

# L'OIGNON PROTEGE-T-IL LE RAT CONTRE LA CANCEROGENESE DU COLON ?

## EFFET SUR LES FOYERS DES CRYPTES ABERRANTES

---

THESE  
pour obtenir le grade de  
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

DIPLOME D'ÉTAT

*présentée et soutenue publiquement en 2002  
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

*par*

**Aélis LADAM**

Née, le 18 avril 1976 à TALENCE (Gironde)

---

**Directeur de thèse : M. le Professeur Denis CORPET**

---

**JURY**

PRESIDENT :  
**M. Roland BUGAT**

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEUR :  
**M. Denis CORPET**  
**M. Stéphane BERTAGNOLI**

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE  
Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

MINISTERE DE L'AGRICULTURE ET DE LA PECHE  
ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

Directeur	: M.	<b>P. DESNOYERS</b>
Directeurs honoraires.....	: M.	<b>R. FLORIO</b>
	M.	<b>R. LAUTIE</b>
	M.	<b>J. FERNEY</b>
	M.	<b>G. VAN HAVERBEKE</b>
Professeurs honoraires.....	: M.	<b>A. BRIZARD</b>
	M.	<b>L. FALIU</b>
	M.	<b>C. LABIE</b>
	M.	<b>C. PAVAU</b>
	M.	<b>F. LESCURE</b>
	M.	<b>A. RICO</b>
	M.	<b>A. CAZIEUX</b>
	Mme	<b>V. BURGAT</b>
	M.	<b>D. GRIESS</b>

**PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE**

- M. **CABANIE Paul**, *Histologie, Anatomie pathologique*
- M. **CHANTAL Jean**, *Pathologie infectieuse*
- M. **DARRE Roland**, *Productions animales*
- M. **DORCHIES Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. **GUELFY Jean-François**, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*

**PROFESSEURS 1<sup>ère</sup> CLASSE**

- M. **AUTEFAGE André**, *Pathologie chirurgicale*
- M. **BODIN ROZAT DE MANDRES NEGRE Guy**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
- M. **BRAUN Jean-Pierre**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Histologie, Anatomie pathologique*
- M. **ECKHOUTTE Michel**, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
- M. **EUZEBY Jean**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
- M. **FRANC Michel**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. **MARTINEAU Guy**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*
- M. **MILON Alain**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
- M. **PETIT Claude**, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. **REGNIER Alain**, *Physiopathologie oculaire*
- M. **SAUTET Jean**, *Anatomie*
- M. **TOUTAIN Pierre-Louis**, *Physiologie et Thérapeutique*

**PROFESSEURS 2<sup>e</sup> CLASSE**

- Mme **BENARD Geneviève**, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
- M. **BERTHELOT Xavier**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **CORPET Denis**, *Science de l'Aliment et Technologies dans les industries agro-alimentaires*
- M. **DUCOS DE LAHITTE Jacques**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
- M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
- Mme **KOLF-CLAUW Martine**, *Pharmacie -Toxicologie*
- M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. **LIGNEREUX Yves**, *Anatomie*
- M. **PICAVET Dominique**, *Pathologie infectieuse*
- M. **SCHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*

**PROFESSEUR ASSOCIE**

- M. **HENROTEAUX Marc**, *Médecine des carnivores*
- M. **TAMZALI Youssef**, *Clinique équine*

## PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

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

## MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE

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

## MAITRES DE CONFERENCES 1<sup>ère</sup> CLASSE

- M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*  
M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*  
M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*  
Mme **BOUCRAUT-BARALON Corine**, *Pathologie infectieuse*  
Mlle **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*  
Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, Anatomie pathologique*  
M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Physiologie et Thérapeutique*  
Mme **BRET-BENNIS Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*  
M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*  
M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*  
Mlle **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*  
M. **DUCOS Alain**, *Zootchnie*  
M. **DOSSIN Olivier**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*  
Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*  
M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*  
Mme **HAGEN-PICARD Nicole**, *Pathologie de la Reproduction*  
M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*  
M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*  
M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et Mathématiques*  
M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*  
Mme **MESSUD-PETIT Frédérique**, *Pathologie infectieuse*  
Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*  
Mme **RAYMOND-LETRON Isabelle**, *Anatomie pathologique*  
M. **SANS Pierre**, *Productions animales*  
Mlle **TRUMEL Catherine**, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*  
M. **VALARCHER Jean-François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*  
M. **VERWAERDE Patrick**, *Anesthésie, Réanimation*

## MAITRES DE CONFERENCES 2<sup>e</sup> CLASSE

- M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*  
Mlle **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie*  
Mlle **CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*  
Mme **COLLARD-MEYNAUD Patricia**, *Pathologie chirurgicale*  
M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie du Bétail*  
M. **GUERIN Jean-Luc**, *Productions animales*  
Mlle **HAY Magali**, *Zootchnie*  
M. **MARENDA Marc**, *Pathologie de la Reproduction*  
M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*

## MAITRES DE CONFERENCES 2<sup>e</sup> CLASSE

- M. **GRANDJEAN Christophe**, *Gestion de la santé en élevage des ruminants*

## ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

- Mme **MEYNADIER-TROEGELER Annabelle**, *Alimentation*  
M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*  
M. **MONNEREAU Laurent**, *Anatomie, Embryologie*

**A notre jury de thèse**

Monsieur le Professeur BUGAT  
Professeur des Universités  
Praticien hospitalier  
Cancérologie

*Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse.*

*Hommage respectueux.*

Monsieur le Professeur CORPET  
De l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse  
Sciences de l'Aliment et Technologies dans les Industries Agro-Alimentaires

*Qui a accepté avec bienveillance notre sujet de thèse, en remerciement de son soutien et de ses précieux conseils.*

*Qu'il trouve ici l'expression de notre vive gratitude et de notre profond respect.*

Monsieur le Docteur BERTAGNOLI  
Maître de conférence  
De l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse  
Pathologies Infectieuses

*Qui nous a fait l'honneur d'examiner ce travail.*

*Hommage respectueux.*

*A mes parents, Maryse et Jean, qui m'ont portée, poussée, encouragée et sans qui rien de tout cela n'aurait été possible. Merci pour votre patience.*

*A ma sœur, Aude, et à sa foi en moi. Que ton parcours t'amène comme moi vers un métier enrichissant.*

*A Sébastien qui m'a montré que l'on pouvait à la fois mener ses études avec sérieux et rire de la vie. A nos fous rires, à notre amour et à notre avenir.*

*A Géraldine : nous aurions du être toutes les deux sur les bancs de cette école, mais je n'ai pas de regrets car tu as trouvé ta voie et elle te va bien. A notre amitié et à notre volonté.*

*A Sylviane pour son soutien, son attention et sa joie de vivre.*

*Merci...*

# **TABLE DES MATIERES**



<b>TABLE DES ILLUSTRATIONS .....</b>	<b>17</b>
<b>Introduction.....</b>	<b>21</b>
<b>Etude bibliographique : Présentation du cancer colorectal et de ses liens avec l'oignon .....</b>	<b>23</b>
<b>Chapitre premier : Cancer du côlon.....</b>	<b>23</b>
<b>I. Définition du cancer.....</b>	<b>24</b>
1. Présentation .....	24
2. Causes d'apparition .....	24
<b>II. Processus de cancérogenèse.....</b>	<b>27</b>
1. Schéma classique de la cancérogenèse en trois étapes .....	27
a) Initiation .....	27
b) Promotion .....	27
c) Progression .....	28
2. Schéma génétique de la cancérogenèse .....	28
a) les mutations génétiques associées aux tumeurs coliques.....	28
b) Schéma de Vogelstein et Kinzler .....	29
<b>III. Anatomopathologie du cancer du côlon .....</b>	<b>30</b>
1. Structure du côlon .....	32
2. Lésions pré-cancéreuses .....	33
3. Les carcinomes .....	34
4. Evolution.....	36
<b>IV. Epidémiologie du cancer du côlon .....</b>	<b>37</b>
1. Importance des cancers colorectaux .....	37
a) Importance dans le monde .....	37
b) Importance en France .....	38
2. Répartition géographique .....	38
3. Répartition par sexe .....	38
<b>V. Alimentation et cancer du côlon .....</b>	<b>39</b>
1. Un lien de cause à effet .....	39
2. Catégories d'aliments et cancer du côlon .....	41
3. L'oignon et le cancer du côlon .....	42
4. Conseils alimentaires et prévention du cancer du côlon .....	42



<b>Chapitre deuxième : Modèles d'étude de la cancérogenèse :</b>	<b>45</b>
<b>I. Etudier le cancer</b>	<b>46</b>
<b>1. Différentes approches de l'étude des cancers</b>	<b>46</b>
a) Etudes de populations	46
b) Utilisation de modèles animaux	47
c) Etudes in-vitro	47
<b>2. Différents marqueurs de la cancérogenèse</b>	<b>48</b>
a) Utilisation de lésions pré-néoplasiques in vivo	48
b) Utilisation de marqueurs moléculaires in vivo	49
<b>3. Modèles animaux</b>	<b>49</b>
<b>4. Protocoles d'étude des effets d'aliments</b>	<b>52</b>
<b>II. Les lésions pré-néoplasiques comme marqueurs de la cancérogenèse</b>	<b>53</b>
<b>1. définition des foyers de cryptes aberrantes</b>	<b>53</b>
a) Méthode d'observation	53
b) Caractéristiques morphologiques des ACF	54
c) Classification des ACF	54
d) Répartition des ACF chez l'Homme	56
<b>2. Cancérogènes et apparition d'ACF</b>	<b>57</b>
<b>Chapitre troisième : Oignon et cancer du côlon:</b>	<b>59</b>
<b>I. Les microconstituants de l'oignon</b>	<b>60</b>
<b>1. Composition de l'oignon</b>	<b>60</b>
<b>2. Composés soufrés</b>	<b>61</b>
a) Composés soufrés des alliacées	61
b) Composés soufrés présents dans la variété d'oignon Auxor	62
<b>3. Les quercétines</b>	<b>64</b>
a) La quercétine serait-elle un mutagène ?	66
b) Ou un anticancéreux ?	66
<b>4. Oligosaccharides non-digestibles</b>	<b>68</b>
a) Rôle anticancéreux	69
b) Hypothèses expliquant l'action des oligosaccharides non-digestibles contre le cancer	70

<b>II. Autres rôles bénéfiques de l'oignon .....</b>	<b>71</b>
1. Propriétés anti-microbiennes .....	71
2. Prévention de maladies cardio-vasculaires .....	72
3. Propriétés immunostimulantes .....	72
4. Propriétés hypoglycémiantes .....	72
5. Cas de l'intoxication .....	73
<b>DEUXIEME PARTIE : Etude expérimentale du rôle protecteur de l'oignon contre la cancérogenèse induite chez le rat .....</b>	<b>75</b>
<b>Introduction : objectifs et intérêts de l'expérience .....</b>	<b>76</b>
<b>Préliminaire : Action in-vitro de l'oignon sur la cancérogenèse .....</b>	<b>77</b>
<b>I.Rôle de l'oignon sur l'initiation de la cancérogenèse chez le rat.....</b>	<b>78</b>
1. Matériel et méthodes .....	79
a) Lots d'animaux .....	79
b) Alimentation et ambiance .....	79
c) Protocole expérimental .....	80
d) Mesures réalisées pendant le protocole .....	82
2. Résultats .....	83
3. Discussion .....	84
<b>II. Rôle de l'oignon sur la promotion de la cancérogenèse par l'azoxyméthane chez le rat .....</b>	<b>87</b>
1. Matériel et méthodes .....	87
a) Lots d'animaux .....	87
b) Alimentation et ambiance .....	88
c) Protocole expérimental .....	88
d) Mesures réalisées pendant le protocole .....	90
2. Résultats .....	91
3. Discussion .....	92
<b>Conclusion .....</b>	<b>95</b>
<b>Annexes .....</b>	<b>99</b>
<b>Bibliographie .....</b>	<b>107</b>

# **TABLE DES ILLUSTRATIONS**

## Liste des tableaux

Tableau 1. : Etapes et mécanismes impliqués dans le processus de cancérogenèse.....	26
Tableau 2. : Résultats de l'étude 1.....	84
Tableau 3. : Statistiques de l'étude 1.....	85
Tableau 4. : Formulation des différents régimes de l'étude .....	89
Tableau 5. : Résultats de l'étude 2.....	91
Tableau 6. : Statistiques de l'étude 2.....	92

## Liste des figures

Figure 1. : Structure tridimensionnelle du côlon.....	31
Figure 2. : Classification TNM des tumeurs colorectales.....	35
Figure 3. : Relations entre facteurs alimentaires et cancérogenèse.....	40
Figure 4. : Photos de foyers de cryptes aberrantes observés au microscope optique.....	55
Figure 5. : Schéma de formation des composés soufrés de l'oignon.....	63
Figure 6. : Formules de flavonoïdes.....	65
Figure 7. : Formules d'oligosaccharides de type inuline.....	67
Figure 8. : Protocole expérimental de l'étude 1.....	81
Figure 9. : Protocole expérimental de l'étude 2.....	90

## Liste des annexes

Annexe 1. : Poids des rats au cours de l'étude 1.....	101
Annexe 2. : Courbe de poids des rats au cours de l'étude 1.....	101
Annexe 3. : Consommation de poudre d'oignon au cours de l'étude 1.....	102
Annexe 4. : Courbe de consommation de poudre d'oignon au cours de l'étude 1.....	102
Annexe 5. : Poids des rats au cours de l'étude 2.....	103
Annexe 6. : Courbe de poids des rats au cours de l'étude 2.....	103
Annexe 7. : Consommation de poudre d'oignon au cours de l'étude 2.....	104
Annexe 8. : Courbe de consommation de poudre d'oignon au cours de l'étude 2.....	104
Annexe 9. Consommation des microconstituants au cours de l'étude 2.....	105
Annexe 10. Courbes de consommation des microconstituants au cours de l'étude 2.....	106

# **INTRODUCTION**



Au fil des siècles, les peuples ont évolué et les maladies qui les déciment aussi. Dans nos sociétés, dites industrialisées, les populations vieillissent. Même si l'on peut s'en réjouir, ce phénomène s'accompagne aussi de troubles, liés au fait que l'on vit plus vieux. Ces troubles qui étaient rares il y a cent ans et qui sont aujourd'hui tout à fait courants, notamment des cancers. Chaque année, environ 10 millions de cancers sont dénombrés dans le monde et on compte 240 000 nouveaux cas en France [WCRF, 2002]. Cette maladie est d'autant plus la préoccupation des scientifiques et des gouvernements, qu'elle fait partie des premières causes de mortalité dans nos pays. En France, tous les ans, 143 000 décès sont dus au cancer et c'est la deuxième cause de mortalité après les maladies cardio-vasculaires [WCRF, 2002]. Le cancer doit donc être considéré comme un grave problème de santé publique et donc être géré comme tel : la recherche dans ce domaine est une priorité.

Parmi tous les cancers, les cancers les plus courants chez la femme sont le cancer du sein, le cancer du poumon et le cancer colorectal. Chez les hommes il s'agit du cancer de la prostate devant celui du poumon et le cancer colorectal. Le cancer du côlon fait donc partie des cancers les plus courants et ce constat participe à son importance. Ce type de cancer est aussi très préoccupant par sa gravité clinique et pronostique : la seule solution est chirurgicale, la chimiothérapie ou la radiothérapie étant insuffisantes. Quand le diagnostic est précoce on peut éviter une invasion des tissus adjacents trop importante ou des métastases vers d'autres organes, qui sont souvent les facteurs d'un pronostic sombre. On surveille donc avec attention les familles à risque et la coloscopie permet de repérer les polypes pouvant évoluer en lésions cancéreuses. Leur ablation permet de réduire le risque de développer un cancer colorectal.

Depuis une vingtaine d'années, les unités de recherche ont cherché des moyens de prévention et les mécanismes de développement de lésions tumorales et en particulier le lien entre l'alimentation et le cancer. C'est dans ce cadre que s'inscrit notre étude. Elle fait partie d'un programme national de recherche : le programme « Aliments – Qualité – Sécurité » qui cherche à trouver des aliments ou des habitudes alimentaires associés à une diminution du risque d'apparition de cancer colorectal.





**CHAPITRE PREMIER :**  
**LE CANCER DU COLON**

## **I. Définition du cancer :**

### **1. Présentation :**

Le cancer est une maladie très ancienne, mais qui connaît dans nos sociétés modernes un essor considérable principalement à cause du vieillissement des populations. C'est une maladie des cellules, le plus souvent d'un organe en particulier, qui, par des modifications du matériel génétique, connaissent une croissance exagérée et se retrouvent en trop grand nombre pour la fonction à laquelle elles participent. James Ewing donne dans les années 20 une définition des tumeurs : « de nouvelles excroissances autonomes de tissus comprenant un groupe de cellules anormales qui poussent sans coordination avec le tissu normal environnant » [WCRF, 1997]. Ces tissus anormaux et surnuméraires provoquent une destruction des tissus sains environnants, induisent la formation de vaisseaux sanguins propres à leur alimentation et peuvent se déplacer à grande distance dans l'organisme pour coloniser d'autres sites : ce sont les métastases. C'est d'ailleurs souvent ce phénomène de dissémination qui entraîne la mort, plutôt que la lésion tumorale de départ [WCRF, 1997].

### **2. Causes d'apparition :**

Tout le processus de formation d'une tumeur est basé sur des modifications de la structure et de la fonction de l'ADN. Le cancer est une maladie multifactorielle et l'apparition de tumeur est lié à des facteurs à la fois génétiques, hormonaux et environnementaux.

Certains cancers peuvent être héréditaires lorsqu'un gène modifié générateur de tumeur est transmis de façon génétique à la descendance.

Pour la majorité des cas, les tumeurs sont induites au cours de la vie de l'individu et dans certaines conditions par des agents environnementaux capables de provoquer des lésions de l'ADN entraînant : des défauts du système de réparation de l'ADN, des activations de gènes de croissance cellulaire ou au contraire des inhibitions de gènes de destruction cellulaire ou d'autres modifications génératrices de tumeurs [WCRF, 1997].



Parmi ces agents environnementaux, on peut trouver [WCRF, 2002] :

- des molécules chimiques comme les dérivés du pétrole ou les amines aromatiques présentent dans certains lubrifiants ; mais également les particules contenues dans la fumée de cigarette ou certaines molécules de nos aliments ;
- les radiations ultraviolettes présentes dans les rayons du soleil, les radiations par rayons X ou rayons  $\gamma$  utilisés en imagerie médicale ;
- certains virus appelés virus oncogènes comme ceux de l'hépatite B et de l'hépatite C ;
- enfin, de plus en plus de travaux semblent apporter la preuve du rôle de bactéries, de l'espèce *Helicobacter pylori*, dans le cancer de l'estomac.

Ces agents, que l'on appellera par la suite cancérogènes, vont provoquer un enchaînement de modifications d'abord génétiques puis tissulaires menant à l'apparition de tissu tumoral. Cette cascade d'événements est appelée cancérogenèse et elle peut être décrite selon plusieurs schémas. Le schéma le plus ancien et qui sert de référence quand on parle de cancérogenèse décrit le phénomène en trois étapes successives : phase d'initiation, phase de promotion et phase de progression. Plus récemment, grâce aux connaissances acquises dans le domaine génétique et à la découverte de mutations de gènes associées à l'apparition de tumeurs coliques, on a pu améliorer ce schéma et décrire la cancérogenèse en cinq à sept étapes.

Il est à noter que toute exposition à un cancérogène n'est pas forcément suivie du développement d'un cancer ou ce développement peut être différé dans le temps : l'apparition d'un cancer est un phénomène complexe, multifactoriel et multiphasique.

Etapes de la cancérogenèse	Mécanismes impliqués
<p><b>Initiation</b>            = altérations génétiques stables et transmissibles            → cellules initiées            ◆ état irréversible</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Activation et détoxification des cancérogènes chimiques</li> <li>• Mutations spontanées</li> <li>• Mutations induites : en particulier sur les oncogènes et/ou les gènes suppresseurs de tumeurs</li> <li>• Altérations primaires du génome : alkylation des bases, adduits à l'ADN, coupures, pontages intrabrans et interbrans</li> <li>• Aberrations chromosomiques</li> <li>• Réparation de l'ADN : fidèle par excision — resynthèse ou recombinaison ; fautive par le système SOS</li> </ul>
⇕	
<p><b>Promotion</b>            = altérations épigénétiques            = expansion clonale des cellules initiées            → lésions précancéreuses            ◆ état réversible</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Stimulation de la prolifération cellulaire</li> <li>• Perte de différenciation cellulaire</li> <li>• Perte de communication intercellulaire</li> <li>• Altération des mécanismes de signalisation cellulaire (protéine kinase C, phosphorylation de protéines spécifiques...)</li> <li>• Modulation de l'expression des gènes</li> <li>• Action pro-oxydante des radicaux libres</li> </ul>
⇓	
<p><b>Progression</b>            = altérations génétiques stables et transmissibles            → tumeur maligne            ◆ état irréversible</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Instabilité génomique : translocations, recombinaison, amplification des gènes, remaniements chromosomiques</li> <li>• Mutation d'oncogènes et/ou de gènes suppresseurs de tumeurs</li> </ul>
⇓	
<p><b>Invasion</b>            = dissémination des cellules tumorales            → métastases</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Perte d'adhésivité des cellules, capacités de migration</li> </ul>

**Tableau 1.** Etapes et mécanismes impliqués dans le processus de cancérogenèse. *E. Riboli et F. Decloître* [Riboli, 1996].

## II. **Processus de cancérogenèse :**

### 1. **Schéma classique de la cancérogenèse en trois étapes : (cf. Tableau 1.)**

#### **a) Initiation :**

L'initiation est une phase d'altération du patrimoine génétique d'une cellule qui transmettra ensuite cette modification stable aux cellules-filles, rendant le processus irréversible. De telles mutations se produisent spontanément à un taux très faible chez l'Homme sans présence de cancérogène ; mais par ailleurs la cellule possède des mécanismes de réparation de l'ADN ou de suppression des cellules endommagées (l'apoptose) : ces processus sont en équilibre dans une cellule saine [Riboli, 1996].

L'initiation de la cancérogenèse, elle, est une modification qui ne sera pas réparée ou mal. Lorsque le gène touché et provoquant la tumeur est activé par cette erreur, ce gène est appelé oncogène ; lorsqu'au contraire c'est l'inhibition d'un gène qui provoque l'initiation de la cellule, on appelle ce gène, un gène suppresseur de tumeur.

Ces cellules dites « initiées » sont potentiellement capables d'induire une tumeur, mais peuvent rester dans un état de latence dans lequel elles ne se multiplient et n'expriment donc pas ce potentiel [Riboli, 1996].

#### **b) Promotion :**

Au cours de l'étape de promotion, les cellules initiées se multiplient donnant un clone de cellules dites « précancéreuses » contenant la modification génétique [WCRF, 2002]. Le passage dans cette phase proliférative est lié à l'apparition de plusieurs facteurs spécifiques d'un organe comme l'exposition à une substance promotrice (qui peut être également la substance initiatrice) qui modifierait l'expression et la régulation des gènes de croissance cellulaires, perturberait les communications inter-cellulaires ou favoriserait la formation de radicaux libres qui sont promoteurs [Riboli, 1996].



Contrairement à la phase d'initiation, cette phase peut être réversible et elle ne se déclenche qu'au-delà d'un seuil : un certain nombre de cellules transformées est nécessaire, il ne peut pas y avoir de promotion à partir d'une cellule transformée seule. Jusqu'à ce stade, il n'y a pas de signes cliniques de cancer [WCRF, 1997].

### **c) Progression :**

C'est au cours de la phase de progression que les lésions tumorales deviennent irréversibles et qu'apparaissent les signes cliniques liés à la tumeur. Cette phase est marquée par de grands bouleversements génétiques des cellules cancéreuses aboutissant à des modifications morphologiques et fonctionnelles permettant de les différencier totalement des cellules saines avoisinantes. La tumeur devient donc un tissu modifié autonome, avec son propre système vasculaire et ses propres systèmes de communication et d'échange [Riboli, 1996].

Cette phase de progression peut être suivie d'une quatrième phase : l'invasion où la tumeur envoie des cellules cancéreuses à distance et peut ainsi coloniser d'autres territoires de l'organe atteint ou d'autres organes : ces cellules « ambassadeurs » et les foyers tumoraux secondaires en résultant sont appelées « métastases » de la tumeur originelle. Ce phénomène est un caractère particulièrement évocateur de la malignité d'une tumeur [WCRF, 1997].

## **2. Schéma génétique de la cancérogenèse :**

### **a) Les mutations génétiques associées aux tumeurs coliques :**

On a pu démontrer qu'un certain nombre de cas de cancers colorectaux avaient une composante héréditaire. On a ainsi mis en évidence deux syndromes de cancers familiaux :

- Les polyposes familiales, FAP (*familial adenomatous polyposis*) : il s'agit d'une maladie héréditaire dominante autosomale qui atteint un individu sur 7000. Ces patients développent des centaines voire des milliers d'adénomes, tumeurs bénignes, au niveau du côlon et du rectum dont quelques-uns sont capables d'évoluer en tumeurs malignes. Ils



présentent aussi souvent des manifestations cliniques extra-coliques comme des lésions rétinienne, des desmoïdes cutanés ou des tumeurs cérébrales. Chez ces patients, on a mis en évidence une mutation sur le gène APC. Ce gène code pour une protéine que l'on retrouve au niveau des membranes basolatérales des cellules épithéliales coliques et qui semble jouer un rôle dans l'apoptose et d'une manière plus générale dans le maintien de l'homéostasie cellulaire, le maintien d'un nombre à peu près constant de cellules dans un tissu [Kinzler, 1996].

