



HAL
open science

Évaluation des effets de l'acide trans-vaccénique, l'acide ruménique et l'acide élaïdique sur la prolifération et la viabilité de différentes lignées tumorales

Amandine Thomas

► To cite this version:

Amandine Thomas. Évaluation des effets de l'acide trans-vaccénique, l'acide ruménique et l'acide élaïdique sur la prolifération et la viabilité de différentes lignées tumorales. Sciences pharmaceutiques. 2025. <dumas-05371042>

HAL Id: dumas-05371042

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-05371042v1>

Submitted on 18 Nov 2025

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire HAL, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



HAL Authorization

IMPORTANT : OBLIGATIONS DE LA PERSONNE CONSULTANT CE DOCUMENT

Conformément au *Code de la propriété intellectuelle*, nous rappelons que le document est destiné à un **usage strictement personnel**. Les "analyses et les courtes citations justifiées par le caractère critique, polémique, pédagogique, scientifique ou d'information" sont autorisées sous réserve de mentionner les noms de l'auteur et de la source (article L. 122-4 du *Code de la propriété intellectuelle*). Toute autre représentation ou reproduction intégrale ou partielle, faite sans le consentement de l'auteur ou de ses ayants droit, est illicite.

De ce fait, nous vous rappelons notamment que, **sauf accord explicite** de l'auteur de la thèse ou du mémoire, **vous n'êtes pas autorisé** à rediffuser ce document sous quelque forme que ce soit (impression papier, transfert par voie électronique, ou autre). Tout contrevenant s'expose aux peines prévues par la loi.

ANNEE 2025

N°

(complété par la scolarité)

THESE
pour le
DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE

par
Amandine THOMAS

Présentée et soutenue publiquement le 10 septembre 2025

Evaluation des effets de l'acide trans-vaccénique, l'acide ruménique et l'acide élaïdique sur la prolifération et la viabilité de différentes lignées tumorales.

Président : Dr El-Hassane NAZIH, Professeur de Sciences biologiques, UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Nantes

Directeur : Dr Christine BOBIN DUBIGEON, MCU-PH d'élaboration et évaluation du médicament, UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Nantes

Membres du jury : Dr Marine GOUX, Enseignant-chercheur (LRU) en Pharmacologie Toxicologie et Biologie cellulaire, UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Nantes ; Dr Célia RODRIGUES, Docteur en pharmacie à la Pharmacie de la Halle à Saint Jean de Boiseau

Remerciements

Je tiens à remercier sincèrement toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de cette thèse.

À Mr NAZIH, président du jury,

Merci de me faire l'honneur de présider le jury de ma thèse. Merci pour votre bienveillance et votre accompagnement tout au long de ce parcours.

À Mme BOBIN DUBIGEON, directrice du jury,

Merci de m'avoir fait confiance ces deux dernières années. Merci pour votre présence et vos précieux conseils, votre bienveillance et merci pour tout ce que vous m'avez appris et transmis, je vous en suis très reconnaissante. Promis je vais m'améliorer en orthographe...

À Mme GOUX, membre du jury,

Merci d'avoir été présente cette année, merci pour ta bienveillance, tes conseils toujours avisés et merci pour tout ce travail que nous avons accompli ensemble.

À toute l'équipe du laboratoire « Hétérogénéité tumorale et médecine de précision »,

Merci à Javier, merci pour ton encadrement et tes précieux conseils. Merci pour toutes les connaissances que tu m'as transmises, pour ta gentillesse et ta bienveillance.

Merci à Nolwenn et Axelle, merci pour tous vos conseils et votre bienveillance.

Merci aux copains du labo, Sam, Claire, Naomie, Isidora, Ester, Maxime, Laurie, merci pour vos conseils et pour ces très bons moments passés ensemble.

Merci à Mr HEYMANN, merci de m'avoir accueillie dans votre laboratoire et de m'avoir permis de vivre cette expérience très enrichissante.

Merci à tous pour votre accueil et vos précieux conseils.

À toute l'équipe de la Pharmacie de la Halle à Saint Jean de Boiseau,

Merci à Célia et Solène, merci d'avoir fait votre possible pour qu'une de vous fasse partie du jury. Mais surtout merci à vous pour tout ce que vous m'avez transmis, merci pour votre bienveillance et votre gentillesse. Merci d'être des patronnes géniales et à l'écoute de vos employés et de vos patients.

Merci à Cassilda, Hélène, Séverine, Julie et Pauline, merci pour tous vos conseils, votre gentillesse et votre bienveillance.

À mes parents,

Merci d'être vous-même, merci d'être présents depuis toutes ces années, merci pour votre soutien inconditionnel et merci pour tout ce que vous nous avez transmis, vos valeurs et votre amour.

À mes sœurs,

Même si notre entente est pleine de rebondissements merci de me soutenir et d'être présente, merci pour toutes ces bêtises et merci d'être vous.

À ma famille,

Merci d'avoir cru en moi et de m'avoir soutenue pendant tout ce parcours.

À mes copines de pharma,

Merci les filles pour ces supers années passées à vos côtés, pour tous ces souvenirs et ces supers journées BU très productives...

À mes copains du lycée,

Merci à vous tous pour votre amitié, pour votre soutien pendant toutes ces années et merci d'être toujours présent.

À Antoine,

Merci d'avoir cru en moi, merci pour ton soutien sans faille et ta présence à mes côtés.

Table des matières

Remerciements.....	2
Table des figures.....	6
Table des tableaux.....	9
Abréviations.....	10
I. Introduction.....	14
A. Contexte général	14
a. Les lipides	14
b. Les Acides gras (AG)	16
c. Les acides gras <i>trans</i> (AGT)	20
B. Les AGT : un enjeu de santé publique.....	21
a. Risque cardiovasculaire	21
b. Politiques de santé publique	22
c. Réglementations	22
d. Autres effets systémiques	23
C. Cancer et nutrition	24
a. Epidémiologie	24
b. Impact de la nutrition.....	24
c. Acides gras <i>trans</i> et cancer	25
D. Contexte et objectifs	26
II. Matériels et méthodes	27
A. Réactifs et matériels.....	27
B. Culture cellulaire	28
C. Evaluation de la viabilité et de la prolifération cellulaire par test MTT	30
D. Evaluation de la prolifération cellulaire par impédancemétrie	30
E. Analyse kinomique par puce protéique	31
F. Evaluation de l'expression de protéines apoptotiques par Western Blot.....	32

G. Mise en forme des données et analyses statistiques	33
III. Résultats	35
A. Etude de prolifération cellulaire et cytotoxicité.....	35
a. Effets des AGT sur des cellules cancéreuses pulmonaires (A549).....	35
b. Effets des AGT sur des cellules de mélanome (A375)	37
c. Effets des AGT sur des cellules cancéreuses d'ostéosarcome (MNNG HOS)	38
d. Effets des AGT sur des cellules cancéreuses de sein HER2- (MCF-7)	40
e. Effets des AGT sur des cellules cancéreuses de sein triple négatif (MDA MB 231)	41
f. Effets des AGT sur des cellules cancéreuses de prostate (PC3).....	43
g. Effets des AGT sur des cellules cancéreuses ovariennes (COV 362).....	45
h. Effets des AGT sur des cellules cancéreuses ovariennes (Shin3)	45
i. Effets des AGT sur des cellules cancéreuses colorectal (HT29).....	47
j. Effets des AGT sur des cellules cancéreuses colorectal (Caco2).....	49
B. Etude protéomique	51
a. Effets de l'AR sur l'expression protéomique de cellules cancéreuses pulmonaires (A549)	52
b. Effet de l'AR sur l'expression de différentes protéines de cellules cancéreuses pulmonaires (A549).....	53
c. Effets de l'AE sur l'expression protéomique de cellules cancéreuses de sein (MCF-7)	54
IV. Discussion	56
V. Conclusion et perspectives	67
Bibliographie.....	69

Table des figures

Figure 1 : Métabolisme des lipides. Fait avec Biorender®	16
Figure 2 : Catabolisme des acides gras – beta oxydation. Fait avec Biorender®	18
Figure 3 : Anabolisme des acides gras – lipogenèse. Fait avec Biorender®	19
Figure 4 : Représentation chimique de l'acide élaïdique, vaccénique et ruménique. Fait avec Biorender®	21
Figure 6 : Principe du kit Proteome Profiler Human Phospho-Kinase Array (58)	32
Figure 7 : Effet de l'acide élaïdique (AE), acide ruménique (AR) et acide vaccénique (AV) à différentes concentrations sur la viabilité des cellules A549 sur 96h par test MTT (n=3). Test de Mann Whitney. ****p<0,0001	35
Figure 8 : Effet de (A) l'acide élaïdique (AE), (B) acide ruménique (AR), (C) acide vaccénique (AV) et (D) du DMSO à différentes concentrations sur la prolifération des cellules A549 sur 96h par méthode xCELLigence® (n=1), en quadruplicats	36
Figure 9 : Effet de l'acide élaïdique (AE), acide ruménique (AR) et acide vaccénique (AV) à différentes concentrations sur la viabilité des cellules A375 sur 96h par test MTT (n=3). Test de Mann Whitney. ****p<0,0001	37
Figure 10 : Effet de l'acide ruménique (AR) à différentes concentrations sur la prolifération des cellules A375 sur 96h par méthode xCELLigence® (n=1), en quadruplicats	37
Figure 11 : Effet de l'acide élaïdique (AE), acide ruménique (AR) et acide vaccénique (AV) à différentes concentrations sur la viabilité des cellules MNNG HOS sur 96h par test MTT (n=3). Test de Mann Whitney. *p<0,05 **p<0,01 *** p<0,001 ****p<0,0001	38
Figure 12 : Effet de (A) l'acide élaïdique (AE), (B) acide ruménique (AR), (C) acide vaccénique (AV) et (D) du DMSO à différentes concentrations sur la prolifération des cellules MNNG HOS sur 96h par méthode xCELLigence® (n=1), en quadruplicats	40
Figure 13 : Effet de l'acide élaïdique (AE), acide ruménique (AR) et acide vaccénique (AV) à différentes concentrations sur la viabilité des cellules MCF-7 sur 96h par test MTT (n=2). *p<0,05 **p<0,01	40
Figure 14 : Effet de (A) l'acide élaïdique (AE), (B) acide ruménique (AR) et (C) acide vaccénique (AV) à différentes concentrations sur la prolifération des cellules MCF-7 sur 96h par méthode xCELLigence® (n=1), en quadruplicats	41

Figure 15 : Effet de l'acide élaïdique (AE), acide ruménique (AR) et acide vaccénique (AV) à différentes concentrations sur la viabilité des cellules MDA MB 231 sur 96h par test MTT (n=3). Test de Mann Whitney. ****p<0,0001	42
Figure 16 : Effet de (A) l'acide élaïdique (AE), (B) acide ruménique (AR) et (C) acide vaccénique (AV) à différentes concentrations sur la prolifération des cellules MDA MB 231 sur 96h par méthode xCELLigence® (n=1), en quadruplicats.	43
Figure 17 : Effet de l'acide élaïdique (AE), acide ruménique (AR) et acide vaccénique (AV) à différentes concentrations sur la viabilité des cellules PC3 sur 96h par test MTT (n=3). Test de Mann Whitney.....	43
Figure 18 : Effet de (A) l'acide élaïdique (AE), (B) acide ruménique (AR), (C) acide vaccénique (AV) et (D) du DMSO à différentes concentrations sur la prolifération des cellules PC3 sur 96h par méthode xCELLigence® (n=1), en quadruplicats.....	44
Figure 19 : Effet de l'acide élaïdique (AE), acide ruménique (AR) et acide vaccénique (AV) à différentes concentrations sur la viabilité des cellules COV 362 sur 96h par test MTT (n=3). Test de Mann Whitney. **p<0,01.....	45
Figure 20 : Effet de l'acide élaïdique (AE), acide ruménique (AR) et acide vaccénique (AV) à différentes concentrations sur la viabilité des cellules Shin3 sur 96h par test MTT (n=3). Test de Mann Whitney. *p<0,05 ****p<0,0001.....	46
Figure 21 : Effet de (A) l'acide élaïdique (AE), (B) acide ruménique (AR) et (C) acide vaccénique (AV) à différentes concentrations sur la prolifération des cellules Shin 3 sur 96h par méthode xCELLigence® (n=1), en quadruplicats.....	47
Figure 22 : Effet de l'acide élaïdique (AE), acide ruménique (AR) et acide vaccénique (AV) à différentes concentrations sur la viabilité des cellules HT29 sur 96h par test MTT (n=3). Test de Mann Whitney. **p<0,01 *** p<0,001 ****p<0,0001.....	48
Figure 23 : Effet de (A) l'acide élaïdique (AE), (B) acide ruménique (AR) et (C) acide vaccénique (AV) à différentes concentrations sur la prolifération des cellules HT29 sur 96h par méthode xCELLigence® (n=1), en quadruplicats.....	49
Figure 24 : Effet de l'acide élaïdique (AE), acide ruménique (AR) et acide vaccénique (AV) à différentes concentrations sur la viabilité des cellules HT29 sur 96h par test MTT (n=3). Test de Mann Whitney.....	50
Figure 25 : Effet de (A) l'acide élaïdique (AE), (B) acide ruménique (AR) et (C) acide vaccénique (AV) à différentes concentrations sur la prolifération des cellules Caco2 sur 96h par méthode xCELLigence® (n=1), en quadruplicats.....	51

Figure 26 : Différence de phosphorylation des protéines des cellules A549 traitées par acide ruménique (AR) à 10µM, après analyse des résultats du « Human Phospho-Kinase Array Kit » (n=1).	52
Figure 27 : Analyse de l'expression protéique de Bcl-2 et Caspase 3 sur la lignée cellulaire A549 traitée (+) ou non (-) par acide ruménique (AR) à 10µM. (n=1).....	53
Figure 28 : Différence de phosphorylation des protéines des cellules MCF-7 traitées par acide élaidique (AE) à 100µM, après analyse des résultats du « Human Phospho-Kinase Array Kit » (n=1).	54

Table des tableaux

Tableau I : Description des lignées cellulaires et milieu de culture utilisée.....	28
Tableau II : Concentration cellulaire utilisée en fonction de la technique et de la lignée cellulaire	31

Abréviations

8-iso-PGF2 α	8-iso-prostaglandin F2 alpha
ADN	Acide desoxyribonucléique
AE	Acide élaïdique
AG	Acide gras
AGC	Acide gras cis
AGPI	Acide gras poly-insaturé
AGT	Acide gras trans
AGTi	Acide gras trans industriel
AGTr	Acide gras trans ruminant
AICR	American institute for cancer research
AKT 1/2/3	Protein kinase B 1/2/3
Apo C-II	Apoprotéine C-II
AR	Acide ruménique
ATCC	American type culture collection
ATP	Adénosine triphosphate
AV	Acide vaccénique
Bcl-2	B-cell lymphoma 2
BSA	Albumine sérum bovin
CAS	Chemical abstracts service
Chk2	Checkpoint kinase 2
c-Jun	Jun proto-oncogene
CI	Cell index
CIRC	Centre international de recherche sur le cancer
CLA	Acide linoléique conjugué
Co-A	Coenzyme A
COX	Cyclo-oxygénase
CPNPC	Cancer pulmonaire à non petites cellules
CREB	Cyclic AMP-responsive element-binding protein
CRP	Protéine C-réactive
DCFH-DA	Dichloro-dihydro-fluorescein diacetate

DHA	Acide docosahexaénoïque
DMEM	Dulbecco's modified eagle medium
DMSO	Diméthylsulfoxyde
EDTA	Ethylènediaminetétraacétique
EGFR	Epidermal growth factor receptor
EMEM	Eagle's minimal essential medium
EMT	Transition épithéliale mésenchymateuse
eNOS	Endothelial nitric oxide synthase
EPA	Acide éicosapentaénoïque
ERK	Extracellular signal-regulated kinase
FADH2	Dinucléotide dihydroflavine-adénine
FAS	Fatty acid synthase
Fgr	FGR proto-oncogene
GSK-3 α/β	Glycogen synthase kinase 3 alpha/beta
GSK-3 β	Glycogen synthase kinase 3 beta
HDL	High density lipoprotein
HRP	Horseradish peroxidase
HSP27	Heat shock protein 27
HSP60	Heat shock protein 60
IDL	Intermediate density lipoprotein
ICAM-1	Intercellular adhesion molecule-1
IFBA	International food and beverage alliance
IL	Interleukine
JNK 1/2/3	Jun N-terminal kinase
Lck	Lymphocyte-specific protein tyrosine kinase
LDL	Low density lipoprotein
LPL	Lipoprotéine lipase
LOX	Lipoxygénase
Lyn	LYN proto-oncogene
MSK 1/2	Mitogen- and stress-activated kinase 1/2
MTT	3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5 diphenyl tetrazolium bromide

MTS	3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium
NADH	Nicotinamide adénine dinucléotide
OMS	Organisation mondiale de la santé
p38 α	p38 mitogen-activated protein kinase alpha
p53	Tumor protein p53
p70S6K	Ribosomal protein S6 kinase
PBS	Tampon phosphate salin
PDGF R β	Platelet-derived growth factor receptor beta
PGE2	Prostaglandine E2
PLC- γ 1	Phospholipase C-gamma 1
PPAR- γ gamma	Récepteur activé par les proliférateurs de peroxysomes
PRAS40	Proline-rich AKT1 substrate 40
PVDF	Polyfluorure de vinylidène
PYK2	Protein-tyrosine kinase 2
RIPA	Analyse par radio-immunoprécipitation
RNAseq	Séquençage acide ribonucléique
ROS	Espèces réactives de l'oxygène
RPMI	Roswell park memorial institute medium
RSK 1/2	Ribosomal S6 protein kinase 1/2
RSK 1/2/3	Ribosomal S6 protein kinase 1/2/3
SDS	Sodium dodecyl sulphate
sICAM	soluble Intercellular adhesion molecule-1
Src	Proto-oncogene tyrosine-protein kinase
SREBP1c de type 1	Facteur de transcription liant l'élément régulateur des stéroïdes
STAT	Signal transducer and activator of transcription
sVCAM	soluble Vascular cell adhesion protein 1
SVF	Sérum de veau foetal
TBST	Tris-buffered saline tween
TG	Triglycéride
TNF- α	Facteur de nécrose tumorale alpha

TNF-R	Récepteur au facteur de nécrose tumorale
VCAM-1	Vascular cell adhesion protein 1
VLDL	Very low-density lipoprotein
WCRF	World cancer research fund
WNK1	Lysine deficient protein kinase 1
WST-1	4-[3-(4-Iodophenyl)-2-(4-nitrophenyl)-2H-5-tetrazolio]-1,3-benzene Disulfonate
Yes	Tyrosine-protein kinase Yes

I. Introduction

A. Contexte général

a. Les lipides

Les lipides constituent une des classes de macronutriments les plus importantes dans notre alimentation. Ils représentent 35 à 40% de l'apport énergétique quotidien. Notre alimentation comporte des matières grasses dites visibles, correspondant aux huiles et matières grasses d'assaisonnement, de cuisson, à tartiner, ... (beurres, margarines, mayonnaises,...) et des matières grasses dites « cachées » qui sont présentes naturellement dans les produits animaux (viandes, poissons, fromages, ...), végétaux (huiles, graines, ...) ou ajoutées lors du processus de fabrication (plats cuisinés, viennoiseries, chocolats, ...) (1). On estime que deux tiers des lipides de notre alimentation correspondent à des graisses cachées (2).

Les lipides possèdent deux rôles majeurs dans l'organisme :

- Un rôle structural : ce sont les principaux composants des membranes cellulaires.
- Un rôle énergétique : leur métabolisme (beta oxydation et lipogenèse) permet la synthèse et le stockage d'énergie.

Les lipides sont classés en fonction de leurs structures et propriétés biochimiques (3,4). On distingue :

- les lipides simples avec les acides gras (rôle énergétique, structural, inflammatoire...), les triglycérides (rôle énergétique) ou les stéroïdes (rôle structural, précurseurs d'hormones stéroïdiennes, vitamines D3 et sels biliaires),
- des lipides complexes, avec les glycolipides (reconnaissance et signalisation cellulaire) ou les phospholipides (membranes).

Métabolisme des lipides

Les processus biologiques engagés dans le métabolisme des lipides incluent la digestion, l'absorption, le transport, le stockage et l'utilisation des lipides par l'organisme.

Les lipides alimentaires sont dans un premier temps, émulsifiés par les sels biliaires et hydrolysés en AG et monoglycérides (pour les triglycérides) ou cholestérol libres (pour le cholestérol estérifié) par les lipases pancréatiques et gastriques. Ils sont par la suite absorbés (pas tous les AG, seulement les AG ayant plus de 12 carbones) par les entérocytes, réassemblés en triglycérides et, avec le cholestérol, incorporés dans des chylomicrons (lipoprotéines volumineuses). Ces lipoprotéines transportent les triglycérides et le cholestérol dans la lymphe puis dans la circulation sanguine. L'apoprotéine C-II (Apo C-II) présente sur les chylomicrons active la lipoprotéine lipase (LPL) convertissant la majorité des triglycérides (TG) en AG et glycérol qui seront captés par les adipocytes et cellules musculaires. Les chylomicrons rémanents regagnent ensuite le foie (Fig. 1) (5,6).

Il existe également des lipoprotéines synthétisées par le foie, permettant le transport des triglycérides endogènes et du cholestérol (Fig. 1) (5,6) :

- **Les lipoprotéines de très basse densité (VLDL)** : elles permettent au foie d'exporter les triglycérides synthétisés en excès. La LPL est activée par l'Apo C-II présente à la surface des lipoprotéines, et hydrolyse les TG afin qu'ils soient utilisés par les cellules.
- **Les lipoprotéines de densité intermédiaire (IDL)** : ce sont les rémanents des VLDL, elles sont riches en cholestérol et sont éliminées par le foie ou transformées en LDL (lipoprotéines de basse densité) par la lipase hépatique.
- **Les lipoprotéines de basse densité (LDL)** : elles proviennent du métabolisme des VLDL et IDL. Elles sont très riches en cholestérol. Les LDL peuvent retourner au foie pour être éliminées. Elles sont capables d'aller vers les tissus périphériques afin de fournir du cholestérol, notamment pour la synthèse d'hormones, participer à la formation de membrane plasmique ou être stockés sous forme de cholestérol estérifiés. Certaines peuvent également s'oxyder, attirant ainsi les monocytes grâce à leur cholestérol. Ces derniers se transforment en macrophages et se multiplient en cellules spumeuses (présentant une forte quantité de cholestérol) et peuvent *in fine* être à l'origine de la formation de plaque d'athérome.

Il y a également **les lipoprotéines de haute densité (HDL)** : leur rôle principal est de prendre en charge l'excès de cholestérol en vue de son catabolisme par le foie (c'est ce que l'on appelle la voie inverse).

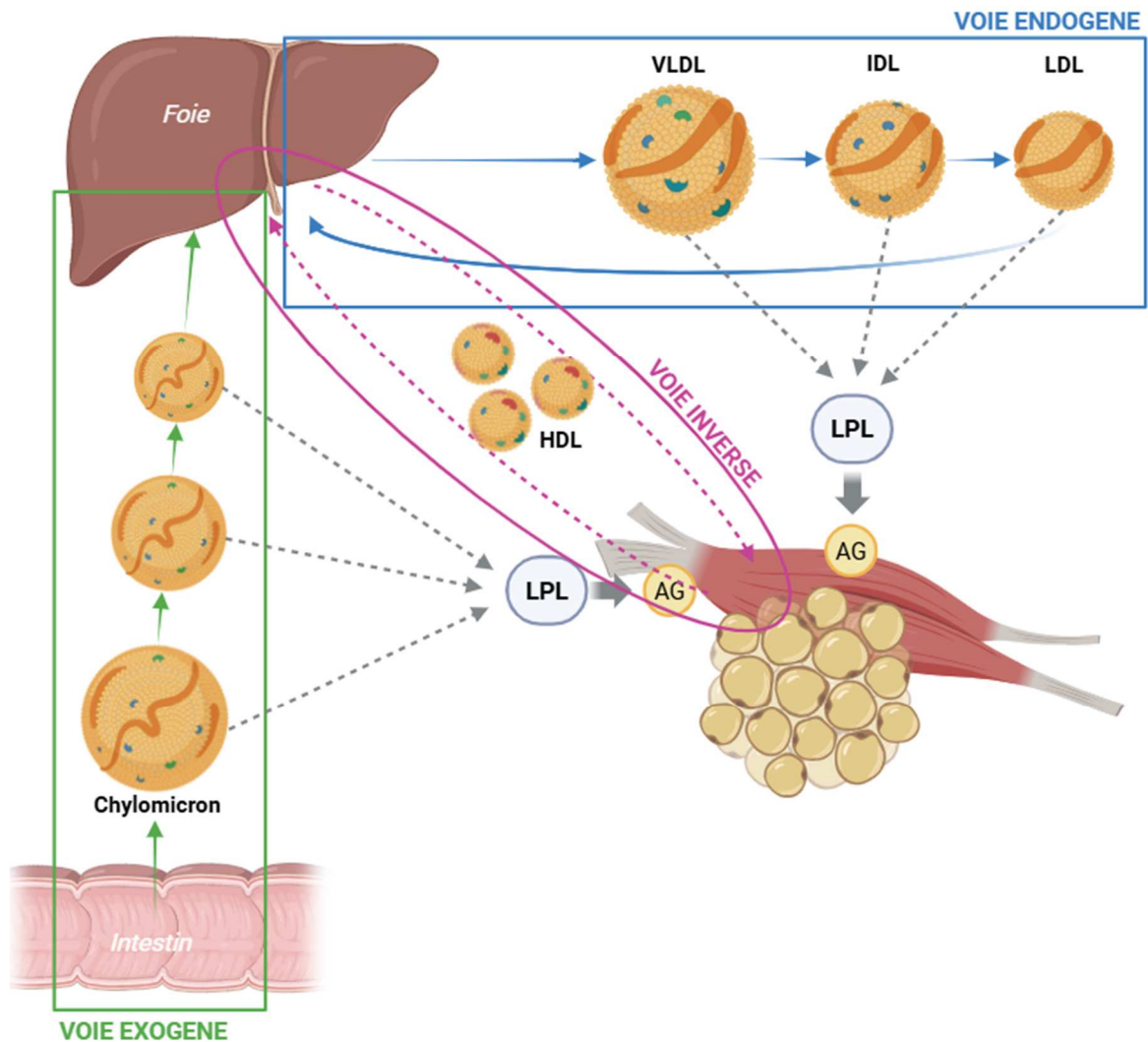


Figure 1 : Métabolisme des lipides. Fait avec Biorender®

b. Les Acides gras (AG)

L'unité de base des lipides est l'acide gras (**AG**). Les AG peuvent être classés biochimiquement en fonction de leur saturation ou de la longueur de leur chaîne carbonée.

