude cohérente mais qui recense le nombre de tumeurs induites par rat et non le nombre d'ACF.

Nous avons ensuite relu chaque essai pour collecter les informations que le logiciel Revman demande : pour chaque groupe d'animaux, le nombre de participants, la moyenne de l'effet produit, l'écart-type de cette moyenne.

Les études de Gallaher *et al.* 1996 [119] et Gallaher *et al.* 1999 [120] ont été exclues, car les moyennes du nombre total d'ACF dans le colon de chaque groupe de rats ne sont pas disponibles (uniquement le pourcentage de réduction par rapport au groupe contrôle, et le nombre d'ACF/cm² de colon, valeur non exploitable car fournie par trop peu d'études).

Les études de Misikangas *et al.* 2005 [124] et 2007 [125] ont été exclues, car elles ne fournissent pas les moyennes des nombres d'adénomes dans l'intestin des souris min. Seul un graphique sous la forme de boîtes à moustache (box plot) décrit la différence de taille des adénomes entre les groupes « contrôle » et « inuline ». La valeur interquartile que l'on peut lire ne permet pas d'approximer la moyenne des résultats, car le nombre d'animaux par groupe n'est pas assez important (5 souris min par groupe). Les nombres d'adénomes classés en « petite taille » et « grande taille » sont disponibles par groupe d'animaux, mais les résultats sont formulés en médiane (minimum - maximum), ce qui ne permet pas de les analyser avec le logiciel Revman.

L'étude de Verghese *et al.* 2005 [134] a été exclue, car elle fournit un histogramme représentant le nombre d'ACF total dans le colon des rats, mais les chiffres illustrés ne correspondent pas au nombre total d'ACF dans le colon des rats du groupe contrôle (seule valeur donnée dans le texte). L'histogramme correspond en réalité aux chiffres décrivant le nombre total de cryptes aberrantes dans le colon des rats (donnés dans un tableau). Il n'est donc pas possible d'obtenir la moyenne du nombre total d'ACF pour chaque groupe de rat.

Les autres essais ont été inclus dans la méta-analyse.

3) Calculs de certaines valeurs non directement fournies

Souvent, les résultats étaient présentés sous la forme d'une moyenne +/- l'erreur standard. Nous avons donc calculé l'écart-type selon la formule : $SD = SE \times \sqrt{N}$ (SD standard deviation = écart-type ; SE standard error = erreur standard ; N nombre d'animaux par groupe). Une étude (Reddy 1997 [89]) ne fournissait pas le nombre de rats par groupe d'animaux. Ces valeurs ont été retrouvées avec l'aide du Pr. D. Corpet, en les déduisant des moyennes, de leur écart-type et des valeurs de p.

Dans un cas les valeurs utiles pour le programme étaient divisées en sous catégories. Il s'agit de la publication de Hsu 2004 [121], qui présente le nombre d'ACF par taille (ACF composé de une, deux, trois ou plus de quatre cryptes) mais pas le nombre total d'ACF dans le colon des rats. Nous avons calculé ce nombre total en sommant les moyennes des différentes catégories (un ACF ne pouvant appartenir à deux catégories à la fois). L'écart-type de la somme des moyennes a été calculé d'après la formule :

$$\sigma = \sqrt{\sum_{n=1}^N \sigma_n^2} \quad \text{avec } N = \text{nombre de moyennes sommées}$$

4) méthode d'analyse des données

Nous avons mis en place trois comparaisons afin de répondre au trois sous-hypothèses de départ (II.1.a ; II.1.b ; II.2)

- a) Nombre total d'ACF dans le colon des rats et souris³ en fonction de leur régime : contrôle ou comportant de l'oligofructose (FOS)

Dans une première analyse, nous avons entré les résultats (nombre d'animaux par traitement, moyennes de l'effet et écart-type) des essais déterminant le nombre d'ACF induits en fonction du régime : contrôle ou comportant un pourcentage d'oligofructose. Nous avons étudié les résultats en les divisant en deux sous-catégories : faible pourcentage (5 ou 6%) d'oligofructose dans l'alimentation (études de Buecher *et al.* 2003 [118], Hsu *et al.* 2004 [121], Perrin *et al.* 2001 [128] et Poulsen *et al.* 2002 [129]) et fort pourcentage (10 ou 15%) d'oligofructose dans l'alimentation (études de Buddington *et al.* 2002 [117], Jacobsen *et al.* 2006 [122], Poulsen *et al.* 2002 [129], et Reddy *et al.* 1997 [89]).

Les essais qui présentaient deux séries de résultats, par exemple en fonction de la date de sacrifice des animaux, ont été entrés plusieurs fois avec des noms et des résultats différents (Par exemple, Jacobsen *et al.* proposent des résultats pour le groupe « contrôle » et le groupe « oligofructose » quand les rats sont sacrifiés soit la semaine 9, soit la semaine 32 de l'expérience. Il y a donc deux lignes Jacobsen dans le tableau d'analyse : Jacobsen.w9 et Jacobsen.w12).

Nous avons autorisé le programme à présenter le résultat total en ajoutant les deux sous-catégories (faible et fort pourcentage). Cela permet de combiner plus d'études et d'avoir une idée de l'effet global de l'oligofructose ; cependant cet effet est à relativiser car certaines études présentaient le nombre total d'ACF pour un groupe de rats « contrôle » et deux groupes « oligofructose » à des doses différentes. En combinant les deux sous-catégories, certains groupes « contrôle » sont donc pris en compte deux fois.

³ Une étude (Buddington *et al.*) étudie le régime FOS sur des souris ayant reçu un carcinogène (DMH). Le protocole étant identique à celui des autres études, nous l'avons incluse.

- b) Nombre total d'ACF dans le colon des rats en fonction de leur régime : contrôle ou comportant de l'inuline

Dans cette deuxième analyse, l'effet de l'inuline a été étudié selon le même schéma que pour l'oligofructose. Nous avons analysé deux sous-catégories (faible pourcentage : 5% et fort pourcentage 10 ou 15%). Les essais étudiant l'effet d'un faible pourcentage sont : Bolognani *et al.* 2003 [116], Poulsen *et al.* 2002 [129], Rowland *et al.* 1998 [131], Verghese *et al.* 2002b [133]. Ceux étudiant les effets d'un pourcentage d'inuline plus important sont : Buddington *et al.* 2002 [117], Jacobsen *et al.* 2006 [122], Poulsen *et al.* 2002 [129], Rao *et al.* 1998 [130], Reddy *et al.* 1997 [89], Verghese *et al.* 2002a [132] et Verghese *et al.* 2002b [133].

Comme pour la première analyse, certains auteurs présentent deux ensembles de résultats et sont donc présentés sur deux lignes différentes.

Le total des sous-catégories entraîne également la duplication de certains groupes de rats « contrôle ».

- c) Nombre total d'adénomes dans le petit intestin des souris min en fonction du régime : contrôle ou comportant un β -fructane (inuline ou FOS)

Dans une troisième analyse nous avons entré les résultats des quatre essais déterminant le nombre d'adénomes dans le petit intestin des souris min. Ces essais sont ceux de Kettunen *et al.* 2003 [123], Mutanen *et al.* 2000 [126], Pajari *et al.* 2003 [127], Pierre *et al.* 1997 [1114]. En raison du faible nombre d'études pour ce paramètre, nous avons décidé d'analyser dans une même catégorie l'inuline et l'oligofructose (Ces deux molécules ne diffèrent que par la longueur de leurs chaînes ; nous avons donc fait l'hypothèse que leur effet était de même type).

V) Résultats et Discussion

1) Résultats

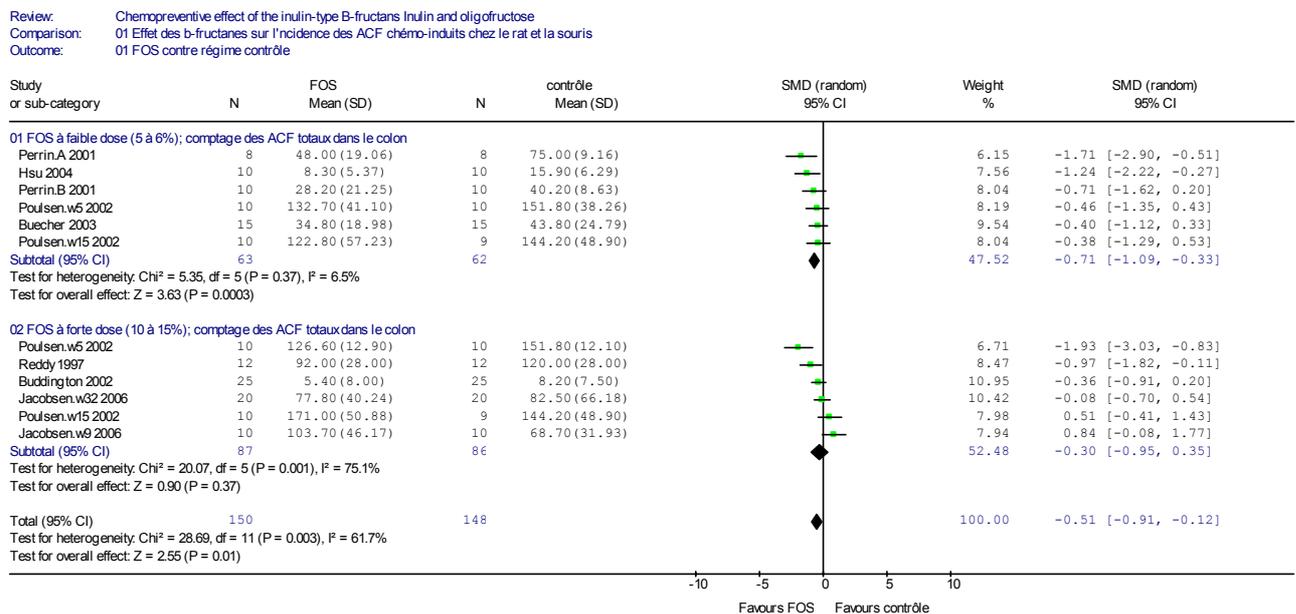
- a) Nombre total d'ACF dans le colon des rats en fonction de leur régime : contrôle ou comportant de l'oligofructose (FOS)

Les données ne présentaient d'hétérogénéité que pour la sous-catégorie « fort pourcentage » ($p = 0.01$). Nous avons choisi le modèle « random effect » (aléatoire) pour les deux sous-catégories afin d'avoir une analyse homogène des résultats. Pour ce faire, nous avons considéré que dans tous les essais la distribution des animaux dans les groupes de traitement était randomisée, bien que seule une partie des études le précisent dans la partie matériel et méthode (Cf. supra Partie 4. III. 2.)

La méta-analyse pour les publications étudiant l'effet de l'oligofructose à des doses de 5 ou 6%, avec un intervalle de confiance de 95%, montre une diminution des ACF significative (différence de moyenne = SMD = -0,71 [-1.09, -0.33], $p < 0.01$). La méta-analyse pour les publications étudiant l'effet de l'oligofructose à 10 ou 15% montre une diminution du nombre total d'ACF dans le colon des rats, mais de façon non significative (SMD = -0.30 [-0.95, 0.35], $p = 0.1$). Cependant le total de ces deux résultats est une réduction significative du nombre d'ACF dans le colon : SMD = -0.51 [-0.91, -0.12] $p = 0.01$.

Comme ce total des deux sous-catégories prend plusieurs fois en compte certains groupes « contrôle », nous avons examiné les résultats en retirant de la méta-analyse les données redondantes. Nous avons retiré de la sous-catégorie « faible pourcentage » les données des publications apparaissant également dans « fort pourcentage » (Poulsen *et al.* 2002 [129]). L'effet total des deux sous-catégories reste significatif (SMD = -0.54 [-1.01, -0.07] p = 0.02). Le résultat d'une méta-analyse utilisant les données de Poulsen *et al.* 2002 [129] seulement dans la sous-catégorie « faible pourcentage » est également significatif (SMD = -0.48 [-0.95, -0.12] p < 0.01).