Ce gène APC est un gène suppresseur de tumeur : la protéine APC exerce un rétrocontrôle négatif sur l'expression d'oncogènes, c'est à dire des gènes comme celui de la cycline D1 ou de la E-cadhérine qui, s'ils sont surexprimés, favorisent la prolifération cellulaire et le développement de tumeurs. La mutation de ce gène intervient dans la phase, vue précédemment, d'initiation. En effet, sans cette mutation et même si d'autres mutations de gènes suppresseurs de tumeurs comme le gène p53 ou le gène RAS interviennent (ce qui est le cas dans les FAP [Kinzler, 1996]) aucune tumeur n'apparaîtra.

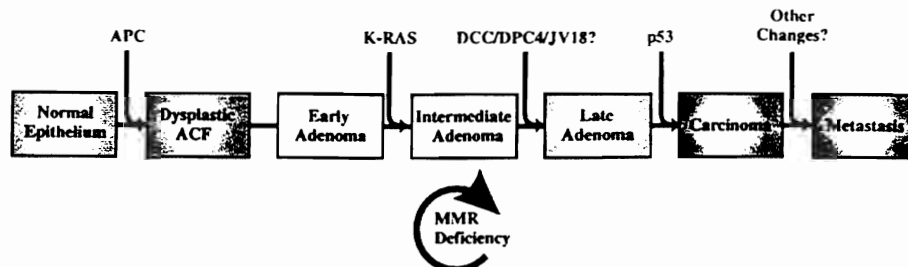
- Les HNPCC (hereditary non-polyposis colorectal cancer) : il s'agit d'une maladie héréditaire dans laquelle interviennent des mutations des gènes, appelés MMR (pour mismatch-repair), impliqués dans la réparation des erreurs de l'ADN polymérase au cours de la réplication. Quatre gènes MMR sont connus : MSH2, MLH1, PMS1 et PMS2 [De Wind, 1998]. Ces patients développent des cancers en différents sites. On retrouve également des mutations du gène APC dans ces cas de cancer sporadiques.

#### **b) Schéma de Vogelstein et Kinzler :**

Le schéma de Vogelstein et Kinzler se base sur le schéma classique « initiation-promotion », dans lequel ils placent des mutations génétiques. En effet, de multiples mutations sont nécessaires au développement d'un cancer : durant le processus de cancérogenèse, les deux allèles des gènes suppresseurs de tumeur sont inactivés et finalement cinq à sept étapes de mutations semblent nécessaires au développement d'une tumeur maligne. Mais cette accumulation de mutations devrait se faire dans un certain ordre. Par exemple, des cellules épithéliales comprenant une mutation du gène RAS qui intervient dans la cancérogenèse

colique vont devenir hyperplasiques, mais n'aboutiraient pas à la formation d'une tumeur sans la présence au départ de la mutation du gène APC [Kinzler, 1996].

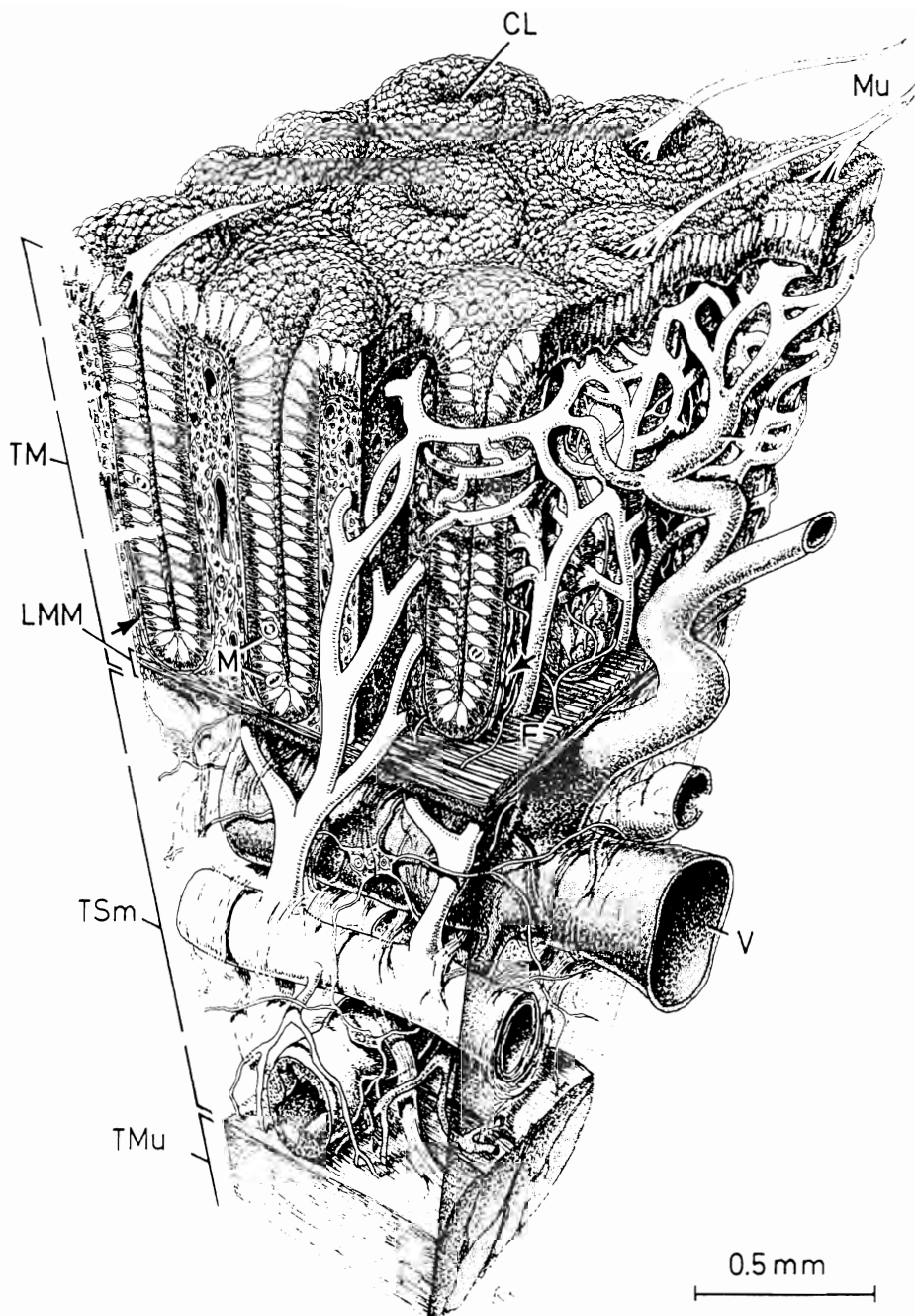
Voici le schéma proposé par Vogelstein et Kinzler :



### III. Anatomopathologie du cancer du côlon :

Quand on parle de cancer du côlon on parle en réalité de tumeurs pouvant se situer sur le côlon ascendant, le côlon transverse, le côlon descendant, le côlon sigmoïde ou le rectum. Pourtant ces différents segments du gros intestin ne semblent pas être touchés de la même façon par les lésions tumorales. En effet, des études épidémiologiques ont montré que dans les pays à bas risque de cancer colorectal, les lésions tumorales se situaient plutôt sur le côlon droit ; alors que dans les pays à haut risque, on retrouvait ces tumeurs plutôt sur les segments distaux du gros intestin. En particulier en Europe, dans les pays latins comme en France par exemple, ce sont les cancers du rectum qui sont les plus fréquents parmi les cancers colorectaux ; alors que dans les pays anglo-saxons, c'est le côlon gauche qui est le plus souvent touché [Boutron-Ruault, 1999].

En outre, les différentes localisations possibles des cancers colorectaux semblent liées à la fois à des étiologies différentes et à des mutations génétiques différentes. Ces segments ont des origines embryologiques différentes, ont une structure et un fonctionnement différents. On trouve par exemple peu de cellules endocrines dans les parties proximales du côlon, alors qu'elles s'accumulent dans les parties distales ; les fermentations bactériennes se font surtout dans la partie proximale du côlon créant ainsi dans le côlon-rectum des gradients de produits de fermentation comme les acides gras à courte chaîne ou les acides biliaires secondaires et un gradient de pH [Cats, 1996]. Toutes ces différences peuvent modifier l'action de cancérogènes ou les processus d'altération de l'ADN. Ainsi, des études ont vérifié l'hypothèse selon



**Figure 1.** Structure tridimensionnelle du côlon.

TM : muqueuse ; LMM : musculaire muqueuse ; TSm : sous-muqueuse ; Tmu : musculieuse ;  
 CL : lumière d'une crypte ; Mu : mucus ; V : réseau de vascularisation. [Krstic, 1991].

laquelle des pressions de sélection différentes selon la région du côlon favoriserait soit une instabilité des gènes MMR, soit une instabilité chromosomique induisant l'activité d'oncogènes ou inhibant celle de gènes suppresseurs de tumeur comme le gène APC [Breivik, 2001]. D'ailleurs, des études épidémiologiques ont montré que dans les polyposes familiales, liées comme on l'a vu précédemment à l'altération, notamment, du gène APC, les lésions se situaient essentiellement sur les segments distaux du côlon et sur le rectum [Cats, 1996]. Les tumeurs dues à une instabilité du système MMR seraient donc plutôt situées sur les segments proximaux et favorisées par une pression de sélection d'agents méthylants ; alors que les tumeurs issues d'une instabilité chromosomique seraient situées sur les segments distaux et liées à une pression de sélection d'agents environnementaux comme certains aliments, la fumée de cigarette ou l'alcool [Breivik, 1999].

Malgré ces différences étiologiques, fonctionnelles et structurales des segments colorectaux, on peut tout de même mettre en évidence des caractères histologiques communs à l'ensemble du côlon et du rectum et des critères anatomopathologiques permettant de décrire les tumeurs coliques et rectales.

### **1. Structure du côlon :**

Le côlon a une structure histologique plutôt glandulaire que villositaire comme l'intestin grêle. Ses cellules sont réparties en plusieurs couches, de la lumière intestinale vers l'extérieur : la muqueuse, la musculaire- muqueuse, la sous-muqueuse, la musculuse et la séreuse. (cf. *Figure 1.*)

La muqueuse est constituée d'un épithélium simple agencé en cryptes en forme de tubes et s'ouvrant dans la lumière digestive ; ces cryptes forment des glandes tubulaires droites. Ces cryptes sont composées de cellules à mucus dans le cytoplasme desquelles on voit une large vacuole de mucus et d'entérocytes à cytoplasme éosinophile. Dans chaque crypte, les cellules épithéliales sont produites de façon constante dans les deux-tiers inférieurs de la crypte et migrent le long de la paroi de la crypte jusqu'à la surface de la muqueuse où elles pourront être rejetées dans la lumière digestive [Chang, 1984].

L'agencement des cryptes est très régulier à la surface du côlon, si bien que ce tapis ressemble aux alvéoles d'une ruche lorsqu'on les observe au microscope.

Dans la musculaire-muqueuse, on trouve des cellules lymphoïdes rassemblées en agrégats.

La séreuse est riche en vaisseaux lymphatiques qui pourront servir de voie de communication à d'éventuelles cellules métastatiques.

La majorité des cancers du côlon ont une origine épithéliale. Ce sont soit des polypes bénins, soit des carcinomes, donc malins.

[Shamsuddin, 1990]

## **2. Lésions pré-cancéreuses :**

Les polypes les plus communs (90% des tumeurs) sont dus à une hyperplasie de l'épithélium des cryptes. Ils apparaissent comme de petites excroissances de 1 à 5 mm de diamètre formant une protubérance dans la lumière digestive. Ces polypes sont, la plupart du temps, incapables d'évoluer en carcinome.

Par contre, deux autres types de polypes : les polypes adénomateux et les polypes vilieux, sont considérés comme des précurseurs de tumeurs malignes.

Les polypes adénomateux, tout d'abord, sont des excroissances de moins d'1 cm de diamètre, composées d'un pédoncule de cellules non-transformées, surmonté d'une tête de cellules tumorales. Ces dernières sont des cellules des cryptes à différents degrés de malignité : on constate une augmentation du cytoplasme basophile, une augmentation du ratio nucléocytoplasmique et une perte de polarité des cellules et des noyaux. Les cryptes apparaissent dilatées, tortueuses et ramifiées.

Les polypes vilieux, eux, apparaissent comme une masse enchâssée dans la muqueuse. Sa surface est recouverte de petites structures longilignes ressemblant aux villosités de l'intestin grêle d'où le terme de polype vilieux. Tout le polype est constitué de cellules transformées et ce type de polype est le plus susceptible de devenir un carcinome. Ces polypes sont

généralement plus grands que les autres types de polypes et il semble que la taille des polypes soit corrélée à la fréquence d'apparition de foyers malins. Ainsi, les polypes villosités présentent plus de risque de donner une tumeur maligne que les polypes adénomateux eux-mêmes plus susceptibles de donner une tumeur maligne que les polypes hyperplasiques.

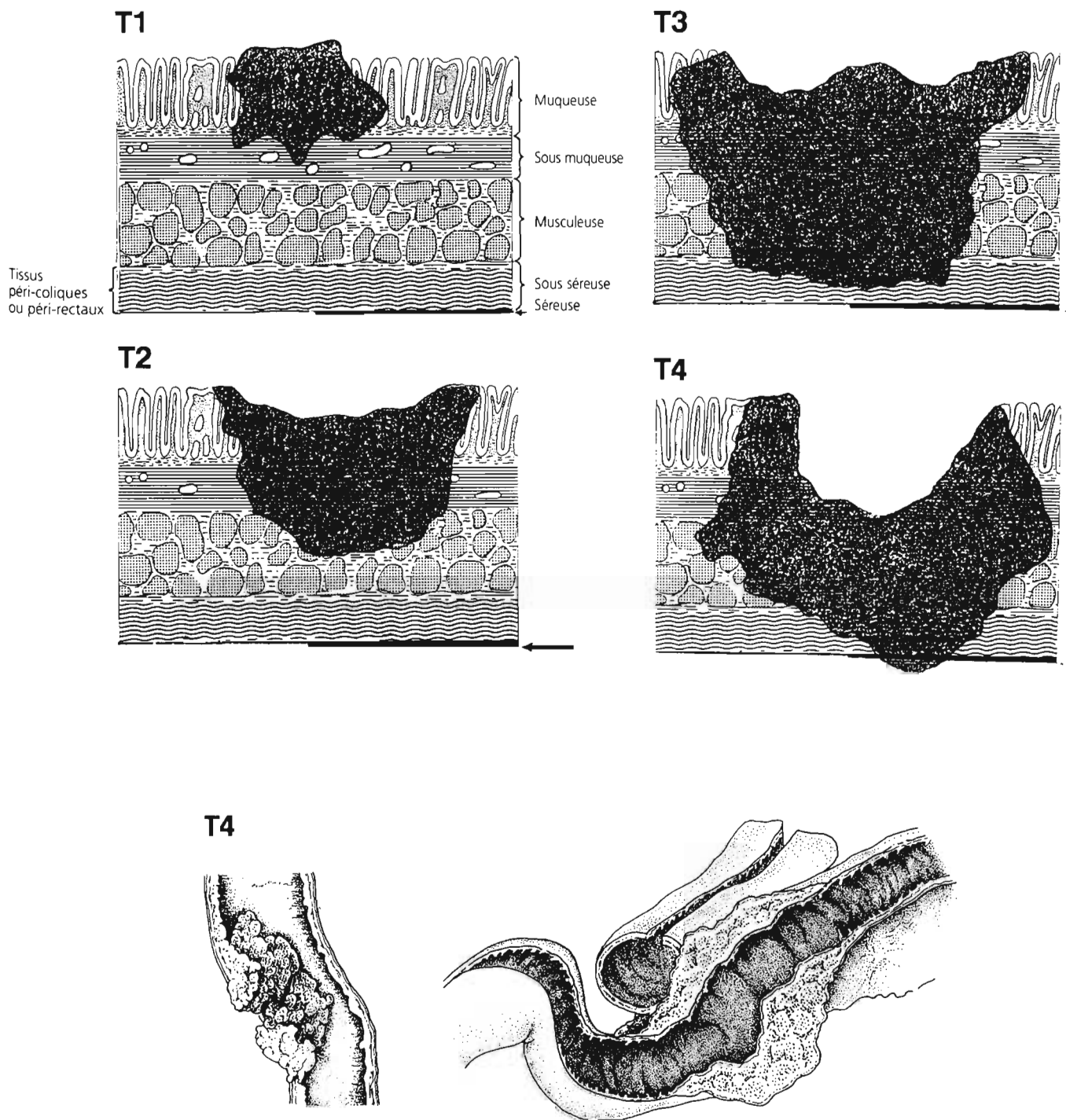
[Shamsuddin, 1990]

La coloscopie, examen visuel de la muqueuse colique, permet, dans certains cas, de déceler de telles lésions pré-cancéreuses et donc d'effectuer un diagnostic précoce du risque de cancer du côlon permettant un meilleur pronostic pour la survie du patient car on effectue une ablation des polypes avant qu'ils n'évoluent en tumeur maligne.

### **3. Les carcinomes :**

Les carcinomes représentent 98% des tumeurs malignes du côlon et parmi eux, 95% sont des adénocarcinomes. Les adénocarcinomes peuvent apparaître à différents degrés de différenciation [Shamsuddin, 1990]:

- **Forme bien différenciée :** on voit des cryptes plus larges que les cryptes saines. La structure glandulaire semble bien formée avec des cellules contenant différentes quantités de mucus. Les cellules présentent différents caractères de malignité : une stratification des cellules épithéliales, une augmentation du ratio nucléocytoplasmique, une perte de la polarité des cellules et des noyaux.
- **Forme moins bien différenciée :** on ne reconnaît pas la structure glandulaire, on voit des cellules dégénératives et des signes de nécrose. Ce type de carcinome s'accompagne généralement d'inflammation chronique se traduisant par la présence de lymphocytes et autres cellules de l'inflammation.
- **Carcinome colloïde :** c'est une autre forme d'adénocarcinome avec des cellules tumorales dilatées noyées dans de véritables « lacs » de mucus. Ce type de cancer a une incidence élevée chez les patients souffrant de colite ulcéreuse ou ayant subi des radiations.



**Figure 2.** Classification TNM des tumeurs colorectales [Hermanek, 1998].

#### d) Evolution :

Les cancers du côlon évoluent le plus souvent vers une invasion des tissus adjacents à travers la sous-muqueuse, puis les muscles et vers des métastases via les vaisseaux lymphatiques et veineux dans les nœuds lymphatiques loco-régionaux, puis vers le foie, les poumons ou d'autres organes. Une classification internationale, la classification TNM [Hermanek, 1998], permet de distinguer et de décrire les différents stades d'évolution des tumeurs malignes coliques (*cf. figure2.*):

Le « T » décrit le stade d'extension de la tumeur primitive :

Stade	Signification
T0	Pas de tumeur décelable
Tis	Carcinome in-situ : ne dépasse pas l'épithélium
T1	Tumeur atteignant la sous-muqueuse
T2	Atteint la musculature
T3	Atteint la sous-séreuse ou les tissus péricoliques ou périmétraux dans les zones sans péritoine péritoine viscéral
T4	Envahit d'autres organe voisins, dépasse le péritoine viscéral dans certains cas

Le « N » traduit l'absence ou la présence de métastases dans les ganglions loco-régionaux :

Stade	Signification
N0	Pas de métastases dans les ganglions loco-régionaux
N1	1 à 3 adénopathies régionales métastatiques
N2	4 ou plus adénopathies régionales métastatiques



Le « M » traduit la présence ou l'absence de métastases à distance :

Stade	Signification
M0	Absence de métastases à distance
M1	Présence de métastases à distance

Ce type de classification permet, entre autre, aux praticiens de corréler une stade d'extension d'une tumeur avec un pronostic et d'établir plus rapidement un traitement.

Outre ces aspects génétiques, anatomopathologiques ou cliniques, le cancer peut également être décrit au niveau des populations et l'on peut en dégager différentes caractéristiques épidémiologiques.

#### **IV. Epidémiologie du cancer du côlon :**

Les cancers colorectaux représentent un problème majeur de santé publique par son incidence, mais aussi par le manque d'avancées thérapeutiques malgré le nombre croissants de projets de recherche sur le sujet et la compréhension depuis une vingtaine d'année des mécanismes génétiques et moléculaires participant à l'oncogenèse. A l'heure actuelle, seule l'exérèse des foyers tumoraux (parfois accompagnée de radiothérapie et/ou de chimiothérapie) montre une grande efficacité sur le cancer colorectal dans la mesure où ils ne sont pas trop étendus ni métastatiques [Inserm, 1998].

##### **1. Importance des cancers colorectaux :**

###### **a) Importance dans le monde :**

En 1996, on comptait environ 875000 nouveaux cas représentant 8.5% des nouveaux cas de cancer en général. 400 000 personnes meurent chaque année de cancer colorectal dans le

monde, cela représente 7.2% de la totalité des morts par cancer. Ce type de cancer est au quatrième rang des cancers les plus courants [WCRF, 1997].

L'espérance de vie à 5 ans est généralement de 50-60% tous stades confondus, de 91% si la tumeur est localisée et de seulement 6.9% s'il y a des métastases [Inserm, 1998].

#### **b) Importance en France :**

En ce qui concerne les cancers en général, un homme sur deux et une femme sur trois souffriront d'un cancer au cours de leur vie actuellement, en France. Le cancer colorectal est le troisième cancer le plus fréquent hommes et femmes confondus, après celui de la prostate pour les hommes et du sein pour les femmes et après celui du poumon [WCRF, 2002]; mais cette répartition tend à être modifiée et le cancer du côlon pourrait prendre une place plus importante d'année en année. L'incidence en France était de 33 405 nouveaux cas en 1995 et de 25000 les années précédentes [Boutron-Ruault, 1999].

La mortalité par cancer semble globalement décroître en France et il à noter qu'elle subit une variation importante entre le nord de la France, plus touché, et le sud, moins touché [WCRF, 2002]. Malgré tout on comptait 16026 décès par cancer colorectal en 1994 dont 8280 hommes [Inserm, 1998].

#### **2. Répartition géographique :**

Les zones à haut risque de cancer du côlon sont les pays industrialisés et en particulier : l'Amérique du Nord, l'Europe et l'Australie. En ce qui concerne ce type de cancer, l'alimentation trop riche en produits transformés et trop énergétique associée à une sédentarisation des populations semble jouer un rôle important dans cette répartition géographique.

D'autres pays comme la Chine ou le Japon connaissent un accroissement des cancers proportionnel aux bouleversements de leur société soumise aux influences externes :

vieillesse de la population, migration des populations vers des zones urbaines, mutation de l'agriculture et avec elle de la façon de s'alimenter : les habitudes alimentaires traditionnelles régressent, la qualité des aliments se modifie avec une augmentation de leur degrés de transformation. Dans ce type de situations, les structures et le personnel nécessaires au dépistage et au traitement des cancers ne suit pas un développement aussi important que les secteurs économiques et il est à craindre que la situation actuelle concernant le cancer ne tende à devenir catastrophique dans les années à venir dans ces pays en développement rapide [WCRF,2002].

### **3. Répartition par sexe :**

On ne constate pas de grandes différences entre l'incidence du cancer du côlon chez les hommes et chez les femmes avant l'âge de 50 ans : c'est très variable d'une année sur l'autre et chaque année, d'un pays à l'autre.

Malgré tout, il semble que l'incidence des cancers colorectaux chez les hommes dépasse celle des femmes après 50 ans : ces différences pouvant s'expliquer par des différences de métabolisme et de fonctionnement digestif [Potter, 1997].

Par contre, lorsqu'on s'intéresse aux différentes parties du gros intestin qui peuvent être atteintes, les lésions au niveau du rectum sont plus fréquentes chez les hommes : l'incidence du cancer délimité au rectum est de 20 à 50 % plus importante que chez les femmes [WCRF, 1997].

## **V. Alimentation et cancer du côlon :**

### **1. Un lien de cause à effet :**

Il a été constaté que la prévalence des cancers colorectaux était plus élevée dans les pays industrialisés à quelques exceptions près comme celle du Japon il y a quelques années,

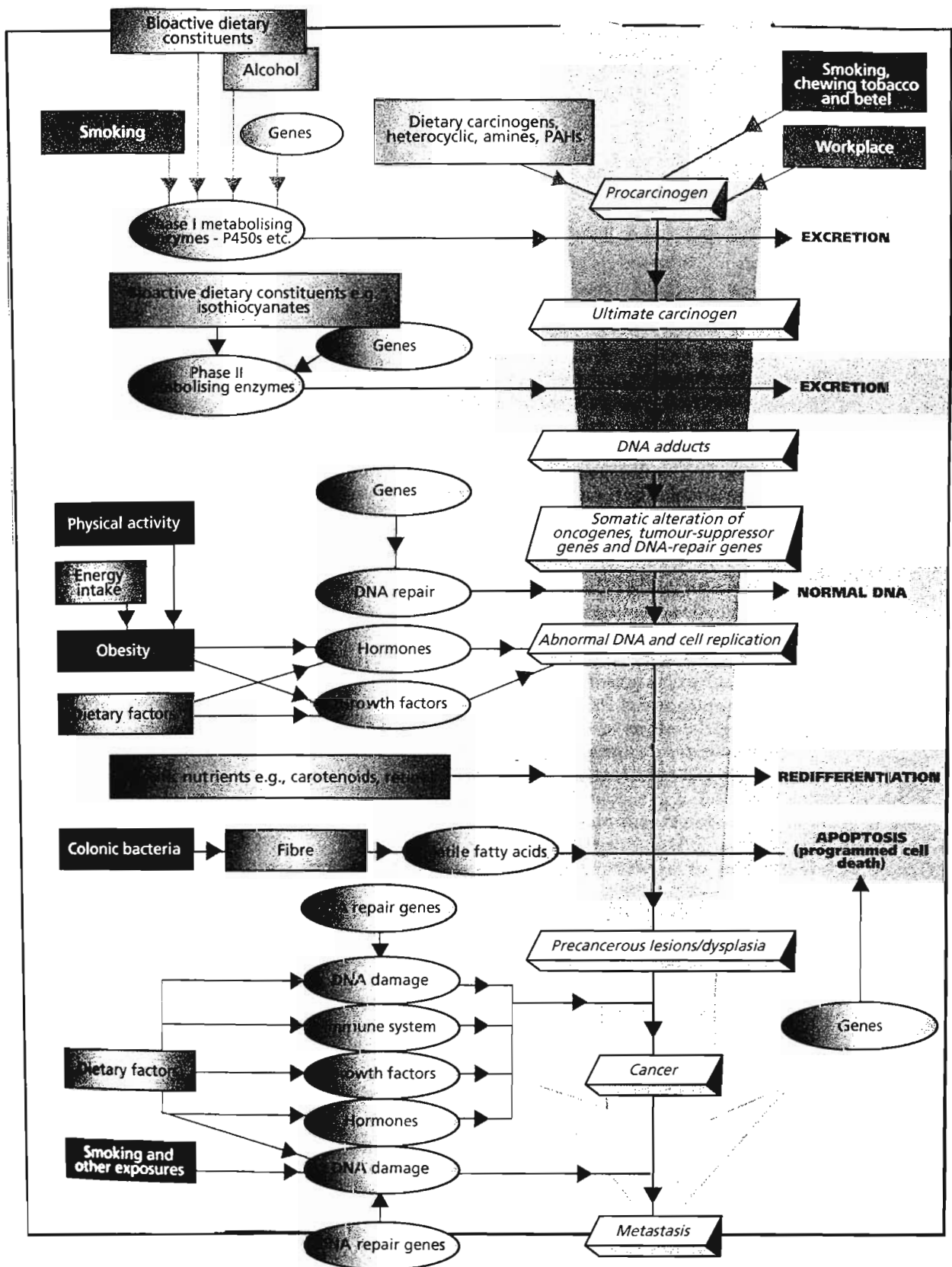


Figure 3. Relations entre facteurs alimentaires et cancérogène [WCRF, 1997].