Selon la longueur de la chaîne carbonée :

- Les **AG à chaîne courte** (ex : acide butyrique) (C4-C6) et **moyenne chaîne** (ex : acide caprique) (C7-C12) sont utilisés rapidement, comme source énergétique.
- Les **AG à longue chaîne** (ex : acide palmitique, acide arachidonique) (C13-C22) sont les composants principaux des membranes.
- Les **AG à très longue chaîne** (ex : acide lignocérique) (>C22) sont des composants essentiels de la membrane des cellules nerveuses.

Selon la saturation :

- Les **AG saturés**, ne présentent pas de double liaison. Ils possèdent un rôle énergétique et structurale.
- Les **AG insaturés** peuvent être mono ou poly-insaturés en fonction du nombre de double liaison. Au sein des AG insaturés, on distingue les acides gras *cis* (**AGC**) des acides gras *trans* (**AGT**) en fonction de la conformation de la double liaison. On y retrouve les oméga-3 ayant leur première double liaison se situant sur la troisième liaison carbone-carbone en partant de l'extrémité opposé à la fonction carboxyle, les oméga-6 (première double liaison sur la sixième liaison carbone-carbone) et les oméga-9 (première double liaison sur la neuvième liaison carbone-carbone). Parmi les oméga-3 on retrouve notamment l'acide eicosapentaénoïque (**EPA**) et l'acide docosahexaénoïque (**DHA**), présentent des propriétés anti-inflammatoires (réduction des cytokines pro-inflammatoires) de protection nerveuse et cardiovasculaire (diminution des triglycérides) (6,7). Les oméga-6, avec l'acide linoléique et l'acide arachidonique, possèdent un rôle important dans la synthèse de médiateurs pro-inflammatoires (prostaglandines, leucotriènes) (8). Les oméga-9, avec l'acide oléique, jouent également un rôle de protection cardiovasculaire (réduction des LDL et augmentation des HDL) (9).

Métabolisme des acides gras

Le métabolisme des AG concerne les processus de catabolisme (beta-oxydation) et d'anabolisme (lipogenèse) au sein des cellules.

Le catabolisme des AG correspond à l'oxydation de ces derniers, ayant pour but de fournir de l'énergie sous forme d'ATP. Ce processus permet la dégradation des AG en acétyl-CoA. Lors du processus d'oxydation, il y a transformation de FAD en FADH₂ et NAD en NADH₂, NADH₂ et FADH₂ sont ici des cofacteurs de réactions. Les AG sont, dans un premier temps, activés par l'acyl-CoA synthase dans le cytosol, formant un acyl-CoA. Ils sont ensuite transportés dans la mitochondrie par la navette carnitine. Celle-ci consiste à lier l'acyl-CoA à la carnitine par la carnitine acyl-transférase I. Une fois dans la matrice mitochondriale (via une translocase), la carnitine acyl-transférase II libère la carnitine de l'AG pour qu'il soit de nouveau associé avec le Co-A. Ils rentrent ensuite dans le cycle de beta oxydation permettant la dégradation des AG en acétyl-CoA. Chaque cycle permet le

retrait de deux carbones, sous forme d'acétyl-CoA par quatre étapes : oxydation (par l'acyl-CoA déshydrogénase), hydratation (par l'énoyl-CoA hydratase), oxydation (par l'hydroxyacyl-CoA déshydrogénase) et thiolyse (par la β -cétolase). Les acétyl-CoA produits sont ensuite utilisés par le cycle de Krebs et permettent la synthèse d'électrons (portés par le NADH et FADH₂ produits lors du cycle de Krebs et de beta oxydation), qui seront utilisés par la chaîne respiratoire de la mitochondrie afin de produire de l'ATP (Fig. 2) (5,6,10).

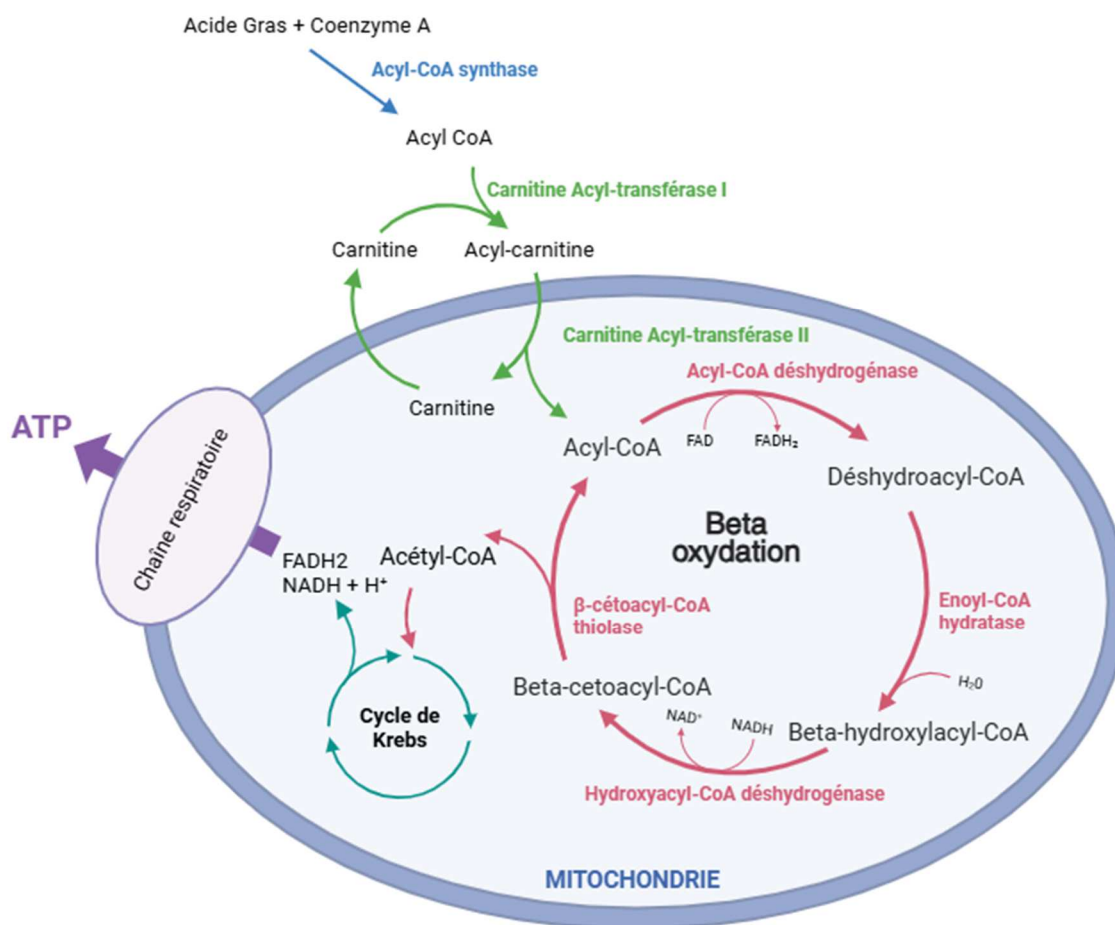


Figure 2 : Catabolisme des acides gras – beta oxydation. Fait avec Biorender®

Concernant la lipogenèse, elle se déroule majoritairement dans le foie mais également dans les cellules adipeuses et permet le stockage d'énergie. Celle-ci a lieu dans le cytosol des cellules à partir d'acétyl-CoA provenant généralement de la dégradation du glucose, des AG ou de certains acides aminés. L'acétyl-CoA est dans un premier temps transporté de la mitochondrie vers le cytosol sous forme de citrate (condensation de l'acétyl-CoA et d'oxaloacétate par la citrate synthase) à travers un transporteur puis

reconvertit en acétyl-CoA (par la citrate lyase). Il va ensuite subir une carboxylation par l'acétyl-CoA carboxylase pour devenir un malonyl-coA. Puis l'AG sera synthétisé par l'acide gras synthase, un complexe enzymatique permettant l'ajout de carbones au malonyl-coA en quatre étapes : condensation, réduction, déshydratation et réduction. Chaque cycle ajoute deux carbones à la chaîne carbonée jusqu'à obtenir l'acide palmitique (C16) (Fig. 3) (5,6).

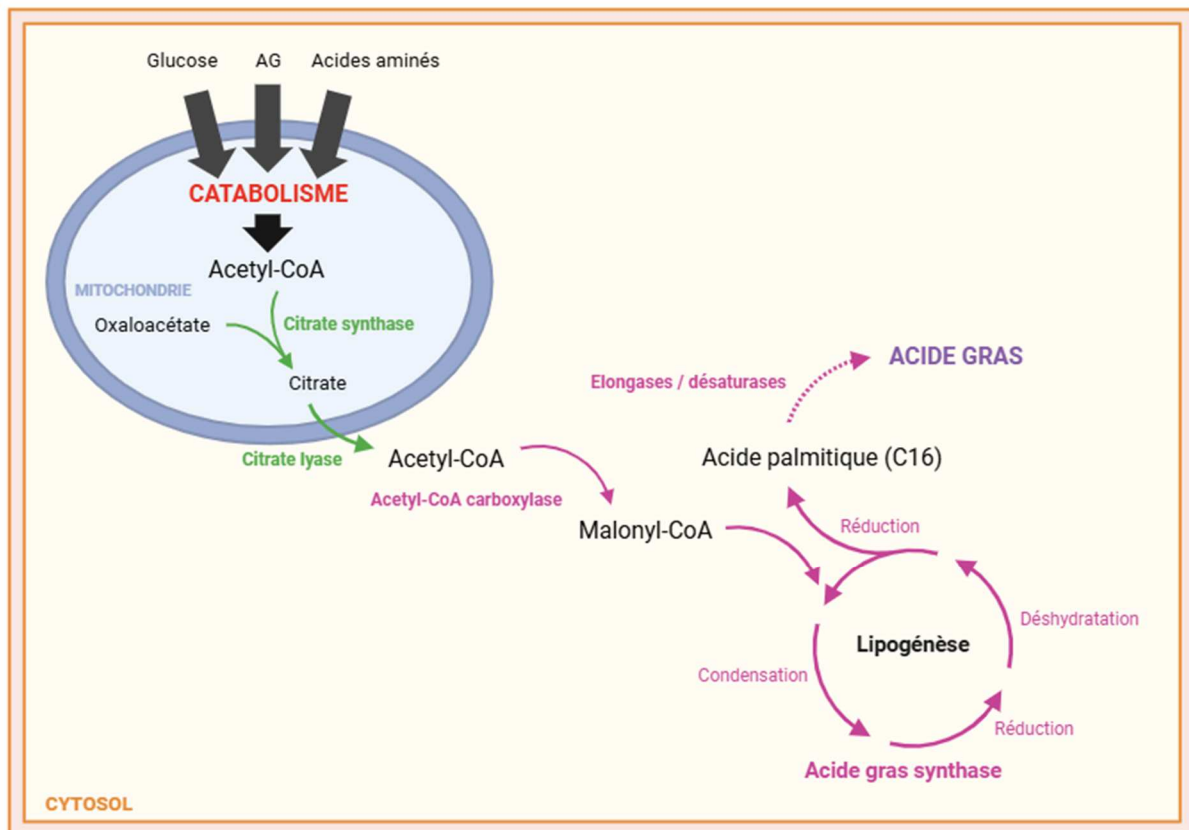


Figure 3 : Anabolisme des acides gras – lipogénèse. Fait avec Biorender®

Les AG peuvent subir ensuite des transformations (5,6) :

- Elongation : par des élongases permettant l'ajout de carbones au bout de la chaîne carbonée à l'extrémité carboxylique.
- Désaturation : par des désaturases permettant la formation de double liaison.

c. Les acides gras *trans* (AGT)

Origines des AGT

Les AGT sont des acides gras mono ou poly-insaturés présentant une double liaison dans la conformation *trans*. Il existe 2 types d'AGT : les industriels (**AGTi**) et les ruminants (**AGTr**) dits naturels.

Les AGTi sont notamment produits dans l'industrie agroalimentaire lors de l'hydrogénation partielle des huiles végétales ou de poissons riches en acides gras polyinsaturés (AGPI) (11). L'AGTi majoritairement présent dans les huiles végétales est l'acide élaïdique (**AE**) ou t9 18:1 (Fig. 1), un AG monoinsaturé, bien qu'il soit également produit naturellement de façon très minoritaire (12). On les retrouve dans de nombreux produits alimentaires transformés tels que les plats préparés, les viennoiseries, les biscuits, les aliments frits, ...

Les AGTr sont issus de la métabolisation bactérienne des AGPI dans le rumen des animaux. L'AGT naturel le plus fréquemment trouvé est l'acide *trans*-vaccénique (**AV**) ou t11 18:1 (Fig. 4), un AG monoinsaturé. On retrouve également l'acide ruménique (**AR**) ou c9, t11 18:2, un acide gras polyinsaturé, qui est le métabolite principal de l'AV par action d'une Δ^9 -desaturase (Fig. 4) (12). L'acide ruménique appartient à la famille des acides linoléiques conjugués (**CLA**), qui sont des isomères de l'acide linoléique caractérisés par la présence de doubles liaisons conjuguées. Aujourd'hui, dans l'alimentation, les principales sources d'AGT naturels et de CLA sont les produits laitiers et la viande provenant des ruminants.

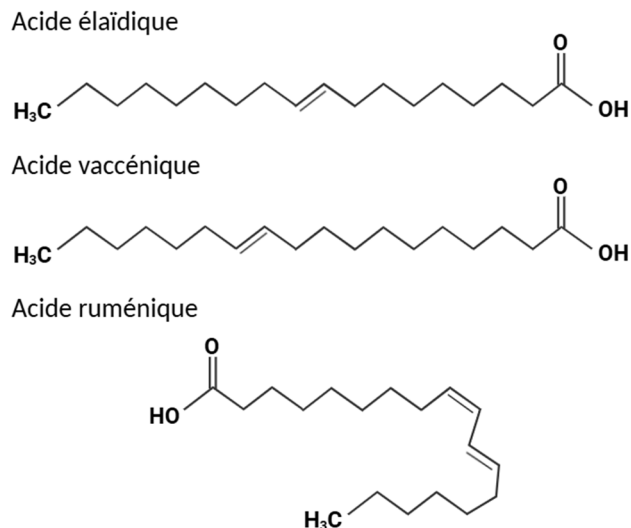


Figure 4 : Représentation chimique de l'acide élaïdique, vaccénique et ruménique. Fait avec Biorender®

Utilisation industrielle

Les AGT possèdent des propriétés physico-chimiques différentes des AGC. Ils présentent notamment une densité et un point de fusion plus élevés, les rendant moins sujets à l'oxydation. Lors du traitement des huiles par les procédés industriels, des températures élevées modifient l'insaturation *cis* en *trans*, permettant ainsi de transformer les graisses liquides à température ambiante en graisses solides ou semi-solides. Cette conversion est souhaitée car, comparativement à la configuration *cis*, la conformation *trans* stabilise l'oxydation, augmente le croustillant des produits frits, apporte de la malléabilité aux pâtes, augmente la tartinabilité des produits ou encore améliore le goût en bouche, qui sont, entre autres, des propriétés recherchées par l'industrie agroalimentaire (13).

B. Les AGT : un enjeu de santé publique

a. Risque cardiovasculaire

Depuis plusieurs décennies, un lien direct entre la consommation d'AGT et l'augmentation des pathologies cardio-vasculaires a été établi. La consommation élevée de graisses *trans* augmente le risque de décès de 34% (toutes maladies cardiovasculaires confondues), de décès par maladie coronarienne de 28% et de survenue de maladie coronarienne de 21% (14). La consommation de ces graisses induit une augmentation des taux des lipoprotéines de faible densité LDL, une diminution des taux des

lipoprotéines de haute densité ou HDL et modifie la composition de ces lipoprotéines. On observe, sur des modèles *in vivo*, une modulation de l'activité du récepteur activé par les proliférateurs de peroxydase gamma (PPAR- γ) et de la lipoprotéine lipase (LPL) notamment, affectant le métabolisme des lipides (15). Ils induisent le développement de plaques d'athérome et contribuent au développement de l'hypercholestérolémie. Il a également été montré, dans des modèles *in vitro* et *in vivo* que les AGT induisent une inflammation ainsi qu'une dysfonction endothéliale, visible suite à l'augmentation de certains marqueurs tels que le facteur de nécrose tumoral alpha (TNF- α), l'interleukine 6 (IL-6), la protéine d'adhésion des cellules vasculaire 1 (VCAM-1) ou encore la molécule d'adhésion intercellulaire 1 (ICAM-1) (16).

b. Politiques de santé publique

Suite à ces observations et l'impact sur la santé cardiovasculaire, l'OMS lance en 2018 une campagne de santé publique nommée « REPLACE ». Ce programme présente 6 domaines d'actions stratégiques ayant pour but de réduire et éliminer rapidement et durablement la présence d'AGTi de l'alimentation. Les gouvernements ont, par la suite, mis en place des politiques de santé publique et des réglementations visant à limiter leur présence dans les aliments transformés par l'industrie agro-alimentaire.

c. Réglementations

Depuis le lancement du programme en 2018, de nombreux gouvernements nationaux ont répondu présent face au message d'alarme de l'OMS. En 2023, le Danemark, la Lituanie, la Pologne, l'Arabie saoudite et la Thaïlande deviennent les 5 premiers pays à recevoir le certificat de validation d'élimination des AGT par l'OMS, démontrant ainsi leur engagement envers l'objectif. Au même moment, 53 pays avaient déjà mis en place des politiques dites de « meilleures pratiques », protégeant 46% de la population mondiale. Ces deux dernières années, trois nouveaux pays (Argentine, Paraguay and Sri Lanka) étaient attendus sur cet objectif (17).

En Europe, 34 pays ont mis en place des politiques de meilleures pratiques. On estime qu'une mise en place efficace de ces politiques permettrait d'éviter, par an, 62% des décès liés à la consommation d'AGT sur le

continent. Concernant la France, elle se plie aux réglementations de l'Union Européenne instaurant une limite maximale de 2g d'AGTi pour 100g de matière grasse totale par produit.

Certaines industries du secteur privé ont également pris part au projet d'élimination des AGT de l'industrie agro-alimentaire. L'alliance internationale de l'alimentation et des boissons (IFBA), regroupant de grandes multinationales telles que Danone®, Mondelez International®, Unilever® ou encore Ferrero®, s'est engagée à ne pas dépasser 2 grammes d'AGT pour 100 grammes d'huiles et de graisses dans leurs produits pour 2023 (IFBA, 2019). Également, en décembre 2021, Cargill®, une entreprise américaine spécialisée dans la fourniture d'ingrédients alimentaires et le commerce de matières premières, devient la première et la seule entreprise d'ingrédients à s'engager à son élimination complète. La compagnie Cargill® annonce en janvier 2024 avoir atteint son objectif, dans l'attente d'une évaluation indépendante (17).

d. Autres effets systémiques

Les effets des AGT sur le système cardiovasculaire ne sont pas les seuls. Des études se sont intéressées à l'impact de la consommation de graisses *trans* sur la santé humaine :

- En 2004, Morris *et al.* se sont intéressés à la consommation de graisse et les changements cognitifs liés à l'âge. Chez les personnes âgées, une alimentation riche en graisses saturées, *trans*-insaturées ou pauvre en graisses insaturées pourrait être associée à un déclin cognitif (18).
- Chavarro *et al.* ont montré, en 2006, que la consommation d'AGT pourrait augmenter le risque d'infertilité ovulatoire (19).
- La consommation de graisses *trans* pendant la grossesse et la lactation semble avoir un impact négatif sur le développement normal du fœtus. Des problèmes de croissance, altérations somatiques, perturbations du métabolisme des AG essentiels pourraient être associés à la consommation maternelle d'AGT. Des observations ont également été faites sur le risque accru, de ces nouveau-nés, de développer des maladies métaboliques au cours de leur vie (20–23).

- La consommation d'AGT pourrait également être corrélée à une augmentation du risque de survenue de diabète de type 2. Néanmoins, les résultats des différentes études cliniques et épidémiologiques ne vont pas toutes dans le même sens (24–26).
- Enfin, de nombreux arguments cliniques et épidémiologiques plaident aujourd'hui en faveur d'un surrisque de survenue de certains cancers lié à la consommation de ces graisses *trans*.

L'ensemble de ces observations suggère que les AGT pourraient avoir un impact néfaste majeur sur la santé humaine.

C. Cancer et nutrition

a. Epidémiologie

Le cancer est l'une des principales causes de morbidité et mortalité dans le monde. Avec près de 20 millions de nouveaux cas et 9,7 millions de décès enregistrés dans le monde en 2022 (d'après le CIRC) (27), il représente un enjeu majeur de santé publique. Parmi les facteurs de risque modifiables imputables au cancer, on retrouve la nutrition (5,4%) en 3^{ème} position, derrière le tabac (19,8%) et l'alcool (8%) (28).

b. Impact de la nutrition

Les facteurs nutritionnels (regroupant l'alimentation, la consommation d'alcool, l'activité physique, le poids) jouent un rôle important dans la prévention des cancers. Aujourd'hui, la consommation de certains aliments a été associée, avec un niveau de preuve conséquent, à une augmentation ou diminution du risque de développement de certains cancers. Pour exemple, la consommation d'alcool est associée à une augmentation du risque de cancers aérodigestifs supérieurs, de cancer du sein avant et après ménopause, de cancer du foie, estomac et côlon-rectum. D'après l'Institut National du Cancer, une alimentation déséquilibrée serait la cause de 19 000 nouveaux cas par an en France (29). En 2018, le WCRF et AICR publient des recommandations sur l'alimentation mais également sur d'autres facteurs (surpoids/obésité, activité physique, allaitement), basées sur des données scientifiques, ayant pour but de réduire le risque de survenue de cancer en général, en améliorant les comportements et mode de vie. Depuis, des études et méta-analyse ont montré qu'une adhésion à

ces recommandations seraient associée à une diminution du risque de certains cancers (sein, colorectal, ovaire, prostate) (30–32).

c. Acides gras *trans* et cancer

Epidémiologie et clinique

Les récentes données épidémiologiques et cliniques ont mis en évidence, à l'échelle mondiale, une association positive entre la consommation d'AGT et le sur-risque de cancers. Ces études, qu'il s'agissent de méta-analyse, études de cohortes ou cas-témoins, mettent en évidence une corrélation positive entre AGT (consommation ou taux circulants) et un risque accru de cancer de la prostate (33–37), colorectal (36,38–42) et ovaire (43–45). Une tendance positive a également été observée concernant le cancer du sein, particulièrement chez les femmes ménopausées (40,46–50).

Par ailleurs, il semblerait que les AGTi et AGTr n'engendrent pas le même risque. Certaines études ayant évalué séparément la consommation d'AGTi ou d'AGTr, suggèrent que les AGTi sont principalement responsables d'une augmentation du risque de survenue de cancer (37–39,45,51), tandis que les AGTr semblent liés à une diminution du risque ou à une absence d'effets significatifs (38,39,47,52).

Impact sur les biomarqueurs circulants

Afin de comprendre les effets biologiques de ces AGT sur l'homme, certaines de ces études cliniques ont évalué l'impact de ces lipides sur différents biomarqueurs circulants. Ces travaux ont mis en évidence que la consommation d'AGTi ou d'AGT en général, est associée à une élévation de marqueurs inflammatoires et de protéines d'adhérence cellulaire suggérant une possible dysfonction endothéliale. En effet une augmentation de cytokines telles que le TNF- α et ses récepteurs (TNF-R1 et TNF-R2), de la CRP, de l'IL-6 ainsi que des molécules d'adhérence comme l'E-selectin, sICAM, sVCAM a été observée (53–57). Ces mêmes travaux ont par ailleurs mis en évidence une augmentation du marqueur de l'oxydation, 8-iso-PGF2 α , associé à la consommation d'AGT (58,59). Ce marqueur met en évidence un stress oxydatif ainsi que des dommages oxydatifs aux lipides.

