

Espèces oxygénées activées, antioxydants et cancer

J Pincemail^{1,2}, M Meurisse³, R Limet¹, JO Defraigne^{1,2}

Mots-clés: antioxydant - cancer - rétinol - sélénium - stress oxydatif - vitamine C - vitamine E - β -carotène

Implication des espèces oxygénées activées dans le développement du cancer

Le cancer se présente habituellement comme une tumeur formée d'une masse cellulaire qui est l'aboutissement d'une série de transformations pouvant se dérouler sur une période de plusieurs années. La cancérogenèse est donc un processus complexe multi-séquentiel menant une cellule de l'état sain à un état précancéreux et, finalement, à un stade précoce de cancer. Le développement du cancer se divise en trois grandes étapes (initiation, promotion et progression) dans lesquelles le stress oxydatif est impliqué.

L'étape d'initiation débute lorsque des agents chimiques carcinogènes se fixent sur l'acide désoxyribonucléique (ADN). Des lésions peuvent également se produire sous l'effet de radiations ionisantes ou de rayonnements ultraviolets. Dans ce cas, les espèces oxygénées activées (EOA), dont font partie les radicaux libres et l'oxygène singulet (1), jouent un rôle important dans l'altération du matériel génétique des cellules. Comme le montre la figure 1, le radical hydroxyle s'attaque à la guanine, base purique constitutive de l'ADN, qui se transforme en 8 hydroxy-2' déoxyguanosine (2). Ceci a comme conséquence l'apparition d'une mutation au niveau de l'ADN (Figure 1). L'oxygène singulet réagit aussi avec la guanine pour former un autre dérivé oxydé, la 8-oxo-7, 8-dihydroguanine. Les EOA peuvent aussi agir comme messagers secondaires (3) en modifiant dans la cellule la régulation rédox du glutathion (GSH) qui est un agent antioxydant important. Il en résulte une activation de la thiorédoxine (TRX) qui active le facteur de transcription qu'est le NF- κ B normalement dans un état inactif dans le cytoplasme. Une fois activé, le NF- κ B migre dans le noyau de la cellule où il peut transactiver des gènes cibles. Il participe de la sorte à la synthèse de nombreux médiateurs comme des protéines d'adhésion impliquées dans le processus du développement du cancer (Figure 2).

La promotion est un processus pouvant se prolonger pendant plusieurs décades au cours duquel la cellule initiée se transforme en cellule pré-néoplasique. La promotion peut se produire spontanément ou être induite par un promoteur tumoral comme les lipides alimentaires, les hormones ou même une inflammation (une source importante de production d'EOA). Ces facteurs vont permettre le maintien du caractère immortel de la cellule lors de sa multiplication. Les cellules pré-néoplasiques ont une apparence externe modifiée, perdent leur fonction originale, et se différencient en adoptant de nouvelles propriétés.

Résumé

Les espèces oxygénées activées (EOA) dont font partie les radicaux libres et l'oxygène singulet, jouent un rôle important dans l'altération du matériel génétique des cellules.

Expérimentalement, les antioxydants présentent des activités anticancéreuses non seulement en piégeant les EOA mais aussi en augmentant la réponse immunitaire, en stimulant les gènes inhibiteurs du cancer, en diminuant l'expression d'oncogènes ou en inhibant l'angiogenèse des tumeurs.

Les différentes études fondamentales et épidémiologiques renforcent l'hypothèse selon laquelle le stress oxydatif est directement impliqué dans l'apparition du cancer. De très nombreuses études épidémiologiques suggèrent qu'une alimentation en fruits et/ou en légumes riches en antioxydants est associée à une réduction du risque de développer différents types de cancer. Une étude récente a montré que des sujets sains consommant une formulation alimentaire pauvre en acides gras polyinsaturés mais riche en vitamine E présentaient un ADN mieux protégé contre le stress oxydatif que celui d'autres sujets sains consommant une formulation riche en acides gras polyinsaturés mais pauvre en vitamine E, propice dans le développement de certains cancers comme celui du sein chez les femmes.