(l'incidence dans ce pays étant actuellement en forte augmentation) que dans les pays sous-développés ou en développement. De ce fait, on a pensé dans les années 70 à chercher une relation entre cette différence d'incidence et les différences de régimes alimentaires qui caractérisent ces pays. De nombreuses études épidémiologiques réalisées depuis lors, ont démontré des corrélations positives entre l'augmentation du risque de cancer colorectal et, notamment, les régimes trop riches en graisses et en particulier en graisses saturées, le manque d'exercice physique, la sédentarité et l'augmentation des cas d'obésité [Boutron-Ruault, 1999].

En effet, l'alimentation des pays industrialisée est beaucoup plus riche, en moyenne, en lipides, en sucres raffinés et en viandes, facteurs corrélés positivement à un risque accru de cancer du colon, que d'autres pays, comme le Japon par exemple, où l'incidence de ce type de cancer était beaucoup plus basse jusqu'à ces dernières années et où l'on consomme en majorité plutôt des céréales et du poisson [Riboli, 1996].

Dans cet exemple comme dans beaucoup d'autres étudiés par des études cas/témoins ou des études prospectives depuis les années 70, la mise en évidence de corrélations entre le risque de cancer du côlon et des facteurs alimentaires ont orienté la recherche des mécanismes en jeu dans la cancérogenèse vers des molécules issues de nos aliments (*cf. figure 3.*) .

## **2. Catégories d'aliments et cancer du côlon :**

Les résultats d'études cas/témoins ou d'études prospectives mettent en évidence pour l'instant :

- Un certain nombre d'aliments dont la consommation est associée à une augmentation du risque de cancer du côlon : viandes dites « rouges » (bœuf, mouton), ainsi que le porc, les graisses d'origine animale (les charcuteries, le beurre, la crème, le saindoux); ces deux types d'aliments étant souvent associés ;

Par ailleurs, ces aliments sont en eux-mêmes responsables d'un risque accru de cancer, mais leur mode de cuisson entre également en jeu. En effet, les produits issus de la carbonisation des sucres et des viandes sont des molécules considérées comme des « pré-cancérogènes » qui une fois métabolisés par le foie et éliminés par la bile au

niveau de la muqueuse intestinale, seraient transformés par les enzymes bactériennes de la flore intestinale en cancérigènes [Boutron-Ruault, 1999].

- Un certain nombre d'aliments dont la consommation serait corrélée à une diminution du risque : les légumes et céréales (en particulier grâce aux fibres qu'ils contiennent), le poisson [Riboli, 1996].

### **3. L'oignon et le cancer du côlon :**

En ce qui concerne l'oignon et plus généralement les végétaux du genre *Allium* (ail, oignon, échalote,...), sur 11 études d'observation (cas/témoins) ou prospectives réalisées, 9 montrent une association entre la consommation d'alliacées et la diminution du risque de cancer du côlon. Ces résultats nous suggèrent que ces plantes pourraient avoir un effet préventif sur le cancer du côlon [Bianchini, 2001].

A titre d'exemple, trois études d'observation (cas/témoins) réalisées en Argentine en 1992, à Hawaï en 1997 et en Chine en 1991 montrent une association entre la consommation d'ail et d'oignon et la diminution des cancers colorectaux [Fleischauer, 2001].

De la même manière, on montre une corrélation positive entre la consommation de ces végétaux et la diminution du risque de cancer du sein, du poumon, de l'œsophage et de l'estomac. Une étude d'observation a en particulier montré une nette différence de la prévalence du cancer de l'estomac et de l'œsophage entre deux régions chinoises. Dans la région où l'incidence est la plus basse, on consomme de façon régulière et en quantité importante de l'ail, de l'oignon ou d'autres plantes alliacées ; la population de l'autre région en consomme aussi mais de façon beaucoup plus épisodique et en faible quantité.[You, 1989].

### **4. Conseils alimentaires et prévention du cancer du côlon :**

Les grandes institutions mondiales et nationales de lutte contre le cancer se tournent désormais vers des actions fortes de prévention du cancer par des recommandations alimentaires et hygiénistes.

La World Cancer Research Fund en particulier préconise pour la prévention de tous types de cancers :

- Des régimes alimentaires à base de fruits et légumes en quantité suffisante, variés et équilibrés
- Une limitation de la consommation d'alcool
- Une disparition du tabagisme
- Une activité physique accrue et régulière
- Un contrôle du poids

Ainsi, 30 à 40% des cas de cancers, ce qui représente entre 3 et 4 millions de cas par an dans le monde, pourraient être évités par des régimes alimentaires appropriés, le maintien d'une activité physique et un contrôle du poids. Le seul fait de rééquilibrer les régimes alimentaires en y incorporant des fruits et légumes variés en grande quantité permettrait de prévenir au moins 20% des cas de cancer [WCRF, 2002].

Ces recommandations s'adressent à chacun, mais elles sont aussi destinées à pousser les gouvernements à mettre en place de véritables campagnes de prévention. Ceci est évidemment important dans les pays à haut risque de cancer que sont les pays industrialisés, mais aussi dans les pays en voie de développement où les facteurs de risque de cancer vont augmenter. En effet, on assiste dans ces pays à des changements :

- des régimes alimentaires qui « s'occidentalisent »
- des modes de vie avec une sédentarisation des populations qui viennent vivre dans les villes.

Mais par contre, les facteurs de risque augmentent sans que le développement des outils diagnostics et curatifs soit économiquement possible : la prévention est la seule alternative en réponse aux prévisions catastrophiques d'augmentation de l'incidence des cancers dans ces pays [WCRF, 2002].





**CHAPITRE DEUXIEME :**  
**MODELES D'ETUDE DE LA**  
**CANCEROGENESE**

## **I. Etudier le cancer :**

Afin d'étudier les facteurs de variation de l'apparition, du développement ou de l'incidence du cancer, plusieurs approches expérimentales sont possibles : tout dépend du niveau auquel on se place en tant qu'observateur. Chaque type d'approche a ses avantages et ses inconvénients et l'on choisit l'une ou l'autre selon ce que l'on cherche à prouver et selon les moyens dont on dispose. Ensuite, on peut utiliser différents marqueurs de la cancérogenèse : de l'observation de la maladie ou des tumeurs jusqu'à l'utilisation de marqueurs moléculaires. Comme aucune approche n'est parfaite, c'est l'accumulation de preuves à différents niveaux qui valident une hypothèse, plutôt que les résultats d'une étude isolée [WCRF, 1997].

### **1. Différentes approches de l'étude des cancers :**

#### **a) Etude de populations :**

Lorsqu'on observe l'incidence du cancer au niveau de populations humaines, on réalise des études épidémiologiques.

On distingue des études d'observation et des études d'intervention. Dans les études d'intervention, c'est l'observateur qui répartit les participants dans les différents groupes par tirage au sort. Ces études peuvent être des essais cliniques en milieu hospitalier sur des personnes atteintes d'une maladie et où l'on cherche à évaluer l'action de nouveaux traitements par exemple ; ou des essais sur le terrain où l'on recrute des volontaires sains et où l'on cherche à montrer l'influence d'un agent sur la diminution du risque d'apparition d'une maladie. Ce type d'étude permet d'avoir une répartition aléatoire des sujets et d'obtenir des résultats en double aveugle [Dos Santos, 1999].

Dans les études d'observation, on recueille des informations sur des populations ou des échantillons de population dont on ne contrôle pas la répartition. Elles peuvent être rétrospectives comme les études cas/témoins où l'on part d'un groupe de malades et d'un groupe de témoins, puis on remonte dans le temps pour trouver des différences d'exposition entre les deux groupes [Dos Santos, 1999]. Mais on ne contrôle pas les facteurs auxquels sont

soumis les individus et il est parfois difficile d'isoler un facteur de risque de cancer plus qu'un autre, le phénomène étant plurifactoriel [Riboli, 1996].

Les études d'observation peuvent aussi être prospectives, comme les études de cohortes par exemple, où l'on suit des populations dans le temps, mais en les répartissant au départ selon les facteurs de risque auxquels elles sont soumises. Lorsque l'étude se termine, on constate les maladies apparues et on peut faire des rapprochements avec les facteurs de risque mis en évidence au départ. Ici, des biais d'influence peuvent fausser l'étude. Par exemple le fait même de réaliser l'étude peut avoir une influence sur les habitudes ou les comportements des participants et l'on ne contrôle pas l'exposition des sujets [Dos Santos, 1999].

Il est souvent utile d'associer ces deux types d'études pour avoir une idée des facteurs de risque de cancer dans une population.

De plus, outre les problèmes de biais rencontrés dans ce type d'études, des problèmes éthiques se posent également. En effet, il est inconcevable de tester en étude prospective sur des humains des molécules susceptibles d'être promotrices de cancer par exemple. C'est pourquoi il est souvent nécessaire de recourir à des étapes préliminaires d'expérimentation sur des modèles animaux.

#### **b) Utilisation de modèles animaux :**

Comme on vient de le voir, les modèles animaux permettent de réaliser des tests impossibles à réaliser chez l'Homme. Ces études fournissent des informations, certes difficiles parfois à extrapoler à l'Homme, mais qui donnent des directions et qui appuient les études épidémiologiques. C'est ce type de modèle d'étude qui a été choisi dans notre étude, il sera donc détaillé plus loin (cf. I.3.)

#### **c) Etudes in-vitro :**

Les études in-vitro sont très utiles dans les tests d'initiateurs de cancer en préliminaire à d'autres expériences. Ces études permettent en particulier de tester la cytopathogénicité de molécules ou leurs capacités mutagènes. On teste dans ce cas des molécules sur des cultures

de cellules ou sur des micro-organismes et on observe soit les lésions de cytopathogénicité soit les clones bactériens mutés [Kato, 2000].

De tels résultats ne peuvent pas en eux-mêmes être des preuves de facteur de risque de cancer chez l'Homme, mais permettent d'orienter les recherches, de gagner du temps.

Parmi toutes ces approches, c'est le modèle animal qui a été choisi pour tester l'oignon sur le cancer du côlon. C'est ce type d'étude qui correspond le mieux à nos attentes, à nos moyens et qui permet de se rapprocher le plus de la réalité.

## **2. Différents marqueurs de cancérogenèse :**

### **a) Utilisation de lésions pré-néoplasiques in-vivo :**

On a remarqué que des stades pré-néoplasiques pouvaient être observés sur les tissus. Dans le cas particulier du cancer colorectal, des lésions pré-tumorales appelées foyers de cryptes aberrantes (ACF) peuvent être décelés très précocement sur les muqueuses colique et rectale. Beaucoup d'études sur le rat ont été réalisées dans ce domaine et ont montré que les ACF et en particulier les très gros ACF (plus de 14 cryptes par ACF) pouvaient être de bons marqueurs de l'apparition de tumeurs. En effet, en comparant le nombre de gros ACF à la présence ou non de tumeurs plus tard sur des côlons de rats, on a montré une association significative entre les deux [Caderni, 1995].

De plus, des études ont montré la corrélation positive qui existe entre le nombre ou la taille des ACF présents sur la muqueuse à court terme et le nombre d'adénocarcinomes qui peuvent apparaître à long terme chez l'Homme [Takayama, 1998].

On peut donc rapidement déterminer l'influence d'un facteur sur le nombre et la taille des ACF sur la muqueuse colique d'animaux d'expérience et en déduire la même influence sur l'apparition de tumeurs coliques.

Mais d'autres marqueurs peuvent aussi suggérer une augmentation ou diminution de la probabilité d'apparition de tumeurs.

### **b) Marqueurs moléculaires in-vivo :**

De nombreux biomarqueurs de tumeurs sont utilisés au niveau moléculaire et peuvent être utilisés chez l'Homme ou chez l'animal-modèle comme les lésions pré-néoplasiques.

Ces marqueurs peuvent être de différentes natures :

- Une modification génétique, comme une mutation du gène APC par exemple dans les cancers du côlon des familles à polypose familiale adénomateuse (FAP) [Paulsen, 2000] ou la détection de dommages sur l'ADN.
- Une modification d'une enzyme du métabolisme des toxiques : on peut noter par exemple une corrélation entre la diminution des lésions tumorales et l'induction de l'activité de la glutathion-S-transférase par les composés soufrés de l'ail [Sumiyoshi, 1990].
- Des mesures de prolifération cellulaire, de taux d'apoptose dans un tissu [WCRF, 1997].

Ce sont donc des marqueurs de susceptibilité et non pas des preuves de présence de tumeur, mais ils ont l'avantage, en particulier chez l'Homme, de ne pas pouvoir être modifiés consciemment par le patient. En effet le patient pourrait être influencé de savoir qu'il participe à une étude expérimentale [WCRF, 1997]. Ces indications permettent de renforcer des hypothèses épidémiologiques ou d'autres niveaux et elles permettent de mieux comprendre les mécanismes qui jouent un rôle dans l'apparition de tumeur.

### **3. Modèles animaux :**

Nous allons donc développer l'utilisation du modèle animal en envisageant ses avantages et ses inconvénients [Corpet, 1996]. Comme on l'a vu , ce type d'étude permet de réaliser des tests préliminaires ou des tests qui posent des problèmes éthiques chez l'Homme, mais ce ne sont pas ses seuls avantages.

Il s'avère que le développement de tumeur est beaucoup plus rapide chez les rongeurs que chez l'Homme : une étude chez les rongeurs peut être réalisée sur un an contre 3 à 10 ans chez

l'Homme. Ainsi, les études, beaucoup moins longues seront moins coûteuses et la compréhension des mécanismes de cancérogenèse en est accélérée.

D'autant plus que l'on peut disposer d'individus à haut risque de cancer en leur greffant des tumeurs, en les initiant grâce à l'administration de cancérigènes ou en sélectionnant des souches à développement rapide de tumeurs ; l'apparition de lésions observables sera donc encore accélérée et le nombre de sujets nécessaire pourra être considérablement réduit : il suffit de 40 rats pour mener à bien une expérience testant la modulation de la cancérogenèse par une molécule.

Par ailleurs, ce type d'étude permet également une grande souplesse dans l'observation de marqueurs de cancérogenèse : on peut réaliser tous les prélèvements que l'on veut et l'on peut faire des sacrifices séquencés à différents stades de la croissance tumorale.

En ce qui concerne les études sur l'influence de l'alimentation, il est très difficile de maîtriser parfaitement les paramètres d'un régime alimentaire chez l'Homme. En particulier, il est quasiment impossible d'arriver à modifier le régime des participants « à leur insu ». Par contre chez le rat, on impose aux animaux un régime totalement contrôlé, le seul à leur disposition donc qu'ils sont obligé de manger : on peut comparer des groupes d'individus identiques sauf sur un facteur de leur régime ; on est dans des conditions idéales pour apporter des preuves scientifiques de l'influence d'un constituant de l'alimentation sur la cancérogenèse.

Afin d'étudier l'aspect multifactoriel du cancer, l'interaction complexe entre des événements génétiques et des facteurs environnementaux, on cherche des modèles animaux plus représentatifs des caractères génétiques propres aux patients souffrant de cancers colorectaux. Comme on l'a vu dans le premier chapitre, les patients de familles à FAP, ainsi que la majorité des cas de formes sporadiques de cancers colorectaux portent un gène APC muté. On a donc fabriqué de nouveaux modèles animaux en utilisant des souches pures de souris, homozygotes pour la plupart de leurs gènes (obtenues par croisements frères-sœurs sur plus de 20 générations) [Fodde, 1999] et en introduisant dans leur génome une mutation sur tel ou tel codon du gène APC afin de reproduire le phénotype FAP. Différents modèles murins ont ainsi été développés : souris APC 1309, souris APC 1638N, souris MIN (la mutation concerne ici le codon 850 et a été obtenue par mutagenèse aléatoire) [Paulsen, 2000]. De la même façon

dans l'étude des patients de familles HNPCC, on utilise des souches de souris présentant des mutations sur les différents gènes MNN [De Wind, 1998].

Ces souris transgéniques sont utilisées pour tester et comprendre les facteurs environnementaux et génétiques qui entrent en jeu dans le développement de tumeurs coliques ; mais l'on ne peut pas observer la progression tumorale au-delà du stade d'adénomes car ces souches de souris meurent rapidement (au bout de 140 jours) d'anémie [Paulsen, 2000].

Mais ce type d'étude, utilisant des modèles animaux, présente tout de même un certain nombre de limites et d'inconvénients. D'une part, chez le rat, les tumeurs induites donnent rarement des métastases contrairement à l'Homme, donc sur ce caractère, la comparaison n'est que rarement possible. D'autre part, les souches de rongeurs utilisées sont la plupart du temps des souches pures où tous les individus ont le même génome. Ce dernier jouant un très grand rôle dans l'apparition des cancers et les génomes étant divers et variés chez l'Homme, on fait face ici aussi à un biais rendant délicate l'extrapolation des résultats à l'Homme.

De plus, il se pose le problème de différences physiologiques entre les espèces : des différences de fonctionnement hormonal (qui peut prendre une grande importance, en particulier dans le cancer du sein ou de la prostate), des différences dans le métabolisme et l'on sait que le métabolisme des toxiques joue un rôle important dans l'initiation des cancers, mais aussi des différences dans les doses de cancérigènes auxquelles les individus sont soumis : on administre aux rongeurs des doses proches de la DL50, ce qui n'est, heureusement, jamais le cas chez l'Homme en particulier en ce qui concerne les cancérigènes qui peuvent être présents dans son alimentation.

Enfin, on peut se poser la question de la justesse de résultats obtenus chez des individus soumis à des conditions très éloignées de leurs conditions de vie naturelle : en effet, les rats de laboratoire ont une alimentation totalement différente d'une alimentation habituelle de rongeur en milieu naturel. Est-ce que ces différences n'influencent pas, ne perturbent pas la physiologie de l'animal, rendant les mécanismes observés « artificiels », ne traduisant pas la réalité ?

En résumé, le modèle animal permet de s'affranchir de problèmes insurmontables chez l'Homme et simplifie énormément les protocoles expérimentaux que ce soit sur le nombre de sujets, sur la durée de l'étude ou sur le coût. Mais il est difficile d'extrapoler les résultats obtenus directement à l'Homme. Ces études donnent néanmoins des indications sur l'action des molécules testées et renforcent des observations épidémiologiques : c'est la concordance des résultats de différentes études qui valideront des hypothèses en sachant que les expériences sur les rongeurs ont tout de même une valeur élevée sur l'échelle des différents niveaux d'étude précités : on travaille sur un organisme vivant, dans des conditions optimales de validation scientifique.

#### **4. Protocoles d'étude des effets d'aliments :**

Pour montrer l'effet d'un aliment sur la cancérogenèse, il faut arriver à comparer des groupes d'individus identiques sur tous les plans sauf sur cet aliment. C'est évidemment impossible à réaliser chez l'Homme, c'est pourquoi on fait appel aux modèles animaux [Corpet, 1996].

De nombreuses études ont d'ores et déjà été réalisées sur ce principe et elles s'organisent toutes de la même façon :

On initie le développement de tumeurs chez des rongeurs par l'administration d'un cancérigène connu, puis l'on répartit les animaux dans des groupes à qui l'on donne un régime contenant ou non l'aliment testé. Si l'on administre le cancérigène avant de donner l'aliment, on cherche à montrer son action plutôt sur la phase de promotion des tumeurs. Si l'on commence le régime contenant l'aliment avant l'administration du cancérigène, on montrera son action sur l'initiation du cancer.

Il existe, selon Chang [Chang, 1984], trois catégories de protocoles :

- Pour induire un cancer colorectal chez le rat, on utilise le 3-méthyl-4-aminobiphényle ou la 3-méthyl-2-naphtylamine.



- Pour induire des carcinomes du côlon et du rectum chez des rats et des souris, on utilise la cycasine ou le méthylazoxyméthanol ou ses dérivés comme l'azoxyméthane (AOM) et la 1,2 diméthylhydrazine (DMH).
- Pour induire des cancers du côlon descendant et du rectum dans n'importe quelle espèce, on administre en intrarectal de la méthylnitrosourée (MNU) ou de la N-méthyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG).

Il existe d'autres cancérigènes du côlon et du rectum, mais ils ne sont pas spécifiques de cette portion de l'intestin ou même du tube digestif.

Nous venons de voir les avantages et inconvénients d'avoir choisi de travailler sur le rat dans notre expérience. Nous allons maintenant développer les caractéristiques des marqueurs de cancérogenèse que nous avons choisi : les foyers de cryptes aberrantes.

## **II. Les lésions pré-néoplasiques comme marqueurs de la cancérogenèse :**

### **1. Définition des foyers de cryptes aberrantes (ACF) :**

Les foyers de cryptes aberrantes ont été décrites par Bird en 1987. Ces structures ont été observées avant lui par d'autres au microscope électronique, mais Bird met au point une technique très simple d'observation de ces lésions au microscope optique permettant d'évaluer le nombre d'ACF sur l'ensemble d'un côlon de rats en moins d'une heure [Préclaire, 1996].

#### **a) Méthode d'observation :**

Afin d'observer les ACF, les muqueuses coliques doivent être au préalable colorées au bleu de méthylène (on utilise couramment une solution de bleu de méthylène à 0.2% et on immerge les côlons pendant 5 à 10 minutes). Les côlons sont ensuite étalés sur une lame

porte-objet, muqueuse vers l'extérieur, et observés sous microscope optique à un grossissement  $\times 40$ .

### **b) Caractéristiques morphologiques des ACF :**

On distingue les cryptes aberrantes des autres par plusieurs critères [Fenoglio-Preiser, 1999] :  
(cf. *Figure 4*.)

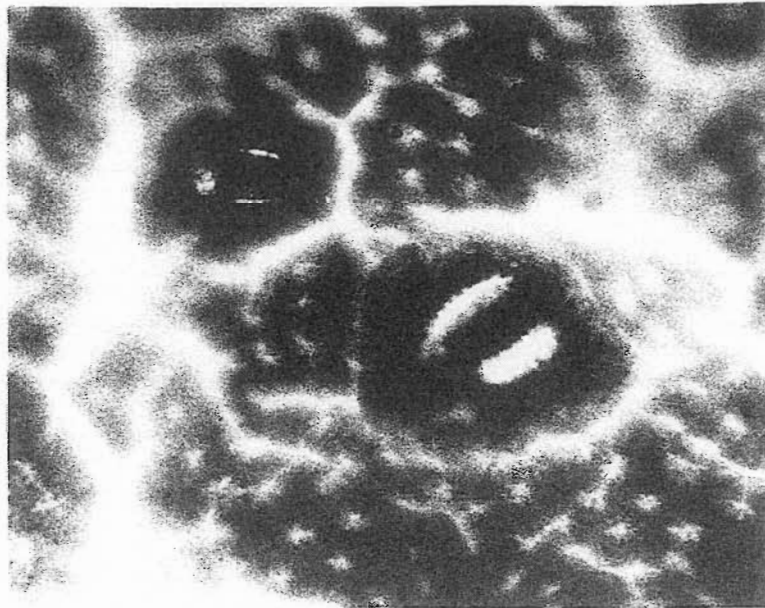
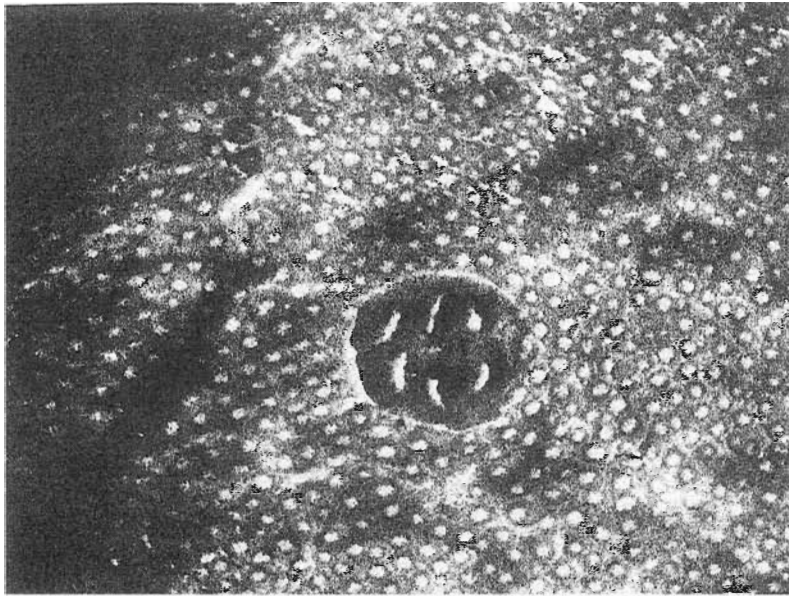
- Elles apparaissent plus foncées que les cellules environnantes
- Elles sont un peu surélevées par rapport à la surface muqueuse
- Elles ont un diamètre plus grand
- Leur lumière est plus large, dilatée (1.5 fois le diamètre habituel). Elle peut avoir une forme plus allongée que sur les cryptes saines, mais pas toujours.