D. Contexte et objectifs

Malgré des arguments cliniques et épidémiologiques très convaincants, suggérant un surrisque de cancers associés à la consommation d'AGT, les mécanismes cellulaires mis en jeu par la cellule face aux AGT restent très peu explorés. C'est donc dans un contexte de santé publique alarmant que s'inscrivent ces travaux de recherche.

L'objectif de ce travail est, dans un premier temps, d'explorer l'effet de 3 AGT, un industriel (AE) et deux naturels (AV et AR), sur différentes lignées cancéreuses : pulmonaire (A549), sein (MCF-7 et MDA MB 231), prostate (PC3), ostéosarcome (MNNG-HOS), endomètre (COV 362), et mélanome (A375). Dans un second temps, l'objectif est de clarifier les mécanismes cellulaires en étudiant le profil kinomique des A549 et MCF7 après traitement par AGT, afin de déterminer les possibles voies de signalisation impliquées.

II. Matériels et méthodes

A. Réactifs et matériels

Les différentes lignées utilisées sont présentées et décrites dans le Tableau I. Toutes les lignées proviennent de l'American Tissue Cell Collection (ATCC, Molsheim, France) à l'exception des COV 362 de Sigma-Aldrich (Saint Quentin Fallavier, France). Ces lignées ont été choisies afin de réaliser un large screening, sur différentes localisations, en fonction des lignées disponibles au sein de notre laboratoire.

La L-Glutamine, PBS et Trypsine-EDTA proviennent de chez Dutscher (Bernolsheim, France) à l'exception du SVF de chez Eurobio (Les Ulis, France).

L'acide élaïdique (CAS no. 112-79-8, AE) et l'acide *trans*-vaccénique (CAS no. 693-72-1, AV) ont été achetés chez Sigma-Aldrich (Saint-Quentin Fallavier, France), l'acide ruménique (CAS no. 2540-56-9, AR) a été acheté chez Cayman Chemical (Bertin Technologies, Montigny Le Bretonneux, France). Les solutions d'acides gras *trans* ont été préparées à 50mM dans du DMSO (Biosolve Dieuze, France), aliquotées et stockées à -20°C.

Le MTT provient de chez Sigma-Aldrich (#MKCD8033, Saint-Quentin Fallavier, France), les plaques utilisées pour les tests MTT sont les plaques 96 puits à fond plat de chez Corning Incorporated (Pontchâteau, France). Le lecteur de plaque Victor Nivo PerkinElmer vient de chez Dutscher (Bernolsheim, France).

Tout le matériel utilisé pour le xCELLigence® provient de Agilent et ACEA (Santa Clara CA, USA). Tout le matériel et réactif utilisé pour le test du kinome provient du kit (# : ARY003C) de chez R&D Systems (Minneapolis, MN, USA), la lecture est faite grâce au système d'imagerie Fusion FX de Vilber Lourmat (Sté Collégien, France).

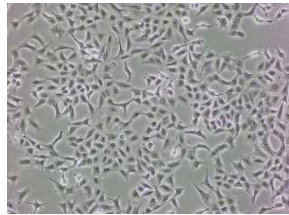
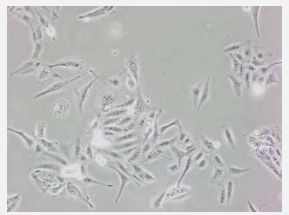
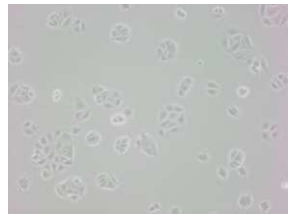
Le tampon RIPA est préparé selon le protocole suivant (50mM Tris-HCl pH 8.0 ; 150mM NaCl ; 0,1% Triton X-100 ; 0,5% désoxycholate de sodium ; 0,1% SDS (Sodium dodecyl sulphate)) ainsi que le tampon de charge Laemmli 2X (0.125 M Tris-HCl pH6,8 ; 4% SDS ; 20% glycérol ; 10% 2-mercaptoéthanol ; 0,004% bleu de bromophénol) et le TBST (Tris-buffered saline, 0,1% Tween 20). La BSA provient de Sigma-Aldrich (Saint-Quentin Fallavier, France), les inhibiteurs de protéases et phosphatases ainsi que les réactifs du BCAssay proviennent de chez Thermo Fisher Scientific (St Herblain, France). La membrane PVDF Immobilon-P vient de chez Merck (Darmstadt, Allemagne) et le réactif ECL, l'appareil d'imagerie ChemiDoc ainsi que le marqueur de taille viennent de chez Bio Rad (Marnes-la-Coquette, France). Les anticorps anti-Bcl-2 (#13-8800) et Caspase 3 (#MA1-91637) viennent de chez Invitrogen (Thermo Fisher Scientific, St

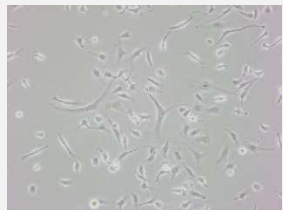
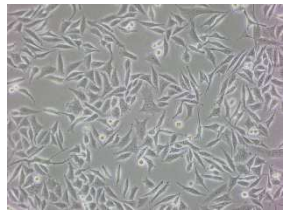
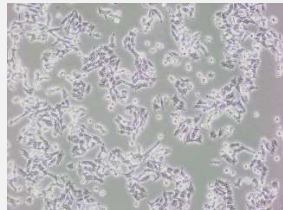
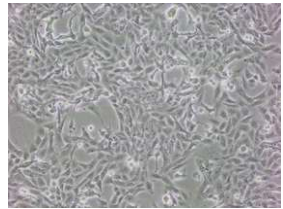
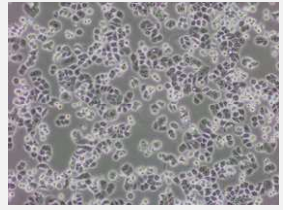
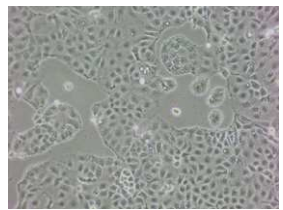
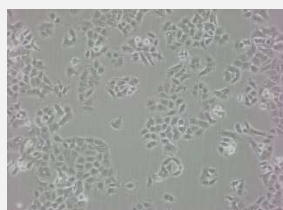
Herblain, France). Les anticorps anti-mouse (#70765) et anti-actine (#3700S) proviennent de chez Cell Signaling (Ozyme, Saint-Cyr-L'Ecole, France).

B. Culture cellulaire

Les cellules sont maintenues en culture dans leur milieu de culture (Tabl. I) supplémentées avec 1% de L-Glutamine et 5% de SVF. Lors de la décongélation, les cellules sont cultivées à 10% de SVF avant de réduire à 5%. Toutes les cellules sont incubées à 37°C dans un atmosphère humidifié contrôlé à 5% de CO₂. Elles sont décollées et réensemencées tous les 3 à 4 jours à une concentration leur permettant de ne pas dépasser 80% de confluence. Lors du passage, les cellules sont lavées au PBS (3mL) et décollées à l'aide de Trypsine-EDTA (3mL). Une fois décollées, les cellules sont diluées (afin d'inhiber la trypsine) dans du milieu de culture (5mL) avant d'être centrifugées 5 min à 300g. Une fois le surnageant éliminé, elles sont reprises dans 1ml de milieu et réensemencées dans une flasque (T25 ou T75) contenant du milieu de culture approprié (6mL pour une T25 et 12mL pour une T75). Le SVF utilisé est préalablement décomplémenté à 56°C pendant 30min.

Tableau I : Description des lignées cellulaires et milieu de culture utilisée

Lignée	Description	Milieu de culture	Aspect des cellules
A549	Cellules épithéliales humaines d'adénocarcinome pulmonaire non à petites cellules	DMEM high glucose + 5% SVF	
COV362	Cellules humaines d'adénocarcinome séreux ovarien de haut grade	DMEM high glucose + 5% SVF	
MCF-7	Cellules épithéliales humaines de carcinome mammaire invasif (ER + PR+)	EMEM + 5% SVF	

MDA MB 231	Cellules épithéliales humaines d'adénocarcinome mammaire triple négatif	DMEM high glucose + 5% SVF	
PC3	Cellules épithéliales humaines d'adénocarcinome prostatique de grade IV	RPMI + 5% SVF	
A375	Cellules épithéliales humaines de mélanome amélanotique	DMEM high glucose + 5% SVF	
MNNG HOS	Cellules humaines d'ostéosarcome	DMEM high glucose + 5% SVF	
HT29	Cellules humaines d'adénocarcinome colorectal	DMEM high glucose + 5% SVF	
Caco2	Cellules humaines d'adénocarcinome colorectal	DMEM high glucose + 5% SVF	
Shin3	Cellules humaines de cystadénocarcinome séreux ovarien	RPMI + 5% SVF	

C. Evaluation de la viabilité et de la prolifération cellulaire par test MTT

Le test MTT décrit par Mosmann (1983) (60) mesure l'activité métabolique mitochondriale des cellules en évaluant l'activité de la succinate déshydrogénase. La mitochondrie produit cette enzyme qui vient réduire le sel de tétrazolium (MTT) jaune et soluble dans l'eau, en cristaux de formazan violet et insolubles dans l'eau (61). Les cristaux de formazan sont dissous par un solvant organique, le DMSO, laissant paraître une solution violette. L'absorbance est alors mesurée à 570 nm (longueur d'onde d'absorbance du formazan dissous). Plus les cellules sont vivantes et ont un métabolisme mitochondriale actif, plus le nombre de cristaux produit est important et plus l'absorbance augmente.

Les cellules sontensemencées à des concentrations différentes selon les lignées (Tabl. II), dans 100µL, sur une plaque 96 puits à fond plat et incubées (37°C à 5% de CO₂) pendant la nuit pour permettre aux cellules d'adhérer au fond des puits. Le milieu est retiré et remplacé par soit du milieu de culture sans AGT (0µM), du milieu de culture avec 0,4% de DMSO ou 100µL d'AE, AR ou AV à 1, 10 ou 100µM, suspendus dans le milieu de culture approprié (Tabl. I). Après 96h, 10µL de MTT est ajouté dans chaque puits suivi de 3h d'incubation. Le milieu de chaque puits est retiré et remplacé par 200µL de DMSO. La plaque est mise sur agitateur pendant 15min avant la lecture de l'absorbance à 570nm et 630nm (bruit de fond) au Victor Nivo PerkinElmer. Les tests ont été réalisés en quadruplicates, trois fois (n= 3). Les résultats ont été analysés sur Excel® puis mis en forme sur Prism®.

D. Evaluation de la prolifération cellulaire par impédancemétrie

La méthode xCELLigence propose une approche quantitative permettant le suivi et l'analyse en temps réel d'informations concernant l'état biologique des cellules (adhérence, prolifération, morphologie, viabilité, ...). Cette méthode d'analyse utilise des plaques de culture (E-plates) possédant des microélectrodes en or à leur base, posées sur un appareil permettant le passage d'un courant électrique. Ces microélectrodes sont reliées à un ordinateur qui mesure la différence d'impédance au sein même du circuit électrique. Cette différence peut être influencée par le nombre de cellules, leur taille, le substrat utilisé ou l'attachement cellule-cellule (62,63).

Des tests préliminaires ont été réalisés afin de déterminer la concentration optimale de cellules à ensemercer. 25µL de milieu de culture ont été ajoutés dans chaque puits afin de réaliser une mesure de base de l'impédance. Les cellules ont étéensemencées à des concentrations différentes selon la lignée cellulaire (Tabl. II) dans 75µL de milieu de culture pendant 4h dans une plaque xCELLigence® E-Plate PET 96 ou 16. 100µL d'AGT (AE, AR ou AV) préalablement dissous dans du DMSO à trois concentrations (1µM, 10µM, 100µM) ont par la suite été ajoutés. Ces concentrations nous permettent d'avoir une large plage pour étudier une éventuelle réponse concentration-dépendante. Afin de respecter le timing de l'ajout de substrats, les courbes de prolifération ont été normalisées. La prolifération a été surveillée toutes les 30min pendant 96h à l'aide d'un instrument RTCA. Ce test a été réalisé en quadruplicat en n=1. L'effet du DMSO sur la prolifération cellulaire a été évalué en utilisant la plus forte concentration de DMSO utilisée avec les substrats (dans 100µM, DMSO à 0,4% (v/v)).

Tableau II : Concentration cellulaire utilisée en fonction de la technique et de la lignée cellulaire

Lignées cellulaires	[Cellulaire MTT] (nombre de cellules/puits)	[Cellulaire xCELLigence] (nombre de cellules/puits)
MNNG HOS	3 000	10 000
A549	3 000	10 000
PC3	6 000	20 000
A375	1 500	7 500
MCF-7	3 000	10 000
MDA MB 231	3 000	10 000
COV 362	6 000	20 000
Shin 3	6 000	20 000

E. Analyse kinomique par puce protéique

Le kit Proteome Profiler Human Phospho-Kinase Array Kit est utilisé pour évaluer simultanément les modifications de taux de phosphorylation de 37 kinases humaines et 2 protéines totales sur des lignées cellulaires dont la prolifération est impactée par les AGT. Des anticorps spécifiques des kinases d'intérêt et ceux de contrôle sont présents en duplicates sur des membranes de nitrocellulose (puces). Le surnageant des lysats cellulaires des cellules

préalablement traitées, sont déposés sur les membranes suivi d'un cocktail d'anticorps de détection biotinylés. Les réactifs de détection sont par la suite appliqués et un signal est produit à chaque point de capture correspondant à la quantité de protéine phosphorylée liée (Fig. 6).

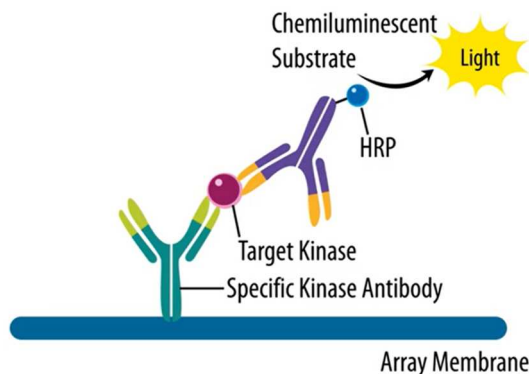


Figure 5 : Principe du kit Proteome Profiler Human Phospho-Kinase Array (64)

Ce kit a été utilisé avec les cellules A549 traitées avec de l'acide ruménique à 10 μ M et MCF-7 avec l'acide élaïdique à 100 μ M. Les lysats cellulaires ont été dilués (334 μ L de lysats pour 2mL) et incubés (1mL) pendant une nuit sur les membranes de nitrocellulose pour permettre la fixation des protéines sur les anticorps spécifiques (dirigés contre les sites de phosphorylations). Les membranes sont lavées et incubées avec 20 μ L de cocktail d'anticorps de détection biotinylés. Après lavage, 1mL de streptavidine-horseradish peroxydase (HRP) dilué suivi de 1mL de réactif de détection de chemiluminescence sont ensuite appliqués. Les signaux ont été détectés à l'aide d'un système d'imagerie Fusion FX. Les résultats ont été analysés par Image J[®] et Excel[®] puis mis en forme sur Prism[®].

F. Evaluation de l'expression de protéines apoptotiques par Western Blot

Le western blot est une méthode semi-quantitative permettant la détection de protéines spécifiques à partir d'un lysat cellulaire. Les cellules sont ensemencées en T25 et une privation de sérum a été réalisée la veille au soir dans leur milieu de culture à 1% de SVF. Le lendemain elles sont traitées, incubées pendant 6h, puis le culot cellulaire est récupéré. Les cellules sont lysées à l'aide d'un tampon RIPA supplémenté avec un

inhibiteur de protéases et phosphatases afin d'éviter la dégradation des protéines. Après une incubation de 1h, les échantillons sont centrifugés 15min à 14 000g à 4°C afin de récupérer le surnageant. Les suspensions de protéines sont dosées par BCAssay selon le protocole du fournisseur. 30µg de protéines sont ensuite repris avec un tampon de charge Laemmli 2X et chauffés à 95°C pendant 5 min pour dénaturer les protéines. Les protéines migrent par électrophorèse pendant environ 2h à 70V sur un gel de polyacrylamide 10% afin d'être séparées. Une fois séparées, les protéines sont transférées grâce à un courant électrique (du - vers le +) sur une membrane PVDF à l'aide d'un système de transfert, pendant 2h à 150 mA. La membrane est ensuite bloquée dans une solution de TBST-5% de BSA pendant 1h à température ambiante sous agitation afin de saturer la membrane et d'éviter les liaisons non spécifiques. L'anticorps primaire est incubé sur la nuit à 4°C. Après 3 lavages de 10 min au TBST, la membrane est incubée pendant 1h à température ambiante avec l'anticorps secondaire. La membrane est révélée à l'aide d'une solution ECL sur un appareil d'imagerie ChemiDoc par chemoluminescence. Les anticorps primaires utilisés sont l'anticorps anti-Bcl-2 dilué à 1 : 5000 dans la solution de blocage (TBST-BSA 1%) et l'anticorps anti-caspase 3 dilué à 1 : 5000 dans la solution de blocage. L'anticorps secondaire utilisé est l'anticorps anti-mouse dilué à 1 : 10 000 dans la solution de blocage. Un anticorps anti-actine (protéine ubiquitaire) est utilisé, dilué au 1 : 10000 dans la solution de blocage, comme contrôle de charge et un marqueur de taille est également utilisé afin de visualiser le poids moléculaire des protéines d'intérêts.

G. Mise en forme des données et analyses statistiques

L'ensemble des expérimentations de viabilité et de prolifération a été réalisé en quadruplicat (résultats exprimés en moyenne +/- écart-type).

L'analyse statistique des tests MTT a été réalisée par un test non paramétrique Mann Whitney (Prism®), permettant la comparaison vis-à-vis du contrôle, de la viabilité cellulaire en fonction des différents traitements.

Concernant la représentation des résultats obtenus par xCELLigence®, ils sont exprimés en "Cell Index" (CI). Cette valeur correspond aux transcrits des données d'impédancemétrie.

Les données sont normalisées par rapport à l'impédancemétrie mesurée au temps 0 de dépôt des solutions d'acides gras pour une concentration donnée, exprimée sous forme "Normalized". Cette normalisation permet la comparaison des données selon les concentrations de substrat. Les graphiques avec les courbes sont représentés en "Normalized Cell Index" en fonction du temps.

Les résultats du kinome sont représentés graphiquement en pourcentage de variation par rapport au contrôle, celui-ci défini à 0% comme valeur de référence. Les valeurs positives correspondent à une hyperphosphorylation et les valeurs négatives à une hypophosphorylation.

III. Résultats

A. Etude de prolifération cellulaire et cytotoxicité

Les lignées cellulaires choisies ont été sélectionnées sur la base de leur représentation clinique. En effet, nous avons pour objectif d'évaluer l'effet des AGT sur un panel hétérogène de cancers fréquemment rencontrés en clinique. Ce screening nous permet d'avoir une vue d'ensemble de l'effet des AGT sur la prolifération cellulaire et d'observer ou non des différences et spécificités tissulaires.

a. Effets des AGT sur des cellules cancéreuses pulmonaires (A549)

La lignée A549 est issue d'un cancer pulmonaire à non petites cellules (CPNPC), ce type de tumeur représente environ 85% des cancers du poumon.

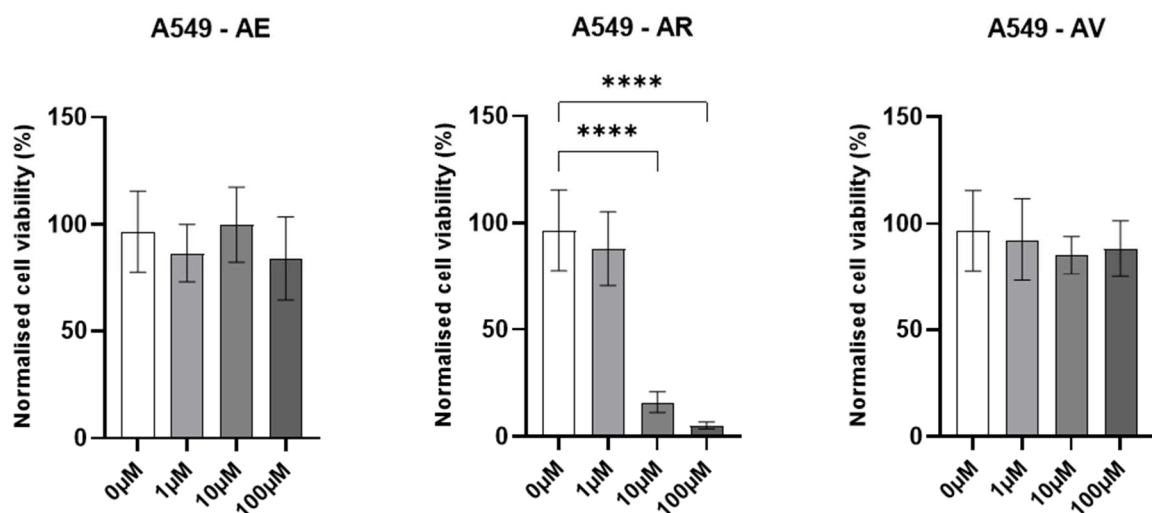


Figure 6 : Effet de l'acide élaidique (AE), acide ruménique (AR) et acide vaccénique (AV) à différentes concentrations sur la viabilité des cellules A549 sur 96h par test MTT (n=3). Test de Mann Whitney. **** $p < 0,0001$

Les résultats obtenus par MTT, suggèrent que l'acide ruménique à 100 μM induit une diminution significative ($p < 0.0001$) de la viabilité cellulaire tumorale des A549. Il semble également n'y avoir aucun effet de l'AE et de l'AV (Fig. 7).

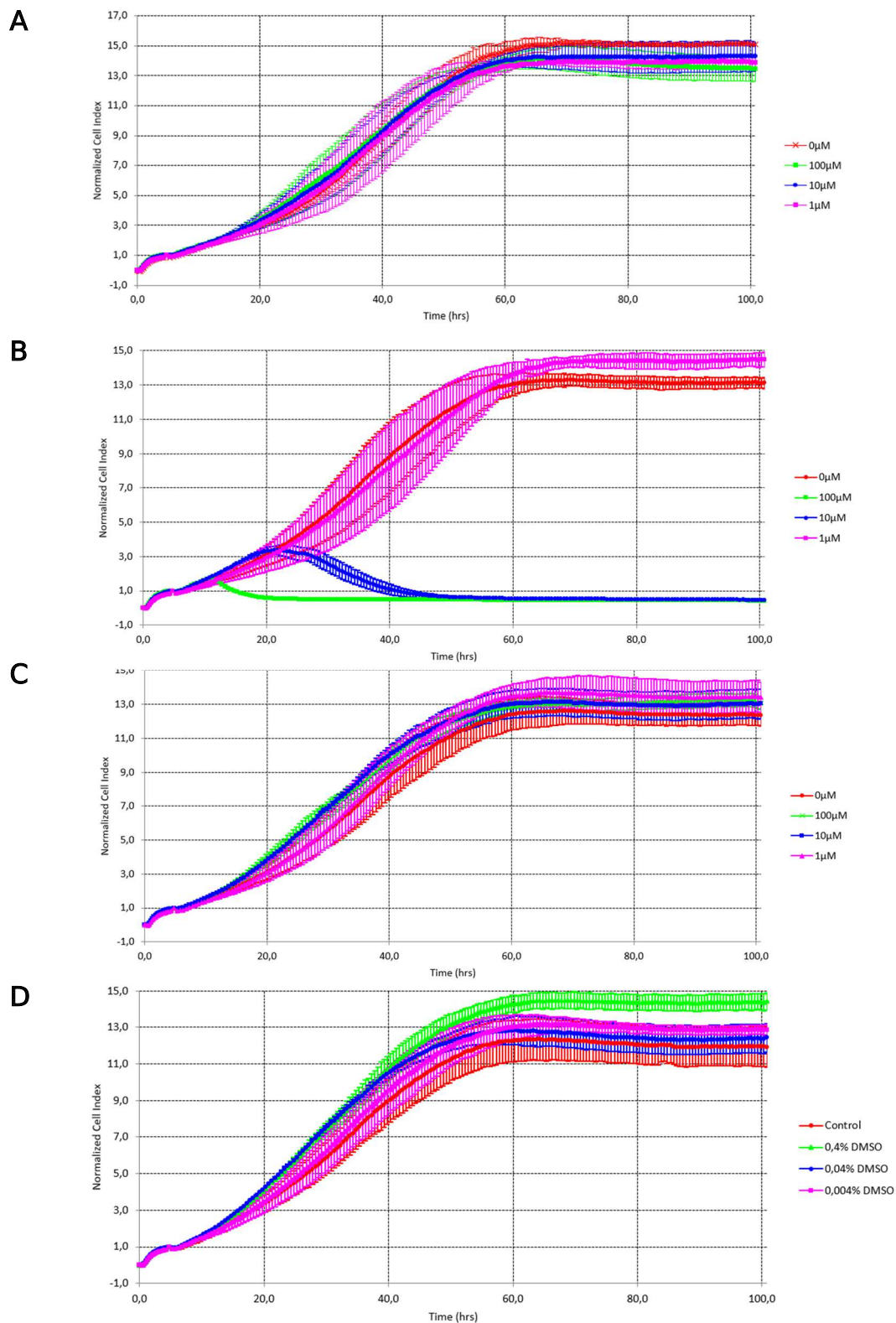


Figure 7 : Effet de (A) l'acide élaidique (AE), (B) acide ruménique (AR), (C) acide vaccénique (AV) et (D) du DMSO à différentes concentrations sur la prolifération des cellules A549 sur 96h par méthode xCELLigence® (n=1), en quadruplicats.

