



Université de Strasbourg
FACULTÉ DE PHARMACIE

N° d'ordre: _____

MÉMOIRE DE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

—

**L'INTERET DES STILBENES DANS LE TRAITEMENT DU CANCER
DU SEIN, MISE EN EVIDENCE DE LEUR PRESENCE DANS LA
PLANTE *CAREX VIRGATA* (CYPERACEES).**

Présenté par Kubra OZEN SAHIN

Soutenu le 23 novembre 2023 devant le jury constitué de

Pauline SOULAS-SPRAUEL, Président

Corine GIRARD, Directeur de thèse

Nelly ETIENNE-SELLOUM, Autres membres du jury

Approuvé par le Doyen et
par le Président de l'Université de Strasbourg



Doyen : Esther KELLENBERGER

Directeurs adjoints Julien GODET
Béatrice HEURTALT
Emilie SCK

Directeur adjoint étudiant : Léo FERREIRA-MOURAUX

LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT-CHERCHEUR**Professeurs :**

Philippe	BOUCHER	Physiologie
Nathalie	BOLLANGER	Parasitologie
Line	BOUREL	Chimie thérapeutique
Pascal	DIDER	Biophotonique
Saïd	ENNAHAR	Chimie analytique
Philippe	GEORGEL	Bactériologie, Virologie
Jean-Pierre	GES	Pharmacologie moléculaire
Béatrice	HEURTALT	Pharmacie galénique
Esther	KELLENBERGER	Bio-Informatique
Maxime	LEHMANN	Biologie cellulaire
Eric	MARCHON	Chimie analytique
Francis	MEGERLIN	Droit et économie pharm.
Yves	MELY	Physique et Biophysique
Jean-Yves	PABST	Droit Economie pharm.
Françoise	FONS	Toxicologie
Valérie	SCHIN-KERTH	Pharmacologie
Florence	TOTI	Pharmacologie
Thierry	VANDAMME	Biogalénique
Catherine	VONTHRON	Pharmacognosie
Pascal	WEHLE	Pharmacie galénique

Professeurs praticiens hospitaliers

Jean-Marc	LESSINGER	Biochimie
Bruno	MICHEL	Pharm. clinique santé publique
Pauline	SOLLAS SPRAUEL	Immunologie
Geneviève	UBEAUD-SEQUIER	Pharmacocinétique

PAST :

Matthieu	FUHER	Pharmacie d'officine
Philippe	GALAIS	Droit et économie pharm.
Philippe	NANDE	Ingénierie pharmaceutique
Caroline	WILLER- WEHLE	Pharmacie d'officine

Maîtres de Conférences :

Nicolas	ANTON	Pharmacie biogalénique
Martine	BERGAENTZLÉ	Chimie analytique
Elisa	BOMBARDA	Biophysique
Aurélie	BOURDEROUX	Pharmacochimie
Emmanuel	BOUTANT	Virologie et Microbiologie
Véronique	BRUBAN	Physiologie et physiopath.
Anne	CASSET	Toxicologie
Thierry	CHATAIGNEAU	Pharmacologie
Manuela	CHIFER	Pharmacie biogalénique
Guillaume	CONZATTI	Pharmacie galénique
Maroella	DE GORG	Pharmacochimie
Serge	DUMONT	Biologie cellulaire
Valérie	GEOFFROY	Microbiologie
Gsèle	HAAN-ARCHIPOFF	Plantes médicinales
Céline	JACQUEMARD	Chémoinformatique
Julie	KARENKO	Pharmacochimie
Clarisse	MACHUNG	Chimie physique
Rachel	MATZ-VESTHAL	Pharmacologie
Cherifa	MEHADI	Chimie
Nathalie	NEDERHOFER	Pharmacologie
Sergio	ORTIZAGUIRRE	Pharmacognosie
Sylvie	FERROTEY	Parasitologie
Romain	FERISCH	Chimie en flux
Frédéric	FRZYBILLA	Biostatistiques
Patrice	RASSAM	Microbiologie
Eléonore	REAL	Biochimie
Andreas	REISCH	Biophysique
Ludvine	RIFFALT-VALOIS	Analyse du médicament
Carole	RONZAN	Toxicologie
Emilie	SCK	Pharmacologie
Maria-Vittoria	SPANEDA	Chimie thérapeutique
Jérôme	TERRAND	Physiopathologie
Nassera	TOUNS	Chimie physique
Aurélie	URBAIN	Pharmacognosie
Bruno	VANOVERLOOP	Physiologie
Maria	ZENOU	Chimio génomique

Maîtres de conférences - praticiens hospitaliers

Julie	BRUNET	Parasitologie
Nelly	ETIENNE-SELLOUM	Pharmacologie- pharm. clinique
Julien	GODET	Biophysique - Biostatistiques

Assistants hospitaliers universitaires

Damien	REITA	Biochimie
--------	-------	-----------

SERMENT DE GALIEN

JE JURE,

en présence des Maîtres de la Faculté,
des Conseillers de l'Ordre des Pharmaciens
et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit
dans les préceptes de mon art et de
leur témoigner ma reconnaissance en
restant fidèle à leur enseignement ;

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique,
ma profession avec conscience et de respecter non
seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles
de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

De ne dévoiler à personne les secrets
qui m'auront été confiés et dont j'aurai eu
connaissance dans la pratique de mon art.

Si j'observe scrupuleusement ce serment,
que je sois moi-même honoré
et estimé de mes confrères
et de mes patients.

Table des matières

I. Introduction.....	14
II. Les stilbénoides.....	15
1. Définition / structure.....	15
2. Les différentes activités des stilbènes	17
a. Activité antibactérienne et antifongique.....	17
b. Activité antioxydante	18
c. Activité anti-inflammatoire	20
d. Activité anti-cancéreuse	22
III. L'intérêt des stilbènes dans le cancer du sein	23
1. Le cancer du sein.....	23
a. La structure du sein	23
b. Épidémiologie du cancer du sein.....	24
c. Les signes cliniques du cancer du sein.....	25
d. Les tumeurs du sein.....	26
e. Évaluation des tumeurs du sein.....	28
2. Les traitements du cancer du sein	30
a. Traitements loco-régionaux.....	31
b. Traitements généraux/systémiques.....	31
3. Les effets des stilbènes contre le cancer du sein	35
a. Activité anti tumorale – action sur l'initiation	36
b. Activité anti tumorale – action sur la promotion.....	41
c. Activité anti tumorale - action sur la progression et l'invasion	50
d. Potentialisation des traitements anticancéreux par les stilbènes.	59
e. Discussion/limites	65
IV. Présence de stilbènes dans la plante Carex Virgata	69
1. Matériel et méthodes.....	70
a. Extractions.....	70
b. Pré-purification SPE CL-18	70
c. Chromatographie sur couche mince (CCM)	71
d. Chromatographie liquide haute performance (CLHP) analytique	72
e. CLHP préparative.....	72
f. Spectrométrie de masse (SM).....	73
g. Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)	73
2. Résultats.....	74

a.	CCM.....	74
b.	CLHP analytique.....	75
c.	CLHP préparative.....	76
d.	Spectrométrie de masse (EIMS).....	77
e.	RMN.....	78
3.	Discussion.....	81
a.	CCM.....	81
b.	CLHP analytique.....	81
c.	SM.....	81
d.	RMN.....	81
4.	Conclusion.....	81
V.	Conclusion.....	82
VI.	Bibliographie.....	83

Liste des abréviations

[M + H]⁺ : M : Masse de la molécule neutre, H⁺ proton

•O₂⁻ : radical superoxyde

8-OHdG : 8-Hydroxydeoxyguanosine

ABC : ATP-Binding cassette

ABCB1 : ATP-Binding cassette sub-family B member 1

ACI : August Copenhagen Irish

ACN : Acétonitrile

AcOH : Acide acétique

ADN : Acide désoxyribonucléique

AGE : Advanced glycation endproducts

AIF : Apoptosis inducing factor

AKT : PKB : Protéine Kinase B

AMACR: A-methyl acyl-CoA racemase

AMPc : Adénosine-monophosphate cyclique

AOX1 : aldéhyde oxydase 1

AP-1 : Protéine activatrice 1

APAF-1 : Apoptotic peptidase activating factor-1

APC : Adenomatous polyposis coli

ARN : Acide ribonucléique

ARN : Acide ribonucléique

ARNm : Acide ribonucléique messenger

ATP : Adénosine triphosphate

AURKA : Aurora kinase A

Bak : BCL2 antagonist/killer 1

Bax : BCL2 associated X

Bcl-2 : B-cell lymphoma-2

Bcl-xL : B-cell lymphoma-extra large

BCRP : Breast cancer resistance protein

BH4 : Tetrahydrobiopterine

Bid : Domaine d'interaction BH-3

BRCA1 : Breast cancer 1

BRCA2 : Breast cancer 2

C4H : 4-coumarate-coenzyme-A ligase

CCL18 : C-C Motif chemokine ligand 18
CCM : Chromatographie sur couche mince
CCNB1 : Cow cyclin B1
CCND1 : Cow cyclin D1
CD : Complexe de différenciation
Cdc2 : Cell division cycle 2 kinase
CDK : Cyclin dependant kinase
CHCl3 : Chloroforme
CI50 : Concentration inhibitrice médiane 50%
CK1 : Casein kinase 1
CLHP : Chromatographie liquide haute performance
Cmax : concentration maximale
COMT : catéchol-O-méthyltransférase
COX : Cyclo-oxygénase
CSC : Cancer stem-like cells
CSF1 : Macrophage colony-stimulating factor 1
cTNM : clinical TNM
CYP : cytochrome
E2 : 17 β -Estradiol
EGF : Epidermal growth factor,
EGFR: Epidermal growth factor receptor
EIMS : Électron impact mass spectrometry
eNOS : Monoxyde d'azote synthase endothélial
EPHX-1 : Époxyde hydrolase-1
ER- β : Récepteur bêta à l'œstrogène
ERA : Élément de réponse antioxydant
ERK1/2 : Extracellular signal-regulated kinase 1 and 2
ERK1/2 : Extracellular signal-regulated kinase 1/2
ERO : Espèces réactives de l'oxygène
EUP : Eau ultra pure
FAK : Kinase d'adhérence focale
Fas-L : Fas Ligand
FMO1 : flavine monooxygénase 1
FOXO1 : Forkhead box O1
G1 : Gap 1

G2 : Gap 2

GCV : graines de Carex virgata

GLUT-1 : Transporteur de glucose type 1

GSK3 β : Glycogen Synthase Kinase 3 beta

GST : glutathion-S-transférase

GTP : Guanosine triphosphate

H₂O : Eau distillée

HDAC1 : Histone deacetylase 1

HER2 : Human epidermal growth factor receptor 2

HER3 : Human epidermal growth factor receptor 3

HIF1/2 : Hypoxia inducible factor

HO-1 : Hème oxygénase-1

HR : Homologous recombination

HRE : Hypoxia response element

HRG-bêta : Héréguline-bêta

HSP27 : Protéine de choc thermique 27

I- κ B Inhibiteur de kappa B

IGF-1 : Insulin-like growth factor

IGFBP : Insulin-like growth factor binding protein

IL : Interleukine

iNOS : Monoxyde d'azote synthase induite

JAK/STAT3 : Janus kinase/signal transducer and activator of transcription

JNK : C-Jun N-terminal Kinase

KDR : Kinase insert domain receptor

Keap1 : Protéine kelch-like ECH-associated protein 1

LC3 II : Microtubule-associated protein 1 light chain 3

LH : Hormone lutéinisante

LHRH : Gonadoréline

LOX : lipoxygénase

LRP5/6 : Low density lipoprotein receptor related protein 5/6

M : mitose

m/z : Masse sur charge

MAPK : Mitogen-Activated protein kinase

MAT : Macrophages associés aux tumeurs

MAT-M2 : Macrophages associés aux tumeurs polarisés M2

MCF : Michigan Cancer Foundation
MCF-10A : Michigan cancer foundation-10A
MCF-7 : Michigan cancer foundation-7
MCF-7/DOX : Cellules MCF7 résistantes à la doxorubicine
MCF-7/TR : MCF7/Tamoxifen resistant
MCF-7casp-3 : Michigan cancer foundation-7 caspase-3-compétentes
MCF-7vc : Michigan cancer foundation-7 non compétentes à la caspase-3
MCP-1 : Monocyte chemoattractant protein-1
MDA-MB-231 : Anderson-metastatic breast-231
MDR : Multidrug resistance
MDR-1 : Multidrug resistance gene 1
MED28 : Mammalian mediator complex for transcription
MeOD4 : Méthanol deutéré
MeOH : méthanol
miARN : Micro acide ribonucléique
MMP : Matrix metallo proteinase
MR-3 : 3,5,4'-Trimethoxystilbene
MRP : Multidrug resistance protein
MS2 : Spectrométrie de masse en tandem
mTOR : mammalian target of Rapamycin
mTORC1 : Mammalian target of rapamycine complexe 1
mTORC2 : Mammalian target of rapamycine complexe 2
NAD : Nicotinamide adénine dinucleotide
NADPH : Nicotinamide adénine dinucleotide phosphate
NF-κB : Nuclear factor kappa B
NGB : Neuroglobine
NO : Monoxyde d'azote
NOS : Monoxyde d'azote synthase
NQO-1 : NADPH quinone oxydoréductase-1
Nrf2 : Nuclear factor erythroid-2-related factor 2
OGG1 : 8-oxoguanine ADN glycosylase 1
OH• : radical hydroxyle
OMS : Organisation mondiale de la santé
ONOO- : peroxydinitrite
ORAC : Oxygen radical absorbance capacity

P-GP : Glycoprotéine-P
P1-RCH : Resvératrol diglycosylé
P2-RCH : Myabénol A
p21WAF1/CIP1 : p21 Wild-type p53-Activated Fragment 1/ Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor 1
PAL : Phenylalanine ammonia-lyase
PARP : Poly ADP(adenosine diphosphate)-Ribose Polymerase
PARP1 : Poly(ADP-Ribose) polymerase 1
PC12 : Phéochromocytomes 12
PCNA : Proliferating cell nuclear antigen
PD-L1 : Programmed death-ligand 1
PDGFR : Platelet-derived growth factor receptor
PDK1 : Phosphatidylinositol 3-dependent kinase 1
PGE2 : Prostaglandines E2
PI3K : Phosphoinositide 3-kinase
PIP2 : Phosphatidylinositol-4,5 biphosphate
PIP3 : Phosphatidylinositol-3,4,5 triphosphate
PKC : Protéine kinase C
PLC : Phospholipase C
PLK1 : Polo-like kinase 1
PMA : Phorbol ester
ppm : Parties par million
PS : Phosphatidylserine
PT : Piceatannol
PTEN : Phosphatase and tensin homolog
pTNM : post-chirurgical TNM
PTV : Planning target volume
QR : Quinone réductase
R3S : resvératrol-3-O-sulfate
RAC : Rho GTPase activating protein
RASSF : Ras association domain family
Rb : Retinoblastoma
RCP : Réunion de concertation pluridisciplinaire
RE : Récepteur aux œstrogènes
RGD : Arginine-glycine-aspartate
RMN : Résonance magnétique nucléaire

RMN 1H : Résonnance magnétique nucléaire proton
RMN 2D : Résonnance magnétique nucléaire bidimensionnel
RP : Récepteur à la progestérone
S : Synthèse
S1P : sphingosine-1-phosphate
S6K : S6 Kinase
Sin3A : Switch-independent 3A
SIR : Stage d'initiation à la recherche
SiRNA : Small interfering ribonucleic acid
SiRNA : Small interfering RNA
SIRT-1 : Sirtuine-1
Slug : Snail family transcriptional repressor 2
SM : Spectrométrie de masse
Smad : Mothers against decapentaplegic homolog
SOD3 : superoxyde dismutase 3
Sp1 : Specificity protein 1
SPE : Solid-phase extraction
SphK : Sphingosine kinase
STS : Steroid sulfatase
STS : Stilbène synthétase
SULT1A1 : Sulfotransferase 1A1
T-DM1 : Trastuzumab emtasine
TAL : Tyrosine ammonia-lyase
TCDD : 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxine
TCF/LEF : T Cell factor/lymphoid enhancer factor
TEM : Transition épithélio-mésenchymateuse
TFA : Acide trifluoro-acétique
TGF- β 1 : Transforming growth factor beta 1
THM : Traitement hormonaux de la ménopause
TIMP : Tissue inhibitor of metalloproteinase
TNF : Tumor necrosis factor
TNM: Tumor, Node, Metastasis (Tumeur, nodule, métastase)
TR : Temps de rétention
UE : Unité d'enseignement
UFR : Unité de formation et de recherche

UICC : Union internationale contre le cancer

UV : Ultraviolet

Vd : volume de distribution

VEGF : Vascular endothelial growth factor

Zeb : **Zinc** finger E-box-binding homeobox

β -TRCP : β -Transducin repeat containing protein

δ : Résonance magnétique

Liste des figures et tableaux

Figure 1 : 1,2-diphényléthylène sous la forme cis à gauche et trans à droite.....	15
Figure 2 : (E)-Resvératrol et (Z)-Resvératrol.....	15
Figure 3 : Voie de biosynthèse des stilbènes. Les enzymes impliqués sont : PAL : phénylalanine ammonia-lyase; TAL : tyrosine ammonia-lyase, C4H : 4-coumarate-CoA ligase; STS : stilbène synthétase.	11
Figure 4 : Cancérogénèse et chimio-prévention par les stilbènes. (7,89)	36
Figure 5 Les mécanismes potentiels responsables des effets anticancéreux des stilbènes (resvératrol et analogues). Inspiré de Ko JH et al, 2017 (58).	58
Figure 6 : Appareillage permettant de suivre 12 minicolonnes Supelclean SPE.	71
Figure 7 : CCM – Phase mobile 1 (254nm, 365nm). De gauche vers la droite : GCVbrut – P1RCH – P2RCH - Piceatannol	74
Figure 8 : CCM - phase mobile 2 (254nm, 365nm).	75
Figure 9 : Chromatogramme CLHP analytique à 286 et 306 nm de l'extrait brut de GCV.	76
Figure 10 : Chromatogramme CLHP préparative à 286 et 306 nm de l'extrait brut de GCV.	76
Figure 11 : Spectre en ionisation positive (EIMS) du pic P1.....	78
Figure 12 : Spectre en ionisation positive (EIMS) du pic P2.....	78
Figure 13 : Structures chimique des composés polyphénoliques isolés : (E)-resvératrol diglucoside (P1) et (E)-piceatannol (P2).	79
Figure 14 : Résultats du test arginase : GCV Brut et les six composés purifiés	82
Tableau 1 : Gradient d'ACN (%B) pour la CLHP analytique des GCV.....	72
Tableau 2 : Temps de rétention des pics majoritaires obtenus à la CLHP analytique.	75
Tableau 3 : Masse de composés récupérés avec la CLHP préparative après évaporation.	76
Tableau 4 : Résultats tirés de l'analyse par CLHP analytique et SM.	77
Tableau 5 : Données de la RMN ¹ H (400 MHz) des composés P1 et P2 dans le méthanol-d ₄	79

I. Introduction

Le cancer du sein est le cancer le plus fréquent chez les femmes à travers le monde, entraînant en France 11 900 décès annuels selon la Ligue contre le Cancer. La mortalité due à ce cancer (nombre de décès par an) n'a pas augmenté depuis les années 80, résultat des progrès dans l'organisation des dépistages et la prise en charge médicale de la pathologie. (1) Les approches majeures pour traiter le cancer du sein comprennent la chirurgie et la radiothérapie, qui agissent localement. Dans certains cas, des traitements systémiques tels que les thérapies antihormonales, la chimiothérapie et les thérapies ciblées peuvent être ajoutés. Ces différentes stratégies visent à éliminer la tumeur ou les métastases, à freiner leur progression, à réduire les risques de réapparition et à atténuer les symptômes associés à la maladie. (1,2) Malgré les avancées dans la prise en charge de cette maladie, la résistance médicamenteuse est l'un des obstacles majeurs dans la thérapie contre le cancer du sein. (3)

Des médicaments extraits de plantes sont fréquemment utilisés comme agents synergiques dans le traitement du cancer. (4) Les stilbènes provenant de différentes sources, notamment les raisins, les myrtilles, les canneberges, les mûres et les arachides, ainsi que dans plusieurs familles de plantes dont les cypéracées avec la plante *Carex virgata*, ont été examinés en tant que candidats prometteurs pour des applications thérapeutiques. (5)

Parmi ces stilbènes, le resvératrol occupe une place particulièrement importante. Ayant démontré un intérêt thérapeutique dans plusieurs études dans diverses affections telles que le diabète, les maladies cardiovasculaires, les inflammations et le cancer, le resvératrol et ses dérivés déploient des mécanismes anticancéreux variés vis-à-vis du cancer du sein. Ces mécanismes incluent l'inhibition de la croissance cellulaire, la réduction de la viabilité cellulaire, ainsi que le ralentissement de l'invasion et de la propagation métastatique engageant une multitude de voies moléculaires. (6)

De plus, ces composés peuvent potentialiser le traitement anticancéreux en augmentant la sensibilité des cellules cancéreuses du sein aux traitements conventionnels, augmentant l'efficacité des traitements, diminuant les résistances multi-médicamenteuses (« multi-drogues ») des cellules cancéreuses, améliorant la tolérance en diminuant la toxicité et les effets indésirables des traitements conventionnels. (7)

II. Les stilbénoides

1. Définition / structure

L'ensemble des stilbènes forme la famille des stilbénoides. Ils font partie de la famille des polyphénols, molécules naturelles issues du métabolisme spécialisé des végétaux. Ils sont largement présents dans le règne végétal et constituent une famille de molécules organiques ayant en commun un ou plusieurs cycles benzéniques avec une ou plusieurs fonctions hydroxyle. (8) On retrouve majoritairement les polyphénols dans l'alimentation, dont les fruits et légumes comme les raisins, les baies ; les arachides, le thé, le café ; ainsi que dans les pins (9,10). On les retrouve dans un grand nombre de familles botaniques comme les Pinaceae, Gnetaceae, Cyperaceae, Vitaceae, Dipterocarpaceae, Moraceae, Polygonaceae... (11)

Les stilbénoides font partie de la classe des non-flavonoïdes et dérivent de la voie des phénylpropanoïdes. Leur structure de base est le 1,2-diphényléthylène, qui peut se présenter sous la configuration cis ou *Z* ou la configuration trans ou *E* (figure 1). Les stilbènes ont donc une structure composée de deux cycles benzéniques reliés par un pont méthylène. (12) Le (*E*)-3,5,4'-hydroxystilbène ou (*E*)-resvératrol (Figure 2) constitue le squelette de base des stilbènes, qui varient ensuite suivant le nombre de groupements hydroxyles, la substitution par des sucres, les groupements méthoxyles, par la configuration (*Z*) ou (*E*), ainsi que par le degré d'oligomérisation, de glycosylation, méthylation et prénylation (Figure 3, modifiée de Dubrovina, Kiselev, 2017). (13,14)

Ces molécules sont synthétisées dans les plantes sous des conditions de stress, telles que des infections ou une exposition aux rayons ultraviolets (UV). Sous rayonnement UV, ils s'isomérisent rapidement en forme géométrique cis, forme moins étudiée due à sa plus faible abondance malgré une activité biologique intéressante. (15)

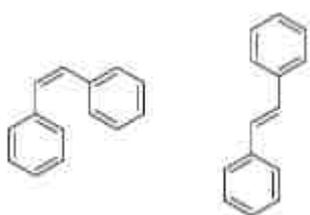


Figure 1 : 1,2-diphényléthylène sous la forme cis à gauche et trans à droite.

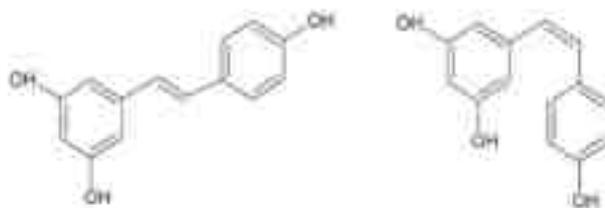


Figure 2 : (*E*)-Resvératrol et (*Z*)-Resvératrol.

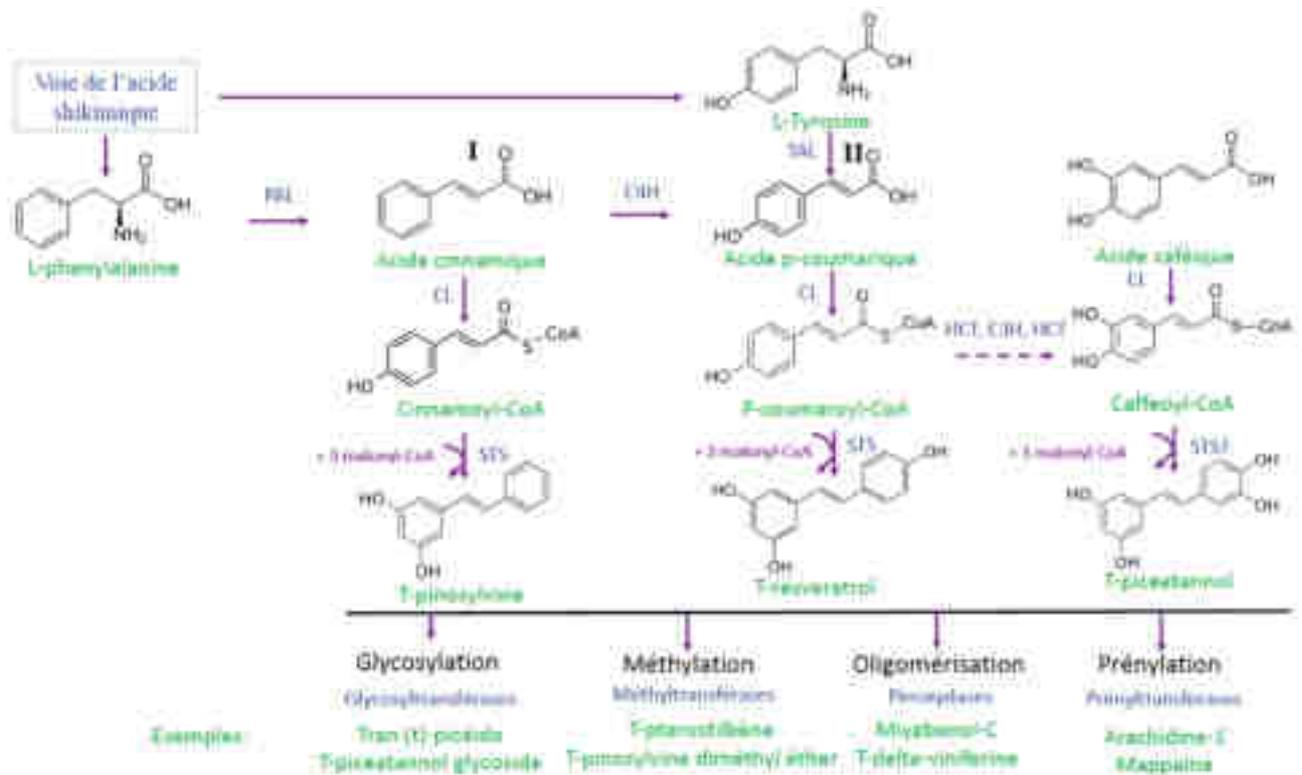


Figure 3 : Voie de biosynthèse des stilbènes. Les enzymes impliqués sont : PAL : phénylalanine ammonia-lyase; TAL : tyrosine ammonia-lyase, C4H : 4-coumarate-CoA ligase; STS : stilbène synthétase.

La ressemblance des cristaux de stilbène à la roche stilbite est à l'origine du nom « stilbène ». Le nom de cette roche proviendrait du grec « *stilbos* » signifiant « brillant, éclatant » en raison de son aspect éclatant et nacré. (16) Une fluorescence bleue intense est observée en réponse au rayonnement ultraviolet (UV). Cette propriété physico-chimique rend les molécules de stilbène faciles à caractériser en chromatographie sur couche mince (CCM) et en chromatographie liquide (CLHP) en utilisant des détecteurs UV ou des détecteurs à barrette de diodes, ou même directement par fluorescence sous lumière UV. (17) Les longueurs d'ondes d'absorbance des stilbènes se situent entre 220 et 307 nm. Les stilbènes sont peu solubles dans l'eau à l'exception des formes glycosylées, mais sont généralement solubles dans les solvants organiques tels que l'éthanol, le méthanol, l'acétate d'éthyle, l'acétone ou l'acide acétique. (18)

Parmi les stilbènes, le resvératrol est probablement l'une des molécules les plus étudiées. Il a été décrit pour la première fois en 1940 par Michio Takaoka, un étudiant japonais qui étudiait des extraits de plantes médicinales traditionnelles et l'appelait "resvératrol" car la molécule avait été extraite des racines de *Veratrum grandiflorum* (vétrate blanc) et présentait le squelette du résorcinol dans sa structure moléculaire. (19)

2. Les différentes activités des stilbènes

Les stilbènes ont de multiples activités biologiques, comme les propriétés anti-inflammatoires et antioxydantes, reliées à leurs capacités de piéger les radicaux libres, et ainsi avoir un impact positif sur les pathologies en lien avec le stress oxydatif comme le cancer. (20) Les stilbènes ont démontré des activités intéressantes au niveau de la modulation de l'expression des gènes et des protéines clés impliqués dans différentes pathologies. On retrouve ces effets notamment dans les maladies cardiovasculaires, neuro-dégénératives, métaboliques, ainsi que dans plusieurs processus cancéreux. (21)

L'activité biologique des stilbènes peut se diviser en deux parties complémentaires. Par la structure phénolique de ces molécules, nous retrouvons une activité biologique non spécifique, qui confère à ces molécules un pouvoir anti-oxydant, piègeur de radicaux libres tels que les espèces réactives de l'oxygène (ERO) et les produits de fin de glycation (AGE, advanced glycation endproducts). (22,23) Ces produits étant associés au développement de maladies neurodégénératives et métaboliques majeures telles que le cancer, l'athérosclérose et le diabète ; la chélation de ces derniers par les stilbènes aide à protéger les tissus sensibles et à prévenir ces maladies. (24)

On retrouve d'autre part une activité biologique spécifique par le moyen de mécanismes ciblés comme les interactions avec des récepteurs, enzymes ou facteurs de transcription. (25) Ces multiples interactions permettent au resvératrol et ses dérivés de se montrer efficaces dans les tests *in vitro* et *in vivo* dans les expérimentations animales ; ils démontrent des effets anti-inflammatoires et antioxydants en relation avec leurs activités anticancéreuses, leurs activités protectrices du système cardiovasculaire et neurologiques ainsi qu'une activité cytotoxique et antimicrobienne.

a. Activité antibactérienne et antifongique

L'utilisation courante des stilbènes, notamment du resvératrol, permet de s'intéresser aux propriétés antimicrobiennes à la fois en monothérapie et en association avec les antibiotiques conventionnels. Le resvératrol démontre une activité antimicrobienne à spectre étonnamment large au niveau d'espèces bactériennes, virales et fongiques. L'inhibition de l'hydrolyse d'ATP (Adénosine

TriPhosphate), de l'ATP synthase et de la phosphorylation oxydative, la déformation cellulaire et la perturbation de la structure membranaire sont les cibles permettant cette activité antibactérienne. (26)

A des concentrations subinhibitrices, le resvératrol permet d'altérer l'expression des traits de virulence bactérienne, entraînant une réduction de la production de toxines, de la formation de biofilm, de la motilité ; ainsi que l'interférence avec le quorum sensing (système de communication entre bactéries). En association avec des antibiotiques conventionnels, le resvératrol renforce l'activité des aminosides contre plusieurs bactéries GRAM +, dont *Staphylococcus aureus* ; alors qu'il antagonise l'activité létale des fluoroquinolones contre *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*. (26) Les stilbènes entraînent l'inhibition de l'ATP synthase ce qui augmente l'efficacité antibactérienne des aminosides contre les pathogènes gram-positifs. (27) L'activité antibactérienne est plus puissante pour les stilbènes sous forme de dimères et ceux qui possèdent un nombre plus élevé de groupements hydroxyles et méthoxyles. (28) Parmi les espèces de bactéries sensibles à l'activité inhibitrice du resvératrol à une CI₅₀ (concentration inhibitrice médiane) inférieure à 100 µg/mL, on retrouve *Bacillus cereus*, *Helicobacter pylori*, *Vibrio cholerae* et *Mycobacterium tuberculosis*. (26) Les stilbènes présentent une activité antifongique avec une CI₅₀ entre 10 et 20 µg/mL contre plusieurs champignons dont les genre *Tricophyton*, *Microsporum* et *Candida*. (29)

b. Activité antioxydante

L'accumulation d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) issues du métabolisme mitochondrial, entre autres, définit le stress oxydant. Plusieurs molécules endogènes, telles que des enzymes antioxydantes comme le glutathion peroxydase et le superoxyde dismutase ainsi que des molécules antioxydantes exogènes d'origine alimentaire (resvératrol, autres stilbènes...) aident à maintenir l'homéostasie de réactions d'oxydo-réduction (redox). Lorsque cette homéostasie est perturbée et que les radicaux libres sont en excès, ils peuvent provoquer une peroxydation des lipides, des dommages aux membranes cellulaires et aux lipoprotéines, des altérations des protéines et des mutations de l'ADN. (30) Le piégeage des radicaux libres et la protection des molécules lipidiques contre la peroxydation lipidique sont constatés avec le vinéatrol®30, un extrait de sarment de vigne riche en resvératrol, ε-viniférine et en autres oligomères de stilbène. (31)

L'activité antioxydante, le piégeage des radicaux libres, l'activité anti-inflammatoire et l'activation de protéines et d'enzymes antioxydantes et cardioprotectrices telles que la sirtuine-1 (SIRT-1) contribuent aux effets bénéfiques des stilbènes sur le système cardiovasculaire. Le

resvératrol inhibe l'expression et l'activité des enzymes oxydases, impliquées dans la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) médié par la NADPH (Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate) oxydase. Ce composé polyphénolique réduit également la génération de superoxydes mitochondriales en stimulant la biogénèse mitochondriale. L'activation de l'enzyme GTP (Guanosine triphosphate) cyclohydrolase I qui synthétise la tétrahydrobioptérine (BH₄, cofacteur de la synthèse de NOS, monoxyde d'azote synthase) par le resvératrol prévient la production de superoxydes provenant de NOS endothéliale non couplé. De plus, le resvératrol augmente l'expression de plusieurs enzymes antioxydants, ayant un bénéfice dans plusieurs pathologies. (32,33)

Les stilbènes, notamment le resvératrol sont ainsi connus pour leur capacité à réguler positivement le taux de eNOS (endothélial NO synthase). Le resvératrol est également capable de piéger les radicaux ERA (espèces réactives de l'azote) et peroxydes, ce qui permet de limiter le processus de peroxydation lipidique. De plus, dans les cellules endothéliales aortiques bovines soumises à un stress oxydatif induit par le glucose, le resvératrol a restauré l'activité de la diméthylargininediméthylaminohydrolase, une enzyme qui dégrade un inhibiteur endogène de l'eNOS appelé diméthylarginine asymétrique. Ainsi, le resvératrol pourrait améliorer la disponibilité du NO et diminuer le dysfonctionnement endothélial observé dans les pathologies cardiovasculaires. Le resvératrol a des effets potentiellement bénéfiques sur l'hypertension, l'obésité, l'inflammation, le diabète et les dyslipidémies par son action anti-oxydante. (34)

Par ailleurs, des études décrivent le « french paradox », pour lequel les stilbènes contenus dans le vin, notamment le resvératrol, seraient à l'origine d'une corrélation entre une consommation modérée de vin et une diminution du risque de cancers, des maladies cardiovasculaires et neurodégénératives. (35,36) Plusieurs études ont montré l'intérêt des polyphénols, dont les stilbènes dans la prévention des maladies neurodégénératives, notamment dans la maladie d'Alzheimer, de Huntington et de Parkinson, grâce à sa capacité à passer à travers la barrière hémato-encéphalique (37)

L'activité antioxydante des stilbènes est mesurée par des tests *in vitro* (ORAC, *Oxygen Radical Absorbance Capacity*, capacité d'absorption des radicaux oxygénés) et l' ϵ -viniférine et de l'ampélopsine A, dimères du resvératrol, présentent une importante activité. Le pouvoir inhibiteur de l'agrégation du peptide A β 25-35 en lien avec la formation de plaques séniles par l'ampélopsine A retient l'intérêt pour la prise en charge de patients atteints de l'Alzheimer. (38) Un essai clinique avec un effectif de 119 personnes atteintes de la maladie d'Alzheimer au stade léger à modéré d'une durée de 52 semaines avec du resvératrol activateur de SIRT1 (gène codant pour la protéine enzymatique

sirtuine 1 correspondant à une désacétylase NAD-dépendant) suggère que le resvératrol diminue le taux de Matrix metalloproteinase-9 (MMP9) présent dans le fluide cérébrospinal, module la neuro-inflammation, et induit une immunité adaptative. (39) L'activation de SIRT1 par le resvératrol protègerait également des polyglutamines mutants qui induisent une neurotoxicité dans la maladie de Huntington. (37) Le resvératrol atténue la cytotoxicité induite par les peptides bêta-amyloïdes, l'apoptose et l'accumulation intracellulaire d'intermédiaires de radicaux oxygénés dans les cellules phéochromocytomes murines de culture (PC12). Les peptides bêta-amyloïdes induisent une activation transitoire de NF- κ B dans les cellules PC12, activation supprimée par le prétraitement par le resvératrol. (40) De nombreux stilbènes démontrent des effets neuroprotecteurs par leur action antioxydante, comme le diméthoxystilbène qui réduit les déficits cognitifs induits par les peptides β -amyloïdes (41), la picéide qui inhibe l'agrégation de ces peptides (42), ou le picéatannol qui inhibe les effets neurotoxiques de ceux-ci (43).

