

Acide alpha-linolénique, anti-oxydants et croissance tumorale mammaire

Alpha-linolenic acid, anti-oxidants and the growth of breast tumours

Oléagineux, Corps Gras, Lipides. Volume 7, Numéro 1, 64-7, Janvier - Février 2000, Dossier : actes des Journées Chevreul "Corps gras, nutrition et santé, questions d'actualité" (Bordeaux, Pessac)

Auteur(s) : Véronique CHAJES, Sophie COGNAULT, Virginie MAILLARD, Michelle PINAULT, Marie-Lise Jourdan, Claude LHUILLERY, Philippe BOUGNOUX, Laboratoire de biologie des tumeurs, EA 2103, Université François-Rabelais, 2 bis, bd Tonnellé, 37044 Tours Cedex.

Résumé : En France, comme dans la plupart des pays occidentaux, le cancer du sein est la première cause de mortalité, avec un nombre annuel de décès proche de 10 000. Chez les femmes, le cancer du sein est celui dont le taux d'incidence est le plus élevé dans la plupart des pays occidentaux. En France, il y a approximativement 35 000 nouveaux cas chaque année. Le taux d'incidence est de 80 pour 100 000 femmes/an. Il existe une disparité géographique dans les taux d'incidence du cancer du sein. Ils sont élevés dans tous les pays développés, à l'exception du Japon et de la Chine. Ajusté sur l'âge, il est le plus élevé aux États-Unis, et le plus bas en Chine, en Inde, au Japon. La France se situe à une position intermédiaire en Europe. L'incidence du cancer du sein est globalement plus faible dans les pays du Sud de l'Europe. Cette disparité géographique ne peut pas être expliquée uniquement par les facteurs génétiques. L'étude des populations migrantes, dont les taux d'incidence du cancer du sein se modifient pour atteindre celui du pays dans lequel elles migrent, a permis de mettre en évidence le rôle des facteurs environnementaux dans l'apparition du cancer du sein. Parmi ceux-là, la part de l'alimentation est estimée à environ 35 % (entre 20 à 60 %, en fonction du site du cancer) [1]. Il existe donc un réel potentiel de prévention du cancer du sein, sous réserve que les aliments protecteurs soient mis en évidence et que les nutriments responsables de ces effets protecteurs soient individualisés.

Summary : International variation in breast cancer incidence rates and the changes in incidence among migrant populations have indicated that breast cancer risk is influenced by environmental factors, in particular diet, and is therefore preventable. Data derived from animal experiments generally showed that diets high in n-3 polyunsaturated fatty acids (PUFA) inhibit mammary tumor growth and metastasis. Limited data is available on the relation of estimated dietary intake of n-3 PUFA to risk of breast cancer. We confronted adipose tissue fatty acid composition, as a reflect of long-term qualitative dietary intake of fatty acids, to the risk of metastasis in patients treated for breast cancer and we reported an inverse association between level of alpha-linolenic acid, essential fatty acid, and the development of metastasis, suggesting a protective effect of alpha-linolenic acid in the evolution of breast cancer. In two independent case-control studies conducted in women treated for breast tumours, we found an inverse association between alpha-linolenic acid in adipose fat and breast cancer risk, suggesting a protective effect of this fatty acid in the risk of the disease. In experiments performed in a model of chemically-induced rat mammary tumors, we examined the

role of alpha-linolenic acid and peroxidation processes on mammary tumor growth. We found that tumor growth was increased by a 15% linseed oil diet, rich in alpha-linolenic, in presence of antioxidant (vitamin E) while was decreased by alpha-linolenic acid in presence of a pro-oxidant system. These data show that the effect of alpha-linolenic acid on tumor growth is highly dependent on diet oxidative status. Further epidemiological and experimental studies are needed in order to identify the interaction of n-3 PUFA with anti- and pro-oxidative vitamins in the risk of breast cancer.

Keywords : breast cancer, n-3 polyunsaturated fatty acids, antioxidant.

ARTICLE

Acide alpha-linolénique, risque de cancer du sein et risque de métastases. Approche épidémiologique biochimique

Nous avons mené, à Tours, différentes études épidémiologiques biochimiques. Nous avons utilisé la teneur en acides gras du tissu adipeux mammaire obtenu au moment de la tumorectomie chez des patientes atteintes de tumeurs mammaires, en tant que reflet de leurs apports alimentaires qualitatifs passés. La relation au cancer du sein a été estimée sur le risque de cancer du sein (croissance tumorale dans la glande mammaire) et sur le risque de métastases du cancer du sein (croissance tumorale dans les sites extra-mammaires).