Chez l'Homme, on les trouve plus souvent en partie distale du gros intestin : 65% des ACF sont sur le côlon sigmoïde et le rectum.

### **c) Classification des ACF :**

Selon des critères histologiques et génétiques, on peut classer les ACF en trois catégories [Fenoglio-Preiser, 1999] :

- Les ACF « typiques » : la seule différence avec les cryptes saines est leur aspect morphologique différent : diamètre 1.5 fois plus grand, lumière allongée, coloration plus foncée.... Cette catégorie représente la majorité des ACF, même dans les carcinomes.
- Les ACF hyperplasiques : ils ressemblent aux polypes hyperplasiques. Leur lumière est dentelée et l'on distingue un épithélium prolifératif dans la partie basale de la crypte. Les cellules à mucus sont dilatées. Dans les 2/3 inférieurs, l'activité mitotique est limitée et l'on ne voit pas de signes d'apoptose.  
On retrouve ces ACF, ainsi que des ACF typiques, chez les patients atteints de formes sporadiques de cancer du côlon (HNPCC).



**Figure 4.** Photos d'ACF observées au microscope optique (X40). La muqueuse colique est colorée au bleu de méthylène.

- Les ACF adénomateux : ici les cryptes apparaissent plus hautes et les cellules qui les composent sont allongées. On ne voit pratiquement plus de mucus intracellulaire, mais un cytoplasme basophile qui prend une grande place. On peut voir de nombreuses figures de mitose, ainsi que d'autres critères de malignité comme une hypercellularité, une modification de l'aspect des noyaux et une perte de leur polarité, une augmentation du ratio nucléo-cytoplasmique.

Les patients de familles à FAP souffrant de polypes adénomateux présentent ce type d'ACF en majorité.

#### **d) Répartition des ACF chez l'Homme :**

Le nombre d'ACF augmente avec l'âge. Dans une étude sur 171 témoins, 131 patients souffrant d'adénomes et 48 patients souffrant de cancer colorectal, on a trouvé des ACF chez 10% des témoins de moins de 40 ans, chez 53.6% des témoins entre 40 et 49 ans et chez 65.7% des témoins entre 60 et 69 ans. [Takayama, 1998]

On trouve des ACF chez tout le monde, y compris chez des sujets ne souffrant pas de maladies recto-coliques. Mais on les trouve en plus grande quantité chez les patients atteints de maladies coliques bénignes comme les volvulus ou les prolapsus rectaux et bien entendu encore plus nombreux chez les patients atteints de cancers colo-rectaux. 38% des patients atteints de maladies colorectales bénignes présentent des ACF et on en trouve systématiquement chez les patients des FAP souffrant de polypes adénomateux et chez les patients de familles à cancer colorectal sporadique [Fenoglio-Preiser, 1999].

La densité d'ACF est plus grande dans les affections non-néoplasiques en moyenne, mais la taille des ACF est plus importante dans les cas de carcinomes ou d'adénomes [Fenoglio-Preiser, 1999].

Comme on l'a vu précédemment, la présence d'ACF et la présence, plus tard, de tumeurs sont positivement corrélées chez l'Homme [Takayama, 1998] et chez le rat [Caderni, 1995]. On peut considérer les ACF comme des précurseurs de lésions cancéreuses.

## **2. Cancérogènes et apparition d'ACF :**

Lorsqu'on administre un cancérogène à un rat de laboratoire, on initie le développement de lésions cancéreuses ; au bout de 15 jours, on peut déjà observer des ACF [Corpet, 1996].

Le cancérogène, pour la plupart de ceux qui sont utilisés dans le cadre de l'expérimentation animale, va agir directement sur l'ADN en induisant des méthylations du génome de quelques cellules épithéliales coliques dans la zone proliférative des cryptes. Beaucoup de ces cellules transformées vont dégénérer ou être phagocytées par des cellules voisines ; mais quelques-unes survivent, se multiplient et suivent la même migration que les cellules saines le long des cryptes jusqu'à la lumière digestive où elles finissent par être évacuées [Bird, 1998].

Une partie des cellules transformées sera donc aussi évacuée, mais d'autres vont coloniser progressivement la crypte par divisions successives ou bien former une crypte « sœur » en parallèle de la crypte d'origine [Chang, 1984].

L'induction d'ACF par des cancérogènes obéit à différents critères [Bird, 1998] :

- Elle dépend de la dose : le nombre d'ACF observés augmente si la dose administrée augmente.
- Elle dépend du cancérogène : on n'aura pas la même réponse suivant la molécule inductrice utilisée.
- Pour un cancérogène donnée, les facteurs de variation du développement de tumeurs (âge, sexe, espèce, voie d'administration, durée de l'expérience...) sont les mêmes que pour le développement des ACF.

Le modèle d'étude de la cancérogenèse qui a été choisi dans notre étude est le modèle animal. Cela va nous permettre de rechercher un effet de l'oignon sur la cancérogenèse colique induite par l'azoxyméthane chez le rat. Ce type de protocole est simple à réaliser, demande peu d'animaux et peu de temps. De plus, même l'obtention des résultats est très rapide puisque l'on utilise la lecture des foyers de cryptes aberrantes qui est une méthode reconnue et validée par le monde scientifique comme méthode d'évaluation du risque de développement de tumeurs coliques. Dans le cadre des travaux du laboratoire, ce modèle d'étude de la cancérogenèse nous a semblé être le plus approprié.

## **CHAPITRE TROISIEME :**

# **OIGNON ET CANCER DU COLON**





## **I. Les microconstituants de l'oignon :**

### **1. Composition de l'oignon :**

On s'intéresse ici aux oignons dits « de garde » comme l'oignon jaune qui sera le sujet de notre étude expérimentale. Ce type d'oignon contient entre 85 et 90% d'eau. Parmi les 15% de matière sèche restants [AQS, 2001], on trouve des sucres dont des fibres, des minéraux et oligo-éléments et des vitamines.

- Les sucres : ils représentent 7% de la masse de l'oignon [Ciquel, 1990]. Les sucres majoritaires, constituant les réserves de l'oignon, sont des fructosanes comme l'inuline par exemple ; mais l'on trouve également du glucose, du fructose et du saccharose en petites quantités.
- D'autres glucides plutôt classés dans la catégorie des fibres représentent 1% de la masse de l'oignon [Ciquel, 1990]. Ce sont des celluloses, des hémicelluloses et des pectines.
- L'oignon est riche en minéraux et oligo-éléments inclus dans des molécules complexes: on y trouve du soufre (50mg/100g), du potassium (160mg/100g), du phosphore (36mg/100g), du calcium (30mg/100g), mais aussi du sélénium, du manganèse, du cobalt, du fluor et du molybdène [Ciquel, 1990].
- Enfin, l'oignon contient des vitamines : de la vitamine C en quantités importantes (12mg/100g) et, en quantités plus modérées, de la vitamine B, de la vitamine E et de la provitamine A [Ciquel, 1990].

Parmi tous ces composés, on distingue des microconstituants aux propriétés pouvant être liées aux mécanismes de protection contre la cancérogenèse.

## 2. Composés soufrés :

### a) Composés soufrés des alliacées :

Comme tous les végétaux du genre *Allium*, l'oignon contient des composés soufrés. Ce sont aussi bien des composés soufrés liposolubles qu'hydrosolubles [Sumiyoshi,1990]. De nombreuses études sur des modèles animaux ou des études in-vitro ont montré le rôle que pouvaient jouer ces composés dans l'inhibition de différentes étapes de la cancérogenèse [Bianchini,2001]. Ce type de microconstituants a été beaucoup plus étudié dans l'ail que dans l'oignon. L'ail, comme l'oignon, est du genre *Allium* et contient des composés soufrés comme la S-allylcystéine conduisant à la formation de produits tels que le sulfure de diallyle ou encore le disulfure de diallyle (DADS), ainsi que d'autres dérivés à groupement allyle [Bianchini,2001]. L'oignon, lui, contient des composés à groupe 1-propényle tels que le S-propénylesulfoxide [Bianchini, 2001]. Il semblerait que les dérivés propyle soient moins actifs dans la prévention de l'apparition de tumeurs que les dérivés allyle [Sparnins, 1988].

Les mécanismes d'action des composés soufrés en général sont encore mal connus, mais un certain nombre d'hypothèses sont avancées : [Bianchini, 2001].

- Ces composés peuvent inhiber la mutagenèse. Cette propriété a été observée sur des bactéries protégées de l'action de mutagènes par la présence de jus d'alliacés dans le milieu de culture.
- L'activité majeure des composés soufrés est la modulation des activités enzymatiques. Ils stimulent l'activité d'enzymes détoxifiantes de phase II telles que la glutathion-S-transférase [Reddy, 1993]. Ils freinent l'activité d'enzymes favorisant l'apparition de cancérigènes : cytochromes P450, N-acétyltransférase.... Enfin, ils participent à l'activation de la glutathionpéroxydase qui permet une diminution du ratio « forme réduite / forme oxydée » du glutathion luttant ainsi contre l'apparition de radicaux libres, promoteurs.
- Ils inhibent la transformation de nitrates en nitrites, donc participent à l'inhibition de la formation de composés nitrés qui, métabolisés en composés alkylants, peuvent se lier à l'ADN et y provoquer des lésions. Cette propriété peut s'expliquer par un rôle plus général d'inhibition de la croissance bactérienne dans

l'estomac et peut expliquer comment l'ail est un facteur de protection contre les cancers gastriques [Bianchini, 2001].

- Enfin, *in vitro*, ces composés inhibent la prolifération de cultures de cellules tumorales de côlon humaines. De plus, l'action des composés soufrés semble aussi participer à l'induction de l'apoptose : des cellules soumises à du DADS présentent des modifications morphologiques et une fragmentation de l'ADN [Bianchini, 2001].
- Certaines études ont, par ailleurs, donné des résultats contradictoires sur le rôle des composés soufrés sur la phase de promotion de la cancérogenèse. On a montré par exemple un faible rôle promoteur du DADS sur la phase de promotion tumorale dans un modèle de cancérogenèse hépatique chez le rat [Guyonnet, 2001].

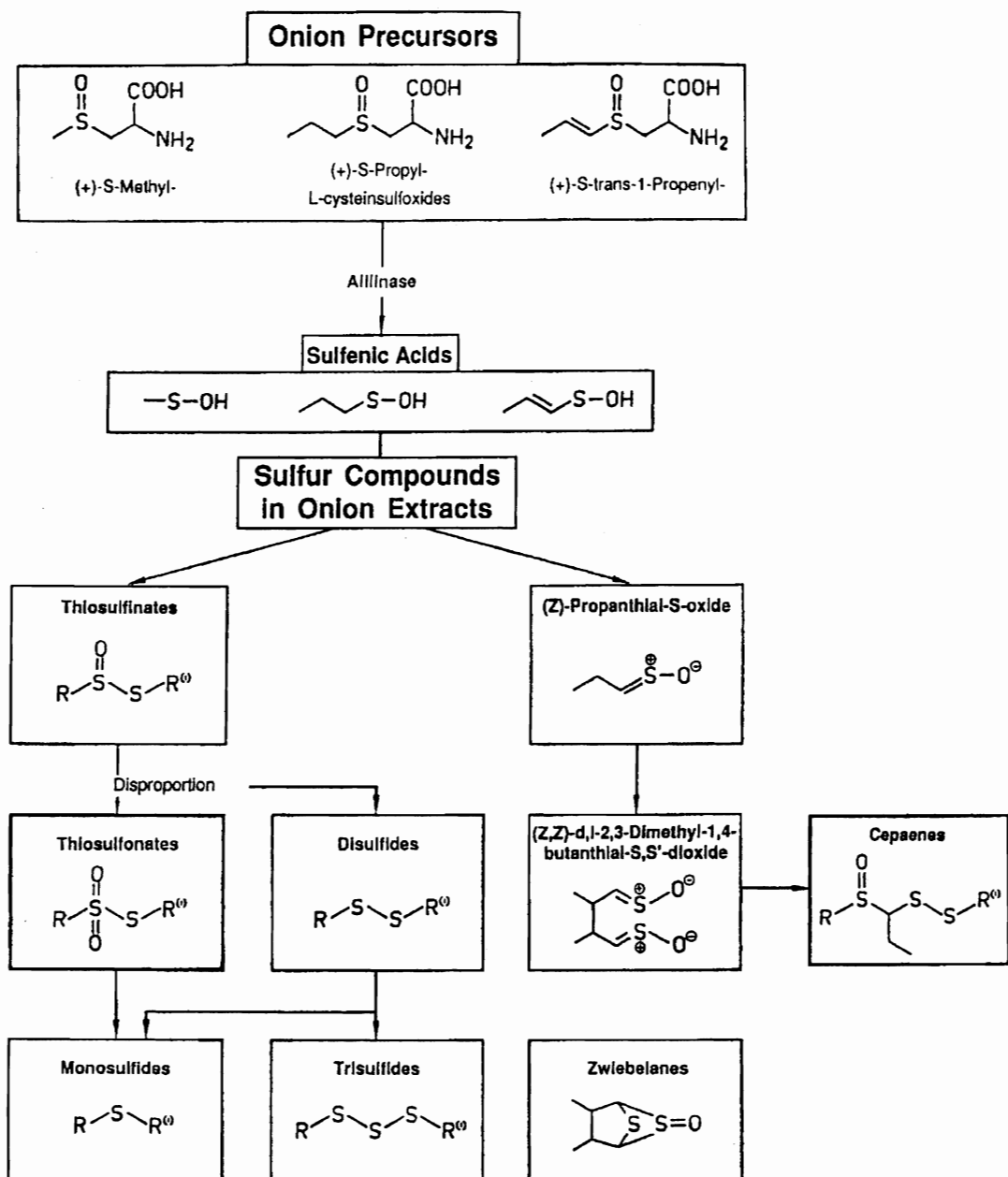
Il apparaît clairement que ces composés soufrés ont un rôle complexe dans la prévention du cancer et que les différentes propriétés citées plus haut se complètent et s'associent pour produire un effet ; elles ne sont chacune qu'un facteur d'une action d'ensemble à plusieurs niveaux [Bianchini, 2001].

#### **b) Composés soufrés présents dans la variété d'oignon Auxor :**

En ce qui concerne l'objet de notre étude : la variété d'oignon Auxor, une étude de la composition en composés soufrés a été réalisée par l'Institut de recherche sur la biologie de l'insecte de Tours (IRBI) s'inscrivant, comme l'étude que nous avons menée, dans le programme « Aliment – Qualité – Sécurité » de l'évaluation des effets préventifs des produits de transformation de l'oignon vis-à-vis de la cancérogenèse.

On trouve donc dans l'oignon des précurseurs d'arôme qui sont des dérivés propényle, propyle et méthyle de S-cystéine sulfoxyde (cf. *figure 5*). Le composé majoritaire étant le dérivé propényle.

Ces précurseurs sont ensuite transformés par l'action d'enzymes comme l'alliinase, en thiosulfates d'une part et en propanethiol-S oxyde, composé appelé aussi facteur lacrymogène, d'autre part. Les thiosulfates donnent une partie des composés soufrés actifs vus précédemment : monosulfides, disulfides et trisulfides. Le facteur lacrymogène donne,



**Figure 5.** Voies chimiques de formation des composés soufrés de l'oignon à partir de leurs précurseurs [AQS , 2001].

quant à lui, du disulfure de dipropyle. (cf. *figure 5*.)

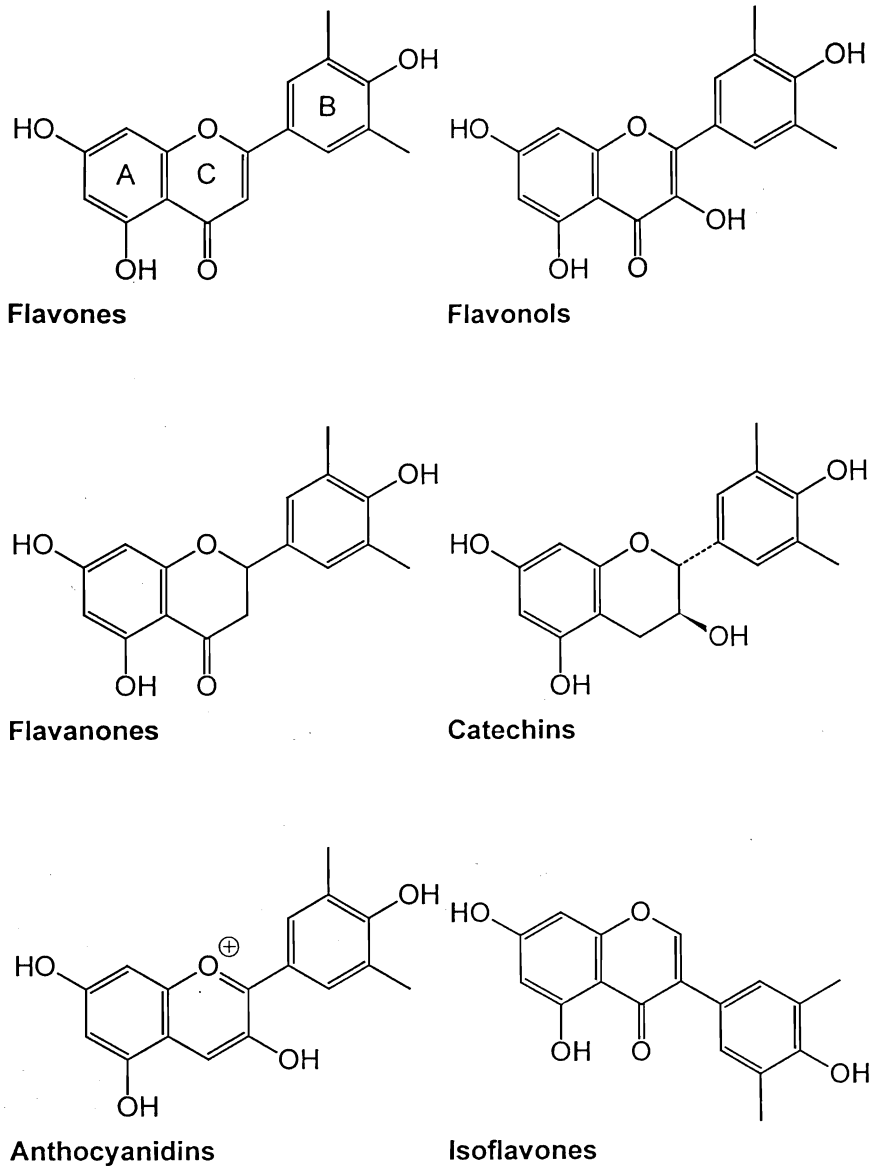
Les effets des composés soufrés de l'oignon ont ensuite été testés in-vitro sur la prolifération cellulaire et les jonctions communicantes par Catherine Chaumontet du Laboratoire de Nutrition et Sécurité Alimentaire de l'INRA Jouy en Josas :

- Etude de l'action de chaque molécule ou d'extraits à différentes concentrations sur la densité cellulaire avec une estimation par comptage cellulaire automatisé au Coulter Counter : le disulfure de dipropyle (DPDS) n'a pas d'effet sur la prolifération cellulaire contrairement au disulfure de diallyle vu précédemment ( cf. I.1.a)).
- Etude de la fonctionnalité des jonctions communicantes par microinjection d'un colorant fluorescent sous microscope : le DPDS n'a pas d'effet sur la communication intercellulaire.

Comme on vient de le voir, les propriétés de ces composés soufrés nous confortent dans l'hypothèse d'une action anticancéreuse de l'oignon ; mais d'autres constituants de l'oignon pourraient également avoir une action de prévention sur la cancérogenèse. Ce sont les flavonoïdes, et en particulier la quercétine, et les oligosaccharides non-digestibles comme l'inuline.

### 3. Les quercétines :

Les quercétines sont des flavonols, c'est à dire polyphénols. **Les flavonoïdes sont présentés sur la figure 6.** On les trouvent dans de nombreux représentants du règne végétal (fleurs, feuilles, fruits) et sont contenus en grande quantité en particulier dans les plantes crucifères (les choux par exemple), dans les pommes de terre, le thé ou l'oignon. Les quercétines font partie des flavonoïdes les plus répandus. [Riboli, 1996] On ingère, par notre alimentation, en moyenne chaque jour 16 à 25 mg de quercétine par personne [Cai, 1997] et l'absorption dans le sang après ingestion de la quercétine peut varier



**Figure 6.** Structure chimique des flavonoïdes [Hollman, 1999].

d'un aliment à l'autre, elle est particulièrement vite absorbée lorsqu'elle est contenue dans l'oignon [Hollman, 1999]. Dans l'oignon, la quercétine n'est pas sous forme libre, elle est glycosylée. Les 2 principaux glycosides de quercétine de l'oignon sont le mono- et le diglucoside de quercétine (QMG et QDG).

**a) la quercétine, serait-elle un mutagène ?...:**

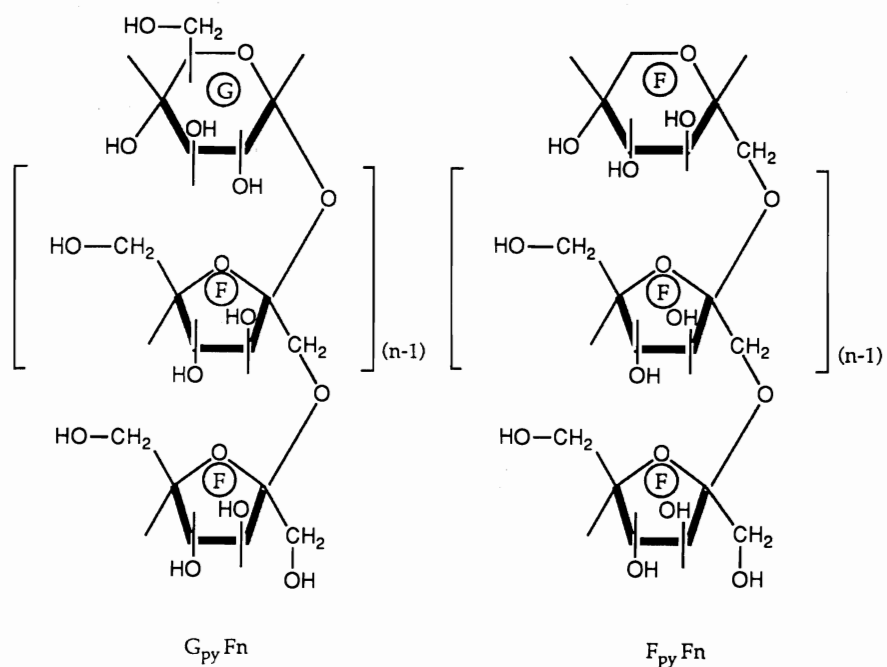
*In vitro*, il a été prouvé que la quercétine avait une action mutagène comme par exemple par le test de Ames sur des souches de *Salmonella typhimurium* : la présence de quercétine augmente de façon significative les substitutions de paires de bases et l'apparition de souches mutantes de cette bactérie [Bjeldanes, 1977] . Parmi les flavonoïdes, certains possèdent également cette propriété comme le kaempférol ou la taxifoline ; alors que d'autres ne l'ont pas : les flavones, les anthocyanides... etc.

*In vivo* par contre, la preuve de mutagénicité de la quercétine n'est pas nettement établie et le mécanisme qui entrerait en jeu n'est pas encore élucidé, même si l'on sait qu'il fait intervenir une production de radicaux oxygénés [Stavric, 1994].

**b) ...Ou un anticancéreux ? :**

Des études épidémiologiques ont montré la forte corrélation entre la consommation de légumes et de fruits et la baisse de l'incidence des cancers et des maladies cardio-vasculaires [Steinmetz, 1993]. On a donc cherché quels constituants pouvaient expliquer le rôle de prévention de ces maladies et l'on s'est en particulier penché sur le rôle probable des flavonoïdes.

De nombreuses études épidémiologiques ont été réalisées sur le rôle des flavonoïdes comme facteur de protection contre le cancer, mais on a rarement pu mettre en évidence une relation entre l'ingestion de flavonoïdes et la diminution du risque de cancer [Hollman, 1999]. Une étude de cohorte importante, la *Seven Countries Study*, s'est intéressé pendant 25 ans à 16 cohortes situées dans différentes régions du monde et aux causes de mortalité des hommes après 50 ans. Il a été étudié entre autres la composition des repas de ces personnes et l'on a dosé les flavonoïdes dans des échantillons d'aliments représentatifs des modes d'alimentation des cohortes. Au terme des 25 années, cette étude a montré une forte relation entre la



**Figure 7.** Oligosaccharides de type inuline. Structure chimique d'un motif de polymérisation de deux types d'inuline : G : glucose ; F : fructose ; n : degré de polymérisation.

$G_{pyFn}$  :  $\alpha$ -D-glucopyranosyl-[ $\beta$ -D-fructofuranosyl] $_{(n-1)}$  - D-fructofuranoside.