La capacité antioxydante des stilbènes favorise également la prévention contre la maladie de Parkinson, par le mécanisme piègeur de radicaux libres. Dans une expérience conduite par Karlsson et son équipe, les chercheurs ont observé qu'avec l'inclusion du resvératrol dans l'incubation contenant du tissu mésencéphalique embryonnaire murin riche en neurones dopaminergiques avec un pro-oxydant neurotoxique, le tert-butyl hydroperoxyde, les cellules ont été protégées des dommages. (44)

c. Activité anti-inflammatoire

Face à un stimulus perçu comme anxiogène tel que des organismes pathogènes ou une lésion tissulaire, l'organisme déclenche une réponse adaptative, nommée l'inflammation. L'organisme contrôle ou élimine le stimulus dans un premier temps grâce à une inflammation aiguë impliquant plusieurs acteurs ; et s'il n'y parvient pas il survient alors la deuxième étape, l'inflammation chronique. (45) Cette étape s'accompagne de la production de cytokines pro-inflammatoires comme les IL-1 β , IL-6, tumor necrosis factor (TNF)- α ; de monoxyde d'azote (NO) ; de radicaux libres oxygénés (ERO) ; ainsi que des prostaglandines pro-inflammatoires entraînant le développement de plusieurs maladies métaboliques et des cancers. La surproduction de ces éléments s'est avérée être un déterminant important de la cytotoxicité associée à l'inflammation dans des situations pathologiques, comme dans la maladie d'Alzheimer, l'ischémie cérébrale, ainsi que la sclérose multiple.

Des chercheurs ont étudié l'effet anti-inflammatoire du resvératrol dans une lignée cellulaire de monocytes humains. Ils ont démontré qu'en modulant l'expression des micro-ARN miR-663 et miR-155, le resvératrol permet de contrôler l'expression de gènes inflammatoires codant pour la synthèse de prostaglandines et impliqués dans les réponses inflammatoires aux lipopolysaccharides bactériens. (46)

Le resvératrol a démontré un effet protecteur des organes (des états traumatiques) par l'implication de plusieurs voies de signalisation intracellulaires. Ces derniers comprennent l'activation du récepteur des œstrogènes, la régulation de la voie de la sirtuine 1, du facteur nucléaire-kappa B, des protéines kinases activées par des mitogènes, de l'héméooxygénase-1, de la médiation de cytokines pro-inflammatoires et leur formation, et de la réaction d'espèces réactives de l'oxygène. (47)

Le resvératrol démontre des effets anti-inflammatoires par différents mécanismes principalement impliquant les enzymes COX-1 (cyclo-oxygénase-1) et COX-2 (cyclo-oxygénase-2). (48) L'enzyme COX (cyclo-oxygénase) est essentielle à la cascade de l'acide arachidonique, elle entraîne la synthèse de différents médiateurs chimiques, les prostanoides et les thromboxanes, étant à l'origine des processus inflammatoires. (49) Le resvératrol inhibe l'expression de ces cyclo-oxygénases par l'inhibition en amont de l'activité de NF-kB et I-kB kinase. (50) Le resvératrol est capable de réduire la production de NF-kB et ainsi de prostaglandines E2 (PGE2) et la formation de radicaux libres oxygénés et de monoxyde d'azote (NO) par les cellules microgliales activées par les lipopolysaccharides, responsables de la neuro-inflammation, protégeant ainsi les cellules cérébrales de dommages potentiels. (51,52) L'activation de l'agrégation plaquettaire induite par les récepteurs agonistes de la thromboxane A2, jouant un rôle dans l'inflammation vasculaire, peut également être inhibée par le resvératrol. (53)

De plus, la polydatine, un précurseur naturel du resvératrol glycosylé isolé de *Polygonum cuspidatum*, présente également un effet anti-inflammatoire. Elle réduit significativement l'expression de cytokines pro-inflammatoires induites par *Mycoplasma gallisepticum* comme IL-6, IL-1 β et TNF- α . (54)

Dans une étude conduite par Nassra et ses collègues en 2013, vingt-cinq stilbènes ont été étudiés pour leurs effets sur la production de monoxyde d'azote (NO) par les cellules microgliales de type BV-2, en comparant leurs effets à la dexaméthasone, un anti-inflammatoire stéroïdien. (55) En effet, le NO est un médiateur pro-inflammatoire lorsqu'il est sécrété anormalement dans des situations

pathologiques. (56) Le résultat de cette étude montre que dix de ces stilbènes ont permis d'inhiber de moitié la production de NO à des CI50 allant de 3,9 à 23,4 μM . Les plus actifs et efficaces ont été le resvératrol et le picéatannol parmi les monomères, et l' ϵ -viniférine parmi les dimères. La Vitisine A et la vitisine B, deux tétramères ont inhibé 70% de la production de NO à une concentration de 5 μM , et des CI50 respectifs de 3,9 et 4,7 μM ; alors que la dexaméthasone a inhibé 40% de la synthèse de NO à la même concentration. (55)

Lors d'un œdème induit par la carragénine sur un modèle animal *in vivo*, l' α -viniférine, trimère du resvératrol, a permis d'inhiber l'activité prostaglandine H2 synthase de la cyclo-oxygénase 2 (COX-2), réduisant ainsi la production de prostaglandines, marqueurs de l'inflammation. Elle agit également en diminuant l'expression de COX-2 en diminuant l'expression du facteur de transcription NF- κB ; ainsi qu'en diminuant la production du NO en diminuant la forme induite des NO-synthases (iNOS). (57)

d. Activité anti-cancéreuse

Il a été démontré que le resvératrol a des effets cytotoxiques *in vitro* contre un large éventail de cellules tumorales humaines, y compris les cellules cancéreuses myéloïdes et lymphoïdes, les cellules cancéreuses de la peau, du col de l'utérus, des ovaires, de l'estomac, de la prostate, du côlon, du foie, du pancréas, du carcinome thyroïdien, ainsi que du cancer du sein que l'on va développer dans la partie suivante.

Le resvératrol affecte plusieurs stades du cancer, de l'initiation à la diffusion/progression. Il agirait en effet sur les diverses voies de transduction du signal qui contrôlent la croissance et la division cellulaires, l'inflammation, l'apoptose, les métastases et l'angiogenèse. (58)

Tout d'abord, l'effet du resvératrol et du ptérostilbène sur la tumorigenèse s'explique par leur capacité antioxydante leur permettant de capter les radicaux libres impliqués dans cette étape de cancérogenèse. (59) De plus, les effets antitumoraux du resvératrol et du ptérostilbène seront associés à leur activité anti-inflammatoire, inhibant ainsi les activités cyclooxygénases et hydroperoxydases de la COX-1 impliquée dans l'étape de promotion tumorale de la carcinogenèse. (60) Enfin, le resvératrol inhibe également la pompe à proton H⁺-ATPase (un régulateur du pH et nécessaire à la survie des cellules tumorales, etc.) et est ainsi impliquée dans l'arrêt de la phase de progression du cancer et de l'angiogenèse. (61)

Il a été démontré par Marel et al. que le resvératrol et l'extrait de sarments, le vinéatrol®, agissent sur la progression tumorale en inhibant la prolifération cellulaire tumorale du cancer du côlon. (62) En interagissant avec le récepteur GLUT-1, le resvératrol est capable également de réduire ou d'inhiber l'internalisation du glucose dans les cellules cancéreuses. Ce composé pourrait donc se révéler utile dans les traitements anticancéreux et augmente leur efficacité. (63)

La peracétylampsélopsine A et la cis-vitisine A ont démontré une cytotoxicité contre les cellules d'adénocarcinome cervical et d'adénocarcinome pulmonaire. (64) Le pauciflorol B et le vaticanol C ont agi contre les cellules d'adénocarcinome cervical et les cellules leucémiques. (65,66) Contre des souches de cellules leucémiques, des lymphomes et des mélanomes, ce sont l' ϵ -viniférine, l' α -viniférine, l'hopéaphénol, et la vitisine B qui ont démontré une activité intéressante. (64, 67–69)

III. L'intérêt des stilbènes dans le cancer du sein

1. Le cancer du sein

a. La structure du sein

Le sein est une structure anatomique située sur la paroi thoracique en avant des muscles pectoraux, s'étendant de la clavicule au bas de la cage thoracique. Il s'agit d'une structure complexe de tissu glandulaire, adipeux et conjonctif. Le tissu principal du sein, le tissu glandulaire, est à l'origine de la production de lait au cours de la grossesse et l'allaitement. Au sein de ce tissu, des lobes se divisent en lobules, qui contiennent des cellules glandulaires produisant le lait. Les canaux galactophores transportent le lait des lobules et s'ouvrent sur le mamelon, situé au centre d'une zone pigmentée de la peau, nommée l'aréole. On retrouve également un tissu conjonctif ainsi que du tissu graisseux qui soutiennent le sein et fournit une structure au tissu glandulaire. Le tissu conjonctif se compose de fibres de collagène et d'élastine, ainsi que de fibroblastes. Des vaisseaux sanguins alimentent le tissu mammaire en oxygène et en nutriments, tandis que des vaisseaux lymphatiques permettent le drainage de la lymphe, composée de cellules immunitaires et de déchets cellulaires. Des ganglions lymphatiques sont essentiellement situés au niveau axillaire, aux niveaux sus-claviculaire et sous-claviculaire, ainsi qu'à l'intérieur du thorax autour du sternum (ganglions mammaires internes) (70,71)

Les hormones sexuelles sécrétées par les ovaires sont impliquées dans le développement et le fonctionnement de la glande mammaire. Les œstrogènes permettent le développement des seins lors de la puberté. Ils permettent également, lors de la grossesse, l'assouplissement des tissus, l'augmentation du volume sanguin pour l'alimentation du fœtus et ainsi sa croissance etc. Lors de la ménopause, cette hormone n'est plus sécrétée et la glande mammaire s'atrophie et laisse sa place à du tissu graisseux. La progestérone, quant à elle, est impliquée dans la différenciation des cellules du sein et dans le cycle menstruel, préparant l'utérus à accueillir un embryon. (2,72)

b. Épidémiologie du cancer du sein

Dans le monde entier, le cancer du sein s'avère être le cancer le plus fréquent chez les femmes, avec environ 2,3 millions de cas recensés en 2020 et 685 000 décès par cancer du sein dans le monde, selon les chiffres de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS). C'est dans les pays à revenu faible ou intermédiaire que l'on recense la plupart des cas de cancer du sein et les décès par le cancer du sein. Il existe une grande disparité entre les pays à revenu faible ou intermédiaire et les pays à revenu élevé, puisque le taux de survie à cinq ans s'élève à 90 % dans les pays à revenu élevé, alors qu'il se situe à 66 % en Inde et 40 % en Afrique du Sud. Ceci s'explique par la détection précoce et le traitement rapide dans les pays à revenu élevé. (73) En France, le cancer du sein est la forme de cancer la plus fréquente chez les femmes, puisqu'il représente environ 33% de tous les cancers chez les femmes. De plus le cancer du sein est la première cause de décès par cancer chez les femmes. (74) Le cancer du sein peut également se développer chez les hommes, bien que cela soit rare (moins de 1% des cancers du sein). (73) Il a été diagnostiqué en France, en 2018, 58 500 cas de cancer du sein, avec une augmentation du nombre de cas de 0,6% par an entre 2010 et 2018. Le nombre de décès par cancer du sein a été enregistré en diminution de 1,6% par an entre 2010 et 2018, avec 12 100 décès par cancer du sein en 2018. La prévalence du cancer du sein en 2017 a été estimée à 913 089 personnes, avec un âge médian au diagnostic de 63 ans. (74)

Les facteurs de risques du cancer du sein incluent l'âge (80% des cancers du sein surviennent après 50 ans) ; la présence de mastopathies bénignes qui peuvent être susceptibles d'évoluer en cancer du sein ; l'état hormonal (puberté précoce ou ménopause tardive, nulliparité ou grossesse après 30 ans, ne pas avoir allaité) ; les traitements hormonaux (les pilules oestro-progestatives augmentent légèrement le risque de cancer du sein, de la même manière que certains traitements hormonaux substitutifs de la ménopause (THM)) ; les prédispositions génétiques allant d'une simple

susceptibilité familiale (transmission de certains facteurs de risques) à une prédisposition génétique forte avec une mutation génétique constitutionnelle représentant 5 à 10% des cancers du sein.

La mutation génétique concerne principalement les gènes BRCA1(Breast Cancer 1) et BRCA2 (Breast Cancer 2), impliqués dans la réparation des lésions subies régulièrement par l'ADN. Parmi les femmes porteuses d'une mutation des gènes BRCA1 ou BRCA2, 7 à 8 femmes sur 10 pourront développer un cancer du sein au cours de leur vie. La présence d'antécédents médicaux personnels et familiaux de cancer hormono-dépendant, une consommation d'alcool et de tabac, le surpoids et la sédentarité constituent également un risque dans le développement du cancer du sein. (1,75) Le cancer du sein est le cancer le plus fréquent parmi les cancers liés à la consommation d'alcool. Les règles hygiéno-diététiques comme la diminution de la consommation d'alcool, surveiller son poids, arrêter de fumer, manger varié et équilibré, et avoir une activité physique adaptée permettent de réduire le risque de développer la maladie. Il est estimé que près d'un tiers des nouveaux cas de cancer du sein en 2018 (soit 20 000 cas) pourrait être évité. (74)

60% des cancers du sein sont détectés à un stade précoce. Dépister le cancer du sein à un stade précoce de son développement augmente les chances de guérison, facilite son traitement, tout en limitant les séquelles liées à certains traitements. Cela permet également de diminuer la mortalité par cancer du sein de 15 à 21%. Plusieurs mesures existent pour faciliter le dépistage précoce : consultation d'un médecin en cas de modifications mammaires, examen clinique annuel à partir de 25 ans, mammographie tous les deux ans entre 50 et 74 ans, asymptomatique ou hors facteurs de risque autres que l'âge. Des méthodes de surveillance spécifiques sont recommandées pour les femmes ayant des antécédents personnels ou familiaux ou certaines prédispositions génétiques. (74)

c. Les signes cliniques du cancer du sein

Le cancer du sein se manifeste principalement par la présence d'un nodule, qui peut être découvert par soi-même par autopalpations (à partir de 1cm de nodule) ou lors d'un rendez-vous médical. Ce nodule est habituellement dur et non douloureux et situé plus ou moins profondément. D'autres signes peuvent également être évocateur de cancer du sein, et doivent donner suite à des examens complémentaires. On retrouve parmi ces signes une fossette creusant la surface du sein, un aspect de "peau d'orange", une déformation du mamelon le rétractant vers l'intérieur, un aspect eczémateux du mamelon, qui devient rouge, croûteux ou érodé, un écoulement du mamelon, surtout s'il est sanglant ou noirâtre. (1)

L'examen diagnostique repose essentiellement sur l'examen radiologique, nommée la mammographie. Elle permet l'analyse de la structure mammaire. Associée à l'échographie, la mammographie permet de reconnaître immédiatement les kystes, de les localiser et d'en faciliter le prélèvement. Pour un kyste, une ponction peut être faite à l'aide d'une aiguille fine afin d'en vider le contenu. L'aiguille peut permettre de ramener des cellules afin de les examiner au microscope (cytodiagnostic) s'il s'agit d'un nodule perçu solide. Si les éléments diagnostics ne permettent pas de s'assurer que le nodule est bénin, un prélèvement (biopsie) se fait à l'aide d'une grosse aiguille (trocart). S'il s'agit d'une tumeur solide, une l'ablation chirurgicale est nécessaire avec un examen histologique pour établir le diagnostic et confirmer la nécessité de l'exérèse de la tumeur. (1)

d. Les tumeurs du sein

Les tumeurs du sein peuvent être classées en deux catégories principales : les tumeurs bénignes (non cancéreuses) et les tumeurs malignes (cancéreuses).

Les contours des **tumeurs bénignes** sont bien délimités, et ces tumeurs restent localisées dans le tissu ou l'organe où elles apparaissent, et ainsi elles ne métastasent pas dans d'autres endroits du corps. Histologiquement, les cellules tumorales bénignes ressemblent aux cellules normales du tissu concerné et elles sont bien **différenciées**. (76)

On retrouve parmi les tumeurs bénignes majoritairement des fibroadénomes, qui sont des tumeurs solides et mobiles de tissu glandulaire et conjonctif, pouvant être détectées par une masse palpable et souvent indolores. Les kystes mammaires sont une formation liquidienne accompagnée de douleurs et une sensibilité mammaire, se caractérisant par une masse palpable. Ces tumeurs bénignes peuvent également être un adénome, une tumeur solide palpable ; un papillome intracanalair, une croissance dans les canaux lactifères associée à un écoulement sanguin ou clair du mamelon ; une calcification mammaire, un dépôt de calcium dans le tissu du sein. Un lipome est également une tumeur bénigne du sein, se développant dans le tissu adipeux, généralement indolore. (76,77)

Les **tumeurs malignes** présentent des cellules de formes et tailles différentes, avec des contours irréguliers, et perdent leurs caractéristiques d'origine pour devenir des cellules **indifférenciées**. Ces tumeurs peuvent envahir les tissus ou organes voisins par les cellules

cancéreuses qui, en se détachant de la tumeur primitive, vont coloniser d'autres parties du corps, et entraîner des **métastases**. (76)

Dans 95% des cas, les tumeurs malignes à l'origine du cancer du sein sont des **adénocarcinomes**, c'est-à-dire des tumeurs se développant à partir de cellules épithéliales de la glande mammaire. Lorsqu'ils se développent à partir des cellules des canaux, il s'agit de **cancer canalaire**. Ils peuvent plus rarement se développer à partir de cellules des lobules, on parle de **cancer lobulaire**. On distingue parmi ces adénocarcinomes les **cancers in-situ ou non infiltrants**, ainsi que les cancers infiltrants. Les premiers présentent des cellules entourées d'une membrane basale, le cancer se développe sans rupture de cette dernière, ce qui ne permet pas au cancer de développer des métastases. La **localisation canalaire** des cancers in situ est la plus fréquente, représentant huit à neuf cancers in situ sur dix. La **localisation lobulaire** de ces cancers est à hauteur de 10 à 15% des cancers in situ. Les cancers lobulaires in situ ne représentent pas un précurseur direct de cancer mais plutôt un facteur de risque de développer un cancer du sein. (76)

A son opposé, les **cancers dits infiltrants** sont à l'origine d'une infiltration du tissu qui entoure le canal ou le lobule, qui peuvent emprunter les vaisseaux sanguins ou lymphatiques pour développer des métastases dans d'autres parties du corps, en atteignant les ganglions axillaires, les os, le foie, les poumons et les ganglions lymphatiques plus éloignés du sein. Les cancers infiltrants sont plus souvent **canalaires**, alors que les cancers infiltrants lobulaires sont plus rares. Ces cancers infiltrants sont ainsi plus graves et présentent des pronostics moins favorables. (1)

Il existe plusieurs **formes rares de carcinomes du sein**. Le carcinome médullaire est un cancer du sein infiltrant, qui se manifeste le plus souvent chez la femme de moins de 50 ans. Le carcinome mucineux ou colloïde, un cancer du sein infiltrant, se développe chez la femme de 60 à 70 ans, où les cellules cancéreuses sécrètent du mucus. Le carcinome tubuleux est un cancer infiltrant, qui se manifeste chez la femme de 55 ans et plus. Ce carcinome est de petite taille et a tendance à ne pas se propager souvent aux ganglions lymphatiques axillaires. Le carcinome papillaire est un cancer qui peut être infiltrant ou non, et se manifeste généralement chez les femmes âgées. Le pronostic de ces formes rares est plus favorable que les autres types courants de cancers du sein infiltrants. (76)

D'autre part, on retrouve parmi les **tumeurs malignes du sein** les carcinomes inflammatoires du sein, un type rare et agressif de cancer du sein qui provoque un gonflement, une rougeur et une chaleur du sein, semblable à une inflammation. La tumeur phyllode est également une tumeur du sein pouvant être maligne, qui est rare et qui se développe dans le tissu conjonctif du sein. On retrouve

également le sarcome du sein qui est un cancer qui se développe dans les tissus conjonctifs du sein, tels que les muscles ou les vaisseaux sanguins. La maladie de Paget est également une forme rare de cancer du sein se manifestant par une éruption cutanée ou des changements physiques du sein (76)

e. Évaluation des tumeurs du sein

On définit les stades du cancer du sein selon la **8^{ème} édition de la classification « TNM »** (Tumor, Node, Metastasis en anglais, pour tumeur, nodule/ganglion et métastase) du cancer du sein, publiée par l'Union Internationale Contre le Cancer (UICC) en 2017. Celle-ci fournit des critères spécifiques pour la stadification du cancer du sein en fonction de la **taille de la tumeur** et son extension à la peau ou à la paroi du thorax sous le sein (T), allant de T0 à T4 ; de l'atteinte des **ganglions lymphatiques**, le nombre et leur emplacement (N), allant de N0 à N3 ; et de la présence ou non de **métastases** à des organes distants (M), allant de M0 à M1 (78) Cette classification permet de définir s'il s'agit d'un cancer localisé, régional ou étendu. Évaluer la taille et l'infiltration de la tumeur permet d'informer sur le degré d'évolution de la maladie. L'envahissement des ganglions et leurs emplacements donnent une indication sur le degré de propagation du cancer. Les cellules cancéreuses peuvent atteindre d'autres organes que les ganglions lymphatiques, comme le foie, les os et les poumons. Les stades du cancer sont étudiés au moment de l'examen clinique avant tout traitement, en stade pré-thérapeutique. Il s'agit alors d'une classification **cTNM**, c pour clinique. Ils sont réévalués au stade anatomo-pathologique, après une chirurgie, permettant d'analyser la tumeur prélevée ainsi que les ganglions au microscope. Cette classification est ainsi nommée **pTNM**, p pour post-chirurgical. Des stades sont ensuite établis selon les critères TNM, allant du **stade I au stade IV**. (79,80)

Après l'examen histologique des tissus prélevés lors d'une biopsie ou chirurgie, le médecin anatomopathologiste attribue un grade selon l'aspect des cellules. Il s'agit du **grade histologique** "Scarff Bloom et Richardson - SBR" modifié "grade de Nottingham". Il s'agit d'un **score allant de 1 à 3** pour 3 critères tumoraux : la différenciation cellulaire ; la variation de la taille des noyaux cellulaires (anisonucléose) ; et la multiplication cellulaire, le nombre de mitoses. Ce grade permet de préciser la stratégie thérapeutique en évaluant l'agressivité de la tumeur, et ainsi d'évaluer le pronostic de la maladie. (79)

D'autres paramètres rentrent en considération dans l'évaluation de l'agressivité tumorale lors de l'examen anatomo-pathologique, tels que le **taux de prolifération cellulaire**, avec la

cytométrie de flux qui donne une indication sur la ploïdie, la quantité d'ADN nucléaire dans les cellules cancéreuses. Lorsque la quantité d'ADN est anormale, les cellules cancéreuses sont dites aneuploïdes, et ont tendance à être plus agressives. **L'index Ki67** indique la proportion de cellules en cours de division pendant le dosage, le taux de la prolifération cellulaire, qui témoigne d'une agressivité tumorale importante lorsqu'il est élevé et ainsi une sensibilité élevée à la chimiothérapie.

La recherche de **récepteurs hormonaux** de l'œstrogène et de la progestérone au niveau des cellules tumorales permet d'orienter la prise en charge thérapeutique (prescription d'anti-œstrogènes ou anti-aromatases). En effet, certaines cellules tumorales gardent ces récepteurs hormonaux fonctionnels, et les hormones naturelles de la personne malade peuvent continuer à stimuler la croissance des cellules cancéreuses.

On recherche également une **surexpression de l'oncogène HER2**, présente dans environ 15 à 20% des cancers du sein. Celui-ci contrôle la production d'une protéine située à la surface des cellules cancéreuses, qui se comporte comme un récepteur de facteur de croissance activé en permanence. Ainsi, les tumeurs surexprimant la protéine HER2 (*Human Epidermal Growth Factor Receptor 2*, récepteur au facteur de croissance épidermique humain 2), qui sont nommées HER2 positives (HER2+) sont très prolifératives et plus agressives par rapport aux tumeurs qui produisent la HER2 en quantité normale (deux copies du gène HER2 pour chaque cellule). La surproduction de HER2 est ainsi associée à un cancer de plus haut grade avec une probabilité de rechute considérable. Cependant, ces tumeurs sont sensibles aux anticorps antiHER2 (trastuzumab, pertuzumab), améliorant le pronostic à la hauteur des cancers HER2 négatifs. (1,79)

Ces paramètres permettent de distinguer alors **quatre sous-types moléculaires de cancer du sein** :

- Cancers du sein luminaux : les cellules expriment les récepteurs aux œstrogènes (RE). Il s'agit ainsi de cancers hormono-dépendants. Cette forme de cancer est la plus fréquente, avec près de deux tiers des cas de cancer du sein. Les gènes de ces cellules cancéreuses codent les protéines des cellules épithéliales de la lumière des canaux galactophores ou des lobules du sein.
 - *Luminal A* : importante expression des récepteurs hormonaux à l'œstrogènes (RE+++)
et à la progestérone (RP+), pas de surexpression du gène HER2, faibles taux de mutations p53 et de taux de prolifération. Le grade histologique est souvent bas, avec un bon pronostic.

- *Luminal B* : expression des récepteurs hormonaux à l'œstrogènes (RE+) et/ou à la progestérone (RP+), surexpression plus fréquente du gène HER2, avec fort taux de prolifération. Le grade histologique est ainsi habituellement élevé et le cancer est de moins bon pronostic.
- Cancers du sein « HER2-like » : surexpression du gène HER2. Ils représentent 15 à 20 % des cancers du sein, avec un moins bon pronostic.
- Cancers du sein triples négatifs ou phénotype basal : les cellules cancéreuses sont moins différenciées, et n'expriment pas les récepteurs hormonaux (RE- et RP-), et ne surexpriment pas le gène HER2 (HER2-). Les carcinomes de type médullaire, ceux liés à une mutation du gène BRCA1, ou les cancers canaux infiltrants (Grade 3 sbr) et métaplasiques font partie des cancers de phénotype basal. Le pronostic de ce sous-type moléculaire n'est pas favorable, ou réservé, avec un grade III. Ce type de cancer du sein représente 15 à 20% des cancers. Le traitement de ce type moléculaire repose uniquement sur la chimiothérapie, étant donné le caractère triple négatif de la tumeur. (1,81)

En somme, l'examen clinique de la patiente, l'examen d'imagerie, l'analyse histopathologique et moléculaire de la tumeur permettent d'établir un diagnostic précis et ainsi l'individualisation de la stratégie thérapeutique.

2. Les traitements du cancer du sein

Les traitements principalement utilisés pour traiter le cancer du sein sont la chirurgie et la radiothérapie, qui sont des traitements locorégionaux. Dans certains cas, d'autres traitements généraux, tels que les thérapies antihormonales, les chimiothérapies et les traitements ciblés, peuvent être utilisés en complément. L'ensemble de ces traitements permettent, selon le cancer du sein, de supprimer la tumeur ou les métastases, de limiter le développement de ces derniers, de diminuer les risques de récurrence, et aussi de limiter les symptômes de la maladie.

La prise en charge de ces cancers implique la collaboration de plusieurs spécialités médicales. Chaque cas est examiné lors d'une réunion de concertation pluridisciplinaire (RCP). Cette réunion réunit au moins trois médecins spécialisés dans des domaines différents tels que la chirurgie,

l'oncologie médicale, l'oncologie radiothérapeutique et la pathologie. En prenant en considération les particularités de chaque situation et en s'appuyant sur des outils d'aide à la décision tels que les recommandations, les médecins élaborent une proposition de traitements. Ils peuvent également proposer de participer à un essai clinique. (1,2,82)

a. Traitements loco-régionaux

La chirurgie est l'acte principal dans le traitement du cancer du sein. Dans de nombreux cas, une mastectomie peut être évitée grâce à une chirurgie conservatrice qui enlève largement la tumeur tout en préservant la glande mammaire (tumorectomie). La décision d'effectuer une mastectomie dépend de la localisation, du type et de l'étendue du cancer. Des repères peuvent être utilisés pour les tumeurs non palpables. Les ganglions lymphatiques de l'aisselle sont prélevés pour évaluer la propagation du cancer. La technique de l'ablation du ganglion sentinelle (premier ganglion lymphatique qui draine la région de la tumeur) est utilisée pour les petites tumeurs. Si des cellules cancéreuses sont détectées dans ce ganglion lors de l'examen histologique, un curage ganglionnaire axillaire complet est effectué.

La radiothérapie est principalement utilisée après une intervention chirurgicale pour détruire les cellules cancéreuses qui pourraient avoir été laissées. Elle utilise des radiations de haute énergie pour éliminer les cellules cancéreuses et arrêter leur croissance. Elle peut également être administrée à la fin du traitement, après la chimiothérapie adjuvante. La radiothérapie peut être administrée par une source externe de rayonnements, où une dose précise de radiations exprimée en Gray (Gy) est délivrée à la tumeur. Elle peut également être administrée par l'implantation directe de matériaux radioactifs en contact avec la tumeur, appelée curiethérapie ou brachythérapie. Les deux méthodes peuvent être combinées. Dans certains cas, une dose supplémentaire de rayonnement, appelée "surimpression radiothérapique", peut être appliquée ultérieurement au site tumoral. Cette surimpression peut également être réalisée par curiethérapie. Elle améliore l'efficacité du traitement et réduit le risque de récidives. (1,2,82,83)

b. Traitements généraux/systemiques

Ces traitements ont pour but de prévenir les rechutes après la chirurgie. Lorsqu'ils sont combinés avec la radiothérapie, ils sont appelés traitements adjuvants, visant à prévenir les rechutes

locales ou à distance. Parfois, ils peuvent être utilisés en première intention pour réduire la taille de la tumeur et éventuellement permettre la conservation du sein. On les appelle alors traitements néo-adjuvants.

- L'hormonothérapie : elle est indiquée pour le traitement des cancers du sein hormono-dépendants, lorsque les cellules cancéreuses sont stimulées par les œstrogènes. Elle se compose de plusieurs méthodes :

- Médicament anti-œstrogènes : ils bloqueront les récepteurs aux œstrogènes des cellules tumorales.
- Médicament diminuant la synthèse d'œstrogènes pour diminuer la croissance tumorale : **avant la ménopause** (pré-ménopause), le but est la suppression de la production d'œstrogènes par les ovaires. Il s'agit le plus souvent d'un traitement chimique par agoniste de la LHRH (Gonadoréline), qui entraîne une hyperstimulation de l'hypophyse, et en réaction, l'hypophyse arrête de stimuler à son tour les ovaires par l'hormone LH (hormone lutéinisante), et en conséquence il y a arrêt de la production d'œstrogènes. Il peut également y avoir recourt à une ablation chirurgicale des ovaires pour stopper la production d'œstrogènes.

En post-ménopause, le traitement de choix est l'inhibiteur de l'aromatase, une enzyme présente dans certaines cellules, dont les cellules adipeuses, qui permet de produire de l'œstrogène à partir d'androgènes synthétisée par la glande surrénale. Les effets indésirables les plus fréquents sont les symptômes de la ménopause en raison du blocage de la fonction hormonale (bouffées de chaleur, sécheresse vaginale, diminution de la libido). Plus rarement, des accidents thrombo-emboliques, des cancers de l'endomètre (avec le tamoxifène) ou encore de l'ostéoporose et des douleurs articulaires (avec les anti-aromatases) peuvent être observés.