Dans de futures investigations, il sera impératif d'évaluer différents biomarqueurs sanguins ou urinaires de l'oxydation de l'ADN et de corréler ceux-ci avec l'apparition de la maladie.

La dernière phase de propagation (progression) au cours de laquelle les cellules pré-néoplasiques évoluent en cellules néoplasiques ou cancéreuses correspond à un emballement du processus tumoral dû à l'incapacité de l'organisme de reconnaître comme anormales les cellules cancéreuses, à la persistance du facteur causal ou à des perturbations dans les mécanismes de défense (systèmes de réparation de l'ADN permettant, par exemple, l'excision des bases oxydées) induites par une augmentation du stress oxydatif. Une fois formées, les tumeurs malignes constituées d'un nombre considérable de cellules peuvent envahir les tissus avoisinants ou essaimer vers d'autres organes et former des tumeurs secondaires appelées métastases.

1. Service de Chirurgie Cardiovasculaire, ULg

2. CREDEC, Tour de Pathologie, ULg

3. Service de Transplantation, ULg

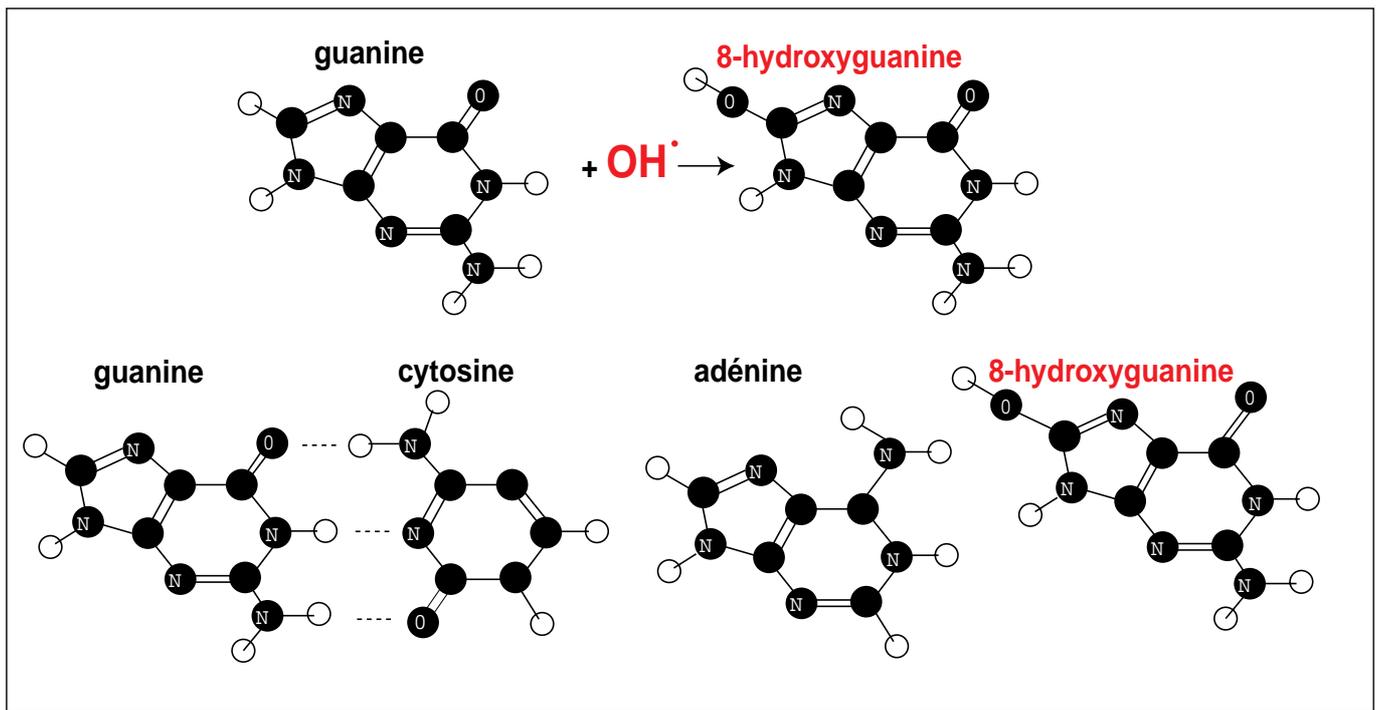


Figure 1: Effet de l'attaque du radical hydroxyle (OH^\bullet) sur la guanine, base constitutive de l'ADN.

