

**THÈSE**  
**pour le**  
**DIPLÔME D'ÉTAT**  
**DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

**par**

**François Monnier**

*Présentée et soutenue publiquement le 10 mars 2017*

**LE BROCOLI (*Brassica cretica* Lam.), composés bioactifs et intérêt du  
sulforaphane pour la santé humaine.**

**Président : M. Jean-Marie BARD, Professeur de Biochimie**

**Membres du jury : M. Olivier GROVEL, Maître de Conférences de Pharmacognosie  
Mme Marylène BRIANT, Pharmacien**

## REMERCIEMENTS

A mon président de Thèse, **Monsieur le Professeur Jean-Marie Bard**. Vous me faites l'honneur de présider mon jury et je tiens à vous remercier de l'attention que vous portez à ce travail. Je vous remercie de votre disponibilité et de votre enseignement.

A mon directeur de Thèse, **Monsieur le Professeur Olivier Grovel**. Vous m'avez fait l'honneur de diriger ce travail et de le juger. Merci de m'avoir orienté vers ce sujet. Je vous remercie également pour votre écoute, vos conseils et votre disponibilité.

A **Madame le Docteur Marylène Briant**, je tiens à vous adresser mes plus vifs remerciements pour l'honneur que vous me faites en acceptant de participer à ce jury de thèse.

Veillez tous retrouver ici mes remerciements les plus sincères.

A **Charlotte**, merci pour ton aide, ton soutien et ta patience lors de la rédaction de cette thèse et surtout merci pour tout ce que tu m'apportes tous les jours. Je t'aime.

A **mes parents**, merci pour votre soutien depuis le tout début. Merci pour votre patience et votre amour. Je vous en suis infiniment reconnaissant.

Merci à toi aussi, **Marc-Antoine**, toujours bienveillant et ici aujourd'hui pour moi.

A mes **grands-parents, oncles, tantes et cousins**, merci pour tout ce que vous m'apportez également. Merci **Geneviève** pour cette aide à la fois littéraire et scientifique pour la dernière relecture de cette thèse.

Je remercie également mes **beaux-parents, belles-sœurs et beaux-frères**, j'ai trouvé une 2<sup>ème</sup> famille et pour tout cela je vous remercie.

Un grand merci également à **Arthur, Romain, Edouard, Axel, Grégoire, Xavier, Florent, Frédéric, Boris, Pierre, Anthony** pour votre amitié.

# SOMMAIRE

SOMMAIRE .....	3
LISTE DES ABREVIATIONS .....	6
LISTE DES FIGURES.....	10
LISTE DES TABLES .....	11
INTRODUCTION .....	12
<b>I. LA PLANTE ET SON UTILISATION ALIMENTAIRE .....</b>	<b>13</b>
<b>I.A LA PLANTE.....</b>	<b>13</b>
<b><i>I.A.1 Origine et histoire du brocoli.....</i></b>	<b><i>13</i></b>
<b><i>I.A.2 Taxonomie et description botanique de Brassica cretica Lam.....</i></b>	<b><i>14</i></b>
I.A.2.A Taxonomie du Brocoli.....	14
I.A.2.B Description botanique du brocoli.....	14
I.A.2.B.1 Introduction sur la classification du brocoli .....	14
I.A.2.B.2 Caractéristiques principales des Brassicacées.....	15
I.A.2.B.3 Caractères communs aux espèces du genre <i>Brassica</i> .....	18
I.A.2.B.4 Caractères communs à l'espèce du genre <i>Brassica oleracea</i> .....	19
I.A.2.B.5 Caractères spécifiques du Brocoli : <i>Brassica cretica</i> Lam.....	19
<b><i>I.A.3 Description du brocoli : différents noms et différentes variétés.....</i></b>	<b><i>20</i></b>
<b><i>I.A.4 Culture du brocoli et sa récolte .....</i></b>	<b><i>23</i></b>
I.A.4.1 La Culture du brocoli .....	23
I.A.4.1.1 Répartition des cultures en France.....	23
I.A.4.1.2 Culture du brocoli ainsi que les maladies et nuisibles à éviter.....	24
I.A.4.2 La récolte du brocoli .....	26
<b><i>I.A.5 Economie .....</i></b>	<b><i>26</i></b>
<b>I.B UTILISATION ALIMENTAIRE.....</b>	<b>28</b>
<b><i>I.B.1 Quelques recettes à base de Brocoli .....</i></b>	<b><i>28</i></b>
I.B.1.1 Bien choisir un brocoli et bien le conserver avant de le cuisiner .....	28
I.B.1.2 Recettes avec du brocoli.....	29
<b>II. DESCRIPTION DE LA COMPOSITION CHIMIQUE DU BROCOLI.....</b>	<b>31</b>
<b>II.A VALEURS NUTRITIVES DU BROCOLI.....</b>	<b>31</b>
<b>II.B MICRONUTRIMENTS .....</b>	<b>32</b>
<b><i>II.B.1 Teneur en vitamines du brocoli : .....</i></b>	<b><i>32</i></b>
<b><i>II.B.2 Composition en minéraux du brocoli : .....</i></b>	<b><i>32</i></b>
<b>II.C METABOLITES PRESENTS DANS LE BROCOLI .....</b>	<b>33</b>
<b><i>II.C.1 Polyphénols : Flavonoïdes : flavonols (quercétine, kaempférol en majorité dans le brocoli) .....</i></b>	<b><i>33</i></b>
II.C.1.1 Introduction .....	33
II.C.1.2 Structure.....	34
II.C.1.3 Détermination des quantités en flavonoïdes du brocoli.....	35
<b><i>II.C.2 Caroténoïdes : lutéine et bêta-carotène.....</i></b>	<b><i>35</i></b>
II.C.2.1 Introduction .....	35
II.C.2.2 Structure.....	35
<b><i>II.C.3 Molécules soufrées : glucosinolates (précurseurs des isothiocyanates) .....</i></b>	<b><i>37</i></b>
<b><i>II.C.4 Le sulforaphane et autres isothiocyanates, produits de dégradation des glucosinolates.....</i></b>	<b><i>40</i></b>
II.C.4.1 Formation des isothiocyanates à partir des glucosinolates par la myrosinase .....	40