Une méta-analyse de ces 7 publications montre donc une diminution significative du nombre total d'ACF dans le colon des rats ayant reçu un régime contenant un pourcentage en poids variable de FOS, par rapport aux rats recevant une alimentation « contrôle » (voir graphique 1)



Graphique 1- Méta-analyse de l'effet des FOS sur le nombre total d'ACF dans le colon des rats.

b) Nombre total d'ACF dans le colon des rats en fonction de leur régime : contrôle ou comportant de l'inuline

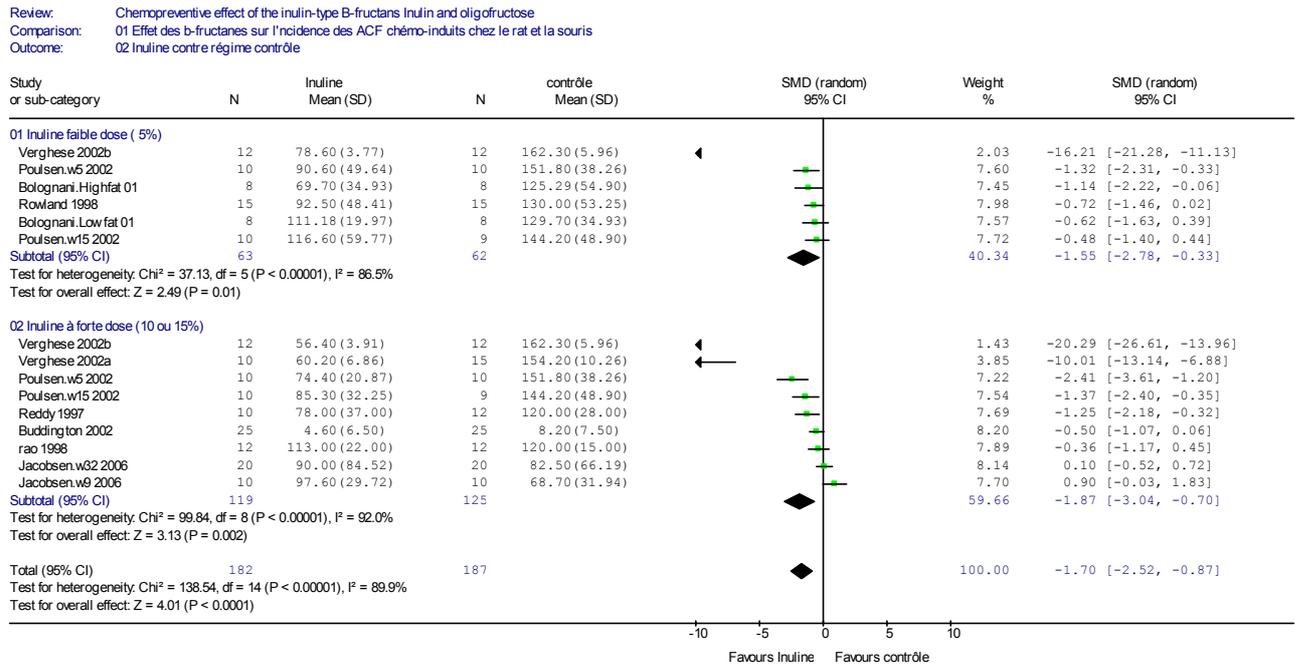
Les données étant hétérogènes pour les deux sous-catégories (p < 0.00001), nous avons choisi le modèle aléatoire.

La méta-analyse de deux sous-catégories faible et fort pourcentage révèle une diminution significative du nombre d'ACF dans le colon des rats (faible pourcentage : SMD = -1.55 [-2.78, -0.33], p = 0.01 ; Fort pourcentage : SMD = -1.87 [-3.04, -0.70], p = 0.02). L'analyse du total montre également un résultat significatif (SMD = -1.70 [-2.52, -0.87], p < 0.01).

De nouveau, ce résultat prend en compte plusieurs fois certains groupes « contrôle », car les publications de Poulsen *et al.* 2002 [129] et de Verghese *et al.* 2002b [133] ont deux groupes « inuline » à des doses différentes mais un seul groupe « contrôle ». Si on retire les données obtenues avec des doses faibles dans ces deux publications, on obtient un résultat total qui reste significatif (SMD = -1.42 [-2.27, -0.57], p = 0.01). De plus, les données

restantes dans la sous-catégorie « faible pourcentage » ne sont plus hétérogènes ($p = 0.76$). Si on retire seulement les données obtenues avec des doses fortes dans ces études, le total est toujours significatif (SMD = -1.22 [-2.00, -0.43], $p < 0.01$).

Une méta-analyse de ces 9 publications montre donc une diminution significative du nombre total d'ACF dans le colon des rats ayant reçu un régime contenant un pourcentage en poids variable d'inuline, par rapport au rats recevant une alimentation « contrôle » (graphique 2)



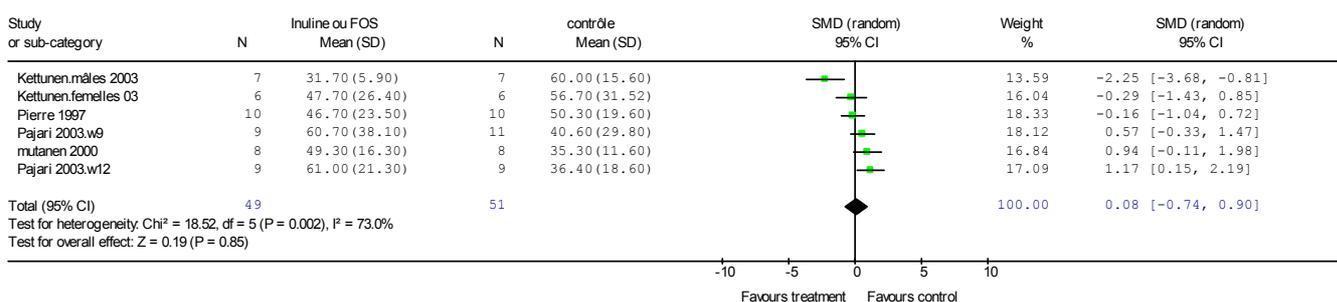
Graphique 2- Méta-analyse de l'effet des FOS sur le nombre total d'ACF dans le colon des rats. Les études à faible dose ayant le même groupe contrôle que des études à fortes doses ont été exclues.

- c) Nombre total d'adénomes dans l'intestin des souris min en fonction de leur régime : contrôle ou comportant un $\beta(2-1)$ fructane (inuline ou FOS)

Les données sont hétérogènes ($p = 0.002$). Nous avons donc choisi de les analyser selon le modèle aléatoire.

L'analyse des quatre publications retenues conduit à un résultat de légère hausse du nombre d'adénomes dans le petit intestin des souris min mais de façon non significative (SMD = 0.08 [-0.74, 0.90], $p = 0.85$). Les résultats sont présentés dans le graphique 3.

Review: Chemopreventive effect of the inulin-type B-fructans Inulin and oligofructose
 Comparison: 02 Effet des b-fructanes sur les adénomes chez les souris min
 Outcome: 01 nombre d'adénomes dans le petit intestin



Graphique 3- Méta-analyse de l'effet des $\beta(2-1)$ fructanes à dose et longueur de chaînes variable sur le nombre total d'adénomes dans le petit intestin des souris min.

Si on retire de la méta-analyse la publication Pierre *et al.* 1997 [114] (qui est la seule des quatre à étudier l'effet de l'oligofructose), l'augmentation du nombre d'adénomes est un peu plus marquée mais toujours pas significative (SMD = 0.11 [-0.91, 1.14], p = 0.83).

2) Hétérogénéité des données

Cette hétérogénéité indique que les molécules étudiées ont un effet différent d'une étude à l'autre. Dans certains cas, le fait de retirer certains essais de l'analyse peut rétablir l'homogénéité des données ; on peut alors envisager que ces essais ne correspondent pas tout à fait aux autres, pour des raisons variées.

Par exemple, on constate que si on exclut la publication de Verghese *et al.* 2002b [133], les données deviennent homogènes pour la sous-catégorie « faible pourcentage » dans la comparaison Inuline – Contrôle. En comparant de façon intuitive les SMD individuelles de chaque essai dans cette sous-catégorie, on s'aperçoit que celle correspondant à cette étude n'est pas du même ordre de grandeur que les autres (-16.21 contre des valeurs allant de -1.32 à -0.48). On peut donc mettre en question la fiabilité des données de cette étude.

Exclure les deux publications Verghese *et al.* 2002a [132] et 2002b [133] dans la sous-catégorie « fort pourcentage » de la comparaison Inuline – Contrôle fait passer la valeur p du test d'hétérogénéité de inférieur à 0.00001 à p = 0.0001 et la valeur I² (donnant une idée de l'impact de l'hétérogénéité sur l'analyse) de 92.0% à 77.9%. L'hétérogénéité ne disparaît pas mais diminue notablement. Si on compare les SMD de chaque essai dans cette sous-catégorie « fort pourcentage », celle des publications de Verghese *et al.* semblent également différer beaucoup des autres : -20.29 et -10.01 contre des valeurs allant de -2.41 à 0.90.

Ces constatations nous amènent à envisager que ces deux publications (Verghese *et al.* 2002a [132] et 2002b [133]) comportent un biais important. Il est donc intéressant de vérifier les résultats de l'analyse si ces essais sont ignorés. Si on exclut ces données, la sous-catégorie « faible pourcentage » en inuline présente un effet moins important mais toujours significatif (SMD = -0.82 [-1.23, -0.41] p = 0.001 au lieu de SMD = -1.55), mais la sous-catégorie « fort pourcentage » en inuline ne présente plus un effet significatif (SMD = -0.63 [-1.29, 0.03] p = 0.06). Cependant l'analyse globale des essais toutes doses confondues et sans groupe contrôle redondant révèle une diminution du nombre d'ACF qui reste significative (SMD = -0.67 [-1.15, -0.19] p = 0.007). Ainsi en basant la méta-analyse sur 7 essais on constate que l'inuline a un effet significatif sur le nombre d'ACF chez les rats ayant reçu un carcinogène.

Les données de certaines sous-catégories demeurent hétérogènes. Cela peut s'expliquer en grande partie par la diversité des souches d'animaux : rats Fisher 344, rats

Sprague–Dawley, souris de souche B6C3F1..., par le carcinogène se présentant sous deux formes différentes : injection d'azoxymethane (AOM) ou gavage avec du 1,2-diméthylhydrazine (DMH), par les différents régimes « contrôle » : type « régime occidental » pauvre en fibre et riche en énergie AIN76A, type normal AIN 93G... Généralement le régime « contrôle » ne diffère du régime « traitement » que par la source de fibres : inuline ou oligofructose pour le régime « traitement » et cellulose, amidon de maïs, ou autre pour le régime « contrôle ». Il y a donc de nombreuses sources de variations d'un essai à l'autre.

3) Discussion : l'effet de l'inuline et de l'oligofructose sur le nombre d'ACF chez le rat

a) Un effet protecteur dans le modèle de chimio-induction par substance cancérigène

Les méta-analyses des essais concernant les effets de l'oligofructose et de l'inuline sur les ACF chez les rats ayant été traités par un carcinogène concordent. Ces effets sont significatifs, un régime enrichi en oligofructose ou inuline diminue le nombre de ces ACF. L'inuline semble avoir un effet légèrement plus fort que l'oligofructose.

Un effet plus ou moins marqué en fonction de la dose utilisée

L'analyse en sous-groupes montre que l'effet de diminution du nombre total d'ACF est plus marqué avec des pourcentages en oligofructose faibles (5 à 6% du poids alimentaire) qu'avec des pourcentages forts (10 à 15%). On remarque le même phénomène avec l'inuline dans l'analyse excluant les publications de Verghese *et al.* [132] [133].

Des publications mettent en évidence cette différence d'effet en fonction de la dose. Femia *et al.* ont montré qu'une diète constituée de 20% d'oignon augmentait la carcinogénèse chez les rats (Femia *et al.* 2003 [135]) ; et Taché *et al.* ont trouvé que 5% d'oignon dans le régime des rats réduisait le nombre total d'ACF chimio-induits (Taché *et al.* 2007 [136]). L'oignon est l'un des végétaux qui contiennent des $\beta(2-1)$ fructanes. Une dose trop importante empêcherait donc l'effet bénéfique sur le risque de cancer, voire serait délétère.

Il faut également noter que nous avons analysé l'ensemble des études sans tenir compte de la séquence d'administration des régimes (avant ou après l'initiation par carcinogène). Or dans l'analyse des effets de l'oligofructose à faibles doses comprend une seule étude sur 6 où le traitement est administré avant le carcinogène (Buecher *et al.* 2003 [118]), tandis que pour l'analyse de l'oligofructose à fortes doses, il y en a 3 sur 6 (Buddington *et al.* 2002 [117], Jacobsen *et al.* 2006 [122], Reddy *et al.* 1997). De même, pour l'inuline, il n'y a aucune étude sur 5 de l'analyse des effets à faibles doses où le traitement est administré avant le carcinogène, mais il y en a 4 sur 7 dans le groupes des études « à fortes doses » (Buddington *et al.* 2002 [117], Jacobsen *et al.* 2006 [122], Rao *et al.* 1998 et Reddy *et al.* 1997). On pourrait envisager un effet délétère de l'oligofructose et de l'inuline pendant la phase d'initiation, qui diminuerait les bénéfices sur le nombre d'ACF par la suite. Cependant cette hypothèse ne concorde pas avec les résultats de l'étude de Poulsen *et al.* [] qui montre une meilleure protection chez les rats ayant reçu de l'oligofructose en pré-traitement (Cf. Infra, 3c.).