Au cours de la réplication de celui-ci, la guanine s'associe normalement avec la cytosine. Par contre, la guanine oxydée (8 hydroxy-2'déoxyguanosine) se fixe avec une autre base purique, en l'occurrence l'adénine, ce qui provoque une mutation G(uanine)-T(hymine) dans le brin fille de l'ADN.

Marqueurs biologiques d'un stress oxydatif et cancer

De très nombreuses études indiquent que les patients cancéreux présentent un déficit en antioxydants en comparaison à des sujets sains. Dans une étude portant sur 235 femmes américaines, des taux sanguins diminués en β -carotène, lycopène, rétinol et vitamine E ont été observés chez des sujets présentant une néoplasie intraépithéliale cervicale ou un cancer du cerveau, par comparaison à des sujets en bonne santé (4). Comme le montre le tableau 1, d'autres travaux ont permis de mettre en évidence la présence d'un statut antioxydant sanguin fortement altéré chez des patients atteints d'un cancer au poumon (5). La figure 3 est l'exemple d'une des innombrables études épidémiologiques montrant, sans toutefois le démontrer de manière formelle, qu'il existe une association entre des taux sanguins faibles en antioxydants et un risque accru de développer un cancer (6).

La détection des modifications chimiques des bases constitutives de l'ADN est une technique qui prend de plus en plus d'essor dans la mise en évidence d'un stress oxydatif dans le processus de développement du cancer. Récemment, des chercheurs britanniques ont validé la méthode "Comet" (7) qui permet de mesurer en routine des dommages oxydatifs au niveau de l'ADN de lymphocytes humains.

Ils ont pu ainsi observer que des ouvriers mis en contact tous les jours avec des produits carcinogènes dans une usine de traitement du caoutchouc présentaient une oxydation de leur ADN lymphocytaire de deux à trois fois plus élevée que celle du personnel purement administratif de cette même entreprise (8). Actuellement, il est possible de déterminer la 8 hydroxy-2'déoxyguanosine par une technique immunologique (Elisa) très simple d'utilisation soit dans le plasma (marqueur de l'oxydation) ou dans l'urine (marqueur de la présence de réparation de l'ADN).

Tableau 1: Comparaison du statut antioxydant chez des sujets sains (n = 76) et chez des patients atteints d'un cancer du poumon (n = 57).

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm écart type. PAG: pouvoir antioxydant global.

	Sujets sains	Patients cancéreux	p
PAG du plasma ($\mu\text{mol/l}$)	1.273 \pm 199	1.143 \pm 181	p = 0,0002
Vitamine E ($\mu\text{mol/l}$)	33,8 \pm 9,5	25,0 \pm 9,8	p < 0,0001
Vitamine C ($\mu\text{mol/l}$)	46,5 \pm 18,4	34,0 \pm 19,5	p < 0,0003

Adapté de Erhola et al. Free Rad Res 1997; 26: 439-47.