II.C.4.2 La myrosinase .....	42
II.C.4.2.1 Structure de la myrosinase .....	42
II.C.4.2.2 Localisation de la myrosinase .....	43
II.C.4.2.3 Fonctionnalité de la myrosinase .....	44
II.C.4.2.4 Influence de l'environnement .....	45
II.C.4.3 Détermination des quantités en isothiocyanates et glucosinolates contenues dans les brocolis. ....	45
<b>III. ETUDES DES EFFETS DES METABOLITES DES GLUCOSINOLATES SUR LA SANTE : LE</b>	
<b>SULFORAPHANE EN PARTICULIER. ....</b>	<b>47</b>
<b>III.A PROTECTION CONTRE LA NEURODEGENERESCENCE .....</b>	<b>47</b>
<b>III.A.1 Mécanisme de l'action antioxydante du sulforaphane .....</b>	<b>47</b>
III.A.1.2 Effets du sulforaphane sur le long terme. ....	48
III.A.1.2.1 Etude <i>in vitro</i> .....	48
III.A.1.2.2 Etude <i>in vivo</i> .....	49
<b>III.A.2 Effets protecteurs du sulforaphane contre les maladies neurodégénératives. ....</b>	<b>49</b>
III.A.2.1 Effets sur les maladies neurodégénératives aiguës. ....	49
III.A.2.1.1 Les lésions cérébrales traumatiques .....	49
III.A.2.2 Effets sur les maladies neurodégénératives chroniques. ....	50
III.A.2.2.1 La maladie d'Alzheimer .....	50
III.A.2.2.2 La maladie de Parkinson .....	51
<b>III.B EFFETS DU SULFORAPHANE ET AUTRES METABOLITES DES GLUCOSINOLATES SUR LES</b>	
<b>CANCERS.....</b>	<b>53</b>
<b>III.B.1 Le cancer .....</b>	<b>53</b>
III.B.1.1 introduction .....	53
III.B.1.2 Complexité des interactions entre facteurs nutritionnels et cancer .....	54
III.B.1.3 Méthodologie d'établissement des niveaux de preuve des relations entre facteurs nutritionnels et cancer .....	55
<b>III.B.2 : Les métabolites des glucosinolates et le cancer. ....</b>	<b>57</b>
III.B.2.1 Introduction .....	57
III.B.2.2 Etude des principaux mécanismes de ces métabolites pour lutter contre les cancers. ....	57
III.B.2.3 Ces métabolites ont une action préventive ou traitante sur quels cancers ? .....	61
III.B.2.3.1 Le cancer de la prostate .....	62
III.B.2.3.1.1 Introduction : .....	62
III.B.2.3.1.2 Etudes : .....	62
III.B.2.3.2 Le cancer du sein .....	64
III.B.2.3.2.1 Introduction : .....	64
III.B.2.3.2.2 Etudes : .....	65
III.B.2.3.3 Le cancer du pancréas .....	66
III.B.2.3.3.1 Introduction : .....	66
III.B.2.3.3.2 Etudes : .....	66
III.B.2.3.4 Le cancer du poumon .....	67
III.B.2.3.4.1 Introduction : .....	67
III.B.2.3.4.2 Etudes : .....	68
III.B.2.3.5 Le cancer colorectal .....	69
III.B.2.3.5.1 Introduction : .....	69
III.B.2.3.5.2 Etudes : .....	69
III.B.2.4 Il existerait une variabilité interindividuelle de la réponse du corps humain à la consommation de glucosinolates due au polymorphisme génétique. ....	70
<b>III.C INFECTION A <i>HELICOBACTER PYLORI</i> .....</b>	<b>72</b>
<b>III.C.1 Introduction et traitement. ....</b>	<b>72</b>
<b>III.C.2 Le sulforaphane, intérêts pour faciliter l'élimination de <i>Helicobacter Pylori</i> ? .....</b>	<b>74</b>
III.C.2.1 Mécanisme d'action du sulforaphane contre <i>Helicobacter Pylori</i> . ....	74
III.C.2.2 Etudes de l'efficacité du sulforaphane contre les infections à <i>Helicobacter Pylori</i> . ....	74
<b>III.D SULFORAPHANE ET ARTHROSE.....</b>	<b>76</b>
<b>III.D.1 Introduction .....</b>	<b>76</b>
<b>III.D.2 Etudes des effets du sulforaphane contre l'arthrose .....</b>	<b>77</b>
<b>III.E LE SULFORAPHANE : IMPLICATION DANS LES MALADIES CARDIOVASCULAIRES.....</b>	<b>78</b>
<b>III.E.1 Introduction .....</b>	<b>78</b>
<b>III.E.2 Les effets du sulforaphane contre l'athérosclérose. ....</b>	<b>78</b>
III.E.2.1 Etude <i>in vivo</i> .....	78