Les oligosaccharides non digestibles ayant des propriétés laxatives (Harris et Ferguson 1999 [48]), il est envisageable qu'une dose importante accélère le transit de façon trop sensible. La flore du colon aurait moins de temps pour utiliser l'inuline et l'oligofructose comme substrats, et le temps de contact des produits de fermentations avec la muqueuse du colon serait diminué

b) Mécanismes possibles de l'effet protecteur de l'oligofructose et de l'inuline

Comment expliquer la diminution du nombre d'ACF dans le colon des rats traités par carcinogène? Les données actuelles suggèrent que de nombreux facteurs interagissent dans le cadre de l'effet d'une substance sur le risque cancéreux (Klurfeld 1997 [137]). L'inuline et l'oligofructose sont impliqués dans plusieurs aspects de la protection contre le cancer du colon.

La formation de produits de fermentation potentiellement bénéfiques

La fermentation de carbohydrates non digestibles a été corrélée à une diminution du risque du cancer du colon et du gros intestin (Cassidy *et al.* 1994 [138]). L'étude de Jacobsen *et al.* met en évidence une diminution du nombre et de l'incidence des tumeurs chimio-induites chez les rats recevant de l'oligofructose et de l'inuline, comparés à ceux recevant des carbohydrates hautement digestibles (sucrose et amidon de maïs) (Jacobsen *et al.* 2006 [122]). Cette fermentation a plusieurs conséquences. La stimulation quantitative et qualitative d'une microflore bactérienne spécifique par l'oligofructose a été mise en évidence par Perrin *et al.* (Perrin *et al.* 2001 [128]). Cette fermentation produit des acides gras à chaînes courtes, en particulier l'acide butyrique pour l'oligofructose et l'acide propionique pour l'inuline. Or l'acide butyrique est le substrat privilégié de la muqueuse du colon, et il a été suggéré qu'il soit protecteur contre les maladies du colon, dont le cancer. L'acide propionique, quant à lui, aurait des effets bénéfiques sur le métabolisme des carbohydrates et des lipides (Nyman 2002 [139]).

L'inuline et l'oligofructose sont également capables d'augmenter le poids des matières fécales. Cette augmentation est quantifiée par le « bulking index » de ces molécules, c'est-à-dire l'augmentation journalière du poids des matières fécales en grammes divisée par la prise journalière d'oligofructose ou d'inuline en grammes. Des études menées chez l'homme ont fourni des valeurs de ce « bulking index » allant de 1.0 à 1.2 pour l'oligofructose et de 1.5 à 2.1 pour l'inuline (Nyman 2002 [139]). Cette augmentation du poids des matières fécales pourrait jouer un rôle protecteur contre les carcinogènes présents dans l'alimentation, ainsi que ceux dérivés des acides biliaires, en les diluant et en diminuant le temps de contact avec la muqueuse (des études ayant mis en évidence une augmentation de la fréquence des selles pas l'oligofructose et l'inuline ; voir Nyman 2002 [139]). Enfin, cette fermentation entraîne une diminution du pH du colon, ce qui crée un environnement néfaste pour les bactéries pathogènes telles que *Clostridium perfringens* (Voir Partie 1, III) 5) d.) (Campbell *et al.* 1997 [57], Gibson et Roberfroid 1995 [83]).

La différence de longueur des chaînes entre inuline et oligofructose explique peut-être leur différence d'effet. L'inuline ayant une chaîne plus longue serait fermentée plus distalement dans le colon, ses produits de fermentation seraient donc en contact avec un plus grand nombre d'ACF (Poulsen *et al.* 2002 [129]).

Le rôle de prébiotiques

Il a été avancé que l'inuline et l'oligofructose jouaient le rôle de « prébiotiques ». En effet, l'inuline et l'oligofructose augmentent la proportion de *Bifidobacterium spp* chez le rat (Campbell *et al.* 1997 [57]). Dans des études menées chez l'homme, la prise journalière de 15g d'inuline ou d'oligofructose a augmenté de façon significative la population de *Bifidobacterium* et diminué celle de bactéries pathogènes (Gibson et Roberfroid 1995 [83]). Ces bactéries bifidogéniques ont la propriété de fermenter leurs substrats pour produire de

l'acide lactique, diminuant ainsi le pH dans le colon. Certaines études suggèrent que des probiotiques (souches de *Lactobacillus* et de *Bifidobacterium*) ont un effet protecteur contre les cancers chimio-induits chez le rat (Reddy *et al.* 1993 [140], Singh *et al.* 1997 [141], Goldin *et al.* 1996 [142]). Cependant, cet effet n'est pas absolu et semble dépendre de la dose et des conditions expérimentales (Brady *et al.* 2000 [143]). Le rôle de prébiotiques de l'inuline et de l'oligofructose permettrait donc d'améliorer la santé du tractus intestinal, et éventuellement de diminuer le risque cancéreux. Femia *et al.* ont trouvé que l'administration conjointe d'inuline et de probiotiques conduisait à un effet protecteur supérieur à ceux de l'inuline et des probiotiques donnés indépendamment (Femia *et al.* 2002 [72]). Rowland *et al.* en 1998 et Gallaher et Khil en 1999 ont obtenus des résultats similaires (Rowland *et al.* 1998 [131] et Gallaher et Khil 1999 [120]).

Effet sur l'apoptose

Une autre mode d'action suggéré pour l'inuline et de l'oligofructose dans la prévention du cancer colorectal serait l'augmentation de l'apoptose dans la muqueuse du colon. Hughes et Rowland ont trouvé un nombre de cellules apoptotiques par crypte du colon significativement supérieur chez les rats ayant reçu de l'inuline ou de l'oligofructose par rapport aux rats contrôles. L'apoptose était significativement plus importante dans le colon distal, par rapport au colon proximal, pour tous les animaux (Hughes *et al.* 2001 [87]).

- c) Il existe peut-être une différence d'action selon le schéma d'administration

Selon les expériences, les rats ont reçu de l'inuline ou de l'oligofructose soit pendant la phase d'initiation de la cancérogenèse (rats recevant les traitements avant l'induction), soit pendant la phase de promotion (traitement après l'induction) soit pendant les deux phases. Bien qu'il ait été suggéré que l'effet de ces substances soit plus marqué si elles sont administrées pendant la phase de promotion (Pool-Zobel *et al.* 2002 [144]), cette méta-analyse ne rassemble pas assez d'essais de chaque type pour permettre une analyse en fonction de la phase d'administration.

Poulsen *et al.* ont étudié plusieurs sous-catégories de traitements, notamment en donnant de l'oligofructose ou inuline soit à partir de 3 semaines avant l'injection du carcinogène et jusqu'au sacrifice des animaux, soit seulement pendant et après l'injection du carcinogène. Le nombre total d'ACF a été significativement réduits chez les rats recevant de l'inuline par rapport au groupe contrôle, quel que soit le schéma expérimental. Mais pour l'oligofructose, seul le groupe ayant reçu le prétraitement de trois semaines a montré une diminution significative du nombre d'ACF dans le colon (Poulsen *et al.* 2002 [129]). Ces résultats vont donc dans le sens d'un effet supérieur si l'inuline et l'oligofructose sont présents dans l'alimentation pendant la phase de l'initiation. Cependant les rats ayant reçu de l'oligofructose sans prétraitement ont présenté une diarrhée plus importante au moment de l'administration du DMH que les rats ayant reçu de l'oligofructose avant cette administration. Cette diarrhée pourrait être due à une perturbation de l'intestin au moment du changement de régime simultané avec l'administration de DMH. Elle pourrait expliquer l'effet moins protecteur de l'oligofructose.

L'essai de Verghese *et al.* en 2002 montre que l'effet d'une supplémentation en inuline pendant la phase d'initiation serait aussi important que celui d'une supplémentation pendant la phase de promotion (Verghese *et al.* 2002b [133]). Cependant notre analyse a montré que cette étude comporte peut-être un biais (voir V) 2)a.).

Plus de données sur l'action de ces substances en fonction de la phase de cancérogenèse pourraient fournir des indices quant à leurs modes d'action.

d) Intérêt du nombre ACF en tant que marqueurs de la cancérogenèse

Bien qu'il ait été suggéré que les ACF soient des marqueurs préneoplasiques du cancer du colon (Bird 1987 [93]), des doutes subsistent : le nombre d'ACF est-il réellement prédictif du risque de cancer ? Les essais recherchant les effets de l'inuline et/ou de l'oligofructose sur les rats chimio-induits mettent en évidence des résultats contradictoires. En effet, certaines études montrent un effet nul de l'inuline ou une augmentation pour les ACF, mais une diminution du nombre de tumeurs dans le colon à terme (Jacobsen *et al.* 2006 [122], Caderni *et al.* 2003 [101]). Il a été décrit une augmentation de la prolifération cellulaire dans certains ACF, ainsi que des altérations génétiques pour les gènes β -caténine et/ou *K-ras* (Yamada *et al.* 2000 [105]). Il est possible que seule une fraction des ACF présents dans le colon puisse conduire au développement de lésions cancéreuses (Yamada *et al.* 2001 [106]).

La multiplicité des cryptes

La multiplicité des cryptes des ACF (nombre de cryptes/ACF) pourrait être un marqueur plus précis du développement tumoral (Magnuson *et al.* 1993 [145]). Certaines des publications que nous avons rassemblées pour cette méta-analyse comparaient le nombre d'ACF constitués de plus de quatre cryptes aberrantes en fonction du régime (avec ou sans inuline/oligofructose). L'analyse des données disponibles montre une augmentation du nombre de grands foyers avec l'inuline (SMD = 3.80 [-0.36, 7.24], $p = 0.03$), et pas d'effet significatif avec l'oligofructose (SMD = -1.14 [-2.71, 0.42], $p = 0.15$). À première vue ces résultats sont contradictoires avec ceux de l'analyse globale. Si les ACF comprenant un grand nombre de cryptes aberrantes sont plus prédictives du risque cancéreux que le nombre total d'ACF, l'inuline serait augmenter en fait le risque de cancer et l'oligofructose n'aurait aucun effet. Cependant, il convient de relativiser ces résultats. Peu de publications fournissaient le nombre de grands ACF : nous n'avons inclus que 5 essais pour l'inuline (Reddy 1997 [89], Rao 1998 [130], Rowland 1998 [131], Poulsen 2002 [129] et Jacobsen 2006 [122]) et 5 pour l'oligofructose (Reddy 1997 [89], Poulsen 2002 [129], Buecher 2003 [118], Hsu 2004 [121] et Jacobsen 2006 [122]). Les essais à doses différentes ont été analysés ensemble ; or dans la méta-analyse sur le nombre total d'ACF, seule les doses faibles avaient un effet significatif.

e) Effet sur d'autres biomarqueurs

Les MDF

Pour préciser le rôle protecteur de l'inuline et de l'oligofructose, il serait intéressant d'étudier leur effet sur d'autres marqueurs de la cancérogenèse, tels que les « mucin-depleted foci » (MDF, voir partie 1, II) 2)b.). À ce jour, un essai sur le sujet a été publié (Caderni *et al.* 2003 [101]). Dans cette étude, le nombre de MDF chimio-induits est significativement diminué par l'ajout dans la ration alimentaire d'une association d'inuline, de *Lactobacilli* et de *Bifidobacteria*. L'essai ne comprend pas de groupes d'animaux recevant seulement de l'inuline ou un probiotique, il est donc difficile d'attribuer cet effet à l'un, l'autre ou à l'action combinée du prébiotique et du probiotique ; cependant il est intéressant de remarquer que cette association a également diminué le nombre de tumeurs par rats ainsi que le nombre de rats portant des tumeurs.

Effet sur le nombre de tumeurs

Le nombre de tumeurs induites chez le rat par carcinogène est un marqueur beaucoup plus direct de la carcinogenèse. Cependant peu d'études rapportent l'effet des oligosaccharides et de l'inuline sur ce critère. Femia *et al.* ont montré un effet protecteur d'un mélange d'inuline et d'oligofructose, associé ou non à des probiotiques. (Femia *et al.* 2002 []). Jacobsen *et al.* ont également mis en évidence un effet protecteur sur l'incidence des tumeurs chez les rats recevant de l'oligofructose par rapport aux rats recevant de l'amidon de maïs ou du sucrose. Les groupes traités avec de l'inuline ou de l'oligofructose avaient moins de tumeurs par rat que les groupes contrôles (Jacobsen *et al.* 2006 [122]).

4) Discussion : l'effet de l'inuline et de l'oligofructose chez les souris min

a) Des résultats non significatifs

L'analyse du nombre d'adénomes chez les souris min recevant un régime enrichi en oligofructose ou en inuline montre une légère augmentation de ce nombre, non significative. Il est difficile de tirer des conclusions de ces résultats, en raison du faible nombre d'études qui mesuraient le nombre d'adénomes dans le petit intestin des souris min (3 pour l'inuline et 1 pour l'oligofructose).

b) Une grande diversité des effets mesurés rend l'analyse complexe

Les effets de l'inuline sur les adénomes dans l'intestin des souris min ont été étudiés dans plusieurs publications, dont les auteurs appartiennent pour la plupart à l'équipe Finlandaise de M. Mutanen (du département de chimie et de microbiologie appliquées de l'Université de Helsinki). Il est difficile de se faire une idée globale, car ces publications examinent plusieurs paramètres : le nombre d'adénomes dans le petit intestin, le nombre d'adénomes dans le colon ou dans tout l'intestin, la taille de ces adénomes, le nombre d'adénomes de petite, moyenne ou grande taille...