Acide alpha-linolénique et risque de métastases du cancer du sein

Dans une première étude, nous avons examiné la relation entre la teneur en acides gras du tissu adipeux mammaire de 121 patientes atteintes d'un carcinome mammaire invasif, non métastasé, et l'apparition de métastases [20]. La composition en acides gras du tissu adipeux a été déterminée. Sur un suivi moyen de 32 mois, 21 patientes ont développé des métastases. Nous avons confronté la teneur en acides gras du tissu adipeux mammaire à la survenue de métastases. Nous avons observé que les patientes ayant un taux bas d'acide alpha-linolénique dans le tissu adipeux (inférieur à la valeur médiane) ont un risque élevé d'apparition de métastases. En analyse multivariée, il est apparu que le taux d'acide alpha-linolénique était le meilleur marqueur prédictif de la survenue de métastases. Ces données ont permis de mettre en évidence un facteur prédictif de la survenue de métastases, qui se situe en dehors de la tumeur, et suggéraient un effet protecteur de l'acide alpha-linolénique au niveau de l'apparition de métastases.

Acide alpha-linolénique et risque de cancer du sein

Nous avons par la suite réalisé une étude cas-témoins, en comparant la teneur en acides gras du tissu adipeux mammaire des patientes atteintes de cancer du sein (cas) de l'étude précédente [20] à celle de 59 patientes, témoins hospitaliers, ayant une pathologie mammaire bénigne non proliférante (témoins). Nous avons réalisé une analyse multivariée, ajustée sur l'âge, le statut ménopausal et l'indice de masse corporelle. Les patientes (cas et témoins) ont été séparées en quartiles. Les patientes dans le plus haut quartile du taux d'acide alpha-linolénique avaient un risque relatif de 0,36 (intervalle de confiance = 0,12-1,02) en comparaison aux patientes dans le plus bas quartile ($p =$

0,026), suggérant un effet protecteur de l'acide alpha-linolénique au niveau du risque de cancer du sein [21]. Cette approche, complémentaire de celle utilisant l'apparition des métastases [20], confirme l'implication probable de l'acide alpha-linolénique dans la cancérogenèse mammaire.

Si l'acide alpha-linolénique est réellement impliqué dans le risque de cancer du sein, les implications qui découlent de cette observation sont très grandes. Il était donc important de s'assurer que le taux bas d'acide alpha-linolénique en relation avec un risque élevé de cancer du sein n'était pas la conséquence de biais méthodologiques. En effet, cette étude cas-témoins présentait un défaut conceptuel, puisqu'elle avait été réalisée en ajoutant des patientes témoins à une population de patientes atteintes de cancer du sein antérieurement sélectionnée pour une étude pronostique.

Nous avons réalisé une nouvelle étude cas-témoins, indépendante de la précédente, en sélectionnant une nouvelle population de patientes atteintes de tumeurs mammaires. Nous avons comparé la teneur en acides gras du tissu adipeux de 241 patientes atteintes de cancer du sein (cas) à celle de 88 patientes atteintes de pathologies mammaires bénignes (témoins). Nous avons réalisé une analyse multivariée ajustée sur l'âge, le statut ménopausal et l'indice de masse corporelle. Nous avons observé que les patientes dans le plus haut tertile du taux d'acide alpha-linolénique avaient un risque de 0,43 (intervalle de confiance = 0,22-0,84) en comparaison aux patientes dans le plus bas tertile ($p = 0,017$). Ces données confirment donc l'implication de l'acide alpha-linolénique dans la cancérogenèse mammaire. L'effet des apports alimentaires en acide alpha-linolénique ou en groupes alimentaires riches en acide alpha-linolénique (légumes verts à feuilles, huiles de soja, colza) au niveau du risque de cancer du sein est maintenant à déterminer.