- La chimiothérapie : ce traitement est indiqué selon le stade du cancer au moment du diagnostic et des facteurs de risque de récurrence. Le médecin tient compte, avant d'avoir recourt à la chimiothérapie, de l'état général, de l'âge, et des préférences de la patiente, des antécédents chirurgicaux et médicaux comme les maladies cardiaques qui peuvent constituer une contre-indication à certain traitement de chimiothérapie, et également des traitements antérieurs. La chimiothérapie permet de réduire la taille de la tumeur avant la chirurgie, on parle alors de chimiothérapie néoadjuvante. Il peut aussi être utilisé après la chirurgie pour réduire le risque de récurrence, il s'agirait alors d'un traitement adjuvant. La chimiothérapie peut également être prescrite en cas de cancer métastatique en traitement palliatif, afin de stabiliser l'évolution de

la maladie et d'améliorer la qualité de vie. Elle peut être associée à une thérapie ciblée et/ou une hormonothérapie. Il s'agit de médicaments ciblant les mécanismes de la division cellulaire. On retrouve principalement les médicaments suivants :

- Les agents intercalants (anthracyclines : adriamycine, épirubicine) qui s'intercalent dans le noyau des cellules tumorales entre les bases de la chaîne d'ADN et en provoquant des coupures irréparables de celle-ci ;
- Les poisons du fuseau (vinca-alcaloïdes : vinorelbine, taxanes issues de l'If : docetaxel, paclitaxel, Eribuline etc.) qui agissent sur la structure du noyau cellulaire afin de bloquer sa division ;
- Les alkylants (cyclophosphamide, organoplatines : carboplatine, oxaliplatine, ...) qui provoquent l'arrêt du cycle cellulaire ;
- Les anti-métabolites (5-fluorouracile et capécitabine, antagonistes puriques ou foliques) qui inhibent la synthèse des bases nécessaires à la fabrication d'ADN.

Les médicaments de la chimiothérapie sont associés pour constituer un protocole ou schéma de chimiothérapie. Ils peuvent être administrés par voie injectable intraveineuse en une ou plusieurs injections par mois, et certains par voie orale en prise journalière, comme la capécitabine ou le cyclophosphamide. Ce traitement par voie générale permet d'atteindre les cellules cancéreuses encore présentes localement, même si elles n'ont pas été détectées lors du diagnostic, et aussi celles qui auraient pu essaimer, puisqu'il permet d'agir dans l'ensemble du corps. Les effets indésirables les plus fréquentes sont la fatigue, les nausées et vomissements, une chute temporaire des cheveux et des ongles, ainsi qu'une modification de la formule sanguine.

Les thérapies ciblées : il s'agit d'une classe de médicaments anticancéreux innovante, qui ciblent des caractéristiques propres aux cellules cancéreuses, ou celles qui sont plus fréquentes dans ces cellules par rapport aux cellules saines. L'objectif de ces traitements est donc d'avoir une meilleure efficacité avec moins d'effets indésirables. Les effets indésirables les plus fréquemment observés avec les thérapies ciblées sont la fatigue, la fièvre, les maux de tête et les douleurs abdominales, des éruptions cutanées. On peut aussi observer des troubles du rythme cardiaque avec les médicaments anti-HER2, d'où une nécessité de surveillance pendant toute la durée du traitement.

Ils sont utilisés dans les cancers du sein suivants :

- **Cancers du sein HER2+** : trastuzumab (Herceptin®) est un anticorps monoclonal dont la cible est la cellule cancéreuse surexprimant la protéine HER2, et agit en bloquant le récepteur HER2. Il est généralement utilisé en association à une chimiothérapie adjuvante. En cas de stade métastatique du cancer, le lapatimib, le pertuzumab et le trastuzumab emtansine (T-DM1) peuvent aussi être utilisés afin de détruire les cellules cancéreuses surexprimant la protéine HER2.
- **Cancers triples négatifs** : la molécule bévacizumab est généralement utilisé conjointement à la chimiothérapie. C'est un inhibiteur spécifique des récepteurs VEGFR, qui favorisent le développement de néo-vaisseaux dans l'environnement tumoral, et ainsi la croissance de la tumeur. On retrouve également des inhibiteurs de la PI3-kinase (Phosphoinositide 3-Kinase) (surexprimées en cas de cancer), inhibiteurs d'AKT (protéine kinase B) et les traitements d'immunothérapie de type anti PD-L1 (*Programmed Death-Ligant 1*).
- **Cancers hormono-dépendants métastatiques** : l'utilisation de l'évérolimus, un inhibiteur de la voie mTOR (*mammalian Target Of Rapamycin*), en combinaison à l'hormonothérapie, peut améliorer la sensibilité des cellules cancéreuses aux hormones. De plus, les inhibiteurs CDK4-6, tels que l'abemaciclib, le palbociclib et le ribociclib, bloquent la division cellulaire et rendent les cellules cancéreuses plus statiques, facilitant ainsi l'action de l'hormonothérapie.
- **Cancers liés à une mutation génétique héréditaire** : les inhibiteurs de PARP (Poly ADP Ribose Polymerase) (olaparib, talazoparib), donc de la voie de réparation de l'ADN complémentaire aux protéines BRCA sont utilisés pour le traitement ciblé des cancers associés à la mutation héréditaire BRCA1 ou BRCA2. En effet, cela bloque la réparation de l'ADN muté, entraînant une accumulation d'erreurs, et ainsi la mort de la cellule cancéreuse. (1,2,84–86)

De plus, les patients peuvent avoir des propositions de participer à des essais cliniques comprenant de nouveau médicament ou des nouvelles associations de médicaments, avec un objectif d'amélioration de l'efficacité et de la tolérance, d'évaluation de nouvelles méthodes ou de techniques d'imagerie diagnostique. (1)

3. Les effets des stilbènes contre le cancer du sein

En raison du développement d'une résistance au traitement par les thérapies actuelles (chimiothérapie, thérapie ciblée), et des limites d'application de la radiothérapie et de la chirurgie, constituant une limite au traitement anticancéreux, la recherche médicale continue d'explorer de nouvelles options thérapeutiques pour améliorer les résultats cliniques et la qualité de vie des patients. (87,88)

La chimio-prévention des cancers est une stratégie visant à prévenir, arrêter ou inverser la cancérogénèse à l'aide d'agents chimio-préventifs, qui sont pharmacologiquement plus sûrs que les agents chimiothérapeutiques utilisés chez les patients atteints de cancer. De plus, ces derniers peuvent induire une résistance tumorale dépendante du temps (chimiorésistance) et une toxicité non spécifique envers les cellules non ciblées. La chimio-prévention peut interférer à chaque étape de la progression néoplasique, qui se compose de trois étapes mécaniquement distinctes, ordonnées dans le temps et étroitement liées : l'initiation de la malignité, la promotion et la progression. L'initiation tumorale est un processus rapide, mutagène et irréversible qui transforme une cellule normale en une cellule initiée avec un phénotype tumoral bénin. Cela comprend l'exposition à un pro-cancérogène, son transport et sa distribution dans les organes et les tissus où une activation métabolique et une détoxification peuvent se produire, ainsi que les dommages génotoxiques dus à l'interaction covalente de ses espèces électrophiles ultimes avec l'ADN des cellules cibles.

La deuxième étape, la promotion, est une expansion clonale lente et réversible (prolifération) des cellules pré-néoplasiques produisant une tumeur bénigne. Dans la dernière étape, la progression, une transformation néoplasique irréversible se produit, c'est-à-dire la conversion de la tumeur bénigne en un phénotype malin, avec un potentiel invasif et métastatique.

Les agents chimio-préventifs peuvent être divisés en deux catégories. Les agents bloquants arrêtent l'étape d'initiation tumorale, en inhibant l'activation métabolique des pro-cancérogènes et en empêchant leurs espèces réactives ultimes d'atteindre les sites cellulaires cibles. Les agents bloquants peuvent également favoriser la détoxification des pro-cancérogènes, stimulant ainsi leurs éliminations du corps. En revanche, les agents supprimeurs agissent sur la promotion et la progression tumorale, en inhibant la transformation maligne des cellules initiées (*Figure 4*). (7,89)

Les stilbènes ont démontré des activités anticancéreuses dans des études précliniques, cliniques et épidémiologiques. Ces composés sont connus pour leurs propriétés antioxydantes, anti-

inflammatoires et antiprolifératives, qui pourraient avoir des effets bénéfiques sur la prévention et le traitement du cancer du sein. (58) Plusieurs études ont examiné l'effet des stilbènes sur la croissance des cellules cancéreuses du sein et ont montré des résultats prometteurs. De plus, des études ont suggéré que les stilbènes pourraient potentialiser l'efficacité d'autres traitements utilisés dans le cancer du sein, tels que la chimiothérapie ou l'hormonothérapie. (90–92)

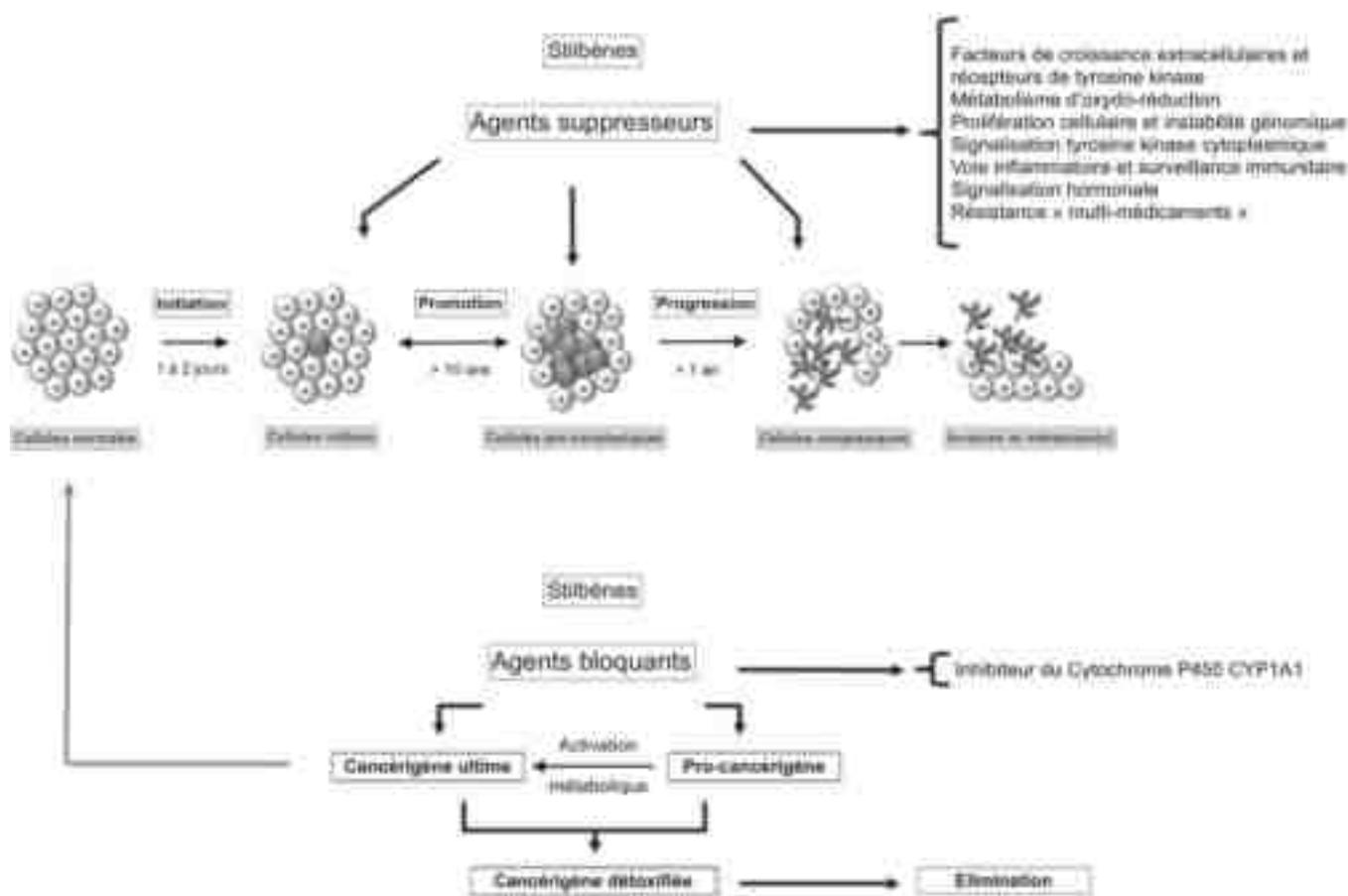


Figure 4 : Cancérogénèse et chimio-prévention par les stilbènes. (7,89)

a. Activité anti tumorale – action sur l’initiation

Les dommages à l’ADN à l’origine de l’initiation tumorale peuvent résulter du stress oxydant, qui se définit comme le déséquilibre entre la production d’espèce radicalaires ou réactives de l’oxygène (ERO) et les capacités anti-oxydantes des cellules. (93)

La rupture de cet équilibre peut être à l’origine de la peroxydation des lipides, des dommages aux membranes cellulaires et aux lipoprotéines, des altérations de protéines et des mutations de l’ADN. (94)

L'une des stratégies rationnelles et efficaces de la chimioprévention s'agit du blocage des dommages causés à l'ADN par les agressions cancérogènes. Ceci peut être réalisé soit en réduisant la formation d'espèces cancérogènes réactives, soit en stimulant leur détoxification. Un large spectre d'enzymes métabolisant les xénobiotiques catalyse à la fois les réactions de biotransformation de phase I (oxydation et réduction) et de phase II (conjugaison) impliquées dans l'activation et / ou la désactivation des cancérogènes. (95)

Le resvératrol s'est avéré être un piègeur de radicaux libres telles que les radicaux libres superoxydes ($\bullet\text{O}_2^-$), hydroxyles ($\text{OH}\bullet$), monoxydes d'azote (NO), peroxydinitrites (ONOO^-), ainsi que d'autres radicaux induits par des réactions catalysées par les métaux. Le resvératrol a démontré des effets protecteurs contre la peroxydation lipidique et les dommages oxydatifs à l'ADN dues à l'accumulation de ces radicaux libres. L'activité anti-oxydante du resvératrol est donc liée à l'élimination de ces ERO. (96)

Le resvératrol a également démontré la capacité d'inhibition de la Xanthine Oxydase, une enzyme qui peut générer des radicaux superoxydes (lors de l'oxydation de l'hypoxanthine en xanthine au cours du métabolisme des purines).

Il a été mis en évidence que le resvératrol permet d'inhiber l'expression des cytochromes P450 1A1 (CYP1A1) et 1B1 (CYP1B1) induits par le 2,3,7,8-tétrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) en inhibant fortement les récepteurs Aryl-Hydrocarbures induits par ces TCDD. Ainsi, il permet d'inhiber leur action catalytique dans les cellules épithéliales cancéreuses du sein (lignée cellulaire Michigan Cancer Foundation-10A (MCF-10A), lignée cellulaire épithéliale du sein immortalisée), à l'origine de l'oxydation du 17-bêta-œstradiol en dérivés hydroxylés de l'œstradiol, les catéchols. En outre, le resvératrol a considérablement atténué la formation d'espèces réactives de l'oxygène intracellulaire (ERO) et les dommages oxydatifs de l'ADN ainsi que la cytotoxicité induite par les œstrogènes catéchols.

Ces données suggèrent que la formation d'œstrogènes catéchols, catalysée par les CYP1A1 et CYP 1B1, pourrait jouer un rôle clé dans les dommages oxydatifs induits par le TCDD. Le resvératrol pourrait agir en qualité d'un potentiel agent chimiopréventif contre la carcinogenèse mammaire humaine induite par la dioxine en bloquant la formation métabolique des œstrogènes catéchols et en piégeant les ERO générés pendant leur cycle redox. (97)

Le resvératrol a également été efficace pour inhiber la transcription du CYP1A1 induite par l'hydrocarbure arylique diméthylbenz [a] anthracène dans les cellules de la lignée MCF-7 du carcinome mammaire humain hormone-dépendant (*Michigan Cancer Foundation-7*). Le resvératrol a permis d'inhiber *in vitro* l'activité des enzymes CYP1A1/1A2 ainsi que la voie de transduction de signaux activant l'expression des enzymes activant les éléments cancérigènes.

Le resvératrol peut alors moduler l'activité et l'expression de certains cytochromes P450, et ainsi aider à prévenir le cancer en limitant l'activation des agents pro-cancérigènes. (98)

Au sein des cellules cancéreuses du sein, le resvératrol induit l'expression de l'enzyme de phase II de détoxification des quinones, Quinone Réductase (QR) *via* les récepteurs bêta à l'œstrogène (ER- β). Cette enzyme permet de maintenir les fonctions anti-oxydantes des cellules, et plus précisément par la réduction des métabolites réactifs de l'œstrogène, les catécholestrogènes-quinones, en hydroxy-catécholestrogènes, ce qui permet de protéger l'ADN des cellules mammaires des dommages oxydatifs. (99)

Le resvératrol augmente également l'activité et l'expression des enzymes anti-oxydantes et les enzymes détoxifiantes de phase II par l'activation du facteur de transcription *nuclear factor erythroid-2-related factor 2* (Nrf2). Ce dernier contrôle l'expression des gènes antioxydants et cytoprotecteurs *via* la séquence régulatrice appelée élément de réponse antioxydant (ERA). (95)

Généralement, le facteur Nrf2 reste séquestré dans le cytoplasme fixé au cytosquelette par la protéine Kelch-like ECH-associated protein 1 (Keap1). Lorsque Nrf2 est induit par des composés phytochimiques alimentaires comme le resvératrol, il se dissocie de Keap1 et se déplace dans le noyau. Nrf2 se fixe ensuite à l'élément de réponse anti-oxydant (ERA) trouvé dans les promoteurs de plusieurs gènes codant pour les enzymes de phase II, et régule ainsi leur activation transcriptionnelle. (100)

Plusieurs enzymes de conjugaison de phase II, ou enzymes de détoxification des xénobiotiques sont régulés par des éléments de réponse antioxydante (ERA) tels que la NADPH quinone oxydoréductase-1 (NQO-1), l'époxyde hydrolase-1 (EPHX-1), l'hème oxygénase-1 (HO-1), les glutathion-S-transférases (GST), etc. Ces enzymes ont des effets cytoprotecteurs, antioxydants et détoxifiants. Ces enzymes de conjugaison contribuent à la synthèse et au recyclage des thiols et facilitent l'élimination des métabolites secondaires de détoxification des xénobiotiques et en particulier des agents carcinogènes vis-à-vis desquels NQO-1 et les GST ont un rôle protecteur. (101)

Plus précisément, l'induction de la NQO-1 par Nrf2 joue un rôle important dans la prévention du cancer du sein. Les œstrogènes étant métabolisés par les cytochromes CYP1A1 et CYP1B1 en catéchols, dont les produits d'oxydation sont responsables de la formation d'adduits à l'ADN ; l'induction de la NQO-1 permet la réduction des quinones en catéchols avant d'être inactivés par les enzymes catéchol-O-méthyltransférase (COMT). Les quinones formées par le métabolisme de l'œstrogène sont également détoxifiées par la conjugaison avec le glutathion par l'enzyme glutathion-S-transférase (GST). (102)

Dans une étude réalisée en 2014, les chercheurs ont étudié l'effet du resvératrol sur les cellules cancéreuses du sein, induits par l'œstradiol. L'œstradiol provoque en effet un stress oxydatif favorisant la survenue de processus carcinogénique. Il a été mis en évidence que le resvératrol défavorise la survenue de tumeur induites par l'œstradiol. Le resvératrol seul ou en association avec l'œstradiol a augmenté de manière significative l'expression de l'ARNm et des protéines Nrf2 dans les tissus mammaires. Similairement, l'expression de l'ARNm et des protéines des gènes codants les enzymes de phase II protectrices du cancer comme la NAD(P)H quinone oxydoréductase 1 (NQO1), la superoxyde dismutase 3 (SOD3) et le gène de réparation des dommages oxydatifs de l'ADN 8-oxoguanine ADN glycosylase 1 (OGG1) était significativement augmentée dans les tissus mammaires traités avec le resvératrol seul ou combiné à l'œstradiol. L'œstrogène diminue l'expression des gènes impliqués dans la détoxification des xénobiotiques comme flavine monooxygénase 1 (FMO1) et aldéhyde oxydase 1 (AOX1), enzymes régulées par Nrf2. Le traitement par le resvératrol seul ou en combinaison avec l'œstradiol a ramené les niveaux d'expression de l'ARNm de ces gènes aux niveaux de contrôle. De plus, l'œstradiol augmente la méthylation du promoteur Nrf2, ce que le traitement au resvératrol seul ou combiné à l'œstradiol inverse. (103) Les microARN (miARN) sont de petits ARN non codants qui régulent épigénétiquement l'expression d'environ 60 % de tous les gènes humains et jouent un rôle important dans les processus pathologiques. (104,105) Il a été rapporté que Nrf2 est inhibée par l'œstradiol via une induction de miARN-93 dans les tissus mammaires de rats ACI (*August Copenhagen Irish*) induits par l'œstradiol. (106) Il a été constaté dans cette même étude de 2014, que le traitement au resvératrol seul ou combiné avec l'œstradiol des cellules MCF-10A maintient les niveaux d'expression de ce miARN au niveau basal, de contrôle. Ainsi, le resvératrol régule épigénétiquement l'expression de Nrf2 dans les cellules mammaires. (103)

De plus, le métabolite du resvératrol, le resvératrol-3-O-sulfate (R3S) a été étudié et il s'est avéré présenter une activité antagoniste assez forte et préférentielle des récepteurs α des œstrogènes

(RE- α) dans les cellules de la lignée MCF7. Ainsi, le resvératrol et son métabolite circulant R3S présentent une activité anti-oestrogénique limitant les dommages oxydatifs de cette hormone. (107)

Afin de mesurer les dommages oxydatifs de l'ADN dans les cellules mammaires et les cellules de la lignée MCF-10A, les niveaux de 8-Hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) de l'ADN sont quantifiés et servent de marqueurs. Dans les séquences ADN des tissus mammaires traitées à l'œstradiol et des tumeurs mammaires induites par l'œstradiol, le niveau d'expression de ce marqueur est multiplié respectivement par deux et par trois comparés aux tissus mammaires témoins. A l'opposé, il n'y a pas eu de différence significative du niveau d'expression du marqueur dans les séquences d'ADN des tissus mammaires traitées au resvératrol seul ou combiné à l'œstradiol par rapport aux cellules témoins. L'œstradiol augmente le nombre de colonies tumorales, la formation de mammosphères (agrégats de cellules mammaires), le potentiel de réparation des lésions cellulaires des cellules MCF-10A par rapport aux cellules mammaires témoins. Le traitement au resvératrol seul ou combiné à l'œstradiol de ces cellules inhibe ces processus cancérogènes. Au sein des cellules MCF-10A dont l'expression de Nrf-2 est supprimée, le traitement au resvératrol ne peut pas inhiber la formation de colonies comme la formation de mammosphères. De plus, lorsque Nrf2 est supprimée, la formation de colonies et de mammosphères augmente indépendamment du traitement au resvératrol dans ces cellules. L'abrogation des effets protecteurs du resvératrol sur la formation de colonie et de mammosphères après l'extinction de Nrf2 suggèrent que le resvératrol inhibe les processus cancérogènes par induction de voies protectrices médiées par Nrf2. (103)

Les cyclo-oxygénases (COX) et lipoxygénases (LOX) sont des médiateurs clés du métabolisme de l'acide arachidonique. Les métabolites eicosanoides de ces oxygénases sont impliqués dans la régulation de la croissance et de la mort de cellules cancéreuses. Il a été démontré dans une étude que les cellules cancéreuses du sein possèdent un taux d'expression de certains lipoxygénases (5-LOX et 12-LOX) et des cyclo-oxygénases (COX-2) particulièrement élevé, contre un taux du 15-LOX bas, avec une valeur pronostique importante. (108)

Le resvératrol permet d'inhiber l'induction des cyclo-oxygénases-2 (COX-2) par le phorbol ester (PMA), dans les cellules épithéliales mammaires. En effet, le traitement des cellules par PMA provoque l'induction de COX-2 entraînant la production marquée de prostaglandines E2. Des études ont montré que l'induction ou l'inhibition des COX-2 est médiée par un élément de réponse à l'AMPc (adénosine-monophosphate cyclique). Le resvératrol a alors inhibé l'activation de la protéine kinase C (PKC) par l'ester de phorbol, qui a inhibé l'induction des COX-2 responsables de la production des ERO. (109)

De plus, le resvératrol augmente l'expression de TGF- β 1 (*Transforming growth factor beta 1*), qui agit sur l'inhibition de la 5-LOX. Le resvératrol est ainsi un anti-oxydant réduisant la peroxydation lipidique et prévenant les dommages à l'ADN, pouvant favoriser la carcinogénèse. (110)

Conjointement au resvératrol, les analogues naturels ou synthétiques ont également une action bénéfique contre l'initiation tumorale. Dans un système expérimental Phenanthroline- Fe^{2+} , la capacité à piéger les radicaux hydroxylés du picéide, précurseur du resvératrol, a été étudiée. Il a été démontré que le picéide démontre un fort pouvoir anti-oxydant en piégeant les radicaux hydroxylés générés dans le système Fe^{2+}/H_2O_2 . (111)

b. Activité anti tumorale – action sur la promotion

Suite à l'initiation de la tumeur où la cellule subit une lésion majeure au niveau de l'ADN, la cellule transformée se développe et prolifère en formant un groupe de cellules transformées identiques. En effet, la cellule cancéreuse acquiert une indépendance vis-à-vis des signaux qui régulent habituellement sa croissance ou sa division ; elle acquiert une capacité à échapper au processus de mort cellulaire programmée, ainsi qu'une capacité à se diviser indéfiniment. (112)

Les stilbènes ont démontré des effets antiprolifératifs lors des études *in vitro* en induisant l'apoptose des cellules cancéreuses. Il existe en effet un récepteur trans-membranaire pour le resvératrol et son analogue triacetyl-resveratrol proche du site de reconnaissance arginine-glycine-aspartate (RGD) sur l'intégrine $\alpha(v)\beta_3$ des cellules cancéreuses, cette intégrine étant impliquée dans l'apoptose des cellules cancéreuses induite par les stilbènes. (113,114)

Le resvératrol et le triacetyl-resveratrol, en se liant réversiblement à leur récepteur, active la cascade de signalisation Mitogen-Activated protein kinase, extracellular signal-regulated kinase 1/2 (MAPK ; ERK1/2). (115) Il en résulte une phosphorylation et activation de la protéine p53, un facteur de transcription agissant sur le cycle cellulaire, pouvant conduire à un arrêt du cycle cellulaire en vue d'une réparation de la cellule, ou un arrêt irréversible du cycle cellulaire en induisant l'apoptose, la mort cellulaire, lorsque les dommages sont trop importants. (116)

L'apoptose provoquée par le resvératrol provient également de l'accumulation nucléaire induite par le resvératrol de la protéine Cyclo-oxygénase-2 (COX-2) dans les cellules cancéreuses du sein (lignées cellulaires MCF-7, et MDA-MB-231, hormone indépendant). (117)

Dans les cellules et les modèles animales sans resvératrol, la surexpression anormale de cette protéine améliore l'adhésion cellulaire et inhibe l'apoptose, conduisant à la croissance des cellules tumorales et aux métastases. COX-2 module négativement la fonction transcriptionnelle de p53, en supprimant l'induction du gène cible de p53. (118) Cependant, des études montrent que le resvératrol peut induire une accumulation de COX-2 dans le noyau des cellules cancéreuses du sein (MCF-7 et MDA-MB-231, Anderson-Metastatic Breast-231). Cette accumulation est dépendante de la voie de signalisation MAPK ; ERK1/2 ainsi que de la protéine activatrice 1 (AP-1). Les protéines COX-2 accumulées dans le noyau des cellules traitées par du resvératrol colocalisent avec p53 phosphorylée et avec p300, un co-activateur pour l'expression génique dépendante de p53. Cette colocalisation nucléaire permet de faciliter l'apoptose des cellules cancéreuses du sein traitées par le resvératrol. (117)

Le niveau d'expression de p53 et le clivage de PARP est diminuée dans les cellules cancéreuses mammaires tumorales et les tissus mammaires traités par l'œstradiol. De même, l'activité caspase-3/7 est significativement diminuée dans les cellules MCF-10A traitées à l'œstradiol. Lors de l'étude conduite en 2014, les chercheurs ont constaté l'augmentation de l'expression de la protéine p53 et le clivage de PARP dans les cellules mammaires traitées au resvératrol seul ou combiné à l'œstradiol, ainsi qu'une augmentation de l'activité de ces caspases ; favorisant l'apoptose des cellules cancéreuses du sein MCF-10A. (103)

Une autre étude conduite en 2008 démontre que le resvératrol inhibe la prolifération cellulaire, déclenche la mort et diminue le nombre de colonies de cellules sensibles à l'apoptose dépendante de la caspase-3, comme les colonies de cellules non sensibles à celle-ci. (119) Pour arriver à ce résultat, les chercheurs ont étudié l'effet du resvératrol sur les cellules MCF7 caspase-3 compétentes (MCF-7^{casp-3}) et celles qui ne le sont pas (MCF-7^{vc}). Ils ont constaté que le resvératrol induit à la fois la mort cellulaire dépendante et indépendante de la caspase, avec des caractéristiques nécrotiques clairement évidentes dans les cellules MCF-7^{casp-3}. Dans les cellules MCF-7^{vc}, seule la mort cellulaire indépendante de la caspase se produit en réponse au traitement par le resvératrol. En effet, lorsque la signalisation de la caspase-3 est perturbée, le resvératrol n'induit pas l'apoptose dépendante de la caspase. L'activité caspase-3/7 et le clivage PARP sont complètement absents dans les cellules MCF-7^{vc} traitées par le resvératrol. Dans les deux lignées cellulaires MCF7^{casp-3} et MCF-7^{vc}, l'autophagie induite par le resvératrol est associée à l'inhibition de la phosphorylation de Akt/PKB (protéine Kinase B) et de la voie de signalisation mTOR ; déterminée par la phosphorylation de S6K (S6 Kinase), une kinase effectrice de la voie de mTOR. (120) Ainsi, l'autophagie induite par le resvératrol est dépendante de l'inhibition de mTOR quel que soit le niveau d'expression de la caspase-3. (119)

La promotion d'une tumeur est généralement associée à des troubles dans la régulation du cycle cellulaire. Les enzymes Aurora kinase A (AURKA) et Polo-like kinases 1 (PLK1) jouent un rôle clé dans la transition de phases du cycle cellulaire car elles co-régulent plusieurs processus tels que la formation du fuseau mitotique, la résolution des chromatides sœurs, les connexions du fuseau chromosomique et la cytokinèse. De plus, les protéines AURKA et la protéine de susceptibilité au cancer du sein 1 (BRCA1) peuvent interagir pour contrôler le cycle cellulaire, la polyploïdie chromosomique et la tumorigenèse. L'inhibition d'AURKA s'est avérée supprimer la progression du cycle cellulaire principalement en bloquant la transition G1-S et G2-M, tandis que la perturbation de BRCA1 s'est avérée favoriser la progression du cycle cellulaire par l'induction de la transition G1-S et G2-M. (121)

D'autre part, l'inhibition ciblée de PLK1 peut produire des effets antitumoraux, tandis que son expression constitutive dans les cellules de mammifères conduit à une transformation maligne suggérant que l'expression aberrante de PLK1 est oncogène. (122) Les enzymes AURKA et PLK-1 activent donc le cycle cellulaire, contrairement à la protéine BRCA1, inhibitrice des enzymes précitées, qui inhibe la progression des étapes de division cellulaire.

Rubiceli Medina-Aguilar et al. ont identifié dans leurs études les gènes modulés en 24h et en 48h par le resvératrol dans le génome de cellules cancéreuses du sein MDA-MB-231. Cette étude démontre que le resvératrol régule négativement les kinases AURKA et PLK1 en 24h de traitement, et régule positivement le gène BRCA1, inhibiteur de AURKA et PLK1. De plus, deux effecteurs du resvératrol bien connus, la cycline D1 (CCND1, *Cow Cyclin D1*) et la cycline B1 (CCNB1, *Cow Cyclin B1*), ont également été réprimés aux deux moments. Ainsi, nous constatons dans cette étude que le resvératrol altère la transition de phase G1/S dans les cellules MDA-MB-231 et MCF-7. (123)

Selon l'étude publiée en 2001 par H Nakagawa et al., le resvératrol a causé, à de basses concentrations, une prolifération cellulaire dans les lignées cellulaires positives au récepteur à l'œstrogène (ER positives : KPL-1, MCF-7) ; tandis qu'à de plus hautes concentrations, il provoque la suppression de la croissance cellulaire dans les trois lignées cellulaires étudiées, ER positives et négatives (KPL-1, MCF-7, MKL-F). La suppression de la croissance est expliquée par l'apoptose au vu de l'apparition d'une fraction sub-G1. La cascade d'apoptose a régulé à la hausse les protéines Bax et Bak, protéines pro-apoptotiques ; et a régulé à la baisse la protéine Bcl-xL, ainsi que la caspase-3 activée, éléments anti-apoptotiques. A de hautes concentrations, le resvératrol a également antagonisé l'effet de l'acide linoléique, un puissant stimulateur des cellules cancéreuses du sein, et a supprimé la croissance des lignées cellulaires ER-positives et négatives. (124)

Ainsi, le resvératrol pourrait être intéressant dans le traitement des cancers du sein hormono-dépendant et hormono-indépendant ; et aussi atténuer l'effet stimulateur de croissance cellulaire de l'acide linoléique présent dans le régime alimentaire occidental.