Quel effet sur le nombre d'adénomes ?

Parmi les publications étudiant le nombre d'adénomes dans le petit intestin, une seule montre une augmentation significative de ce nombre chez les souris min recevant de l'inuline par rapport au groupe contrôle (Pajari *et al.* 2003 [127]) ; les autres publications décrivent soit une augmentation non significative, soit une diminution non significative de ce nombre d'adénomes (Mutanen *et al.* 2000 [126], Kettunen *et al.* 2003 [123]). L'essai de Pierre 1997 montre une augmentation du nombre de tumeurs dans le petit intestin des souris min recevant de l'oligofructose par rapport au groupe contrôle, mais une diminution significative du nombre de tumeurs dans le colon (Pierre *et al.* 1997 [114]), ce qui a conduit les auteurs à envisager une action spécifique de l'oligofructose dans le colon, via sa fermentation et la stimulation de bactéries bifidogéniques. Si l'oligofructose agit par le biais de la flore bactérienne, il est normal d'observer un effet dans le colon et non dans l'intestin grêle.

La taille des adénomes

Les publications de l'équipe scientifique Finlandaise étudiant la taille des adénomes dans le jéjunum présentent également des résultats variables. Pajari *et al.* 2003 [127],

Misikangas *et al.* 2005 [124], Misikangas *et al.* 2007 [125] rapportent une taille des adénomes significativement augmentée par rapport au groupe contrôle. Cependant ces trois études présentent la différence de taille sous forme de box plot ; nous n'avons donc pas accès aux moyennes de ces tailles. Il est donc possible que la distribution de ces données ne soit pas normale, ce qui en complique l'interprétation. Kettunen *et al.* montrent une augmentation significative de la taille des adénomes chez les souris min recevant de l'inuline par rapport à deux autres groupes (contrôle et recevant du bœuf) ainsi qu'une augmentation de la proportion des adénomes de grande taille (Kettunen *et al.* 2003 [123]). Mutanen *et al.* examinent également les proportions d'adénomes classés selon leur taille et ne trouvent pas de différence significative entre les groupes d'animaux (Mutanen *et al.* 2000 [126]). On ne peut donc pas affirmer avec certitude que l'inuline ou l'oligofructose augmentent la croissance des adénomes chez la souris min. De plus, il s'agit d'un critère utilisé par une seule équipe scientifique ; il est totalement différent des marqueurs étudiés par les autres équipes. On peut également critiquer la validité du modèle « souris min » (Cf. Infra 5.b.)

Effet sur les protéines impliquées dans l'hyperplasie

Ces publications concernent également des caractéristiques moléculaires de la muqueuse intestinale des souris min, en particulier les taux des protéines jouant un rôle important dans les signaux transcellulaires et l'hyperplasie. Le tissu des adénomes dans le petit intestin des souris min consommant de l'inuline présenterait une accumulation de β -caténine dans le cytosol mais pas dans le nucléus (Pajari *et al.* 2003 [127]). Misikangas *et al.* 2007 [124] ont mis une évidence une différence des taux de β -caténine membranaires et nucléaires, ainsi que des taux membranaires en E-cadhérine, entre les adénomes de petite et moyenne taille et les adénomes de grande taille chez les souris min recevant 10% d'inuline dans leur alimentation, phénomène qui n'était pas présent dans le groupe contrôle. Cette augmentation corrélée à la taille des adénomes concernerait également la cycline D1, une autre protéine impliquée dans les voies de signalisation transcellulaire. Cependant ces résultats présentent des variations interindividuelles assez importantes. La β -caténine nucléaire agit sur des gènes régulant la prolifération tumorale et la malignité. Par ailleurs, la cycline D1 ne serait pas une cible de la β -caténine et l'augmentation du taux de cycline D1 pourrait jouer un rôle important dans le développement et la croissance des adénomes plutôt que dans l'initiation (Sansom *et al.* 2005 [147]). L'augmentation des taux de β -caténine et de cycline D1 dans les adénomes de plus grande taille chez les souris min ayant consommé de l'inuline suggèrent qu'il pourrait y avoir un impact du régime sur la croissance et le développement des adénomes, via la régulation de certains messagers cellulaires.

Modification de la flore

Enfin, il a été découvert que la présence d'inuline dans le régime de souris type « sauvage » non mutées pour le gène *Apc* et dans le régime de souris min, en addition d'augmenter la population de *Bifidobacterium* et de diminuer celle de *Clostridium*, conduit au développement d'une souche bactérienne jusqu'ici inconnue. Malgré ou à cause de cette modification des populations bactériennes, dans cette étude, l'inuline sembler augmenter la croissance des adénomes chez les souris min. Par conséquent, la flore bactérienne du colon est modifiée par l'inuline mais il reste important d'étudier les interactions de cette flore avec son hôte (Apajalahti *et al.* 2002 [147])

5) Discussion : comparaison des deux modèles et des résultats obtenus

- a) Les résultats des publications ne sont clairement significatifs que pour le modèle des rats chimio-induits

Les deux modèles murins semblent mettre en évidence un effet opposé des β -fructanes sur la cancérogenèse, mais seul le modèle d'ACF chimio-induits chez le rat (et la souris pour un essai) conduit à un résultat statistiquement significatif si on rassemble les essais dans une méta-analyse. L'absence de résultat significatif dans la méta-analyse des essais basés sur le modèle souris min ne signifie cependant pas que les conclusions tirées par certaines publications ne sont pas valables. En effet, peu de publications sont disponibles sur le sujet ; de plus, la diversité des approches (nombre ou croissance des adénomes...) ne permet pas d'avoir un grand nombre d'essais pour un critère particulier. La lecture intuitive des publications suggère que l'inuline -l'oligofructose n'ayant été étudié que dans un seul essai- promeut la multiplication et surtout la croissance des adénomes, peut-être par le biais de certaines protéines cytosoliques et nucléaires. Cependant, on ne peut se fier uniquement à cette impression, car la lecture approfondie des essais révèle une distribution des données qui souvent ne suit pas la loi Normale, ainsi qu'une grande variabilité interindividuelle ; combiné au fait que de part la nature de ces expériences les lots de souris min sont souvent de petite taille (de 8 à 15 souris par groupe), les moyennes ne sont pas interprétables (les résultats sont souvent présentés sous forme de box plot). Cela rend la plupart de ces essais impossibles à rassembler dans une analyse globale.

- b) Validité des modèles

Comme les deux modèles murins conduisent à des conclusions différentes, on peut se demander lequel des deux est le plus susceptible d'aider à comprendre les éventuels effets des β -fructanes chez l'homme, en terme de protection ou d'augmentation du risque du cancer du colon.

D'un point de vue moléculaire, les lésions observées chez les souris min peuvent être rapprochées de celles qui apparaissent chez l'Homme

Les adénomes apparaissant dans le modèle souris min présentent des similitudes avec l'aspect histologique des lésions préneoplasiques dans le cancer du colon de l'Homme. En effet, l'un des marqueurs les plus importants du risque du cancer du colon est la présence de polypes adénomateux (voir partie 1, II)3a.), lésions proches des adénomes se développant dans le petit intestin des souris min. De plus, le déterminisme génétique des tumeurs des souris min a des points communs avec le déterminisme génétique du cancer colorectal chez l'Homme (mutation du gène Apc de la souris, équivalent du gène APC de l'Homme impliqué dans beaucoup de cancers du colon ; gène p53...) Ces mutations des gènes Apc et p53 sont rarement présentes dans les tumeurs chimio-induites chez le rat (8% des adénocarcinomes et 0% des ACF induits par l'azoxyméthane chez le rat présentent la mutation Apc, et 0% présentent la mutation p53) (Takahashi *et al.* 2004 [148]). De plus, contrairement aux adénomes des souris min, les ACF ne présentent pas de concentration importante en β -caténine, phénomène associé à la majorité des cancers colorectaux et qui jouerait un rôle déterminant dans l'initiation de la carcinogenèse colorectale.

Cependant ces adénomes se forment dans le petit intestin des souris min, contrairement à l'homme chez qui les tumeurs se développent dans le colon et le rectum. Par conséquent, le modèle des souris min ne permet pas de mettre en évidence les effets chémo-

protecteurs qui s'exercerait spécifiquement dans le colon. Or c'est probablement le cas de l'inuline et de l'oligofructose.

Le modèle des rats soumis à un traitement carcinogène est peut-être plus adapté pour évaluer les effets protecteurs sur la muqueuse du colon

Les ACF induits par l'azoxyméthane se développent principalement dans le colon des rats, comme chez l'homme et à l'inverse de la souris min. La localisation de ces lésions laisse à penser qu'elles sont soumises à l'action de facteurs environnementaux du colon, tels qu'une flore microbienne variable, des produits de fermentation (par exemple acides gras à chaînes courtes), le pH, matières fécales, acides biliaires... à la fois chez l'homme et chez le rat. Ces éléments pourraient éventuellement être protecteurs pour le cancer induit chez le rat et pour le cancer colorectal de l'homme. Par ailleurs, le modèle murin par chimio-induction n'a pas un déterminisme moléculaire sans rapport avec les mutations observées chez l'homme. Les tumeurs et ACF induits par l'azoxyméthane chez le rat présentent des mutations du gène *K-ras*, gène également impliqué dans la cancérogenèse chez l'homme (Takahashi *et al.* 2004 [148]). De plus, les lésions induites par AOM chez le rat présentent souvent une instabilité des microsattellites.

6) Les effets de l'association des $\beta(2-1)$ fructanes et de probiotiques

Rowland *et al.* rapportent un effet protecteur et synergistique sur les ACF chimio-induits chez le rat de l'association de l'inuline et du probiotique *Bifidobacterium longum* (Rowland *et al.* 1998). L'effet protecteur de cette association était plus important que celui de l'inuline ou de *B. longum* seuls. En effet non seulement la réduction du nombre total d'ACF était plus importante chez les rats recevant de l'inuline et le probiotique que dans les autres groupes, mais seule cette association montrait une réduction significative du nombre de foyers comprenant plus de quatre cryptes aberrantes. Un autre essai vient confirmer ce résultat : dans l'étude de Gallaher et Khil, aucun des deux traitements indépendants oligofructose (2%) et *Bifidobacterium* ne montre d'effet significatif, mais la combinaison des deux (aux mêmes doses) réduit significativement le nombre d'ACF (Gallaher et Khil 1999 [120]). Enfin, un effet protecteur de l'association de l'inuline et de *Lactobacillus* sur le nombre de MDF et de tumeurs chimio-induits a également été rapporté (Caderni *et al.* 2003 [101], Cf. supra V.3.e.)

7) D'autres NDO prometteurs

Notre recherche dans les bases de données disponibles nous a permis de trouver des essais concernant les effets protecteurs contre le cancer colorectal de deux autres oligosaccharides non digestibles.

a) Le lactulose

Le lactulose ou 4-O-b-D-galactopyranosyl-D-fructofuranose est un disaccharide keto-analogue du lactose qui a été utilisé comme laxatif depuis plusieurs dizaines d'années, et qui a montré une capacité à stimuler le développement de *Bifidobacterium* chez l'Homme (Terada *et al.* 1992 [150]). Plusieurs études ont examiné ses effets sur la carcinogenèse chez le rat. Deux études indiquent un effet protecteur du lactulose concernant le nombre de tumeurs chimio-induites chez le rat (Samelson *et al.* 1985 [151] et Hennigan *et al.* 1995 [152]), une troisième ne relevant pas de modifications de ce paramètre (Ingram et Castleden 1980 [153]). Cependant dans ce dernier cas le lactulose était administré aux rats dans l'eau de boisson et

non dans l'alimentation. Taché *et al.* ont étudié le lactulose parmi d'autres laxatifs et n'ont pas détecté d'effet significatif sur le nombre d'ACF induits par l'azoxyméthane chez le rat (Taché *et al.* 2006 [154]), contrairement à Challa *et al.* qui ont montré une protection vis-à-vis du nombre d'ACF chimio-induits chez les rats consommant une alimentation enrichie en lactulose par rapport au groupe contrôle (Challa *et al.* 1997 [155]). Il est intéressant de remarquer que cette étude met aussi en évidence un effet synergistique de l'association du lactulose avec *Bifidobacterium longum*, qui a un effet protecteur plus important que l'administration du lactulose et de *B. longum* seuls.