Acide alpha-linolénique, anti-oxydants et croissance tumorale mammaire

Au vu de nos données, il est tentant d'utiliser l'acide alpha-linolénique en prévention du risque de cancer du sein ou de l'apparition de métastases. Toutefois, il est d'abord nécessaire d'utiliser un modèle expérimental afin d'examiner le rôle de l'acide alpha-linolénique au niveau de la croissance tumorale mammaire.

Afin de déterminer si le taux d'acide alpha-linolénique dans les lipides de réserve varie avec la croissance tumorale en tant que conséquence, cause ou simple indicateur, nous avons utilisé un modèle animal de tumeurs mammaires induites par le N-méthyl nitroso-urée (NMU), un carcinogène qui ne nécessite pas d'étape d'activation hépatique. Nous avons tout d'abord observé que la teneur en acide alpha-linolénique des lipides de réserve n'était pas affectée par la croissance ou la masse tumorale [22]. Ces résultats indiquent que le taux bas d'acide alpha-linolénique observé chez les patientes ayant un cancer du sein n'est pas la conséquence de la présence de la maladie.

Afin d'examiner le rôle de l'acide alpha-linolénique au niveau de la croissance tumorale mammaire, nous avons réalisé différentes études d'intervention nutritionnelle, en utilisant le modèle de tumeurs mammaires induites par le NMU chez la rate Sprague-Dawley. Dans la première étude, nous avons comparé l'effet de deux régimes alimentaires, un régime comprenant 15 % de lipides sous forme d'huile de colza, riche en acide alpha-linolénique, et l'autre comprenant 15 % de lipides sous forme d'huile d'arachide, ne comportant pas d'acide alpha-linolénique. Les résultats ont montré que, globalement, la croissance tumorale n'a pas été affectée par ces deux régimes (données non publiées). Faut-il en conclure que l'acide alpha-linolénique n'a pas de rôle dans la croissance tumorale mammaire chez le rat, ou chez l'homme dans l'apparition du cancer du sein et dans

l'évolution de la maladie ? En fait, cette étude présentait un défaut conceptuel : elle ne prenait pas en compte l'interaction entre les différents nutriments. Or, les données récentes ont mis en évidence le rôle déterminant de l'interaction entre les différents nutriments au niveau de la croissance tumorale mammaire [23, 24].

Les données récentes produites en culture cellulaire indiquent que les AGPI n-3, incluant l'acide alpha-linolénique, inhibent la prolifération de cellules tumorales mammaires par l'intermédiaire d'une production accrue de lipoperoxydes, et qu'une supplémentation en vitamine E, principale vitamine anti-oxydante, supprime ces effets [25]. De façon similaire, une étude utilisant un modèle animal de carcinogenèse mammaire a indiqué que l'effet inhibiteur d'apports alimentaires riches en huiles de poissons (contenant des AGPI n-3 à longue chaîne) au niveau de la croissance tumorale mammaire est aboli par une supplémentation en agents anti-oxydants [26]. Pour tester la possibilité qu'une supplémentation en agents anti-oxydants puisse modifier l'effet de l'acide alpha-linolénique sur la croissance tumorale, nous avons comparé l'effet de deux régimes riches en AGPI n-3, en ne faisant varier que le taux d'anti-oxydant (vitamine E) dans le régime [27]. Nous avons observé que la vitesse de croissance tumorale était plus grande chez les rates soumises à un régime riche en AGPI n-3 supplémenté en vitamine E que chez les rates soumises à un régime dépourvu de vitamine E (*figure 1*).

Ces données indiquent que l'activité des AGPI n-3 est fonction de la teneur en vitamine antioxydante, et suggèrent l'implication de la peroxydation lipidique dans l'effet des acides gras n-3 *in vivo*.

L'étude des paramètres de la cinétique de croissance tumorale a permis de préciser que l'interaction vitamine E/AGPI n-3 stimulait la croissance tumorale mammaire en inhibant les pertes cellulaires et non en stimulant le taux de prolifération [28].

Si l'interaction AGPI n-3/anti-oxydant stimule la croissance tumorale, qu'en est-il de l'interaction AGPI n-3/pro-oxydants ? Dans une dernière expérience réalisée chez des rates porteuses de tumeurs mammaires induites par le NMU, nous avons comparé l'effet de régimes enrichis en huile de lin (riche en acide alpha-linolénique), non supplémentés (groupe contrôle) ou supplémentés soit en anti-oxydant (vitamine E), soit en agents à activité pro-oxydante (couple REDOX ascorbate/ménadione). Nous avons comparé la croissance tumorale en fonction des trois conditions nutritionnelles (*figure 2*). Nous avons constaté que la supplémentation en vitamine E conduisait à une stimulation de la croissance tumorale mammaire, alors que la supplémentation en substances pro-oxydantes conduisait à une inhibition de la croissance tumorale mammaire [28].