$F_{pyFn}$  :  $\beta$ -D-fructopyranosyl-[D-fructofuranosyl] $_{(n-1)}$  - D-fructofuranoside.



consommation de flavonoïdes et une diminution des maladies coronariennes ; mais elle n'a pas pu mettre en évidence d'association entre cette consommation et une diminution des cancers du côlon ou de la mortalité par tous types de cancer. [Hertog, 1995]

Par contre, *in vitro*, de nombreuses études réalisées sur des cultures de cellules cancéreuses ont montré une activité antiproliférative de certains flavonoïdes comme les quercétines. Ainsi, on a montré que la quercétine inhibait la croissance de cultures de cellules issues d'adénocarcinome du côlon (cellules Caco-2 et HT-29) et que cette activité semblait être liée à une activation de l'apoptose [Kuo, 1996]. La quercétine inhibe également la prolifération cellulaire induite par l'azoxyméthane sur des modèles animaux [Deschner, 1993].

De plus, on a montré un rôle des flavonoïdes dans la lutte contre les phénomènes délétères d'oxydation de l'ADN ou des lipides responsables de l'initiation de cancers et de maladies cardio-vasculaires. Certains flavonoïdes dont la quercétine sont ainsi capables :

- de capter l' $H_2O_2$ , molécule oxydante produite dans l'organisme et d'empêcher la formation de radicaux oxygénés comme l' $O_2^-$ ,
- d'inhiber la peroxydation des lipides induite par des métaux de transition comme le fer dans le complexe  $FeCl_2$ ,
- d'empêcher la formation de bases oxydées d'ADN comme la 8-hydroxy-2'-désoxyguanosine.

Ces propriétés démontrées *in-vitro*, laissent à penser que la quercétine pourrait participer aux phénomènes antioxydants et anticancéreux dans l'organisme [Cai, 1997], sans que les études épidémiologiques ne lui trouvent un effet protecteur significatif [Hollman, 1999].

#### **4. Les oligosaccharides non-digestibles :**

Les oligosaccharides non-digestibles sont des composés que l'on trouve à l'état naturel dans les fruits et légumes, mais l'on peut également les synthétiser en laboratoire. Parmi eux, un des plus courants dans le Règne végétal à l'état naturel, est l'inuline. *Cette molécule est présentée sur la figure 7.* On la retrouve dans l'oignon et la chicorée. On considère qu'en

Occident, on consomme en moyenne 1 à 4 g d'inuline par jour et par personne par le biais de l'alimentation [Van Loo, 1999].

Dans l'organisme, ces oligosaccharides ne sont pas digérés par les enzymes de l'intestin grêle et arrivent quasiment intacts dans le gros intestin. Là, ils vont être dégradés par la flore bactérienne en lactate et acides gras à courte chaîne et en gaz.

#### **a) Rôle anticancéreux :**

Un certain nombre d'études expérimentales sur des modèles animaux ont montré des actions de l'inuline dans la prévention ou dans la progression de cancers :

Il a été montré qu'un régime enrichi en inuline :

- Réduit l'initiation et la croissance de lésions tumorales provoquées par l'azoxyméthane : on constate une diminution de foyers de cryptes aberrantes sur la muqueuse colique des rats soumis à ce régime [Reddy, 1997].
- Réduit le nombre de tumeurs spontanées chez des souris Min [Van Loo, 1999].
- Chez des souris à qui l'on a transplanté des cellules d'ascite de tumeur hépatique, il augmente l'espérance de vie.  
Et chez des souris transplantées avec des tumeurs hépatiques solides, il ralentit la croissance des tumeurs.[Taper, 1998]
- Réduit le nombre de métastases pulmonaires issues d'une transplantation de tumeur hépatique.[Taper, 2000]

**b) Hypothèses expliquant l'action des oligosaccharides non-digestibles contre le cancer :**

Plusieurs hypothèses sont avancées en fonction des propriétés dans l'organisme de ces molécules, même si à ce jour les mécanismes qui entrent en jeu n'ont pas été établis [Van Loo, 1999].

Plusieurs propriétés de l'inuline peuvent intervenir dans son action anticancéreuse :

→ L'inuline, comme les autres oligosaccharides non-digestibles, est dégradée dans le gros intestin par les bactéries présentes. Elle sert en particulier de substrat aux bifidobactéries qui sont connues pour leur inhibition du développement de tumeurs colorectales. D'ailleurs, une expérience a montré une synergie dans la réduction du nombre de foyers de cryptes aberrantes sur la muqueuse colique induites par l'azoxyméthane, entre l'inuline et les bifidobactéries. [Rowland, 1998]

→ L'inuline participe à une diminution du glucose sanguin. Le glucose étant le substrat de base des cellules tumorales qui puisent leur énergie dans la glycolyse, l'inuline pourrait par ce biais freiner la croissance tumorale. De plus, le glucose est l'inducteur de la synthèse de régulateurs de la croissance cellulaire comme l'*Insulin Growth Factor* (IGF) qui favorisent la prolifération cellulaire.

→ L'inuline participe également à la diminution des triglycérides sanguins en freinant l'activité des enzymes lipogènes du foie, ainsi elle pourrait aussi freiner la croissance tumorale en privant les cellules en prolifération d'un autre substrat indispensable : les acides gras.

## II. Autres rôles de l'oignon :

Les alliacées ont d'autres propriétés présumées que la prévention de l'apparition de cancers. L'ail a beaucoup été étudié, mais l'oignon semble avoir les mêmes propriétés probablement à un moindre degré [Sato, 2000] : c'est pourquoi nous parlerons surtout de l'ail ou des alliacées en général dans ce paragraphe puisqu'ils sont beaucoup cités dans la littérature.

### 1. Propriétés anti-microbiennes :

Depuis très longtemps l'ail est connu, de façon empirique, pour son action anti-bactérienne. En Chine, on utilise volontiers depuis des centaines d'années une soupe à base d'ail pour soigner un rhume. Pasteur parlait aussi de cette propriété de l'ail en 1858 [Sato, 2000].

De nombreuses études in-vitro ont montré effectivement le rôle inhibiteur des alliacées ou de leurs composés soufrés sur la croissance de nombreuses espèces bactériennes comme *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, ... etc [Sato, 2000].

Mais une des espèces bactériennes qui a intéressé le plus les chercheurs travaillant sur l'ail est *Helicobacter pylori*. En effet, cette bactérie pose des problèmes majeurs en gastroentérologie. Elle est responsable de gastrites chroniques, d'ulcères gastriques et duodénaux et semble également impliquée dans les cancers de l'estomac. De plus, on commence à voir apparaître des souches d'*Helicobacter pylori* résistantes à certaines molécules utilisées dans des thérapies combinées visant à éradiquer de telles infections, en particulier des résistances au métronidazole ou à la clarithromycine. Devant ces difficultés, la recherche sur les alliacées s'est évidemment penché sur le rôle que pouvaient avoir l'ail ou ses composés soufrés sur cette bactérie. Des études ont ainsi montré l'action inhibitrice et même bactériolytique de ces végétaux ou de leurs constituants sur des cultures d'*Helicobacter pylori* [Sivam, 1997], [O'Gara, 2000]. Ces composés pourraient donc être utilisés, après confirmation par des études in-vivo, dans la lutte contre ces infections responsables de nombreux désordres gastroentérologiques. Déjà, des études épidémiologiques ont montré une forte corrélation entre l'ingestion d'ail et la diminution de cancers gastriques, eux-mêmes fortement associés à des infections par *Helicobacter pylori* [Sivam, 1997], [O'Gara, 2000].

## **2. Prévention de maladies cardio-vasculaires :**

Les alliacées sont composées, comme on a pu le voir précédemment, d'antioxydants comme les flavonoïdes. Ces propriétés antioxydantes sont en particulier dues à leur capacité à capter les radicaux libres de l'organisme [Stavric, 1994]. On peut ajouter à cela la capacité démontrée des alliacées à favoriser une diminution des concentrations sériques de cholestérol et de triglycérides par inhibition d'étapes enzymatiques de leur synthèse hépatique, ainsi que par une inhibition de l'agrégation plaquettaire [Sato, 2000], [Stavric, 1994]. Toutes ces propriétés confèrent donc aux alliacées une action, mise en évidence par des études épidémiologiques, dans la prévention de maladies cardio-vasculaires : infarctus du myocarde, maladies coronaires ou athérosclérose [Sato, 2000].

## **3. Propriétés immuno-stimulantes :**

Il a été démontré que le diallyl sulfoxyde stimule la prolifération des lymphocytes T et l'activité cytotoxique des macrophages et restaure la production d'anticorps inhibée par des toxiques [Sato, 2000]. Les composés soufrés des alliacées ont donc à la fois une action sur l'immunité humorale et cellulaire et peuvent ainsi agir par ce biais dans la lutte contre de nombreuses maladies et en particulier dans la prévention du développement de cancers.

## **4. Propriétés hypoglycémiantes :**

Dans une étude réalisée sur des rats rendus diabétiques, le S-allylcystéine sulfoxyde, composé de l'ail, a provoqué une diminution de la concentration en glucose dans le sang. Cette propriété pourrait être due à une stimulation de la sécrétion d'insuline par les cellules  $\beta$  du pancréas. Les alliacées semblent donc avoir également des propriétés hypoglycémiantes [Sato, 2000].

## **5. Cas de l'intoxication :**

L'oignon peut également être toxique comme toute substance qui, selon la dose, peut être médicament ou poison. On rapporte dans la littérature des cas d'intoxication chez le mouton par ingestion d'une grande quantité d'oignon. L'intoxication se traduit cliniquement par une forte anémie hémolytique. On peut expliquer ce phénomène par la composition de la flore digestive du mouton pauvre en bactéries sulfo-réductrices. L'apport rapide et en grande quantité des composés soufrés de l'oignon ne permet pas à la flore digestive de s'adapter par une augmentation progressive de ce type de bactéries et on assiste donc à l'apparition de troubles hémolytiques [Knight, 2000].

Ainsi, comme on vient de le voir et mise à part le cas particulier de l'intoxication, les alliés et donc l'oignon, possèdent de nombreuses propriétés qui peuvent s'avérer bénéfiques dans le cadre de certaines pathologies ou en prévention de maladies. Ces propriétés ne sont pas incompatibles avec leur action sur la prévention du cancer et un certain nombre d'entre elles, comme la stimulation du système immunitaire, pourraient bien intervenir conjointement aux actions citées dans le I.

**DEUXIEME PARTIE :**

**ETUDE EXPERIMENTALE DU ROLE  
PROTECTEUR DE L'OIGNON CONTRE LA  
CANCEROGENESE INDUITE CHEZ LE RAT**

## **INTRODUCTION : OBJECTIFS ET INTERETS DE L'EXPERIENCE**

Nous venons de voir dans la première partie que nous avons de fortes présomptions sur le rôle que peut jouer l'oignon et, de façon plus générale, l'alimentation sur le développement de cancers. L'alimentation est, dans nos sociétés de l'excès calorique et de la sédentarité, une arme sous-évaluée de lutte préventive. Elle doit devenir une priorité des gouvernements qu'ils soient dans les zones dites à haut risque de cancer, c'est à dire les pays industrialisés, ou dans les pays en développement qui ne manqueront pas, dans les décennies à venir, de connaître les mêmes problèmes.

Toutes les études démontrant des effets des aliments sur le cancer sont donc les bienvenues pour argumenter et soutenir la mise en place de véritables politiques de prévention par des recommandations portant sur les aliments « bénéfiques », la lutte contre l'excès de poids et pour le maintien d'une activité physique. C'est donc une pierre de plus à cet édifice que veut apporter notre projet de recherche : dans le cadre d'orientations de recherches générales et internationales sur les relations entre l'alimentation et le cancer, notre étude fait partie d'un programme commun à différents établissements publics de recherche français et s'intéresse au rôle de l'oignon sur la prévention du cancer du côlon.

Nous avons déjà vu plus haut différents niveaux d'approche effectués dans le cadre de cette étude (cf.I.1.b du chapitre troisième). Dans cette deuxième partie nous en aborderons d'autres et détaillerons la partie que nous avons réalisée : c'est à dire l'utilisation de modèles animaux, pour vérifier l'hypothèse que la consommation d'oignon pourrait prévenir l'initiation et la promotion de tumeurs coliques.



## **PRELIMINAIRE :**

### **Action *in vitro* de l'oignon sur la cancérogenèse :**

Dans le cadre du programme «Aliment – Qualité – Sécurité », une étude de l'effet de l'oignon sur les enzymes du métabolisme des toxiques a été réalisée par l'UMR Toxicologie Alimentaire de l'INRA Dijon.

Cette étude a consisté en deux étapes. Lors de la première étape, des lots de rats ont été nourris par des régimes contenant ou non de l'oignon ou ses sous-produits, puis ils ont été sacrifiés. Dans une deuxième étape, on a prélevé leur foie à partir duquel a été réalisé un fractionnement subcellulaire. On a ainsi obtenu les fractions microsomales et cytosoliques qui ont ensuite été analysées par dosage des activités enzymatiques : des principales isoformes de cytochromes P450 impliquées dans le métabolisme des toxiques et des activités des transférases impliquées dans les transformations de phase II : glutathion transférase, UDP-glucuronyl transférase et quinone réductase.

Les résultats ont montré une augmentation de l'activité de l'UDP-glucuronyl transférase chez les rats consommant de l'oignon. Cette enzyme participant à la détoxification de cancérogènes, l'oignon pourrait avoir des propriétés de prévention de certains cancers.

## **I. ROLE DE L'OIGNON SUR L'INITIATION DE LA CANCEROGENESE CHEZ LE RAT (étude 1) :**

L'hypothèse que l'on cherche à vérifier ici est celle selon laquelle l'oignon pourrait freiner l'initiation de lésions pré-cancéreuses sur la muqueuse colique par différents cancérigènes. Pour cela, nous avons utilisé un modèle animal de cancérogenèse colique : le rat. Nous avons testé le rôle protecteur de l'oignon sur l'initiation de la cancérogenèse par trois cancérigènes différents : l'azoxyméthane (AOM), la 2-amino-3-méthyl-3H-imidazo-[4.5-f]-quinoline (IQ) et la N-nitroso-N-méthylurée (MNU). L'hypothèse majeure du mode d'action des agents protecteurs contre l'initiation de la cancérogenèse est celle de la détoxification des toxiques. En agissant sur l'activité des enzymes du métabolisme des cancérigènes, en particulier dans le foie, ils favorisent l'apparition de produits excrétés par l'organisme et inhibent la formation des produits qui endommagent l'ADN (cf. I.1.chapitre troisième et préliminaire). C'est pour observer ce type d'action que nous avons choisi 2 cancérigènes initiateurs qui doivent d'abord être métabolisés dans le foie avant d'agir sur la muqueuse colique : l'AOM et l'IQ. La MNU, elle, est une nitrosamine qui agit directement sans transformation préalable. Dans notre étude elle permet d'observer l'action de l'oignon sur d'autres voies de l'initiation que le métabolisme hépatique : l'adsorption des toxiques, l'inhibition de la mutagenèse, la protection de l'ADN contre les agents génotoxiques.

L'AOM et l'IQ sont, de plus, des agents cancérigènes présents dans notre environnement naturellement. L'AOM est un précurseur du méthylazoxyméthanol qui est lui-même un produit de l'oxydation de la cycasine trouvée dans des végétaux comme les noix de certains palmiers [Sugimura, 2000]. L'AOM peut aussi être produit dans notre organisme par oxydation de la méthylamine [Sohn, 2001]. L'AOM est activé dans le foie par le cytochrome P450 « CYP2E1 ». Les agents capables d'agir sur ce cytochrome pourraient donc être protecteurs contre l'initiation de tumeurs coliques par l'AOM. L'IQ est une amine hétérocyclique. Ces molécules sont produites en présence de créatine lors des réactions de Maillard sur les acides aminés et les sucres [Sugimura, 2000]. On les retrouve donc naturellement dans les viandes et poissons grillés et leur jus de cuisson. Les amines hétérocycliques sont également activées par des cytochromes P450 dans le foie, puis sont soit véhiculés vers d'autres tissus par le sang et peuvent agir sur l'ADN et initier

des tumeurs, soit être détoxifiées par des enzymes comme les glutathion-S-transférases et être excrétées par l'organisme [Kaderlik, 1994].

## **1. Matériel et méthodes :**

### **a) Lots d'animaux :**

Dans cette expérience : l'étude 1, nous avons utilisé 60 rats Fischer 344 femelles âgées de 5 semaines à leur entrée au laboratoire. Ces animaux ont été fournis par l'entreprise Iffa Credo (L'Abresle). Ils ont été répartis en 30 cages de 2 rats. Les cages sont en inox et sont suspendues au-dessus de papier kraft permettant le recueil des fèces et un nettoyage rapide des litières.

On nomme 6 groupes de 10 rats :

- **TAO** : les rats Témoins recevant l'AOM comme cancérigène et ne consommant pas d'oignon.
- **OAO** : les rats traités par l'Oignon recevant l'AOM comme cancérigène.
- **TIQ** : les rats Témoins recevant l'IQ comme cancérigène et ne consommant pas d'oignon.
- **OIQ** : les rats traités par l'Oignon et recevant l'IQ comme cancérigène.
- **TNU** : les rats Témoins recevant la MNU comme cancérigène et ne consommant pas d'oignon.
- **ONU** : les rats traités par l'Oignon et recevant la MNU comme cancérigène.

### **b) Alimentation et ambiance :**

Les rats sont nourris tous les jours à volonté. Leur régime se compose d'aliment AIN76 semi-purifié, composé de :

- 50% de sucre
- 20% de caséine purifiée
- 15% d'amidon de maïs

et de minéraux, de vitamines, de choline et de méthionine.

Il nous est fourni par UAR (Villemoisson). Il a été supplémenté par 5% de poudre d'oignon jaune déshydraté fournie par l'entreprise Coop d'Or (Auxonne (21)) pour les groupes de rats traités,

pendant les 14 premiers jours de l'expérience pour le groupe initiés à l'azoxyméthane, et 17 jours pour les deux autres groupes. Les rats ont accès à des biberons d'eau du robinet ad libitum.

Les cages sont dans une pièce maintenue à 22°C et soumise à un rythme jour/nuit d'exposition à la lumière de 12 heures.

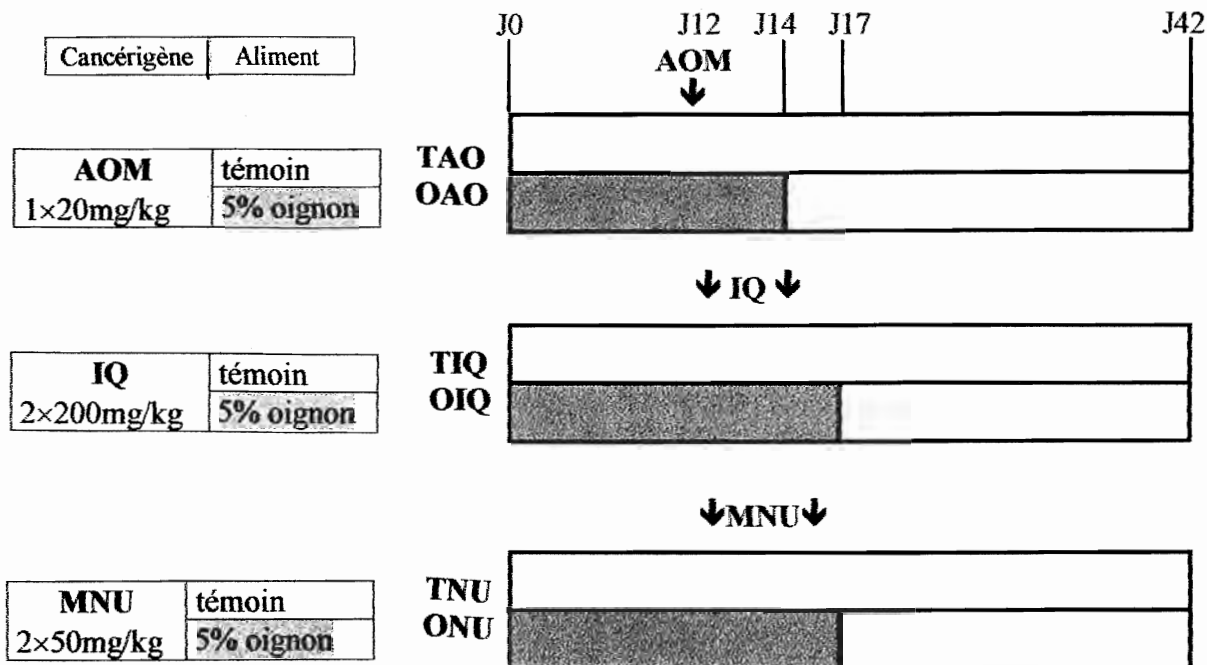
### **c) Protocole expérimental :**

A J0, c'est à dire le jour de leur arrivée, les rats commencent leur régime : AIN76 seulement pour les groupes témoins et AIN76 + 5% de poudre d'oignon déshydraté pour les groupes test.

A J12, on administre aux rats le cancérigène :

- Pour les groupes TAO et OAO : on injecte une dose de 20 mg/kg d'AOM fourni par Sigma (St Quentin Fallavier (38)) dans une solution saline à 9g/L en intra-péritonéal aux rats.
- Pour les groupes TIQ et OIQ : on administre une première dose de 200mg/kg d'une suspension à 36.7% d'IQ fournie par ICN (Aurora dans l'Ohio (EU)) dans de l'éthanol en solution saline à 9g/L aux rats par gavage.
- Pour les groupes TNU et ONU : on administre une première dose de 50mg/kg d'une suspension de MNU fournie par Sigma (St Quentin Fallavier (38))et d'acide citrique (pH=3) à 1% aux rats par gavage.

A J14, on administre aux rats TIQ/OIQ et TNU/ONU une deuxième dose identique à la première dose, respectivement d'IQ et de MNU, par gavage.



**Figure 8.** Etude 1. Protocole expérimental d'étude du rôle de l'oignon sur l'initiation de la cancérogenèse colique induite chez le rat.

↓ : administration du cancérigène.

AOM : azoxyméthane. IQ : 2-amino-3-méthyl-3H-imidazo-[4.5-f]-quinoline.

MNU : N-nitroso-N-méthylurée

Les rats du groupe OAO changent de régime alimentaire à J14 : ils reçoivent le même régime que TAO, de l'AIN76 seul, jusqu'à la fin de l'expérience, J42. Les rats des groupes OIQ et ONU, eux, changent de régime à J17 : ils reçoivent désormais AIN76 seul jusqu'à la fin de l'expérience, J42. En effet, d'après d'autres études, il apparaît nécessaire de faire deux administrations de MNU et d'IQ par gavage à quelques jours d'intervalle afin d'avoir une initiation homogène des tumeurs coliques sur tous les rats. On constate en procédant ainsi une variabilité beaucoup moins importante qu'avec un traitement en une seule fois. [Tudek, 1989]. Dans ce protocole, on administre en même temps la dose d'AOM et la première dose d'IQ et de MNU. Pour que la deuxième dose d'IQ et de MNU soit incluse dans la période de traitement à l'oignon pour les rats des groupes traités, on est obligés de prolonger cette période de 3 jours pour les groupes OIQ et ONU. Nous avons préféré ce protocole à un autre où l'on aurait décalé l'administration d'AOM afin d'arrêter le régime oignon pour les trois lots en même temps, car la manipulation des produits cancérigènes est délicate et dangereuse et nous avons voulu les grouper le même jour.

*Ce protocole est présenté schématiquement sur la **figure 8**.*

Les rats sont sacrifiés à J42 par asphyxie en cuve de CO<sub>2</sub>, puis disséqués. Par une ouverture abdominale sur la ligne blanche, on atteint les anses intestinales. On les déroule afin d'individualiser le côlon et le rectum que l'on prélève. Après avoir vidé la lumière digestive par rinçage au tampon Kreb's Ringer, on découpe les côlons en trois segments correspondant à la longueur d'une lame porte-objet. Les côlons sont ensuite ouverts longitudinalement et déposés à plat entre deux feuilles de papier filtre codées.

Chaque feuille de papier porte un code à deux lettres correspondant aux lots de rats. Cette codification permet une lecture en aveugle des résultats. Les côlons sont conservés dans du formol tamponné à 10% pendant 12 heures minimum. Le formol et le Kreb's Ringer sont fournis par Sigma.

#### **d) Mesures réalisées pendant le protocole :**

Toutes les semaines, les rats ont été pesés et l'on a pu ainsi suivre la courbe de poids moyen des rats au cours de l'expérience qui est présentée en annexe.2. Le tableau des poids moyens des rats par lot est présenté en annexe.1. Les poids suivent une évolution normale. On note tout de même

une chute pondérale à la suite de l'administration de MNU pour les deux groupes TNU et ONU. En effet, les rats s'arrêtent de manger pendant environ 24 heures après l'administration du cancérigène.

On a également mesuré la consommation de poudre d'oignon au cours de l'expérience. Les résultats sont présentés en annexe.3. et la courbe de consommation en fonction du lot est présentée en *annexe.4.*

## **2. Résultats :**

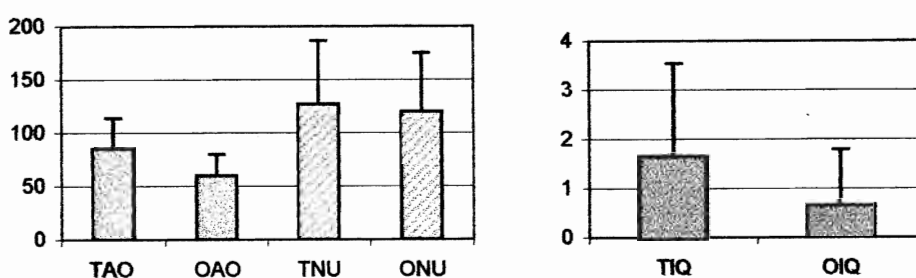
Afin de quantifier l'action des cancérigènes administrés aux rats sur l'initiation de lésions tumorales coliques, nous avons choisi de nous intéresser aux foyers de cryptes aberrantes (ACF) qui sont, comme nous l'avons déjà vu (cf. I.1.c et II.2. du chapitre deuxième, première partie), des lésions pré-néoplasiques chez l'Homme. Chez le rat, ce paramètre a aussi été étudié. L'apparition d'ACF est associée, ultérieurement, au développement de tumeurs coliques [Cademi, 1995]. Les ACF sont de bons marqueurs de l'initiation de la cancérogenèse colique.