Les études disponibles ne permettent pas de faire une méta-analyse en raison de leur faible nombre et de la variabilité de leurs protocoles. Il serait intéressant de mener plusieurs autres études sur le lactulose dans le modèle de la carcinogenèse chimio-induite chez le rat, afin de valider ses propriétés protectrices.

b) Les galacto-oligosaccharides

Un autre oligosaccharide non digestible semble présenter un intérêt en terme de chémo-prévention du cancer : le galacto-oligosaccharide (GOS). Deux études ont montré qu'une dose importante de GOS (20%) était plus protectrice qu'une dose faible (5%) chez des rats ayant reçu un carcinogène. Cet effet a été montré sur l'incidence, la multiplicité et la taille des tumeurs chimio-induites (Wijnands *et al.* 1999 [156]) ainsi que sur la multiplicité des ACF induits (Wijnands *et al.* 2001 [157]). Moins étudié jusqu'ici que l'inuline et l'oligofructose, ce NDO pourrait cependant présenter de nombreux intérêts, surtout si son effet est corrélé à la dose (ce qui semble ne pas être le cas pour l'inuline et l'oligofructose). D'autres essais doivent être menés, notamment pour comparer l'effet d'un régime contenant du GOS à celui d'un régime contrôle.

8) Quelle concordance avec les essais chez l'Homme ?

D'un point de vue empirique, aucun des deux modèles murins ne semble pouvoir prédire précisément l'effet d'une molécule sur le risque de cancer colorectal chez l'homme. Une méta-analyse effectuée pour comparer les effets de différentes substances chez l'homme et dans ces deux modèles murins a montré que les études menées avec des rats traités par un carcinogène donnaient des résultats concordants avec les essais chez l'homme pour certains produits (calcium, carotène...) mais pas tous (discordance avec le psyllium) ; de même pour le modèle souris min, qui ne semblait pas « meilleur » que le modèle rats chimio-induits (Corpet et Pierre 2005 [149])

a) Un essai clinique décrit les effets des FOS sur les patients atteints de cancers du colon

Un essai clinique (qui n'a pas été mené en double aveugle) a montré que la prise journalière de 10g de fructooligosaccharides à chaînes courtes pendant trois mois augmente les concentrations fécales en butyrate chez les patients ayant présenté un cancer du colon (Boutron-Ruault *et al.* 2005 [158]).

b) Des essais récents sur l'utilisation d'une association symbiotique chez l'homme

Deux essais cliniques randomisés en double aveugle publiés récemment ont montré que chez des patients polypectomisés ou atteints de cancer du colon et ayant subi une « chirurgie curative », la prise journalière de *Lactobacillus rhamnosus* et de *Bifidobacterium lactis* avec de l'inuline pendant plusieurs semaines avant et après l'intervention conduit

- à une l'augmentation de la capacité des cellules mononucléées à sécréter de l'interferon-gamma chez les patients atteints de cancer (Roller *et al.* 2007 [159] et Rafter *et al.* 2007 [160])
- à une réduction de la prolifération colorectale et de la capacité de l'eau fécale à induire la nécrose des cellules du colon chez les patients polypectomisés (Rafter *et al.* 2007 [160])
- l'amélioration des fonctions la barrière épithéliale ainsi qu'une exposition aux génotoxines moindre de la muqueuse du colon des patients polypectomisés (Rafter *et al.* 2007 [160])

c) Effets du lactulose chez l'homme

Une étude randomisée (mais pas en double aveugle) menée chez des patients ayant subi une polypectomie a montré que la prise journalière de 20 grammes de lactulose sur 18 mois réduisait de façon significative la récurrence des polypes adénomateux dans le gros intestin (RR= 0.41 (0.21-0.81) ; Roncucci *et al.* 1993 [161])

d) Essais en cours de réalisation

D'autres essais cliniques sont actuellement en cours. L'un d'entre eux envisage les éventuels effets protecteurs de l'inuline enrichie en oligofructose chez les patients présentant un risque élevé de cancer colorectal, en utilisant comme marqueurs les ACF observés en chromoendoscopie. Un second essai a pour sujet le traitement et/ou la prévention du développement des adénomes chez les personnes atteintes de FAP (informations téléchargées sur le site américain du National Cancer Institute sur [162])

Conclusion de la partie 4

La méta-analyse des essais sur les effets de l'inuline et de l'oligofructose sur les différents marqueurs de la cancérogenèse révèle une disparité entre les deux modèles murins, et donc une opposition radicale entre deux communautés scientifiques. L'une, se basant sur le modèle des lésions induites par un carcinogène chez le rat, avance des arguments en faveur d'un effet protecteur de l'inuline et de l'oligofructose. La méta-analyse des essais basés sur ce modèle confirme un effet moyen protecteur, plus marqué pour des doses faibles que pour des doses fortes d'inuline et d'oligofructose. L'autre, se fiant au modèle des souris min, soutient l'idée qu'il n'y a pas d'effet protecteur mais au contraire une stimulation de la cancérogenèse qui se traduirait par l'augmentation de la croissance des adénomes dans l'intestin des souris min. Cependant, la méta-analyse des quelques essais disponibles ne montre pas de résultat significatif allant de sens.

L'examen plus approfondi des publications montre une certaine homogénéité dans les protocoles et les marqueurs étudiés du modèle des rats recevant un carcinogène, à l'opposé du modèle souris min qui fournit beaucoup de marqueurs différents et donc peu de rapprochements entre les études. On peut également penser que la souris min n'est pas un modèle adéquat pour mettre en évidence les effets protecteurs des substances agissant au niveau du colon, car contrairement à l'Homme, les tumeurs spontanées de ce modèle émergent dans le petit intestin.

Enfin Il est intéressant de remarquer que trois études chez le rat montrent que l'association de l'inuline et des oligosaccharides avec des probiotiques a un effet plus important que l'inuline/FOS ou les prébiotiques seuls, mettant en évidence l'existence d'un effet symbiotique. Des essais menés chez l'Homme confirment un effet positif de cette association sur certains paramètres en relation avec la cancérogenèse. Il n'y a pas encore pas d'essai chez l'Homme concernant l'inuline ou l'oligofructose seul, mais un essai montre un effet protecteur du lactulose, un autre oligosaccharide non digestible, sur la récurrence des polypes chez des patients ayant subi une résection chirurgicale.

Conclusion générale

Quelles sont les capacités chémo-préventives des $\beta(2-1)$ fructanes ? Ces molécules peuvent jouer un rôle similaire à celui des fibres alimentaires puisqu'elles ne sont pas digérées dans la partie proximale du tube digestif. Elles augmentent ainsi la vitesse du transit, la fermentation au niveau du colon et contribuent à un environnement physico-chimique, défavorable pour les bactéries pathogènes mais bénéfique pour la muqueuse du colon. Il y a également de fortes chances que l'ingestion d'inuline ou d'oligofructose permette le développement de bactéries dites « probiotiques », assurant ainsi un équilibre de la flore bactérienne et peut-être une diminution du risque de cancer colorectal, à travers différents mécanismes (dont la production de butyrate).

Cependant, bien que la méta-analyse du modèle des foyers de cryptes aberrantes (ACF) induits par carcinogène chez le rat mette en évidence un effet protecteur de l'inuline et de l'oligofructose, le modèle des souris min laisse planer quelques doutes. Ces substances stimulent-elles la croissance des adénomes chez la souris min, comme le concluent plusieurs études ? Lequel de ces deux modèles représente le mieux les effets de l'inuline et de l'oligofructose chez l'homme ? Aucun argument ne permet d'avoir de certitudes à ce sujet. Pourtant, l'utilisation croissante de ces substances dans l'industrie alimentaire rend cruciale l'obtention d'une réponse à ces questions. Les galactooligosaccharides (GOS) et le lactulose, qui font partie de la même famille que l'inuline et l'oligofructose (les oligosaccharides non digestibles, NDO) ont montré des capacités protectrices vis-à-vis des ACF chez le rat dans plusieurs études. Peut-être la connaissance des effets de ces autres molécules chez la souris min pourrait-elle fournir des éléments de réflexion globale quant aux propriétés chémo-préventives ou délétères des NDO.

D'autres molécules, dont on a démontré les capacités chémo-préventives chez l'homme, présentaient elles aussi des incohérences d'un modèle à l'autre : c'est le cas de certains anti-inflammatoires non stéroïdiens comme le piroxicam et le sulindac. De plus les premiers essais cliniques randomisés en double aveugle concernant les effets des associations symbiotiques sur les biomarqueurs de la cancérogenèse sont prometteurs. Il serait donc inapproprié d'abandonner l'étude des NDO chez l'homme. Dans le but de commencer à cerner le rôle de l'inuline et l'oligofructose dans la modulation du risque de cancer colorectal, une possibilité pourrait être de mettre en place des études prospectives, pour comparer l'incidence de cette maladie chez les personnes consommant ou non des aliments industriels comprenant ces substances.

Avis personnel de l'auteur

Les effets de l'inuline et de l'oligofructose restent assez controversés, mais mon avis personnel, après ce travail, serait plutôt en faveur de leur utilisation en chimoprévention. Les arguments que j'ai relevés me conduiraient à accepter de consommer l'une de ces substances dans le cadre des études de prévention si j'étais soumise à un risque de cancer colorectal.

AGREMENT ADMINISTRATIF

Je soussigné, A. MILON, Directeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, certifie que

Melle Johanne, Mireille, Odette TOURNIE

a été admis(e) sur concours en : 2002

a obtenu son certificat de fin de scolarité le : 13 Septembre 2007

n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

Je soussigné, Denis CORPET, Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,

autorise la soutenance de la thèse de :

Melle Johanne, Mireille, Odette TOURNIE

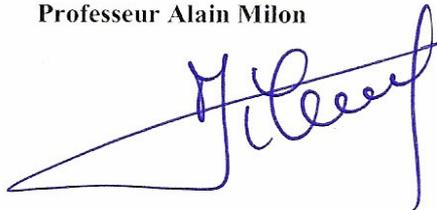
intitulée :

« Meta-analyse des effets de l'oligofructose et de l'inuline sur le risque de cancer colorectal dans deux modèles murins : rats traités par un carcinogène et souris Min »

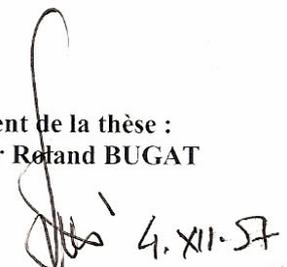
**Le Professeur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Professeur Denis CORPET**



**Vu :
Le Directeur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Professeur Alain Milon**

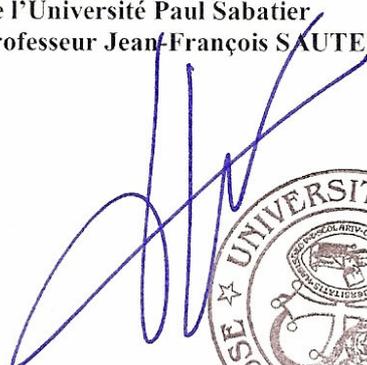


**Vu :
Le Président de la thèse :
Professeur Roland BUGAT**



Pr. BUGAT
INSTITUT CLAUDIUS REGAUD
20-24 rue du Pont Saint-Pierre
31052 TOULOUSE CEDEX
Adeli 31 10 3337 7 - Finess 31 078 234 7
☎ 05 61 42 41 19
☎ 05 61 42 46 20

**Vu le : 20 DEC. 2007
Le Président
de l'Université Paul Sabatier
Professeur Jean-François SAUTEREAU**



Références

- 1-BOYLE, P et LEON, ME
Epidemiology of colorectal cancer
British Medical Bulletin 2002; **64**: 1–25

- 2- HILL, C et DOYON, F
Fréquence des cancers en France
Bull Cancer 2003; **90** (3): 207-13

- 3- PATWARDHAN, MB; SAMSA, GP; MCCRORY, DC *et al.*
Cancer Care Quality Measures: Diagnosis and Treatment of Colorectal Cancer. Evidence Report/Technology Assessment No. 138. (Prepared by the Duke Evidence based Practice Center under Contract No. 290-02-0025).
AHRQ Publication No. 06-E002.
Rockville, MD: Agency for Healthcare Research and Quality. May 2006.