<b>III.E.3 Effets sur l'hypertension .....</b>	<b>80</b>
III.E.3.1 Etude <i>in vivo</i> .....	80
<b>III.E.4 Effets sur les lésions cérébrales ischémiques .....</b>	<b>80</b>
<b>III.E.5 Etudes sur l'effet préventif de la consommation de sulforaphane sur l'apparition d'un diabète et sur l'apparition de complications chez des individus diabétiques. ....</b>	<b>81</b>
III.E.5.1 Le sulforaphane en prévention du diabète. ....	81
III.E.5.1.1 Etudes <i>in vitro</i> .....	81
III.E.5.1.2 Etudes <i>in vivo</i> .....	81
III.E.5.2 Le sulforaphane protègerait des complications du diabète .....	82
III.E.5.2.1 Etude <i>in vitro</i> .....	82
III.E.5.2.2 Etude <i>in vivo</i> .....	82
III.E.5.2.3 Les différents mécanismes du sulforaphane pour lutter contre les complications du diabète et leurs études : .....	83
<b>III.E.6 Etudes sur l'activité anti-cholestérolémiante. ....</b>	<b>87</b>
III.E.6.1 Etudes <i>in vivo</i> .....	87
III.E.6.2 Etudes cliniques .....	87
<b>III.E.7 Application clinique du sulforaphane dans la prévention des maladies cardiovasculaires. ....</b>	<b>88</b>
<b>IV. DISCUSSION : CONCENTRATION EN SULFORAPHANE EFFICACE POUR AVOIR LE MEILLEUR APPORT QUALITATIF, DIFFERENTES MANIERES DE L'OBTENIR ET RISQUES POSSIBLES AVEC DE FORTES DOSES.....</b>	<b>90</b>
<b>IV.A CONCENTRATION EN GLUCOSINOLATES EFFICACE POUR APPORTER LES EFFETS BENEFIQUES DU BROCOLI POUR LA PREVENTION DES CANCERS .....</b>	<b>90</b>
<b>IV.B DIFFERENTES MANIERES D'OBTENIR CETTE CONCENTRATION EFFICACE EN GLUCOSINOLATES.....</b>	<b>90</b>
<b>IV.B.1 Effets des différents modes de cuisson sur la composition du brocoli et amélioration de sa qualité nutritionnelle par élévation.....</b>	<b>90</b>
IV.B.1.1 Introduction .....	90
IV.B.1.2 Mise en abime d'une étude de Yuan et al. de l'université d'horticulture de Chine sur les effets des différents modes de cuisson sur le brocoli. ....	91
IV.B.1.2.1 Description de l'étude .....	91
IV.B.1.2.2 Résultats de cette étude.....	91
IV.B.1.2.3 Discussion.....	93
IV.B.1.2.5 Conclusion.....	96
IV.B.1.3 Amélioration de la qualité nutritionnelle des pousses de brocoli par élévation.....	96
<b>IV.B.2 Autres possibilités pour obtenir la quantité optimale de sulforaphane afin d'avoir les effets attendus : brocolis génétiquement modifiés, compléments alimentaires .....</b>	<b>97</b>
<b>IV.C RISQUES POSSIBLES AVEC DE FORTES DOSES .....</b>	<b>99</b>
<b>CONCLUSION .....</b>	<b>100</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....</b>	<b>101</b>

## LISTE DES ABREVIATIONS

### A

ABC	:	<b>ATP Binding Cassette</b> (Cassette de fixation à l'ATP)
ADN	:	<b>Acide Désoxyribonucléique</b>
AG	:	<b>Aliphatic Glucosinolates</b> (Glucosinolates aliphatiques)
AICR	:	<b>American Institute for Cancer Research</b> (Institut Américain pour la recherche sur le cancer)
ANSES	:	<b>Agence Nationale de Sécurité Sanitaire, de l'alimentation et de l'Environnement</b>
ARE	:	<b>Antioxydant-Responsive Element</b> (Elément antioxydant réactif)
ARNm	:	<b>Acide ribonucléique messenger</b>
AS	:	<b>Apport satisfaisant</b>
AVC	:	<b>Arrêt Vasculaire Cérébral</b>

### B

BCRP	:	<b>Breast Cancer Resistance Protein</b> (Protéine de résistance au cancer du sein)
BNM	:	<b>Besoin Nutritionnel Moyen</b>

### C

COX-2	:	<b>Cyclo-Oxygénase 2</b>
CRP	:	<b>C-Réactive Protein</b> (Protéine C-réactive)

### D

DIM	:	<b>3,3V-diindolylmethane</b>
DMBA	:	<b>7,12-diméthylbenz(a) anthracène</b>
DW	:	<b>Dry Weight</b> (Poids sec)

### E

ESP	:	<b>Epithiospecifier Protein</b> (Protéine épithiospecifier)
-----	---	---

## **G**

GEFH	:	<b>Groupe d'Etude Français des Helicobacter</b>
GLS	:	<b>Glucosinolates</b>
GST	:	<b>Glutathione S-transferase</b>
GSTM1	:	<b>Glutathione S-Transferase Mu 1</b>
GSTT1	:	<b>Glutathione S-Transferase Theta 1</b>