Après prélèvement et fixation des côlons dans le formol, nous les avons colorés en les plongeant 5 minutes dans une solution à 0.02% de bleu de méthylène dans du Kreb's Ringer, puis rincés dans du Kreb's Ringer. Chaque segment a été déposé sur une lame porte-objet divisées en sections correspondant à un champ du microscope optique au grossissement  $\times 40$ . Grâce à ces repères nous avons pu balayer l'ensemble de la muqueuse colorectale et déterminer pour chaque rat, le nombre et la taille des ACF. Les résultats obtenus, moyennes et écart-types de ces paramètres pour chaque lot, sont présentés dans le *tableau . 2.*

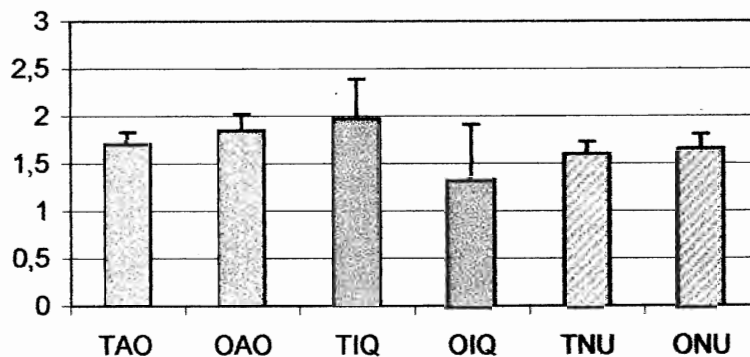
Afin de vérifier notre hypothèse, c'est à dire ici une diminution du nombre et de la taille des ACF chez les rats ayant consommé de l'oignon, nous avons réalisé l'analyse statistique de ces résultats. Nous avons examiné l'effet de l'oignon sur trois paramètres importants : le nombre total d'ACF par côlon, la taille moyenne de ces ACF, c'est à dire le nombre moyen de cryptes par ACF, et le nombre de gros ACF, c'est à dire comportant 4 cryptes aberrantes ou plus. Après s'être assurés que les variances étaient homogènes par le test de Bartlett, nous avons réalisé des comparaisons des moyennes pour chaque cancérigène du lot témoin et du lot traité. Pour cela nous avons utilisé le test de Student. Ces résultats sont présentés dans le *tableau .3.*

LOT	Nbre d'ACF total par côlon		Taille: nbre de crypte par ACF		Nbre de gros ACF (≥4 cryptes)	
	Moyenne	Ecart-type	Moyenne	Ecart-type	Moyenne	Ecart-type
TAO	85,7	28,2	1,71	0,12	3,4	2,32
OAO	60	20,1	1,85	0,17	2,5	1,96
TIQ	1,67	1,87	1,97	0,42	0,11	0,33
OIQ	0,67	1,12	1,33	0,58	0	0
TNU	126,9	59,7	1,6	0,13	2,3	1,69
ONU	120	54,9	1,66	0,15	1,5	1,41

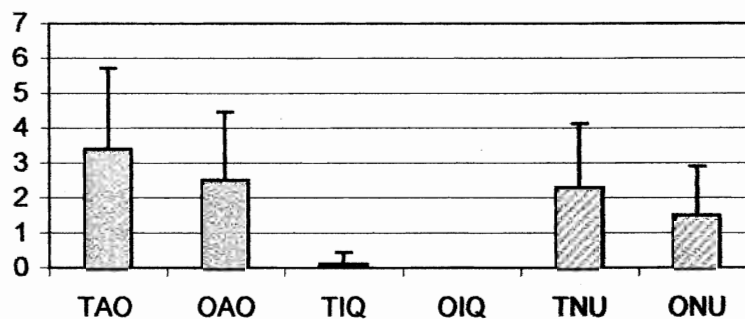
**Nombre total d'ACF**



**Nombre de cryptes par ACF**



**Nombre d'ACF à 4 cryptes et plus**



**Tableau 2. Etude 1.** Résultats de la lecture des ACF dans l'étude du rôle de l'oignon contre l'initiation de la cancérogenèse colique induite chez le rat et représentation graphique des moyennes accompagnées de leur écart-type pour chaque paramètre et chaque lot.



Il apparaît pour l'initiation par l'AOM, une différence significative entre les lots témoin et les lots traités sur le nombre total d'ACF ( $p=0.031$ ) et la taille des ACF ( $p=0.048$ ) : il y a effectivement moins d'ACF sur les côlons des rats ayant consommé de l'oignon, mais ces ACF semblent être plus gros que ceux du lot témoin.

Pour l'initiation par l'IQ par contre, on note une différence significative ( $p=0.016$ ) pour la taille des ACF et ici, les ACF sont moins gros chez les rats ayant consommé de l'oignon que chez les témoins.

Pour l'initiation par la MNU, même s'il y a apparemment moins d'ACF et moins de gros ACF sur les côlons des rats ayant reçu un régime à 5% d'oignon, aucune des différences observées entre les deux lots n'est significative.

### **3. Discussion :**

Lorsque l'on compare le nombre d'ACF initiés par chaque cancérigène, on constate que l'IQ provoque nettement moins d'ACF que les deux autres produits. Les côlons de ces rats ne présentent que très peu d'ACF : 0.67 en moyenne pour le lot OIQ et 1.67 pour le lot TIQ. En effet, c'est une caractéristique de ce cancérigène : il provoque peu d'ACF chez les rats. L'IQ est peut être en ce sens plus représentatif des cancérigènes auxquels nous sommes soumis, la MNU par contre a une action très invasive et directe au point de contact avec la muqueuse : ce n'est pas le cas général de l'action des agents cancérigènes de notre environnement. Cela n'affecte pas le résultat obtenu : l'oignon a un effet significatif sur la taille des ACF initiés par l'IQ. De plus, le nombre d'ACF initiés est beaucoup moins important chez les rats traités ; la différence entre le lot témoin et le lot traité aurait peut-être été significative si le nombre de rats avait été plus important : ici la variabilité interindividuelle est trop importante. Pour ce qui est des gros ACF, comme le nombre total d'ACF formés est faible, il est normal de trouver très peu de gros ACF.

Au cours de l'expérience, les lots n'ont pas tous été affectés de la même manière à l'administration de cancérigène. Les rats soumis à la MNU en particulier semblent avoir particulièrement souffert : on constate une chute de poids suivant le gavage, les rats se sont arrêtés

	Nbre d'ACF total /côlon	Taille des ACF : nbre de cryptes /ACF	Nbre de gros ACF ( $\geq 4$ cryptes)
<b>AOM</b> (diff.entre TAO et OAO)	<b>S : <math>p=0.031</math></b>	<b>S : <math>p=0.048</math></b>	NS : $p=0.36$
<b>IQ</b> (diff.entre TIQ et OIQ)	NS : $p=0.19$	<b>S : <math>p=0.016</math></b>	
<b>MNU</b> (diff.entre TNU et ONU)	NS : $p=0.8$	NS : $p=0.38$	NS : $p=0.32$

**Tableau 3. Etude 1.** Analyse statistique de l'étude du rôle de l'oignon contre l'initiation de la cancérogenèse colique induite chez le rat.

NS : non significatif,  $p>0.05$ . **S** : significatif,  $p<0.05$ .

de manger. Ainsi, on ne peut pas considérer que les consommations d'oignon ont été équivalentes dans chaque groupe. Les comparaisons entre les résultats pour les différents cancérigènes semblent donc difficiles.

A l'aide de paramètres tels que l'efficacité à réduire le nombre total d'ACF ou le pourcentage de réduction, on peut comparer différents agents protecteurs entre eux. Des échelles d'efficacité ont été réalisées et des inventaires des différents produits testés à ce jour sur l'initiation par l'AOM ont été établis [Corpet, 2002]. L'efficacité à réduire le nombre total d'ACF est le rapport du nombre d'ACF total chez les témoins sur le nombre d'ACF total chez les traités. Pour l'oignon dans l'étude 1, cette efficacité pour l'initiation par l'AOM est :

$$\text{Eff.} = (\text{moyenne du nbre total d'ACF lot TAO}) / (\text{moyenne du nbre total d'ACF lot OAO})$$

$$\text{Eff.} = 85.7/60$$

$$\boxed{\text{Eff.} = 1.43}$$

Parmi tous les agents qui ont été testés et dont les résultats d'efficacité ont été publiés dans la littérature internationale, on peut estimer la médiane de l'efficacité à 2. L'oignon ne fait donc pas partie des agents les plus protecteurs en ce qui concerne l'initiation par l'AOM. Par contre, lorsqu'on compare son efficacité à celle d'autres agents d'origine végétale, l'oignon a quand même un effet protecteur. D'autres agents végétaux comme le ginseng blanc, dont l'efficacité est de 1.4, ou le pois à 10% dans l'alimentation, dont l'efficacité est de 1, ont une efficacité équivalente voire moins importante que celle de l'oignon. Il est aussi intéressant de comparer l'efficacité de l'oignon à celle de composés qu'il contient d'après des études déjà publiées. Dans le cas de la protection contre l'initiation, ces composés ont une efficacité plus importante que l'oignon, mais ils sont ajoutés au régime dans des proportions très supérieures à celle qu'ils ont dans l'oignon : la quercétine à 2% du régime a une efficacité de 2.4 ; le diallyldisulfide (DAS) et la S-allylcystéine, deux composés soufrés, ont, respectivement, une efficacité de 2.3 et de 2.2 et l'inuline à 10% du régime a une efficacité de 1.5. Ces résultats confirment l'efficacité indéniable de l'oignon au rang des produits d'origine végétale sans qu'il fasse partie des meilleurs protecteurs. On parle ici d'apparition d'ACF et donc indirectement de développement de tumeurs, donc une diminution même faible est bénéfique. L'oignon est donc un agent protecteur de l'initiation de la cancérogenèse colique et même si son action est limitée, elle existe et cet aliment mérite d'être favorisé dans nos régimes.

	Pois	ginseng	OIGNON	S-allylcystéine	DAS	quercétine	
	↓	↓	↓	↓	↓	↓	
Eff.-	1	1.4	1.43	2.2	2.3	2.4	Eff.+

***Place de l'oignon sur l'échelle des efficacités à réduire le nombre d'ACF.***

Dans cette perspective, il est intéressant d'extrapoler la quantité d'oignon ingérée par les rats, et ayant montré son efficacité, à ce que devrait manger un Homme de 60 kg en moyenne chaque jour. Il faut pour cela rapporter la quantité ingérée par les rats à leur poids métabolique, c'est à dire à leur surface corporelle pour pouvoir la comparer au poids métabolique de l'Homme.

Pour cela, on élève le poids de chaque protagoniste à la puissance 0.7.

On obtient ainsi : Qor : quantité d'oignon mangée par le rat en moyenne chaque jour au cours de l'étude (=0.5g)

Qoh : quantité d'oignon mangée par l'Homme

Ph : poids de l'Homme (=60 kg)

Pr : poids moyen des rats au cours de l'expérience (= 0.13 kg)

$$Qoh = Qor \times (Ph/Pr)^{0.7}$$

$$Qoh = 36 \text{ g de poudre d'oignon déshydratée.}$$

L'oignon contient environ 15% de matière sèche donc chaque jour un Homme doit consommer  $36/0.15 = 240 \text{ g d'oignon frais.}$

Cette quantité représente beaucoup plus que la consommation moyenne des français, mais elle n'est pas du tout irréaliste. Alors, même s'il est un peu simpliste d'extrapoler aussi facilement du rat à l'Homme compte tenu des différences génétiques et physiologiques qui les séparent, il ne paraît pas illusoire de considérer qu'augmenter la proportion d'oignon dans notre alimentation pourrait participer à la prévention contre les agents mutagènes de notre environnement.

Ainsi, dans le même ordre d'idée, il semble judicieux d'associer des aliments contenant des cancérigènes et des aliments protecteurs. Des études réalisées in-vitro ont montré par exemple que du jus d'oignon ajouté lors de la cuisson de viande de bœuf, génératrice d'amines hétérocycliques comme IQ, diminue la mutagénicité sur des cultures bactériennes [Kato, 1998]. Mais l'on ne peut pas adopter la position de ceux qui veulent classer tous les aliments dans deux catégories : les bons et les nocifs et éliminer de notre environnement tous les aliments nocifs. Ce que de tels résultats doivent nous montrer, c'est la nécessité d'une alimentation équilibrée,

comportant des produits protecteurs comme les légumes et la nocivité des excès d'aliments ou de modes de vie favorisant l'apparition de cancers : les graisses animales, le fait de griller la viande et les poissons, le manque d'exercice...

## **II. ROLE DE L'OIGNON SUR LA PROMOTION DE LA CANCEROGENESE PAR L'AZOXYMETHANE CHEZ LE RAT (étude 2) :**

Notre approche consiste, ici aussi, à utiliser un modèle animal : le rat, afin de vérifier l'hypothèse selon laquelle l'oignon aurait un effet protecteur contre le développement de foyers de cryptes aberrantes (ACF) initiés au préalable par l'administration d'un cancérigène, l'azoxyméthane. Le régime à tester est donc ici, contrairement à l'étude 1, donné aux rats après initiation des ACF. Les foyers de cryptes aberrantes sont les marqueurs du risque d'apparition de tumeurs colorectales que nous avons choisi. Nous allons donc comparer la croissance des ACF chez différents groupes de rats le nombre moyen de cryptes par ACF (taille des ACF) et le nombre de gros ACF (à 4 cryptes ou plus).

Chaque groupe a reçu un régime particulier. On s'intéresse à quatre régimes différents : (cf. *Tableau 4.*)

- Un régime témoin négatif ne contenant aucune substance susceptible d'être protectrice contre la cancérogenèse provoquée par l'azoxyméthane.
- Un régime contenant de l'oignon
- Un régime contenant un mélange de microconstituants de l'oignon
- Un régime contenant un agent protecteur contre la cancérogenèse provoquée par l'azoxyméthane : le pluronic F68. Ce régime joue le rôle de témoin positif.

### **1. Matériel et méthodes :**

#### **a) Lots d'animaux :**

Dans cette expérience, on a utilisé 37 rats femelles Fischer 344 fournies par Iffa Credo (L'Abresle) et reçues âgées de 5 semaines. Ils ont été répartis au hasard dans 19 cages de deux

Régime	Quantité AIN76	Ingrédients rajoutés à AIN76	
		Quantité	Produit
<b>TEMo</b>	950g	40g 10g	Saccharose Cellulose
<b>OIGo</b>	950g	50g	Poudre d'oignon Auxor déshydratée
<b>MICo</b>	950g	0.166g 0.630g 10g 30g 10g	DPDS Quercétines QMG + QDG Saccharose Raftilose Cellulose
<b>PLUo</b>	940g	40g 10g 10g	Saccharose Cellulose Pluronic F68

**Tableau 4. Etude 2.** Formulation des différents aliments de l'étude du rôle de l'oignon contre la promotion de la cancérogenèse colique induite chez le rat.

QMG : monoglycoside de quercétine et QDG : diglycoside de quercétine

DPDS : dipropyle disulfide (composé soufré)

rats. Ce sont des cages en inox suspendues au-dessus de papier kraft permettant le recueil des fèces et un nettoyage rapide des litières.

Au départ, nous devions utiliser 40 rats, mais 3 ont du être exclus de l'étude. En effet, il s'est avéré que 2 rats étaient des mâles. Afin de maintenir des groupes identiques à tout point de vue sauf sur le régime alimentaire [Corpet, 1996], nous avons préféré les exclure. De plus, au cours de la lecture des côlons, l'un d'eux était en mauvais état, ce qui a rendu la lecture difficile et non rigoureuse. Ce rat a donc également été exclu de l'étude.

#### **b) Alimentation et ambiance :**

Dans ces cages, les rats pouvaient s'abreuver à des biberons distribuant de l'eau courante et disposaient d'un récipient contenant leur alimentation sous forme de poudre. A leur arrivée et pendant les 14 premiers jours ils ont tous reçu de l'AIN 76 (cf. composition I.1.b) en poudre à volonté fourni par UAR (Villemoisson). Les cages ont été disposées dans une pièce unique, fermée et climatisée à 22°C. Les rats ont été soumis à un cycle jour/nuit d'exposition à la lumière de 12 heures.

#### **c) Protocole expérimental :**

J-14 correspond au jour d'arrivée des rats au laboratoire et dans leur cage.

A J-7, c'est à dire 7 jours après leur arrivée, on injecte aux rats, tous nourris avec le régime témoin, une dose intra-péritonéale d'un initiateur de tumeurs du côlon : l'azoxyméthane(AOM) à la dose de 20 mg/Kg de poids vif, dilué dans NaCl à 9g/L. L'azoxyméthane est fourni par Sigma.

A J0, c'est à dire 7 jours après cette injection, les 19 cages sont réparties au hasard en 4 groupes de 8 à 10 rats. Chaque groupe reçoit à partir de là un régime alimentaire particulier : la formulation des différents aliments est présentée dans le **tableau 4**.

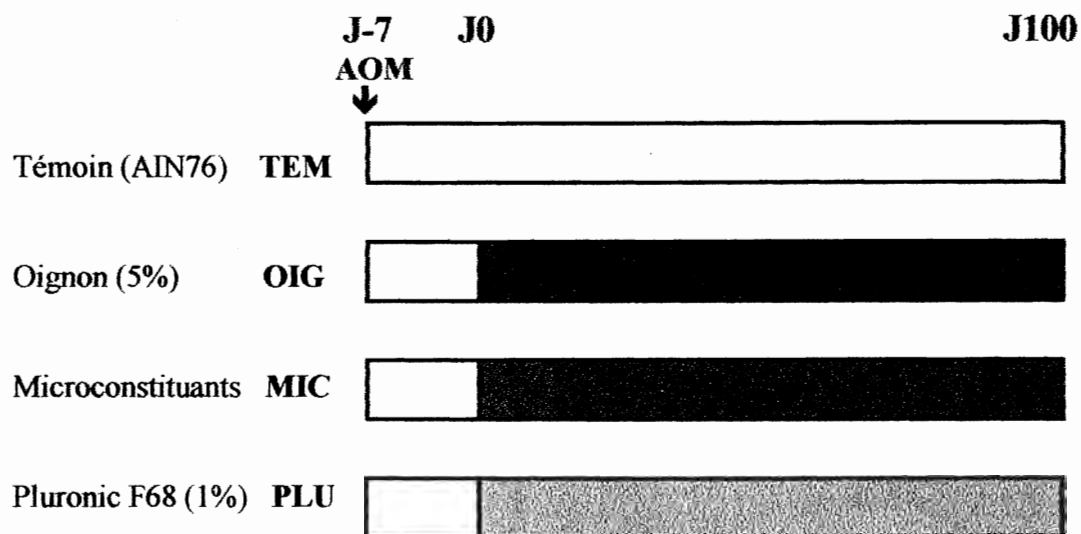
- le groupe nommé « TEM » comprend 9 rats, qui reçoivent un aliment témoin : de l'AIN 76 semi-purifié (low fat).
- le groupe nommé « OIG » comprend 10 rats qui reçoivent un mélange de l'AIN 76 précité et de 5% d'oignon jaune déshydraté Auxor réduit en poudre fourni par l'entreprise Coop d'Or.
- le groupe nommé « MIC » comprend 10 rats qui reçoivent un mélange de l'AIN 76 témoin et de microconstituants de l'oignon.  
Ces microconstituants de l'oignon ont été choisis pour leur rôle protecteur supposé. C'est un mélange des différentes classes de produits que l'on trouve dans l'oignon : les fructanes, représentés dans ce régime par le raftilose qui est un oligosaccharide de type inuline, les composés soufrés représentés par le dipropyle disulfide et les polyphénols représentés par les deux glycosides de quercétines majoritaires dans l'oignon : le mono- et le diglycoside de quercétine. Le mélange contient ces microconstituants dans les proportions équivalentes à l'ensemble des produits de chacune de ces classes dans l'oignon(cf. composition *tableau 4*).
- le groupe nommé « PLU » comprend 8 rats qui reçoivent un mélange de l'AIN 76 témoin et de 1% de pluronic F68 fourni par Sigma qui est un polymère protecteur contre le cancer du côlon chez le rat.

L'aliment est donné à volonté et changé régulièrement. Les différents mélanges sont constitués à l'avance et congelés.

Les rats sont sacrifiés à J100, c'est à dire 114 jours après leur arrivée, afin de laisser évoluer les microadénomes suffisamment longtemps pour observer l'effet des différents régimes sur leur croissance, et donc l'étape de promotion. On cherche à examiner plus particulièrement les paramètres « taille des ACF » et « nombre de gros ACF ».

*Le protocole expérimental est présenté schématiquement sur la **figure 9**.*





**Figure 9.** Etude 2. Protocole expérimental de l'étude du rôle de l'oignon contre la promotion de la cancérogenèse colique induite chez le rat.

↓ : injection d'azoxyméthane. AOM : azoxyméthane

Les rats sont sacrifiés par asphyxie en cuve de CO<sub>2</sub>, puis disséqués. Par une ouverture abdominale sur la ligne blanche, on atteint les anses intestinales. On les déroule afin d'individualiser le côlon et le rectum que l'on prélève. Après avoir vidé la lumière digestive par un rinçage à l'aide de tampon Kreb's Ringer, on découpe les côlons en trois segments correspondant à la longueur d'une lame porte-objet. Les côlons sont ouverts longitudinalement et déposés à plat entre deux feuilles de papier filtre indexées.

Chaque feuille de papier porte un code à deux lettres correspondant à un couple groupe-aliment / numéro de cage. Ce code établi par une personne différente de celle qui « lira » les côlons, permet une lecture des ACF en aveugle. Les côlons ainsi identifiés, sont conservés, jusqu'à la lecture des ACF, dans du formol tamponné à 10%. Afin que la conservation des tissus soit suffisante, les côlons sont maintenus au moins 12 heures dans le formol avant la lecture.

#### **d) Mesures réalisées pendant le protocole :**

Les régimes OIG et MIC contiennent des composés soufrés qui rendent leur goût et leur odeur très prononcé. Afin de s'assurer qu'il n'y avait pas de grosses différences de consommation d'aliment entre les lots, les rats ont été pesés toutes les semaines et les prises de poids des différents groupes ont été comparées. Les relevés et la courbe d'évolution du poids des rats au cours de l'expérience sont présentés respectivement sur les *annexes 5 et 6*. De la même façon, la consommation d'aliment et d'eau, ainsi que la quantité de déjections émises en 24 heures ont été mesurées. Les relevés et les courbes de consommation des produits testés (poudre d'oignon pour le groupe OIG et microconstituants de l'oignon pour le groupe MIC) sont présentés sur les *annexes 7, 8, 9 et 10*. Finalement aucune différence statistiquement significative n'est apparue entre les différents groupes de rats. Leur appétit n'a, semble-t-il, pas été affecté par ces différences organoleptiques si ce n'est, contre toute attente, une consommation du régime contenant de la poudre d'oignon plus importante en début d'expérience sans prise de poids supérieure aux autres groupes; mais cela n'implique pas de biais particulier pour ce que l'on cherche à montrer.

## 2. Résultats :

Après prélèvement et fixation des côlons, j'ai réalisé la lecture des foyers de cryptes aberrantes. J'ai coloré les côlons en les immergeant pendant 5 minutes dans une solution de bleu de méthylène à 0.02% dans du Kreb's Ringer. Ils ont ensuite été rincés dans du Kreb's Ringer, déposés sur une lame porte-objet comportant des segments correspondant à la largeur d'un champ au grossissement  $\times 40$ . A l'aide de ces repères, la lecture a permis de comptabiliser tous les ACF visibles à la surface de la muqueuse et le nombre de cryptes dont ils sont composés. Les résultats obtenus pour chaque rat de l'expérience sont présentés dans le **tableau 5**, ainsi que la moyenne et l'écart-type de ces paramètres pour chaque lot.

Afin de vérifier notre hypothèse, nous avons réalisé une analyse statistique de ces données, présentée dans les tableaux **6a**, **6b** et **6c**. Après s'être assurés par le test de Bartlett que les variances étaient homogènes pour les paramètres « nombre d'ACF par côlon » et « Nombre de cryptes par ACF », nous avons réalisé une analyse de la variance : il existe effectivement des différences entre les 4 groupes de rats ( $p < 0.05$ ). Nous avons ensuite comparé les moyennes des groupes test, c'est à dire OIG, MIC et PLU, au groupe témoin : TEM. Pour cela, nous avons choisi le test de Dunnett qui permet de comparer tous les résultats aux résultats d'un groupe témoin. Cette analyse nous permet de constater une nette différence entre le groupe témoin et le groupe consommant de la poudre d'oignon en ce qui concerne le nombre d'ACF par côlon : les rats ayant consommé de l'oignon en ont moins que ceux du groupe témoin. Le groupe PLU témoin positif a bien un nombre moins élevé d'ACF par côlon que les rats témoins négatif, mais cette différence n'est pas statistiquement significative. Par contre, le groupe PLU est significativement différent du groupe TEM en ce qui concerne la taille des ACF : les rats consommant du pluronic ont des ACF plus petits que les rats témoins : on trouve 2.2 cryptes par ACF en moyenne chez les rats PLU contre 2.69 cryptes par ACF en moyenne chez les rats témoins. Ce résultat confirme le rôle protecteur du pluronic et valide donc les conditions de notre étude. Comme on l'a déjà vu, les ACF sont plus gros chez les animaux ou les humains ayant des carcinomes et des adénomes, c'est un signe de risque de tumeurs plus graves (risque de malignité plus élevé) [Fenoglio-Preiser, 1999].