Ces observations confirment le rôle prépondérant des substances anti et pro-oxydantes du régime sur l'activité anti-tumorale des acides gras n-3, et suggèrent l'implication de la peroxydation lipidique dans le phénomène observé.

Ainsi, le rôle de l'acide alpha-linolénique se confirme dans le cancer du sein, autant en ce qui concerne le risque de cancer que pour le risque de métastases. L'effet observé apparaît influencé par les agents pro et anti-oxydants, qui apparaissent susceptibles d'augmenter (pro-oxydants) ou de supprimer (anti-oxydants) l'action inhibitrice de l'acide alpha-linolénique. La portée potentielle de cette observation se mesure à l'aune des enjeux associés à la supplémentation en agents anti-oxydants, une pratique actuellement très répandue aux États-Unis.

CONCLUSION

On peut conclure que la prévention alimentaire du cancer du sein n'est pas réaliste aujourd'hui, car les cibles d'une intervention nutritionnelle ne sont toujours pas identifiées avec précision. De plus, les mécanismes d'action ne sont pas bien compris. On ne dispose pas de données suffisantes pour conseiller des modifications précises de l'alimentation. Le potentiel de prévention des cancers par l'alimentation justifie la mise en œuvre d'un effort de recherche à la mesure des enjeux de santé publique.

REFERENCES

1. DOLL R (1992). The lessons of life. Keynote address to the nutrition and cancer conference. *Cancer Res*, 52 : S2024-9.
2. HUNTER DJ, SPIEGELMAN D, ADAMI HO, BEESON L, VAN DEN BRANDT PA, FOLSOM AR, FRASER G, *et al.* (1996). Cohort studies of fat intake and the risk of breast cancer - a pooled analysis. *N Eng J Med*, 334 : 356-61.
3. BOYD NF, MARTIN LJ, NOFFEL M, LOCKWOOD GA, TRITCHLER DL (1993). A meta-analysis of studies of dietary fat and breast cancer risk. *Br J Cancer*, 68 : 627-36.
4. INGRAM DM, NOTTAGE E, ROBERTS T (1991). The role of diet in the development of breast cancer : a case-control study of patients with breast cancer, benign epithelial hyperplasia and fibrocystic disease of the breast. *Br J Cancer*, 64 : 187-91.
5. LANDA MC, FRAGO N, TRES A (1994). Diet and the risk of breast cancer in Spain. *Eur J Cancer Prev*, 3 : 313-20.
6. FRANCESCHI S, FAVERO A, LA VECCHIA C, NEGRI E, DAL MASO L, SALVINI S, DECARLI A, GIACOSA A (1995). Influence of food groups and food diversity on breast cancer risk in Italy. *Int J Cancer*, 63 : 785-9.
7. FREUDENHEIM JL, MARSHALL JR, VENA JE, LAUGHLIN R, BRASURE JR, SWANSON MK, NEMOTO T, GRAHAM S (1996). Premenopausal breast cancer risk and intake of vegetable, fruits, and related nutrients. *J Natl Cancer Inst*, 88 : 340-8.
8. BRAGA C, LA VECCHIA C, NEGRI E, FRANCESCHI S, PARPINEL M (1997). Intake of selected foods and nutrients and breast cancer risk : an age- and menopause-specific analysis. *Nutr Cancer*, 28 : 258-63.
9. FAVERO A, PARPINEL M, FRANCESCHI S (1998). Diet and risk of breast cancer : major findings from an Italian case-control study. *Biomed Pharmacother*, 52 : 109-15.
10. ZHANG S, HUNTER DJ, FORMAN MR, ROSNER BA, SPEIZER FE, COLDITZ GA, MANSON JE, HANKINSON SE, WILLETT WC (1999). Dietary carotenoids and vitamins A, C, and E and risk of breast cancer. *J Natl Cancer Inst*, 91 : 547-56.
11. VATTEN LJ, SOLVOLL K, LØKEN EB (1990). Frequency of meat and fish intake and risk of breast cancer in a prospective study of 14,500 Norwegian women. *Int J Cancer*, 46 : 12-5.