Les résultats du MTT ont été confirmés par méthode xCELLigence®. En effet, on observe une diminution importante de la prolifération cellulaire à 10 et 100μM d'AR, l'effet est visible aux alentours de 13h à 100μM et de

20h à 10µM. Il semble n'y avoir aucun effet de l'AE et AV sur la prolifération des A549 (Fig. 8).

b. Effets des AGT sur des cellules de mélanome (A375)

La lignée A375 provient d'un mélanome cutané, ce sont des cellules fréquemment utilisées comme modèle de mélanome. Cette lignée en particulier présente un cancer ayant une incidence croissante et une survie impactée à l'état métastatique.

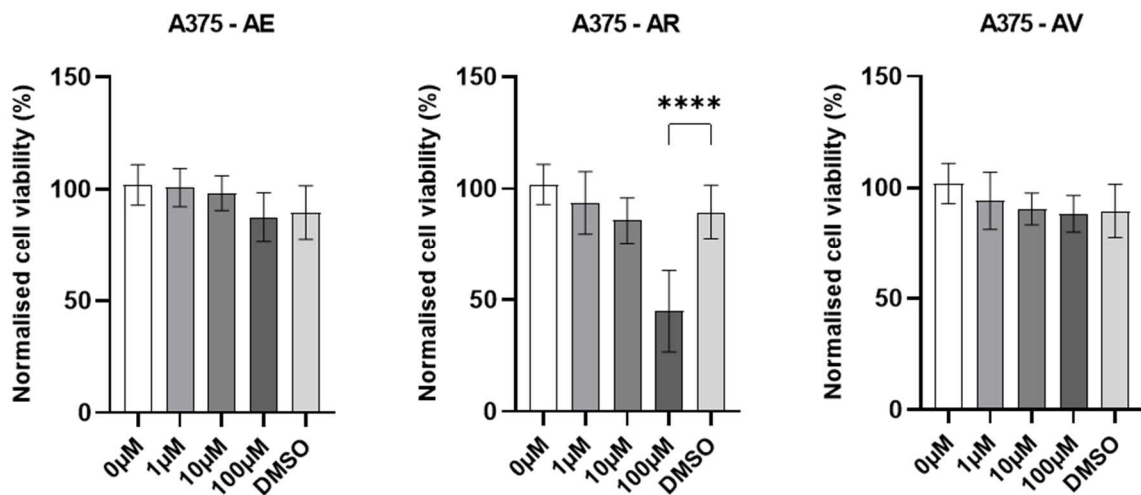


Figure 8 : Effet de l'acide élaïdique (AE), acide ruménique (AR) et acide vaccénique (AV) à différentes concentrations sur la viabilité des cellules A375 sur 96h par test MTT (n=3). Test de Mann Whitney. ****p<0,0001

Les résultats obtenus par MTT, suggèrent que l'acide ruménique à 100µM induit une diminution significative ($p < 0.0001$) de la viabilité cellulaire tumorale des A375. Il semble n'y avoir aucun effet de l'AE et AV (Fig. 9).

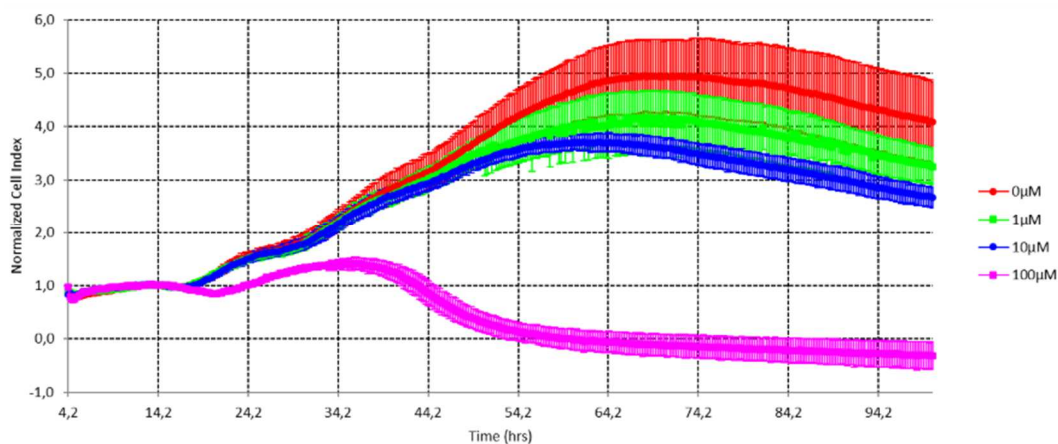


Figure 9 : Effet de l'acide ruménique (AR) à différentes concentrations sur la prolifération des cellules A375 sur 96h par méthode xCELLigence® (n=1), en quadruplicats.

Les résultats obtenus par méthode xCELLigence semble montrer une inhibition de la prolifération de la lignée A375 à 100µM par acide ruménique. Ces résultats viennent confirmer les premières observations en MTT (Fig. 10).

c. Effets des AGT sur des cellules cancéreuses d'ostéosarcome (MNNG HOS)

La lignée MNNG-HOS dérive d'un ostéosarcome, le cancer osseux le plus fréquent notamment chez les jeunes adultes.

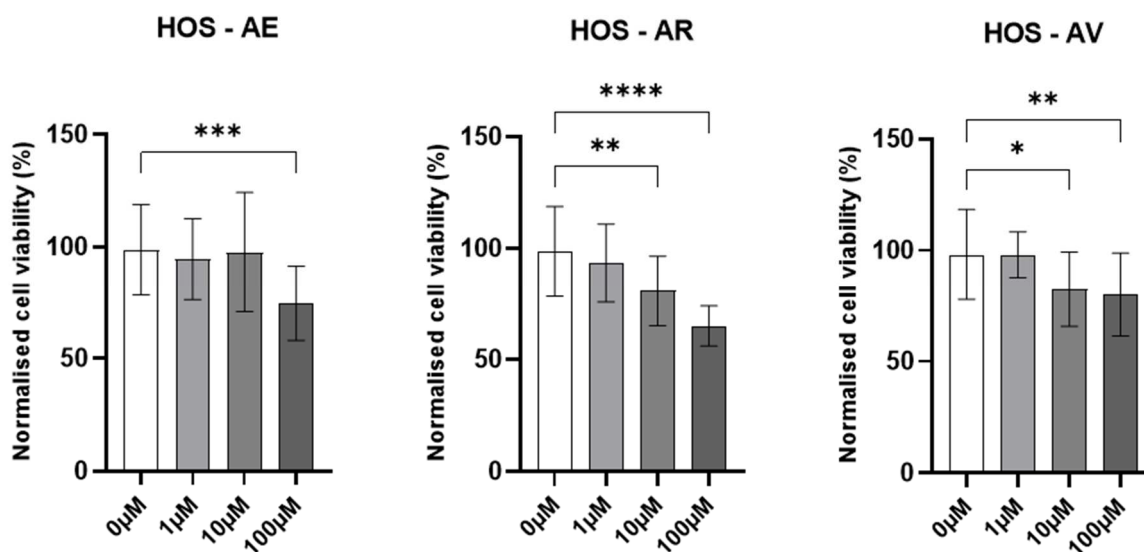


Figure 10 : Effet de l'acide élaïdique (AE), acide ruménique (AR) et acide vaccénique (AV) à différentes concentrations sur la viabilité des cellules MNNG HOS sur 96h par test MTT (n=3). Test de Mann Whitney. * $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$ **** $p < 0,0001$

Les résultats obtenus par MTT, suggèrent que l'acide élaïdique, ruménique et vaccénique à 100µM et 10µM (sauf l'acide élaïdique) induisent une diminution significative (AV à 10µM $p < 0.05$, AR à 10µM et AV à 100µM $p < 0.01$, AE à 100µM $p < 0.001$, AR à 100µM $p < 0.0001$) de la viabilité cellulaire tumorale des MNNG HOS (Fig. 11) malgré des écart-types importants.

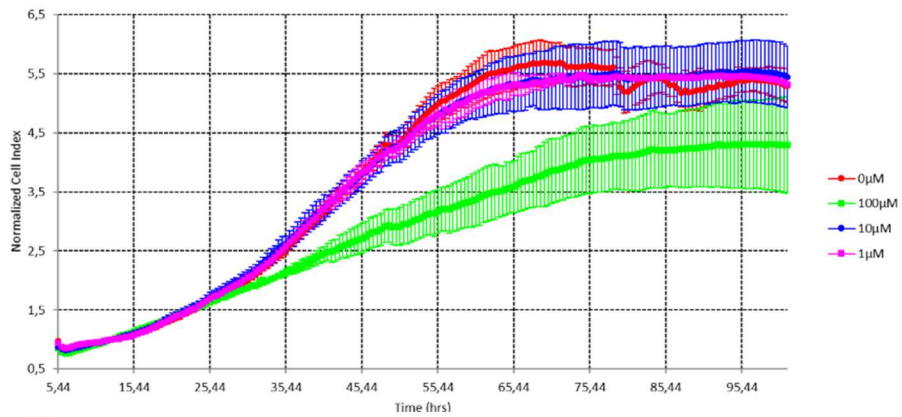
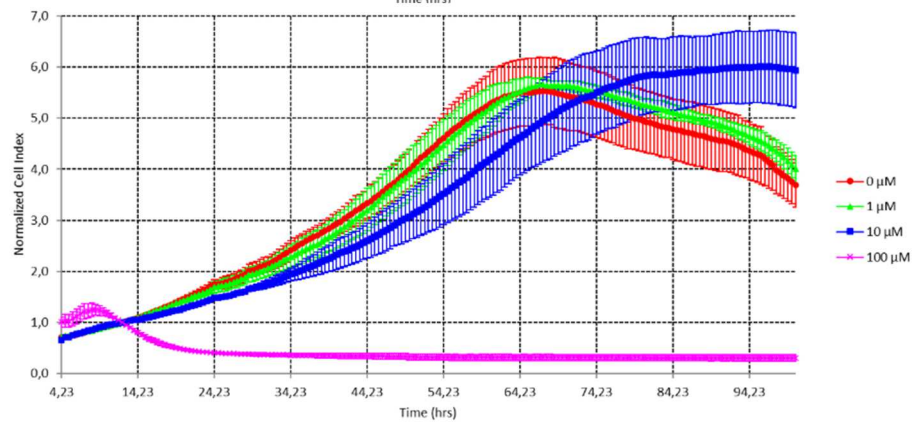
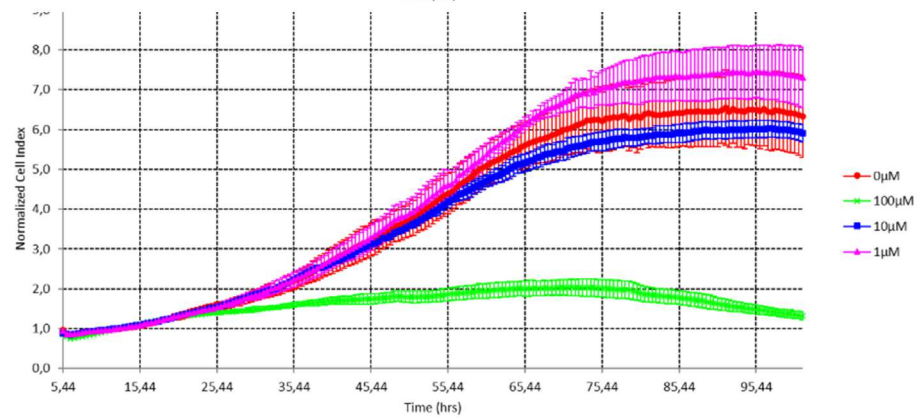
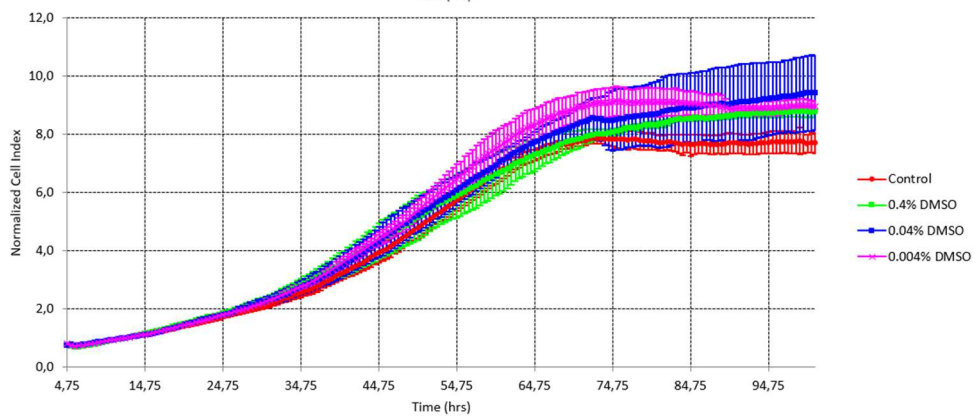
A**B****C****D**

Figure 11 : Effet de (A) l'acide élaïdique (AE), (B) acide ruménique (AR), (C) acide vaccénique (AV) et (D) du DMSO à différentes concentrations sur la prolifération des cellules MNNG HOS sur 96h par méthode xCELLigence® (n=1), en quadruplicats.

Les résultats obtenus en MTT ont été confirmés par méthode xCELLigence® où on observe une diminution de la prolifération cellulaire à 100µM pour les trois AGT, ainsi qu'une possible légère diminution de prolifération à 10µM par AR. En revanche, à 10µM, l'AV ne semble pas induire de diminution de prolifération, contrairement aux résultats du MTT (Fig 12).

d. Effets des AGT sur des cellules cancéreuses de sein HER2- (MCF-7)

La lignée MCF-7 provient d'un carcinome canalaire infiltrant, c'est une lignée de cancer du sein hormonodépendante et représente ainsi la forme la plus fréquente du cancer du sein.

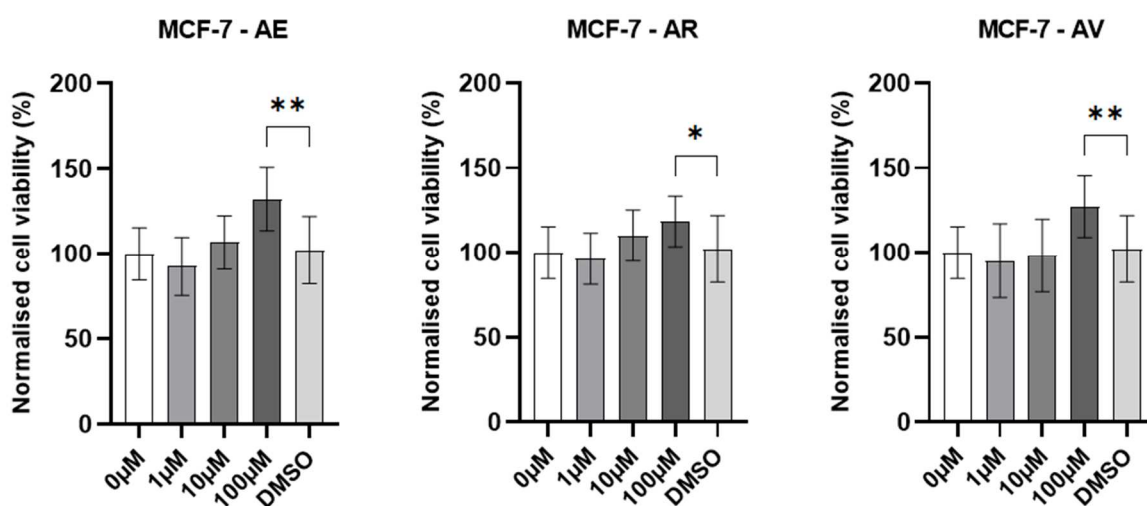


Figure 12 : Effet de l'acide élaïdique (AE), acide ruménique (AR) et acide vaccénique (AV) à différentes concentrations sur la viabilité des cellules MCF-7 sur 96h par test MTT (n=2). *p<0,05 **p<0,01

D'après les résultats obtenus par MTT, il semblerait que les acides élaïdique, ruménique et vaccénique à 100µM puissent induire une légère augmentation de la viabilité cellulaire tumorale des MCF-7 (Fig. 13).

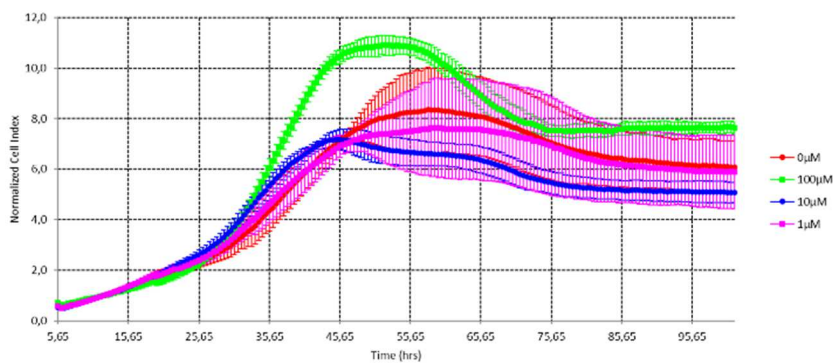
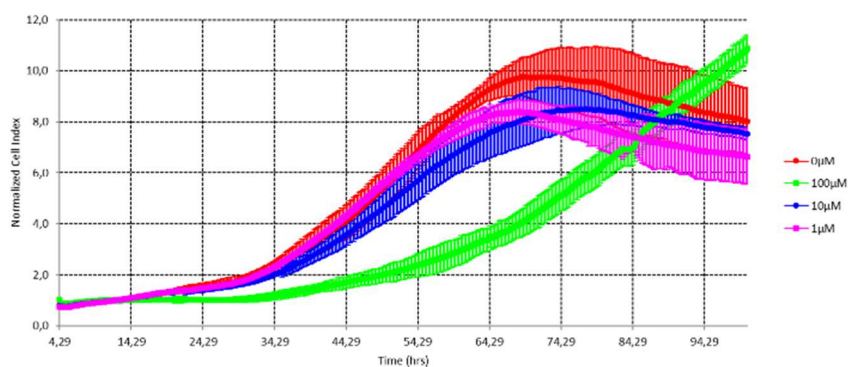
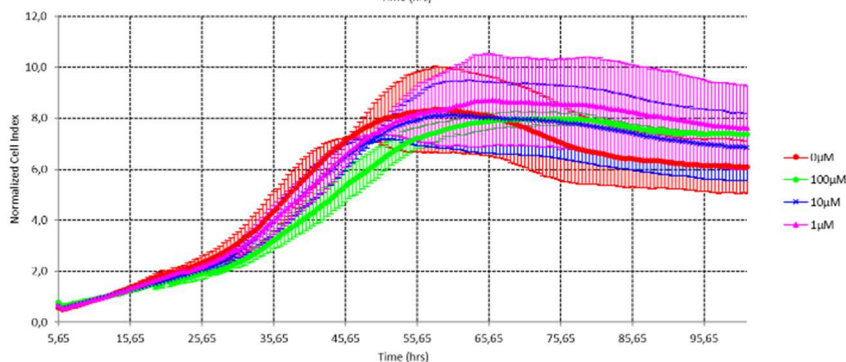
A**B****C**

Figure 13 : Effet de (A) l'acide élaidique (AE), (B) acide ruménique (AR) et (C) acide vaccénique (AV) à différentes concentrations sur la prolifération des cellules MCF-7 sur 96h par méthode xCELLigence® (n=1), en quadruplicats.

Les résultats des tests MTT ont été confirmés par méthode xCELLigence® pour l'AE (Fig. 9). En effet, on observe une nette augmentation de la croissance par AE à 100µM, mais il ne semble pas y avoir de différence de croissance avec l'AV. Concernant l'AR, on observe un ralentissement de la croissance dans un premier temps suivi d'une augmentation à partir d'environ 85h (Fig. 14).

e. Effets des AGT sur des cellules cancéreuses de sein triple négatif (MDA MB 231)

La lignée MDA MB 231 dérive d'un cancer du sein triple négatif, il représente l'un des sous-types les plus agressifs de cancer du sein.

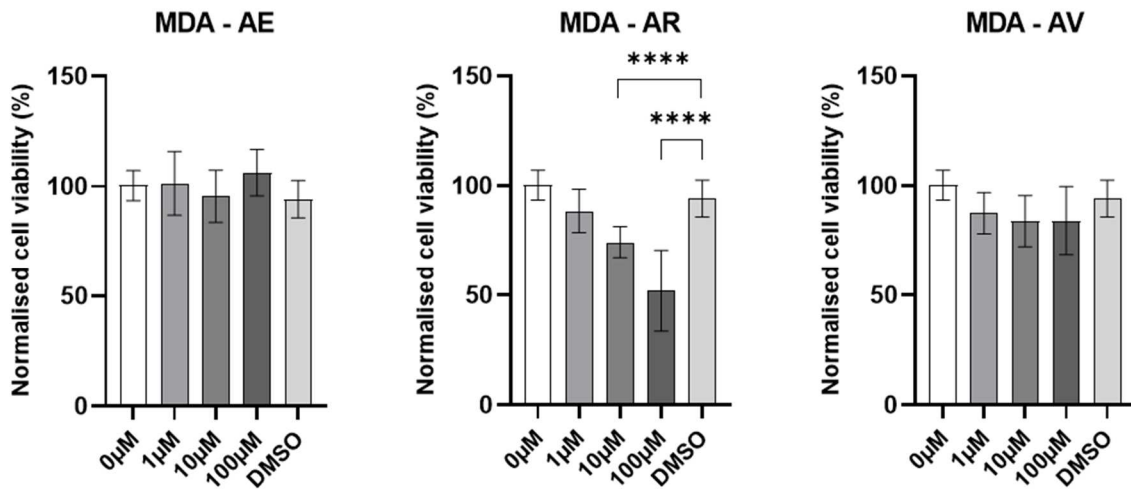
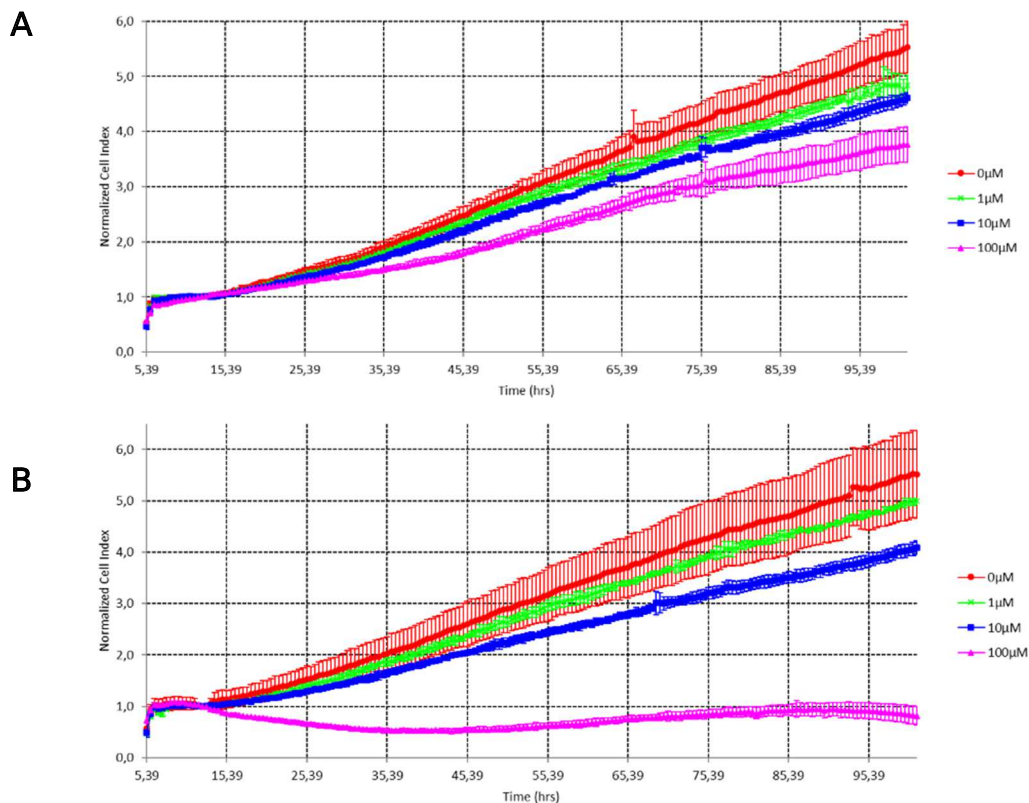


Figure 14 : Effet de l'acide élaïdique (AE), acide ruménique (AR) et acide vaccénique (AV) à différentes concentrations sur la viabilité des cellules MDA MB 231 sur 96h par test MTT (n=3). Test de Mann Whitney. **** $p < 0,0001$

Les résultats obtenus par MTT suggèrent que l'acide ruménique à 100μM induit une diminution significative ($p < 0.0001$) de la viabilité cellulaire tumorale des MDA MB 231. L'acide élaïdique et vaccénique ne semblent pas avoir d'impact sur la viabilité des MDA MB 231 (Fig. 15).