## **H**

HbA1c	:	<b>Hémoglobine A1c</b> (Hémoglobine glyquée)
HDL	:	<b>High Density Lipoprotein</b> (Lipoprotéine de haute densité)
HO-1	:	<b>Hème Oxygénase-1</b>
HPLC	:	<b>High Performance Liquid Chromatography</b> (Chromatographie en phase liquide à haute performance)

## **I**

IG	:	<b>Indole Glucosinolates</b>
IL-1 $\beta$	:	<b>Interleukine 1 Bêta</b>
iNOS	:	<b>Inducible Nitric Oxide Synthase</b> (Synthèse inductible de l'oxyde nitrique)
INR	:	<b>International Normalised Ratio</b> (Ratio international normalisé)
IPP	:	<b>Inhibiteur de la Pompe à Protons</b>
IR	:	<b>Insulino-Résistance</b>
I3C	:	<b>Indole-3-Carbinol</b>

## **L**

LDL	:	<b>Low Density Lipoprotein</b> (Lipoprotéines de basse densité)
-----	---	---

## **M**

MRP	:	<b>Multidrug Resistance Protein</b> (Protéine de résistance à plusieurs médicaments)
-----	---	--

## **N**

NFkB	:	<b>Nuclear Factor-kappa B</b>
Nrf2	:	<b>Nuclear factor erythroid 2-related factor</b>

## **P**

PGE2	:	<b>Prostaglandines E2</b>
P-gp	:	<b>Glycoprotéine P</b>
PNNS	:	<b>Plan National Nutrition Santé</b>
PSA	:	<b>Prostate Specific Antigen</b> (Antigène prostatique spécifique)

## **Q**

QR	:	<b>Quinone Réductase</b>
----	---	--------------------------

## **R**

ROS	:	<b>Réactive Oxygen Species</b> (Espèces réactives de l'oxygène)
-----	---	---

## **S**

SAU	:	<b>Surface Agricole Utile</b>
SF	:	<b>Sulforaphane</b>
SFN	:	<b>Sulforaphane</b>
STZ	:	<b>Streptozocine</b>

## **T**

TGF-β	:	<b>Transforming Growth Factor Beta</b> (Le facteur beta de croissance transformant)
TG	:	<b>Triglycérides</b>
TNFalpha	:	<b>Tumor Necrosis Factor alpha</b> (Facteur de nécrose tumorale alpha)

## **U**

UGT	:	<b>UDP-GlucuronosylTransferase</b>
UV	:	<b>Ultra Violet</b>

## **V**

**VCAM-1** : **Vascular Cell Adhesion Molecule 1** (Molécule-1 d'adhérence des cellules vasculaires)

**VEGF** : **Vascular Endothelial Growth Factor** (Facteur de croissance de l'endothélium vasculaire)

## **W**

**WCRF** : **World Cancer Research Fund International** (Fonds mondial de recherche sur le cancer international)

## LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Fleur de Brassica nigra et embryon (Tiré de Botineau M, 2010).....	15
Figure 2 : Diagramme des fleurs de Brassicacées (Tiré de Guibourt N, 1876). ....	16
Figure 3 : Silique de Brassica (Tiré de Botineau M, 2010). ....	17
Figure 4 : Silicule latiséptée de Lunaria annua (Tiré de Botineau M, 2010). ....	17
Figure 5 : Inflorescences de brocoli (Tiré de Missouri Botanical Garden, <a href="http://www.tropicos.org">http://www.tropicos.org</a> ). ....	19
Figure 6 : Brocoli en fleur (Tiré de Missouri Botanical Garden, <a href="http://www.tropicos.org">http://www.tropicos.org</a> ). ...	20
Figure 7 : Brocoli dans une culture. ....	20
Figure 8 : Brocoli à pomme.....	21
Figure 9 : Brocoli à jets. ....	21
Figure 10 : Choux Romanesco. ....	22
Figure 11 : Répartition des cultures en France (Tiré de AGRESTE, <a href="http://agreste.agriculture.gouv.fr">http://agreste.agriculture.gouv.fr</a> ). ....	23
Figure 12 : Consommation brocolis et choux fleur par an par personne (Tiré de Agreste, <a href="http://agreste.agriculture.gouv.fr">http://agreste.agriculture.gouv.fr</a> ) ....	27
Figure 13 : Part d'agriculture biologique des productions végétales (Tiré de Agreste, <a href="http://agreste.agriculture.gouv.fr">http://agreste.agriculture.gouv.fr</a> ). ....	28
Figure 14 : Structures chimiques de quelques polyphénols du groupe des flavonoïdes sensu lato.....	34
Figure 15 : Structure de quelques caroténoïdes.....	37
Figure 16 : Structure basique des glucosinolates et exemples des 3 principaux types. ....	38
Figure 17 : Structures des principaux glucosinolates du brocoli. ....	40
Figure 18 : Réaction d'hydrolyse des glucosinolates par la myrosinase et formation des métabolites (Tiré de Kleinwächter M et Selmar D, 2004). ....	41
Figure 19 : Formation du sulforaphane par hydrolyse enzymatique de la glucoraphanine. ....	41
Figure 20 : Schéma d'une structure 3D de myrosinase de graines de Sinapis alba (Tiré de João Diogo Cristóvão Pinto de Castelo-Branco, 2010). ....	42
Figure 21 : Schéma de l'hydrolyse des glucoraphanines par la myrosinase et L'ESP (Tiré de Matusheski NV et al., 2004). ....	45
Figure 22 : Effets du sulforaphane sur l'activation de Nrf2 (Tiré de Vazquez-Prieto MA et Miatello RM, 2010). ....	48
Figure 23 : Schéma des étapes de la cancérogénèse (Tiré du rapport d'expertise collective de l'Anses, 2011). ....	53
Figure 24 : Structure de l'indole-3-carbinol. ....	60
Figure 25 : Fiche de recommandations thérapeutique pour la prise en charge de l'infection à Helicobacter pylori mise à la disposition des médecins généralistes (Tiré de GEFH, <a href="http://www.helicobacter.fr">http://www.helicobacter.fr</a> ). ....	73
Figure 26 : Propriétés potentielles du sulforaphane des pousses de brocolis expliquant son intérêt dans la prise en charge du diabète de type 2 (Tiré de Bahadoran et al., 2013). ....	83
Figure 27 : Le contenu en aliphatique total et indole glucosinolates dans le brocoli cuit par différentes méthodes : chaque valeur est la moyenne de trois échantillons répétés (Tiré de de Yuan G et al.).....	93
Figure 28 : Extrait de brocoli Solgar®. ....	98
Figure 29 : Prostaphane® (Tiré de Prostaphane®, <a href="http://www.prostaphane.fr">http://www.prostaphane.fr</a> ). ....	98