12. TONIOLO P, RIBOLI E, SHORE RE, PASTERNAK BS (1994). Consumption of meat, animal products, protein, and fat and risk of breast cancer : a prospective cohort study in New York. *Epidemiol*, 5 : 391-7.
13. DE STEFANI E, DENEOPPELLEGRINI H, MENDILAHARSU M, RONCO A (1998). Essential fatty acids and breast cancer : a case-control study in Uruguay. *Int J Cancer*, 76 : 491-4.
14. FRANCESCHI S, FAVERO A, DECARLI A, NEGRI E, LA VECCHIA C, FERRARONI M, RUSSO A, SALVINI S, AMADORI D, CONTI E, MONTELLA M, GIACOSA A (1996). Intake of macronutrients and risk of breast cancer. *Lancet*, 347 : 1351-6.
15. WILLETT WC (1997). Specific fatty acids and risks of breast and prostate cancer : dietary intake. *Am J Clin Nutr*, 66 : S1557-63.
16. HOLMES MD, HUNTER DJ, COLDITZ GA, STAMPFER MJ, HANKINSON SE, SPEIZER FE, ROSNER B, WILLETT WC (1999). Association of dietary intake of fat and fatty acids with risk of breast cancer. *JAMA*, 281 : 914-20.
17. PRENTICE RL, PEPE M, SELF SG (1989). Dietary fat and breast cancer : a quantitative assessment of the epidemiological literature and a discussion of methodological issues. *Cancer Res*, 49 : 3147-56.
18. RIBOLI E, RÖNNHOLM H, SARACCI R (1987). Biological markers of diet. *Cancer Surveys*, 6 : 685-718.
19. VAN STAVEREN WA, DEURENBERG P, KATAN MB, BUREMA J, DE GROOT LC, HOFFMANS MD (1986). Validity of the fatty acid composition of subcutaneous fat tissue microbiopsies as an estimate of the long-term average fatty acid composition of the diet of separate individuals. *Am J Epidemiol*, 123 : 455-63.
20. BOUGNOUX P, KOSCIELNY S, CHAJÈS V, DESCAMPS P, COUET C, CALAIS G (1994). Alpha-linolenic acid content of adipose breast tissue : a host determinant of the early metastasis in breast cancer. *Br J Cancer*, 70 : 330-4.
21. KLEIN V, CHAJÈS V, GERMAIN E, SCHULGEN G, PINAULT M, MALVY D, LEFRANCQ T, FIGNON A, LE FLOCH O, LHUILLERY C, BOUGNOUX P (1999). Low alpha-linolenic acid content of adipose breast tissue is associated with an increased risk of breast cancer. *Eur J Cancer*, in press.
22. LHUILLERY C, BOUGNOUX P, GROSCOLAS R, DURAND G (1995). Time-course study of adipose tissue fatty acids during mammary tumor growth in rats with controlled fat intake. *Nutr Cancer*, 24 : 299-309.
23. STOLL BA (1998). Breast cancer and the western diet : role of fatty acids and antioxidant vitamins. *Eur J Cancer*, 34 : 1852-6.
24. BOUGNOUX P (1999). n-3 polyunsaturated fatty acids and cancer. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2 : 121-6.

25. CHAJÈS V, SATTLER W, STRANZL A, KOSTNER GM (1995). Influence of n-3 fatty acids on the growth of human breast cancer cells *in vitro* : relationship to peroxides and vitamin E. *Breast Cancer Res Treat*, 34 : 199-212.
26. GONZALEZ MJ, SCHEMMEL RA, DUGAN L, GRAY JI, WELSCH CW (1993). Dietary fish oil inhibits human breast carcinoma growth : a function of increased lipid peroxidation. *Lipids*, 28 : 827-32.
27. LHUILLERY C, COGNAULT S, GERMAIN E, *et al.* (1997). Suppression of the promoter effect of polyunsaturated fatty acids by the absence of dietary vitamin E in experimental mammary carcinoma. *Cancer Lett*, 114 : 233-4.
28. COGNAULT S, JOURDAN ML, GERMAIN E, PITAVY R, MOREL E, DURAND G, BOUGNOUX P, LHUILLERY C (1999). The effect of a alpha-linolenic acid rich diet on rat mammary tumor growth depends on the dietary oxidative status. *Nutr Cancer*, in press.