Par contre, les variances des groupes de rats en ce qui concerne le nombre d'ACF par côlon ayant 4 cryptes et plus, c'est à dire les gros ACF, n'étaient pas homogènes. Nous avons donc transformé ces données afin de stabiliser les variances. C'est donc sur les logarithmes décimaux

Lot	Nb total d'ACF	Nb moyen de cryptes par ACF	Nb d'ACF à plus de 4cryptes
MIC 1a	27	2,15	3
MIC 1b	21	2,71	4
MIC 2a	47	2,79	6
MIC 2b	70	2,61	12
MIC 3a	37	2,11	4
MIC 3b	22	2,82	6
MIC 4a	40	2,18	4
MIC 4b	20	2,65	5
MIC 5a	48	3,02	16
MIC 5b	70	2,54	15
<b>Moyenne</b>	<b>40,2</b>	<b>2,56</b>	<b>7,5</b>
<b>Ecart-type</b>	<b>18,8</b>	<b>0,31</b>	<b>4,91</b>

OIG 1a	17	2,06	2
OIG 1b	23	2,48	4
OIG 2a	42	2,21	5
OIG 2b	40	2,3	6
OIG 3a	54	2,54	9
OIG 3b	10	2,1	0
OIG 4a	37	2,97	11
OIG 4b	56	2,48	13
OIG 5a	40	1,98	5
OIG 5b	25	2,64	6
<b>Moyenne</b>	<b>34,4</b>	<b>2,38</b>	<b>6,1</b>
<b>Ecart-type</b>	<b>15,3</b>	<b>0,31</b>	<b>3,96</b>

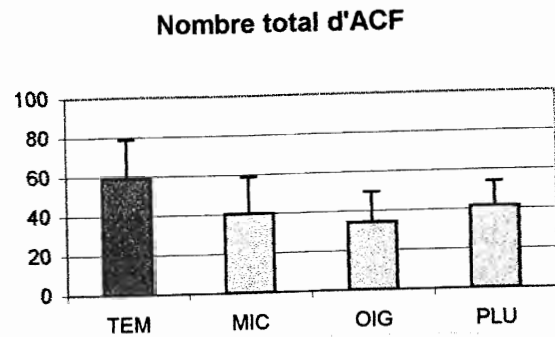
TEM 1b	39	3,02	14
TEM 2a	69	2,16	8
TEM 2b	55	2,27	8
TEM 3a	48	2,65	9
TEM 3b	39	2,38	7
TEM 4a	96	3,04	34
TEM 4b	55	2,65	13
TEM 5a	83	2,8	21
TEM 5b	45	3,31	21
<b>Moyenne</b>	<b>58,8</b>	<b>2,69</b>	<b>15</b>
<b>Ecart-type</b>	<b>20</b>	<b>0,38</b>	<b>8,92</b>

PLU 1a	44	1,84	1
PLU 1b	30	2,3	4
PLU 3a	35	2,17	3
PLU 3b	44	2,2	6
PLU 4a	50	2,2	6
PLU 4b	22	2,45	4
PLU 5a	43	2,16	4
PLU 5b	63	2,24	5
<b>Moyenne</b>	<b>41,4</b>	<b>2,2</b>	<b>4,13</b>
<b>Ecart-type</b>	<b>12,6</b>	<b>0,17</b>	<b>1,64</b>

**Tableau 5. Etude 2.** Résultats de l'étude expérimentale du rôle de l'oignon dans la promotion de la cancérogenèse colique induite chez le rat. On retrouve sur chaque ligne les résultats d'un rat.

**Nombre d'ACF par côlon:** ANOVA et test de Dunnett entre les traités et le témoin

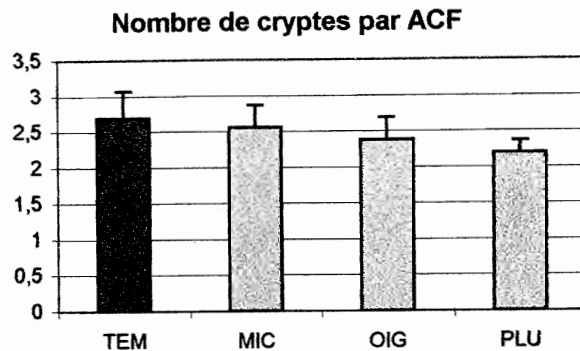
ANOVA: $p=0,025$ (S)	TEMo
OIGo	S: $q=3,11$
MICo	NS: $q=2,37$
PLUo	NS: $q=2,1$



**Tableau 6a**

**Taille des ACF:** ANOVA et test de Dunnett entre les traités et le témoin:

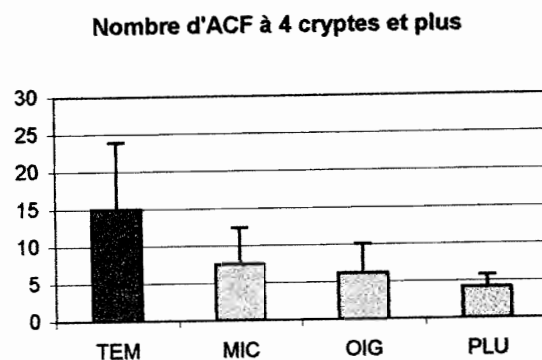
ANOVA: $p=0,013$ (S)	TEMo
OIGo	NS: $q= 2,2$
MICo	NS: $q= 0,93$
PLUo	T S: $q= 3,3$



**Tableau 6b**

**Logarithmes du nombre d'ACF à 4 cryptes et plus:** ANOVA et test de Dunnett entre les traités et le témoin:

ANOVA : $p=0,001$	TEMo
OIGo	S: $q= 2,96$
MICo	S: $q= 2,69$
PLUo	TS: $q= 4,44$



**Tableau 6c**

**Tableaux 6a, 6b et 6c. Etude 2.** Représentation graphique des moyennes pondérées des écart-types des résultats et analyse statistique de l'étude du rôle de l'oignon sur la promotion de la cancérogenèse colique induite chez le rat. Le seuil de signification du test de Dunnett pour les données présentes ici est  $p<0.05$  pour  $q>2.461$ .

TS : très significatif ; S : significatif ; NS : non significatif.

des données que nous avons pu réaliser l'analyse statistique. On réalise comme précédemment des comparaisons à l'aide du test de Dunnett entre les moyennes des lots traités et celles du lot témoin. On voit donc qu'il existe une différence significative entre le nombre de gros ACF sur les côlons des rats des lots OIG (  $p < 0.05$ ,  $q = 2.955$ ) et MIC (  $p < 0.05$ ,  $q = 2.694$ ) et ceux du lot TEM. On constate également une différence très significative entre le nombre de gros ACF sur les côlons des rats du lot PLU (  $p < 0.01$ ,  $q = 4.438$ ) et ceux du lot TEM. Comme vu au paragraphe précédent, ce paramètre est un marqueur de risque de malignité des lésions [Fenoglio-Preiser, 1999].

### 3. Discussion :

On a choisit ici de comparer les résultats obtenus pour l'oignon à ceux obtenus pour un protecteur avéré : le pluronic. Cela se fait assez rarement dans ce type d'expérience, mais cela nous a semblé utile afin d'apporter du poids à nos résultats, si résultats il y avait. En effet, il a été démontré que le pluronic, ajouté à 5% dans l'alimentation de rats, jouait un rôle dans la diminution du nombre d'ACF et de leur taille après injection des rats à l'AOM [Parnaud, 2001]. Afin de se mettre dans des conditions de protection équivalentes pour le pluronic et l'oignon, on a ajouté ici le pluronic à raison, seulement, de 1% de la ration. C'est pourquoi, peut-être, on n'obtient pas systématiquement pour chaque paramètre une différence significative entre le témoin et le pluronic.

On constate au vu des résultats que la consommation d'oignon par les rats fait diminuer le nombre total d'ACF sur la muqueuse colique et le nombre d'ACF à 4 cryptes aberrantes ou plus. Ces conclusions nous amènent à penser que l'oignon pourrait avoir un effet protecteur contre l'apparition de lésions tumorales recto-coliques et contre leur évolution vers un stade malin. C'est surtout le résultat concernant le nombre de gros ACF qui est intéressant ici sur le rôle de l'oignon sur la promotion de la cancérogenèse. La consommation d'oignon semble non seulement, comme on l'a vu dans l'étude 1., diminuer l'initiation des tumeurs mais aussi ralentir nettement leur croissance : il agit sur les deux niveaux, l'initiation et la promotion.

Comme on l'a fait pour l'initiation (cf. I.3.), on peut comparer l'effet de l'oignon sur la promotion à d'autres agents protecteurs. Ici, l'efficacité à réduire le nombre total d'ACF est égale à 1.7 (moyenne des ACF chez les rats témoins / moyenne des ACF chez les rats OIG) et le pourcentage de diminution est égal à 41.5%. L'efficacité à réduire le nombre de gros ACF est de 2.45 (moyenne des gros ACF chez les témoins / moyenne des gros ACF chez les rats OIG) et le pourcentage de diminution est de 59.3%. L'oignon fait partie des produits végétaux les plus actifs avec une efficacité comparable à celle du thé vert à 2% dans l'eau de boisson et plus importante que l'inuline seule à 10% du régime qui n'a qu'une efficacité de 1.5. Mais sur l'échelle globale de tous les agents protecteurs, l'oignon ne fait pas partie des agents très protecteurs. La médiane étant environ à 2, l'oignon est un peu en-dessous. Un régime enrichi en sélénium que l'on trouve dans le brocolis a une efficacité de 2 et un régime à 3% de rutine, un flavonoïde comme la quercétine de l'oignon a une efficacité de 3.2, sans parler des agents comme le pluronic F68 ou le PEG qui ont une efficacité très importante, le PEG 8000 à 5% peut avoir une efficacité de 14 par exemple...

Afin d'avoir une idée de l'impact que cette efficacité peut avoir sur l'efficacité à réduire le nombre de tumeurs, on peut comparer l'oignon à d'autres composés. Les polyphénols du thé vert par exemple dont on a vu que l'efficacité à réduire les ACF était proche de celle de l'oignon, ont une efficacité à réduire le nombre de tumeurs de 2 et un pourcentage de réduction de 51%. Ce résultat, même s'il est moins bon qu'avec des agents comme le pluronic ou le PEG, est très intéressant. Si l'oignon peut réduire le nombre de tumeurs de 50%, c'est un agent protecteur qui mérite qu'on s'y intéresse. L'idée de privilégier de tels aliments dans notre régime pourrait donc bien être une arme efficace de prévention des tumeurs.

	Genistein (flavonoïde)	Inuline	Thé vert <i>OIGNON</i>	Sélénium (brocolis)	Rutine (flavonoïde)	PEG 8000	
	↓	↓	↓	↓	↓	↓	
<i>Eff-</i>	1.4	1.5	<b>1.7</b>	2	3.2	14	<i>Eff+</i>

***Place de l'oignon sur l'échelle des efficacités (Eff.) à réduire le nombre d'ACF et quelques exemples.***

On peut, à partir de la consommation des rats en poudre d'oignon, estimer combien un Homme de 60 kg en moyenne devrait ingérer d'oignon par jour pour obtenir de tels résultats. Les rats ont en moyenne consommé 0.5 g/ jour / rat comme dans l'étude 1. On obtient donc le même résultat : un Homme de 60 kg en moyenne devrait ingérer 240 g d'oignon frais par jour (cf.I.3.). Comme on l'a vu pour l'étude 1, cette quantité est très supérieure à la consommation moyenne des français, mais elle n'est pas hors de proportion, c'est réalisable en changeant ses habitudes alimentaires.



# **CONCLUSION**

Le rôle protecteur de l'oignon et plus généralement de nombreux produits d'origine végétale a été démontré. Leur action n'est pas spectaculaire, mais elle participe à tout un ensemble de bonnes habitudes à prendre pour prévenir l'apparition de cancers.

Tout au long de l'Evolution, les cancérigènes se sont multipliés dans notre environnement. Dès le début, l'Homme a été soumis à des radiations naturelles comme les UV ou les radioisotopes. Avec la découverte du feu l'Homme a rendu ses aliments plus digestes et plus sains, mais il a aussi introduit de nouveaux mutagènes comme les amines hétérocycliques. Enfin avec l'industrialisation et les progrès techniques, l'Homme a appris à synthétiser de nouveaux produits et parmi eux des cancérigènes comme les sous-produits de la synthèse de l'urée ou les hydrocarbures, sans compter tous les mutagènes produits « involontairement » par les activités humaines [Sugimura, 1999]. Notre organisme se trouve donc souvent au contact de cancérigènes, mais il est aussi capable de les produire lui-même : l'excès pondéral et le manque d'exercice physique favorisent une augmentation des lipides circulants et la production de cancérigènes endogènes. Ainsi, vouloir éliminer tout cancérigène de notre environnement n'a pas de sens. D'une part, la vie serait bien triste et d'autre part ce serait illusoire puisque le cancer n'est pas dû à la seule présence de cancérigènes exogènes. Un faisceau d'événements chimiques, génétiques et cellulaires est nécessaire au déclenchement de la cancérogenèse. Il paraît donc plus raisonnable et réaliste d'établir un équilibre entre les facteurs de risque de cancer et les facteurs protecteurs. On en revient donc aux recommandations du World Cancer Research Fund : éliminer le tabagisme, privilégier les fruits et légumes dans notre alimentation, contrôler son poids et maintenir une activité physique régulière.

Mais finalement, il s'agit d'avoir tout simplement du « bon sens ». Est-ce qu'aujourd'hui, on ne cherche pas dans la Science la justification de ce que l'on sait depuis toujours ? Pourquoi faut-il prouver « scientifiquement » que des méthodes ou des produits utilisés depuis des millénaires par des peuples sont « réellement » efficaces ? Le «  $p = 5\%$  » de risque de se tromper des tests statistiques est-il plus rassurant que des milliers d'années de pratique et de résultats par des non-scientifiques ? La Science a acquis un pouvoir et elle est devenue le gourou auquel le public croit sans condition. Voilà pourquoi j'ai choisi de devenir vétérinaire inspecteur, de travailler au plus près de l'humain, plutôt que de faire de la recherche : le chercheur est si vite étourdi par l'importance que lui donnent les gens... Pourtant je connais un chercheur qui a su se tenir éloigné des conflits d'intérêts et des

courses aux titres. Il se trouve aujourd'hui, je crois, du côté de Bangui en Centrafrique et essaie de juguler, au fur et à mesure qu'elles arrivent, les épidémies qui ravagent la population. Il est reconnu par ses pairs, mais il s'en moque car ce qui l'anime, c'est la recherche au service de l'urgence, au service de ceux qui souffrent et qui meurent, et non au service des laboratoires pharmaceutiques ou des comités de lecture des grandes revues scientifiques. S'il avait été le seul chercheur que j'ai rencontré durant mes études, je l'aurais sûrement suivi dans cette voie...

**AGREMENT ADMINISTRATIF**

Je soussigné, P. DESNOYERS, Directeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, certifie que

**Mlle LADAM Aélis**

a été admis(e) sur concours en : 1997

a obtenu son certificat de fin de scolarité le : 6 juin 2002

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

**AGREMENT SCIENTIFIQUE**

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

autorise la soutenance de la thèse de :

**Mlle LADAM Aélis**

intitulée :

*"L'oignon protège-t-il le rat contre la cancérogénèse du colon : effet sur les foyers de cryptes aberrantes"*

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

*Denis CORPET*

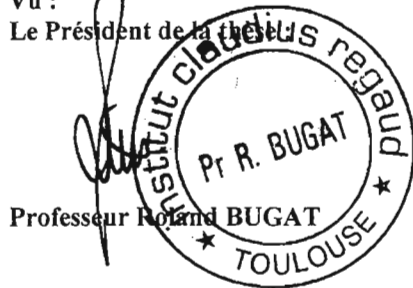
**Professeur Denis CORPET**

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



**Docteur Pierre DESNOYERS**

**Vu :  
Le Président de la thèse**



**Professeur Roland BUGAT**

**Vu le : 27 mai 2002  
Le Président  
de l'Université Paul Sabatier**

*[Signature]*

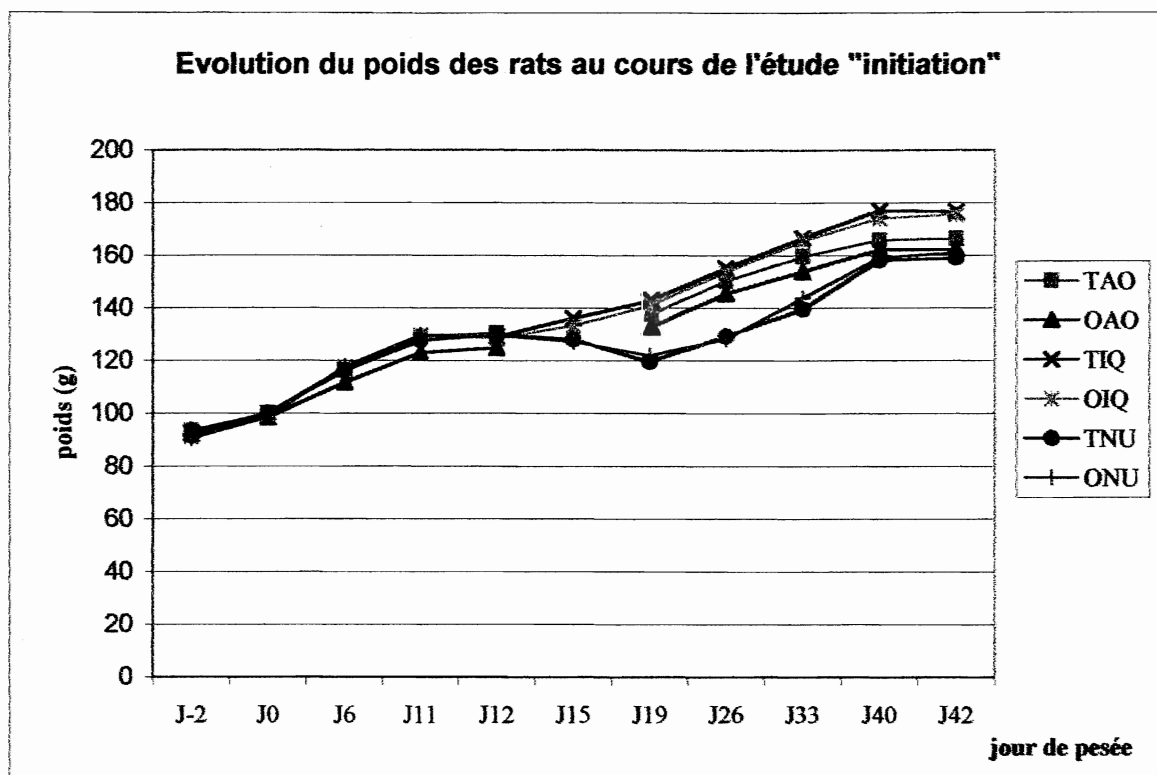
**Professeur Raymond BASTIDE**



# ANNEXES

Jour de pesée	Poids moyen des rats par lot					
	TAO	OAO	TIQ	OIQ	TNU	ONU
J-2	93,4	93,6	92,4	91,2	91,7	90,7
J0	100,2	98,5	99,9	99,4	100,2	98,6
J6	116,5	111,9	117,5	117,7	116,5	117,8
J11	129,2	123,1	129,7	129,8	127,8	129,8
J12	130,5	125	129,2	128,6	130	129,8
J15			136,3	133,4	128,1	127,3
J19	137,7	132,7	142,9	141,1	119,6	122
J26	150,3	145,5	155,2	153,7	129,4	128,4
J33	159,7	153,9	166,7	165,7	139,7	143,8
J40	165,9	162,2	177,2	174,1	158,2	159,2
J42	166,5	162,5	176,5	175,5	159	161

**Annexe 1.** Poids moyen des rats au cours de l'étude du rôle de l'oignon sur l'initiation de la cancérogenèse colique.

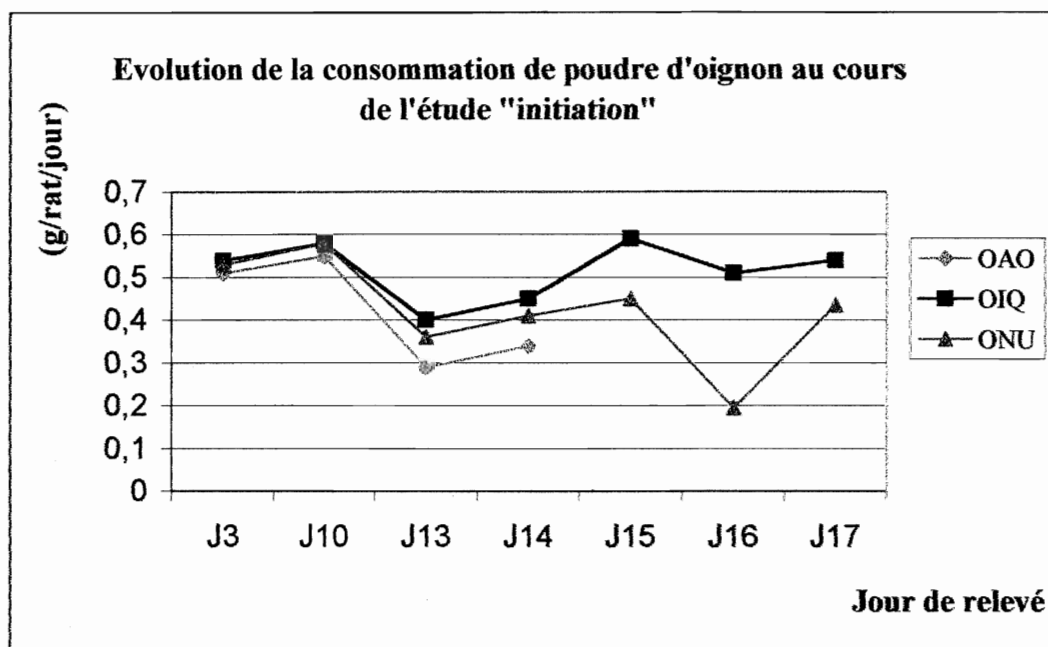


**Annexe 2.** Courbes d'évolution du poids des rats au cours de l'étude du rôle de l'oignon sur l'initiation de la cancérogenèse colique.

Poids moyen de poudre d'oignon (g/rat/jour)

Jour de relevé	OAO	OIQ	ONU
J3	0,51	0,54	0,53
J10	0,55	0,58	0,58
J13	0,29	0,4	0,36
J14	0,34	0,45	0,41
J15		0,59	0,45
J16		0,51	0,195
J17		0,54	0,435

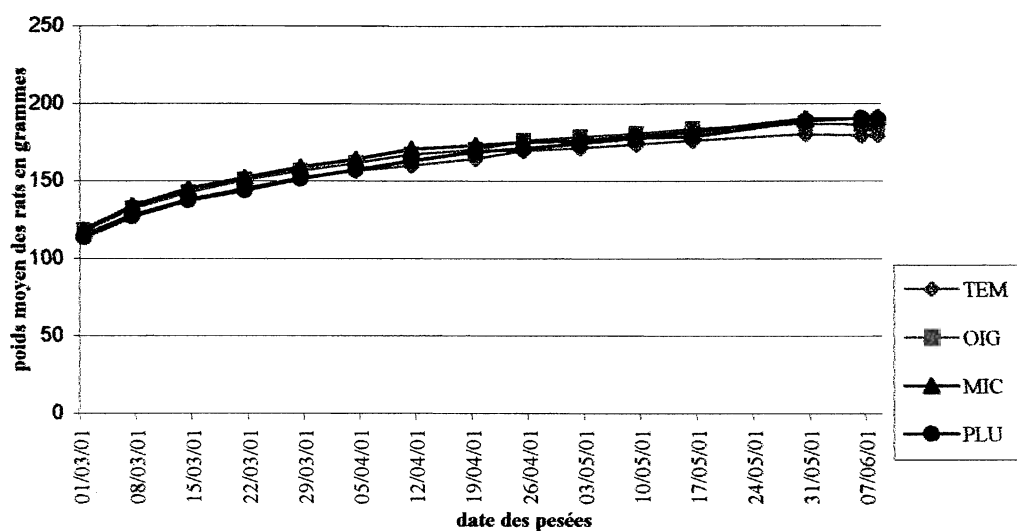
**Annexe 3.** Relevé du poids de poudre d'oignon consommée par jour et par rat dans l'étude du rôle de l'oignon sur l'initiation de la cancérogenèse colique.



**Annexe 4.** Evolution de la consommation de poudre d'oignon au cours de l'étude du rôle de l'oignon sur l'initiation de la cancérogenèse colique.

Poids moyen des rats en grammes				
Date de la pesée	TEM	OIG	MIC	PLU
01/03/01	115,6	118	118,2	113,6
07/03/01	128,1	132,1	134,1	127
14/03/01	137,9	142,6	144,8	137,3
21/03/01	145,4	150,9	152,3	143,8
28/03/01	152,2	156,6	159,1	151,6
04/04/01	156,7	161,8	164	157,4
11/04/01	160,1	167,2	170,6	163,1
19/04/01	164,6	170,3	173,2	168,9
25/04/01	169,5	176	175,3	171,1
02/05/01	171,5	178,6	176	174,4
09/05/01	173,8	180,8	179	177,9
16/05/01	176,3	183,6	181,7	179
30/05/01	180,2	187,3	190,2	188,8
06/06/01	179,4	186,5	190,6	190,5
08/06/01	179,6	186,7	190,9	189,9

*Annexe 5.* Poids (g) moyen des rats de chaque lot au cours de l'étude 2.