Il est avéré que la voie de signalisation PI3K/Akt/mTOR est impliquée dans la croissance des cellules tumorales du sein et leur résistance à l'apoptose. Les facteurs de croissance et les hormones comme respectivement HER-2 et l'œstrogène, activent cette voie de signalisation. (125)

Ces derniers se lient au récepteur à la Tyrosine Kinase, qui active l'hétérodimère PI3K (phosphatidyl inositol 3-kinase), une kinase qui phosphoryle plusieurs substances telle que la phosphatidylinositol-4,5 biphosphate (PIP2), en phosphatidylinositol-3,4,5 triphosphate (PIP3). Ce dernier recrute la sérine/thréonine kinase Akt à proximité de la membrane plasmique. A ce niveau, PDK1 (phosphatidylinositol 3-dependent kinase 1) phosphoryle et active Akt, un proto-oncogène qui a de nombreuses cibles en aval, dont l'enzyme mTOR (mammalian target of rapamycine). Cette protéine forme deux complexes, mTORC1 (mammalian target of rapamycine complexe 1) et mTORC2 (mammalian target of rapamycine complexe 2); structurellement et fonctionnellement différentes. Selon les protéines activées ou inhibées, mTOR contribue à la régulation de la traduction et de la synthèse protéique, du cycle cellulaire et de l'apoptose. Il contrôle également le cytosquelette. La traduction de la cycline D1 qui permet le passage de la phase G2 à la phase S du cycle cellulaire ; la traduction de HIF1/2 (*hypoxia inducible factor*) impliquée dans l'angiogénèse ; l'expression de transporteurs en nutriments situés à la surface de la membrane plasmique, comme GLUT-1 ; sont régulées par cette protéine. (126)

Cette voie de signalisation intracellulaire contrôlée par la phosphatidylinositol-3 kinase (PI3K) est régulée négativement par la phosphatase PTEN (*Phosphatase and TENsin homolog*) qui peut déphosphoryler PIP3 et avoir un effet suppresseur de tumeur. Le resvératrol agit également sur cette voie de signalisation intracellulaire. Il régule l'expression des enzymes anti-oxydantes grâce à des mécanismes impliquant cette voie ci ; en augmentant la concentration de PTEN, antagoniste de cette voie et par conséquent, empêchant la phosphorylation de protéines, dont Akt. (90,127)

Dans l'étude *in vitro* effectuée par Yu-Tang Chin et al. en 2014, il est démontré que l'exposition des cellules à 10µM de resvératrol 4 heures par jour pendant six jours inhibe plus de 60% de la prolifération cellulaire par rapport aux cellules témoins. Cette inhibition est expliquée par la diminution significative de l'expression de la cycline B1, la concentration de la caspase 3 (protéase à cystéine clivant les substrats protéiques essentiels à la survie cellulaire et amplifiant le signal

apoptotique) et par l'activation de la PARP1 (permettant une relocalisation de la mitochondrie vers le noyau du facteur pro-apoptotique AIF apoptosis inducing factor (128)) à cette concentration de resvératrol. (129)

La cycline B1, sous-unité régulatrice de la CDK1, est souvent surexprimée dans les cellules tumorales du sein. Son inhibition par le resvératrol permet ainsi l'inhibition de la prolifération de ces cellules (MCF-7, BT-474, SK-BR-3, MDA-MB-231 et HeLa) en empêchant le passage de la phase G2 (G pour gap, une phase de repos) à la phase M (mitose, division cellulaire) du cycle cellulaire. De plus, l'inhibition de cycline B1 permet de rendre les cellules tumorales plus sensibles au traitement avec du taxol. (130)

Dans une autre étude datant de 2013 comparant les effets du resvératrol et d'un analogue du resvératrol HS-1793 (4-(6-hydroxy-2-naphtyl)-1,3-benzenediol), sur la prolifération et l'apoptose cellulaire sur les cellules tumorales du sein MCF-7 et MDA-MB-231, il a été observé que les deux ont inhibé de manière significative la croissance cellulaire d'une manière dépendante de la concentration. (131) Le resvératrol a modulé le cycle de croissance cellulaire et a causé un arrêt du cycle à la phase G1 (phase de repos avant la phase de synthèse de l'ADN) dans les deux lignées cellulaires. Son analogue, HS-1793, a quant à lui, induit un arrêt à la phase G2-M et une apoptose en inhibant les régulateurs du cycle cellulaire, les cyclines et les CDK (kinases dépendantes des cyclines) par une régulation à la hausse des protéines Bax, p53, et p21WAF1/CIP1 (inhibiteur de kinase dépendante des cyclines 1, Wild-type p53-Activated Fragment 1/ Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor 1) dans chaque lignée. La protéine Bax, Bcl-2 associated X est une protéine pro-apoptotique de la famille des Bcl-2, famille de gène codant pour des protéines pro-apoptotiques ou anti-apoptotiques. (132) La protéine p53, protéine de régulation surnommée « gardienne du génome », est un facteur de transcription se liant à l'ADN permettant le contrôle du cycle cellulaire, et l'apoptose. (133) La protéine p21WAF1/CIP1 est une protéine inhibitrice des CDK, intervenant dans chaque étape du cycle cellulaire en régulant les complexes cyclines/CDK. Or, ces complexes permettent la phosphorylation de la protéine Rb qui permet la libération et l'activation du facteur de transcription E2F qui va contribuer à l'expression des gènes nécessaires à la phase S au cours de la transition G1-S. Ainsi, lorsqu'ils sont inhibés, il n'y a pas de transition entre la phase G1 et la phase S et le cycle cellulaire est perturbé. (134)

Dans cette étude, les taux de protéines régulateurs intracellulaires de la phase G1, telles que la cycline D1, CDK4 et CDK6 ont été régulés à la baisse par le resvératrol. L'analogue du resvératrol a inhibé les protéines régulatrices de la phase G2 comme la cycline B1, Cdc2 (CDK1, *Cell Division*

Cycle 2 kinase) et Cdc25C (Celle Division Cycle 25C), cycline de la famille des phosphatases activant le complexe Cycline B1/CDK1 permettant d'entrer en phase M, ainsi que la formation du complexe Cdc2/cyclineB. La concentration de la protéine suppresseur de tumeur p53 dans les lignées cellulaires MCF-7 a été augmentée à la fois par le resvératrol et son analogue. La concentration de l'expression des inhibiteurs de CDK p21WAF1/CIP1 a été régulée à la hausse par le resvératrol et son analogue, d'une manière dépendante de la protéine p53 pour le resvératrol et indépendante de p53 avec son analogue.

Les auteurs de cette étude ont pu constater une apoptose par la formation de corps apoptotiques et des clivages de PARP par les deux actifs, le resvératrol et son analogue. Les PARP, poly-ADP-ribos-polymérase-1, sont des enzymes qui jouent un rôle dans les mécanismes de réparation des cassures de l'ADN simple brin. Lorsque ces enzymes sont inhibées, les cassures persistantes entrant en phase de réplication seront transformées en cassures double brin, qui, en cas de déficit en BRCA, provoquera une augmentation des anomalies génomiques induisant une apoptose de la cellule. (135) Les gènes BRCA1 ou BRCA2 encodent des protéines impliquées dans la transcription, la régulation du cycle et la réparation de l'ADN par la recombinaison homologue (échange des séquences de nucléotides entre des molécules d'ADN similaires, permettant la réparation des cassures doubles brins) (136).

L'induction de l'apoptose par le resvératrol et HS-1793 dans les cellules tumorales du sein est associée à la régulation à la hausse de Fas et Fas-L (Fas Ligand) dans les cellules tumorales. La liaison de Fas L au récepteur extracytoplasmique du récepteur membranaire Fas induit la trimérisation de ce récepteur et ainsi l'apoptose de la cellule. L'augmentation de l'expression de Fas à la surface des cellules tumorales favorise l'élimination de celles-ci par les cellules immunitaires. (137)

Les protéines de la famille des Bcl-2 jouent un rôle important dans l'induction de l'apoptose. Le traitement par le resvératrol et par HS-1793 induit une altération dans le ratio d'expression des protéines Bax, et Bcl-2 dans ces lignées cellulaires. Une augmentation de ce ratio est caractéristique de la sensibilité des cellules tumorales à l'apoptose médiée par CD95 (Récepteur Fas, de la superfamille des récepteurs TNF Tumor Necrosis Factor). (138)

Une augmentation de l'activité des caspases dans les deux lignées cellulaires par le resvératrol et son analogue a également été observée dans cette étude. Les caspases induisent une série de clivages protéolytiques de polypeptides intracellulaires pendant l'apoptose essentiels à la survie cellulaire et permet l'amplification d'un signal de mort. (139)

Le métabolisme des sphingolipides joue un rôle important dans l'équilibre entre l'apoptose et la prolifération cellulaire dans de nombreux cancers, dont le cancer du sein. (140)

La céramide est un sphingolipide biologiquement actif qui médie le processus antiprolifératif dont la croissance cellulaire, la modulation de la sénescence cellulaire, la différenciation, et l'autophagie. (141) La concentration cellulaire de céramides est régulée par la synthèse de novo, l'hydrolyse s'effectuant par la voie sphingomyélinase, et la dégradation effectuée par les enzymes céramidases. (142,143) Il a été démontré que les céramides exercent une activité antitumorale dans plusieurs types de cancer, dont le cancer du sein. (144) L'inhibition de l'activité des céramidases et l'induction des sphingomyélinases conduisent à une augmentation de la concentration cellulaire de céramides, ce qui peut induire l'apoptose des cellules cancéreuses et prévenir la résistance aux médicaments de la chimiothérapie. (145) Les céramides induisent l'apoptose spécifique des cellules par l'activation des protéines kinases C (PKC), des protéines phosphatases, et des protéases ; et modulent la famille de protéines Bcl-2 pro-apoptotique. (146) A l'opposé, le sphingolipide sphingosine-1-phosphate (S1P) agit comme un agent anti-apoptotique en stimulant les récepteurs couplés à la protéine G activant RAS, RAC, PI3K, Akt, protéine kinase B, phospholipase C (PLC), et Rho Kinase. (141) Ainsi, ce sphingolipide participe à la progression de plusieurs processus pathogènes, dont l'inflammation, le stress oxydatif, la mitose cellulaire, le réarrangement du cytosquelette et surtout la prolifération et la survie cellulaires. La S1P est obtenue par la phosphorylation de la sphingosine par la sphingosine kinase (SphK), la sphingosine étant un produit de l'hydrolyse des céramides par les céramidases. Inversement, les S1P phosphatases déphosphorylent S1P pour donner la sphingosine et la céramide (147)

Le resvératrol altère les concentrations de sphingolipides et leurs métabolismes par plusieurs mécanismes. Il augmente la concentration de céramides dans les cellules cancéreuses du sein en augmentant la synthèse de novo et l'hydrolyse de la sphingomyéline par la sphingomyélinase (148,149). Dans une étude, sept analogues du resvératrol avec des groupements méthoxylés et/ou avec des groupements naphthalène ont été synthétisés et les sept ont exercés une activité antiproliférative sur les cellules MDA-MB-231. L'introduction de la structure aromatique de naphthalène sur la molécule resvératrol confère et améliore une activité pro-apoptotique médiée par les céramides. (150) De plus, le resvératrol ainsi que deux dimères de ce dernier, Ampelopsin A et balanocarpol agissent comme inhibiteur de la sphingosine kinase 1 en réduisant leur expression, ce qui affecte la croissance des cellules cancéreuses et leurs survies. (151)

Le pterostilbène, un dérivé diméthyle ester du resvératrol isolée de *Pterocarpus marsupium*, conduit les cellules cancéreuses du sein MCF7 à une apoptose, marquée par une fragmentation de leur ADN, la formation de corps apoptotiques, et de distorsions de membrane. L'apoptose induite résulte de la production d'espèces réactives de l'oxygène dans ces cellules dont les enzymes détoxifiantes ne parviennent pas à neutraliser. Le pterostilbène inhibe les facteurs de prolifération cellulaire comme Akt, Bcl-2 et induit les signaux pro-apoptotiques mitochondriaux comme Bax et les caspases. (152) Il a été démontré dans une étude conduite en 2010 que le traitement au pterostilbène des cellules cancéreuses du sein conduit à une augmentation de radicaux libres oxygénés (anion superoxyde), une dépolarisation membranaire mitochondriale, et une activation des caspases 3 et 7, effecteurs de l'apoptose. (153)

Dans une étude menée en 2012, le pterostilbène a permis d'inhiber la prolifération cellulaire de manière dépendante du temps et de la dose dans les cellules MCF-7 et Bcap-37. Après traitement par pterostilbène, une apoptose des cellules de ces lignées tumorales a été observée, avec un clivage de la PARP selon la dose, et la translocation de la phosphatidylserine (PS) du côté cytoplasmique de la membrane plasmique vers le côté extracellulaire des cellules MCF7 et Bcap-37, témoignant de l'apoptose cellulaire. (154) A l'état physiologique, la PS, un aminophospholipide chargé négativement, est exposée dans le feuillet interne de la membrane plasmique. La PS exposée sur le feuillet externe de la membrane plasmique des cellules apoptotiques agit comme signal pour induire une phagocytose, et participe à la coagulation sanguine, la fusion des myoblastes et la régulation immunitaire des cellules non apoptotiques. (155) L'interaction entre les cellules exprimant la PS et les cellules immunitaires déclenchent des voies immunosuppressives qui empêchent l'activation immunitaire locale et systémique. Bien que ces voies soient utilisées par les cellules apoptotiques pour réprimer les séquelles immunitaires potentielles contre les cellules du « soi », ces mêmes voies sont détournées par des agents pathogènes et des tumeurs pour favoriser leur sinistre expansion. En plus de la charge accrue de cellules apoptotiques, la réponse immunitaire pro-inflammatoire et adaptative est supprimée dans le microenvironnement tumoral par la présence d'un système vasculaire tumoral immature, d'exosomes dérivés de tumeurs, et de cellules tumorales viables, qui expriment toutes PS. (156) De plus, les auteurs de cette étude ont démontré que le pterostilbène induit un arrêt du cycle cellulaire en phase G1, avec l'expression de cycline D1 significativement inhibée.

Cet analogue naturel diméthylé du resvératrol, le pterostilbène, agit également sur la signalisation Wnt/ β -caténine (qui sera détaillée dans la partie c.action sur la progression). En effet, après traitement des cellules cancéreuses du sein avec ce composé, les niveaux de β -caténine ont drastiquement baissé dans cette même étude. L'expression de CCND1 et de c-myc (proto-oncogène),

cibles en aval de la voie wnt/ β -caténine, a également été significativement réduite après l'exposition au ptérostilbène. De plus, l'expression du régulateur en amont de la voie wnt/ β -caténine, le GSK3 β , est déphosphorylé et activé. L'activité de PI3K/Akt, le régulateur en amont de GSK3 β , est également diminuée. De cette manière, le ptérostilbène inhibe la croissance de cellules tumorales du sein. (154)

Le ptérostilbène abroge également *in vitro* les effets prolifératifs de la leptine, l'hormone de l'obésité, dans les lignées cellulaires de cancer du sein positives et négatives pour les récepteurs aux œstrogènes. L'hormone de la leptine est sécrétée par le tissu adipeux et favorise la prolifération des cellules cancéreuses mammaires par la régulation à la hausse de la voie de signalisation JAK/STAT3 (*Janus kinase/signal transducer and activator of transcription*, transducteur de signal et activateur de la transcription), une voie de régulation associée à une accélération de la croissance tumorale et à une diminution de l'apoptose. Contrairement à la leptine, le ptérostilbène inhibe cette voie de signalisation. (157) La voie JAK/STAT3 est particulièrement importante car plusieurs études ont montré que les cellules cancéreuses du sein ont une signalisation JAK/STAT3 constitutivement active, conduisant à la tumorigenèse mammaire. Le ptérostilbène inhibe ainsi l'oncogénèse mammaire induite par la leptine *in vitro*. (158)

Chakraborty et ses collègues ont démontré en 2012 que le ptérostilbène réduit le potentiel mitotique des cellules en réduisant la formation de colonie tumorale de 99% dans les cellules MCF7 au bout de 4 jours d'exposition. Les chercheurs constatent également une accumulation de vésicules d'autophagie unilamellaires et multilamellaires après 72 h de traitement au tamoxifène et au ptérostilbène, avec une régulation significativement à la hausse de l'expression de protéines liées à l'autophagie, notamment Beclin-1 et LC3 II (*microtubule-associated protein 1 light chain 3*) dans les cellules MCF-7. (159)

Le précurseur du resvératrol, le picéide, a également un effet sur la promotion tumorale, d'une part par l'augmentation de la cytotoxicité en diminuant la viabilité cellulaire des cellules MDA-MB-231. Ceci est due à une augmentation de l'apoptose à certaine concentration, ainsi qu'à une inhibition du cycle cellulaire. Le pourcentage de cellules MCF7 dans la phase G1 est augmentée en présence de picéide, et celui de cellules dans la phase S réduite. Pour les cellules MDA-MB-231, la proportion de cellules dans la phase G1 augmente et celle dans la phase S diminue. Cependant, l'assimilation cellulaire étant réduite, l'activité antiproliférative du picéide demeure inférieure à celle du resvératrol. (111)

Le resvératrol et les autres stilbènes agissent ainsi sur plusieurs acteurs du cycle cellulaire, de l'apoptose, de voies de signalisation cellulaires, ce qui permet de réduire la prolifération cellulaire, l'expansion clonale de la cellule initiée, afin d'éviter la progression tumorale avant le passage à la propagation vers les ganglions, où le cancer sera dit infiltrant, avant de donner des métastases et devenir invasif.

c. Activité anti tumorale - action sur la progression et l'invasion

La progression tumorale est un processus complexe par lequel une cellule normale subit des modifications génétiques qui entraînent des altérations phénotypiques et l'acquisition de la capacité à se propager et coloniser des sites distants à la tumeur. De nombreux facteurs régulent la croissance et la propagation des tumeurs malignes. Les interactions entre une tumeur et son microenvironnement entraînent la production de produits protéiques qui sont cruciaux à chaque étape de la progression tumorale. La migration et l'invasion des cellules cancéreuses sont contrôlées par des événements de signalisation complexes qui régulent les modifications du cytosquelette, les interactions cellule-cellule et cellule-matrice extracellulaire et les activités protéolytiques extracellulaires. (160)

La progression tumorale est associée à la perte des fonctions endothéliales ainsi qu'à l'acquisition de phénotype mésenchymateux par les cellules tumorales. Avec cette transition épithélio-mésenchymateuse (TEM) les cellules épithéliales perdent leur polarité, perdent l'adhésion cellulaire et acquièrent le phénotype mésenchymateux qui procure le caractère invasif à la tumeur, ce qui permet la progression tumorale. (161) La TEM confère des altérations morphologiques caractéristiques sur le cytosquelette et résulte d'une exposition à des facteurs de croissance épidermiques (EGF, *Epidermal growth factor*). En effet, les EGF augmentent la motilité avec une régulation positive des facteurs de transcriptions Slug (Snail family transcriptional repressor 2), Zeb1, Zeb2 (Zinc finger E-box-binding homeobox 1,2) et les marqueurs mésenchymateux Vimentine et N-Cadherine. Un traitement des cellules MCF-7 par EGF combiné au resvératrol n'a pas modifié la morphologie cellulaire, la motilité et la surexpression des marqueurs de la TEM induits par l'EGF. La TEM induite par l'EGF est médiée par la voie de signalisation ERK1/2 et le resvératrol est ainsi capable de réprimer l'activation de la voie ERK induite par l'EGF. Le resvératrol a donc un effet inhibiteur de la transition cellulaire TEM induite par les facteurs de croissances EGF. (162)

De nombreuses voies moléculaires différentes sont reconnues comme régulateurs de la TEM. Il a été constaté que le TGF- β est capable d'augmenter la migration via l'induction de la TEM. Dans le cancer du sein, le TGF- β peut stimuler la TEM via l'activation de Smad2 et Smad3, entraînant une

augmentation des niveaux de N-cadhérine et de vimentine et une diminution des niveaux de E-cadhérine. La protéine d'adhésion cellulaire E-cadhérine est importante dans le maintien du phénotype épithélial et dans la régulation de l'homéostasie tissulaire. Les jonctions N-cadhérines permettent la stabilisation du récepteur au facteur de croissance des fibroblastes (FGFR) qui induit l'activation de la voie MAPK/ERK. Ils permettent également l'activation de la voie PI3K en association avec les PDGFR (récepteurs des facteurs de croissance dérivés des plaquettes, Platelet-derived growth factor receptor) augmentant la survie cellulaire et la migration. (163)

Le resvératrol diminue les marqueurs relatifs à la TEM. L'administration du resvératrol supprime les métastases du cancer du sein (dans des conditions *in vitro* et *in vivo*) via l'inhibition du TGF- β 1 et la régulation à la baisse de Smad2 et Smad3. (164)

Un analogue naturellement méthoxylé du resvératrol, le 3,5,4'-triméthoxystilbene (MR-3) inhibe l'invasion des cellules cancéreuses du sein en régulant négativement les cascades de signalisation PI3K/Akt et Wnt/ β -caténine et permet l'inversion de la TEM. (165)

Lorsque la voie Wnt est inactive, un complexe de destruction composé des protéines d'échafaudage axine et APC (suppresseur de tumeur, *Adenomatous polyposis coli*) ainsi que des kinases CK1 (*casein kinase 1*) et GSK3 (*glycogen synthase kinase 3*) dégrade constamment la β -caténine synthétisée dans le cytoplasme des cellules. Ce complexe se lie et phosphoryle la β -caténine, qui est alors reconnue par une ubiquitine ligase, la β -TRCP (*β -transducin repeat containing protein*). La β -caténine est alors polyubiquitinylée et dégradée par le protéasome. Les facteurs de transcription de la famille TCF/LEF (*T cell factor/lymphoid enhancer factor*) répriment alors les gènes cibles de la voie Wnt en l'absence de β -caténine. (166)

Lorsque le ligand Wnt interagit avec les récepteurs LRP5/6 (low density lipoprotein receptor related protein 5/6) et Frizzled, les protéines Axin et GSK3 sont recrutées par ces récepteurs, et l'activité du complexe de destruction est inhibée. La β -caténine non phosphorylée ni dégradée peut alors s'accumuler dans le noyau de la cellule et activer les gènes cibles de la voie Wnt en formant un complexe avec les facteurs de transcription TCF/LEF. (166) La β -caténine libre ou non liée à la membrane est ainsi un coactivateur de la voie Wnt/ β -caténine, qui contribue à la TEM durant la tumorigénèse. (167)

Une inhibition des niveaux de protéine β -caténine a été observée dans les cellules MCF-7 traitées au MR-3 de manière dose-dépendante. MR-3 a réduit la translocation nucléaire de la β -

caténine, parallèlement à l'inhibition de l'ARNm et de l'expression protéique des gènes cibles de la β -caténine, tels que *cmyc* et *cycline D1*. MR-3 augmente significativement l'expression du marqueur épithélial E-cadhérine et diminue l'expression des marqueurs mésenchymateux tels que *Snail*.

MR-3 inhibe l'expression et la translocation nucléaire de la β -caténine, régulant négativement les gènes cibles de la β -caténine et induisant leur liaison à la membrane avec la E-cadhérine, qui permet le maintien des jonctions adhérentes des cellules épithéliales et le maintien des fonctions épithéliales.

MR-3 affecte négativement la translocation nucléaire et l'activité transcriptionnelle de la β -caténine, ainsi que les principaux événements d'activation de la signalisation Wnt/ β -caténine en inhibant la signalisation PI3K/Akt et en libérant l'activité GSK-3 β .

En effet, l'inhibition de la signalisation PI3K/Akt augmente l'expression de E-cadhérine et inhibe l'expression de *Snail*, et permet ainsi la TEM. Contrairement, l'inhibition de GSK-3 β soutient la TEM, en inhibant l'expression de E-Cadhérine et augmentant l'expression de *Snail*. Les antagonistes de ER α comme le tamoxifène, en inhibant l'activité ER α , inhibent l'activation de la signalisation PI3K/Akt et libère l'activité de GSK-3 β , diminuant l'expression de β -caténine et de la protéine *Snail*, et en augmentant celle des protéines E-cadhérine. Le traitement des cellules MCF7 par MR-3 conjointement avec le tamoxifène augmente l'efficacité de ce dernier en altérant l'expression des marqueurs liés à la TEM. La régulation de l'axe de signalisation PI3K – Akt – GSK-3 β et la dégradation de la β -caténine dans le protéasome qui en résulte devraient être impliquées dans l'inversion EMT induite par MR-3 dans les cellules tumorales du sein RE positives. (165)

Le traitement au resvératrol des cellules MDA-MB231 a provoqué une inhibition de la migration cellulaire induite par le facteur de croissance EGF, une diminution de l'expression de la sous-unité du complexe de transcription mammifère médiateur MED28 (mammalian Mediator complex for transcription) ainsi que de la métalloprotéase 9 (MMP-9). Plusieurs tumeurs présentent une expression augmentée de MED28, dont le cancer du sein triple négatif exprimant généralement le récepteur à l'EGF (EGFR). La surexpression de MED28 augmente la migration, surtout combinée à l'EGF. Le resvératrol module l'effet de MED28 sur la migration cellulaire en agissant sur la voie de signalisation EGFR/Phosphatidylinositol-3-Kinase (PI3K) dans les cellules cancéreuses du sein. (162)

Les métalloprotéases matricielles (MMP) sont une famille d'enzymes de dégradation dont le lien avec la malignité tumorale est établi. Ces enzymes sont liées à l'invasion de la membrane basale et du stroma par les cellules tumorales, à l'atteinte des vaisseaux sanguins et aux métastases. (168) Les protéines inhibitrices de l'activité des MMP au niveau tissulaire, sont les TIMPs (tissue inhibitors of metalloproteinases) qui sont au nombre de 4. Les interactions cellule/cellule et cellule/matrice présentes dans divers processus physiologiques, dont la prolifération, la différenciation, la migration et la mort cellulaire sont régies par le système MMP/TIMP. Un déséquilibre de celui-ci pourrait ainsi entraîner la perte de l'homéostasie, le développement de processus dégénératifs et cancéreux dont les métastases dans de nombreux tissus. (169) Plusieurs MMP sont surexprimées dans les cellules tumorales du sein malignes, modulant l'invasion cellulaire et la métastase, dont les MMP2, MMP7, MMP9 et stromelysine-3. (170,171) Outre la destruction de la matrice extracellulaire par les MMP, les tumeurs invasives nécessitent également le développement de nouveaux vaisseaux sanguins via un processus appelé angiogenèse afin de soutenir leur croissance rapide. Un apport de nutriments, d'oxygène et de facteurs de transcription ou de croissance s'effectue par cette voie. (172)

L'activité promoteur de l'invasion tumorale de ces protéases, leur expression et activité dans les cellules MCF-7 surexprimant HER2 sont augmentées significativement par la stimulation de l'héréguline-bêta (HRG-bêta). (173) HRG-bêta1, un facteur de croissance de la famille de l'EGF epidermal growth factor, est un ligand pour les récepteurs tyrosine kinase de la famille ErbB (ErbB-2 et ErbB-3/4). (174) La stimulation de HRG-bêta1 induit remarquablement l'activité du promoteur des métalloprotéases et améliore significativement l'expression et l'activité de celles-ci dans les cellules MCF-7 surexprimant HER2. L'expression des MMP serait médiée par HRG-beta1 via la cascade ERK1/2. La cascade ERK1/2 pourrait ainsi jouer un rôle important dans l'expression des métalloprotéases médiée par HRG-beta1 et ainsi favoriser la progression métastatique de la tumeur. (175)

Le resvératrol et son analogue pterostilbène ont inhibé de manière significative la migration et l'invasion des cellules MCF7 en inhibant la phosphorylation des récepteurs HER2 par la voie de signalisation MAPK/ERK1-2 suite à la stimulation de HRG-Beta1, ce qui entraîne la suppression de l'activité MMP-9. (175,176) Cependant, le resvératrol n'a pas d'effet sur l'expression des TIMPs dans les cellules cancéreuses du sein, ce qui suggère que l'effet inhibiteur de cette molécule sur l'invasion cellulaire ne se produit pas par cette voie. (175) En revanche, le pterostilbène inhiberait MMP-9 par l'augmentation de la concentration de TIMP inhibant les MMP cellulaires. Les niveaux de protéine TIMP-3 dans les cellules traitées au pterostilbène sont presque comparables aux cellules

traitées par le tamoxifène, un puissant anti-œstrogène; tandis que les cellules témoins et celles traitées à l'œstradiol présentent une expression extrêmement faible de TIMP-3. (159)

Le picéatannol (3,3',4,5'-tétrahydroxy-trans-stilbène), un analogue naturel du resvératrol, a retenu l'attention d'une étude qui s'est penchée sur ses mécanismes anti-invasifs dans les cellules MDA-MB-231. Sans affecter la viabilité cellulaire, le picéatannol a considérablement réduit l'invasion, la migration ainsi que l'adhésion des cellules. Il agit principalement en inhibant l'activité et l'expression de la métalloprotéinase matricielle-9 (MMP-9), tant au niveau protéique qu'au niveau de l'ARN messager. Sur le plan moléculaire, le picéatannol régule la voie de la phosphoinositide-3-kinase (PI3K), réduisant la phosphorylation de l'AKT et de la cible mammalienne de la rapamycine (mTOR), tout en augmentant l'expression de l'homologue de la phosphatase et de la tensine (PTEN). De plus, le picéatannol interfère avec l'activité transcriptionnelle du facteur nucléaire kappa B (NF- κ B) et restreint la liaison de NF- κ B à l'ADN promoteur de la MMP-9. Il entrave également la translocation nucléaire de NF- κ B en inhibant la phosphorylation de l'inhibiteur alpha de NF- κ B (I κ B α) dans le cytoplasme. Ainsi, cette étude suggère que le picéatannol pourrait être un agent anti-invasif potentiel en inhibant la MMP-9 impliquée dans les voies PI3K/AKT et NF- κ B. (177)

Le facteur de croissance insulín-like growth factor (IGF-1) stimule la migration des cellules cancéreuses du sein ER négative au stade métastatique par l'activation de la voie de signalisation PI3K/Akt. Le resvératrol pourrait inhiber la migration cellulaire des lignées MDA-MB 435 *in vitro* médiée par l'IGF-1. L'effet inhibiteur du resvératrol s'explique par la suppression de l'activation de la voie de signalisation PI-3K/Akt. De plus, IGF-1 induit l'expression de MMP-2 et son activité de dégradation de la matrice extra-cellulaire. Le resvératrol inhibe l'expression de MMP-2 induite par l'IGF-1 et peut ainsi avoir un effet protecteur de l'invasion des cellules cancéreuses du sein. (178) Une autre étude démontre également que le resvératrol inhibe la métastase cancéreuse à la fois *in vitro* et *in vivo* dans les cellules cancéreuses de souris 4T1 et chez la souris BALB/C immunodéficiente respectivement. Ceci s'explique par l'inhibition de l'activité MMP-9. (179)

Le pterostilbène, dérivé du resvératrol, inhibe également MMP9 pour inhiber la métastase cancéreuse. De plus, il intervient au niveau de α -methyl acyl-CoA racémase (AMACR), un inducteur de la métastase. (152) En effet, AMACR est une protéine dont l'expression est retrouvée augmentée au sein des lésions épithéliales prolifératives, lors de cancers invasifs et selon l'agressivité de ceux-ci. (180,181) l'expression la plus élevée de cette protéine est observée dans les cancers du sein luminal B et HER2 positive (86-100%), et dans 50% des cas, le cancer du sein triple négatif présente AMACR. (180) AMACR est une protéine impliquée dans le métabolisme lipidique qui est souvent altérée lors

de carcinogénèse mammaire. AMACR régule la bêta oxydation d'acides gras ramifiés dans les peroxysomes et mitochondries. L'amélioration de la synthèse ou de l'absorption des lipides contribue à la croissance rapide des cellules cancéreuses et à la formation de tumeurs. Les lipides sont un groupe très complexe de biomolécules qui non seulement constituent la base structurelle des membranes biologiques, mais fonctionnent également comme des molécules de signalisation et une source d'énergie.(182)

L'évasion tumorale et la résistance à l'immunosurveillance sont sous le contrôle du micro-environnement tumoral, de son hétérogénéité, de sa complexité et de sa plasticité. L'hypoxie tumorale contrôle la plasticité immunitaire et tumorale et participe ainsi au remodelage du microenvironnement tumoral. L'hypoxie se définit par une baisse de la pression en oxygène en-dessous de 5 à 10mmHg. Les sous-unités des facteurs de transcription induites par l'hypoxie (HIF- α HIF- β) s'accumulent et forment des complexes comme HIF-1 et HIF-2 (Hypoxia inducible factor). Ces facteurs de transcription se lient au niveau des régions promotrices de gènes sur les séquences HRE (Hypoxia response element) et provoquent la transcription et l'activation des gènes jouant un rôle dans l'angiogénèse (principalement VEGF (Vascular endothelial growth factor), PDGF (platelet-derived growth factor), et mTOR (mammalian target of rapamycin), la formation de métastases, la TEM et la résistance aux traitements conventionnels du cancer du sein. (183)

Parmi les facteurs angiogéniques sécrétés par les cellules tumorales, le facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF ; Vascular endothelial growth factor) est sécrété très précocement. Un gradient de VEGF et l'expression de son récepteur de type 2 (VEGFR2 ou KDR Kinase insert domain receptor) à la surface des cellules endothéliales sont nécessaires à la formation de nouveaux vaisseaux. (184) L'hypoxie peut également altérer la réponse humorale innée et adaptative et ainsi participer aux mécanismes d'échappement tumoral au système immunitaire. L'hypoxie tumorale est ainsi un facteur de mauvais pronostic chez les patients atteints de cancer du sein avec envahissement ganglionnaire. (185)

Dans l'étude conduite par Dong Hwan Kim et al en 2017, il a été démontré que le resvératrol, ainsi que son analogue synthétique HS-1793 ont permis de diminuer l'expression de la protéine HIF- α dans des conditions d'hypoxie cellulaire indépendamment de la mort cellulaire. De plus, ces deux composés ont inhibé la production de VEGF (facteur de croissance de l'endothélium vasculaire) induite par l'hypoxie dans les cellules cancéreuses du sein MDA-MB-231. (186)

L'invasion des cellules cancéreuses est régulée par des facteurs de croissance qui peuvent activer rapidement les récepteurs de surface cellulaire (intégrines) pour induire la polymérisation et la réorganisation de l'actine en extensions à base d'actine telles que les filopodes (structures en forme d'aiguille fine avec des faisceaux d'actine parallèles) et les lamellipodes (protubérances plates à la surface des cellules avec de l'actine réticulée). L'extension des lamellipodes et le renouvellement dynamique des adhérences focales à l'extrémité entraîneraient la migration (187,188). Les filopodes ne sont pas essentiels à la migration cellulaire et sont considérés comme des capteurs environnementaux. (189)

Les adhérences focales sont des complexes multimoléculaires formés par l'interaction des récepteurs des intégrines avec la matrice extracellulaire. Les adhérences focales se composent de composants structurels et de signalisation avec de nombreuses protéines phosphorylées par la tyrosine telles que la kinase d'adhérence focale (FAK) et SRC ainsi que des protéines de liaison à l'actine qui ancrent les adhérences focales au cytosquelette d'actine. FAK est recruté à la membrane en réponse à l'intégrine ainsi qu'à l'activation du récepteur de facteur de croissance. FAK est activée par autophosphorylation sur plusieurs sites qui, à leur tour, interagissent avec les protéines adaptatrices et structurelles facilitant la modulation de la prolifération, de la survie, de la migration et de l'invasion des cellules cancéreuses. (190)

