LES QUESTIONS TOXICOLOGIQUES
EXEMPLE DE L'IMPORTANCE DU CALCIUM ET DES POLYPHÉNOLS POUR COMBATTRE LA TOXICITÉ DE L'HÈME

par Fabrice **Pierre**[1]

Le cancer colorectal est la première cause de mort par cancer chez les non-fumeurs: en France, chaque jour, 100 personnes sont atteintes, 45 en meurent. L'épidémiologie suggère que les deux tiers des cas pourraient être prévenus par une meilleure alimentation (Cummings et al, 1998). Les méta-analyses montrent qu'une consommation de 120g de viandes rouges ou de 30 g de charcuteries par jour est associée à une augmentation du risque de 40% (WCRF 2011, Chan et al 2011). Sur cette base, en 2007 puis en 2011, le WCRF (World cancer Research Fund) a établi une recommandation forte et précise : limiter la consommation de viandes rouges, mais éviter de consommer des charcuteries.

Toutefois, plusieurs points limitent la portée de cette recommandation : (i) cette recommandation est basée sur des données épidémiologiques qui sont des observations mais pas des relations de cause à effet ; (ii) il existe une faible réceptivité du grand public à des messages d'évitement (en France, les comportements alimentaires changent difficilement et lentement), (iii) les conséquences nutritionnelles peuvent être importantes (bénéfice/risque) et (iv) les conséquences économiques d'une telle recommandation peuvent être majeures pour des filières d'intérêt national.

Ainsi, plutôt que d'étudier le seul risque associé à la consommation et de travailler sur la seule définition du seuil de consommation, les travaux de l'équipe « Prévention et Promotion de la Cancérogenèse par l'Alimentation » de l'UMR1331 ToxAlim, s'intéressent aux interactions nutritionnelles afin de définir des stratégies de prévention alimentaire alternative à la seule limitation de la consommation. Ces projets, qui ont été financés par l'ANR PNRA et ALIA, ont pour but d'améliorer la santé humaine (limiter le risque de cancer du côlon liée à la consommation de viandes rouges et charcuteries) tout en intégrant la notion de bénéfice risque (trouver une alternative à la limitation de la consommation pour profiter toujours de l'intérêt nutritionnel des produits à base de viande).

La première étape de ce projet a consisté à identifier l'agent, le nutriment responsable de l'effet promoteur des produits à base de viande. Sur cette base, il a été possible, dans un *deuxième temps* d'identifier des nutriments capables de s'opposer aux effets délétères de l'agent précédemment identifié.

1/ Identification du nutriment impliqué dans l'effet promoteur des produits à base de viande :

Méthodologie. Afin de comprendre pourquoi les produits à base de viande sont promoteurs du cancer du côlon, nous avons quantifié l'importance des étapes des procédés de fabrication de ces produits sur la carcinogenèse colorectale. Pour cela, les facteurs croisés 2 à 2 ont été:

Couleur muscle *x* Cuisson *x* Nitrites *x* Conservation

Les charcuteries ainsi obtenues ont été caractérisées (statut de peroxydation, contenu et type du fer héminique). Des rongeurs ont été alimentés avec ces charcuteries afin de mesurer l'impact sur des marqueurs fécaux et urinaires de toxicité (peroxydation, cytotoxicité, génétoxicité, nitrosation). Grâce à cette première étape, nous avons identifié les produits à base de viande les plus délétères.

L'effet de ces produits à base de viande, ainsi identifiés, a été évalué sur la carcinogenèse

[1] INRA UMR1331 ToxAlim, Toulouse, Équipe Prévention et Promotion de la Cancérogenèse par les Aliments

colorectale. Pour cela nous avons utilisé un modèle animal chimio-induit de carcinogenèse colorectale (rongeur chimio-induit). **Dans une troisième étape, ces produits à base de viande ont été testés chez des volontaires sains** chez lesquels nous avons suivi la modulation des marqueurs fécaux et urinaires de toxicité utilisés précédemment chez les rongeurs. Cette étape nous permet de valider, chez l'Homme, les résultats obtenus au niveau cellulaire et animal.

Résultats : L'épidémiologie a mis en évidence que la consommation de charcuterie est associée au risque de cancer du côlon. Ce projet a démontré pour la première fois que des viandes modèles riche en hème étaient promotrices de la carcinogenèse colorectale dans un modèle animal. Cette promotion, liée à la présence d'hème, s'accompagne d'une augmentation de marqueurs fécaux comme la peroxydation fécale et la formation de composés N-Nitrosés. Afin de valider ces résultats chez l'Homme, nous avons vérifié chez des volontaires sains que, comme dans le modèle animal, la consommation de produit à base de viande module les marqueurs fécaux.

Suite cette première étape de la cellule à l'homme, nous proposons que le contenu héminique des viandes (hémoprotéine dans les viandes, hème nitrosylé dans les charcuteries) est le principal responsable de l'effet promoteur sur la carcinogenèse colorectale.

La littérature étant riches de publications proposant d'autres agent pour expliquer l'effet promoteur des produits à base de viande nous avons mis en place un protocole associant deux modèles animaux de carcinogenèse colorectal (rats chimio-induit et souris *Min*) pour confronter les trois hypothèses expliquant l'effet promoteur des viandes : amines hétérocycliques, hème et composés N-nitrosés : cette première confrontation expérimentale des trois hypothèses proposées par l'épidémiologie a permis de conclure que l'hème au travers la peroxydation et nitrosations était l'agent principal pour expliquer l'effet promoteur et a ainsi conforter nos précédentes conclusions. Nous avons ensuite confirmé cet effet promoteur de l'hème au niveau épidémiologique grâce à une méta-analyse (Bastide et al 2011)

2/ Identification de stratégie de prévention nutritionnelle inhibant l'effet promoteur de l'hème :

Méthodologie. Une fois l'agent identifié (le fer héminique), il était nécessaire d'identifier des stratégies visant à limiter sa biodisponibilité (chélation de l'hème) ou visant à limiter à inhiber les réactions induites (génotoxicité, peroxydation, cytotoxicité). Comme pour l'étape 1 du projet, après un screen de nombreuses stratégies au niveau des biomarqueurs fécaux chez le rat, les stratégies les plus efficaces ont été testées chez le rat chimio-induit et enfin, ces mêmes stratégies ont été expérimentées chez les volontaires sains.