- 4- World Cancer Research Fund / American Institute for Cancer Research
Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Cancer: a Global Perspective.
Washington DC: AICR, 2007

- 5- CANNON-ALBRIGHT, LA; SKOLNICK, MH; BISHOP, DT *et al.*
Common inheritance of susceptibility to colonic adenomatous polyps and associated colorectal cancers
New Engl. J. Med., September 1988; **319** (9): 533-537

- 6- HOULSTON, RS; COLLINS, A; SLAC, J and MORTON, NE
Dominant genes for colorectal cancer are not rare
Annals of Human Genetics, May 1992; **56** (2): 99–103

- 7- LYNCH, HT et DE LA CHAPELLE, A
Genetic susceptibility to non-polyposis colorectal cancer
Med Genet, November 1999; **36**: 801-818

- 8- WORTHLEY, DL; WHITEHALL, VL; SPRING, KJ et LEGGETT, BA
Colorectal carcinogenesis: Road maps to cancer
World J Gastroenterol, July 2007; **13** (28): 3784-3791

- 9- KINZLER, KW et VOGELSTEIN, B
Lessons from Hereditary Colorectal Cancer
Cell, October 1996; **87**: 159–170

- 10- GIARDIELLO, FM; OFFERHAUS, GJ; LEE, DH *et al.*
Increased risk of thyroid and pancreatic carcinoma in familial adenomatous polyposis.
Gut, 1993; **34**: 1394-1396

- 11- HAMILTON, SR ; LIU, B; PARSONS, RE, *et al.*
The molecular basis of Turcot's syndrome.
N Engl J Med, 1995; **332**: 839–847

- 12- SMITH, KJ; JOHNSON, KA; BRYAN, TM *et al.*
The APC gene product in normal and tumor cells
Proc Natl Acad Sci U S A, April 1993; **90** (7): 2846–2850

- 13- GRADY, WM
Genomic instability and colon cancer
Cancer Metastasis Rev, 2004; **23**: 11-27
- 14- TAKAYAMA, T; OHI, M; HAYASHI, T *et al.*
Analysis of K-ras, APC, and beta-catenin in aberrant crypt foci in sporadic adenoma, cancer, and familial adenomatous polyposis
Gastroenterology, 2001; **121**: 599-611
- 15- RUBINFELD, B; ALBERT, I; PORFIRI, E *et al.*
Binding of GSK3beta to the APC-beta-catenin complex and regulation of complex assembly
Science, May 1996; **272** (5264):1023-6
- 16- MATHERS, JC; MICKLEBURGH, I; Pam C. CHAPMAN, PC *et al.*
Can resistant starch and/or aspirin prevent the development of colonic neoplasia? The Concerted Action Polyp Prevention (CAPP) 1 Study
Proceedings of the Nutrition Society, 2003; **62**: 51-57
- 17- MOLENAAR, M ; WETERING, MVD; OOSTERWEGEL, M *et al.*
XTcf-3 transcription factor mediates b-catenin-induced axis formation in *Xenopus* embryos
Cell 1996; **86**: 391-399
- 18- KITAGAWA, M; HATAKEYAMA, S; SHIRANE, M *et al.*
An F-box protein, FWD1, mediates ubiquitin dependent proteolysis of b-catenin
The EMBO Journal 1999; **18**: 2401-2410, 1999
- 19- BEHRENS, J; KRIES, J; KUHL, M *et al.*
Functional interaction of b-catenin with the transcription factor LEF-1
Nature 1996; **382**: 638-642
- 20- KORINEK, V; BARKER, N; MORIN, P *et al.*
Constitutive transcriptional activation by a b-catenin-Tcf complex in APC2/2 colon carcinoma
Science 1997; **275**: 1784-1787
- 21- WETERING, MVD; CAVALLO, R; DOOIJES, D *et al.*
Armadillo coactivates transcription driven by the product of the *Drosophila* segment polarity gene dTCF
Cell 1997; **88**: 789-799
- 22- JEON, S; JEONG, S; LEE, C *et al.*
Expression of Tcf-1 mRNA and surface TCR-CD3 complexes are reduced during apoptosis of T cells
Int. Immunol. 1998; **10**: 1519-1527
- 23- HE, T; SPARKS, A; RAGO, C *et al.*
Identification of c-MYC as a target of the APC pathway
Science 1998; **281**: 1509-1512
- 24- TETSU, O; et MCCORMICK, F
b-Catenin regulates expression of cyclin D1 in colon carcinoma cells
Nature 1999; **398** : 422-426
- 25- NUSSE, R; VARMUS, HE
Wnt genes
Cell 1992; **69** (7): 1073-1087
- 26- PAPKOFF, J; RUBINFELD, B; SCHRYVER, et P POLAKIS, P
Wnt-1 Regulates Free Pools of Catenins and Stabilizes APC-Catenin Complexes
Mol Cell Biol. May 1996; **16** (5): 2128-2134

- 27- HINCK, L; NELSON, WJ and PAPKOFF, J
Wnt-1 modulates cell-cell adhesion in mammalian cells by stabilizing beta-catenin binding to the cell adhesion protein cadherin
The Journal of Cell Biology 1994; **124**: 729-741
- 28- BAKER, SJ; PREISINER, AC; JESSUP, JM *et al.*
p53 gene mutations occur in combination with 17p allelic deletions as late events in colorectal tumorigenesis.
Cancer Res. 1990; **50**: 7717-7722
- 29- GARBER, JE; GOLDSTEIN, AM; KANTOR, AF *et al.*
Follow-up Study of Twenty-four Families with Li-Fraumeni Syndrome
Cancer Research November, 1991; **51**: 6094-6097
- 30- STRYKER, SJ; WOLFF, BG; CULP, CE *et al.*
Natural history of untreated colonic polyps.
Gastroenterology 1987; **93**: 1009-1013
- 31- JEN, J; POWELL, SM; PAPADOPOULOS, N *et al.*
Molecular Determinants of Dysplasia in Colorectal Lesions
Cancer Research November 1994; **54**: 5523-5526
- 32- PRETLOW, TP; BRASITUS, TA; FULTON, NC *et al.*
K-ras mutations in putative preneoplastic lesions in human colon
J. Natl. Cancer Inst. 1993; **85**: 2004-2007
- 33- FEARON, ER and VOGELSTEIN, B
A genetic model for colorectal tumorigenesis
Cell June 1990; **61** (5): 759-767
- 34- BENSON, AB
Epidemiology, disease Progression, and Economic Burden of Colorectal Cancer
J Manag Care Pharm. 2007; **13**(6)(suppl S-c): S5-S18
- 35- MARTINEZ, ME; GIOVANNUCCI, E; SPIEGELMAN, D *et al.*
Leisure-time physical activity, body size, and colon cancer in women. Nurses' Health Study Research Group.
J Natl Cancer Inst 1997; **89**: 948-55
- 36- DOLL, R et PETO, R
The causes of cancer: quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today
J. Natl. Cancer 1981; **66** (6): 1191-308
- 37- BOYLE, P; ZARIDZE, DG et SMANS, M
Descriptive epidemiology of colorectal cancer
Int. J. Cancer 1985; **36**, (1): 9-18
- 38- MICHELS, KB; GIOVANNUCCI, E; JOSHIPURA KJ *et al.*
Prospective study of fruit and vegetable consumption and incidence of colon and rectal cancers
J Natl Cancer Inst 2000; **92**: 1740-52
- 39- SANDHU, MS; WHITE, I et MCPHERSON, K.
Systematic review of the prospective cohort studies on meat consumption and colorectal cancer risk: a meta-analytical approach.
Cancer Epidemiol Biomark Prev 2001; **10**: 439-46
- 40- FERNANDEZ, E; D'AVANZO, B; NEGRI, E *et al.*
Diet Diversity and the Risk of Colorectal Cancer in Northern Italy
Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention June 1996; **5**: 433-436

- 41- GIOVANNUCCI, E.
An updated review of the epidemiological evidence that cigarette smoking increases risk of colorectal cancer
Cancer Epidemiol Biomark Prev 2001; **10**: 725–31
- 42- Agence Nationale d'Accréditation et d'Évaluation en Santé (ANAES)
PLACE DE LA COLOSCOPIE VIRTUELLE DANS LE DEPISTAGE DU CANCER COLORECTAL
JANVIER 2001- synthèse
Téléchargé le 5 Janvier 2008 à l'adresse suivante : <http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/colosynth.pdf>, sur le Portail Internet de la Haute autorité de Santé
- 43- DUKES, CE
The Classification of Cancer of the Rectum
J. Path. & Bact. 1932, **35**: 323
- 44- KIRKLIN, J. W; DOCKERTY, MD et WAUGH, JW
The Role of the Peritoneal Reflection in the Prognosis of Carcinoma of the Rectum and Sigmoid Colon
Surg., Gynec. & Obst., 1949; **88**: 326
- 45- ASTLER, VB et COLLER, FA
The Prognostic significance of direct extension of carcinoma of the colon and rectum
Ann Surg. June 1954; **139**(6): 846-52
- 46- HARRIS, PJ et FERGUSON, LR
Dietary fibre: its composition and role in protection against colorectal cancer
Mutat. Res. 1993; **290**: 97-110
- 47- HAMBLY, RJ; RUMNEY, CJ; FLETCHER, JM *et al.*
Effects of high- and low-risk diets on gut microflora-associated biomarkers of colon cancer in human flora-associated rats
Nutr Cancer. 1997; **27** (3): 250-5
- 48- HARRIS, PJ et FERGUSON, LR
Dietary fibres may protect or enhance carcinogenesis
Mutat. Res./Gen. Tox. and Env. Mut. July 1999; **443** (1-2): 95-11
- 49- ROEDIGER, W.E.W
Utilization of nutrients by isolated epithelial cells of the rat colon.
Gastroenterology, 1982; **83**: 424–429
- 50- DAVIE, JR
Inhibition of Histone Deacetylase Activity by Butyrate
J. Nutr., 2003; **133**: 2485S–2493S
- 51- LUPTON, JR
Microbial Degradation Products Influence Colon Cancer Risk: the Butyrate Controversy
J. Nutr., 2004; **134**: 479–482
- 52- TREPTOW-VAN LISHAUT, S; RECHKEMMER, G; ROWLAND *et al.*
The carbohydrate crystalline and colonic microflora modulate expression of glutathione S-transferase subunits in colon of rats
Eur J Nutr, 1999; **38**: 76–83.
- 53- NARISAWA, T; MAGADIA, NE; WEISBURGER, JH et WYNDER, EL
Promoting effect of bile acids on colon carcinogenesis after intrarectal instillation of N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine in rats
J Natl Cancer Inst. October 1974; **53** (4): 1093-1097

- 54- VAN LOO, J; CUMMINGS, J; DELZENNE, N *et al.*
Functional food properties of non-digestible oligosaccharides: a consensus report from the ENDO project (DGXII AIRII-CT94-1095)
British Journal of Nutrition 1999; **81**: 121-132
- 55- CARPITA, NC; KANABUS, J et HOUSLEY, TL
Linkage structure of fructans and fructan oligomers from *Triticum aestivum* and *Festuca arundinacea* leaves
J. Plant Physiol. 1989; **134**: 162–168
- 56- VERGHESE, M; RAO, DR; CHAWAN, CB *et al.*
Dietary Inulin Suppresses Azoxymethane-Induced Aberrant Crypt Foci and Colon Tumors at the Promotion Stage in Young Fisher 344 Rats
J. Nutr. 2002; **132**: 2809–2813
- 57- CAMPBELL, JM; FAHEY, GCJ et WOLF, BW
Selected indigestible oligosaccharides affect large bowel mass, cecal and fecal short-chain fatty acids, pH and microflora in rats
J. Nutr. 1997; **127**: 130-136
- 58- DJOUZI, Z et ANDRIEUX, C
Compared effects of three oligosaccharides on metabolism of intestinal microflora in rats inoculated with a human faecal flora
Br. J. Nutr. 1997; **78**: 313-324
- 59- ITO, M; KIMURA, M; DEGUCHI, Y *et al.*
Effects of transgalactosylated disaccharides on the human intestinal microflora and their metabolism
J. Nutr. Sci. Vitaminol. 1993; **39**: 279-288
- 60- BOUHNİK, Y; FLOURIÉ, B; D'AGAY-ABENSOUR, L *et al.*
Administration of Transgalacto-Oligosaccharides Increases Fecal Bifidobacteria and Modifies Colonic Fermentation Metabolism in Healthy Humans
J. Nutr. March 1997; **127** (3): 444-448
- 61- ALLES, MS; HARTEMINK, R; MEYBOOM, S *et al.*
Effect of transgalactooligosaccharides on the composition of the human intestinal microflora and on putative risk markers for colon cancer
American Journal of Clinical Nutrition May 1999; **69** (5): 980-991
- 62- COUDRAY, C; BELLANGER, J; CASTIGLIA-DELAVALAUD, C *et al.*
Effect of soluble or partly soluble dietary fibres supplementation on absorption and balance of calcium, magnesium, iron and zinc in healthy young men
European Journal Of Clinical Nutrition june 1997; **51** (6): 375-380
- 63- LEMORT, C et ROBERFROID, M
Effect of Chicory Fructooligosaccharides on Ca Balance
Book of Abstracts, NDO Symposium 1997, p. 163. December 4–5, Wageningen, The Netherlands
- 64- OHTA, A; OSAKABE, N; YAMADA, K *et al.*
The influence of fructooligosaccharides and various other oligosaccharides on the absorption of Ca, Mg and P in rats
J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci 1993; **46**: 123–129
- 65- OHTA, A; OHTSUKI, M; BABA, S *et al.*
Effects of fructooligosaccharides on the absorption of iron, calcium and magnesium in iron-deficient anemia rats
J. Nutr. Sci. Vitaminol. 1995; **43**: 281–291
- 66- OHTA, A; BABA, S; OHTSUKI, M *et al.*
In vivo absorption of calcium carbonate and magnesium oxide from the large intestine in rats
J. Nutr. Sci. Vitaminol. 1997; **43**: 35–46