## LISTE DES TABLES

Tableau 1 : Insectes nuisibles à la culture du brocoli (Tiré de Agri Life communications, <a href="http://aggie-horticulture.tamu.edu">http://aggie-horticulture.tamu.edu</a> ).....	25
Tableau 2 : Glucosinolates présents dans le brocoli (Tiré de Latté KP et al., 2011). .....	39
Tableau 3 : Liste des méthodes utilisées pour analyser les glucosinolates et leurs métabolites (Tiré de Moreno DA et al., 2006).....	46
Tableau 4 : Glucosinolates identifiés dans le brocoli ( <i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>italica</i> cv. Youxiu) (Tiré de Yuan G et al., 2009). .....	92

## INTRODUCTION

Le brocoli, *Brassica cretica* ou *Brassica oleracea* var *italica*, est une variété de choux provenant du sud de l'Europe. Régulièrement consommé de nos jours, il serait originaire d'Italie et aurait été créé par les Romains à partir de choux sauvages. Le brocoli fait partie de l'embranchement des Angiospermes. C'est un groupe immense comprenant 266 800 espèces connues groupées en 410 familles réparties en 63 ordres.

Le Brocoli appartient à l'importante famille des Brassicaceae (brassicacées), appelée ainsi depuis 1835 par G.T. Burnett, qui regroupe plus de 4100 espèces.

Sa consommation française est d'environ 500 grammes par personne et par an. Près d'un ménage sur 3 en achète au moins une fois dans l'année. Consommé sous différentes formes, vapeur, gratins, soupes avec de nombreuses possibilités de modes de cuisson, le brocoli est un aliment contenant de nombreux composés bénéfiques pour la santé. A noter que certains des modes de cuisson seraient favorables à la conservation des composés du brocoli.

Outre ses vertus alimentaires, le brocoli a toujours eu pour réputation des effets bénéfiques pour la santé. En effet, celui-ci, peu énergétique, est composé en majorité d'eau mais est également très riche en micronutriments tels que les vitamines et les minéraux. Le brocoli est également composé de nombreux métabolites tels que des polyphénols, des caroténoïdes et des molécules soufrées.

L'objectif de cette étude bibliographique est de décrire les divers effets bénéfiques de certaines de ces molécules soufrées, le sulforaphane en particulier, sur l'homme. Après un rappel sur l'origine du brocoli et de sa composition, seront étudiés les effets du sulforaphane, métabolite aux multiples propriétés. En effet, il serait responsable de mécanismes de protection contre la neurodégénérescence, les cancers, les infections à *Helicobacter Pylori*, l'arthrose et dans les maladies cardiovasculaires.

# I. La plante et son utilisation alimentaire

## I.A La Plante

### I.A.1 Origine et histoire du brocoli

Le brocoli est une variété de chou provenant du sud de l'Europe. On en consomme les inflorescences charnues qui ressemblent à des petites pommes vertes.

Le brocoli (*Brassica cretica* Lam.) serait originaire d'Italie. C'est en référence à sa forme de petit arbre « *braccium* » (branche, bras), que le nom de brocoli lui a été donné. Il aurait été créé par les Romains au XVI<sup>ème</sup> siècle à partir des plus beaux spécimens de choux sauvages venant de Chypre et de Grèce (Larousse agricole, 2002).

Le brocoli n'est donc qu'un lointain descendant du chou sauvage. Ce dernier date de l'antiquité et a ensuite été oublié pendant des siècles.

Le brocoli, très apprécié des Italiens et originaire de Calabre, a été popularisé par Catherine de Médicis pendant la renaissance : elle le surnommait « l'asperge Italienne » (Gigon F, 2009).

Les anglais ont commencé à le consommer au XVIII<sup>ème</sup> siècle alors que les Américains ont attendu encore un siècle. Cultivé en Europe depuis le XVII<sup>ème</sup> siècle, il n'a été introduit que très tard en France. En effet les exploitations en Bretagne n'ont commencé qu'en 1980 (INTERFEL, <http://www.lesfruitsetlegumesfrais.com>).