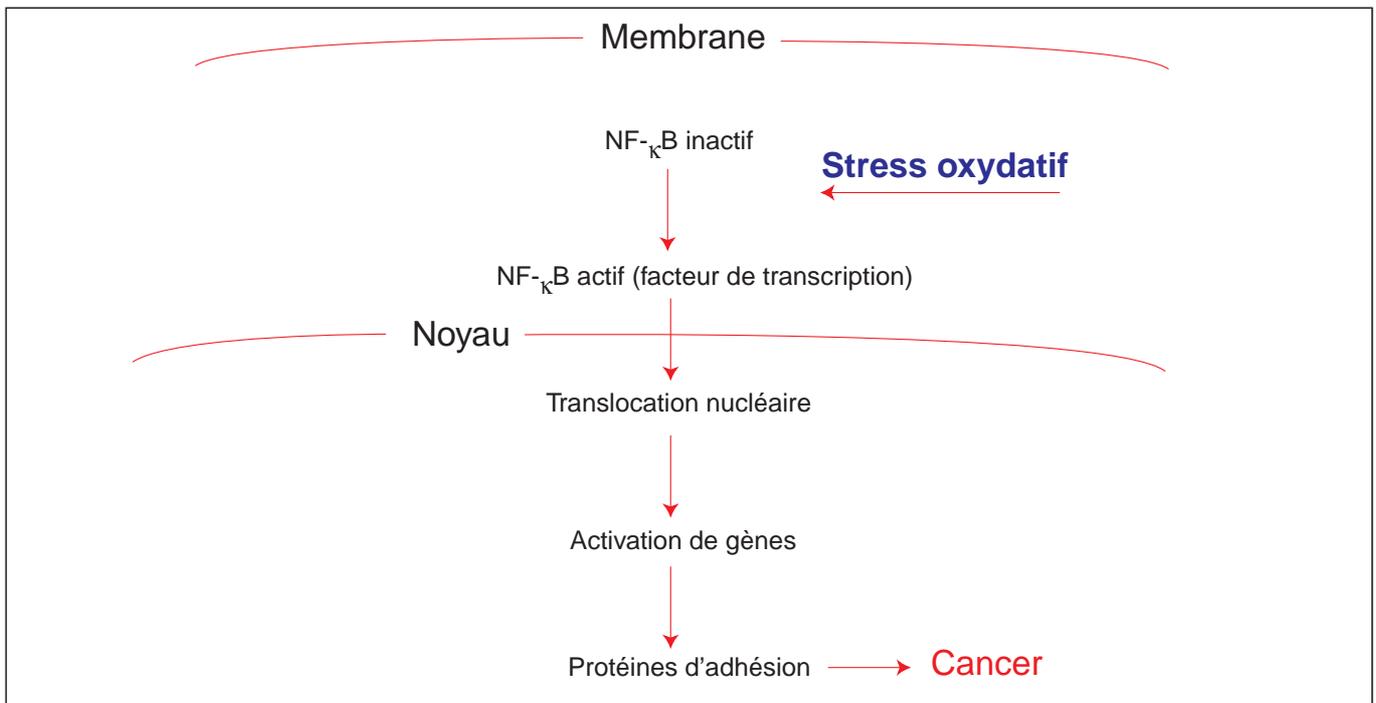


Figure 2: Induction de la cancérogenèse via l'activation du facteur transcriptionnel $NF-\kappa B$ induite par le stress oxydatif

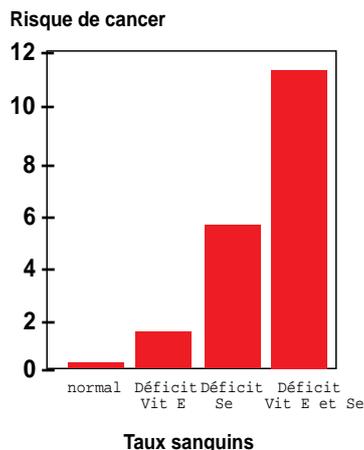
Antioxydants et prévention du cancer

Si l'hypothèse de l'implication des espèces oxygénées activées dans le développement du cancer est fondée, il est dès lors logique de penser qu'une prévention de cette maladie puisse être apportée par la prise régulière d'antioxydants (9-10).