Selon l'étude réalisée par Azios et Dharmawardhane, les données montrent que les facteurs de croissance comme EGF ou l'estradiol augmentent la migration cellulaire orientée, l'extension de lamellipodes, et l'assemblage des adhérences focales. Le resvératrol exerce l'effet opposé en inhibant la migration cellulaire par l'augmentation de la formation de filopodes sans polarisation ni attachement à la matrice extracellulaire, par la diminution du nombre d'adhérences focales et de l'activité FAK dans les cellules MDA-MB-231 métastatiques. (190)

La tensine, une protéine d'adhésion cellule-matrice liant les intégrines et les filaments d'actine du cytosquelette, interagit également avec les voies de signalisation PI3-kinase et JNK (c-Jun N-terminal Kinase). Le resvératrol provoque l'induction de la tensine qui est associée à une augmentation de l'adhérence des cellules MCF7 déficientes en tensine à la fibronectine, à la propagation cellulaire et à la polymérisation de l'actine. Le resvératrol a augmenté la motilité cellulaire et l'attachement à la fibronectine dans les cellules MCF7 et a supprimé l'invasion des cellules cancéreuses MCF7 induite par les œstrogènes. (191)

De plus, il a été observé que de forte dose de resvératrol inhibe la migration cellulaire par l'inhibition de l'activité GTPase de la famille Rho. (192) Le rôle prépondérant de ces GTPases Rho se joue dans la polarisation de structures cellulaires, la structuration de voies de signalisation et l'organisation du cytosquelette. (191,193)

Il a été prouvé que les macrophages associés aux tumeurs (MAT) représentent l'un des acteurs clés dans la promotion des métastases de cancer mammaires. (194) Ces MAT favorisant le cancer sont appelés MAT polarisés M2 qui possèdent un phénotype et des fonctions distincts par rapport aux populations normales de macrophages. Ces MAT polarisés M2 (MAT-M2) modulent les réponses inflammatoires et l'immunité adaptative, favorisent l'angiogenèse et le remodelage/réparation des tissus. (195,196) Il a été démontré que les MAT-M2 favorisent la croissance tumorale et les métastases en sécrétant un large spectre de chimiokines, telles que l'EGF, le TGF- β , le MCP-1, le TNF, l'IL6, le CCL18, etc. qui assurent la médiation de leurs activités immunosuppressives et de promotion des tumeurs (197)

Il existe une boucle paracrine complexe entre les cellules cancéreuses du sein et les MAT-M2. Dans cette boucle, les MAT-M2 produisent de l'EGF pour augmenter le caractère invasif et la migration des cellules cancéreuses du sein voisines qui expriment le récepteur de l'EGF. De plus, les cellules cancéreuses du sein expriment à leur tour le facteur de stimulation des colonies (*Macrophage colony-stimulating factor 1*, CSF1), une puissante molécule chimioattractive et chimiocinétique pour les MAT exprimant le récepteur au CSF1, le CSF1R, afin de recruter davantage de MAT dans le microenvironnement tumoral. (198)

Les MAT polarisés M2 jouent un rôle central dans le déclenchement de la TEM et conduisent par la suite à des métastases dans les cellules cancéreuses du sein via divers mécanismes. (199) Au cours d'une étude réalisée en 2013, les chercheurs ont constaté qu'avec une coculture des cellules cancéreuses des lignées MDA-MB-231 à haut potentiel métastatique et MCF7 à bas potentiel métastatique avec les MAT-M2, l'expression de HIF-1, β -catenin, Twist1, vimentine, et NF- κ B est augmentée et une l'expression de E-cadhérine diminuée par rapport aux cellules sans coculture avec les MAT-M2. L'expression de marqueurs épithéliaux est ainsi diminuée et celle des marqueurs mésenchymateux favorisant la TEM est augmentée en présence de MAT-M2. (200) De plus, il a été constaté que les cellules de ces deux lignées issues de co-cultures avec les MAT-M2 sont deux fois plus capables de former des mammosphères ; les cellules non invasives MCF7 en coculture ont leur capacité migratoire multipliée par huit et leur pouvoir invasif multiplié par 10 par rapport aux cellules sans co-culture avec MAT-M2. De même, les cellules de ces deux lignées mises en co-culture avec

les MAT-M2 contiennent 19,8% (pour les lignées MCF7) et 16,7% (pour les lignées MDA-MB-231) de plus de cellules souches cancéreuses (Cancer stem-like cells, CSC) exprimant CD44+/CD24-. Ces CSC CD44+/CD24- confèrent aux cellules de ces lignées une capacité à former les mammosphères et renforce le phénotype migratoire et invasif de ces cellules. (200)

Les auteurs de cette étude ont démontré que le pterostilbène a diminué le pourcentage de la population de CSC CD44+/CD24- dans les deux lignées cellulaires en fonction de la dose. De plus, les capacités migratoires et invasives des cellules de ces lignées en coculture avec les MAT-M2 sont significativement réduites avec le traitement au pterostilbène, soit entre 80 et 85% selon la lignée cellulaire. Le pterostilbène a diminué d'une manière dose-dépendante l'expression de NF- κ B, un régulateur majeur de l'inflammation, jouant un rôle dans le développement et la progression tumorale ; et des marqueurs mésenchymateux tels que Twist1 et vimentine et augmente l'expression des marqueurs épithéliaux comme la E-cadhérine dans les deux lignées cellulaires étudiées en coculture avec les MAT-M2. (200)

Dans ces lignées cellulaires, le potentiel métastatique est négativement corrélé au niveau d'expression de miRNA488 ou miR488. La présence de MAT-M2 diminue la concentration de ces ARN non-codants. Le pterostilbène, en présence ou non de MAT-M2, a permis d'augmenter l'expression de ces mi-R488. La répression ou l'extinction de NF- κ β conduit à l'augmentation de la concentration de miR-488 et diminue le potentiel métastatique, la capacité de migration et d'invasion. Le pterostilbène supprime alors la TEM mammaire et la génération de CSC par la régulation à la baisse de la signalisation NF- κ β et l'augmentation de l'expression de miR-488 en présence de MAT-M2. (200)

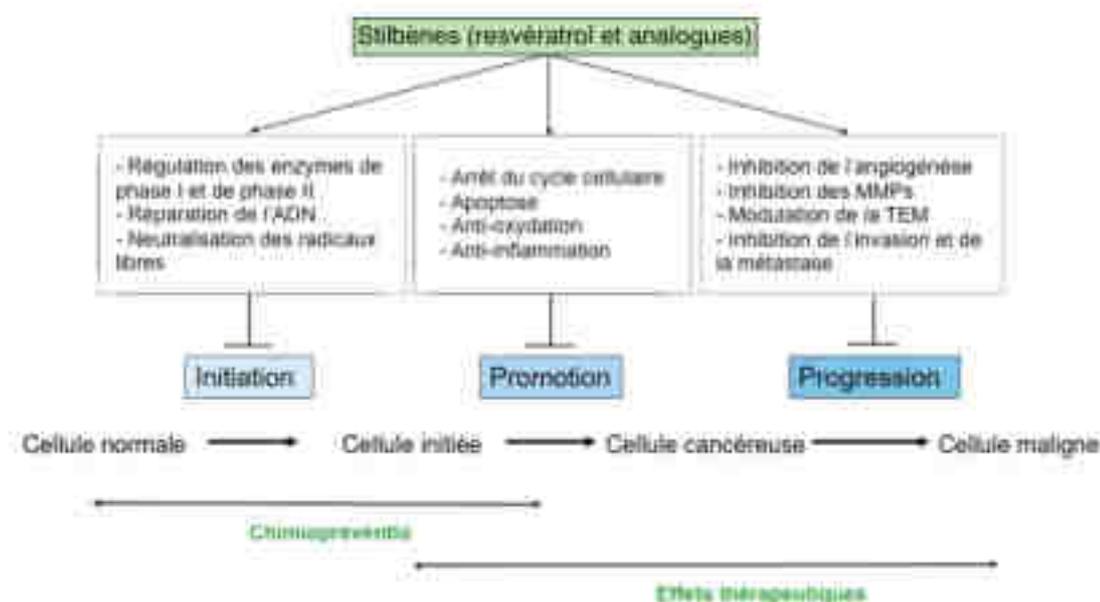


Figure 5 Les mécanismes potentiels responsables des effets anticancéreux des stilbènes (resvératrol et analogues). Inspiré de Ko JH et al, 2017 (58).

d. Potentialisation des traitements anticancéreux par les stilbènes.

L'effet potentialisateur des stilbènes sur le traitement du cancer du sein fait référence à la capacité de ces composés à améliorer l'efficacité des traitements conventionnels du cancer du sein. Les stilbènes, tels que le resvératrol, ont été étudiés pour fonctionner en synergie avec d'autres médicaments anticancéreux, ce qui peut conduire à de meilleures réponses thérapeutiques avec une diminution de la résistance aux médicaments des cellules cancéreuses.

La potentialisation des traitements anticancéreux peut se faire par plusieurs mécanismes. L'induction de l'apoptose dans les cellules cancéreuses du sein par les stilbènes peut améliorer l'efficacité des médicaments de chimiothérapie lorsqu'ils sont utilisés conjointement.

Lors d'une étude, les chercheurs ont combiné le ptérostilbène avec le traitement au tamoxifène, anti-estrogène inhibiteur compétitif de la liaison de l'estradiol avec ses récepteurs. (201) Ils ont constaté que le ptérostilbène présente un effet inhibiteur additif sur les cellules cancéreuses du sein lorsqu'il est associé au tamoxifène, probablement en raison de l'apoptose accrue des cellules cancéreuses. (92)

La neuroglobine (NGB), une protéine anti-apoptotique régulée positivement par le 17β -estradiol (E2), fait partie de la voie E2/récepteur des œstrogènes α (ER α) visant à préserver la survie des cellules cancéreuses en présence de facteurs de stress microenvironnementaux, y compris les médicaments chimiothérapeutiques. Dans une étude publiée dans le « Journal of Cellular Physiology » en 2019, il a été constaté que le resvératrol permet d'augmenter la sensibilité des cellules cancéreuses du sein au paclitaxel en affectant la voie E2/ER α /NGB ; et ainsi potentialise les effets pro-apoptotiques de ce traitement. (202)

Une autre étude suggère une sensibilisation par le resvératrol au traitement par paclitaxel des cellules cancéreuses du sein triples négatives, qu'elles soient résistantes ou non à ce traitement. En effet, le resvératrol a permis de réduire la prolifération cellulaire et la formation de colonies, et d'augmenter la sénescence et l'apoptose de ces deux types de cellules cancéreuses. (203)

Le resvératrol, le stilbène le plus couramment étudié, augmente l'effet cytotoxique de la doxorubicine dans les cellules cancéreuses du sein MCF-7 et agit alors comme un chimiosensibilisateur. (204) L'analyse protéomique a montré que le resvératrol réduisait l'expression

de la protéine de choc thermique 27 (HSP27), ayant un rôle prépondérant dans l'induction de l'apoptose et la sensibilisation des cellules MCF-7 aux effets antinéoplasiques de la doxorubicine. (205)

Les stilbènes peuvent agir sur la survie et la prolifération des cellules cancéreuses du sein en interagissant avec différentes voies de signalisation cellulaires. En modulant ces voies, les stilbènes pourraient potentiellement renforcer les effets des médicaments de chimiothérapie sur les cellules cancéreuses.

Le cyclophosphamide est un agent alkylant de l'ADN et des protéines, ayant un large spectre d'action contre une variété de néoplasmes dont le cancer du sein. L'efficacité de cet agent est limitée par sa toxicité hématopoïétique, rénale et cardiaque à haute dose. Un schéma chimiothérapeutique combiné de resvératrol et de cyclophosphamide *in vitro* a réduit la dose efficace de cyclophosphamide et ainsi sa toxicité. Il a également induit l'apoptose dans les cellules MCF-7 par une régulation négative de Bcl-2 et une régulation positive de l'expression de Bax et Fas médiée par p53. (206)

Le resvératrol a renforcé les effets cytotoxiques du melphalan, agent alkylant du groupe des moutardes azotées, dans les cellules du cancer du sein. Cette sensibilisation par le resvératrol implique une augmentation des niveaux de p53, la diminution de la procaspase 8 et l'activation des caspases 7 et 9. De plus, le resvératrol a induit l'arrêt du cycle cellulaire en phase S en réduisant l'expression de la cycline A et en inhibant l'activité de la CDK7. Ces résultats suggèrent que le resvératrol pourrait être utilisé comme adjuvant dans la thérapie du cancer du sein avec le melphalan. (207)

La combinaison du cyclophosphamide et du resvératrol a été efficace pour induire une activité apoptotique dans les cellules MCF-7. Ceci a été possible en perturbant le potentiel de la membrane mitochondriale et le statut redox, en régulant à la hausse p38 et JNK, en réduisant l'expression des cyclines D et E, en activant p21, p27, p53 Ser15, kinase dépendante de la cycline 6 (CDK6), antigène nucléaire cellulaire proliférant (PCNA, *proliferating cell nuclear antigen*), le ligand Fas (Fas L), la protéine X associée à Bcl-2 (Bax)/domaine d'interaction BH-3 (Bid), diminution de Bcl-2 et Bcl-xL, augmentation de la PARP et du clivage du facteur induisant l'apoptose (AIF). (208)

La radiothérapie est une thérapeutique utilisée très couramment pour le traitement des cancers du sein. Il comporte des effets indésirables qui limitent son utilisation. De ce fait, le resvératrol a été étudié pour évaluer son action radio sensibilisant sur les cellules cancéreuses du sein. Une grande efficacité cytotoxique et antiproliférative a été observée avec 10µM de resvératrol avec 3 Gy (Gray)

de radiation ionisante. Les résultats de l'étude indiquent que 24 heures après l'exposition des cellules aux radiations ionisantes avec le resvératrol, il s'est produit une induction de la nécrose et de la sénescence. De plus, la voie de l'apoptose extrinsèque a été activée, démontrée par une diminution du rapport Bax/Bcl-2 et une activité élevée de la caspase 8. De plus, les données ont montré que ce traitement a affecté le métabolisme cellulaire oxydatif, augmentant l'oxydation protéique, lipidique et les dommages membranaires et a également entraîné la diminution de l'activité des enzymes antioxydantes. L'effet antiprolifératif sur des cultures de 72 h peut être associé à une forte expression de p53 et à une interruption du cycle cellulaire en phase S. Par conséquent, ces résultats suggèrent que le resvératrol est un radio sensibilisant potentiel des cellules cancéreuses du sein MCF-7. (209)

Une étude a été conduite chez des patients traités par radiothérapie pour un cancer du sein sur l'effet protecteur d'un traitement oral à base de Resveratrol, Lycopène, Vitamine C et Anthocyanine (Ixor®). 71 patients ont été répartis en deux groupes : un groupe témoin traité avec une thérapie topique préventive à base d'acide hyaluronique et de corticoïdes topiques en cas de radiodermatite, et un groupe Ixor (IG) traité en plus par une thérapie orale à base de Resvératrol, Lycopène, Vitamine C et Anthocyanine à raison de 2 comprimés par jour, commençant 10 jours avant le traitement par radiothérapie et se poursuivant 10 jours après la fin du traitement.

Les résultats ont montré que le groupe ayant été traité par Ixor® avait une réduction significative de la toxicité cutanée de grade 2 ou 3 par rapport au groupe témoin dans les cas où le volume de la région traitée par radiothérapie (PTV : *Planning Target Volume*) était inférieur à 500 mL et lorsque la dose maximale de radiothérapie était égale ou inférieure à 107% de la dose prescrite. De plus, chez les patients recevant une chimiothérapie à base d'anthracyclines et de taxanes, le groupe Ixor® présentait également une réduction de la toxicité cutanée. (210)

Dans une étude effectuée *in vitro*, les chercheurs ont traité les cellules MCF-7 avec du resvératrol avant de les soumettre à la radiothérapie et l'hyperthermie, en comparaison avec des cellules non traitées. Ils ont constaté une augmentation de l'expression des gènes pro-apoptotiques Bax et caspase, et une diminution de l'expression du gène Bcl-2. Le resvératrol a potentialisé les effets du rayonnement et de l'hyperthermie sur les cellules MCF-7. Ainsi, l'étude a suggéré que le resvératrol est capable d'induire la régulation des gènes pro-apoptotique et d'atténuer la viabilité des cellules MCF-7. Cela peut indiquer l'effet sensibilisant du resvératrol en combinaison avec la radiothérapie et l'hyperthermie. (211)

L'étude réalisée par Arindam Mondal et Lunawati L Bennett s'intéresse à la combinaison de resvératrol et de sorafénib dans le traitement du cancer du sein. La combinaison de resvératrol et sorafénib conduit à une augmentation significative de l'apoptose des cellules cancéreuses du sein. Les niveaux de ERO intracellulaires, les expressions des protéines liées à l'apoptose (p53, Bax/Bcl2, *Apoptotic peptidase activating factor 1* apaf-1, caspase 9, caspase 3 et PARP), ainsi que les altérations des protéines de signalisation (cycline D1 et cycline B1) sont modifiés par le traitement combiné. Ces résultats suggèrent que la combinaison de resvératrol et de sorafénib pourrait améliorer l'efficacité du traitement du cancer du sein en induisant une apoptose accrue des cellules cancéreuses. (212)

L'hyperactivation du complexe 1 de la cible de la rapamycine (mTORC1) est fréquente dans le cancer du sein, et des efforts actuels visent à cibler la voie de signalisation de mTORC1 en combinaison avec d'autres thérapies ciblées. Cependant, les patients développent souvent une résistance aux médicaments en partie en raison de l'activation de la signalisation oncogène d'Akt et de l'augmentation de l'autophagie, qui protègent les cellules cancéreuses de l'apoptose.

Dans une étude publiée en 2015 dans « Journal of Cellular Biochemistry », les effets de la thérapie combinée de la rapamycine (un inhibiteur allostérique de mTORC1) avec le resvératrol ont été analysés. Les résultats montrent que la combinaison de ces substances maintient l'inhibition de la signalisation de mTORC1, tout en empêchant l'activation d'Akt et l'autophagie, entraînant l'apoptose. De plus, cette combinaison a été efficace dans les cellules du cancer du sein à récepteurs d'œstrogènes positifs et négatifs. (213)

Dans une étude conduite par Xin He et ses coéquipiers, le resvératrol a montré une capacité à inhiber les voies de signalisation PI3K/AKT et mTOR/p70S6K dans les cellules cancéreuses du sein étudiées (MDA-MB-231, MCF-7 et BT-549). Ces résultats suggèrent que le resvératrol potentialise l'effet inhibiteur de la croissance du rapamycine, avec l'avantage supplémentaire de prévenir la résistance éventuelle au rapamycine, probablement en supprimant la signalisation d'AKT. (90)

Les immunoliposomes, des liposomes avec un anticorps monoclonal ou polyclonal attaché à la surface, qui reconnaît et se lie à un antigène spécifique présent à la surface des cellules tumorales ciblées ont été étudiés avec du resvératrol ou une combinaison de resvératrol et de curcumine couplée à du trastuzumab, avec comme cible HER2. Ces immunoliposomes ont augmenté la cytotoxicité contre les cellules cancéreuses du sein JIMT-1 (ER-, HER-2+). (214)

Les cellules cancéreuses du sein peuvent développer une résistance aux médicaments de chimiothérapie, ce qui réduit leur efficacité. Le resvératrol a montré des propriétés inhibitrices de la résistance aux médicaments en bloquant les mécanismes impliqués dans cette résistance, ce qui peut rendre les cellules cancéreuses du sein plus sensibles aux médicaments de chimiothérapie.

La Résistance « Multidroge » MDR (*Multidrug Resistance* en anglais) peut être un obstacle important dans le traitement du cancer, car les cellules cancéreuses deviennent moins sensibles ou résistent complètement aux effets des médicaments anticancéreux, ce qui limite leur efficacité. Le gène MDR-1 (*Multidrug Resistance Gene 1*) est également connu sous le nom de gène ABCB1 (*ATP-Binding Cassette Sub-Family B Member 1*). Il s'agit d'un gène du génome humain qui code pour la protéine glycoprotéine-P (P-gp). La glycoprotéine-P (P-gp) est une protéine de transport membranaire qui est exprimée dans de nombreux tissus du corps, y compris les cellules cancéreuses. Son rôle principal est d'expulser des substances indésirables ou toxiques hors des cellules, notamment certains médicaments. Dans le contexte de la résistance multidroge (MDR), la surexpression de la glycoprotéine P dans les cellules cancéreuses peut entraîner l'efflux de médicaments anticancéreux hors de la cellule, réduisant ainsi leur concentration intracellulaire et leur efficacité. Cette surexpression de la glycoprotéine P est l'un des mécanismes de la résistance aux médicaments observée dans certaines cellules cancéreuses. (215)

Dans une étude publiée en 2014, les auteurs ont étudié les effets du resvératrol sur les cellules du cancer du sein résistantes à la doxorubicine (MCF-7/DOX). Le resvératrol a permis d'inhiber la prolifération de ces cellules de manière dose-dépendante et de renforcer la cytotoxicité de la doxorubicine. Il inverse également la MDR des cellules MCF-7/DOX en réduisant l'expression du gène MDR-1 et de la glycoprotéine P. Ces résultats suggèrent alors que le RES pourrait être un nouvel agent d'inversion de la MDR pour le traitement du cancer du sein. (216)

Une autre étude démontre que le resvératrol augmente de manière significative la sensibilité des cellules du cancer du sein à la doxorubicine (Dox). Le traitement combiné de resvératrol et de doxorubicine entraîne une augmentation de l'accumulation de doxorubicine à l'intérieur des cellules en réduisant l'expression des gènes de transporteurs ATP-binding cassette (ABC), MDR1, et MRP1 impliqués dans la résistance aux médicaments. En conséquence, cette approche de chimiosensibilisation permet d'améliorer l'efficacité de la doxorubicine et de surmonter la résistance « multi-médicamenteuse » chez les cellules du cancer du sein humain. (217)

Le resvératrol inhibe la prolifération des cellules du cancer du sein résistantes au tamoxifène (MCF-7, ZR75.1 (luminal A), MDA-MB-231) en activant la protéine p38 (MAPK) qui induit l'expression de p53. Ce dernier se lie au promoteur du récepteur des œstrogènes α (ER α), entraînant une inhibition de l'expression de l'ER α . Ces effets dépendent de p53, car ils sont réduits en utilisant des siRNA ciblant p53.

Le resvératrol favorise également la formation d'un complexe p53/Sin3A/HDAC1 (p53/Switch-independent 3A/Histone Deacetylase 1) et libère Sp1 (Specificity Protein 1, facteur de transcription) et l'ARN polymérase II, inhibant la machinerie transcriptionnelle de la cellule. Ces résultats suggèrent que le resvératrol pourrait être une option thérapeutique pour contrer la résistance hormonale dans le cancer du sein. (218)

De plus, le resvératrol s'est montré capable de potentialiser l'effet du tamoxifène et d'induire l'apoptose dans les cellules résistantes au tamoxifène MCF-7/TR. Une analyse par Western blot a montré que les effets chimiosensibilisants du resvératrol étaient liés à sa modulation de la production endogène de TGF- β et de la phosphorylation de Smad, conduisant finalement à une inversion de la TEM. (219)

En associant le resvératrol au traitement de chimiothérapie doxorubicine et cisplatine, il devient possible de contrecarrer la résistance à la chimiothérapie et d'intensifier l'initiation de l'apoptose et du blocage du cycle cellulaire au sein des cellules cancéreuses. Le resvératrol amplifie la sensibilité des cellules cancéreuses à ces traitements chimiothérapeutiques en supprimant la migration et la métastase des cellules malignes. En parallèle, les actions thérapeutiques du resvératrol permettent d'atténuer les effets indésirables de la doxorubicine et la cisplatine sur les cellules et les organes sains, tels que le foie, les reins, le cerveau et les testicules. (220)

Les résultats d'une autre étude ont montré que le resvératrol pouvait inhiber l'expression de gènes impliqués dans la réparation de l'ADN, ce qui pourrait aider à surmonter la résistance aux médicaments observée dans les cellules cancéreuses. De plus, le resvératrol a entraîné une diminution des niveaux de protéines impliquées dans la recombinaison homologue (HR), une voie de réparation de l'ADN importante. Cette diminution des niveaux de protéines HR suggère que le resvératrol pourrait augmenter la sensibilité des cellules cancéreuses à la mort cellulaire lorsqu'il est combiné avec des médicaments anticancéreux. (221)

e. Discussion/limites

Malgré un grand nombre d'études précliniques portant sur l'activité anticancéreuse du resvératrol et ses dérivés de la famille des stilbènes, les avancées en matière de recherche translationnelle et d'essais cliniques restent limitées. La majeure partie de la recherche s'est concentrée sur les effets anticancéreux, les mécanismes cellulaires et les voies de signalisation *in vitro* et *in vivo*.(222)

Bien que les stilbènes présentent un potentiel prometteur dans le traitement du cancer du sein, leurs limitations en termes de biodisponibilité, de sélectivité, de d'interactions potentiels avec d'autres traitements peuvent entraver leur utilisation clinique. Des recherches supplémentaires sont nécessaires pour mieux comprendre leur mécanisme d'action et pour développer des formulations améliorées qui pourraient surmonter ces limitations. (223)

Les études convergent sur l'innocuité du resvératrol. Des effets indésirables légers et temporaires tels que la diarrhée, les nausées, les vomissements, les ballonnements, les crampes abdominales, les maux de tête et les éruptions cutanées ont été relevés lors de l'administration de doses supérieures à 0,5 g par jour pendant une période d'un mois. (224) Dans une autre étude, il a été observé que les effets secondaires gastro-intestinaux étaient liés à la dose administrée, et que seules les doses supérieures à 2,5 g ont provoqué ces effets secondaires. Dans l'ensemble, le resvératrol est généralement bien toléré à des doses inférieures à 1 g par jour. (225,226)

Il a été constaté que les stilbènes ont une faible biodisponibilité, ce qui signifie qu'une grande partie du composé est rapidement métabolisée et éliminée du corps avant d'avoir un effet thérapeutique significatif par passage dans la circulation générale. Son absorption est rapide et significative, mais sa biodisponibilité est fortement réduite en raison de son métabolisme entéro-hépatique. Plusieurs études ont démontré que les métabolites sulfatés et glucuro-conjugués sont prédominants dans le plasma et l'urine. (227)

De plus, les chercheurs ont déterminé que c'est à une dose élevée de 5g de resvératrol, stilbène le plus étudié, que la concentration sérique maximale (C_{max}) de 2,40 μ M est atteinte avec un temps de 1,5 heure. (223) Cette valeur de C_{max} ne permet pas d'atteindre la concentration inhibitrice de 50% (CI50) requise pour la plupart des cellules cancéreuses dans les cultures cellulaires. La rapidité de son métabolisme semble être la principale raison de la faible concentration maximale (C_{max}) du resvératrol, plus que sa solubilité limitée dans l'eau. (228) Une concentration élevée de resvératrol

montre des propriétés cytotoxiques envers les cellules du cancer du sein en raison de sa structure similaire aux phytoœstrogènes. (229,230) Cependant, d'autres études invalident cette propriété. (231,232)

Une étude s'est intéressée sur l'absorption et la métabolisation du resvératrol métabolisé dans des lignées cellulaires de cancer du sein, notamment ZR-75-1 (hormono-dépendant) et MDA-MB-231 (hormono-indépendant). Dans cette étude, il a été observé que les cellules ZR-75-1 produisent davantage de resvératrol-3-O-sulfate que les cellules MDA-MB-231, et les glucuronides de resvératrol, qui sont les principaux produits de biotransformation dans le foie et l'intestin humain, n'ont pas pu être détectés. Cette formation accrue de métabolite sulfate a pour conséquence l'élimination du produit des cellules, entraînant une diminution des concentrations de resvératrol intracellulaires. (233)

Ce phénomène explique en partie pourquoi le resvératrol a une activité anticancéreuse moindre sur la lignée cellulaire de cancer du sein ZR-75-1. De plus, il a été noté que l'expression d'une enzyme appelée *SULT1A1*, une sulfotransférase, est corrélée à la formation de resvératrol-3-O-sulfate dans les cellules ZR-75-1. Cependant, la corrélation est faible dans le cas de la lignée cellulaire MDA-MB-231. L'efflux des produits du métabolisme du resvératrol s'effectue à travers les transporteurs ABC, la protéine associée à la résistance multi-drogues (MRP2) et la protéine de résistance au cancer du sein (BCRP). (234) Une comparaison entre les métabolites de resvératrol-3-O-sulfate présents dans les cellules mammaires malignes et non malignes a révélé une concentration plus élevée du conjugué de sulfate dans le tissu tumoral. Cette augmentation de concentration est attribuée à la présence excessive de l'enzyme stéroïde sulfatase (STS) dans les cellules tumorales par rapport aux cellules non tumorales. La STS favorise la conversion du resvératrol en sa forme sulfatée, conduisant ainsi à une accumulation accrue du conjugué de sulfate dans le tissu tumoral par rapport aux tissus non tumoraux. (235)

En revanche, il est réalisable d'obtenir des concentrations plasmatiques moyennes significatives (par exemple, 5 μ M) de métabolites tels que le resvératrol-3-O-sulfate, le resvératrol-4'-O-glucuronide et le resvératrol-3-O-glucuronide, avec le resvératrol-3-O-sulfate en prédominance. (226) Étant donné l'accumulation accrue des métabolites, en particulier du resvératrol-3-sulfate, il serait pertinent d'explorer les éventuels effets thérapeutiques de ces métabolites du resvératrol, tant en ce qui concerne la cytotoxicité cellulaire que l'atténuation des protéines essentielles à la tumorigenèse. (226,236) Ces métabolites peuvent provoquer des réponses biologiques similaires à la molécule de la famille des stilbènes initiale, ici le resvératrol. (237) Il a également été suggéré que

les métabolites soient reconvertis en « molécule mère » au niveau d'un site cible. Le resvératrol serait acheminé vers les tissus cibles sous une forme stable conjuguée au sulfate, et que la molécule mère soit progressivement régénérée dans certaines cellules sélectionnées, pouvant ainsi donner lieu aux effets bénéfiques *in vivo*. (238)

Par ailleurs, il a été prouvé que le resvératrol se lie de manière significative et forte (à hauteur de 97,6 %) à l'albumine sérique humaine, présentant une constante d'affinité $K = 2,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$. (239) Cette interaction facilite considérablement son accès aux tissus corporels, y compris les tissus tumoraux, ce qui entraîne un important volume de distribution ($V_d = 9198\text{-}22226 \text{ L}$). (228) Au cours d'une étude similaire dirigée par Brown et son équipe, des analyses pharmacocinétiques dépendantes de la dose ont été menées sur une période de 29 jours. Ces recherches ont révélé une C_{max} de $4,24 \mu\text{M}$ pour le resvératrol après une administration répétée de doses de 5 g, ce qui représente environ le double de la valeur obtenue dans l'étude précédente avec une dose unique équivalente. Par conséquent, il serait plus judicieux d'envisager un schéma posologique multiple pour l'administration du resvératrol. (226)

Les études ont révélé que le resvératrol agit en inhibant les niveaux plasmatiques du facteur de croissance analogue à l'insuline 1 (IGF-1) ainsi que de la protéine de liaison au facteur de croissance analogue à l'insuline 1 (IGFBP-3), deux éléments clés de la voie de signalisation de l'insuline liée à la tumorigenèse. De manière intrigante, la réduction la plus significative de l'expression d'IGF-1 a été observée avec la dose quotidienne de 2,5 g, plutôt qu'avec celle de 5 g ou de 0,5 g. L'expression d'IGFBP-3 a diminué dans les groupes prenant 1 g/jour et 2,5 g/jour, mais pas dans le groupe prenant 0,5 g et 5 g/jour chez les volontaires en bonne santé. Cela pourrait suggérer une relation dose-réponse non linéaire ou un effet hormétique, qui désigne la réponse bénéfique de l'organisme à un faible niveau de stress ou de stimulation, qui peut avoir des effets néfastes à des niveaux plus élevés. (240) Ceci souligne ainsi l'importance d'un dosage et d'une titration précises pour garantir une efficacité maximale. (226)

De plus, à des doses similaires, il a été observé une diminution de la méthylation de la famille de domaines d'association de Ras-1a (RASSF-1a) et de l'expression de la prostaglandine-E2 (PGE2), une augmentation significative des niveaux de lymphocytes T immunomodulateurs, une inhibition de l'expression de cytokines pro-inflammatoires telles que le facteur alpha de nécrose tumorale (TNF- α) et la protéine 1 chimioattractrice des monocytes (MCP1), une plus grande activité antioxydante ainsi qu'une inhibition de la signalisation Wnt. Dans l'ensemble, il semble que de faibles doses de

resvératrol, bien qu'atteignant uniquement des concentrations plasmatiques inférieures à la CI50 pour la cytotoxicité, ont effectivement une capacité de chimioprévention. (241–243)

D'autres recherches ont mis en évidence que le resvératrol réduit de manière significative la sensibilité des cellules MDA-MB-435s, MDA-MB-231 et SKBR-3 à la mort cellulaire provoquée par le paclitaxel *in vitro* et *in vivo*. Cependant, cet effet n'a pas été observé dans les cellules MCF-7. Une observation similaire a été faite dans des souris athymiques nues, en utilisant les cellules MDA-MB-435s comme modèle témoin. Cette modulation provoquée par le resvératrol est partiellement due à son inhibition de l'arrêt du cycle cellulaire en phase G2/M induit par le paclitaxel. En conséquence, il y a une accumulation de cellules en phase S. De plus, le resvératrol peut également supprimer l'accumulation d'espèces réactives de l'oxygène induite par le paclitaxel, et par la suite, empêcher l'inactivation des protéines anti-apoptotiques de la famille Bcl-2. (244)

A la suite de cette étude, une constatation émerge : le resvératrol réduit spécifiquement l'effet anticancéreux du paclitaxel uniquement dans les cellules cancéreuses du sein humain exprimant la protéine HER-3. Une augmentation dose-dépendante de l'expression de HER-3 est observée suite au traitement des cellules SKBR-3 avec le resvératrol. Cette induction de l'expression de HER-3 par le resvératrol confère une résistance des cellules cancéreuses du sein à la cytotoxicité du paclitaxel. Par ailleurs, une observation majeure est que la voie de signalisation SIRT1-FOXO1 joue un rôle crucial dans la médiation de l'induction de l'expression de HER-3 par le resvératrol. En conséquence, l'utilisation concomitante du resvératrol et du paclitaxel n'est pas adaptée aux cancers du sein humain exprimant HER3. (245)

Afin de surmonter les problèmes de solubilité aqueuse et de biodisponibilité réduite, qui limitent l'application clinique du resvératrol, le développement de la nanotechnologie s'est révélée être une stratégie prometteuse. Des systèmes de distribution de nanoparticules tels que les nanocapsules à cœur lipidique ou les nanoparticules solides lipidiques peuvent être enveloppés en surface avec du polyéthylène glycol ou une autre partie inerte comme la chitosane, évitant ainsi le système réticulo-endothélial et permettant l'accumulation dans les tumeurs grâce à une perméabilité et rétention accrues. (246)

La reformulation du trans-resvératrol à partir de l'extrait de sarment de vigne Vineatrol30 sous forme de micelles liquides a été étudiée. Les chercheurs ont constaté que l'utilisation de la formulation micellaire liquide a considérablement augmenté la quantité de trans-resvératrol absorbée après ingestion par rapport à l'extrait natif. De plus, cette augmentation de la biodisponibilité n'a pas

entraîné d'effets indésirables liés au traitement, ce qui est encourageant du point de vue de la sécurité. Utiliser une formulation micellaire liquide était ainsi une approche efficace pour augmenter la biodisponibilité du trans-resvératrol à partir de l'extrait de sarment de vigne Vineatrol30, ce qui pourrait être bénéfique pour une meilleure supplémentation en trans-resvératrol. (247)

Les chercheurs ont développé une forme soluble innovante du trans-resvératrol pour améliorer son absorption. Ils ont comparé cette nouvelle forme soluble à la poudre sèche d'origine en termes de pharmacocinétique, de biodisponibilité et de toxicité chez des volontaires humains. Les résultats ont montré que la forme soluble était mieux absorbée et conduisait à des niveaux sanguins efficaces de trans-resvératrol pendant une période prolongée, tandis que la poudre sèche avait une action limitée. La nouvelle formulation a permis d'obtenir des niveaux sanguins de trans-resvératrol significativement plus élevés. De plus, la nouvelle forme n'a pas provoqué d'effets indésirables ni de toxicité. Elle a également montré un effet anti-inflammatoire puissant chez les souris nourries avec un régime riche en graisses. En conclusion, la nouvelle forme soluble du trans-resvératrol améliore sa biodisponibilité et son efficacité, ce qui facilite son utilisation en thérapie humaine tout en réduisant les risques de toxicité. (248)

Plusieurs études se sont concentrées sur de nouvelles approches de formulation visant à stabiliser et protéger le resvératrol et les dérivés de la famille des stilbènes de la dégradation, à augmenter leur solubilité dans l'eau afin d'améliorer la biodisponibilité, à obtenir une libération prolongée et finalement à cibler ces composants vers des emplacements spécifiques. De multiples systèmes de distribution ont été étudiés, dont l'encapsulation dans des nanotransporteurs lipidiques ou liposomes, les émulsions, les micelles, l'insertion dans des nanoparticules polymériques, les dispersions solides et les nanocristaux. (249,250)

IV. Présence de stilbènes dans la plante *Carex Virgata*

Lors du stage d'initiation à la recherche (SIR) que j'ai effectué en 2016 dans le cadre d'une unité d'enseignement (UE) optionnelle de 3^{ème} année de pharmacie à l'UFR de Besançon, j'ai participé à la recherche de composés d'intérêt thérapeutique dans un produit d'origine naturelle végétale. Il s'agissait de la recherche, dans les graines de la plante *Carex virgata*, d'inhibiteurs de l'arginase en faveur du monoxyde d'azote synthétase (NOS) ayant un intérêt dans les fonctions et dysfonctions endothéliales. Les stilbénoides ont été étudiés chez quelques Cypéracées ; et j'ai effectué une extraction et une identification de certains stilbènes dans les graines de cette plante.