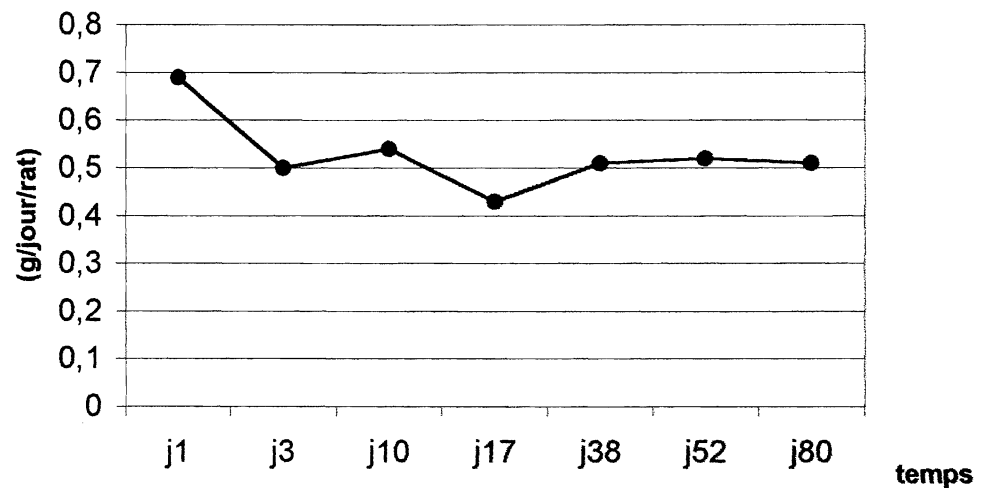
*Annexe 6.* Courbe d'évolution du poids (g) moyen des rats de chaque lot de l'étude 2.



jour de fin de mesure	poids moyen des rats (g)	poids poudre d'oignon consommée (g/jour/rat)	estimation en g/jour/kg de poids vif
J1	118	0,69	5,85
J3	125	0,5	4
J10	137,3	0,54	3,93
J17	147	0,43	2,93
J38	164,5	0,51	3,1
J52	173	0,52	3,01
J80	185	0,51	2,76

**Annexe 7.** Dans le cadre de l'étude 2.

Consommation moyenne (g) par jour en poudre d'oignon déshydratée des rats du lot OIG



**Annexe 8.** Dans le cadre de l'étude 2.

Courbe de consommation de la poudre d'oignon déshydratée(g) par les rats du lot OIG.

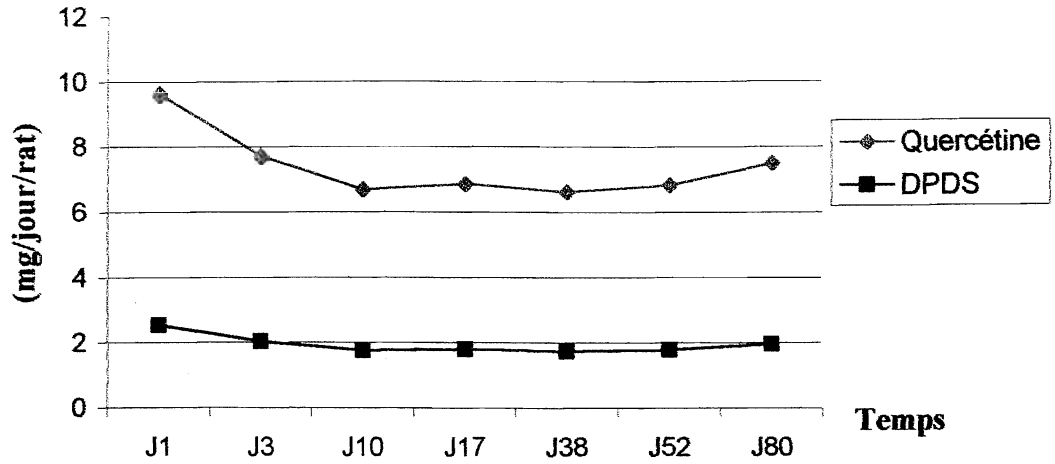
Jour de pesée	Poids moyen des rats(g)	quercétines (mg/jour/rat)	estimation en mg/jour/kg	DPDS (mg/jour/rat)	estimation en mg/jour/kg
J1	118,2	9,64	81,56	2,54	21,49
J3	126	7,73	61,35	2,04	16,19
J10	139,5	6,68	47,89	1,76	12,62
J17	148,5	6,87	46,26	1,81	12,19
J38	167	6,62	39,64	1,74	10,42
J52	174	6,83	39,25	1,8	10,34
J80	185	7,5	40,54	1,98	10,7

Jour de pesée	Poids moyen des rats(g)	rafitilose (g/jour/rat)	estimation en g/jour/kg
J1	118,2	0,46	3,89
J3	126	0,37	2,94
J10	139,5	0,32	2,29
J17	148,5	0,33	2,22
J38	167	0,32	1,92
J52	174	0,33	1,9
J80	185	0,36	1,95

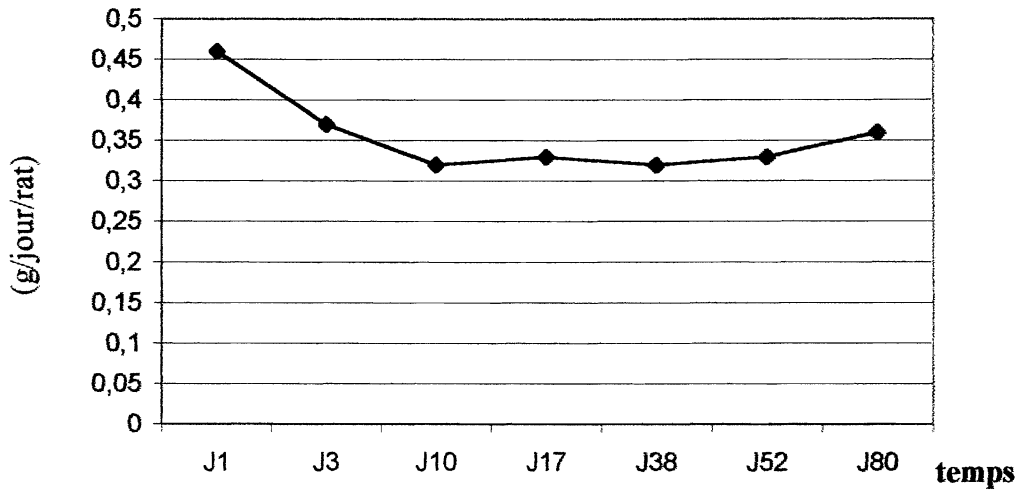
**Annexe 9.** Dans le cadre de l'étude 2:

Consommation moyenne par jour des rats du lot MIC de chaque type de microconstituant de leur régime: quercétines, dipropyle disulfide (DPDS) et rafitilose (cf. formulation du régime MIC sur le **Tableau 4** ).

**Consommation de quercétine et de DPDS au cours du test de "promotion"**



**Consommation de rafilose au cours du test de "promotion"**



**Annexe 10.** Dans le cadre de l'étude 2: représentations graphiques de la consommation moyenne des rats du lot MIC en microconstituants: quercétines, dipropyle disulfide (DPDS) et rafilose (cf. formulation du régime MIC sur le **Tableau 4** ).

# **BIBLIOGRAPHIE**

[AQS, 2001]

**1. AMIOT M.J., GOUPY P., CHAUMONTET C., LEBON A.M., SIESS M.H, SINGH V., TEYSSIER C., TACHE S., AUGER J., BERGES R., CORPET D., KAHANE R.** Projet AQS: Valeur santé de produits de transformation de l'oignon: évaluation des effets préventifs de la poudre d'oignon vis à vis de la cancérogenèse., 2001. Compte rendu de réunion.

[Bianchini, 2001]

**2. BIANCHINI F., VAINIO H.** Allium vegetables and organosulfur compounds: do they help prevent cancer? *Health Perspectives*, 2001; **109**:893-902.

[Bird, 1998]

**3. BIRD R.P.** Aberrant crypt foci system to study cancer preventive agents in the colon. Principles and guidelines. In: **HANAUSEK M., WALASZEK Z.** *Tumor marker protocols*. 1998, pp 465-474.

[Bjeldanes, 1977]

**4. BJELDANES L.F., CHANG G.W.** Mutagenic activity of quercetin and related compounds. *Science*, 1977; **197**: 577-578. Résumé Pubmed.

[Boutron-Ruault, 1999]

**5. BOUTRON-RUAULT M.C.** Alimentation et cancérogenèse colorectale: données récentes. *Gastroentérologie Clinique et Biologique*, 1999; **23**: B135-B141.

[Breivik, 2001]

**6. BREIVIK J.** Don't stop for repairs in a war zone: Darwinian evolution unites genes and environment in cancer development. *Proceeding of National Academy of Sciences of the USA*, 2001; **98**: 5379-5381.

[Breivik, 1999]

**7. BREIVIK J. and GAUDERNACK G.** Carcinogenesis and natural selection: a new perspective to the genetics and epigenetics of colorectal cancer. In: **VAN DE WOUDE G.F. and KLEIN G.** *Advances in Cancer Research*. Academic Press. 1999, pp 187-212.

[Caderni, 1995]

**8. CADERNI G., GIANNINI A., LANCIONI L., LUCERI C., BIGGERI A., DOLARA P.** Characterisation of aberrant crypt foci in carcinogen-treated rats: association with intestinal carcinogenesis. *British Journal of Cancer*, 1995; **71**: 763-769.

[Cai, 1997]

**9. CAI Q.Y., RAHN R.O., ZHANG R.W.** Dietary flavonoids, quercetin, luteolin and genistein, reduce oxidative DNA damage and lipid peroxidation and quench free radicals. *Cancer Letters*, 1997; **119**: 99-107.

[Cao, 1996]

**10. CAO G.H., SOFIC E et al.** Antioxydant capacity of tea and common vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1996; **44**: 3426-3431.

[Cats, 1996]

**11. CATS A., DE VRIES E.G.E., MULDER N.H., KLEIBEUKER J.H.** Regional differences of physiological functions and cancer susceptibility in the human large intestine (review). *International Journal of Oncology*, 1996; **9**: 1055-1069.

[Chang, 1984]

**12. CHANG W.W.L.** Histogenesis of colon cancer in experimental animals. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 1984; **19**: 27-43

[Chung, 2000]

**13. CHUNG F.L., CONAWAY C.C. et al.** Chemoprevention of colonic aberrant crypt foci in Fisher rats by sulforaphane and phenethyl isocyanate. *Carcinogenesis* , 2000 ; **21** : 2287-2291.

[Ciqual, 1990]

**14. FEINBERG M., FAVIER J.C., FRELAUD J.** Base de donnée sur la composition des aliments: CIQUAL, 1990.

[Corpet, 2002]

**15. CORPET D.E.** (page consultée le mardi 19 mars 2002). Adresse URL : <http://corpet.free.fr>

[Corpet, 1996]

**16. CORPET D.E.** Expérimentation animale en nutrition et cancérogenèse. *Revue de Médecine Vétérinaire* , 1996 ; **147** : 175-180.

[Deschner, 1993]

**17. DESCHNER E.E., RUPERTO J.F., WONG G.Y., NEWMARK H.L.** The effect of dietary quercetin and rutin on AOM-induced acute colonic epithelial abnormalities in mice fed a high-fat diet. *Nutrition and Cancer* , 1993 ; **20** : 199-204.

[De Wind, 1998]

**18. DE WIND N., DEKKER M., VAN ROSSUM A., VAN DER VALK M., TE RIELE H.** Mouse models for hereditary non polyposis colorectal cancer. *Cancer Research* , 1998 ; **58** : 248-255.

[Dos Santos, 1999]

**19. DOS SANTOS S.I.** Epidémiologie du cancer: principes et méthodes. Lyon: Centre International de Recherche sur le Cancer, 1999, pp 89-109.

[Fenoglio-Preiser, 1999]

**20. FENOGLIO-PREISER C.M., NOFFSINGER A.** Aberrant crypt foci: a review. *Toxicologic Pathology* , 1999 ; **27** : 632-642.

[Fleischauer, 2001]

**21. FLEISCHAUER A.T., ARAB L.** Garlic and cancer: a critical review of the epidemiologic literature. *Journal of Nutrition* , 2001 ; **131** : 1032-1040.

[Fodde, 1999]

**22. FODDE R., SMITS R., HOFLAND N., KIELMAN M., MEERA KHAN P.** Mechanisms of APC-driven tumorigenesis: lessons from mouse models. *Cytogenetics and Cell Genetics* , 1999 ; **86**: 105-111.

[Guyonnet, 2001]

**23. GUYONNET D., PINNERT M.F., BERGES R., SUSCHETET M., SIESS M.H., LEBON A.M.** Effets de composés soufrés de l'ail sur la phase de promotion tumorale chez le rat. 2<sup>ème</sup> réunion scientifique du réseau NACRe. PARIS, 4-5 octobre 2001 ; 33, équipe 05.

[Hertog, 1995]

**24. HERTOOG M.G.L. et al.** Flavonoïdes et risque de maladie coronaire et de cancer: Seven countries study. *JAMA* , 1995 ; **20** : 14-17.

[Hollman , 1999]

**25. HOLLMAN P.C.H., KATAN M.B.** Dietary flavonoïdes: intake, health effects and bioavailability. *Food and Chemical Toxicology* , 1999 ; **37** : 937-942.

[Inserm, 1998]

**26.** Statistiques de l'Inserm. In: **MURPHY G.P., LAWRENCE Jr W., LENHARD Jr R.E.** Les douzes principaux cancers. *Pour la Science* , 1998 ; **229** : 100.

[Johnson, 1999]

**27.** **JOHNSON I.** Antioxydants et anticancéreux. *Biofutur* , 1999 ; **186** : 14-17.

[Kaderlik, 1994]

**28.** **KADERLIK K.R., MINCHIN R.F., MULDER G.J., ILETT K.F., DAUGAARD-JENSON M., TEITEL C.H., KADLUBAR F.F.** Metabolic activation pathway for the formation of DNA adducts of the carcinogen 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) in rat extrahepatic tissues. *Carcinogenesis* , 1994 ; **15** : 1703-1709.

[Kato, 2000]

**29.** **KATO T., MICHIKOSHI K., MINOWA Y., KIKUGAWA K.** Mutagenicity of cooked hamburger is controlled delicately by reducing sugar content in ground beef. *Mutation Research* , 2000 ; **471** : 1-6.

[Kato, 1998]

**30.** **KATO T., MICHIKOSHI K., MINOWA Y., MAEDA Y., KIKUGAWA K.** Mutagenicity of cooked hamburger is reduced by addition of onion to ground beef. *Mutation Research* , 1998 ; **420** : 109-114.

[Kinzler, 1996]

**31.** **KINZLER K.W., VOGELSTEIN B.** Lessons from hereditary colorectal cancer. *Cell* , 1996 ; **87** : 159-170.

[Knight, 2000]

**32.** **KNIGHT A.P., LASSEN D., McBRIDE T., MARSH D., KIMBERLING C., DELGADO M.G., GOULD D.** Adaptation of pregnant ewes to an exclusive onion diet. *Veterinarian and Human Toxicology* , 2000; **42**: 1-4. Résumé Pubmed.

[Krstic, 1991]

**33.** **KRSTIC R.V.** Human microscopic anatomy an atlas for students of medicine and biology. Berlin: Springer-Verlag, 1991, pp 21.

[Kuo, 1996]

**34.** **KUO S.M.** Antiproliferative potency of structurally distinct dietary flavonoids on human colon cancer cells. *Cancer Letters* , 1996 ; **110** : 41-48.

[O'Gara, 2000]

**35.** **O'GARA E.A., HILL D.J., MASLIN D.J.** Activities of garlic oil, garlic powder and their diallyl constituents against *Helicobacter pylori*. In: *Applied and environmental microbiology*. American Society for Microbiology , 2000 ; **66** : 2269-2276.

[Parnaud, 2001]

**36.** **PARNAUD G., TACHE S., PEIFFER G., CORPET D.E.** Pluronic F68 block polymer, a very potent suppressor of carcinogenesis in the colon of rats and mice. *British Journal of Cancer* , 2001 ; **84**: 90-93.

[Paulsen, 2000]

**37.** **PAULSEN J.E.** Modulation by dietary factors in murine FAP models. *Toxicology Letters* , 2000 ; **112-113** : 403-409.

[Potter, 1997]

**38.POTTER J.D.** Colorectal cancer: epidemiology.

In: **BERTINO J. R.** *Encyclopedia of cancer*. New York: Academic Press, 1997, **1** : 441-450.

[Preclaire, 1996]

**39.PRECLAIRE M.** Initiation et promotion des microadénomes du côlon du rat par un additif gélatifiant alimentaire: le carraghénane K. Th. : Med.vet.: Toulouse : 1996-TOU 3, **4077**.

[Reddy, 1997]

**40.REDDY B.S., HAMID R., RAO C.V.** Effect of dietary oligofructose and inulin on colonic preneoplastic aberrant crypt foci inhibition. *Carcinogenesis*, 1997 ; **18** : 1371-1374.

[Reddy, 1993]

**41.REDDY B.S., RAO C.V. et al.** Chemoprevention of colon carcinogenesis by organosulfur compounds. *Cancer Research*, 1993 ; **53** : 3493-3498.

[Roberfroid, 1998]

**42.ROBERFROID M.B. and DELZENNE N.M.** Dietary fructans. *Annual Reviews of Nutrition*, 1998 ; **18** : 117-143.

[Rowland, 1998]

**43.ROWLAND I.R., RUMNEY C.J., COUTTS J.T., LIEVENSE L.** Effect of *Bifidobacterium longum* and inulin on gut bacterial metabolism and carcinogen induced aberrant crypt foci in rats. *Carcinogenesis*, 1998 ; **2** : 281-285.

[Sato, 2000]

**44.SATO T., MIYATA G.** The nutraceutical benefit, part IV : Garlic. *Nutrition*, 2000 ; **16** : 787-788.

[Shamsuddin, 1990]

**45.SHAMSUDDIN A.M.** Normal and pathological anatomy of the large intestine. *Colon Cancer Cells*, 1990 ; **2** : 15-40.

[Sivam, 1997]

**46.SIVAM G.P., LAMPE J.W., ULNESS B., SWANZY S.R., POTTER J.D.** Helicobacter pylori - In vitro susceptibility to garlic (*Allium sativum*) extract. *Nutrition and Cancer*, 1997 ; **27** : 118 - 121.

[Sohn, 2001]

**47.SOHN O.S., FIALA E.S., REQUEIJO S.P., WEISBURGER J.H., GONZALEZ F.J.** Differential effects of CYP2E1 status on the metabolic activation of the colon carcinogens azoxymethane and methylazoxymethanol. *Cancer Research*, 2001 ; **61** : 8435-8440.

[Sparnins, 1988]

**48.SPARNINS V.L., BARANY G., WATTENBERG L.W.** Effects of organosulfur compounds from garlic and onions on benzo(a)pyrene - induced neoplasia and glutathione S-transferase activity in the mouse. *Carcinogenesis*, 1988 ; **9** : 131-134.

[Stavric, 1994]

**49.STAVRIC B.** Role of chemopreventers in human diet. *Clinical Biochemistry*, 1994 ; **27** : 319-332



[Steinmetz, 1993]

**50. STEINMETZ K.A., POTTER J.D.** Food-group consumption and colon cancer in the Adelaide case-control study. I. Vegetables and fruit. *International Journal of Cancer* , 1993 ; **53** : 711-719.

[Sugimura, 2000]

**51. SUGIMURA T.** Nutrition and dietary carcinogens. *Carcinogenesis* , 2000 ; **21** : 387-395.

[Sugimura, 1999]

**52. SUGIMURA T., NAGAO M., WAKABAYASHI K.** How we should deal with unavoidable colon exposure of man to environmental mutagens : cooked food mutagen discovery, facts and lessons for cancer prevention. *Mutation Research* , 2000 ; **447** : 15-25.

[Sumiyochi, 1990]

**53. SUMIYOCHI H., WARGOVICH M.J.** Chemoprevention of 1,2-Dimethylhydrazine induced cancer in mice by naturally occurring organosulfur compounds. *Cancer Research* , 1990 ; **50** : 5084-5087.

[Takayama, 1998]

**54. TAKAYAMA T., KATSUKI S., TAKAHASHI Y. et al.** Aberrant crypt foci of the colon as precursors of adenoma and cancer. *New England Journal of Medicine* , 1998 ; **339** : 1277-1284.

[Taper, 2000]

**55. TAPER H.S., ROBERFROID M.B.** Inhibitory effect of dietary inulin or oligofructose on the development of cancer metastases. *Anticancer Research* , 2000 ; **20** : 4291-4294.

[Taper, 1998]

**56. TAPER H.S., LEMORT C., ROBERFROID M.B.** Inhibition effect of dietary inulin or oligofructose on the growth of transplantable mouse tumor. *Anticancer Research* , 1998 ; **18** : 4123-4126

[Tudek, 1989]

**57. TUDEK B., BIRD R.P., BRUCE W.R.** Foci of aberrant crypts in the colons of mice and rats exposed to carcinogens associated with foods. *Cancer Research* , 1989 ; **49** : 1236-1240.

[Van Loo, 1999]

**58. VAN LOO J., CUMMINGS J., DELZENNE N., ENGLYST H., FRANCK A., HOPKINS M., KOK N., MACFARLANE G., NEWTON D., QUIGLEY M., ROBERFROID M., VAN VLIET T., VAN DEN HEUVEL E.** 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.

[WCRF, 1997]

**59. POTTER J.D. et al** Food, nutrition and the prevention of cancer: a global perspective. World Cancer Research Fund / American Institute for Cancer Research, 1997. pp 670.

[WCRF, 2002]

**60. POTTER J.D. et al** Food, nutrition and the prevention of cancer: a global perspective. World Cancer Research Fund / American Institute for Cancer Research, 2002, compte rendu de rapport.

[You, 1989]

**61. YOU W.C., BLOT W.J., CHANG Y.S., ERSHOW A., YANG Z.T., AN Q., HENDERSON B.E., FRAUMENI J.F Jr., WANG T.G.** Allium vegetables and reduced risk of stomach cancer. *Journal of National Cancer Institution* , 1989 ; **81** : 162-164.



TOULOUSE, 2002  
NOM : LADAM

PRENOM : Aclis

TITRE :

**L'oignon protège-t-il le rat contre la cancérogenèse du côlon ? Effet sur les foyers de cryptes aberrantes.**

RESUME :

De nombreux aliments d'origine végétale sont associés à une diminution du risque de cancer colorectal. C'est l'oignon qui nous a intéressés dans cette étude. Après avoir présenté les données actuelles sur les relations entre l'alimentation et le cancer, puis sur les propriétés de l'oignon, et celles de certains de ses constituants, cette thèse présente une étude expérimentale. Celle-ci a permis de vérifier l'hypothèse d'un rôle protecteur de l'oignon contre la cancérogenèse colique chez le rat.

Dans une première expérience, nous avons testé l'effet d'un régime à 5% de poudre d'oignon déshydraté sur l'initiation de lésions pré-cancéreuses, les foyers de cryptes aberrantes (ACF). Ce régime a fait effectivement diminuer le nombre d'ACF total et le nombre de cryptes par ACF chez les rats lors d'initiation par l'azoxyméthane. Le régime contenant de l'oignon a également fait diminuer le nombre de cryptes par ACF chez les rats lors d'initiation par la 2-amino-3-méthyl-3H-imidazo-[4,5-f]-quinoline.

Dans une deuxième expérience, nous avons testé chez le rat l'effet d'un régime à 5% de poudre d'oignon déshydraté, d'un régime à 5% d'un mélange de microconstituants de l'oignon, et d'un régime à 1% de pluronic F68, un polymère protecteur, sur la promotion des ACF initiés par l'azoxyméthane. Les résultats ont été significatifs :

- le nombre total d'ACF a été réduit chez les rats ayant consommé le régime à base d'oignon.
- le nombre de cryptes par ACF a été réduit chez les rats ayant consommé le régime à base de pluronic.
- Le nombre de gros ACF, de quatre cryptes et plus, a été réduit chez les rats traités par les trois régimes (oignon, microconstituants et pluronic) par rapport aux rats témoins.

L'oignon a donc bien un rôle protecteur sur les phases d'initiation et de promotion de la cancérogenèse colique chez le rat, et semble donc intéressant dans le cadre d'un régime équilibré pour prévenir le cancer du colon chez l'Homme.

MOTS-CLES : alimentation – cancérogenèse – côlon – rat – oignon

ENGLISH TITLE : Does Onion Prevent Colon Carcinogenesis in Rats ? Effect on Aberrant Crypt Foci.

ABSTRACT :

The intake of vegetables is associated with a lower risk of colorectal cancer. In this study, we have focused on the protective effect of onion. After a review of the links between diet and cancers, and a review on the properties of onion and onion components (phytochemicals), we report our experimental study on the prevention of colon carcinogenesis in rats by onion.

In a first part, we tested the effect of a 5% onion dehydrated powder diet on preneoplastic lesions in the colon, the aberrant crypt foci (ACF). Actually, the number of ACF and the number of crypts by ACF were lower in onion-fed rats than in controls when lesions were initiated by azoxymethane. Moreover, the number of ACF was also lower in onion-fed rats than in controls, when lesions were initiated by 2-amino-3-méthyl-3H-imidazo-[4,5-f]-quinolin.

In a second part, we have tested in rats the effect of four diets : a control AIN76 diet, a 5% onion dehydrated powder diet, a 5% onion phytochemicals diet and a 1% pluronic F68, a protective polymer, diet, on ACF promotion after ACF initiation by azoxymethane. The results were significant :

- the number of ACF was reduced in onion-fed rats.
- the number of crypts by ACF was reduced in rats with the pluronic diet.
- the number of large ACF, with four or more crypts, was reduced in rats treated with the three diets (onion, phytochemicals and pluronic).

In conclusion, an onion-diet may help to prevent colon carcinogenesis during initiation and promotion phases.

KEY WORDS : food – carcinogenesis – colon – rat – onion.