- 67- SCHOLZ-AHRENS, K; VAN LOO, J; et SCHREZENMEIR, J
Effect of oligofructose on bone mineralization in ovariectomized rats is affected by dietary calcium
Am J Clin Nutr 2001; **73**: 498S
- 68- SHIMURA, S; SAEKI, Y; ITO, Y *et al.*
Effects of galacto-oligosaccharides and fructooligosaccharides on mineral utilization in rats
J. Nutr. Food Sci. 1991; **44**: 287–291
- 69- VAN DEN HEUVEL, E.G.H.M; MUIJS, T; VAN DOKKUM, W et SCHAAFSMA, G
Fructo-oligosaccharides stimulate calcium absorption in adolescents.
Am. J. Clin. Nutr. 1999a **69**: 544–548
- 70- TAGUCHI, A; OHTA, A; ABE, M *et al.*
The influence of fructo-oligosaccharides on the bone of model rats with ovariectomized osteoporosis.
Sci. Rep. Meiji Seika Kaisha 1995; **33**: 37–44
- 71- VAN LOO, J; COUSSEMENT, P; DELEENHEER, L *et al.*
On the presence of inulin and oligofructose as natural ingredients in the Western diet
Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 1995; **35**: 525–552
- 72- FEMIA, AP; LUCERI, C; DOLARA, P *et al.*
Antitumorogenic activity of the prebiotic inulin enriched with oligofructose in combination with the probiotics *Lactobacillus rhamnosus* and *Bifidobacterium lactis* on azoxymethane-induced colon carcinogenesis in rats
Carcinogenesis November 2002; **23** (11): 1953-1960
- 73- HOEBREGS, H
Fructans in foods and food products, ion-exchange chromatographic method: collaborative study.
J. Assoc. Off. Anal. Chem. Int. 1997; **80**: 1029–1037
- 74- IUB-IUPAC Joint Commission of Biochemical Nomenclature
Abbreviated terminology of oligosaccharide chains
J. Biol. Chem. 1982; **257**: 3347–3351
- 75- NINESS, KR
Inulin and Oligofructose: What Are They?
J. Nutr. 1999; **129**: 1402S–1406S
- 76- TUNGLAND, BC
Inulin, A Comprehensive Scientific Review
Le 23 Novembre 2007 à l'adresse : members.shaw.ca/duncancrow/inulin_review.html
- 77- BERINGER, A. et WENGER, R
Inulin in der Ernährung des diabetikers
Dtsch. Z. Verdauungs Stoffwechselkrankh 1995; **15**: 268–272
- 78- BRIGHENTI, F; CASIRAGHI, MC; CANZI, E *et al.*
One month consumption of ready-to-eat breakfast cereal containing inulin markedly lowers serum lipids in normolipidemic men
7th European Nutrition Conference, May 24–28, 1995, Vienna, Austria
- 79- FIORDALISO, M; KOK, N; DESAGER, J *et al.*
Dietary oligofructose lowers triglycerides, phospholipids and cholesterol in serum and very low density lipoproteins in rats.
Lipids 1995; **30**: 163–167
- 80- HIDAKA, H; EIDA, T; TAKISAWA, T *et al.*
Effects of fructooligosaccharides on intestinal flora and human health
Bifidibact. Microflora 1986; **5**: 37–50

- 81- ROWLAND, IR et TANAKA, R
The effects of transgalactosylated oligosaccharides on gut flora metabolism in rats associated with a human faecal microflora
J Appl Bacteriol. 1993 Jun; **74** (6): 667-674
- 82- BUDDINGTON, RK; WILLIAMS, CH; CHEN, SC et WITHERLY, SA
Dietary supplement of neosugar alters the fecal flora and decreases activities of some reductive enzymes in human subjects
Am J Clin Nutr. 1996 May; **63** (5): 709-716
- 83- GIBSON GR et ROBERFROID MB
Dietary modulation of the human colonic microflora: introducing the concept of prebiotics
J Nutr 1995; **125**: 1401-1412
- 84- ROBERFROID, MB
Probiotics and Prebiotics : are they functional foods ?
Am J Clin Nutr. 2000; **71**(suppl):1682S-1687S
- 85- WOLLOWSKI, I; RECHKEMMER, G et POOL-ZOBEL, BL
Protective role of probiotics and prebiotics in colon cancer
Am J Clin Nutr 2001;73(suppl):451S-5S.
- 86- SEKINE, K; OHTA, J; OMSHI, M et al.
Analysis of antitumor properties of effector cells stimulated with a cell wall preparation (WPG) of *Bifidobacterium infantis*
Biol. & Pharm. Bull. 1995; **18**: 148-153
- 87- HUGHES, R et ROWLAND, IR
Stimulation of apoptosis by two prebiotics chicory fructans in the rat colon
Carcinogenesis 2001; **22** (1): 43-47
- 88- SAITO, Y; TAKANO, T et ROWLAND, I
Effects of soybean oligosaccharides on the human gut microflora in *in vitro* culture
Microb. Ecol. Health Dis. 1992; **5**: 105-110
- 89- REDDY, BS; HAMID, R et RAO, CV
Effect of dietary oligofructose and inulin on colonic preneoplastic aberrant crypt foci inhibition
Carcinogenesis 1997; **18** (7): 1371-1374
- 90- CORPET, D, ENVT et INRA
Modèles animaux d'étude du Cancer
consulté le 6 Janvier 2008 à l'adresse <http://fcorpet.free.fr/Denis/W/Cours-Modeles-Animaux-Cancer-MSBM06.pdf>
Tumor Free Rats: Efficacy of Chemopreventive: Agents on Experimental Neoplasms
consulté le 6 Janvier 2008 à l'adresse <http://tumor.free.fr/>
- 91- MOSER, AR; PITOT, HC et DOVE, WF
A dominant mutation that predisposes to multiple intestinal neoplasia in the mouse
Science 1990; **247**: 322-324
- 92- CORPET, DE et TACHE, S
Most effective colon cancer chemopreventive agents in rats: a systematic review of aberrant crypt foci and tumor data, ranked by potency
Nutrition and Cancer 2002; **43**: 1-21
- 93- BIRD, RP
Observation and quantification of aberrant crypts in the murine colon treated with a colon carcinogen: preliminary findings
Cancer letters 1987; **37** (2): 147-151

- 94- PRETLOW, TP; BARROW, BJ; ASHTON, VVS *et al.*
Aberrant Crypts: Putative Preneoplastic Foci in Human Colonic Mucosa
Cancer Research march 1991; **51**: 1564-1567
- 95- RONCUCCI, L; PEDRONI, M; FANTE, R *et al.*
Cell kinetic evaluation of human colonic aberrant crypts
Cancer Research August 1993; **53**: 3726-3729
- 96- DASHWOOD, RH; XU, M; ORNER, GA *et al.*
Colonic cell proliferation, apoptosis and aberrant crypt foci development in rats given 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline and treated post-initiation with chlorophyllin
European Journal of Cancer Prevention April 2001; **10**(2): 139-145
- 97- NAKAGAMA, H; OCHIAI, M; UBAGAI, T *et al.*
A rat colon cancer model induced by 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine, PhIP
Mutat. Res. 2002; **506-507**: 137-144
- 98- MCLELANN, EA; MEDLINE, A et BIRD, RP
Dose response and proliferative characteristics of aberrant crypt foci: putative preneoplastic lesions in rat colon
Carcinogenesis 1991; **12**(11) : 2093-2098
- 99- CHENG, L et LAI, MD
Aberrant crypt foci as microscopic precursors of colorectal cancer
World J. Gastroenterol. December 2003; **9** (12): 2642-2649
- 100- KIESSLICH, R et NEURATH, M.F
Review: Potential of new endoscopic techniques: intravital staining and in vivo confocal endomicroscopy for the detection of premalignant lesions and early cancer in patients with ulcerative colitis
Acta endosc. 2004; **34** (2): 189-197
- 101- CADERNI, G; FEMIA, AP; GIANNINI, A *et al.*
Identification of Mucin-depleted Foci in the Unsectioned Colon of Azoxymethane treated Rats: Correlation with Carcinogenesis
Cancer Research May 2003; **63**: 2388–2392
- 102- FEMIA, AP; DOLARA, P et CADERNI, G
Mucin-depleted foci (MDF) in the colon of rats treated with azoxymethane (AOM) are useful biomarkers for colon carcinogenesis
Carcinogenesis 2004; **25** (2): 277-281
- 103- FEMIA, AP; BENDINELLI, B; GIANNINI, A *et al.*
Mucin-depleted foci have beta-catenin gene mutations, altered expression of its protein, and are dose- and time-dependent in the colon of 1,2-dimethylhydrazine-treated rats.
Int. J. Cancer. Aug 2005; **116** (1): 9-15
- 104- TAKAHASHI, M; FUKUDA, K; SUGIMURA, T *et al.*
B-Catenin is frequently mutated and demonstrates altered cellular location in azoxymethane-induced rat colon tumors
Cancer Res. 1998; **58**: 42–46
- 105- YAMADA, Y; YOSHIMI, N; HIROSE, Y *et al.*
Frequent b-Catenin Gene Mutations and Accumulations of the Protein in the Putative Preneoplastic Lesions Lacking Macroscopic Aberrant Crypt Foci Appearance, in Rat Colon Carcinogenesis
Cancer Res. July 2000; **60**: 3323–3327
- 106- YAMADA, Y; YOSHIMI, N; HIROSE, Y *et al.*
Sequential Analysis of Morphological and Biological Properties of b-Cateninaccumulated Crypts, Provable Premalignant Lesions Independent of Aberrant Crypt Foci in Rat Colon Carcinogenesis
Cancer Res. March 2001; **61**: 1874–1878

- 107- HIROSE, Y; KUNO, T; YAMADA, Y *et al.*
Azoxymethane-induced beta-catenin-accumulated crypts in colonic mucosa of rodents as an intermediate biomarker for colon carcinogenesis
Carcinogenesis 2003; **25** (1): 107–111
- 108- YAMADA, Y et MORI, H
Pre-cancerous lesions for colorectal cancers in rodents: a new concept
Carcinogenesis 2003; **24** (6): 1015–1019
- 109- SNOVER, DC; JASS, JR; FENOGLIO-PREISER, C et BATTIS, KP.
Serrated Polyps of the Large Intestine: A Morphologic and Molecular Review of an Evolving Concept
Am. J. Clin. Pathol. 2005; **124**: 380-391
- 110- CUCHERAT, M; BOISSEL, JP et LEIZOROVICZ, A
Manuel pratique de méta-analyse des essais thérapeutiques
EA 643 - faculté Laennec - Université Lyon 1 Service de Pharmacologie Clinique - CHU Lyon Service de Biostatistique - CHU Lyon
- 111- POUND, P; EBRAHIM, S; SANDERCOCK, P *et al.*
Where is the evidence that animal research benefits humans?
BMJ 2004;328:514–7
- 112- Cochrane Collaboration open learning material for reviewers
Version 1.1, November 2002
Editors Phil Alderson, UKCC Sally Green, ACC
- 113- HIGGINGS, JPT; GREEN, S; editors
Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions 4.2.6 [updated September 2006]; Section 4. In: The Cochrane Library, Issue 4, 2006. Chichester, UK: John Wiley and Sons, Ltd.
- 114- PIERRE, F; PERRIN, P; CHAMP, M *et al.*
Short-chain Fructo-oligosaccharides reduce the occurrence of colon tumors and develop gut-associated lymphoid tissue in Min mice
Cancer Research January 1997; **57**: 225-228
- 115- POUND, P; EBRAHIM, S et ROBERTS, I
The need for systematic reviews of animal studies
téléchargé le 7 Janvier 2008 à l'adresse: <http://www.cochrane.org/newslett/MGNews-2004.pdf>
- 116- BOLOGNANI, F; RUMNEY, CJ; POOL-ZOBEL, B et ROWLAND, IR
Effect of lactobacilli, bifidobacteria and inulin on the formation of aberrant crypt foci in rats
Eur J Nutr 2001; **40**: 293–300
- 117- BUDDINGTON, KK; DONAHOO, JB et BUDDINGTON, RK
Dietary Oligofructose and Inulin Protect Mice from Enteric and Systemic Pathogens and Tumor Inducers
J. Nutr. 2002; **132**: 472–477
- 118- BUECHER, B; THOUMINOT, C; MENANTEAU, J *et al.*
Fructooligosaccharide associated with celecoxib reduces the number of aberrant crypt foci in the colon of rats
Reprod. Nutr. Dev. 2003; **43**: 347-356
- 119- GALLAHER, DD; STALLINGS, WH; BLESSING, LL *et al.*
Probiotics, cecal microflora, and aberrant crypts in the rat colon
J. Nutr. 1996; **126**: 1362-1371
- 120- GALLAHER, DD et KHIL, J
The Effect of Synbiotics on Colon Carcinogenesis in Rats
J. Nutr. 1999; **129**: 1483S–1487S