C

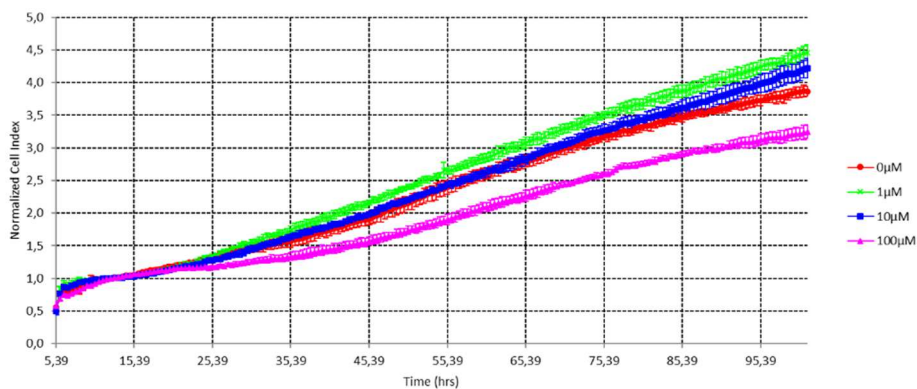


Figure 15 : Effet de (A) l'acide élaïdique (AE), (B) acide ruménique (AR) et (C) acide vaccénique (AV) à différentes concentrations sur la prolifération des cellules MDA MB 231 sur 96h par méthode xCELLigence® (n=1), en quadruplicats.

Ces résultats ont été confirmés par méthode xCELLigence®, on observe une diminution importante de la prolifération des cellules par AR à 100µM. Il semble également y avoir une légère diminution de la prolifération à 100µM par AE et AV mais non observé par MTT (Fig. 16).

f. Effets des AGT sur des cellules cancéreuses de prostate (PC3)

La lignée PC3 correspond à un adénocarcinome prostatique de stade 4. L'adénocarcinome prostatique représente une des formes les plus fréquentes de cancer de la prostate.

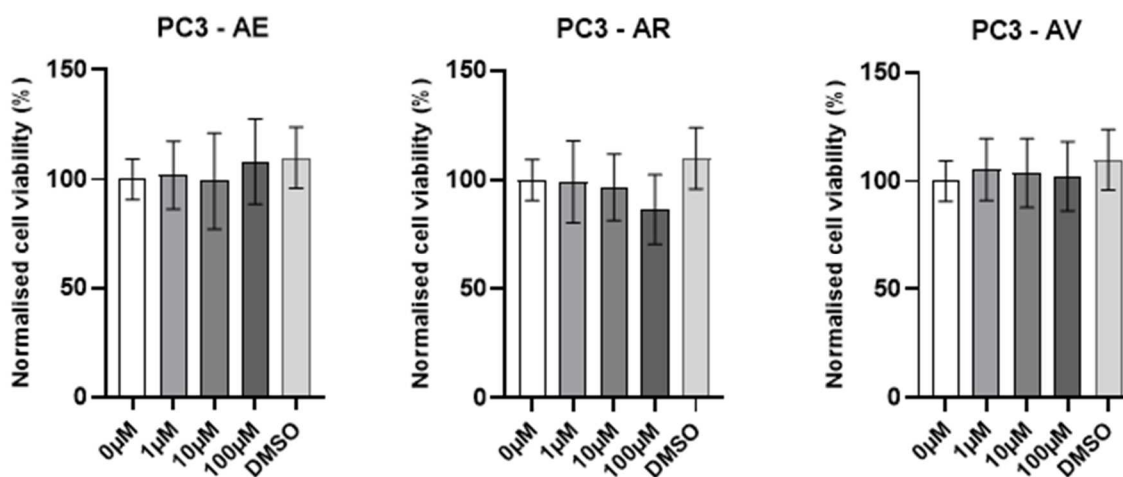


Figure 16 : Effet de l'acide élaïdique (AE), acide ruménique (AR) et acide vaccénique (AV) à différentes concentrations sur la viabilité des cellules PC3 sur 96h par test MTT (n=3). Test de Mann Whitney.

Les résultats obtenus par MTT suggèrent que les acides élaïdique, ruménique et vaccénique n'induisent pas de changement significatif de la viabilité cellulaire tumorale des PC3 (Fig. 17). Les écart-types sont assez

importants pour certaines conditions ; il nous est donc impossible de conclure. Le test pourrait donc être refait afin de réduire ces écart-types.

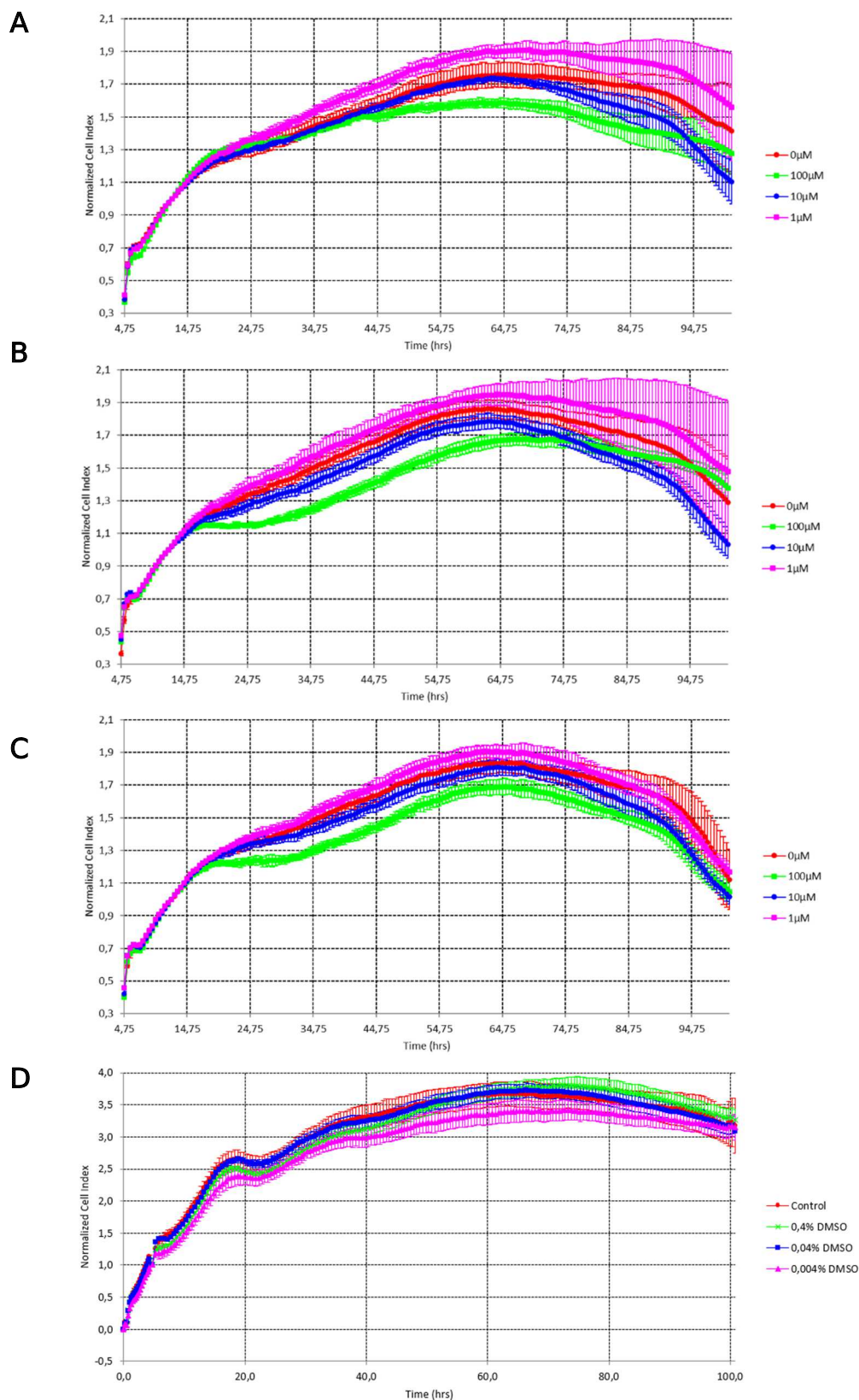


Figure 17 : Effet de (A) l'acide élaidique (AE), (B) acide ruménique (AR), (C) acide vaccénique (AV) et (D) du DMSO à différentes concentrations sur la prolifération des cellules PC3 sur 96h par méthode xCELLigence® (n=1), en quadruplicats.

Les résultats obtenus par xCELLigence® semblent montrer un très léger ralentissement de la croissance des cellules à 100µM avec les trois AGT mais non présent sur les résultats du MTT (Fig. 18).

g. Effets des AGT sur des cellules cancéreuses ovariennes (COV 362)

La lignée COV362 est issue d'un carcinome séreux de haut garde, un sous-type de cancer de l'ovaire le plus fréquemment retrouvé, c'est également une forme très agressive du cancer ovarien.

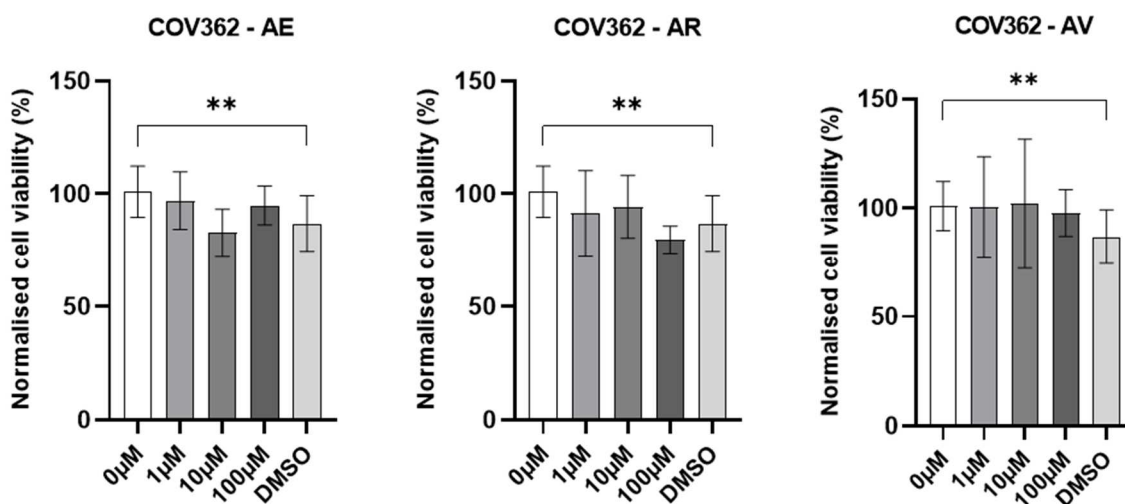


Figure 18 : Effet de l'acide élaïdique (AE), acide ruménique (AR) et acide vaccénique (AV) à différentes concentrations sur la viabilité des cellules COV 362 sur 96h par test MTT (n=3). Test de Mann Whitney. **p<0,01

Les résultats obtenus par MTT suggèrent que les acides élaïdique, ruménique et vaccénique n'induisent pas de changement significatif sur la croissance cellulaire tumorale des COV 362. En revanche, le DMSO semble induire une légère diminution de viabilité (Fig. 19). Les écart-types sont assez importants pour certaines conditions ; il nous est donc impossible de conclure. Le test pourrait donc être refait afin de réduire ces écart-types.

h. Effets des AGT sur des cellules cancéreuses ovariennes (Shin3)

La lignée Shin3 est également issue d'un carcinome séreux de haut grade, elle représente un cancer plus agressif et plus prolifératif que la lignée COV362.

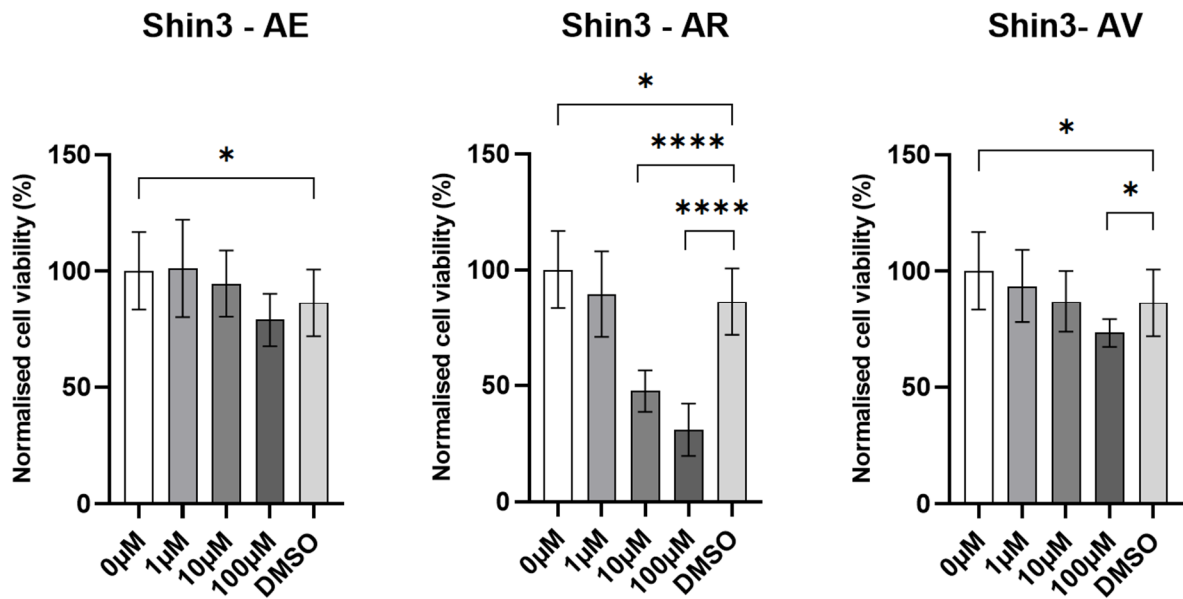


Figure 19 : Effet de l'acide élaïdique (AE), acide ruménique (AR) et acide vaccénique (AV) à différentes concentrations sur la viabilité des cellules Shin3 sur 96h par test MTT (n=3). Test de Mann Whitney. *p<0,05 ****p<0,0001

Les résultats obtenus en MTT suggèrent que le DMSO entraîne une légère diminution de la viabilité cellulaire (p<0,05). Également, il semblerait que l'acide ruménique à 10 et 100µM (p<0,0001) et l'acide vaccénique à 100µM (p<0,05) induisent une diminution de la viabilité cellulaire (Fig. 20).

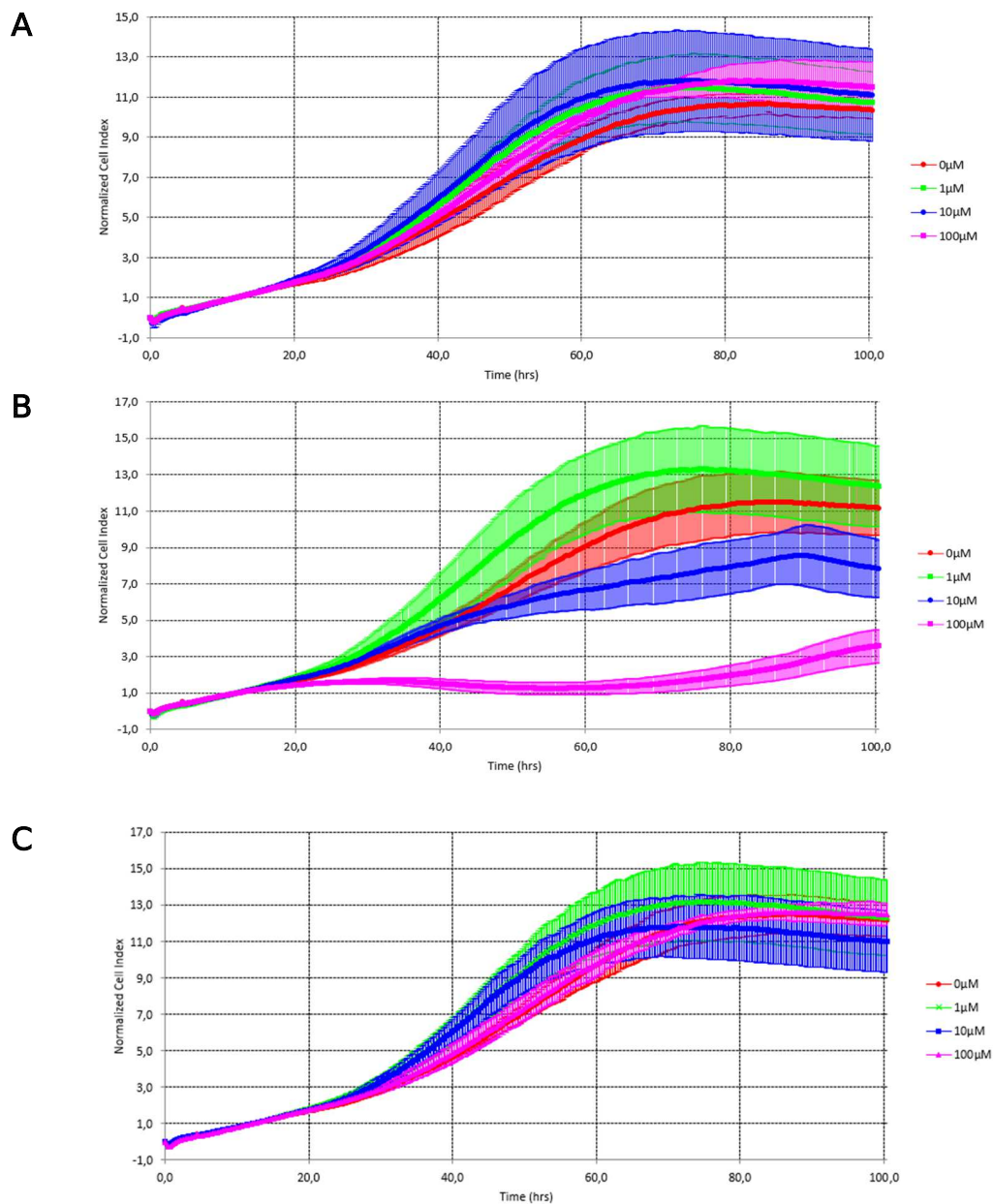


Figure 20 : Effet de (A) l'acide élaïdique (AE), (B) acide ruménique (AR) et (C) acide vaccénique (AV) à différentes concentrations sur la prolifération des cellules Shin 3 sur 96h par méthode xCELLigence® (n=1), en quadruplicats.

Les résultats du xCELLigence® semble montrer une diminution de la prolifération cellulaire des Shin3 après traitement à 10 et 100 μM par AR. Ces résultats viennent appuyer ceux obtenus par test MTT. Néanmoins, il ne semble pas y avoir de diminution de prolifération après traitement par AV (Fig. 21).

i. Effets des AGT sur des cellules cancéreuses colorectal (HT29)

La lignée HT29 est dérivée d'un adénocarcinome colique différencié représentant un stade intermédiaire et fréquent du cancer colorectal.

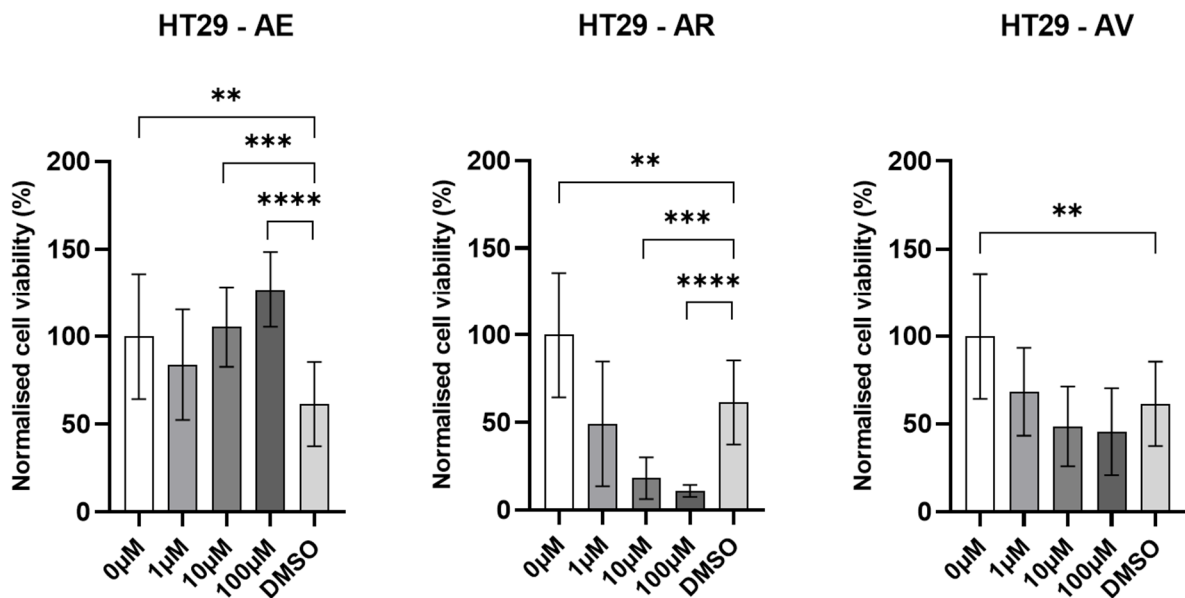


Figure 21 : Effet de l'acide élaïdique (AE), acide ruménique (AR) et acide vaccénique (AV) à différentes concentrations sur la viabilité des cellules HT29 sur 96h par test MTT (n=3). Test de Mann Whitney. **p<0,01 *** p<0,001 ****p<0,0001

Les résultats obtenus ici par MTT montre une diminution de la viabilité par le DMSO. Également, il semblerait que l'acide élaïdique à 100μM (p<0,0001) induit une augmentation de la viabilité cellulaire. Contrairement à l'acide ruménique qui semble diminuer fortement la viabilité à 10 (p<0,001) et 100μM (p<0,0001) (Fig. 22).

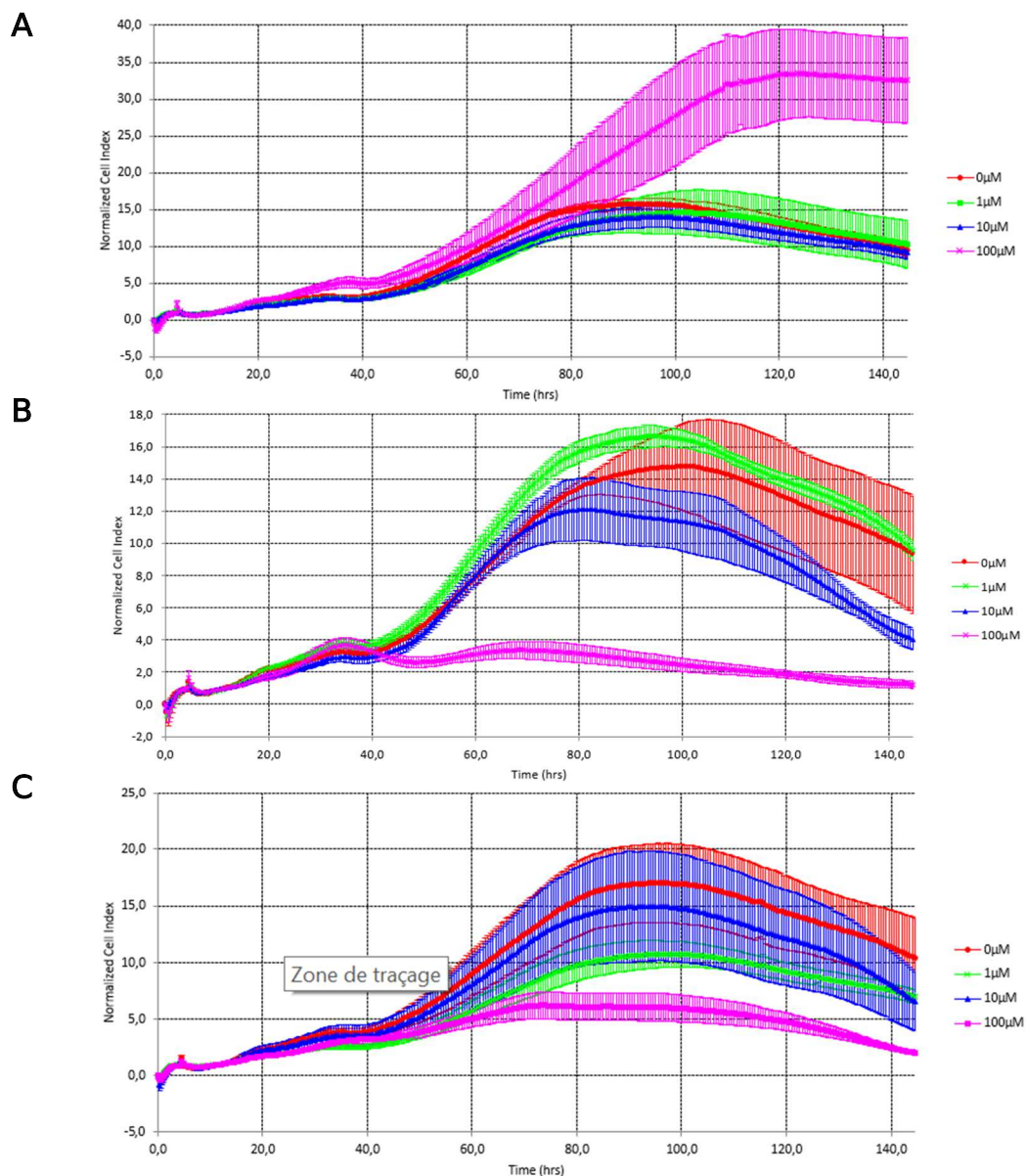


Figure 22 : Effet de (A) l'acide élaidique (AE), (B) acide ruménique (AR) et (C) acide vaccénique (AV) à différentes concentrations sur la prolifération des cellules HT29 sur 96h par méthode xCELLigence® (n=1), en quadruplicats.