Depuis l'antiquité, le chou a toujours eu une réputation en médecine. A cette époque, le chou vert (*Brassica oleracea*) était utilisé comme un médicament. C'est l'un des plus vieux légumes connus et selon la mythologie grecque, la plante naquit de la transpiration de Zeus. Dans la Grèce antique, les futures mères consommaient du chou avant d'accoucher pour s'assurer d'avoir un allaitement suffisant et régulier alors que les Romains l'utilisaient comme antidote, notamment avec l'alcool et appliquaient les feuilles sur les blessures à des fins antiseptiques. Une ancienne utilisation était l'application de feuilles de chou comme cataplasmes sur les articulations douloureuses car elles augmentaient le flux de sang dans la zone irritée et donc favorisaient l'évacuation des déchets.

De nos jours, il a été découvert que les effets du brocoli, partagés par d'autres membres de la famille des Brassicacées (chou, navet, colza, moutarde, raifort, cresson...) viennent de molécules en particulier, les glucosinolates. Ce sont des composés soufrés qui ont une saveur plus ou moins âcre et donnent leur goût particulier aux préparations culinaires. Les effets des métabolites des glucosinolates, notamment le sulforaphane, seront étudiés dans la partie III

(Encyclopédie des plantes médicinales : identification, préparations, soins, 1997).

## **I.A.2 Taxonomie et description botanique de *Brassica cretica* Lam.**

### ***I.A.2.A Taxonomie du Brocoli***

Le brocoli a pour nom latin *Brassica oleracea* var. *italica*. Ce nom a été donné par Joseph Jacob Plenck (1735-1807) en 1794. (Plenck Icon. Pl. Med. 6 : 29, t534, 1794)

Groupe : Dicotylédones

Classe : Eudicots

Sous-classe : Rosidées (groupe des Eurosidiées II)

Ordre : Brassicales

Famille : Brassicaceae

Genre : Brassica

Espèce : *Brassica cretica* (nom accepté depuis 2012, anciennement *Brassica oleracea* var. *italica*) (The plant list. <http://www.theplantlist.org>) (Missouri Botanical Garden, <http://www.tropicos.org>).

### ***I.A.2.B Description botanique du brocoli***

#### **I.A.2.B.1 Introduction sur la classification du brocoli**

Le brocoli fait partie de l'embranchement des Angiospermes.

Les Angiospermes, par rapport aux Gymnospermes, sont fondamentalement définis par trois caractères :

- Les organes reproducteurs sont regroupés en fleurs bisexuées.
- Les écailles ovulifères ou carpelles (du grec *karpos* : fruit) forment un ovaire entourant complètement les ovules d'où le nom d'Angiospermes donné à l'embranchement (du grec *aggeion*, petite urne) et, après la fécondation, se transforment en fruit.
- Le gamétophyte femelle, situé dans l'ovule et appelé sac embryonnaire, est le siège d'une double fécondation, l'une, classique, à l'origine de l'embryon, l'autre à l'origine de l'albumen, tissu de réserve des graines (Dupont F et Guignard JL, 2015).

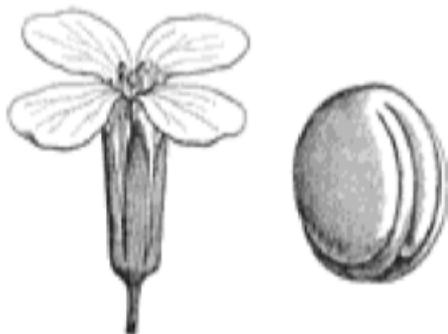
Les Brocolis sont ensuite des Rosidées, puis appartiennent aux Brassicales à l'intérieur des Eurosidiées II. Les Eurosidiées II sont composés des Brassicales, des Malvales et des Sapindales puis des Myrtales (Dupont F et Guignard JL, 2015).

#### **I.A.2.B.2 Caractéristiques principales des Brassicacées.**

Les brocolis font partie de la famille des Brassicacées, positionnée taxonomiquement dans l'ordre des Brassicales.

L'importante famille des Brassicaceae, appelée ainsi depuis 1835 par G.T. Burnett (Missouri Botanical Garden, <http://www.tropicos.org>), regroupe plus de 4100 espèces. Ce sont pour la plupart, des plantes herbacées surtout présentes dans l'hémisphère nord à l'état sauvage ou cultivées. La Bourse-à-pasteur (*Capsella bursa-pastoris*) est l'une des rares espèces vraiment cosmopolite (Botineau M, 2010).

Cette famille peut se distinguer par ses fleurs (figure 1). En effet, ses fleurs sont composées de quatre pétales disposés en croix d'où le nom de fleurs cruciformes. C'est pour cela que la famille des Brassicacées s'appelait autrefois la famille des crucifères (*Cruciferae* A.L. de Jussieu 1789) : cela vient du latin « *crucem ferre* » qui signifie porter une croix (Botineau M, 2010).



*Figure 1 : Fleur de Brassica nigra et embryon (Tiré de Botineau M, 2010).*

## Description des plantes de la famille des Brassicacées.

### - Description de l'appareil végétatif :

La plupart d'entre elles sont des herbes, annuelles (Moutarde, Bourse-à-pasteur), bisannuelles (chou), plus rarement vivaces (giroflée). Ce sont parfois des arbrisseaux et exceptionnellement des arbres (Botineau M, 2010).