1. Matériel et méthodes

a. Extractions

Nous avons pesé 12 grammes de graines de *Carex virgata* (GCV) pulvérisées, récoltées le 08/07/2015 au jardin botanique de Talence (Bordeaux). Une extraction méthanolique simple (Carlo Erba Reagents S.A.S, Val de Reuil) a été réalisée pendant 24 heures sous agitation (agitateur magnétique IKA RH basic). Le surnageant a été récupéré pour faire encore 2 extractions méthanoliques dans les mêmes conditions afin de récupérer le maximum de composés. Les filtrats récupérés sont enfin concentrés et évaporés à l'évaporateur rotatif sous vide à sec (Rotavapor Buchi série V).

b. Pré-purification SPE CL-18

Les extraits obtenus sont solubilisés dans du méthanol (MeOH) à 30% avec passage au vortex (Argos, vortamix) puis dans le bain à ultrasons (Bandelin, Sonorex digitec) pour favoriser la redissolution et le dégazage. La pré-purification s'effectue sur colonne SPE (Solid-Phase Extraction) de 6 mL Supelclean. (cf Figure)

Le conditionnement des colonnes s'effectue sous un vide réduit. Sans mettre à sec chaque colonne, nous avons fait passer 4 mL de MeOH 100%, 4mL de MeOH 50% et trois fois 4 mL d'eau distillée (H₂O).

1 mL de l'extrait est versé sur chaque mini-colonne et ensuite lavé par 4 mL d'H₂O et séché par le vide. Les tubes « poubelles » sont remplacés par les tubes de récupération. Ces tubes sont élués avec 2 fois 4 mL de MeOH 90%. Les solutions récupérées contiennent essentiellement des polyphénols (flavonoïdes et stilbènes). Nous avons enfin évaporé cette solution à l'évaporateur rotatif sous vide à sec.



Figure 6 : Appareillage permettant de suivre 12 minicolonnes Supelclean SPE.

c. Chromatographie sur couche mince (CCM)

La CCM est une méthode physique analytique de séparation de mélanges en leurs constituants. Elle est basée sur les différences d'affinité des substances à l'égard de deux phases, l'une stationnaire ou fixe, l'autre mobile. C'est le phénomène d'élution, qui permet la séparation des constituants du mélange à analyser. Chaque constituant migre d'une certaine hauteur, caractéristique de la substance, qui est identifiée par comparaison avec des composés témoins.

Nous avons solubilisé 1mg d'extrait brut de GCV obtenu par pré-purification dans 500 μ L de MeOH (100%). Les témoins utilisés sont le resvératrol diglycosylé (P1-RCH), le myabéno A (P2-RCH), ainsi que le piceatannol (PT). 10 μ L de ces solutions sont déposés sur une plaque CCM en aluminium recouvert de gel de silice Alugram Xtra Sil G/UV254 qui sera placée dans la cuve d'élution préalablement préparée :

Phase mobile n°1 : 70% de CHCl_3 (chloroforme) (Carlo Erba, Val de Reuil), 30% de MeOH (méthanol), et 3% d'AcOH (acide acétique) (Normapur Prolabo, Paris).

Phase mobile n°2 : 85% CHCl_3 , 30% MeOH, 3% AcOH (diminution de la polarité)

Nous avons changé la phase mobile pour augmenter la rétention et limiter la migration pour les composés qui continuaient de migrer.

d. Chromatographie liquide haute performance (CLHP) analytique

La CLHP en phase inverse utilise une phase stationnaire composée d'une colonne de silice greffée de chaînes carbonées C18 apolaire, permettant de séparer finement les composés en fonction de leur polarité. La détection se fait à 2 longueurs d'ondes 286 et 306 nm. Les séparations sont réalisées selon un gradient de solvants composé d'un mélange d'acétonitrile (ACN) (B) (Carlo Erba) et d'eau ultra pure (EUP) (A) purifiée avec un système de purification Elga Purelab Ultra avec une résistance de 18.2 mΩ minimum. L'ACN et l'EUP sont acidifiés avec de l'acide trifluoro-acétique (TFA) à 0.1% (Fisher Scientific, UK) pour augmenter la résolution des pics. Dans ces conditions, l'élution des composés phénoliques s'effectue des plus polaires aux moins polaires, entraînés par une phase mobile de plus en plus apolaire selon le gradient pré-défini (Tableau 1).

1 mg d'extrait brut de *Carex virgata* pré-purifié et évaporé est solubilisé dans 1 mL de MeOH/H₂O (50/50) (V/V) qualité CLHP avec passage au vortex et au bain à ultrasons. Cette solution est ensuite filtrée avec un filtre de 20µm de diamètre (Phenex PTFE) à l'aide d'une seringue de 1mL (BD Plastipak).

La pompe fonctionne à un débit de 1mL/min et nous avons injecté 20µL de la solution filtrée de GCV à l'aide d'une seringue de 25µL (Hamilton 1702N) dans la colonne C18 (Kinetex 5 µm, 4,6 mm de diamètre × 250 mm).

Tableau 1 : Gradient d'ACN (%B) pour la CLHP analytique des GCV.

Temps (min)	5	35	40	42	45	49	60
%B	10	60	60	100	100	10	10

e. CLHP préparative

Afin d'augmenter la capacité de production de composés purs, nous avons utilisé la CLHP préparative Gilson, constituée d'une colonne de silice greffée de chaînes carbonée C18 (Kinetex 5µm, 250 x 21.2mm) ; de 2 pompes 50SC avec un débit réglé à 20mL/min avec de l'ACN (B) et de l'EUP (A) acidifié au TFA (0.1%) et dégazé au bain à ultrason (Elma S50R Elmasonic) comme solvant.

Nous avons solubilisé tout l'extrait sec (327 mg) qui reste dans du MeOH/H₂O (50/50) (V/V) qualité CLHP à une concentration de 50 mg/mL. La solution obtenue a été filtrée sur une membrane de 20 µm de diamètre à l'aide d'une seringue de 10 mL (BD Plastipak).

Les injections allaient de 210µL à 500µL et ont été réalisées à l'aide d'une seringue de 500µL (Hamilton) dans les mêmes conditions que précédemment (Tableau 1). Ainsi, nous avons visualisé la distribution des pics dans les tubes respectifs placés dans l'appareil, et récupéré et évaporé sous vide les tubes contenant les pics majoritaires.

f. Spectrométrie de masse (SM)

La SM est une technique d'analyse qui permet la détermination des masses moléculaires des composés analysés ainsi que leur identification et leur quantification. Elle est fondée sur la séparation et la détection d'ions formés dans une source d'ionisation ou dans une chambre de collision. Ces ions proviennent de la molécule à analyser.

Il est donc possible, avec cette méthode, d'obtenir des informations structurales. Nous avons obtenu un graphique représentant l'intensité des ions en fonction de leur rapport masse sur charge m/z , appelé le spectre de masse. Nous avons choisi la méthode d'ionisation Electrospray en mode positif.

g. Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)

La RMN est une technique très puissante pour établir la structure chimique des molécules organiques. Pour identifier la structure d'un composé simple, un spectre RMN proton (¹H) peut suffire à pré-établir et déterminer des produits connus à l'aide d'une base de données. Pour des produits plus complexes et pour d'autres provoquant des superpositions de signaux, d'autres dimensions sont indispensables pour faire des cartes 2D (bidimensionnelles).

Dans ces études, les composés purs sont dissous dans des solvants deutérés, tels que le méthanol deutéré (MeOD₂). Pour tous les composés purifiés à partir des GCV, une séquence proton simple a été réalisée, afin d'établir leur identité structurale, avec la machine à RMN ¹H Brücher 400 MHz.

2. Résultats

a. CCM

Les analyses par CCM, pour la phase mobile n°1, ont montré des spots à la hauteur du P2-RCH ainsi que du PT. Il n'y a pas de spot à la hauteur de P1-RCH.

Nous pouvons observer que la migration de certains composés présents dans l'extrait a continué (proche de la ligne de front). Nous avons alors changé la phase mobile pour augmenter la rétention et limiter la migration de ces composés pour pouvoir les visualiser. (cf Figure 7)

Pour la phase mobile n°2, nous pouvons mieux voir les monostilbènes (2 spots en haut) mais les stilbènes glycosylés ne sont toujours pas visibles puisqu'ils n'ont pas migré avec la diminution de la polarité de l'éluant. (cf Figure 8)

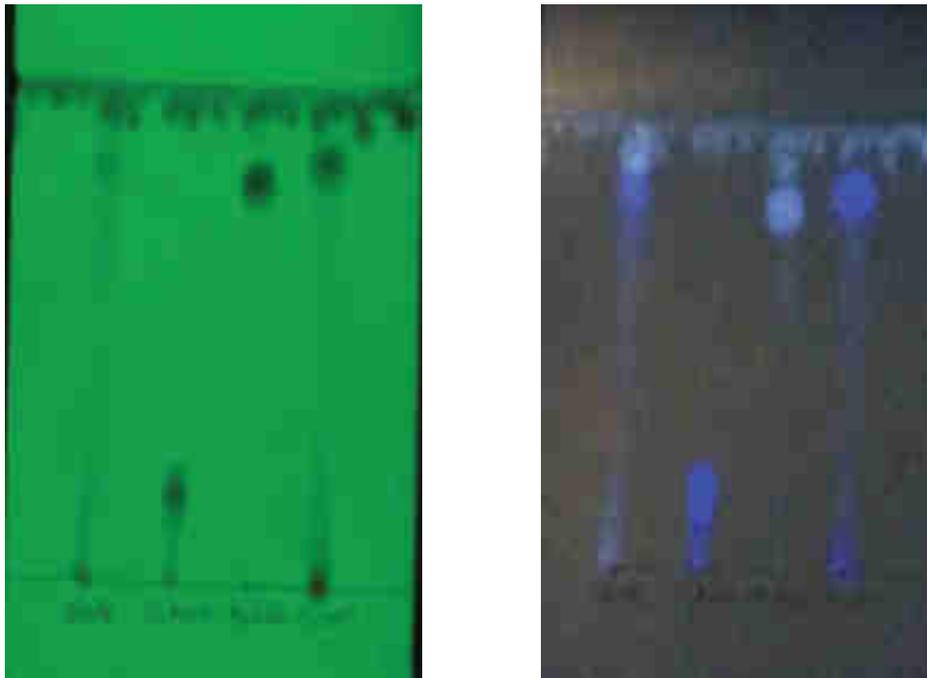


Figure 7 : CCM – Phase mobile 1 (254nm, 365nm). De gauche vers la droite : GCVbrut – P1RCH – P2RCH - Piceatannol

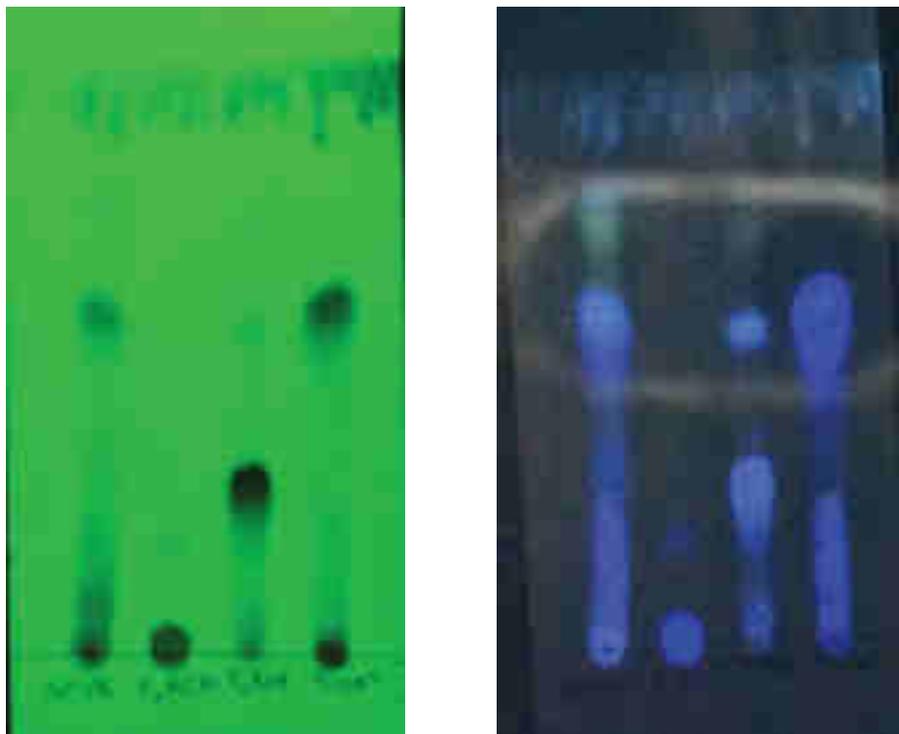


Figure 8 : CCM - phase mobile 2 (254nm, 365nm).

b. CLHP analytique

Nous observons sur le chromatogramme enregistré en CLHP, 6 pics dont 4 pics majoritaires avec les temps de rétention (T_r) suivants :

Tableau 2 : Temps de rétention des pics majoritaires obtenus à la CLHP analytique.

Pics	1	2	3	4	5	6
T_r (min)	10,3	18,5	21,6	23,1	23,9	25,9

La méthode utilisée permet une bonne séparation des pics. Nous avons alors pu utiliser les mêmes paramètres pour la CLHP préparative.

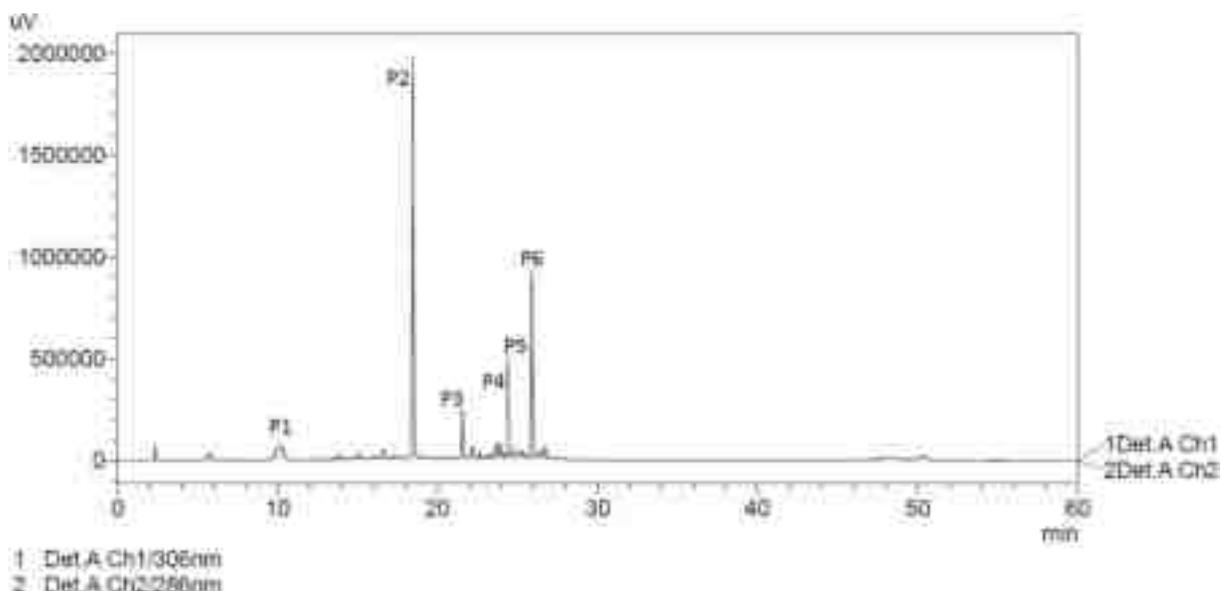


Figure 9 : Chromatogramme CLHP analytique à 286 et 306 nm de l'extrait brut de GCV.

c. CLHP préparative

Les solutions contenant les produits correspondant à chaque pic sont récupérées et évaporées. Les masses obtenues sont présentées dans le tableau 3.

Tableau 3 : Masse de composés récupérés avec la CLHP préparative après évaporation.

Pic	P1	P2	P3	P4	P5	P6
Masse (mg)	5,5	16,9	15,6	31,0	29,1	20,6

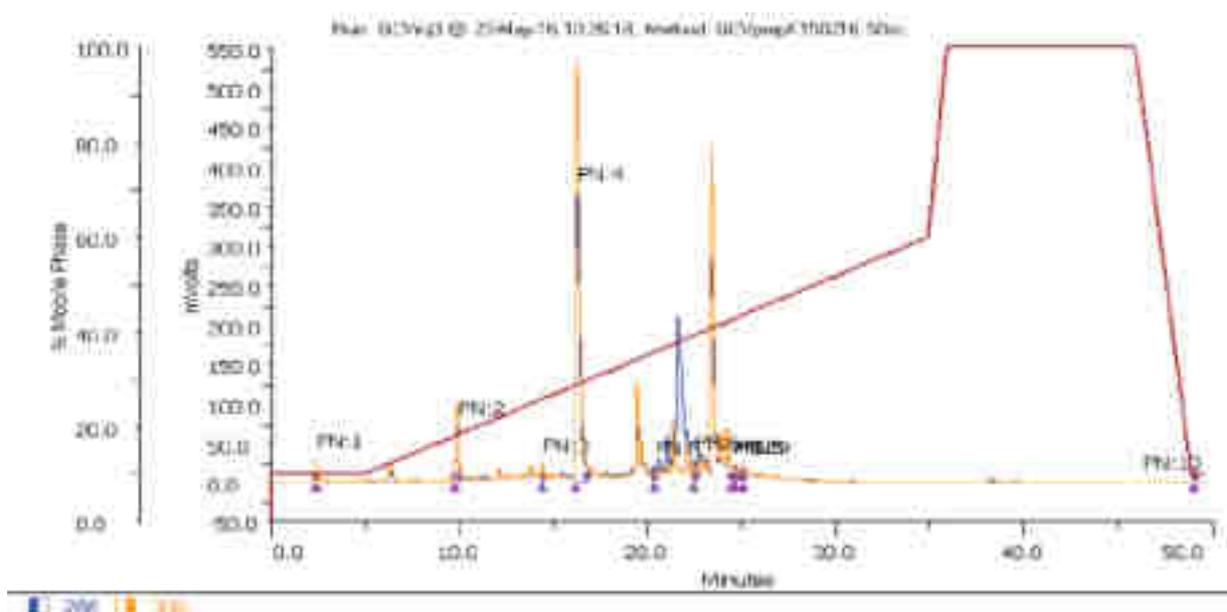


Figure 10 : Chromatogramme CLHP préparative à 286 et 306 nm de l'extrait brut de GCV.

d. Spectrométrie de masse (EIMS)

Tableau 4 : Résultats tirés de l'analyse par CLHP analytique et SM.

Pic n°	T _r (min)	[M + H] ⁺ m/z	Fragments	Hypothèse
P1	10,2	553	391, 229	resvératrol diglycosylé
P2	18,5	245	-	piceatannol
P3	21,8	487	457, 271, 229	dimère de resvératrol + 2OH
P4	23,0	471	287	dimère de resvératrol + OH
P5	23,8	713	471	trimère de resvératrol
P6	25,9	455	-	dimère de resvératrol

Le spectre en ionisation positive du pic P1 montre que l'ion principal fait 553 m/z et la fragmentation en MS2 donne deux fragments l'un à 229 et l'autre à 391 m/z. Le composé correspondant à ce pic P1 pourrait être un resvératrol diglycosylé, soit un départ de $553 - 391 = 162$ m/z avec le fragment 229 m/z qui correspond à 391 m/z avec une perte d'un sucre ($391 - 162 = 229$) ; le composé qui correspond au pic P1 pourrait correspondre à un resvératrol diglycosylé.

Par SM, le pic P2 donne un ion principal qui fait 245 m/z, le composé correspondant à ce pic P2 pourrait être un piceatannol. Ensuite, pour le pic P3, le spectre indique une masse de 487 m/z et la fragmentation en MS2 donne deux fragments l'un à 457 et l'autre à 229 m/z. Le composé correspondant à ce pic P3 pourrait être un dimère de resvératrol plus deux groupements hydroxyle (2 OH).

Les deux pics P4 et P6 donnent deux ions à 471 pour P4 et à 455 m/z pour P6, les deux composés qui correspondent à ces pics pourraient être deux dimères de resvératrol avec plus d'un groupement hydroxyle pour le P4.

Enfin le pic P5 donne un ion principal qui fait 713 m/z qui pourrait être un trimère de resvératrol.

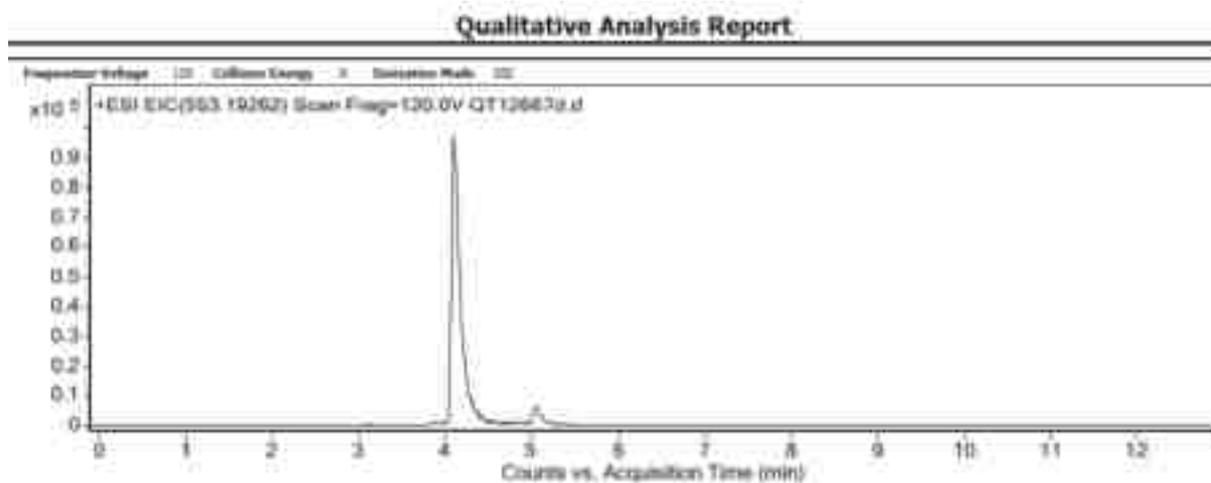


Figure 12 : Spectre en ionisation positive (EIMS) du pic P1.

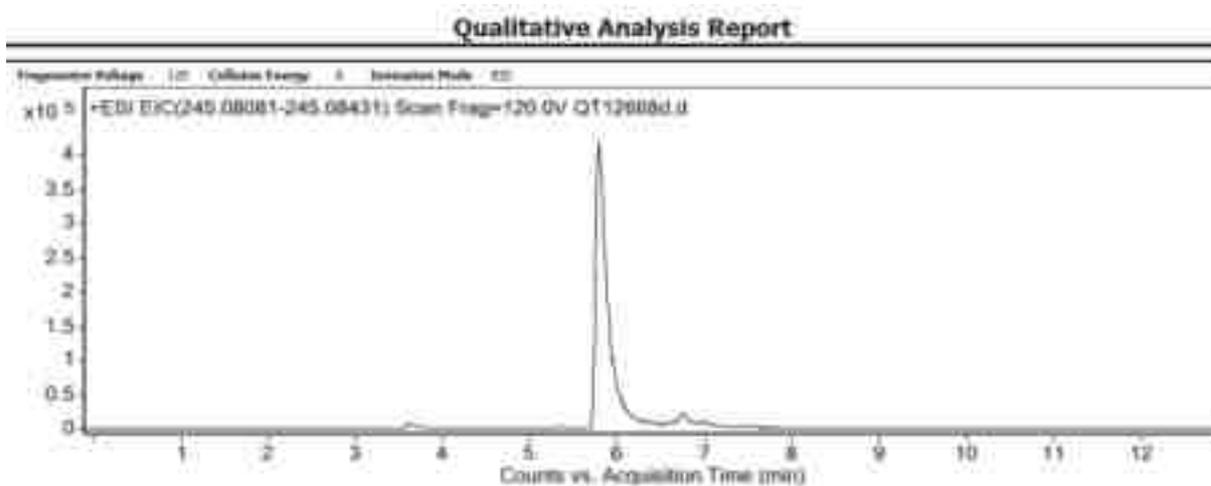


Figure 11 : Spectre en ionisation positive (EIMS) du pic P2.

e. RMN

Nous avons procédé dans cette étape à l'identification et à la détermination des structures chimiques par RMN ^1H des composés isolés et purifiés à partir de GCV. Les données sont exposées dans la **figure 13** ainsi que dans le **tableau 5** suivants.

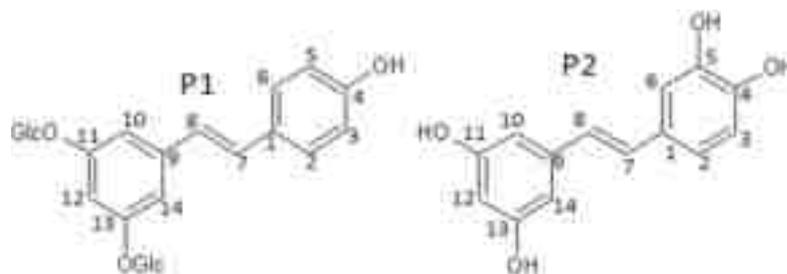


Figure 13 : Structures chimique des composés polyphénoliques isolés : (E)-resvératrol diglucoside (P1) et (E)-piceatannol (P2).

Tableau 5 : Données de la RMN 1H (400 MHz) des composés P1 et P2 dans le méthanol-d4

Position (C)	P1	P2
	δ_{H} (m, J en Hz)	δ_{H} (m, J en Hz)
2	6,78 (2H, d, 8,4)	6,85 (1H, dd, 2,4-8,4)
3	7,40 (2 H, d, 8,4)	6,75 (1H, d, 8,4)
5	7,40 (2 H, d, 8,4)	-
6	6,78 (2H, d, 8,4)	6,99 (1H, d, 2,4)
7	7,10 (1H, d, 16)	6,90 (1H, d, 16,4)
8	6,91 (1H, d, 16)	6,76 (1H, d, 16)
10	6,93 (2H, d, 2)	6,45 (2H, d, 2,4)
12	6,77 (1H, t, 2)	6,17 (1H, t, 1,6)
14	6,93 (2H, d, 2)	6,45 (2H, d, 2,4)
Glycosyl		
1'-1''	4,95 (2H, d, 8,4)	
2'-2''	3,36-3,57	
3'-3''	3,36-3,57	
4'-4''	3,36-3,57	
5'-5''	3,36-3,57	
6'-6''	3,96 (2H, dd, 12) 3,71 (3H, dd, 12-2,6/12-6)	

Nous avons obtenu 5,5 mg de (P1) à partir des GCV. Les données de la RMN 1H ont montré des signaux caractéristiques d'une structure d'un dérivé de resvératrol (Figure 13 et Tableau 5) (251).

En effet l'ensemble de résonance δ entre 6,77 et 7,40 ppm, composé de sept protons aromatiques, est typique pour le resvératrol. L'ensemble de résonance de 6,91 et 7,10 avec deux constantes de couplage de 16 Hz est attribué à un resvératrol en forme trans.

L'ensemble de résonance δ entre 3,39 et 4,95 ppm a été attribué à deux unités β -glycosyle.

Enfin, les données de RMN 1H ont indiqué que ce composé pourrait être le (E)-resvératrol-diglucoside.

Nous avons obtenu 16,9 mg de (P2). Les données de la RMN 1H ont montré des signaux caractéristiques d'une structure d'un piceatannol avec six protons aromatiques et deux protons d'une double liaison en trans (Figure 13 et Tableau 5). Le piceatannol a été précédemment identifié chez *Vitis vinifera* (252).

f. Evaluation biologique sur l'activité arginase

Dans le cadre de l'étude sur les dysfonctions endothéliales, l'extrait brut de GCV ainsi que les 6 composés purifiés ont été testés sur l'enzyme arginase à 2 concentrations différentes (10 μ g/mL et 100 μ g/mL) (Figure 14). Une inhibition supérieure ou égale à 70 % a été observée pour une concentration de 100 μ g/mL avec l'extrait brut ainsi que les composés P2, P3, P4, P5 et P6.

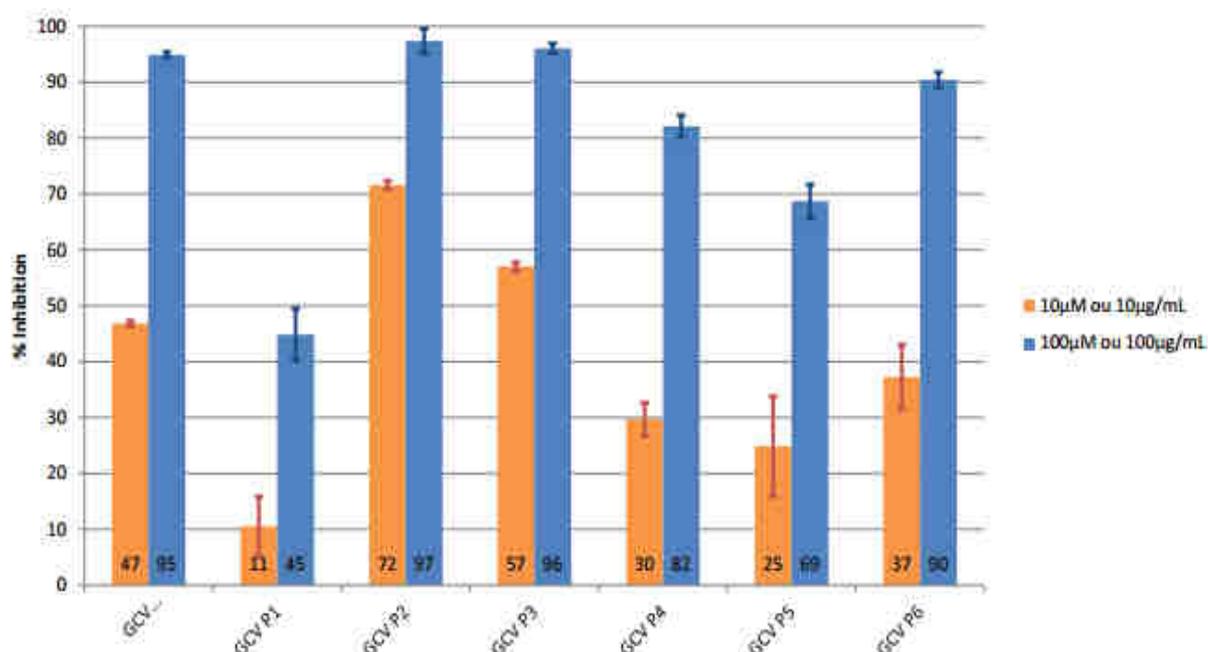


Figure 14 : Résultats du test arginase : GCV Brut et les six composés purifiés

3. Discussion

a. CCM

La concentration en stilbènes glycosylés dans l'extrait brut doit être très faible car le spot à la hauteur du témoin n'est pas très visible. Avec la phase mobile n°2, la migration n'a presque pas été effectuée pour le témoin P1-RCH car la fraction apolaire de l'éluant a été augmentée, donc la migration des composés polaires est moindre. Nous avons changé de phase mobile puisque nous pouvions constater que certains composés continuaient de migrer.

b. CLHP analytique

La CLHP analytique nous a permis de confirmer la méthode de séparation des composés suivant le gradient de solvant à utiliser lors de la CLHP préparative. Les temps de rétentions des pics étant assez distincts, nous avons pu utiliser cette méthode pour une séparation à plus grande échelle.

c. SM

Les données de la SM renseignent sur la présence potentielle de certains groupements par fragmentation des liaisons. Les données obtenues pour les pics 3, 4, 5, et 6 ne sont pas assez précises car il y a de multiples possibilités de polymères dérivés de resvératrol.

d. RMN

Les données de la RMN ^1H ne sont pas suffisantes pour déterminer les structures des produits correspondant aux pics 3, 4, 5 et 6 car au niveau de la littérature, nous n'avons pas trouvé de composés présentant des déplacements chimiques proches, nous ne pouvons donc pas émettre d'hypothèse avant d'avoir les résultats d'autres analyses. Par ailleurs, seulement les composés correspondant aux 2 premiers pics présentaient des spectres assez propres, sans impuretés et donc exploitables.