Les résultats obtenus par xCELLigence suggèrent une augmentation de la prolifération à 100 μM par AE et une diminution par AR à 10 et 100 μM et AV à 100 μM (Fig. 23).

j. Effets des AGT sur des cellules cancéreuses colorectal (Caco2)

La lignée Caco2 est une lignée d'adénocarcinome du côlon fréquemment utilisée pour étudier le cancer colorectal.

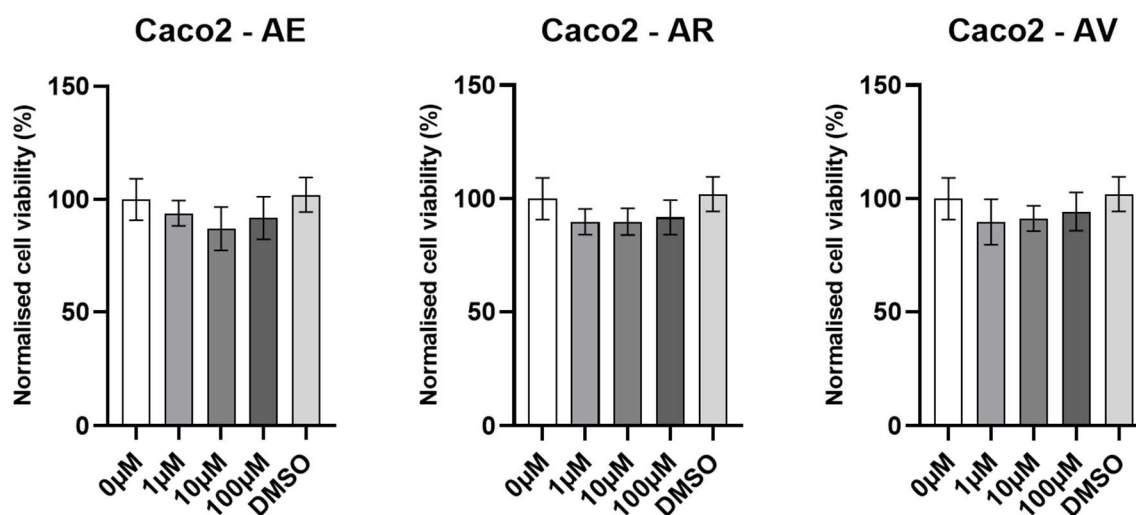


Figure 23 : Effet de l'acide élaïdique (AE), acide ruménique (AR) et acide vaccénique (AV) à différentes concentrations sur la viabilité des cellules HT29 sur 96h par test MTT (n=3). Test de Mann Whitney.

Les résultats obtenus par MTT sur la lignée Caco2 ne semble pas montrer d'effet des trois AGT sur la viabilité cellulaire (Fig. 24).

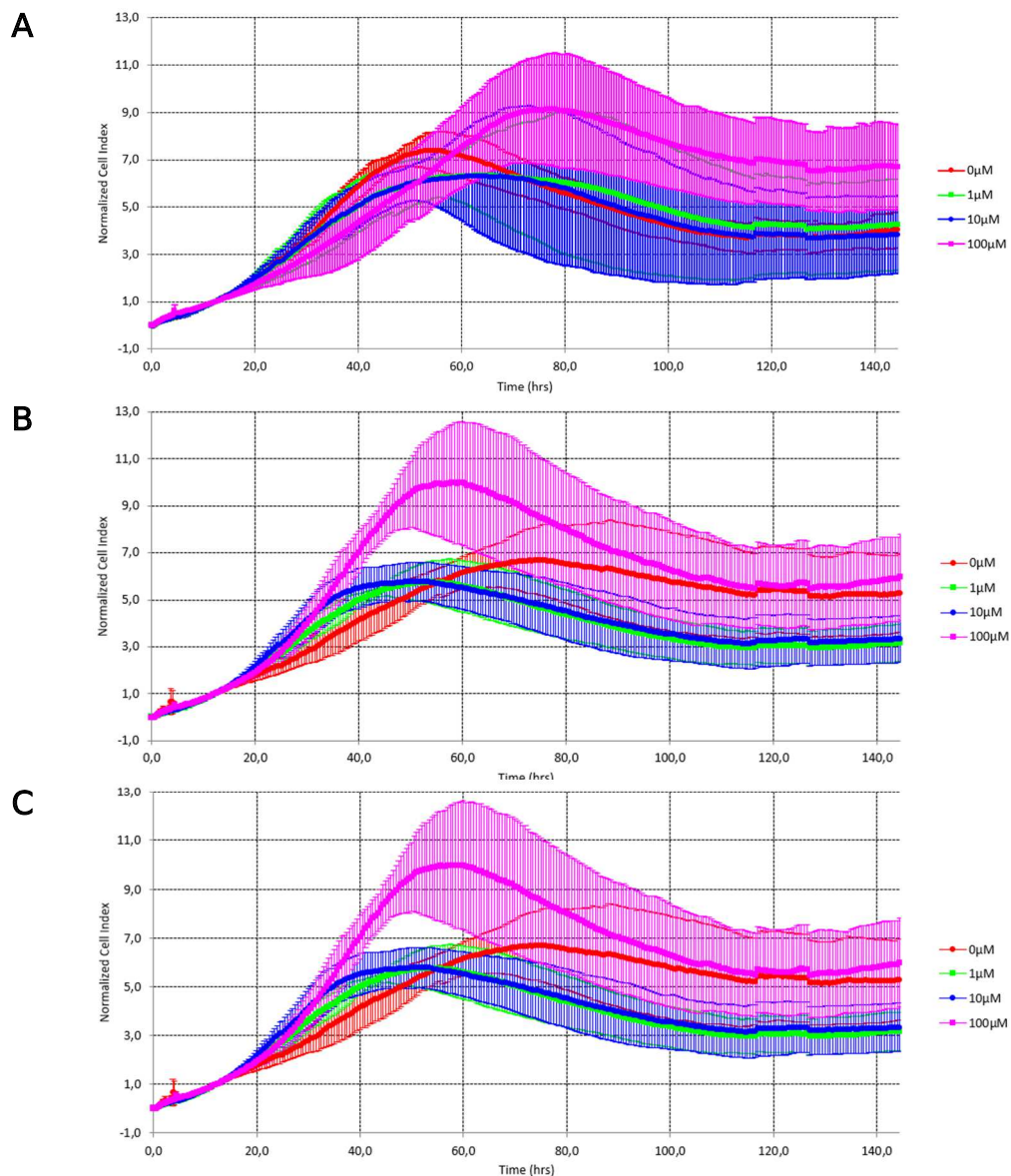


Figure 24 : Effet de (A) l'acide élaïdique (AE), (B) acide ruménique (AR) et (C) acide vaccénique (AV) à différentes concentrations sur la prolifération des cellules Caco2 sur 96h par méthode xCELLigence® (n=1), en quadruplicats.

Les résultats obtenus par xCELLigence semblent montrer une possible légère augmentation de la prolifération à 100µM pour les 3 AGT. Toutefois, ces données ne sont pas en accord avec ceux obtenus par test MTT. Il serait donc judicieux de reproduire ces tests afin de confirmer ou non ces observations (Fig. 25).

B. Etude protéomique

D'après les résultats de viabilité et de prolifération cellulaire obtenus, nous avons choisi de travailler dans un premier temps sur deux effets en particulier :

- L'effet inhibiteur de l'AR sur la prolifération et viabilité des cellules A549 à 10µM.

- L'effet inducteur de l'AR sur la prolifération et la viabilité des cellules MCF-7 à 100µM.

a. Effets de l'AR sur l'expression protéomique de cellules cancéreuses pulmonaires (A549)

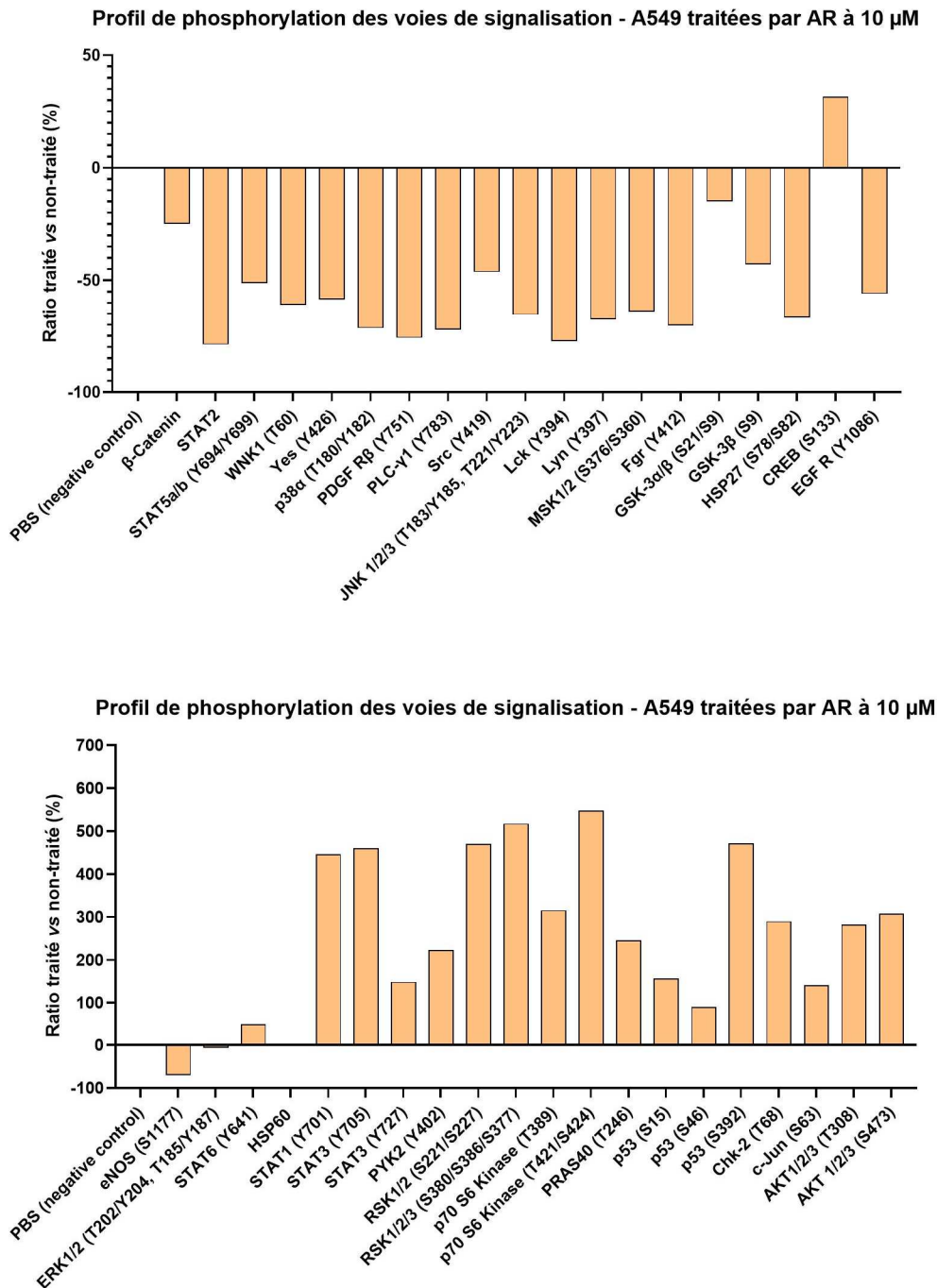


Figure 25 : Différence de phosphorylation des protéines des cellules A549 traitées par acide ruménique (AR) à 10µM, après analyse des résultats du « Human Phospho-Kinase Array Kit » (n=1).

Les résultats obtenus, suite à l'utilisation du « Human Phospho-Kinase Array Kit », sur les cellules A549 (poumon) traitées à 10µM par acide ruménique,

semblent témoigner des différences de phosphorylation sur certaines protéines. Il semblerait que STAT2 (pY690), p38 alpha (T180/Y182), PDGFR alpha (Y751), PLC-1 gamma (Y783), Fgr (Y412) et eNOS (S1177) soient les protéines majoritairement hypo-phosphorylées. Concernant les protéines hyper-phosphorylées, il semblerait que ce soient STAT3 (S727), p70S6K ((T389) et (T421/S424)), STAT1 (Y701), p53 (S392), Chk2 (T68), RSK 1/2 (S221/S227) et 1/2/3 (S380/S386/S377) et AKT 1/2/3 ((T308) et (S473)) (Fig. 26).

b. Effet de l'AR sur l'expression de différentes protéines de cellules cancéreuses pulmonaires (A549)

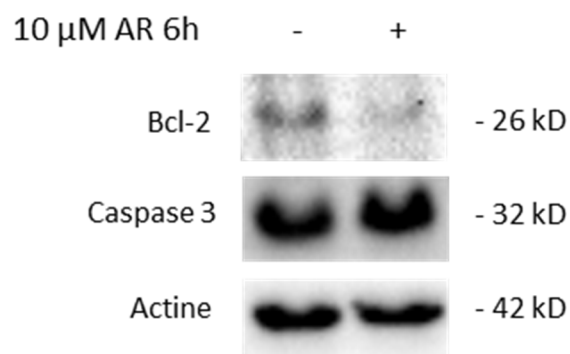


Figure 26 : Analyse de l'expression protéique de Bcl-2 et Caspase 3 sur la lignée cellulaire A549 traitée (+) ou non (-) par acide ruménique (AR) à 10 μ M. (n=1)

Les premiers résultats obtenus par western blot, suggère une diminution de l'expression de Bcl-2 dans les cellules A549 traitées pendant 6h par AR à 10 μ M et une expression similaire de Caspase 3 dans les 2 conditions (Fig. 27). Ces résultats ne sont que préliminaires, ils n'ont été réalisés qu'une seule fois, il faut encore les confirmer.

c. Effets de l'AE sur l'expression protéomique de cellules cancéreuses de sein (MCF-7)

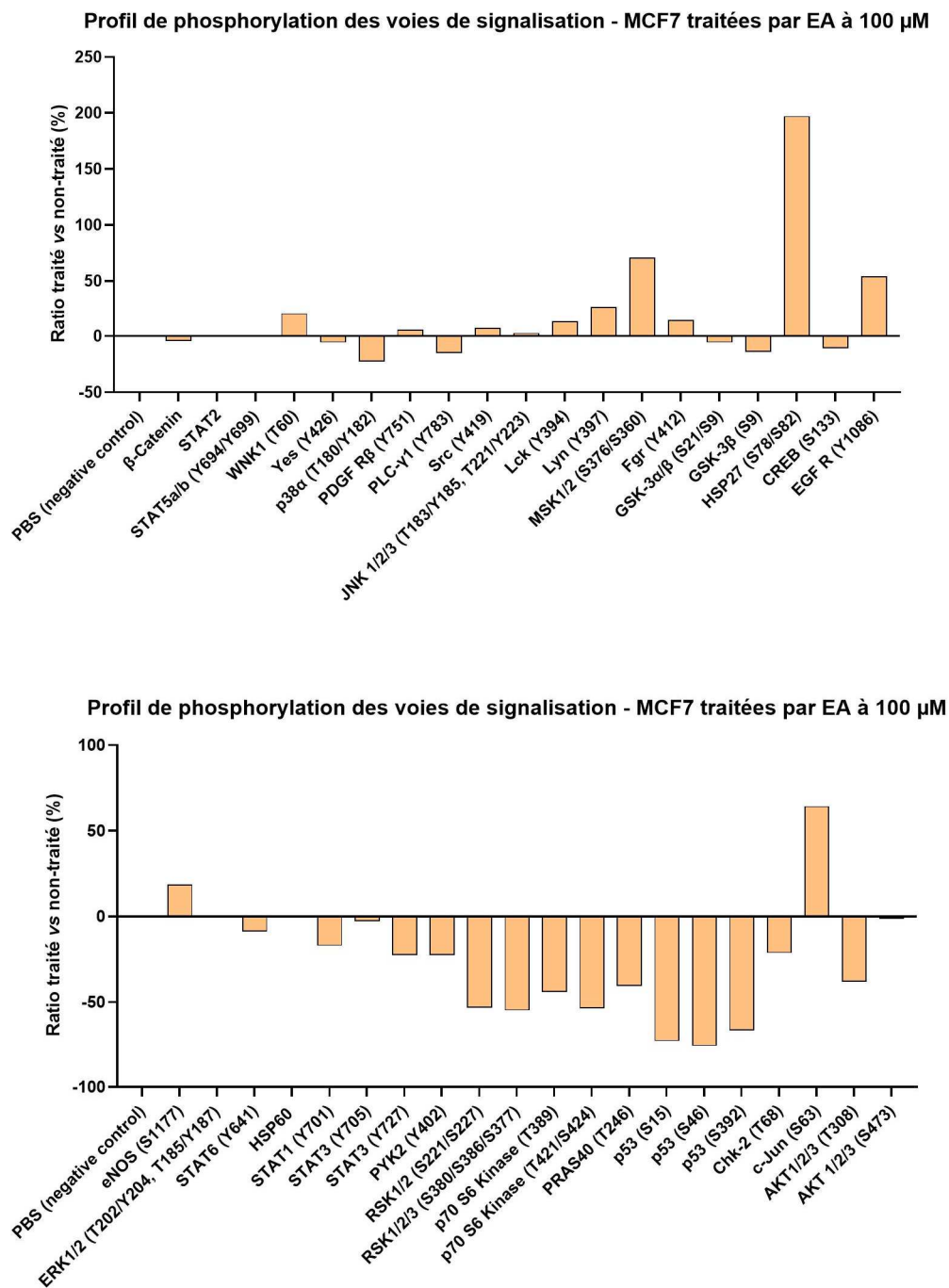


Figure 27 : Différence de phosphorylation des protéines des cellules MCF-7 traitées par acide élaïdique (AE) à 100 μ M, après analyse des résultats du « Human Phospho-Kinase Array Kit » (n=1).

Les résultats obtenus, suite à l'utilisation du « Human Phospho-Kinase Array Kit », sur les cellules MCF-7 (sein) traitées à 100 μ M par acide élaïdique, semblent témoigner des différences de phosphorylation sur certaines

protéines. Il semblerait que p53 ((S15), (S46) et (S392)), p70S6K ((T389) et (T421/S424)), RSK 1/2 (S221/S227) et 1/2/3 (S380/S386/S377) et PRAS40 (T246) soient les protéines majoritairement hypo-phosphorylées. Concernant les protéines hyper-phosphorylées, il semblerait que ce soient HSP27 (S78/S82), c-Jun (S63), MSK 1/2 (S376/360) et EGFR (Y1086) (Fig. 28).

IV. Discussion

Notre étude s'intéresse au lien entre acide gras trans et cancer en étudiant l'impact de trois AGT (acide élaïdique, acide ruménique et acide vaccénique) sur différentes lignées cancéreuses. Le premier objectif était d'étudier l'impact différentiels des AGT naturels *vs* industriels sur la prolifération des cellules cancéreuses. Cet aspect est un atout majeur dans la compréhension du rôle de l'alimentation sur le développement et la progression des cancers. Au cours de ce projet, nous avons évalué la viabilité cellulaire et la prolifération (MTT et xCELLigence®), et essayé de déterminer les voies de signalisation activées ou inhibées par les AGT (kinôme et Western-Blot).

Les localisations des lignées cellulaires étudiées ont été sélectionnées en fonction de la pertinence clinique. En effet, nous avons choisi de nous intéresser dans un premier temps à des cancers présentant parmi leurs facteurs de risque modifiables, la nutrition. Le cancer du sein, colorectal, de la prostate et du poumon sont des cancers comptant la nutrition parmi leurs facteurs de risque modifiables. Le cancer de l'ovaire ne présente pas ce risque, néanmoins, des éléments cliniques et épidémiologiques (43–45) montrent un impact de la consommation d'AGT sur le risque de survenue de cancer de l'ovaire. Également, le mélanome et l'ostéosarcome sont des cancers dont la survenue ne présente pas de lien avec la nutrition, nous avons néanmoins choisi de les étudier afin d'élargir le screening en fonction des lignées cellulaires disponibles au sein du laboratoire.

Le choix des concentrations d'AGT utilisées ici repose sur des observations cliniques et épidémiologiques. En effet, des études se sont intéressées à l'exposition aux AGT des populations *via* l'alimentation (34,37,38,43,45,47,51). Ces études, de cohorte ou cas-témoins, ont évalué des consommations alimentaires journalières ainsi que des taux sériques d'AGT selon divers paramètres (âge, statut métabolique, type de cancer, stade du cancer, ...). Les habitudes de consommations journalières recensées dans ces études se situent entre 0,070 g/j à 6 g/j d'AGTr et 0,224 g/j à 4,18 g/j d'AGTi (34,38,43,45,47). Concernant les taux sériques, les études ont rapporté des taux allant de <5 µg/mL à 34 µg/mL pour des AGT spécifiques (37,51).

Ainsi, une concentration circulante d'acide élaïdique allant de 5 à 34 µg/mL, correspond à des taux molaires de 17,7 µM à 120,4 µM. Nous avons donc choisi les concentrations suivantes : 1 µM, 10 µM et 100 µM nous permettant d'avoir une exposition faible, moyenne et élevée représentant au mieux l'exposition générale de la population à ces AGT.

Dans le cadre de ce projet, nous avons choisi deux approches complémentaires permettant d'évaluer l'effet des AGT sur la viabilité et la prolifération cellulaire : le test MTT et la méthode xCELLigence®. Le test MTT est une technique mesurant qualitativement l'activité métabolique cellulaire permettant d'évaluer un possible effet dose-dépendant des AGT sur la viabilité cellulaire. Associée au MTT, l'analyse par xCELLigence® offre un suivi en temps réel de l'état biologique des cellules, nous permettant d'avoir une vision cinétique du profil de croissance des cellules et ainsi de l'effet des AGT sur 96h. Nous avons choisi d'associer ces deux méthodes, car elles nous laissent apprécier l'impact des AGT sur la prolifération et la viabilité des cellules de manière dynamique et quantitative mais également car ce sont des techniques couramment utilisées dans le laboratoire (65). D'autres méthodes permettant d'apprécier la prolifération et viabilité cellulaire auraient pu être utilisées, tels que le test de colorant au bleu de Trypan, le test clonogénique ou encore le test XTT.

A elles seules, ces techniques ne permettent pas de comprendre précisément les effets observés. Par exemple, une diminution du signal MTT peut témoigner d'une baisse d'activité métabolique, une inhibition de la prolifération, de la viabilité ou une mort cellulaire. De même, une baisse du signal xCELLigence® peut refléter une diminution de la prolifération, une perte d'adhérence ou une mortalité cellulaire. Nos résultats suggèrent que certains AGT modulent la viabilité et la prolifération cellulaire, néanmoins les analyses complémentaires en cours nous permettront de renforcer nos hypothèses afin de déterminer s'ils agissent spécifiquement sur des mécanismes de régulation cellulaires ou sur des voies de l'apoptose.

Nos résultats soulignent des effets différenciés sur la viabilité et la prolifération cellulaire cancéreuses entre les AGT, selon la lignée étudiée et

la concentration utilisée. La concentration la plus élevée (100µM) est globalement celle qui entraîne le plus d'effet, avec notamment l'acide ruménique inhibant la prolifération et la viabilité des A549, MNNG-HOS, A375, MDA MB 231, HT29, Shin3 et l'AE stimulant les MCF-7 et HT29.

Concernant la lignée MNNG-HOS (ostéosarcome), les trois AGT ont inhibé significativement la prolifération et la viabilité cellulaire à 100µM. Une étude s'est intéressée précédemment à l'effet des CLA sur la viabilité de cellules MG 63 (66), une lignée d'ostéosarcome moins agressive que les MNNG-HOS. Dans ces travaux, la viabilité cellulaire a été testée par test MTT après traitement par différents CLA (c9, t11 18 :2 ou AR, t10, c12 18 :2, et un mélange de différents t, t 18 :2) (de 1 à 40µM) pendant 6j et ont montré une réduction de celle-ci. Néanmoins, aucune étude ne décrit l'impact d'AGT sur les MNNG-HOS. Ainsi nos résultats apportent de nouvelles connaissances sur les effets possibles de ces trois AGT sur la prolifération et la viabilité des cellules cancéreuses MNNG-HOS même si l'alimentation n'est aujourd'hui pas un facteur de risque connu de l'ostéosarcome.