Les feuilles sont alternes, sans stipules, isolées et simples. Ces feuilles sont caractérisées par une forte teneur en molécules soufrées venant de l'hydrolyse des hétérosides soufrés.

### - Description de l'appareil reproducteur :



*Figure 2 : Diagramme des fleurs de Brassicacées (Tiré de Guibourt N, 1876).*

Les fleurs se caractérisent par une disposition en épis ou en grappes simples ou paniculées. Comme le montre la figure 2, la formule de cette fleur est :  $(2+2) S + 2X2P + (2+2X2) E + 2C$ .

Le calice est constitué de quatre sépales libres, exceptionnellement partiellement soudés. Deux d'entre eux, sur les parties externes, sont dits placentaires car ils répondent aux sutures du fruit et aux trophospermes (partie interne du péricarpe sur laquelle les graines sont attachées). Alors que les deux autres, à l'intérieur sont dits latéraux ou valvaires, c'est-à-dire opposés aux valves du fruit.

La corolle est constituée de 4 pétales libres en croix, d'où le nom de crucifères. Ils sont insérés sur le réceptacle, alternes avec les sépales.

L'androcée est constituée de six étamines, dont quatre sont plus longues que les autres et semblent les dominer. Elles fondent la tétradynamie de Linné (« *dunamis* » du grec, la force).

Le pistil est constitué de deux carpelles surmontés de deux stigmates répondant au trophosperme. Ces deux carpelles, soudés par leurs bords, forment un ovaire biloculaire.

Le fruit offre une multitude de variations : c'est une silique (Figure 3) ou une silicule (Figure 4). La silique est plus longue que large alors que la silicule est plus large que longue. Le fruit renferme les graines qui sont attachées vers l'extérieur sur les deux bords du fruit. Le fruit est généralement séparé en deux parties par une fausse cloison membraneuse formée par les placentas proéminents et soudés (Guibourt N, 1876).

- Silicule latiséptée : le fruit est comprimé parallèlement à la fausse cloison qui est alors très large. Exemple : *Lunaria annua*, la Monnaie du Pape.
- Silicule angustiséptée : le fruit est comprimé perpendiculairement à la fausse cloison qui est étroite. Exemple : *Capsella bursa-pastoris*, La Bourse à Pasteur.

(Botineau M, 2010)

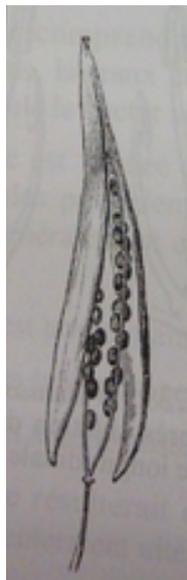


Figure 3 : Silique de Brassica  
(Tiré de Botineau M, 2010).

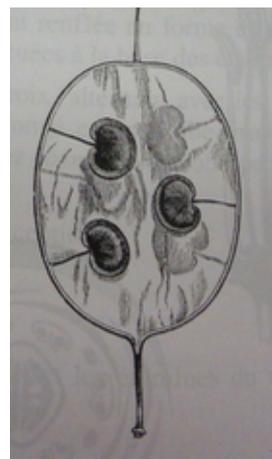


Figure 4 : Silicule latiséptée de Lunaria annua  
(Tiré de Botineau M, 2010).

Les graines sont sans albumen et ont des embryons volumineux dont les cotylédons sont repliés de façons diverses. Il y a donc différents types de graines permettant de classer ces plantes en différents genres.

Les cotylédons et la radicule : La plantule est extrêmement développée et les cotylédons sont épais. Elle est contournée ou repliée sur elle-même de façons diverses.

Les divers organes, et surtout la graine, contiennent des cellules spéciales à myrosine (Guignard L, 1922).

Une grande partie des plantes de cette famille sont comestibles :

- Par leurs feuilles comme le chou et le cresson,
- Par leurs bourgeons axillaires comme les choux de Bruxelles,
- Par leur tige, par leur racine comme le navet ou le radis noir,
- Par leurs inflorescences comme le brocoli ou le chou fleur.

D'autres servent de condiments comme le raifort ou la moutarde.

D'autres encore sont cultivées pour leur graines oléagineuses comme le colza, la navette ou encore la cameline.

Certaines d'entre elles ont des propriétés antiscorbutiques, stimulantes et dépuratives.

La plupart de ces plantes sont donc comestibles, il y a également une forte proportion de plantes ornementales comme la Monnaie du Pape, la corbeille d'argent (Plante et botanique, <http://www.plantes-botanique.org>).

### **I.A.2.B.3 Caractères communs aux espèces du genre *Brassica***

Toutes les plantes appartenant à cette famille ont des fleurs jaunes ou blanches. Le calice a quatre sépales et la corolle a quatre pétales à lames entières. Les stigmates sont entièrement rassemblés en une masse formant un disque. La silique, allongée, linéaire-cylindrique, la plupart du temps comprimée par le côté, s'ouvre par deux valves longitudinales convexes et porte au milieu une nervure saillante. La silique a également des veines anastomosées sur le côté et les graines sont disposées sur une série. Les cotylédons sont condupliqués c'est-à-dire repliés sur eux-mêmes et renferment la radicule ascendante (Guibourt N, 1876). Quelques espèces du genre : Choux, moutarde noire, roquette sauvage.