Expérimentalement, il est bien prouvé que les antioxydants présentent des activités anticancéreuses non seulement en piégeant les EOA mais aussi en augmentant la réponse immunitaire, en stimulant les gènes récessifs du cancer, en diminuant l'expression d'oncogènes ou en inhibant l'angiogénèse des tumeurs (11). Des recherches sur cultures de cellules cancéreuses ont montré que le sélénium (un cofacteur de la glutathion peroxydase) diminue le nombre de mitoses de ces cellules. Les caroténoïdes (rétinol, β -carotène) semblent agir en stimulant la différenciation cellulaire et en augmentant l'apoptose (mort cellulaire programmée) des cellules néoplasiques. L'utilisation de la technique "Comet" a permis de montrer qu'un complément journalier combiné de vitamine C (100mg), vitamine E (280mg) et de β -carotène (25mg) chez les hommes permettait au bout de 20 semaines de traitement de diminuer significativement les dégâts oxydatifs de l'ADN lymphocytaire en comparaison à un groupe placebo ne recevant aucun apport complémentaire en antioxydants (12). Nous voudrions ici attirer l'attention du lecteur sur une publication récente dans *Nature* montrant que la vitamine C ingérée à raison de 500mg augmentait de manière importante l'oxydation de l'adénine (mais pas de la guanine) et suggérant donc qu'elle aurait un effet défavorable (13). Les scientifiques ont sérieusement critiqué cette conclusion en mettant en doute la procédure d'extraction de l'ADN des lymphocytes utilisée dans cette étude. Ces observations sont donc plus le reflet d'une oxydation par artéfact lors de la manipulation que d'un effet réel de la vitamine C (14).

De très nombreuses études épidémiologiques suggèrent qu'une alimentation en fruits et/ou en légumes riches en antioxydants est associée à une réduction du risque de développer différents types de cancer (15). Par contre, les études d'intervention avec des antioxydants (vitamines C et E, β -carotène, rétinol, sélénium) donnent des résultats assez contradictoires, et ceci même au sein d'une même étude. Dans une population chinoise de 29.584 personnes, l'étude Linxian a montré, par rapport à un groupe placebo, une réduction de 21% et de 42% de l'incidence des cancers de l'estomac et de l'œsophage chez des sujets prenant chaque jour 15mg de β -carotène, 50 μ g de sélénium et 30mg de vitamine E sur une période de 5,25 ans (16). Par la suite, des résultats moins encourageants furent observés. L'étude finlandaise *Alpha-Tocopherol, Beta-Carotene Cancer Prevention Study* menée sur une population de 29.133 fumeurs de sexe masculin a montré qu'un apport journalier de 20mg de β -carotène pendant une période de 5 à 8 ans était associé avec une augmentation très nette de cancer du poumon à issue fatale (17). Une autre analyse des résultats de cette étude indique toutefois que l'ingestion de vitamine E seule (50mg) peut réduire de manière substantielle (41%) l'incidence du cancer de la prostate tandis que l'absorption régulière de β -carotène (20mg) provoque en revanche une augmentation de 23% de l'incidence de ce même cancer (18). Par contre, la *Physicians' Health Study* menée sur 22.071 médecins dont 50% n'avaient jamais fumé, ne confirme pas cet effet négatif du β -carotène mais ne montre toutefois aucun effet bénéfique pour un apport complémentaire de 50mg en β -carotène pris une fois tous les deux jours pendant 12 ans (19). Les résultats de la *Carotene Retinol Efficacy Trial* vont également dans ce sens (20). A la lueur de ces résultats, il apparaît que l'utilisation d'antioxydants et plus particulièrement du β -carotène à des doses largement supérieures aux apports journaliers recommandés n'est pas préconisée, du moins pour cette population à haut risque que représentent les fumeurs. Dans une étude multicentrique randomisée en

Figure 3: Relation entre les taux sanguins en antioxydants et le risque de cancer observée dans une population de 12.000 Finlandais



Adapté de Salonen JT et al. Br Med J 1985; 290: 417-20

double-aveugle, des chercheurs américains ont récemment constaté une réduction de 63% des cas de cancer de la prostate, 58% des cas de cancer colorectal et 46% des cas de cancer du poumon chez des personnes prenant chaque jour une dose de 200µg de sélénium (21).