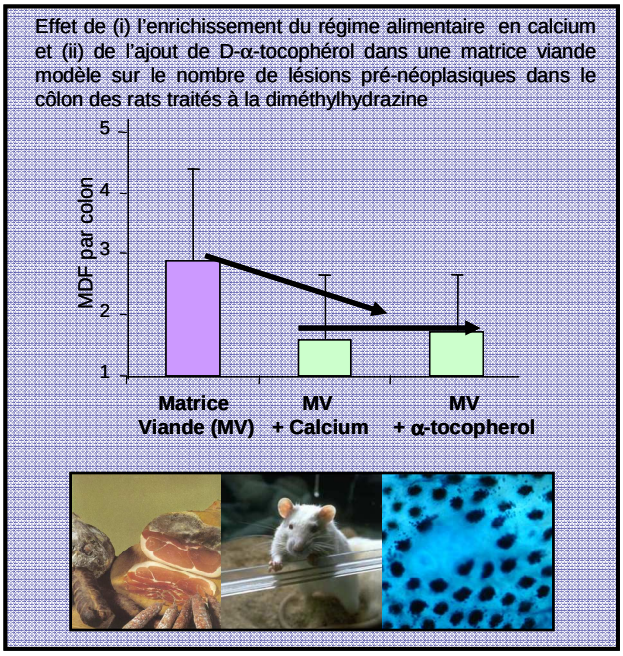
Résultats. Dès le début de cette étape du projet, compte tenu de la faible réceptivité du consommateur aux messages nutritionnel, nous avions envisagé deux approches :
-modifier le régime alimentaire (cad aboutir à une recommandation alimentaire) ou
-modifier le procédé de fabrication des produits à base de viande (pour définir une alternative à la recommandation alimentaire et ainsi profiter toujours de l'intérêt nutritionnel des produits à base de viande).

Deux suppléments alimentaires ont été testés : carbonate de calcium et inuline (respectivement chélation de l'hème par le calcium (Allam et al 2010) et inhibition de la génotoxicité induite par l'hème). Les résultats montrent que le calcium diminue la lipoperoxydation ainsi que la cytotoxicité des contenus coliques chez le rat. L'inuline ne diminue aucunement les biomarqueurs étudiés.

Les modifications du procédé qui ont été choisis visent à limiter la lipoperoxydation en intégrant des antioxydants/polyphenols durant le procédé de fabrication (acide carnosolique, D-□-tocopherol, rutine, curcumin, extrait de vin rouge). Toutes les modifications du process de fabrication ont diminué de manière significative les biomarqueurs fécaux et urinaires, mais seul le tocophérol a inhibé aussi la cytotoxicité. Suite à cette étape de screen, nous avons choisi les deux stratégies les plus efficaces, le calcium et le D-□-tocopherol.

Ce choix, nous permet de tester une stratégie par ajout dans le régime alimentaire (calcium) ou par modification du process de fabrication (D-□-tocopherol) et ainsi de tester deux hypothèses, chélation de l'hème (le calcium) et limitation de la peroxydation (D-□-tocopherol).

Nous avons ensuite démontré que ces deux stratégies limitaient la promotion de la carcinogénèse induite par la matrice modèle et que cette inhibition était corrélée à une limitation de la nitrosation. Ce résultat nous a permis d'identifier de potentielles stratégies de prévention alimentaire ou technologique.
Lors de l'intervention chez les volontaires sains avec le CRNH de Clermont Ferrand, nous avons pu démontrer que la modulation des biomarqueurs (lipoperoxidation et nitrosation) observée chez le rat avec les produits à base de viande ou régime modifiés était aussi observée chez l'Homme.



Conclusion

Les recommandations actuelles du WRVF sont de limiter (viande rouge) et éviter (charcuterie) la consommation des produits à base de viande pour limiter le risque de cancer du côlon.

Afin d'améliorer la portée et l'efficacité de ces recommandations et afin de pouvoir profiter de l'intérêt nutritionnel des produits à base de viande, nous avons démontré que

(i) l'effet promoteur des produits à base de viande était principalement expliqué par le contenu héminique. Ces résultats ont été observé du rat (carcinogenèse) jusqu'à l'Homme (modulation de biomarqueurs) ;

(ii) identifié des stratégies de prévention qui ne sont pas basée sur la limitation de la consommation mais sur la modification du régime alimentaire (calcium par exemple), ou sur la modification des process de fabrication (anaérobiose, nitrites, et D-□-tocopherol). Ces stratégies ont pour but de limiter soit la biodisponibilité soit l'activité catalytique de l'hème.

(iii) ces recommandations devraient permettre d'améliorer l'efficacité au près du grand publique en modifiant directement les procédés de fabrication (D-□-tocopherol dans les produits à base de viande).

Par rapport à la recommandation initiale du WCRF (limiter et/ou éviter consommation), nous proposons qu'il est possible de diminuer la promotion du cancer du côlon par les produits à base de viande en consommant des produits riches en calcium ou en modifiant leur procédé de fabrication.