Illustrations

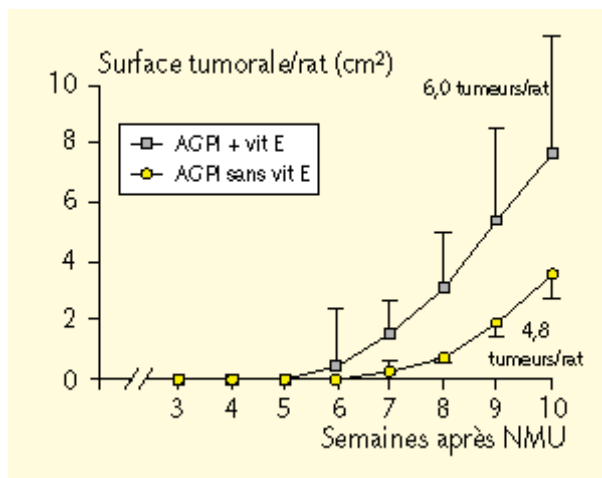


Figure 1. Croissance tumorale mammaire en fonction des apports de vitamine E, chez des rats recevant un régime riche en acides gras polyinsaturés n-3 (d'après Lhuillery et al. [27]).

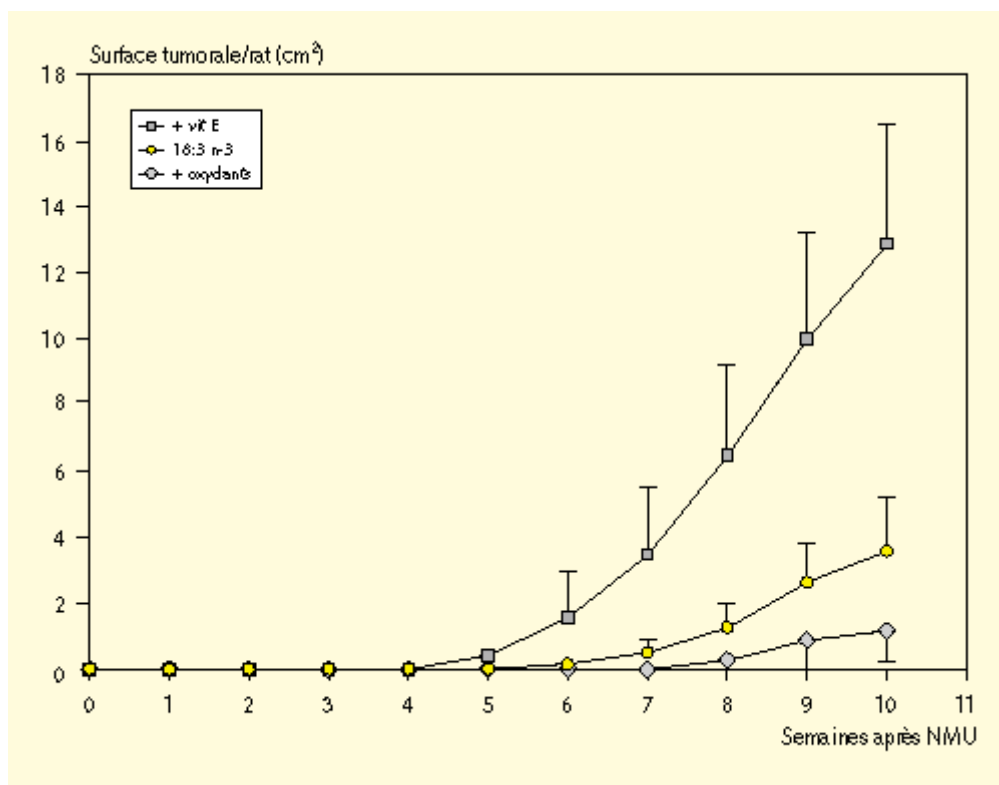


Figure 2. Croissance tumorale mammaire en fonction des apports en agents pro- et anti-oxydant chez des rats recevant un régime riche en acide alpha-linolénique (d'après Cognault et al. [28]).