Par la suite, un effet antiprolifératif et inhibiteur de la viabilité par l'acide ruménique à 100µM a été observé sur les cellules A375 (mélanome). Une étude a précédemment décrit un effet inhibiteur de l'acide ruménique (de 50 à 200µM après 24h de traitement) sur la viabilité cellulaire par test MTT (67). Nos résultats viennent appuyer ceux préalablement décrits en apportant un niveau de preuve plus conséquent quant aux effets de l'acide ruménique sur la viabilité et la prolifération de cellules de mélanome.

La lignée COV362 (ovaire) n'a montré aucune modification de viabilité et prolifération après traitement par les trois AGT à diverses concentrations. Concernant l'effet des AGT sur les cellules cancéreuses ovariennes, peu de données sont disponibles aujourd'hui. Une étude a mis en évidence, en 2018, un effet inhibiteur de l'acide gras t10, c12 18 :2 ou t10, c12 CLA (un CLA très présent dans la nature au même titre que l'AR) sur deux lignées de cancer ovarien SKOV-3 et A2780. En revanche, l'acide ruménique ne présentait aucun effet sur la viabilité de ces deux lignées. Ces tests ont été réalisés à des concentrations de 1 à 20µM par test MTT sur 96h (68). Les deux lignées étudiées proviennent de cancer ovarien de plus bas grade comparées au COV 362. Il serait envisageable d'étudier l'effet des AGT sur

d'autres lignées cancéreuses ovariennes pour s'assurer que l'absence d'effet ne soit pas liée spécifiquement à ces lignées.

Dans cette optique, l'équipe a décidé de réaliser des tests sur la lignée Shin3, une autre lignée provenant d'un adénocarcinome séreux ovarien. Nos résultats sur cette lignée ovarienne suggèrent un effet inhibiteur de l'acide ruménique à 10 et 100 μ M. Aucune étude ne semble décrire l'impact des AGT sur la lignée Shin3. Cette différence d'effet observé entre les COV362 et les Shin3 peuvent s'expliquer par des caractéristiques intrinsèques spécifiques de chaque lignée, étant plus ou moins sensible au stress oxydatif, un métabolisme différent des AG ou des voies de signalisation du cycle cellulaire ou de l'apoptose plus ou moins impliquées.

Concernant la lignée PC3 (prostate), nos résultats ne semblent pas montrer d'effet des trois acides gras sur la prolifération et la viabilité cellulaire. Des données de la littérature décrivent un effet inhibiteur de l'acide ruménique sur les PC3 à 100 μ M par test MTS pendant 5j (69,70). Nos résultats présentent des écarts-types importants pouvant en partie expliquer cette différence d'observation. Il faudrait refaire ces tests afin de confirmer nos observations.

Nous nous sommes intéressés également à deux modèles de cellules colorectales : Caco2 et HT29. Nos résultats, sur la lignée HT29, suggèrent un effet stimulant de l'acide élaïdique à 100 μ M et inhibiteur de l'acide ruménique à 10 et 100 μ M. Ces résultats vont dans le sens de ceux présents dans la littérature, certaines études, *in vivo*, décrivent l'acide élaïdique comme inducteur de la prolifération et pro métastatique, sur cette même lignée, à des doses de 10mg/g (poids de souris) (71–73). De même concernant l'acide ruménique, les études présentes dans la littérature décrivent l'AR comme inhibiteur de la prolifération avec des concentrations allant de 36 à 200 μ M (70,74). Néanmoins, dans la littérature les résultats des études sur l'acide vaccénique sont ambivalents, présentant un effet inhibiteur de la prolifération ou aucun effet sur la lignée HT29 à des doses de 30 à 200 μ M (74,75). Il est donc nécessaire de poursuivre l'exploration sur l'impact de l'acide vaccénique sur la lignée HT29 afin de mieux comprendre son effet.

Concernant la lignée Caco2, nous n'avons observé aucun effet en MTT et un possible léger effet stimulant des trois AGT en xCELLigence®. Ces données ne sont pas suffisantes pour conclure. Il faudrait refaire des tests par méthode xCELLigence® afin de mieux comprendre l'effet des AGT sur cette lignée. Les données de la littérature suggèrent un effet inhibiteur de l'acide ruménique à des doses de 30 à 200µM (74,76). Ces études utilisent des tests de viabilité et prolifération différents (WST-1 assay et MTS assay) de celles utilisées ici pouvant expliquer ces divergences de résultats. Les résultats sur cette lignée restent à être confirmés.

De plus, des effets inhibiteurs de l'acide ruménique ont été décrits sur d'autres lignées colorectales, notamment les lignées SW480, MIP101 et SGC7901 (70,77,78), suggérant un effet inhibiteur assez général de l'acide ruménique sur les lignées de cancer colorectal.

Nous nous sommes intéressés à deux lignées de cancer du sein : la lignée MDA MB 231, une lignée dérivée de cancer du sein triple négatif et la lignée MCF-7, dérivée d'un cancer du sein hormonodépendant.

Les résultats sur lignée MDA MB 231, (cancer du sein triple négatif) tendent à soulever un effet inhibiteur de l'AR sur la viabilité et la prolifération des cellules. Plusieurs études ont préalablement montré un effet inhibiteur de l'acide ruménique sur les MDA MB 231 par test MTT à 100µM (79,80). Nos résultats viennent donc confirmer les données de la littérature.

Les résultats préliminaires sur la lignée MCF-7, cancer du sein hormonodépendant, semblent montrer un effet pro-prolifératif de l'acide élaïdique à 100µM. Aucune étude préliminaire ne semble avoir étudié l'impact de l'acide élaïdique sur cette lignée cellulaire. En revanche, un certain nombre d'études ont montré une inhibition de la prolifération et de la viabilité des MCF-7 par l'acide ruménique et vaccénique (80–86) contrairement à ce que nos résultats suggèrent. Ces études ont été réalisées sur des durées allant de 24h à 72h tandis que nous avons observé un rebond de prolifération à 85h post traitement. Une hypothèse pouvant expliquer cette différence d'observation repose sur le fait que l'effet antiprolifératif de l'acide ruménique ne soit pas suffisamment fort pour entraîner une mort cellulaire massive. Les cellules encore viables pourraient

donc reprendre un cycle de prolifération normal ce qui pourrait expliquer la reprise progressive observée du signal.

Par la suite nous avons donc choisi de nous intéresser à l'effet inducteur de la prolifération de l'AE sur cette lignée afin d'étudier les mécanismes moléculaires sous-jacents.

Concernant la lignée A549 (poumon), l'acide ruménique semble induire une forte inhibition de la viabilité et prolifération cellulaire à 10 et 100 μ M. Il semble ne pas y avoir d'effet de l'acide élaïdique et vaccénique sur cette lignée. Ces résultats sont cohérents avec des études antérieures montrant une inhibition de la viabilité des A549 par MTT, avec l'AR à des doses de 50, 100 et 200 μ M sur 72h (82,87), mais aucune étude ne montre une inhibition aussi importante à des concentrations aussi faibles (au maximum 50% d'inhibition à 100 μ M). C'est ainsi que nous avons donc choisi d'étudier les mécanismes intra-cellulaires mis en jeu par étude du kinome.

Une limite méthodologique importante de nos protocoles d'évaluation de viabilité et prolifération cellulaire est à souligner. Le DMSO a été utilisé comme solvant des AGT ; lors de la préparation des solutions d'AGT à 100, 10 et 1 μ M, une dilution en cascade est réalisée. Ceci entraîne des concentrations décroissantes de DMSO dans les milieux de traitements (0,4%, 0,04% et 0,004% respectivement), tandis que le contrôle utilisé pour évaluer l'effet du DMSO était la concentration la plus élevée, soit de 0,4%. Par conséquent, les conditions à 10 et 1 μ M ont été comparées à un contrôle contenant une concentration de DMSO significativement supérieure, ceci pouvant entraîner un biais d'interprétation des effets observés à ces concentrations.

En effet, cette limite est problématique dans l'interprétation des résultats obtenus sur la lignée HT29. On observe une augmentation significative de la viabilité cellulaire (par test MTT) à 10 et 100 μ M d'acide élaïdique par rapport au contrôle DMSO. Cependant lorsque l'on compare au contrôle négatif sans DMSO, cette augmentation n'est significative qu'à 100 μ M, suggérant que l'effet observé à 10 μ M est probablement attribuable à la différence de concentration de DMSO entre les conditions. Par ailleurs, cet

effet stimulant à 10 μ M n'est, par la suite, pas visible sur les résultats obtenus par méthode xCELLigence®.

Ceci souligne la nécessité de maintenir une concentration constante de DMSO dans toutes les conditions de traitements dans les futures expériences, afin de s'assurer que les effets observés soient seulement attribuables aux substrats testés et non au solvant.

Le deuxième objectif de cette étude était d'investiguer les effets cellulaires sous-jacents afin d'éclaircir le mécanisme d'action par approche kinomique. L'utilisation du Human Phospho-Kinase Array Kit nous permet de réaliser un criblage simultané de multiples protéines de différentes voies de signalisation. Cette technique semi-quantitative nous donne une vue d'ensemble de l'état d'activation/désactivation de voies de signalisation impliquées dans les processus de prolifération, apoptose ou encore de réponse au stress. Ainsi cette méthode nous permet une analyse kinomique des cellules A549 traitées par AR à 10 μ M et MCF-7 par AE à 100 μ M pendant 6h.

Les résultats obtenus sur la lignée A549 traitée à 10 μ M par AR montre une inhibition de 80% de la viabilité cellulaire. Le profil de phosphorylation, après 6h de traitement par AR (10 μ M) a mis en évidence plusieurs protéines fortement hyper- ou hypophosphorylées, comme détaillé dans la partie résultats. Après analyse des données de la littérature, certaines de ces variations de phosphorylation (hyper et hypo-phosphorylation cités précédemment) ont précédemment été décrites, sur cette même lignée, dans des contextes de traitements différents. Il semblerait qu'une hyperphosphorylation de p53 (S392), Chk2 (T68), AKT 1/2/3 ((T308) et (S473)) ainsi qu'une hypophosphorylation de PDGFR alpha (Y751) soient, dans certains contextes, individuellement associées à une augmentation de l'apoptose par surproduction de ROS et/ou dommages à l'ADN (88–96). La voie p53 est une voie pro-apoptotique, Chk2 est une protéine impliquée dans les phénomènes de réparation de dommages à l'ADN, ces deux protéines sont associées à l'activation de la réponse aux dommages à l'ADN. Une augmentation d'AKT est généralement associée à des effets

anti-apoptotiques, mais peut dans certains contextes être corrélée à une augmentation du stress oxydatif (89–95). Une de nos hypothèses, quant au mécanisme d'action par lequel l'AR inhibe la prolifération des A549, serait possiblement associé à une surproduction de ROS ainsi que des dommages à l'ADN. C'est pourquoi les suites de ce projet vont dans un premier temps s'axer sur une analyse de l'expression protéique par western blot de certaines protéines hyperphosphorylées (résultats analyse kinome A549), de protéines associées à l'apoptose (bax/bcl-2), ainsi que des protéines associées à la production de ROS (PUMA) et réaliser une cinétique d'activation de ces protéines.

Les premiers résultats obtenus par western blot, sur les cellules A549 après traitement par AR à 10 μ M, suggèrent un mécanisme pro-apoptotique passant par l'inactivation de Bcl-2, mais ces résultats doivent encore être confirmés.

Dans un second temps, les résultats de prolifération de la lignée MCF-7 semblent montrer une induction de la prolifération à 100 μ M par AE. Concernant le profil de phosphorylation obtenus sur cette même lignée traitée à 100 μ M par acide élaidique pendant 6h, nous nous sommes également intéressés aux protéines les plus hyperphosphorylées et hypophosphorylées citées dans la partie résultats. Selon les données de la littérature, certaines variations de phosphorylation ont été précédemment décrites, sur cette même lignée, dans des contextes de traitements différents. Il semblerait qu'une hyperphosphorylation de c-jun (S63), HSP27 (S78/S82), MSK 1/2 (S376/S360) et EGFR (Y1086) ainsi qu'une hypophosphorylation de p53 ((S15), (S46) et (S392)) ont également été associées, individuellement, à une inhibition de l'apoptose ou induction de la prolifération, croissance ou différenciation (97–105). Ces protéines sont impliquées dans des voies de signalisation induisant une croissance et prolifération cellulaire ou inhibant l'apoptose. Nous avons décidé par la suite de nous intéresser à d'autres protéines impliquées dans ces voies de signalisation tel que Src ou encore Bcl-2 afin d'identifier les voies de signalisation majoritairement impliquées.

Les observations issues de nos analyses kinomiques soulèvent des hypothèses mécanistiques impliquant le stress oxydatif, l'apoptose et

certaines voies de prolifération. Dans cette optique un état des lieux des connaissances sur les effets des AGT permet de confronter et conforter nos hypothèses.

Les AGT, en lien avec le développement tumoral, ont préalablement fait l'objet d'études expérimentales, *in vitro* ou *in vivo*, afin de déterminer les mécanismes impliqués. Plusieurs effets ont été identifiés, notamment, un impact sur la prolifération cellulaire préalablement décrit, un impact sur l'inflammation, le stress oxydatif ou encore le métabolisme lipidique ainsi que certaines voies de signalisation potentiellement impliquées détaillés par la suite. L'ensemble des données disponibles tend à différencier les effets des AGT d'origine industrielle (AGTi) de ceux d'origine naturelle (AGTr).

Certaines d'études *in vivo* montrent que les AGTr induisent une réduction de marqueurs de l'inflammation tels que $TNF\alpha$, $IL-1\beta$, IL8 ou encore PGE2 (106,107) mais également d'enzymes responsables de la synthèse de molécules pro-inflammatoires (leucotriènes, prostaglandines) tels que les COX et LOX (69,79,108,109).

Concernant le stress oxydatif, les AGT en général (sans différencier les AGT naturels des AGT industriels) semblent associés à une augmentation du stress oxydatif, notamment via une diminution de la vitamine E (neutralisant les radicaux libres) interprétée dans l'étude comme un résultat de sa consommation *in vivo*, secondaire à une production excessive de radicaux libres ; une augmentation des F2-isoprostanes (produit en situation de stress oxydatif) ou par mesure de la présence de ROS (par DCFH-DA assay) (85,110,111).

Les AGT (naturels et industriels) modulent également le métabolisme lipidique en influençant la sécrétion de lipoprotéines avec notamment l'acide élaïdique et les CLA favorisant la sécrétion hépatique de petites lipoprotéines contenant de l'apoB. Également, les CLA diminueraient l'activité de SREBP1c (une protéine importante de la lipogénèse) ou encore l'expression d'enzymes telles que la FAS (75,81,86,112). Ces AGT peuvent, de plus, affecter la composition des membranes ou encore l'encrage de certains récepteurs donc *in fine* moduler les cascades de signalisations (81).

Une étude suggère que l'AE pourraient moduler la structure des radeaux lipidiques en s'insérant dans la composition de la membrane plasmique, il modifie la composition lipidique modulant l'activation de certaines voies de signalisation (72). Cela pourrait avoir un impact sur la transmission des signaux de survie, d'apoptose ou de prolifération modifiant le comportement de la cellule.

Enfin, certaines études ont mis en évidence des voies de signalisation impliqués dans l'effet des AGT sur la prolifération et viabilité cellulaire tumorale. Les AGTr pourraient induire une diminution de l'activité et de l'expression des récepteurs activés par les proliférateurs de péroxysomes (PPAR) (74,87,107,113), de gènes impliqués dans la prolifération ou la progression tumorale (74,78,85,111,113,114), stimulant l'apoptose (78,84,85,87,115) et pourraient également bloquer le cycle cellulaire (74,78). Ces effets ont été observés sur des lignées cellulaires tumorales de localisations différentes.

Concernant les mécanismes cellulaires impliqués dans les effets des AGTi sur le développement tumoral, très peu d'études ont été réalisées. Une étude de 2017, suggère une sur stimulation de la voie EGFR/Src/Erk impliquant des gènes favorisant la transition épithéliale mésenchymateuse (EMT) (73).

Ainsi, nos résultats suggèrent que les AGT, en fonction de leur origine, exercent des effets différenciés sur la prolifération et la survie cellulaire. Nos premiers résultats d'analyse kinomique soulèvent des hypothèses quant à l'implication de certaines voies de signalisation clés dans une lignée de CBNPC et une lignée de cancer du sein hormonodépendant. Il est important de souligner que chaque localisation et type cellulaire n'implique pas les mêmes voies de signalisation intracellulaire. Les données préliminaires, sur la lignée de CBNPC traitée par AGTr, questionnent sur l'implication de voie de l'apoptose, de réparation de dommages à l'ADN et de réponse au stress. Concernant la lignée de cancer du sein hormonodépendant traitée par AGTi, les premiers résultats obtenus soulèvent des hypothèses quant à l'implication de certaines voies de prolifération. Ces observations sont cohérentes avec plusieurs données de la littérature attribuant des effets anti/pro-prolifératifs, pro/anti-

apoptotiques, anti-inflammatoires ou favorisant le stress oxydatif, aux AGT, en fonction de leur origine. L'implication du stress oxydatif, de dommages à l'ADN, ou encore de modulation des radeaux lipidiques et des récepteurs membranaires, comme évoqué dans la littérature, semblent être des mécanismes potentiels pouvant expliquer les effets observés. Une meilleure caractérisation des voies impliquées sera nécessaire pour clarifier ces hypothèses et mieux comprendre l'impact des AGT sur les cellules tumorales. Ceci passerait par exemple par une étude par western blot de l'expression de protéines impliqués dans les phénomènes d'apoptose, de stress oxydatif, d'étudier les cinétiques d'activation de certaines protéines ou voies de signalisation hyper ou hypo activées...

V. Conclusion et perspectives

Ce travail s'inscrit dans une démarche de compréhension du lien entre acides gras trans et cancer, en réponse à des observations cliniques et épidémiologiques suggérant un lien entre consommation d'AGT et risque de cancer. Néanmoins nous ne nous intéressons pas à un effet sur l'initiation de la cancérogénèse mais plutôt à un effet sur les cellules cancéreuses, qu'il soit stimulant ou inhibiteur. Nous avons donc réalisé un large screening sur différentes lignées afin d'explorer différents modèles cellulaires permettant une meilleure compréhension de l'effet des AGT en fonction de la localisation.

Nos résultats suggèrent un effet inhibiteur marqué de l'acide ruménique à 100 μ M sur différentes lignées (MDA MB 231, MNNG HOS, A549, A375...) ainsi qu'un possible effet pro prolifératif de l'acide élaïdique à 100 μ M sur les MCF-7 et HT29.

Ces données apportent de nouveaux éléments particulièrement innovants, dont les mécanismes cellulaires nécessitent d'être clarifiés. Nos résultats préliminaires sur le kinome vont nous permettre d'avancer vers une meilleure compréhension des mécanismes cellulaires antiprolifératifs de l'AR sur les A549 et pro prolifératif de l'AE sur les MCF7. Les suites de ce projet vont surtout se concentrer sur une étude protéique (AKT, STAT3, PUMA, Bcl2, p53...) ainsi que de possibles analyses RNAseq dans un futur proche permettant une analyse plus profonde des mécanismes mis en place.

Nos données préliminaires tendent donc à montrer un effet inhibiteur des acides gras *trans* naturels sur le cancer tandis que les acides gras *trans* industriel seraient plus associés à une stimulation.

Cette thématique au croisement de la nutrition, l'oncologie et la biologie cellulaire s'inscrit dans un contexte de santé publique alarmant avec de forts enjeux, où la nutrition est reconnue comme facteur de risque majeur du cancer.

A juste titre, le pharmacien y joue un rôle transversal aussi bien d'éducation thérapeutique, de prévention nutritionnelle qu'en recherche

translationnelle. Le pharmacien d'officine, par sa proximité avec le patient, est un acteur principal de prévention. Il a un rôle d'information auprès des patients, des risques et facteurs protecteurs liés à la nutrition. Le pharmacien hospitalier, en relation avec les équipes de soignants peut informer et contribuer à une meilleure prise en charge globale du patient. Enfin, le pharmacien en recherche, contribue à différents niveaux de la recherche, qu'elle soit clinique ou expérimentale. Il participe aussi bien à la recherche sur le cancer, le développement de nouvelles thérapeutiques mais également à la compréhension des mécanismes mis en place afin de mieux comprendre les observations cliniques.

L'étude de l'effet des AGT sur le cancer illustre bien le lien entre nutrition et cancer et la place centrale que peut occuper le pharmacien dans un contexte de santé publique.

Bibliographie

1. VIDAL [Internet]. [cité 9 janv 2025]. Les lipides, de l'énergie en réserve. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/sante/nutrition/corps-aliments/lipides-energie.html>
2. Rossignol-Castera A. Contexte technologique des matières grasses alimentaires.
3. Akoh CC, éditeur. Food Lipids: Chemistry, Nutrition, and Biotechnology, Fourth Edition. 4^e éd. Boca Raton: CRC Press; 2017. 1047 p.
4. Lipid - an overview | ScienceDirect Topics [Internet]. [cité 18 avr 2025]. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/topics/biochemistry-genetics-and-molecular-biology/lipid>
5. Blavy P. Identification des éléments clefs du métabolisme des lipides et de leurs régulateurs.
6. Yoon H, Shaw JL, Haigis MC, Greka A. Lipid metabolism in sickness and in health: Emerging regulators of lipotoxicity. *Mol Cell*. 16 sept 2021;81(18):3708-30.
7. Simopoulos AP. Omega-3 fatty acids in inflammation and autoimmune diseases. *J Am Coll Nutr*. déc 2002;21(6):495-505.
8. Czernichow S, Thomas D, Bruckert E. Acides gras oméga-6 et maladies cardiovasculaires - Recommandations en matière d'apport alimentaire. *médecine/sciences*. 1 juin 2011;27(6-7):614-8.
9. Farag MA, Gad MZ. Omega-9 fatty acids: potential roles in inflammation and cancer management. *J Genet Eng Biotechnol*. 1 déc 2022;20(1):48.
10. Guerra IMS, Ferreira HB, Melo T, Rocha H, Moreira S, Diogo L, et al. Mitochondrial Fatty Acid β -Oxidation Disorders: From Disease to Lipidomic Studies—A Critical Review. *Int J Mol Sci*. 11 nov 2022;23(22):13933.
11. Westheim AJF, Stoffels LM, Dubois LJ, van Bergenhenegouwen J, van Helvoort A, Langen RCJ, et al. The Modulatory Effects of Fatty Acids on Cancer Progression. *Biomedicines*. 19 janv 2023;11(2):280.
12. Michels N, Specht IO, Heitmann BL, Chajès V, Huybrechts I. Dietary trans-fatty acid intake in relation to cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *Nutr Rev*. 4 juin 2021;79(7):758-76.
13. Nagpal T, Sahu JK, Khare SK, Bashir K, Jan K. Trans fatty acids in food: A review on dietary intake, health impact, regulations and alternatives. *J Food Sci*. déc 2021;86(12):5159-74.
14. World Health Organization [Internet]. [cité 10 janv 2025]. Acides gras trans. Disponible sur: <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/trans-fat>
15. Ganguly R, Pierce GN. Trans fat involvement in cardiovascular disease. *Mol Nutr Food Res*. 2012;56(7):1090-6.