4. Conclusion

Dans ce travail réalisé à partir d'un extrait méthanolique de graines de *Carex virgata* (GCV), nous avons procédé à une extraction simple, et une pré-purification permettant de conserver

uniquement les polyphénols. Les composés majoritaires dans l'extrait brut de GCV (CLHP analytique) ont été purifiés (CLHP préparative) et analysés par SM et RMN ¹H dans l'objectif d'une identification et élucidation structurale en se basant sur des données de la littérature. Ces analyses ont dégagé l'hypothèse que les GCV renfermeraient des stilbènes, dérivés du resvératrol : (*E*) resvératrol diglycosylé et piceatannol. Il a pu être mis en évidence une activité sur l'agénase en tant qu'inhibiteur, de l'extrait brut GCV et de plusieurs produits.

V. Conclusion

L'intérêt croissant pour les stilbènes, en particulier le resvératrol, en tant qu'agents potentiellement efficaces contre le cancer, ne cesse de croître. Les études menées en laboratoire ont produit des résultats extrêmement prometteurs quant à leur capacité à empêcher différentes étapes du développement du cancer du sein. Grâce à son mécanisme d'action polyvalent et à sa faible toxicité, le resvératrol se présente comme une option intrigante pour la chimioprévention, surtout dans le contexte complexe et chronique du traitement du cancer du sein. Une compréhension approfondie de son mode d'action est cruciale pour développer de nouvelles approches thérapeutiques ciblées. L'exploration de ses effets métaboliques ouvre également de nouvelles opportunités pour lutter contre cette forme de cancer.

Malgré les limitations associées à sa biodisponibilité, les premières études cliniques ont révélé que le resvératrol, ainsi que ses métabolites, présentent une activité biologique chez les participants, suggérant ainsi un potentiel préventif chez les êtres humains. En plus de ses propriétés de sensibilisation, le resvératrol pourrait être judicieusement intégré aux traitements de chimiothérapie classiques, renforçant ainsi leur efficacité tout en minimisant les risques de résistance.

Cependant, malgré ces avancées, l'utilisation du resvératrol et d'autres composés chimiopréventifs demeure limitée dans le contexte du cancer du sein. Le scepticisme entourant leur application en pratique clinique et leur développement industriel ralentit leur adoption pour la prévention de cette forme de cancer. Le développement de formulations améliorées, capables de contourner les problèmes de biodisponibilité, de sélectivité et d'interactions potentielles avec d'autres traitements, représente une stratégie visant à faciliter la mise en place d'études cliniques. Cependant, l'organisation d'essais cliniques reste un défi majeur. Leur succès dépendra en partie de l'identification de marqueurs prédictifs du développement du cancer et du recrutement de populations à haut risque, éléments susceptibles d'améliorer l'efficacité du traitement et de réduire la durée des essais.

VI. Bibliographie

1. La Ligue contre le cancer. Les cancers du sein. janv 2018; Disponible sur: <https://www.ligue-cancer.net/sites/default/files/brochures/cancers-sein-2018-01.pdf>
2. Institut National du Cancer (INCa). Les traitements des cancers du sein. oct 2013; mise à jour 04/2022. Disponible sur: <https://www.e-cancer.fr/Expertises-et-publications/Catalogue-des-publications/Les-traitements-des-cancers-du-sein>
3. An J, Peng C, Tang H, Liu X, Peng F. New Advances in the Research of Resistance to Neoadjuvant Chemotherapy in Breast Cancer. *Int J Mol Sci.* 6 sept 2021;22(17):9644.
4. Ren Y, Yu J, Kinghorn AD. Development of Anticancer Agents from Plant-derived Sesquiterpene Lactones. *Curr Med Chem.* 2016;23(23):2397-420.
5. Shakibaei M, Harikumar KB, Aggarwal BB. Resveratrol addiction: to die or not to die. *Mol Nutr Food Res.* janv 2009;53(1):115-28.
6. Behroozaghdam M, Dehghani M, Zabolian A, Kamali D, Javanshir S, Hasani Sadi F, et al. Resveratrol in breast cancer treatment: from cellular effects to molecular mechanisms of action. *Cell Mol Life Sci.* 4 oct 2022;79(11):539.
7. Sinha D, Sarkar N, Biswas J, Bishayee A. Resveratrol for breast cancer prevention and therapy: Preclinical evidence and molecular mechanisms. *Semin Cancer Biol.* oct 2016;40-41:209-32.
8. Sarni-Manchado P., Cheynier V. les polyphénols en agroalimentaire. Tec&Doc Lavoisier Editions. 2006.
9. Cucciolla V, Borriello A, Oliva A, Galletti P, Zappia V, Della Ragione F. Resveratrol: from basic science to the clinic. *Cell Cycle.* 15 oct 2007;6(20):2495-510.
10. Brat P, Georgé S, Bellamy A, Du Chaffaut L, Scalbert A, Mennen L, et al. Daily polyphenol intake in France from fruit and vegetables. *J Nutr.* sept 2006;136(9):2368-73.
11. Rivière C, Pawlus AD, Mérillon JM. Natural stilbenoids: distribution in the plant kingdom and chemotaxonomic interest in Vitaceae. *Nat Prod Rep.* nov 2012;29(11):1317-33.
12. Mérillon JM, Fauconneau B, Teguo PW, Barrier L, Vercauteren J, Huguet F. Antioxidant Activity of the Stilbene Astringin, Newly Extracted from *Vitis vinifera* Cell Cultures. *Clinical Chemistry.* 1 juin 1997;43(6):1092-3.
13. Dubrovina AS, Kiselev KV. Regulation of stilbene biosynthesis in plants. *Planta.* oct 2017;246(4):597-623.
14. Perrot T. Diversité fonctionnelle des systèmes de détoxification chez les champignons lignolytiques [Internet]. Université de Lorraine; 2018. Disponible sur: <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01917674/document>

15. Gaspar Tosato M, Vicendo P, Thomas AH, Lorente C. Clearing up the photochemistry of resveratrol: Effect of the solvent. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. 1 déc 2018;367:327-31.
16. Gregory W. *Outlines of chemistry for the use of students*. H. W. Derby & Company; 1851. 353 p.
17. Poutaraud A, Latouche G, Martins S, Meyer S, Merdinoglu D, Cerovic Z. Fast and Local Assessment of Stilbene Content in Grapevine Leaf by in Vivo Fluorometry. *Journal of agricultural and food chemistry*. 1 juill 2007;55:4913-20.
18. Hart JH. Role of Phytostilbenes in Decay and Disease Resistance. *Annual Review of Phytopathology*. 1981;19(1):437-58.
19. Takaoka, M.J. Of the Phenolic Substances of White Hellebore (*Veratrum grandiflorum* Loe. fil.). *Journal of Chem Society Japan*. 1940;60:1261-4.
20. Salehi B, Mishra AP, Nigam M, Sener B, Kilic M, Sharifi-Rad M, et al. Resveratrol: A Double-Edged Sword in Health Benefits. *Biomedicines*. sept 2018;6(3):91.
21. Phytochemicals in diets for breast cancer prevention: The importance of resveratrol and ursolic acid | Elsevier Enhanced Reader [Internet]. [cité 19 févr 2023]. Disponible sur: <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S2213453012000079?token=88BD8813C7E6235F9C7897460B18977D04F8A1D3A948548C22AC60C2E4DAAB50C0F6F9190423A305B5BDAEF7E85234C1&originRegion=us-east-1&originCreation=20230219163015>
22. Liu H, Gu L. Phlorotannins from brown algae (*Fucus vesiculosus*) inhibited the formation of advanced glycation endproducts by scavenging reactive carbonyls. *J Agric Food Chem*. 8 févr 2012;60(5):1326-34.
23. Grillo MA, Colombatto S. Advanced glycation end-products (AGEs): involvement in aging and in neurodegenerative diseases. *Amino Acids*. juin 2008;35(1):29-36.
24. Snopek L, Mlcek J, Sochorova L, Baron M, Hlavacova I, Jurikova T, et al. Contribution of Red Wine Consumption to Human Health Protection. *Molecules*. 11 juill 2018;23(7):1684.
25. Harikumar KB, Aggarwal BB. Resveratrol: a multitargeted agent for age-associated chronic diseases. *Cell Cycle*. 15 avr 2008;7(8):1020-35.
26. Vestergaard M, Ingmer H. Antibacterial and antifungal properties of resveratrol. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 1 juin 2019;53(6):716-23.
27. Nøhr-Meldgaard K, Ovsepián A, Ingmer H, Vestergaard M. Resveratrol enhances the efficacy of aminoglycosides against *Staphylococcus aureus*. *Int J Antimicrob Agents*. sept 2018;52(3):390-6.
28. Singh D, Mendonsa R, Koli M, Subramanian M, Nayak SK. Antibacterial activity of resveratrol structural analogues: A mechanistic evaluation of the structure-activity relationship. *Toxicol Appl Pharmacol*. 15 mars 2019;367:23-32.

29. Jung HJ, Hwang IA, Sung WS, Kang H, Kang BS, Seu YB, et al. Fungicidal effect of resveratrol on human infectious fungi. *Arch Pharm Res.* mai 2005;28(5):557-60.
30. Valko M, Izakovic M, Mazur M, Rhodes CJ, Telser J. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Mol Cell Biochem.* nov 2004;266(1-2):37-56.
31. MÜLLER C, ULLMANN K, WILKENS A, WINTERHALTER P, TOYOKUNI S, STEINBERG P. Potent Antioxidative Activity of Vineatrol®30 Grapevine-shoot Extract. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry.* 23 août 2009;73(8):1831-6.
32. Quarta A, Gaballo A, Pradhan B, Patra S, Jena M, Ragusa A. Beneficial Oxidative Stress-Related trans-Resveratrol Effects in the Treatment and Prevention of Breast Cancer. *Applied Sciences.* janv 2021;11(22):11041.
33. Xia N, Daiber A, Förstermann U, Li H. Antioxidant effects of resveratrol in the cardiovascular system. *Br J Pharmacol.* juin 2017;174(12):1633-46.
34. Bonnefont-Rousselot D. Resveratrol and Cardiovascular Diseases. *Nutrients* [Internet]. 2 mai 2016 [cité 12 sept 2022];8(5). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4882663/>
35. Sun AY, Simonyi A, Sun GY. The “French paradox” and beyond: neuroprotective effects of polyphenols1, 2 1Guest editor: Arthur Cederbaum 2This article is part of a series of reviews on “Alcohol, Oxidative Stress and Cell Injury.” The full list of papers may be found on the homepage of the journal. *Free Radical Biology and Medicine.* 15 févr 2002;32(4):314-8.
36. Gronbaek M, Deis A, Sorensen TIA, Becker U, Schnohr P, Jensen G. Mortality associated with moderate intakes of wine, beer, or spirits. *BMJ.* 6 mai 1995;310(6988):1165-9.
37. Parker JA, Arango M, Abderrahmane S, Lambert E, Tourette C, Catoire H, et al. Resveratrol rescues mutant polyglutamine cytotoxicity in nematode and mammalian neurons. *Nat Genet.* avr 2005;37(4):349-50.
38. Biais B, Krisa S, Cluzet S, Da Costa G, Waffo-Teguo P, Mérillon JM, et al. Antioxidant and Cytoprotective Activities of Grapevine Stilbenes. *J Agric Food Chem.* 21 juin 2017;65(24):4952-60.
39. Moussa C, Hebron M, Huang X, Ahn J, Rissman RA, Aisen PS, et al. Resveratrol regulates neuro-inflammation and induces adaptive immunity in Alzheimer’s disease. *J Neuroinflammation.* 3 janv 2017;14:1.
40. Jang J. Protective effect of resveratrol on β -amyloid-induced oxidative PC12 cell death. *Free Radical Biology and Medicine.* 15 avr 2003;34(8):1100-10.
41. Ruan CJ, Zhan Li, Zhang L, Chen DH, Du GH, Sun L. Protective effects of trans-2, 4-dimethoxystibene on cognitive, impairments induced by A β 25–35 in, hypercholesterolemic rats. *Brain Research Bulletin.* 30 juill 2010;82(5):251-8.
42. Rivière C, Richard T, Quentin L, Krisa S, Mérillon JM, Monti JP. Inhibitory activity of

- stilbenes on Alzheimer's beta-amyloid fibrils in vitro. *Bioorg Med Chem*. 15 janv 2007;15(2):1160-7.
43. Kim HJ, Lee KW, Kim MS, Lee HJ. Piceatannol attenuates hydrogen-peroxide- and peroxy-nitrite-induced apoptosis of PC12 cells by blocking down-regulation of Bcl-XL and activation of JNK. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 1 juill 2008;19(7):459-66.
44. Karlsson J, Emgard M, Brundin P, Burkitt MJ. trans-resveratrol protects embryonic mesencephalic cells from tert-butyl hydroperoxide: electron paramagnetic resonance spin trapping evidence for a radical scavenging mechanism. *J Neurochem*. juill 2000;75(1):141-50.
45. Dvorakova M, Landa P. Anti-inflammatory activity of natural stilbenoids: A review. *Pharmacol Res*. oct 2017;124:126-45.
46. Rivière P. Le resveratrol : un polyphénol aux propriétés bénéfiques [Internet]. Salle de presse de l'Inserm. 2010 [cité 31 mars 2023]. Disponible sur: <https://presse.inserm.fr/le-resveratrol-un-polyphenol-aux-proprietes-benefiques/14943/>
47. Meng T, Xiao D, Muhammed A, Deng J, Chen L, He J. Anti-Inflammatory Action and Mechanisms of Resveratrol. *Molecules*. 5 janv 2021;26(1):229.
48. Das S, Das DK. Anti-inflammatory responses of resveratrol. *Inflamm Allergy Drug Targets*. 1 sept 2007;6(3):168-73.
49. Copeland RA, Williams JM, Giannaras J, Nurnberg S, Covington M, Pinto D, et al. Mechanism of selective inhibition of the inducible isoform of prostaglandin G/H synthase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 8 nov 1994;91(23):11202-6.
50. Kundu JK, Shin YK, Kim SH, Surh YJ. Resveratrol inhibits phorbol ester-induced expression of COX-2 and activation of NF-kappaB in mouse skin by blocking IkappaB kinase activity. *Carcinogenesis*. juill 2006;27(7):1465-74.
51. Kim YA, Kim GY, Park KY, Choi YH. Resveratrol inhibits nitric oxide and prostaglandin E2 production by lipopolysaccharide-activated C6 microglia. *J Med Food*. juin 2007;10(2):218-24.
52. Candelario-Jalil E, de Oliveira ACP, Gräf S, Bhatia HS, Hüll M, Muñoz E, et al. Resveratrol potently reduces prostaglandin E2 production and free radical formation in lipopolysaccharide-activated primary rat microglia. *Journal of Neuroinflammation*. 10 oct 2007;4(1):25.
53. Yang YM, Chen JZ, Wang XX, Wang SJ, Hu H, Wang HQ. Resveratrol attenuates thromboxane A2 receptor agonist-induced platelet activation by reducing phospholipase C activity. *Eur J Pharmacol*. 31 mars 2008;583(1):148-55.
54. Zou M, Yang W, Niu L, Sun Y, Luo R, Wang Y, et al. Polydatin attenuates *Mycoplasma gallisepticum* (HS strain)-induced inflammation injury via inhibiting the TLR6/ MyD88/NF-κB pathway. *Microb Pathog*. déc 2020;149:104552.
55. Nassra M, Krisa S, Papastamoulis Y, Kapche GD, Bisson J, André C, et al. Inhibitory activity of plant stilbenoids against nitric oxide production by lipopolysaccharide-activated microglia. *Planta*

Med. juill 2013;79(11):966-70.

56. Sharma JN, Al-Omran A, Parvathy SS. Role of nitric oxide in inflammatory diseases. *Inflammopharmacology*. déc 2007;15(6):252-9.
57. Chung EY, Kim BH, Lee MK, Yun YP, Lee SH, Min KR, et al. Anti-inflammatory effect of the oligomeric stilbene alpha-Viniferin and its mode of the action through inhibition of cyclooxygenase-2 and inducible nitric oxide synthase. *Planta Med*. août 2003;69(8):710-4.
58. Ko JH, Sethi G, Um JY, Shanmugam MK, Arfuso F, Kumar AP, et al. The Role of Resveratrol in Cancer Therapy. *Int J Mol Sci*. 1 déc 2017;18(12):2589.
59. Rimando AM, Cuendet M, Desmarchelier C, Mehta RG, Pezzuto JM, Duke SO. Cancer chemopreventive and antioxidant activities of pterostilbene, a naturally occurring analogue of resveratrol. *J Agric Food Chem*. 5 juin 2002;50(12):3453-7.
60. Jang M, Cai L, Udeani GO, Slowing KV, Thomas CF, Beecher CW, et al. Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. *Science*. 10 janv 1997;275(5297):218-20.
61. Lopez-Lluch G, Santa Cruz-Calvo S, Navas P. Resveratrol in Cancer: Cellular and Mitochondrial Consequences of Proton Transport Inhibition. *CPD*. 1 avr 2012;18(10):1338-44.
62. Marel AK, Lizard G, Izard JC, Latruffe N, Delmas D. Inhibitory effects of trans-resveratrol analogs molecules on the proliferation and the cell cycle progression of human colon tumoral cells. *Mol Nutr Food Res*. mai 2008;52(5):538-48.
63. Zambrano A, Molt M, Uribe E, Salas M. Glut 1 in Cancer Cells and the Inhibitory Action of Resveratrol as A Potential Therapeutic Strategy. *IJMS*. 9 juill 2019;20(13):3374.
64. Ohyama M, Tanaka T, Ito T, Inuma M, Bastow KF, Lee KH. Antitumor agents 200.1 cytotoxicity of naturally occurring resveratrol oligomers and their acetate derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. oct 1999;9(20):3057-60.
65. Ohguchi K, Akao Y, Matsumoto K, Tanaka T, Ito T, Inuma M, et al. Vaticanol C-Induced Cell Death Is Associated with Inhibition of Pro-Survival Signaling in HL60 Human Leukemia Cell Line. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 1 janv 2005;69(2):353-6.
66. Qiao H, Chen X, Xu L, Wang J, Zhao G, Hou Y, et al. Antitumor effects of naturally occurring oligomeric resveratrol derivatives. *FASEB j*. nov 2013;27(11):4561-71.
67. Quiney C, Dauzonne D, Kern C, Fourneron JD, Izard JC, Mohammad RM, et al. Flavones and polyphenols inhibit the NO pathway during apoptosis of leukemia B-cells. *Leukemia Research*. août 2004;28(8):851-61.
68. González-Sarriás A, Gromek S, Niesen D, Seeram NP, Henry GE. Resveratrol Oligomers Isolated from Carex Species Inhibit Growth of Human Colon Tumorigenic Cells Mediated by Cell Cycle Arrest. *J Agric Food Chem*. 24 août 2011;59(16):8632-8.

69. Muhtadi, Hakim EH, Juliawaty LD, Syah YM, Achmad SA, Latip J, et al. Cytotoxic resveratrol oligomers from the tree bark of *Dipterocarpus hasseltii*. *Fitoterapia*. déc 2006;77(7-8):550-5.
70. Fondation ARC pour la recherche sur le cancer. Qu'est-ce qu'un cancer du sein ? 7 févr 2023; Disponible sur: <https://www.fondation-arc.org/cancer/cancer-sein/quest-ce-quun-cancer-sein>
71. What Is Breast Cancer? | American Cancer Society [Internet]. 2021 [cité 16 avr 2023]. Disponible sur: <https://www.cancer.org/cancer/breast-cancer/about/what-is-breast-cancer.html>
72. Collège National des Gynécologues et Obstétriciens Français (CNGOF). Pathologies bénignes des seins. 31 mai 2016; Disponible sur: <http://www.cngof.fr/maladies/349-pathologies-benignes-des-seins>
73. Organisation Mondiale de la Santé (OMS). Cancer du sein. 26 mars 2021; Disponible sur: <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/breast-cancer>
74. Institut National du Cancer (INCa). Panorama des cancers en France - Edition 2022. févr 2022 [cité 30 avr 2023]; Disponible sur: <https://www.e-cancer.fr/Expertises-et-publications/Catalogue-des-publications/Panorama-des-cancers-en-France-Edition-2022>
75. Institut national du cancer (INCa) [Internet]. Le cancer du sein : points clés - Cancer du sein. Disponible sur: <https://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Les-cancers/Cancer-du-sein/Les-points-clés>
76. Institut National du Cancer (INCa). Les maladies du sein. Disponible sur: <https://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Les-cancers/Cancer-du-sein/Les-maladies-du-sein/Cancers-du-sein>
77. Lavoué V, Fritel X, Antoine M, Beltjens F, Bendifallah S, Boisserie-Lacroix M, et al. [Benign breast tumors: Recommendations of Collège National des Gynécologues Obstétriciens Français (CNGOF)--Short text]. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)*. déc 2015;44(10):1049-64.
78. Brierley J, Gospodarowicz MK, Wittekind C, éditeurs. *TNM classification of malignant tumours*. Eighth edition. Chichester, West Sussex, UK ; Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, Inc; 2017.
79. InfoCancer ARCAGY - GINECO. Cancer du sein - Formes de la maladie - La stadification. 29 juill 2022; Disponible sur: <http://www.arcagy.org/infocancer/localisations/cancers-feminins/cancer-du-sein/formes-de-la-maladie/la-stadification.html/>
80. Institut National du Cancer (INCa). Les stades du cancer - Cancer du sein. Disponible sur: <https://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Les-cancers/Cancer-du-sein/Les-stades-du-cancer>
81. InfoCancer - ARCAGY-GINECO. Cancer du sein - Formes de la maladie - La classification biomoléculaire. 25 nov 2018; Disponible sur: <http://www.arcagy.org/infocancer/localisations/cancers-feminins/cancer-du-sein/formes-de-la-maladie/la-classification-biomol-culaire-pam50.html/>
82. InfoCancer - ARCAGY-GINECO. Cancer du sein - Traitements - Ce que vous devez

- savoir.... 12 nov 2022; Disponible sur: <http://www.arcagy.org/infocancer/localisations/cancers-feminins/cancer-du-sein/traitements/ce-que-vous-devez-savoir.html/>
83. Fondation ARC pour la recherche sur le cancer. Les cancers du sein. 2020; Disponible sur: <https://www.fondation-arc.org/support-information/brochure-cancers-sein>
84. Institut National du Cancer (INCa). Anti-aromatases - Hormonothérapie. Disponible sur: <https://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Les-cancers/Cancer-du-sein/Hormonotherapie/Anti-aromatases>
85. InfoCancer - ARCAGY-GINECO. Cancer du sein - Traitements - L'hormonothérapie. 4 mai 2023; Disponible sur: <http://www.arcagy.org/infocancer/localisations/cancers-feminins/cancer-du-sein/traitements/lhormonotherapie.html/>
86. InfoCancer - ARCAGY-GINECO. Cancer du sein - Traitements - La chimiothérapie. 6 sept 2022; Disponible sur: <http://www.arcagy.org/infocancer/localisations/cancers-feminins/cancer-du-sein/traitements/la-chimiotherapie.html/>
87. Janakiram NB, Mohammed A, Madka V, Kumar G, Rao CV. Prevention and treatment of cancers by immune modulating nutrients. *Mol Nutr Food Res.* juin 2016;60(6):1275-94.
88. Sethi G, Tergaonkar V. Potential pharmacological control of the NF- κ B pathway. *Trends Pharmacol Sci.* juin 2009;30(6):313-21.
89. Watson RR. *Complementary and Alternative Therapies and the Aging Population: An Evidence-Based Approach.* Academic Press; 2011. 622 p.
90. He X, Wang Y, Zhu J, Orloff M, Eng C. Resveratrol enhances the anti-tumor activity of the mTOR inhibitor rapamycin in multiple breast cancer cell lines mainly by suppressing rapamycin-induced AKT signaling. *Cancer Letters.* 28 févr 2011;301(2):168-76.
91. Aggarwal BB, Bhardwaj A, Aggarwal RS, Seeram NP, Shishodia S, Takada Y. Role of resveratrol in prevention and therapy of cancer: preclinical and clinical studies. *Anticancer Res.* 2004;24(5A):2783-840.
92. Mannal P, McDonald D, McFadden D. Pterostilbene and tamoxifen show an additive effect against breast cancer in vitro. *Am J Surg.* nov 2010;200(5):577-80.
93. Migdal C, Serres M. Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *Med Sci (Paris).* avr 2011;27(4):405-12.
94. Valavanidis A, Vlachogianni T, Fiotakis C. 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG): A critical biomarker of oxidative stress and carcinogenesis. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev.* avr 2009;27(2):120-39.
95. Lee JS, Surh YJ. Nrf2 as a novel molecular target for chemoprevention. *Cancer Lett.* 28 juin 2005;224(2):171-84.
96. Leonard SS, Xia C, Jiang BH, Stinefelt B, Klandorf H, Harris GK, et al. Resveratrol scavenges

- reactive oxygen species and effects radical-induced cellular responses. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. oct 2003;309(4):1017-26.
97. Chen ZH, Hurh YJ, Na HK, Kim JH, Chun YJ, Kim DH, et al. Resveratrol inhibits TCDD-induced expression of CYP1A1 and CYP1B1 and catechol estrogen-mediated oxidative DNA damage in cultured human mammary epithelial cells. *Carcinogenesis*. oct 2004;25(10):2005-13.
98. Ciolino HP, Yeh GC. Inhibition of Aryl Hydrocarbon-Induced Cytochrome P-450 1A1 Enzyme Activity and CYP1A1 Expression by Resveratrol. *Mol Pharmacol*. 1 oct 1999;56(4):760-7.
99. Bianco NR, Chaplin LJ, Montano MM. Differential induction of quinone reductase by phytoestrogens and protection against oestrogen-induced DNA damage. *Biochem J*. 1 janv 2005;385(Pt 1):279-87.
100. Krajka-Kuźniak V, Baer-Dubowska W. Modulation of Nrf2 and NF- κ B Signaling Pathways by Naturally Occurring Compounds in Relation to Cancer Prevention and Therapy. Are Combinations Better Than Single Compounds? *IJMS*. 30 juill 2021;22(15):8223.
101. Boutten A, Goven D, Artaud-Macari E, Bonay M. [Protective role of Nrf2 in the lungs against oxidative airway diseases]. *Med Sci (Paris)*. nov 2011;27(11):966-72.
102. Coumoul, Xavier, Barouki, Robert. Génotoxicité des métabolites des oestrogènes et cancers. *Med Sci (Paris)*. 2002;18(1):86-90.
103. Singh B, Shoulson R, Chatterjee A, Ronghe A, Bhat NK, Dim DC, et al. Resveratrol inhibits estrogen-induced breast carcinogenesis through induction of NRF2-mediated protective pathways. *Carcinogenesis*. juin 2014;35(8):1872-80.
104. Friedman RC, Farh KKH, Burge CB, Bartel DP. Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs. *Genome Res*. janv 2009;19(1):92-105.
105. Kloosterman WP, Plasterk RHA. The diverse functions of microRNAs in animal development and disease. *Dev Cell*. oct 2006;11(4):441-50.
106. Singh B, Ronghe AM, Chatterjee A, Bhat NK, Bhat HK. MicroRNA-93 regulates NRF2 expression and is associated with breast carcinogenesis. *Carcinogenesis*. mai 2013;34(5):1165-72.
107. Ruotolo R, Calani L, Fietta E, Brighenti F, Crozier A, Meda C, et al. Anti-estrogenic activity of a human resveratrol metabolite. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. nov 2013;23(11):1086-92.
108. Jiang WG, Douglas-Jones A, Mansel RE. Levels of expression of lipoxygenases and cyclooxygenase-2 in human breast cancer. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*. oct 2003;69(4):275-81.
109. Subbaramaiah K, Chung WJ, Michaluart P, Telang N, Tanabe T, Inoue H, et al. Resveratrol Inhibits Cyclooxygenase-2 Transcription and Activity in Phorbol Ester-treated Human Mammary Epithelial Cells. *Journal of Biological Chemistry*. août 1998;273(34):21875-82.
110. Chatterjee M, Das S, Janarthan M, Ramachandran HK, Chatterjee M. Role of 5-lipoxygenase

- in resveratrol mediated suppression of 7,12-dimethylbenz(α)anthracene-induced mammary carcinogenesis in rats. *European Journal of Pharmacology*. 2011;668(1):99-106.
111. Su D, Cheng Y, Liu M, Liu D, Cui H, Zhang B, et al. Comparison of Piceid and Resveratrol in Antioxidation and Antiproliferation Activities In Vitro. *PLOS ONE*. 16 janv 2013;8(1):e54505.
112. Institut National du Cancer. Qu'est-ce qu'un cancer? Mécanisme de cancérisation. 5 oct 2016 [cité 26 avr 2021]; Disponible sur: <https://www.e-cancer.fr/Comprendre-prevenir-depister/Qu-est-ce-qu-un-cancer/Mecanisme-de-cancerisation>
113. Hsieh TC, Wong C, John Bennett D, Wu JM. Regulation of p53 and cell proliferation by resveratrol and its derivatives in breast cancer cells: An in silico and biochemical approach targeting integrin $\alpha\beta3$. *International Journal of Cancer*. 2011;129(11):2732-43.
114. Lin HY, Lansing L, Merillon JM, Davis FB, Tang HY, Shih A, et al. Integrin $\alpha V\beta 3$ contains a receptor site for resveratrol. *FASEB J*. août 2006;20(10):1742-4.
115. Lin HY, Tang HY, Davis FB, Davis PJ. Resveratrol and apoptosis. *Ann N Y Acad Sci*. janv 2011;1215:79-88.
116. Lacroix M, Linares LK, Le Cam L. Rôle du suppresseur de tumeurs p53 dans le contrôle du métabolisme. *Med Sci (Paris)*. déc 2013;29(12):1125-30.
117. Tang HY, Shih A, Cao HJ, Davis FB, Davis PJ, Lin HY. Resveratrol-induced cyclooxygenase-2 facilitates p53-dependent apoptosis in human breast cancer cells. *Mol Cancer Ther*. août 2006;5(8):2034-42.
118. Corcoran CA, He Q, Huang Y, Sheikh MS. Cyclooxygenase-2 interacts with p53 and interferes with p53-dependent transcription and apoptosis. *Oncogene*. 24 févr 2005;24(9):1634-40.
119. Scarlatti F, Maffei R, Beau I, Codogno P, Ghidoni R. Role of non-canonical Beclin 1-independent autophagy in cell death induced by resveratrol in human breast cancer cells. *Cell Death Differ*. août 2008;15(8):1318-29.
120. Tavares MR, Pavan ICB, Amaral CL, Meneguello L, Luchessi AD, Simabuco FM. The S6K protein family in health and disease. *Life Sciences*. 15 juin 2015;131:1-10.
121. Wang Y, Wang Z, Qi Z, Yin S, Zhang N, Liu Y, et al. The negative interplay between Aurora A/B and BRCA1/2 controls cancer cell growth and tumorigenesis via distinct regulation of cell cycle progression, cytokinesis, and tetraploidy. *Mol Cancer*. 28 avr 2014;13:94.
122. McInnes C, Wyatt MD. PLK1 as an oncology target: current status and future potential. *Drug Discov Today*. juill 2011;16(13-14):619-25.
123. Medina-Aguilar R, Marchat LA, Arechaga Ocampo E, Gariglio P, García Mena J, Villegas Sepúlveda N, et al. Resveratrol inhibits cell cycle progression by targeting Aurora kinase A and Polo-like kinase 1 in breast cancer cells. *Oncol Rep*. juin 2016;35(6):3696-704.
124. Nakagawa H, Kiyozuka Y, Uemura Y, Senzaki H, Shikata N, Hioki K, et al. Resveratrol

- inhibits human breast cancer cell growth and may mitigate the effect of linoleic acid, a potent breast cancer cell stimulator. *J Cancer Res Clin Oncol.* avr 2001;127(4):258-64.
125. Lee JJ, Loh K, Yap YS. PI3K/Akt/mTOR inhibitors in breast cancer. *Cancer Biol Med.* déc 2015;12(4):342-54.
126. Chantal Dreyer, Eric Raymond, Sandrine Faivre. La voie de signalisation PI3K/AKT/mTOR. *Cancérologie.* 2009;1(3):187.
127. Inglés M, Gambini J, Miguel MG, Bonet-Costa V, Abdelaziz KM, El Alami M, et al. PTEN Mediates the Antioxidant Effect of Resveratrol at Nutritionally Relevant Concentrations. *BioMed Research International.* 2014;2014:1-6.
128. Koh DW, Dawson TM, Dawson VL. Mediation of cell death by poly(ADP-ribose) polymerase-1. *Pharmacological Research.* juill 2005;52(1):5-14.
129. Chin YT, Hsieh MT, Yang SH, Tsai PW, Wang SH, Wang CC, et al. Anti-proliferative and gene expression actions of resveratrol in breast cancer cells in vitro. *Oncotarget.* 30 déc 2014;5(24):12891-907.
130. Androic I, Krämer A, Yan R, Rödel F, Gätje R, Kaufmann M, et al. Targeting cyclin B1 inhibits proliferation and sensitizes breast cancer cells to taxol. *BMC Cancer.* déc 2008;8(1):391.
131. Kim JA, Kim DH, Hossain MA, Kim MY, Sung B, Yoon JH, et al. HS-1793, a resveratrol analogue, induces cell cycle arrest and apoptotic cell death in human breast cancer cells. *International Journal of Oncology.* févr 2014;44(2):473-80.
132. Khodapasand E, Jafarzadeh N, Farrokhi F, Kamalidehghan B, Houshmand M. Is Bax/Bcl-2 ratio considered as a prognostic marker with age and tumor location in colorectal cancer? *Iran Biomed J.* 2015;19(2):69-75.
133. Magnaldo T. P53 sous le soleil. *Med Sci (Paris).* juin 2007;23(6-7):581-3.
134. Dubourdeau M, Pipy B, Rousseau D. Rôles de PPAR et de p21^{WAF1/CIP1} dans la différenciation monocyte/macrophage: Les monocytes circulants prolifèrent-ils? *Med Sci (Paris).* mai 2010;26(5):481-6.
135. Bodmer A. Revue Médicale Suisse : Inhibiteurs de la PARP : nouvelle arme thérapeutique pour les cancers du sein et de l’ovaire. Castiglione M, éditeur. *Revue Médicale Suisse.* 2011;7(296):1137-40.
136. Liu Y, Lu LY. BRCA1 and homologous recombination: implications from mouse embryonic development. *Cell Biosci.* déc 2020;10(1):49.
137. Eric Solary, Olivier Micheau, Marie-Thérèse Dimanche-Boitrel, François Martin. Le système Fas/Fas-ligand : implications dans la réponse immunitaire antitumorale et dans l’activité des agents cytotoxiques. *Bulletin du Cancer.* 1 sept 1998;85(8):685-94.
138. Raisova M, Hossini AM, Eberle J, Riebeling C, Wieder T, Sturm I, et al. The Bax/Bcl-2 ratio