- 121- HSU, CK; LIAO, JW; CHUNG, YC *et al.*
Xylooligosaccharides and Fructooligosaccharides Affect the Intestinal Microbiota and Precancerous Colonic Lesion Development in Rats
J. Nutr. 2004; **134**: 1523–1528
- 122- JACOBSEN, H; POULSEN, M; DRAGSTED, LO *et al.*
Carbohydrate digestibility predicts colon carcinogenesis in azoxymethane-treated rats
Nutrition and Cancer 2006; **55** (2): 163-170
- 123- KETTUNEN, HL; KETTUNEN, ASL *et* RAUTONEN, NE
Intestinal Immune Responses in Wild-Type and *Apc*^{Min/+} Mouse, a Model for Colon Cancer
Cancer Research August 2003; **63**: 5136–5142
- 124- MISIKANGAS, M; PAJARI, AM; PÄIVÄRINTA, E *et* MUTANEN, M
Promotion of adenoma growth by dietary inulin is associated with increase in cyclin D1 and decrease in adhesion proteins in Min/+ mice mucosa
Journal of Nutritional Biochemistry 2005; **16**: 402-409
- 125- MISIKANGAS, M; TANAYAMA, H; RAJAKANGAS, J *et al.*
Inulin results in increased levels of beta-catenin and cyclin D1 as the adenomas increase in size from small to large in the Min/+ mouse
Br J Nutr. October 2007; :1-8
- 126- MUTANEN, M; PAJARI, AM *et* OIKARINEN, SI
Beef induces and rye bran prevents the formation of intestinal polyps in *Apc*^{Min} mice: relation to β -catenin and PKC isozymes
Carcinogenesis 2000; **21**: 1167-1173
- 127- PAJARI, AM; RAJAKANGAS, J; PÄIVÄRINTA, E *et al.*
Promotion of intestinal tumor formation by inulin is associated with an accumulation of cytosolic β -catenin in min mice
Int. J. Cancer 2003; **106**: 653-660
- 128- PERRIN, P; PIERRE, F; PATRY, Y *et al.*
Only fibres promoting a stable butyrate producing colonic ecosystem decrease the rate of aberrant crypt foci in rats
Gut 2001; **48**: 53-61
- 129- POULSEN, M; MOLCK, AM *et* JACOBSEN, BL
Different effects of short- and long-chained fructans on large intestinal physiology and carcinogen-induced aberrant crypt foci in rats.
Nutr Cancer. 2002; **42** (2): 194-205
- 130- RAO, CV; CHOU, D; SIMI, B *et al.*
Prevention of colonic aberrant crypt foci and modulation of large bowel microbial activity by dietary coffee fiber, inulin and pectin
Carcinogenesis 1998; **19** (10): 1815-1819
- 131- ROWLAND, IR; RUMNEY, CJ; COUTTS, JT *et* LIEVENSE? LC
Effect of *Bifidobacterium longum* and inulin on gut bacterial metabolism and carcinogen-induced aberrant crypt foci in rats
Carcinogenesis 1998; **19** (2): 281-285
- 132- VERGHESE, M; RAO, DR; CHAWAN, CB *et al.*
Dietary Inulin Suppresses Azoxymethane-Induced Aberrant Crypt Foci and Colon Tumors at the Promotion Stage in Young Fisher 344 Rats
J. Nutr. 2002; **132**: 2809–2813

- 133- VERGHESE, M; RAO, DR; CHAWAN, CB *et al.*
Dietary Inulin Suppresses Azoxymethane-Induced Preneoplastic Aberrant Crypt Foci in Mature Fisher 344 Rats
J. Nutr. 2002; **132**: 2804–2808
- 134- VERGHESE, M; WALKER, LT; SCHAKELFORD, L et CHAWAN, CB
Inhibitory effects of nondigestible carbohydrates of different chain lengths on azoxymethane-induced aberrant crypt foci in Fisher 344 rats
Nutrition Research 2005; **25**: 859–868
- 135- FEMIA, AP; CADERNI, G; IANNI, M *et al.*
Effect of diets fortified with tomatoes or onions with variable quercetin-glycoside content on azoxymethane-induced aberrant crypt foci in the colon of rats
European Journal of Nutrition Décembre 2003; **42** (6): 346-352
- 136- TACHE, S; LADAM, A et CORPET, DE
Chemoprevention of aberrant crypt foci in the colon of rats by dietary onion
Eur. J. Res. 2007; **43** (2): 454-458
- 137- KLURFELD, DM
Fiber and cancer protection-mechanisms
Adv Exp Med Biol. 1997; **427**: 249-57
- 138- CASSIDY, A; BINGHAM, SA et CUMMINGS, JH
Starch intake and colorectal cancer risk: an international comparison
Br. J. Cancer 1994; **69**: 937-942
- 139- NYMAN, M
Fermentation and bulking capacity of indigestible carbohydrates : the case of inulin and oligofructose
British Journal of Nutrition 2002; **87** (Suppl 2): S163-S168
- 140- REDDY, BS et RIVENSON, A
Inhibitory effects of *Bifidobacterium longum* on colon, mammary and liver carcinogenesis induced by 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline, a food mutagen.
Cancer Res. 1993; **53**: 3914-3918
- 141- SINGH, J; RIVERNSON, A; TOMITA, M et al.
Bifidobacterium longum, a lactic acid producing intestinal bacterium inhibits colon cancer and modulates the intermediate biomarkers of colon carcinogenesis
Carcinogenesis 1997; **18**: 833–841
- 142- GOLDIN, BR; GUALTIERI, LJ et MOORE, RP
The effects of Lactobacillus GG on the initiation and promotion of DMH-induced intestinal tumors in the rats
Nutr. Cancer 1996; **25**: 197-204
- 143- BRADY, LJ; GALLAHER, DD et BUSTA, FKBrady
The role of probiotic cultures in the prevention of colon cancer
J. Nutr. 2000; **13**: 410–414
- 144- POOL-ZOBEL, B; VAN LOO, J; ROWLAND, I et ROBERFROID, MB
Experimental evidences on the potential of prebiotic fructans to reduce the risk of colon cancer
British Journal of Nutrition 2002; **87** (Suppl. 2): S273–S281
- 145- MAGNUSON, BA; CARR, I et BIRD, RP
Ability of aberrant crypt foci characteristics to predict colonic tumor incidence in rats fed cholic acid
Cancer Res. 1993 October; **53**(19): 4499-4504
- 146- SANSOM, OJ; REED, KR; VAN DE WETERING, M *et al.*
Cyclin D1 is not an immediate target of beta-catenin following Apc loss in the intestine
J Biol Chem 2005; **280**: 28463-28467

- 147- APAJALAHTI, JHA; KETTUNEN, H; NURMINEN, PH *et al.*
Culture-independent microbial community analysis reveals that inulin in the diet primarily affects previously unknown bacteria in the mouse cecum.
Appl. Environ. Microb. 2002; **68**: 4986-4895
- 148- TAKAHASHI, M et WAKABAYASHI
Gene mutations and altered gene expression in azoxymethane-induced colon carcinogenesis in rodents
Cancer Science 2004; **95** (6): 475-480
- 149- CORPET, DE et PIERRE, F
How good are rodent models of carcinogenesis in predicting efficacy in humans? A systematic review and meta-analysis of colon chemoprevention in rats; mice and men
European Journal of Cancer 2005; **41**: 1911-1922
- 150- TERADA, A; HARA, H; KATAOKA, M et MITSUOKA, T
Effect of lactulose on composition and metabolic activity of human fecal flora
Microbial E.coli Hlth Dis., 1992; **5**, 43-50.
- 151- SAMELSON, SL; NELSON, RL et NYHUS, LM
Protective role of faecal pH in experimental colon carcinogenesis.
J R Soc Med., 1985; **78**(3): 230-3
- 152- HENNIGAN, TW; SIAN, M, MATTHEWS, J et ALLEN-MERSH, TG
Protective role of lactulose in intestinal carcinogenesis.
Surg Oncol., Feb 1995; **4**(1):31-4
- 153- INGRAM, DM et CASTLEDEN, WM
The effect of dietary lactulose on experimental large bowel cancer
Carcinogenesis,. 1980; **1**(11):893-5
- 154- TACHE, S; PARNAUD, G; VAN BEEK, E et CORPET DE
Polyethylene glycol, unique among laxatives, suppresses aberrant crypt foci, by elimination of cells
Scand J Gastroenterol. 2006 Jun; **41**(6):730-6
- 155- CHALLA, A; RAO, DR; CHAWAN, CB et SHACKELFORD, L
Bifidobacterium longum and lactulose suppress azoxymethane induced colonic aberrant crypt foci in rats
Carcinogenesis, 1997; **18**(3): 517-521
- 156- WIJNANDS, MVW; APPEL, MJ; HOLLANDERS, VMH et WOUTERSEN, RA
A comparison of the effects of dietary cellulose and fermentable galacto-oligosaccharide, in a rat model of colorectal carcinogenesis: fermentable fibre confers greater protection than non-fermentable fibre in both high and low fat backgrounds
Carcinogenesis 1999; **20** (4): 651-656
- 157- WIJNANDS, MVW; SCHOTERMAN, HC; BRUIJNTJES, JP *et al.*
Effects of dietary galacto-oligosaccharides on azoxymethane-induced aberrant crypt foci and colorectal cancer in Fisher 344 rats
Carcinogenesis 2001; **22** (1): 127-132
- 158- BOUTRON-RUAULT, MC; MARTEAU, P; LAVERGNE-SLOVE, A *et al.*
Effects of a 3-mo Consumption of Short-Chain Fructo-Oligosaccharides on Parameters of Colorectal Carcinogenesis in Patients With or Without Small or Large Colorectal Adenomas
Nutrition and Cancer 2005; **53**(2): 160-168
- 159- ROLLER, M; CLUNE, Y; COLLINS, K *et al.*
Consumption of prebiotic inulin enriched with oligofructose in combination with the probiotics *Lactobacillus rhamnosus* and *Bifidobacterium lactis* has minor effects on selected immune parameters in polypectomised and colon cancer patients.
Br J Nutr. Apr 2007; **97**(4): 676-84

160- RAFTER, J; BENNETT, M; CADERNI, G, *et al.*
Dietary synbiotics reduce cancer risk factors in polypectomized and colon cancer patients.
Am J Clin Nutr. Feb 2007; **85**(2):488-96

161- RONCUCCI, L; DONATO, PD, CARATI, L, FERRARI
Antioxidant vitamins or lactulose for the prevention of the recurrence of colorectal adenomas
Diseases of the Colon & Rectum 1993; **36**: 227-234

162- Influence of Sulindac and Probiotics on the Development of Pouch Adenomas in Patients With Familial Adenomatous Polyposis
Phase II Randomized Chemoprevention Study of Atorvastatin Versus Oligofructose-Enriched Inulin (Raftilose Synergy 1) Versus Sulindac in Patients at Increased Risk of Developing Sporadic Colorectal Neoplasia
Essais en cours; informations téléchargées le 8 Janvier à l'adresse:
<http://www.cancer.gov/search/ResultsClinicalTrialsAdvanced.aspx?protocolsearchid=4046142>

Toulouse, 2008

NOM : TOURNIE

Prénom : Johanne

TITRE : Méta-analyse des effets de l'oligofructose et de l'inuline sur le risque de cancer colorectal dans deux modèles murins : rats traités par un carcinogène, et souris Min.

RESUME : Le cancer colorectal est l'une des principales causes de mortalité dans le monde. De nombreuses expérimentations sont menées pour étudier les effets chémo-préventifs de différentes substances présentes dans l'alimentation, notamment l'inuline et l'oligofructose, des oligosaccharides non digestibles. Le but de ce travail était de rassembler les publications décrivant les effets de l'inuline et/ou de l'oligofructose sur la cancérogenèse chez le rat et la souris. Ces publications ont ensuite été analysées dans des méta-analyses. Les résultats divergent selon le modèle expérimental. La méta-analyse concernant les effets de l'inuline et de l'oligofructose chez les rats soumis à un carcinogène a montré un effet protecteur (diminution significative du nombre d'ACF). La méta-analyse concernant les souris min n'a pas montré d'effet significatif (augmentation non significative du nombre d'adénomes dans le petit intestin).

MOTS-CLES : Méta-analyse, Cancer Colorectal, Prévention, Inuline, Oligofructose, Oligosaccharides non digestibles, ACF, Souris Min, Rats

ENGLISH TITLE : Meta-analysis of the effects of oligofructose and inulin on the risk of colorectal cancer in two murine models : chemically induced rats, and Min mice.

ABSTRACT : Colorectal cancer is one of the main mortality cause in the world. Numerous experiments are set up to study the chemopreventive effects of different food components, among which oligofructose and inulin, which are non digestible oligosaccharides. The aim of this work was to gather the publications about the effects of inulin and/or oligofructose either on the preneoplastic lesions (ACF) obtained by injection of carcinogen in rats, either on adenomas in Min mice intestine (Min mice are heterozygous mice muted on Apc gene, who develops numerous adenomas in their intestine). These publications were then analysed in méta-analysis. The results are divergent according to the experimental model. The meta-analysis about the effects of inulin and oligofructose on rats treated by a carcinogen showed a protective effect (significant decrease of the number of ACF). The meta-analysis about min mice didn't lead to a significant effect (non significant increase of the number of adenoma in small intestine).

KEYWORDS : Meta-analysis, Colorectal Cancer, Prevention, Inulin, Oligofructose, Non digestible Oligosaccharides, ACF, Min Mice, Rats