16. Ganguly R, Pierce GN. Trans fat involvement in cardiovascular disease. *Mol Nutr Food Res*. 2012;56(7):1090-6.
17. Countdown to 2023: WHO 5-Year Milestone Report on Global Trans Fat Elimination 2023. 1st ed. Geneva: World Health Organization; 2024. 1 p.
18. Morris MC, Evans DA, Bienias JL, Tangney CC, Wilson RS. Dietary fat intake and 6-year cognitive change in an older biracial community population. *Neurology*. 11 mai 2004;62(9):1573-9.
19. Chavarro JE, Rich-Edwards JW, Rosner BA, Willett WC. Dietary fatty acid intakes and the risk of ovulatory infertility². *Am J Clin Nutr*. 1 janv 2007;85(1):231-7.
20. Mennitti LV, Oliveira JL, Morais CA, Estadella D, Oyama LM, Oller do Nascimento CM, et al. Type of fatty acids in maternal diets during pregnancy and/or lactation and metabolic consequences of the offspring. *J Nutr Biochem*. 1 févr 2015;26(2):99-111.
21. Innis SM. Trans fatty intakes during pregnancy, infancy and early childhood. *Atheroscler Suppl*. mai 2006;7(2):17-20.
22. Aumeistere L, Beluško A, Ciproviča I, Zavadska D. Trans Fatty Acids in Human Milk in Latvia: Association with Dietary Habits during the Lactation Period. *Nutrients*. sept 2021;13(9):2967.
23. Hornstra G, van Eijdsen M, Dirix C, Bonsel G. Trans fatty acids and birth outcome: some first results of the MEFAB and ABCD cohorts. *Atheroscler Suppl*. mai 2006;7(2):21-3.
24. De Souza RJ, Menté A, Maroleanu A, Cozma AI, Ha V, Kishibe T, et al. Intake of saturated and trans unsaturated fatty acids and risk of all cause mortality, cardiovascular disease, and type 2 diabetes: systematic review and meta-analysis of observational studies. *BMJ*. 11 août 2015;h3978.
25. Nagpal T, Sahu JK, Khare SK, Bashir K, Jan K. Trans fatty acids in food: A review on dietary intake, health impact, regulations and alternatives. *J Food Sci*. 2021;86(12):5159-74.
26. Wendeu-Foyet G, Bellicha A, Chajès V, Huybrechts I, Bard JM, Debras C, et al. Different Types of Industry-Produced and Ruminant Trans Fatty Acid Intake and Risk of Type 2 Diabetes: Findings From the NutriNet-Santé Prospective Cohort. *Diabetes Care*. 21 déc 2022;dc220900.
27. Cancer : une charge toujours plus lourde dans le monde et des besoins en services croissants [Internet]. [cité 8 janv 2025]. Disponible sur: <https://www.who.int/fr/news/item/01-02-2024-global-cancer-burden-growing--amidst-mounting-need-for-services>
28. Réduire les risques de cancer - Comprendre, prévenir, dépister [Internet]. [cité 8 janv 2025]. Disponible sur: <https://www.e-cancer.fr/Comprendre-prevenir-depister/Reduire-les-risques-de-cancer>
29. Alimentation - Réduire les risques de cancer [Internet]. [cité 8 janv 2025]. Disponible sur: <https://www.e-cancer.fr/Comprendre-prevenir-depister/Reduire-les-risques-de-cancer/Alimentation>

30. Kaluza J, Harris HR, Håkansson N, Wolk A. Adherence to the WCRF/AICR 2018 recommendations for cancer prevention and risk of cancer: prospective cohort studies of men and women. *Br J Cancer*. mai 2020;122(10):1562-70.
31. Lavalette C, Adjibade M, Srour B, Sellem L, Fiolet T, Hercberg S, et al. Cancer-Specific and General Nutritional Scores and Cancer Risk: Results from the Prospective NutriNet-Santé Cohort. *Cancer Res*. 1 août 2018;78(15):4427-35.
32. Malcomson FC, Parra-Soto S, Ho FK, Lu L, Celis-Morales C, Sharp L, et al. Adherence to the 2018 World Cancer Research Fund (WCRF)/American Institute for Cancer Research (AICR) Cancer Prevention Recommendations and risk of 14 lifestyle-related cancers in the UK Biobank prospective cohort study. *BMC Med*. 28 nov 2023;21(1):407.
33. Liss MA, Al-Bayati O, Gelfond J, Goros M, Ullevig S, DiGiovanni J, et al. Higher baseline dietary fat and fatty acid intake is associated with increased risk of incident prostate cancer in the SABOR study. *Prostate Cancer Prostatic Dis*. mai 2019;22(2):244-51.
34. Liu X, Schumacher FR, Plummer SJ, Jorgenson E, Casey G, Witte JS. Trans-fatty acid intake and increased risk of advanced prostate cancer: modification by RNASEL R462Q variant. *Carcinogenesis*. juin 2007;28(6):1232-6.
35. King IB, Kristal AR, Schaffer S, Thornquist M, Goodman GE. Serum trans-fatty acids are associated with risk of prostate cancer in beta-Carotene and Retinol Efficacy Trial. *Cancer Epidemiol Biomark Prev Publ Am Assoc Cancer Res Cosponsored Am Soc Prev Oncol*. avr 2005;14(4):988-92.
36. Michels N, Specht IO, Heitmann BL, Chajès V, Huybrechts I. Dietary trans-fatty acid intake in relation to cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *Nutr Rev*. 4 juin 2021;79(7):758-76.
37. Minas TZ, Lord BD, Zhang AL, Candia J, Dorsey TH, Baker FS, et al. Circulating trans fatty acids are associated with prostate cancer in Ghanaian and American men. *Nat Commun*. 19 juill 2023;14(1):4322.
38. Seyyedsalehi MS, Collatuzzo G, Rashidian H, Hadji M, Gholipour M, Mohebbi E, et al. Dietary Ruminant and Industrial Trans-Fatty Acids Intake and Colorectal Cancer Risk. *Nutrients*. janv 2022;14(22):4912.
39. Aglago EK, Murphy N, Huybrechts I, Nicolas G, Casagrande C, Fedirko V, et al. Dietary intake and plasma phospholipid concentrations of saturated, monounsaturated and trans fatty acids and colorectal cancer risk in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition cohort. *Int J Cancer*. 28 avr 2021;
40. Bakker N, Van't Veer P, Zock PL. Adipose fatty acids and cancers of the breast, prostate and colon: an ecological study. EURAMIC Study Group. *Int J Cancer*. 7 août 1997;72(4):587-91.
41. Vinikoor LC, Schroeder JC, Millikan RC, Satia JA, Martin CF, Ibrahim J, et al. Consumption of trans-fatty acid and its association with colorectal adenomas. *Am J Epidemiol*. 1 août 2008;168(3):289-97.

42. Laake I, Carlsen MH, Pedersen JI, Weiderpass E, Selmer R, Kirkhus B, et al. Intake of trans fatty acids from partially hydrogenated vegetable and fish oils and ruminant fat in relation to cancer risk. *Int J Cancer*. 2013;132(6):1389-403.
43. Gilsing AMJ, Weijnenberg MP, Goldbohm RA, van den Brandt PA, Schouten LJ. Consumption of dietary fat and meat and risk of ovarian cancer in the Netherlands Cohort Study. *Am J Clin Nutr*. janv 2011;93(1):118-26.
44. Qiu W, Lu H, Qi Y, Wang X. Dietary fat intake and ovarian cancer risk: a meta-analysis of epidemiological studies. *Oncotarget*. 22 avr 2016;7(24):37390-406.
45. Yammine S, Huybrechts I, Biessy C, Dossus L, Aglago EK, Naudin S, et al. Dietary and Circulating Fatty Acids and Ovarian Cancer Risk in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 1 sept 2020;29(9):1739-49.
46. Anjom-Shoae J, Sadeghi O, Larijani B, Esmailzadeh A. Dietary intake and serum levels of trans fatty acids and risk of breast cancer: A systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies. *Clin Nutr Edinb Scotl*. mars 2020;39(3):755-64.
47. Matta M, Huybrechts I, Biessy C, Casagrande C, Yammine S, Fournier A, et al. Dietary intake of trans fatty acids and breast cancer risk in 9 European countries. *BMC Med*. déc 2021;19(1):81.
48. Kohlmeier L, Simonsen N, van 't Veer P, Strain JJ, Martin-Moreno JM, Margolin B, et al. Adipose tissue trans fatty acids and breast cancer in the European Community Multicenter Study on Antioxidants, Myocardial Infarction, and Breast Cancer. *Cancer Epidemiol Biomark Prev Publ Am Assoc Cancer Res Cosponsored Am Soc Prev Oncol*. sept 1997;6(9):705-10.
49. Voorrips LE, Brants HA, Kardinaal AF, Hiddink GJ, van den Brandt PA, Goldbohm RA. Intake of conjugated linoleic acid, fat, and other fatty acids in relation to postmenopausal breast cancer: the Netherlands Cohort Study on Diet and Cancer - ScienceDirect [Internet]. [cité 8 avr 2024]. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S000291652305983X>
50. Rissanen H, Knekt P, Järvinen R, Salminen I, Hakulinen T. Serum fatty acids and breast cancer incidence. *Nutr Cancer*. 2003;45(2):168-75.
51. Chajès V, Thiébaud ACM, Rotival M, Gauthier E, Maillard V, Boutron-Ruault MC, et al. Association between serum trans-monounsaturated fatty acids and breast cancer risk in the E3N-EPIC Study. *Am J Epidemiol*. 1 juin 2008;167(11):1312-20.
52. Aro A, Männistö S, Salminen I, Ovaskainen ML, Kataja V, Uusitupa M. Inverse association between dietary and serum conjugated linoleic acid and risk of breast cancer in postmenopausal women. *Nutr Cancer*. 2000;38(2):151-7.
53. Mozaffarian D, Pischon T, Hankinson SE, Rifai N, Joshipura K, Willett WC, et al. Dietary intake of trans fatty acids and systemic inflammation in women. *Am J Clin Nutr*. avr 2004;79(4):606-12.

54. Lopez-Garcia E, Schulze MB, Meigs JB, Manson JE, Rifai N, Stampfer MJ, et al. Consumption of trans fatty acids is related to plasma biomarkers of inflammation and endothelial dysfunction. *J Nutr.* mars 2005;135(3):562-6.
55. Effect of industrially produced trans fat on markers of systemic inflammation: evidence from a randomized trial in women - ScienceDirect [Internet]. [cité 22 mars 2024]. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022227520408466>
56. Baer DJ, Judd JT, Clevidence BA, Tracy RP. Dietary fatty acids affect plasma markers of inflammation in healthy men fed controlled diets: a randomized crossover study. *Am J Clin Nutr.* juin 2004;79(6):969-73.
57. Han SN, Leka LS, Lichtenstein AH, Ausman LM, Schaefer EJ, Meydani SN. Effect of hydrogenated and saturated, relative to polyunsaturated, fat on immune and inflammatory responses of adults with moderate hypercholesterolemia. *J Lipid Res.* mars 2002;43(3):445-52.
58. Tomey KM, Sowers MR, Li X, McConnell DS, Crawford S, Gold EB, et al. Dietary fat subgroups, zinc, and vegetable components are related to urine F2a-isoprostane concentration, a measure of oxidative stress, in midlife women. *J Nutr.* nov 2007;137(11):2412-9.
59. Dietary supplementation with 11trans- and 12trans-18:1 and oxidative stress in humans - ScienceDirect [Internet]. [cité 22 mars 2024]. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0002916523291406>
60. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods.* 16 déc 1983;65(1-2):55-63.
61. Palmer JM, Kalina M. Some effects of tetrazolium salt on the metabolism of mitochondria isolated from Jerusalem artichoke tubers. *Planta.* déc 1968;78(4):358-65.
62. Limame R, Wouters A, Pauwels B, Franssen E, Peeters M, Lardon F, et al. Comparative analysis of dynamic cell viability, migration and invasion assessments by novel real-time technology and classic endpoint assays. *PloS One.* 2012;7(10):e46536.
63. Ke N, Wang X, Xu X, Abassi YA. The xCELLigence System for Real-Time and Label-Free Monitoring of Cell Viability. In: Stoddart MJ, éditeur. *Mammalian Cell Viability: Methods and Protocols* [Internet]. Totowa, NJ: Humana Press; 2011 [cité 30 avr 2024]. p. 33-43. Disponible sur: https://doi.org/10.1007/978-1-61779-108-6_6
64. Human Phospho-Kinase Array Kit.
65. Muñoz-García J, Mazza M, Alliot C, Siquin C, Colliet-Jouault S, Heymann D, et al. Antiproliferative Properties of Scandium Exopolysaccharide Complexes on Several Cancer Cell Lines. *Mar Drugs.* mars 2021;19(3):174.
66. Kim YS, Cerbo RM, Hah CK, Bahn KN, Kim JO, Ha YL. Growth inhibition of osteosarcoma cell MG-63 by a mixture of trans,trans conjugated linoleic acid isomers: possible mechanistic actions. *J Food Sci.* janv 2008;73(1):T7-15.

67. Bergamo P, Cocca E, Palumbo R, Gogliettino M, Rossi M, Palmieri G. RedOx status, proteasome and APEH: insights into anticancer mechanisms of t10,c12-conjugated linoleic acid isomer on A375 melanoma cells. *PloS One*. 2013;8(11):e80900.
68. Shahzad MMK, Felder M, Ludwig K, Van Galder HR, Anderson ML, Kim J, et al. Trans10,cis12 conjugated linoleic acid inhibits proliferation and migration of ovarian cancer cells by inducing ER stress, autophagy, and modulation of Src. *PloS One*. 2018;13(1):e0189524.
69. Ochoa JJ, Farquharson AJ, Grant I, Moffat LE, Heys SD, Wahle KWJ. Conjugated linoleic acids (CLAs) decrease prostate cancer cell proliferation: different molecular mechanisms for cis-9, trans-11 and trans-10, cis-12 isomers. *Carcinogenesis*. juill 2004;25(7):1185-91.
70. Palombo JD, Ganguly A, Bistrrian BR, Menard MP. The antiproliferative effects of biologically active isomers of conjugated linoleic acid on human colorectal and prostatic cancer cells. *Cancer Lett*. 28 mars 2002;177(2):163-72.
71. Ohmori H, Fujii K, Kadochi Y, Mori S, Nishiguchi Y, Fujiwara R, et al. Elaidic Acid, a Trans-Fatty Acid, Enhances the Metastasis of Colorectal Cancer Cells. *Pathobiol J Immunopathol Mol Cell Biol*. 2017;84(3):144-51.
72. Kishi S, Fujiwara-Tani R, Luo Y, Kawahara I, Goto K, Fujii K, et al. Pro-metastatic signaling of the trans fatty acid elaidic acid is associated with lipid rafts. *Oncol Lett*. avr 2018;15(4):4423-6.
73. Fujii K, Luo Y, Fujiwara-Tani R, Kishi S, He S, Yang S, et al. Pro-metastatic intracellular signaling of the elaidic trans fatty acid. *Int J Oncol*. janv 2017;50(1):85-92.
74. Lampen A, Leifheit M, Voss J, Nau H. Molecular and cellular effects of cis-9, trans-11-conjugated linoleic acid in enterocytes: effects on proliferation, differentiation, and gene expression. *Biochim Biophys Acta*. 15 juin 2005;1735(1):30-40.
75. Awad AB, Herrmann T, Fink CS, Horvath PJ. 18:1 n7 fatty acids inhibit growth and decrease inositol phosphate release in HT-29 cells compared to n9 fatty acids. *Cancer Lett*. 4 mai 1995;91(1):55-61.
76. Beppu F, Hosokawa M, Tanaka L, Kohno H, Tanaka T, Miyashita K. Potent inhibitory effect of *trans*9, *trans*11 isomer of conjugated linoleic acid on the growth of human colon cancer cells. *J Nutr Biochem*. 1 déc 2006;17(12):830-6.
77. Soel SM, Choi OS, Bang MH, Yoon Park JH, Kim WK. Influence of conjugated linoleic acid isomers on the metastasis of colon cancer cells in vitro and in vivo. *J Nutr Biochem*. oct 2007;18(10):650-7.
78. Liu JR, Chen BQ, Yang YM, Wang XL, Xue YB, Zheng YM, et al. Effect of apoptosis on gastric adenocarcinoma cell line SGC-7901 induced by cis-9, trans-11-conjugated linoleic acid. *World J Gastroenterol*. déc 2002;8(6):999-1004.
79. Kim JH, Hubbard NE, Ziboh V, Erickson KL. Attenuation of breast tumor cell growth by conjugated linoleic acid via inhibition of 5-lipoxygenase activating protein. *Biochim Biophys Acta*. 1 oct 2005;1736(3):244-50.

80. Majumder B, Wahle KWJ, Moir S, Schofield A, Choe SN, Farquharson A, et al. Conjugated linoleic acids (CLAs) regulate the expression of key apoptotic genes in human breast cancer cells. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol.* sept 2002;16(11):1447-9.
81. Amarù DL, Field CJ. Conjugated linoleic acid decreases mcf-7 human breast cancer cell growth and insulin-like growth factor-1 receptor levels. *Lipids.* mai 2009;44(5):449-58.
82. De la Torre A, Debiton E, Durand D, Chardigny JM, Berdeaux O, Loreau O, et al. Conjugated linoleic acid isomers and their conjugated derivatives inhibit growth of human cancer cell lines. *Anticancer Res.* 2005;25(6B):3943-9.
83. Lim JN, Oh JJ, Wang T, Lee JS, Kim SH, Kim YJ, et al. trans-11 18:1 vaccenic acid (TVA) has a direct anti-carcinogenic effect on MCF-7 human mammary adenocarcinoma cells. *Nutrients.* 10 févr 2014;6(2):627-36.
84. Miller A, McGrath E, Stanton C, Devery R. Vaccenic acid (t11-18:1) is converted to c9,t11-CLA in MCF-7 and SW480 cancer cells. *Lipids.* juin 2003;38(6):623-32.
85. Rakib MA, Lee WS, Kim GS, Han JH, Kim JO, Ha YL. Antiproliferative Action of Conjugated Linoleic Acid on Human MCF-7 Breast Cancer Cells Mediated by Enhancement of Gap Junctional Intercellular Communication through Inactivation of NF- κ B. *Evid-Based Complement Altern Med ECAM.* 2013;2013:429393.
86. Song HJ, Sneddon AA, Heys SD, Wahle KWJ. Regulation of fatty acid synthase (FAS) and apoptosis in estrogen-receptor positive and negative breast cancer cells by conjugated linoleic acids. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* déc 2012;87(6):197-203.
87. Słowikowski BK, Drzewiecka H, Malesza M, Mądry I, Sterzyńska K, Jagodziński PP. The influence of conjugated linoleic acid on the expression of peroxisome proliferator-activated receptor- γ and selected apoptotic genes in non-small cell lung cancer. *Mol Cell Biochem.* mars 2020;466(1-2):65-82.
88. Fang Y, Yang J, Liang X, Wu J, Xie M, Zhang K, et al. Endogenous and exogenous stimuli-triggered reactive oxygen species evoke long-lived carbon monoxide to fight against lung cancer. *J Nanobiotechnology.* 16 juill 2024;22(1):416.
89. Li L, Du W, Wang H, Zhao Y, Huang Z, Peng Y, et al. Small-molecule MX-C2/3 suppresses non-small cell lung cancer progression via p53 activation. *Chem Biol Interact.* 1 oct 2022;366:110142.
90. Li L, Li P, Ma X, Zeng S, Peng Y, Zhang G. Therapeutic restoring p53 function with small molecule for oncogene-driven non-small cell lung cancer by targeting serine 392 phosphorylation. *Biochem Pharmacol.* sept 2022;203:115188.
91. Liang CY, Chang KF, Huang YC, Huang XF, Sheu GT, Kuo CF, et al. Patchouli alcohol induces G0 /G1 cell cycle arrest and apoptosis in vincristine-resistant non-small cell lung cancer through ROS-mediated DNA damage. *Thorac Cancer.* juill 2023;14(21):2007-17.
92. Phan TN, Kim O, Ha MT, Hwangbo C, Min BS, Lee JH. Albanol B from Mulberries Exerts Anti-Cancer Effect through Mitochondria ROS Production in Lung Cancer Cells and Suppresses In Vivo Tumor Growth. *Int J Mol Sci.* 14 déc 2020;21(24):9502.

93. Stupin Polančec D, Homar S, Jakšič D, Kopjar N, Šegvić Klarić M, Dabelić S. Citrinin Provoke DNA Damage and Cell-Cycle Arrest Related to Chk2 and FANCD2 Checkpoint Proteins in Hepatocellular and Adenocarcinoma Cell Lines. *Toxins*. 17 juill 2024;16(7):321.
94. Patil AS, Ibrahim MK, Sathaye S, Degani MS, Pal D, Checker R, et al. Mitochondriotropic Derivative of Ethyl Ferulate, a Dietary Phenylpropanoid, Exhibits Enhanced Cytotoxicity in Cancer Cells via Mitochondrial Superoxide-Mediated Activation of JNK and AKT Signalling. *Appl Biochem Biotechnol*. mars 2023;195(3):2057-76.
95. Rana JN, Mumtaz S, Han I, Choi EH. Formation of reactive species via high power microwave induced DNA damage and promoted intrinsic pathway-mediated apoptosis in lung cancer cells: An *in vitro* investigation. *Fundam Res*. 1 nov 2024;4(6):1542-56.
96. Yang Y, Deng Y, Chen X, Zhang J, Chen Y, Li H, et al. Inhibition of PDGFR by CP-673451 induces apoptosis and increases cisplatin cytotoxicity in NSCLC cells via inhibiting the Nrf2-mediated defense mechanism. *Toxicol Lett*. 1 oct 2018;295:88-98.
97. Secondary Metabolites from the Culture of the Marine-derived Fungus *Paradendryphiella salina* PC 362H and Evaluation of the Anticancer Activity of Its Metabolite Hyalodendrin [Internet]. [cité 23 mai 2025]. Disponible sur: <https://www.mdpi.com/1660-3397/18/4/191>
98. Elya B, Rosmalena R, Fajrin AM, Tedjo A, Ramadanti NA, Azizah NN, et al. Ethanol extract from *Ziziphus nummularia* stem inhibits MCF-7 breast cancer cell proliferation through TP53 regulating kinase (TP53RK)-mediated p53 activation: In silico and genes expression investigations. *Narra J*. 10 févr 2025;5(1):e1382-e1382.
99. Kıyga E, Şengelen A, Adıgüzel Z, Önay Uçar E. Investigation of the role of quercetin as a heat shock protein inhibitor on apoptosis in human breast cancer cells. *Mol Biol Rep*. juill 2020;47(7):4957-67.
100. Mitogen- and Stress-Activated Protein Kinases 1 and 2 Are Required for Maximal Trefoil Factor 1 Induction | *PLOS One* [Internet]. [cité 23 mai 2025]. Disponible sur: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0063189>
101. Synergistic Effects of Epirubicin-Vorinostat-Pimozide Drug Cocktail on Proliferation, Stemness, Invasiveness, and Fatty Acid Metabolism in Breast Cancer Cells - Kandasamy - 2025 - *IUBMB Life* - Wiley Online Library [Internet]. [cité 23 mai 2025]. Disponible sur: <https://iubmb.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/iub.70020>
102. Beyond endocrine resistance: estrogen receptor (ESR1) activating mutations mediate chemotherapy resistance through the JNK/c-Jun MDR1 pathway in breast cancer | *Breast Cancer Research and Treatment* [Internet]. [cité 23 mai 2025]. Disponible sur: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10549-024-07507-3>
103. Zhu M, Zhong W, Wong S, Luo X, Hong Z, Lin J, et al. E3 ubiquitin ligase ITCH-mediated proteasomal degradation of WBP2 sensitizes breast cancer cells to chemotherapy through restraining AMOTL2/c-JUN axis. *Biochem Pharmacol*. févr 2025;232:116720.
104. (4-Picolylamino)-17 β -Estradiol derivative and analogues induce apoptosis with death receptor trail R2/DR5 in MCF-7 - *PubMed* [Internet]. [cité 23 mai 2025]. Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36460128/>

105. Wang S, Zhang X, Wang H, Wang Y, Chen P, Wang L. Heat Shock Protein 27 Enhances SUMOylation of Heat Shock Protein B8 to Accelerate the Progression of Breast Cancer. *Am J Pathol.* déc 2020;190(12):2464-77.
106. Da Silva MS, Julien P, Bilodeau JF, Barbier O, Rudkowska I. Trans Fatty Acids Suppress TNF- α -Induced Inflammatory Gene Expression in Endothelial (HUVEC) and Hepatocellular Carcinoma (HepG2) Cells. *Lipids.* avr 2017;52(4):315-25.
107. Oraldi M, Maggiora M, Paiuzzi E, Canuto RA, Muzio G. CLA reduces inflammatory mediators from A427 human lung cancer cells and A427 conditioned medium promotes differentiation of C2C12 murine muscle cells. *Lipids.* janv 2013;48(1):29-38.
108. Zeng Y, Liu P, Yang X, Li H, Li H, Guo Y, et al. The dietary c9,t11-conjugated linoleic acid enriched from butter reduces breast cancer progression in vivo. *J Food Biochem.* avr 2020;44(4):e13163.
109. Zhang JS, Chen BQ, Wang Q, Yang YM, Gao Y, Sun W, et al. [Role of cyclooxygenase-2 in inhibition of human gastric adenocarcinoma cell line SGC-7901 by c9, t11-conjugated linoleic acid]. *Wei Sheng Yan Jiu.* mai 2005;34(3):333-5.
110. Cassagno N, Palos-Pinto A, Costet P, Breilh D, Darmon M, Bérard AM. Low amounts of trans 18:1 fatty acids elevate plasma triacylglycerols but not cholesterol and alter the cellular defence to oxidative stress in mice. *Br J Nutr.* sept 2005;94(3):346-52.
111. Hu X, Wang X, Jia F, Tanaka N, Kimura T, Nakajima T, et al. A trans-fatty acid-rich diet promotes liver tumorigenesis in HCV core gene transgenic mice. *Carcinogenesis.* 22 avr 2020;41(2):159-70.
112. Trans fatty acids alter the lipid composition and size of apoB-100-containing lipoproteins secreted by HepG2 cells - PubMed [Internet]. [cité 12 juill 2025]. Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15741053/>
113. Lee Y, Thompson JT, de Lera AR, Vanden Heuvel JP. Isomer-specific effects of conjugated linoleic acid on gene expression in RAW 264.7. *J Nutr Biochem.* nov 2009;20(11):848-59, 859.e1-5.
114. Fan H, Xia S, Xiang J, Chen J. Trans-vaccenic Acid Reprograms CD8+ T Cells and Enhances Antitumor Immunity. *Cancer Discov.* 8 déc 2023;OF1.
115. Lim JN, Oh JJ, Wang T, Lee JS, Kim SH, Kim YJ, et al. trans-11 18:1 Vaccenic Acid (TVA) Has a Direct Anti-Carcinogenic Effect on MCF-7 Human Mammary Adenocarcinoma Cells. *Nutrients.* 10 févr 2014;6(2):627-36.