- determines the susceptibility of human melanoma cells to CD95/Fas-mediated apoptosis. *J Invest Dermatol.* août 2001;117(2):333-40.
139. Couzinet A, Hérincs Z, Hueber AO. Régulation de la mort cellulaire programmée : vers une conception plus dynamique. *Med Sci (Paris).* août 2002;18(8-9):841-52.
140. Janneh AH, Ogretmen B. Targeting Sphingolipid Metabolism as a Therapeutic Strategy in Cancer Treatment. *Cancers.* janv 2022;14(9):2183.
141. Gomez-Larrauri A, Presa N, Dominguez-Herrera A, Ouro A, Trueba M, Gomez-Muñoz A. Role of bioactive sphingolipids in physiology and pathology. *Essays in Biochemistry.* 24 juin 2020;64(3):579-89.
142. Maeng HJ, Song JH, Kim GT, Song YJ, Lee K, Kim JY, et al. Celecoxib-mediated activation of endoplasmic reticulum stress induces de novo ceramide biosynthesis and apoptosis in hepatoma HepG2 cells. *BMB Reports.* 2017;50(3):144-9.
143. Wang SW, Hojabrpour P, Zhang P, Kolesnick RN, Steinbrecher UP, Gómez-Muñoz A, et al. Regulation of ceramide generation during macrophage apoptosis by ASMase and de novo synthesis. *Biochim Biophys Acta.* nov 2015;1851(11):1482-9.
144. Chang WT, Wu CY, Lin YC, Wu MT, Su KL, Yuan SS, et al. C2-Ceramide-Induced Rb-Dominant Senescence-Like Phenotype Leads to Human Breast Cancer MCF-7 Escape from p53-Dependent Cell Death. *International Journal of Molecular Sciences.* janv 2019;20(17):4292.
145. Hannun YA, Obeid LM. The Ceramide-centric Universe of Lipid-mediated Cell Regulation: Stress Encounters of the Lipid Kind *. *Journal of Biological Chemistry.* 19 juill 2002;277(29):25847-50.
146. Hannun YA, Obeid LM. Principles of bioactive lipid signalling: lessons from sphingolipids. *Nat Rev Mol Cell Biol.* févr 2008;9(2):139-50.
147. Taha TA, Hannun YA, Obeid LM. Sphingosine Kinase: Biochemical and Cellular Regulation and Role in Disease. *BMB Reports.* 2006;39(2):113-31.
148. Scarlatti F, Sala G, Somenzi G, Signorelli P, Sacchi N, Ghidoni R. Resveratrol induces growth inhibition and apoptosis in metastatic breast cancer cells via de novo ceramide signaling. *FASEB J.* déc 2003;17(15):2339-41.
149. Dolfini E, Roncoroni L, Dogliotti E, Sala G, Erba E, Sacchi N, et al. Resveratrol impairs the formation of MDA-MB-231 multicellular tumor spheroids concomitant with ceramide accumulation. *Cancer Lett.* 8 mai 2007;249(2):143-7.
150. Minutolo F, Sala G, Bagnacani A, Bertini S, Carboni I, Placanica G, et al. Synthesis of a resveratrol analogue with high ceramide-mediated proapoptotic activity on human breast cancer cells. *J Med Chem.* 3 nov 2005;48(22):6783-6.
151. Lim KG, Gray AI, Pyne S, Pyne NJ. Resveratrol dimers are novel sphingosine kinase 1

- inhibitors and affect sphingosine kinase 1 expression and cancer cell growth and survival. *Br J Pharmacol.* juill 2012;166(5):1605-16.
152. Chakraborty A, Gupta N, Ghosh K, Roy P. In vitro evaluation of the cytotoxic, anti-proliferative and anti-oxidant properties of pterostilbene isolated from *Pterocarpus marsupium*. *Toxicol In Vitro.* juin 2010;24(4):1215-28.
153. Alosi JA, McDonald DE, Schneider JS, Privette AR, McFadden DW. Pterostilbene inhibits breast cancer in vitro through mitochondrial depolarization and induction of caspase-dependent apoptosis. *J Surg Res.* 15 juin 2010;161(2):195-201.
154. Wang Y, Ding L, Wang X, Zhang J, Han W, Feng L, et al. Pterostilbene simultaneously induces apoptosis, cell cycle arrest and cyto-protective autophagy in breast cancer cells. *Am J Transl Res.* 5 janv 2012;4(1):44-51.
155. Chang W, Fa H, Xiao D, Wang J. Targeting phosphatidylserine for Cancer therapy: prospects and challenges. *Theranostics.* 23 juill 2020;10(20):9214-29.
156. Birge RB, Boeltz S, Kumar S, Carlson J, Wanderley J, Calianese D, et al. Phosphatidylserine is a global immunosuppressive signal in efferocytosis, infectious disease, and cancer. *Cell Death Differ.* juin 2016;23(6):962-78.
157. McCormack D, Schneider J, McDonald D, McFadden D. The antiproliferative effects of pterostilbene on breast cancer in vitro are via inhibition of constitutive and leptin-induced Janus kinase/signal transducer and activator of transcription activation. *Am J Surg.* nov 2011;202(5):541-4.
158. Manore SG, Doheny DL, Wong GL, Lo HW. IL-6/JAK/STAT3 Signaling in Breast Cancer Metastasis: Biology and Treatment. *Frontiers in Oncology [Internet].* 2022 [cité 4 nov 2022];12. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fonc.2022.866014>
159. Chakraborty A, Bodipati N, Demonacos MK, Peddinti R, Ghosh K, Roy P. Long term induction by pterostilbene results in autophagy and cellular differentiation in MCF-7 cells via ROS dependent pathway. *Molecular and Cellular Endocrinology.* 15 mai 2012;355(1):25-40.
160. Friedl P, Alexander S. Cancer invasion and the microenvironment: plasticity and reciprocity. *Cell.* 23 nov 2011;147(5):992-1009.
161. Provot S. Contrôle de la croissance et de la dissémination tumorales par le microenvironnement - Certitudes et hypothèses émergentes. *Med Sci (Paris).* 1 avr 2014;30(4):366-71.
162. Vergara D, Valente CM, Tinelli A, Siciliano C, Lorusso V, Acierno R, et al. Resveratrol inhibits the epidermal growth factor-induced epithelial mesenchymal transition in MCF-7 cells. *Cancer Lett.* 1 nov 2011;310(1):1-8.
163. Loh CY, Chai JY, Tang TF, Wong WF, Sethi G, Shanmugam MK, et al. The E-Cadherin and N-Cadherin Switch in Epithelial-to-Mesenchymal Transition: Signaling, Therapeutic Implications,

and Challenges. *Cells*. 20 sept 2019;8(10):1118.

164. Sun Y, Zhou QM, Lu YY, Zhang H, Chen QL, Zhao M, et al. Resveratrol Inhibits the Migration and Metastasis of MDA-MB-231 Human Breast Cancer by Reversing TGF- β 1-Induced Epithelial-Mesenchymal Transition. *Molecules*. 21 mars 2019;24(6):1131.

165. Tsai JH, Hsu LS, Lin CL, Hong HM, Pan MH, Way TD, et al. 3,5,4'-Trimethoxystilbene, a natural methoxylated analog of resveratrol, inhibits breast cancer cell invasiveness by downregulation of PI3K/Akt and Wnt/ β -catenin signaling cascades and reversal of epithelial-mesenchymal transition. *Toxicol Appl Pharmacol*. 1 nov 2013;272(3):746-56.

166. Plouhinec JL, Taelman V. Les contes de la voie Wnt: Comment GSK3 fut enfermée dans les endosomes multivésiculaires. *Med Sci (Paris)*. déc 2011;27(12):1058-61.

167. T B, F H, S S, O S, E H, A J, et al. Invasion and metastasis in colorectal cancer: epithelial-mesenchymal transition, mesenchymal-epithelial transition, stem cells and beta-catenin. *Cells, tissues, organs* [Internet]. 2005 [cité 12 oct 2022];179(1-2). Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15942193/>

168. Nelson AR, Fingleton B, Rothenberg ML, Matrisian LM. Matrix metalloproteinases: biologic activity and clinical implications. *J Clin Oncol*. mars 2000;18(5):1135-49.

169. Rivera S, Jourquin J, Ogier C, Bernard A, Charton G, Tremblay É, et al. Le système MMP/TIMP dans le système nerveux. *Med Sci (Paris)*. 1 janv 2004;20(1):55-60.

170. Duffy MJ, Maguire TM, Hill A, McDermott E, O'Higgins N. Metalloproteinases: role in breast carcinogenesis, invasion and metastasis. *Breast Cancer Res*. 2000;2(4):252-7.

171. Jinga DC, Blidaru A, Condrea I, Ardeleanu C, Dragomir C, Szegli G, et al. MMP-9 and MMP-2 gelatinases and TIMP-1 and TIMP-2 inhibitors in breast cancer: correlations with prognostic factors. *J Cell Mol Med*. avr 2006;10(2):499-510.

172. De Bock K, Cauwenberghs S, Carmeliet P. Vessel abnormalization: another hallmark of cancer? Molecular mechanisms and therapeutic implications. *Curr Opin Genet Dev*. févr 2011;21(1):73-9.

173. Yuan G, Qian L, Song L, Shi M, Li D, Yu M, et al. Heregulin-beta promotes matrix metalloproteinase-7 expression via HER2-mediated AP-1 activation in MCF-7 cells. *Mol Cell Biochem*. 1 nov 2008;318(1-2):73-9.

174. ZW. ErbB Receptors and Cancer. *Methods in molecular biology* (Clifton, NJ) [Internet]. 2017 [cité 24 sept 2022];1652. Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28791631/>

175. Tang FY, Chiang EPI, Sun YC. Resveratrol inhibits heregulin-beta1-mediated matrix metalloproteinase-9 expression and cell invasion in human breast cancer cells. *J Nutr Biochem*. mai 2008;19(5):287-94.

176. Pan M hsiung, Lin YT, Lin CL, Wei C, Ho CT, Chen WJ. Suppression of Heregulin-

β 1/HER2-Modulated Invasive and Aggressive Phenotype of Breast Carcinoma by Pterostilbene via Inhibition of Matrix Metalloproteinase-9, p38 Kinase Cascade and Akt Activation. Evidence-based Complementary and Alternative Medicine : eCAM. 2011;2011.

177. Ko HS, Lee HJ, Kim SH, Lee EO. Piceatannol Suppresses Breast Cancer Cell Invasion through the Inhibition of MMP-9: Involvement of PI3K/AKT and NF- κ B Pathways. J Agric Food Chem. 25 avr 2012;60(16):4083-9.

178. Tang FY, Su YC, Chen NC, Hsieh HS, Chen KS. Resveratrol inhibits migration and invasion of human breast-cancer cells. Mol Nutr Food Res. juin 2008;52(6):683-91.

179. Lee HS, Ha AW, Kim WK. Effect of resveratrol on the metastasis of 4T1 mouse breast cancer cells in vitro and in vivo. Nutr Res Pract. août 2012;6(4):294-300.

180. Gatalica Z, Stafford P, Vranic S. Alpha-methylacyl-CoA racemase (AMACR) protein is upregulated in early proliferative lesions of the breast irrespective of apocrine differentiation. Human Pathology. 1 nov 2022;129:40-6.

181. Witkiewicz AK, Varambally S, Shen R, Mehra R, Sabel MS, Ghosh D, et al. Alpha-methylacyl-CoA racemase protein expression is associated with the degree of differentiation in breast cancer using quantitative image analysis. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. juin 2005;14(6):1418-23.

182. Snaebjornsson MT, Janaki-Raman S, Schulze A. Greasing the Wheels of the Cancer Machine: The Role of Lipid Metabolism in Cancer. Cell Metabolism. 7 janv 2020;31(1):62-76.

183. Hasmim M, Messai Y, Noman MZ, Chouaib S. L'hypoxie tumorale - Un déterminant clé de la réactivité stromale et de la réponse antitumorale. Med Sci (Paris). 1 avr 2014;30(4):422-8.

184. Gu Y, Lu H, Boisson-Vidal C, Li H, Bousquet G, Janin A, et al. La résistance aux traitements antiangiogéniques - Une actualité clinique et scientifique. Med Sci (Paris). 1 avr 2016;32(4):370-7.

185. Schindl M, Schoppmann SF, Samonigg H, Hausmaninger H, Kwasny W, Gnant M, et al. Overexpression of hypoxia-inducible factor 1alpha is associated with an unfavorable prognosis in lymph node-positive breast cancer. Clin Cancer Res. juin 2002;8(6):1831-7.

186. Kim DH, Sung B, Kim JA, Kang YJ, Hwang SY, Hwang NL, et al. HS-1793, a resveratrol analogue, downregulates the expression of hypoxia-induced HIF-1 and VEGF and inhibits tumor growth of human breast cancer cells in a nude mouse xenograft model. International Journal of Oncology. 1 août 2017;51(2):715-23.

187. Hood JD, Cheresch DA. Role of integrins in cell invasion and migration. Nat Rev Cancer. févr 2002;2(2):91-100.

188. Condeelis JS, Wyckoff JB, Bailly M, Pestell R, Lawrence D, Backer J, et al. Lamellipodia in invasion. Semin Cancer Biol. avr 2001;11(2):119-28.

189. Ridley AJ, Schwartz MA, Burridge K, Firtel RA, Ginsberg MH, Borisy G, et al. Cell

- migration: integrating signals from front to back. *Science*. 5 déc 2003;302(5651):1704-9.
190. Azios NG, Dharmawardhane SF. Resveratrol and Estradiol Exert Disparate Effects on Cell Migration, Cell Surface Actin Structures, and Focal Adhesion Assembly in MDA-MB-231 Human Breast Cancer Cells. *Neoplasia*. févr 2005;7(2):128-40.
191. Rodrigue C, Porteu F, Navarro N, Bruyneel E, Bracke M, Romeo PH, et al. The cancer chemopreventive agent resveratrol induces tensin, a cell–matrix adhesion protein with signaling and antitumor activities. *Oncogene*. 1 juin 2005;24:3274-84.
192. Azios NG, Krishnamoorthy L, Harris M, Cubano LA, Cammer M, Dharmawardhane SF. Estrogen and Resveratrol Regulate Rac and Cdc42 Signaling to the Actin Cytoskeleton of Metastatic Breast Cancer Cells. *Neoplasia*. févr 2007;9(2):147-58.
193. Primeau M, Lamarche-Vane N. Coup d’œil sur les petites GTPases Rho. *Med Sci (Paris)*. 1 févr 2008;24(2):157-62.
194. Chen J, Yao Y, Gong C, Yu F, Su S, Chen J, et al. CCL18 from tumor-associated macrophages promotes breast cancer metastasis via PTPN23. *Cancer Cell*. 12 avr 2011;19(4):541-55.
195. Lee KY. M1 and M2 polarization of macrophages: a mini-review. *Med Biol Sci Eng*. 31 janv 2019;2(1):1-5.
196. Sica A, Larghi P, Mancino A, Rubino L, Porta C, Totaro MG, et al. Macrophage polarization in tumour progression. *Semin Cancer Biol*. oct 2008;18(5):349-55.
197. Baay M, Brouwer A, Pauwels P, Peeters M, Lardon F. Tumor Cells and Tumor-Associated Macrophages: Secreted Proteins as Potential Targets for Therapy. *Clin Dev Immunol*. 2011;2011:565187.
198. Solinas G, Marchesi F, Garlanda C, Mantovani A, Allavena P. Inflammation-mediated promotion of invasion and metastasis. *Cancer Metastasis Rev*. juin 2010;29(2):243-8.
199. Biswas SK, Lewis CE. NF- κ B as a central regulator of macrophage function in tumors. *J Leukoc Biol*. nov 2010;88(5):877-84.
200. Mak KK, Wu ATH, Lee WH, Chang TC, Chiou JF, Wang LS, et al. Pterostilbene, a bioactive component of blueberries, suppresses the generation of breast cancer stem cells within tumor microenvironment and metastasis via modulating NF- κ B/microRNA 448 circuit. *Molecular Nutrition & Food Research*. 2013;57(7):1123-34.
201. Vidal [Internet]. Tamoxifène: substance active à effet thérapeutique. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/tamoxifene-3887.html>
202. Cipolletti M, Montalesi E, Nuzzo MT, Fiocchetti M, Ascenzi P, Marino M. Potentiation of paclitaxel effect by resveratrol in human breast cancer cells by counteracting the 17 β -estradiol/estrogen receptor α /neuroglobin pathway. *Journal of Cellular Physiology*. 2019;234(4):3147-57.

203. Sprouse AA, Herbert BS. Resveratrol augments paclitaxel treatment in MDA-MB-231 and paclitaxel-resistant MDA-MB-231 breast cancer cells. *Anticancer Res.* oct 2014;34(10):5363-74.
204. Osman AMM, Bayoumi HM, Al-Harhi SE, Damanhoury ZA, Elshal MF. Modulation of doxorubicin cytotoxicity by resveratrol in a human breast cancer cell line. *Cancer Cell Int.* 16 nov 2012;12(1):47.
205. Díaz-Chávez J, Fonseca-Sánchez MA, Arechaga-Ocampo E, Flores-Pérez A, Palacios-Rodríguez Y, Domínguez-Gómez G, et al. Proteomic profiling reveals that resveratrol inhibits HSP27 expression and sensitizes breast cancer cells to doxorubicin therapy. *PLoS One.* 2013;8(5):e64378.
206. Singh N, Nigam M, Ranjan V, Sharma R, Balapure AK, Rath SK. Caspase mediated enhanced apoptotic action of cyclophosphamide- and resveratrol-treated MCF-7 cells. *J Pharmacol Sci.* avr 2009;109(4):473-85.
207. Casanova F, Quarti J, da Costa DCF, Ramos CA, da Silva JL, Fialho E. Resveratrol chemosensitizes breast cancer cells to melphalan by cell cycle arrest. *J Cell Biochem.* août 2012;113(8):2586-96.
208. Singh N, Nigam M, Ranjan V, Zaidi D, Garg VK, Sharma S, et al. Resveratrol as an adjunct therapy in cyclophosphamide-treated MCF-7 cells and breast tumor explants. *Cancer Sci.* mai 2011;102(5):1059-67.
209. da Costa Araldi IC, Bordin FPR, Cadoná FC, Barbisan F, Azzolin VF, Teixeira CF, et al. The in vitro radiosensitizer potential of resveratrol on MCF-7 breast cancer cells. *Chemico-Biological Interactions.* 25 févr 2018;282:85-92.
210. Di Franco R, Calvanese M, Murino P, Manzo R, Guida C, Di Gennaro D, et al. Skin toxicity from external beam radiation therapy in breast cancer patients: protective effects of Resveratrol, Lycopene, Vitamin C and anthocianin (Ixor®). *Radiat Oncol.* 30 janv 2012;7:12.
211. Amini P, Nodooshan SJ, Ashrafizadeh M, Eftekhari SM, Aryafar T, Khalafi L, et al. Resveratrol Induces Apoptosis and Attenuates Proliferation of MCF-7 Cells in Combination with Radiation and Hyperthermia. *Current Molecular Medicine.* 1 févr 2021;21(2):142-50.
212. Mondal A, Bennett LL. Resveratrol enhances the efficacy of sorafenib mediated apoptosis in human breast cancer MCF7 cells through ROS, cell cycle inhibition, caspase 3 and PARP cleavage. *Biomed Pharmacother.* déc 2016;84:1906-14.
213. Alayev A, Berger SM, Kramer MY, Schwartz NS, Holz MK. The Combination of Rapamycin and Resveratrol Blocks Autophagy and Induces Apoptosis in Breast Cancer Cells. *Journal of Cellular Biochemistry.* 2015;116(3):450-7.
214. Catania A, Barrajón-Catalán E, Nicolosi S, Cicirata F, Micol V. Immunoliposome encapsulation increases cytotoxic activity and selectivity of curcumin and resveratrol against HER2 overexpressing human breast cancer cells. *Breast Cancer Res Treat.* août 2013;141(1):55-65.

215. Bukowski K, Kciuk M, Kontek R. Mechanisms of Multidrug Resistance in Cancer Chemotherapy. *Int J Mol Sci.* 2 mai 2020;21(9):3233.
216. Huang F, Wu XN, Chen J, Wang WX, Lu ZF. Resveratrol reverses multidrug resistance in human breast cancer doxorubicin-resistant cells. *Exp Ther Med.* juin 2014;7(6):1611-6.
217. Kim TH, Shin YJ, Won AJ, Lee BM, Choi WS, Jung JH, et al. Resveratrol enhances chemosensitivity of doxorubicin in multidrug-resistant human breast cancer cells via increased cellular influx of doxorubicin. *Biochim Biophys Acta.* janv 2014;1840(1):615-25.
218. De Amicis F, Giordano F, Vivacqua A, Pellegrino M, Panno ML, Tramontano D, et al. Resveratrol, through NF- κ B/p53/Sin3/HDAC1 complex phosphorylation, inhibits estrogen receptor alpha gene expression via p38MAPK/CK2 signaling in human breast cancer cells. *FASEB J.* oct 2011;25(10):3695-707.
219. Shi XP, Miao S, Wu Y, Zhang W, Zhang XF, Ma HZ, et al. Resveratrol Sensitizes Tamoxifen in Antiestrogen-Resistant Breast Cancer Cells with Epithelial-Mesenchymal Transition Features. *Int J Mol Sci.* 26 juill 2013;14(8):15655-68.
220. Mirzaei S, Gholami MH, Zabolian A, Saleki H, Bagherian M, Torabi SM, et al. Resveratrol Augments Doxorubicin and Cisplatin Chemotherapy: A Novel Therapeutic Strategy. *Curr Mol Pharmacol.* 23 févr 2023;16(3):280-306.
221. Leon-Galicia I, Diaz-Chavez J, Garcia-Villa E, Uribe-Figueroa L, Hidalgo-Miranda A, Herrera LA, et al. Resveratrol induces downregulation of DNA repair genes in MCF-7 human breast cancer cells. *Eur J Cancer Prev.* janv 2013;22(1):11-20.
222. Ren B, Kwah MXY, Liu C, Ma Z, Shanmugam MK, Ding L, et al. Resveratrol for cancer therapy: Challenges and future perspectives. *Cancer Letters.* 1 sept 2021;515:63-72.
223. Pezzuto JM. Resveratrol: Twenty Years of Growth, Development and Controversy. *Biomol Ther (Seoul).* janv 2019;27(1):1-14.
224. la Porte C, Voduc N, Zhang G, Seguin I, Tardiff D, Singhal N, et al. Steady-State Pharmacokinetics and Tolerability of Trans-Resveratrol 2000mg Twice Daily with Food, Quercetin and Alcohol (Ethanol) in Healthy Human Subjects. *Clin Pharmacokinet.* 1 juill 2010;49(7):449-54.
225. Patel KR, Scott E, Brown VA, Gescher AJ, Steward WP, Brown K. Clinical trials of resveratrol. *Ann N Y Acad Sci.* janv 2011;1215:161-9.
226. Brown VA, Patel KR, Viskaduraki M, Crowell JA, Perloff M, Booth TD, et al. Repeat Dose Study of the Cancer Chemopreventive Agent Resveratrol in Healthy Volunteers: Safety, Pharmacokinetics and Effect on the Insulin-like Growth Factor Axis. *Cancer Res.* 15 nov 2010;70(22):9003-11.
227. Lissa D, Castedo M. Effets préventifs et sensibilisants du resvératrol dans le cancer. *Oncologie.* 1 sept 2013;15(9):474-9.

228. Dj B, Ge F, Kr P, Am S, Va B, Mp D, et al. Phase I dose escalation pharmacokinetic study in healthy volunteers of resveratrol, a potential cancer chemopreventive agent. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention: a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology* [Internet]. juin 2007 [cité 5 août 2023];16(6). Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17548692/>
229. Bowers JL, Tyulmenkov VV, Jernigan SC, Klinge CM. Resveratrol acts as a mixed agonist/antagonist for estrogen receptors alpha and beta. *Endocrinology*. oct 2000;141(10):3657-67.
230. Gehm BD, McAndrews JM, Chien PY, Jameson JL. Resveratrol, a polyphenolic compound found in grapes and wine, is an agonist for the estrogen receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 9 déc 1997;94(25):14138-43.
231. Pezzuto JM. The phenomenon of resveratrol: redefining the virtues of promiscuity. *Ann N Y Acad Sci*. janv 2011;1215:123-30.
232. Bhat KPL, Pezzuto JM. Cancer chemopreventive activity of resveratrol. *Ann N Y Acad Sci*. mai 2002;957:210-29.
233. Murias M, Miksits M, Aust S, Spatzenegger M, Thalhammer T, Szekeres T, et al. Metabolism of resveratrol in breast cancer cell lines: Impact of sulfotransferase 1A1 expression on cell growth inhibition. *Cancer Letters*. 18 mars 2008;261(2):172-82.
234. Juan ME, González-Pons E, Planas JM. Multidrug Resistance Proteins Restrain the Intestinal Absorption of trans-Resveratrol in Rats, 3, 3. *The Journal of Nutrition*. 1 mars 2010;140(3):489-95.
235. Miksits M, Wlcek K, Svoboda M, Thalhammer T, Ellinger I, Stefanzi G, et al. Expression of sulfotransferases and sulfatases in human breast cancer: Impact on resveratrol metabolism. *Cancer Letters*. 28 mars 2010;289(2):237-45.
236. Chow HHS, Garland LL, Hsu CH, Vining DR, Chew WM, Miller JA, et al. Resveratrol Modulates Drug- and Carcinogen-Metabolizing Enzymes in a Healthy Volunteer Study. *Cancer Prevention Research*. 1 sept 2010;3(9):1168-75.
237. Hoshino J, Park EJ, Kondratyuk TP, Marler L, Pezzuto JM, van Breemen RB, et al. Selective Synthesis and Biological Evaluation of Sulfate-Conjugated Resveratrol Metabolites. *J Med Chem*. 8 juill 2010;53(13):5033-43.
238. Patel KR, Andreadi C, Britton RG, Horner-Glister E, Karmokar A, Sale S, et al. Sulfate metabolites provide an intracellular pool for resveratrol generation and induce autophagy with senescence. *Sci Transl Med*. 2 oct 2013;5(205):205ra133.
239. N' soukpoé-Kossi CN, St-Louis C, Beauregard M, Subirade M, Carpentier R, Hotchandani S, et al. Resveratrol Binding to Human Serum Albumin. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. 1 déc 2006;24(3):277-83.
240. Calabrese EJ, Baldwin LA. Defining hormesis. *Hum Exp Toxicol*. févr 2002;21(2):91-7.

241. Holcombe RF, Martinez M, Planutis K, Planutiene M. Effects of a grape-supplemented diet on proliferation and Wnt signaling in the colonic mucosa are greatest for those over age 50 and with high arginine consumption. *Nutrition Journal*. 19 juin 2015;14(1):62.
242. Zhu W, Qin W, Zhang K, Rottinghaus GE, Chen YC, Kliethermes B, et al. Trans-Resveratrol Alters Mammary Promoter Hypermethylation in Women at Increased Risk for Breast Cancer. *Nutrition and Cancer*. 1 avr 2012;64(3):393-400.
243. Espinoza JL, Trung LQ, Inaoka PT, Yamada K, An DT, Mizuno S, et al. The Repeated Administration of Resveratrol Has Measurable Effects on Circulating T-Cell Subsets in Humans. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 4 mai 2017;2017:e6781872.
244. Fukui M, Yamabe N, Zhu BT. Resveratrol Attenuates the Anticancer Efficacy of Paclitaxel in Human Breast Cancer Cells In Vitro and In Vivo. *Eur J Cancer*. juill 2010;46(10):1882-91.
245. Fukui M, Choi HJ, Wang P, Zhu BT. Mechanism underlying resveratrol's attenuation of paclitaxel cytotoxicity in human breast cancer cells: Role of the SIRT1-FOXO1-HER3 signaling pathway. *Cancer Treat Res Commun*. 2021;28:100386.
246. Siddiqui IA, Sanna V, Ahmad N, Sechi M, Mukhtar H. Resveratrol nanoformulation for cancer prevention and therapy. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2015;1348(1):20-31.
247. Calvo-Castro LA, Schiborr C, David F, Ehrt H, Voggel J, Sus N, et al. The Oral Bioavailability of Trans-Resveratrol from a Grapevine-Shoot Extract in Healthy Humans is Significantly Increased by Micellar Solubilization. *Molecular Nutrition & Food Research*. 2018;62(9):1701057.
248. Amiot MJ, Romier B, Anh Dao TM, Fanciullino R, Ciccolini J, Burcelin R, et al. Optimization of trans-Resveratrol bioavailability for human therapy. *Biochimie*. 1 juin 2013;95(6):1233-8.
249. Chimento A, De Amicis F, Sirianni R, Sinicropi MS, Puoci F, Casaburi I, et al. Progress to Improve Oral Bioavailability and Beneficial Effects of Resveratrol. *Int J Mol Sci*. 19 mars 2019;20(6):1381.
250. Amri A, Chaumeil JC, Sfar S, Charrueau C. Administration of resveratrol: What formulation solutions to bioavailability limitations? *Journal of Controlled Release*. 10 mars 2012;158(2):182-93.
251. Arraki K, Richard T, Alain B, Pedrot E, Bisson J, Waffo-Téguo P, et al. Isolation, Characterization and Quantification of Stilbenes from Some Carex Species. *Records of Natural Products*. oct 2013;7:281.
252. Bavaresco L, Fregoni M, Trevisan M, Mattivi F, Vrhovsek U, Falchetti R. The occurrence of the stilbene piceatannol in grapes. *VITIS - Journal of Grapevine Research*. 28 avr 2015;41(3):133.

Titre : L'intérêt des stilbènes dans le traitement du cancer du sein, mise en évidence de leur présence dans la plante *Carex virgata* (Cypéracées).

Résumé : Ce mémoire approfondit l'étude des stilbénoides, en se focalisant principalement sur le resvératrol, et leur potentiel dans la lutte contre le cancer du sein. Émanant du métabolisme secondaire des plantes, les stilbènes représentent des composés phénoliques, de la classe des non-flavonoïdes, et dérivent de la voie des phénylpropanoïdes. Ils ont été l'objet de plusieurs études explorant leurs effets et activités biologiques, notamment leur potentiel neuroprotecteur, leurs propriétés antioxydantes ainsi que leur capacité anticancéreuse. La section suivante se penche sur l'intérêt potentiel des stilbénoides dans le traitement du cancer du sein. Elle présente d'abord une vue d'ensemble du cancer du sein, en abordant sa structure, son épidémiologie, les signes cliniques et les différentes caractéristiques des tumeurs. Les traitements actuels du cancer du sein, qu'ils soient loco-régionaux ou généraux, sont ensuite évoqués. Une part importante du travail se concentre sur les effets spécifiques des stilbénoides dans le cancer du sein. L'impact des stilbénoides sur l'initiation, la promotion, la progression et l'invasion des cellules cancéreuses est examiné en détail. De plus, l'étude explore la manière dont les stilbénoides pourraient potentialiser les traitements anticancéreux existants. L'ensemble du travail s'efforce de démontrer le potentiel prometteur des stilbénoides, en particulier du resvératrol, pour la prévention et le traitement du cancer du sein. Cependant, le mémoire souligne également les limites actuelles de la recherche dans ce domaine et identifie les domaines nécessitant des enquêtes plus approfondies. Ce mémoire offre une perspective approfondie et détaillée sur les avantages et les défis liés à l'utilisation des stilbénoides dans la lutte contre le cancer du sein. Enfin, la détection des stilbènes au sein de la plante *Carex virgata* (Cypéracées) confère à ce mémoire une dimension expérimentale.

Title : The significance of stilbenes in breast cancer treatment, uncovering their occurrence in the *Carex virgata* Plant (Cyperaceae)

Abstract : This thesis delves into the study of stilbenes, with a primary focus on resveratrol, and their potential in combating breast cancer. Stemming from the secondary metabolism of plants, stilbenes constitute phenolic compounds belonging to the non-flavonoid class and arise from the phenylpropanoid pathway. They have been the subject of numerous investigations exploring their biological effects and activities, including their neuroprotective potential, antioxidant properties, and anticancer capacity. The subsequent section delves into the potential relevance of stilbenes in breast cancer treatment. It first provides an overview of breast cancer, discussing its structure, epidemiology, clinical signs, and diverse tumor characteristics. Current treatments for breast cancer, whether localized or systemic, are then addressed. A significant portion of the work is dedicated to the specific effects of stilbenes in breast cancer. The impact of stilbenes on the initiation, promotion, progression, and invasion of cancer cells is scrutinized in detail. Furthermore, the study explores how stilbenes could enhance existing anticancer treatments. The entirety of the study strives to demonstrate the promising potential of stilbenes, particularly resveratrol, in the prevention and treatment of breast cancer. However, the thesis also underscores the current limitations in this field of research and identifies areas warranting further investigation. This thesis offers an in-depth and detailed perspective on the benefits and challenges associated with the utilization of stilbenes in the battle against breast cancer. Finally, the detection of stilbenes within the *Carex virgata* plant (Cyperaceae) adds an experimental dimension to this thesis.