Tous ces résultats qui semblent discordants peuvent s'expliquer par le type de population étudiée (sujets à haut risque (fumeurs) ou à faible risque), les différences dans les doses utilisées (largement supérieures ou égales aux apports journaliers recommandés), le nombre d'antioxydants associés (un, deux, ou plus) ainsi que la combinaison d'antioxydants utilisés.

Conclusions

Il est clair que le rôle des EOA n'est qu'un maillon de la chaîne pouvant expliquer la genèse du cancer. Actuellement, il est toutefois difficile de savoir quelle est son importance réelle dans ce processus pathologique. Les travaux menés en recherche fondamentale mais aussi de nombreuses études épidémiologiques renforcent de plus en plus l'hypothèse selon laquelle le stress oxydatif est directement impliqué dans l'apparition du cancer. Seules de grandes

études d'intervention du type SUVIMAX (22) permettront aux chercheurs de confirmer si le renforcement de notre défense antioxydante par une alimentation riche en fruits ou par un apport exogène en antioxydants à des doses appropriées sera susceptible ou non de réduire l'incidence du cancer. L'étude des effets potentiels d'autres antioxydants comme les flavonoïdes présents en grande quantité dans le vin rouge et le thé méritera aussi une attention toute particulière. Dans ces futures investigations, il sera impératif d'évaluer différents biomarqueurs sanguins ou urinaires de l'oxydation de l'ADN et de corrélérer ceux-ci avec l'apparition de la maladie. Un premier pas a été fait dans cette direction avec un travail récent (23) montrant que des sujets sains consommant une formulation alimentaire pauvre en acides gras polyinsaturés mais riche en vitamine E présentaient un ADN mieux protégé contre le stress oxydatif que celui d'autres sujets sains consommant une formulation riche en acides gras polyinsaturés mais pauvre en vitamine E. Il est bien démontré que ce dernier type d'alimentation est propice dans le développement de certains cancers comme celui du sein chez les femmes (24).

Références

1. Medi-Sphere 1998; 83: 23-7.
2. Poulsen HE et al. Eur J Cancer Prev 1998; 7: 9-16.
3. Palmer HJ, Paulson KE. Nutr Rev 1997; 55: 353-61.
4. Palan PR. Clin Cancer Res 1996; 2: 181-5.
5. Erhola M et al. Free Rad Res 1997; 26: 439-47.
6. Salonen JT et al. Br Med J 1985; 290: 417-20.
7. Medi-Sphere 1999; 95: 30-4.
8. Collins A et al. Environ Mol Mutagen 1997; 30: 139-46.
9. Van Poppel G, van den Berg H. Cancer Lett 1997; 114: 195-202.
10. Hercberg S et al. Nutr 1998; 14: 513-20.
11. Shklar G. Oral Oncol 1998; 34:24-9.
12. Duthie SJ et al. Cancer Res 1996; 56: 1291-5.
13. Podmore ID et al. Nature 1998; 392: 559.
14. Levine M et al, Poulsen HE et al. Nature 1998; 395: 231-2.
15. Patterson RE et al. Cancer Causes Control 1997; 8: 786-802.
16. Taylor PR et al. Cancer Res 1994; 54: 2029S-31S.
17. Omenn GS. Annu Rev Public Health 1998; 19:73-99.
18. Heinonen OP et al. J Natl Cancer Inst 1998; 90: 440-6.
19. Hennekens CH et al. N Engl J Med 1996; 334:1145-9.
20. Omenn GS et al. N Engl J Med 1996; 334: 1150-5.
21. Clark LC. Br J Urol 1998; 81: 730-4.
22. Medi-Sphere 1998; 90: 7-11.
23. Chen L et al. Free Rad Biol Med 1999; 26: 695-703.
24. Djuric Z et al. J Natl Cancer Nutr 1991; 83: 766-9.