#### **I.A.2.B.4 Caractères communs à l'espèce du genre *Brassica oleracea*.**

Cette espèce est très connue grâce à son utilisation comme aliment. Cependant, comme elle est cultivée depuis des siècles, elle a un nombre élevé de variétés donc il est difficile de les différencier et d'en donner les caractéristiques. De part ce nombre élevé de variétés, *Brassica cretica* a été individualisée récemment de la grande espèce *Brassica oleracea*, dont elle était l'une des variétés. On peut dire que le chou cultivé est muni d'une racine caulescente et charnue qui donne naissance à une tige rameuse, glabre, d'une hauteur de 35 cm à 2 m. Cette tige est garnie de feuilles glabres d'un vert glauque dont la partie inférieure est ample, pétiolée, plus ou moins sinueuse alors que la partie supérieure est plus petite. Les fleurs sont assez grandes, jaunes ou presque blanches et sont visibles d'avril à juillet. Elles sont disposées en grappes lâches et terminales. Les siliques sont quasiment cylindriques. Ce sont des plantes bisannuelles, pérennantes, ou encore vivaces (Guibourt N, 1876). Exemples : Chou de Bruxelles, brocoli, chou-fleur, chou rave.

#### **I.A.2.B.5 Caractères spécifiques du Brocoli : *Brassica cretica* Lam.**

Les pédoncules floraux, étant gorgés de sucs, se déforment et deviennent charnus, se rapprochent et se soudent pour former des corymbes assez réguliers. Ces pédoncules, modifiés par la culture, sont cueillis avant le développement des fleurs (figure 5 et figure 6) et en font un aliment assez recherché par l'homme.

Les brocolis diffèrent du chou-fleur par une tige plus élancée, par des feuilles à nervures moins saillantes et, surtout, par ses pédoncules plus écartés et plus longs qui se terminent chacun par un petit bouton de manière à figurer une asperge naissante (Rodet H, 1872).



*Figure 5 : Inflorescences de brocoli (Tiré de Missouri Botanical Garden, <http://www.tropicos.org>).*



*Figure 6 : Brocoli en fleur (Tiré de Missouri Botanical Garden, <http://www.tropicos.org>).*

### **I.A.3 Description du brocoli : différents noms et différentes variétés.**



*Figure 7 : Brocoli dans une culture.*

- En France on le nomme : Brocoli, Broccoli, chou brocoli, chou calabrais, asperge italienne (Gigon F, 2009).
- En Angleterre et aux Etats-Unis : Asparagus broccoli, Italian broccoli, sprouting broccoli.
- En Espagne : Brócoli.
- En Chine : Iu hua cai.

(Missouri Botanical Garden, <http://www.tropicos.org>)

Le brocoli fait partie de la famille des choux, et son cousin proche est le chou-fleur. Ils sont caractérisés par leur couleur verte comme on le voit dans la figure 7.

Il existe plusieurs variétés d'après la fondation Louis Bonduelle :

- Le brocoli à pomme, très répandu en Italie et dans le Sud de la France. C'est lui qui ressemble le plus au chou-fleur :



*Figure 8 : Brocoli à pomme.*

- Le brocoli à jets, le plus courant : les boutons sont au bout de longues tiges comme les asperges :



*Figure 9 : Brocoli à jets.*

- Le Chou Romanesco, qui semble sculpté tant son dessin est magnifique. Il est très répandu en Italie. Les bouquets se détachent et se cuisent à l'eau ou à la vapeur. Les tiges s'épluchent comme des asperges et se consomment de même.



*Figure 10 : Choux Romanesco.*

- Le brocoli calabrais est le plus connu et consommé au Canada, constitué d'une tige principale ferme surmontée de bouquets verts (Fondation Louis Bonduelle, <http://www.fondation-louisbonduelle.org>).

Les variétés de brocolis sont classées différemment selon Gerbeaud :

- Les brocolis annuels précoces (récolte de mai à novembre selon les variétés), verts, produisant une grosse pomme, suivie de rejets latéraux plus petits. Les variétés ont différents noms comme « Verdia », « Gengi », « De Cicco », « Belstar », « Chevalier », « Marathon », « Samson », « Green Valiant ».
- Les brocolis à jets, souvent cultivés comme des bisannuels, ne produisant pas de grosse pomme mais des jets (bouquets plus petits mais bien fournis), à partir de chaque feuille. La récolte s'étend alors d'octobre à juin de l'année suivante. Il existe aussi différentes variétés « Vert Calabrais », « Blanc Hâtif », « Bordeaux », « Getti di Napoli » ...

Le chou romanesco est souvent classé parmi les brocolis, mais on le considère parfois comme une variété de chou-fleur (Gerbeaud.com, <http://www.gerbeaud.com>).

## I.A.4 Culture du brocoli et sa récolte

### I.A.4.1 La Culture du brocoli

#### I.A.4.1.1 Répartition des cultures en France

Les conditions de culture du brocoli sont très similaires à celles du chou-fleur, c'est pour cela que son implantation, en 1980 en Bretagne, fut rapide. La Bretagne est sa région principale de production car le climat est idéal pour sa croissance : doux et humide, il permet une croissance optimale avec une excellente qualité.

Il est cultivé à une densité de 30 à 60000 plantes par hectare après un élevage en mini mottes le plus souvent (Larousse agricole, 2002).

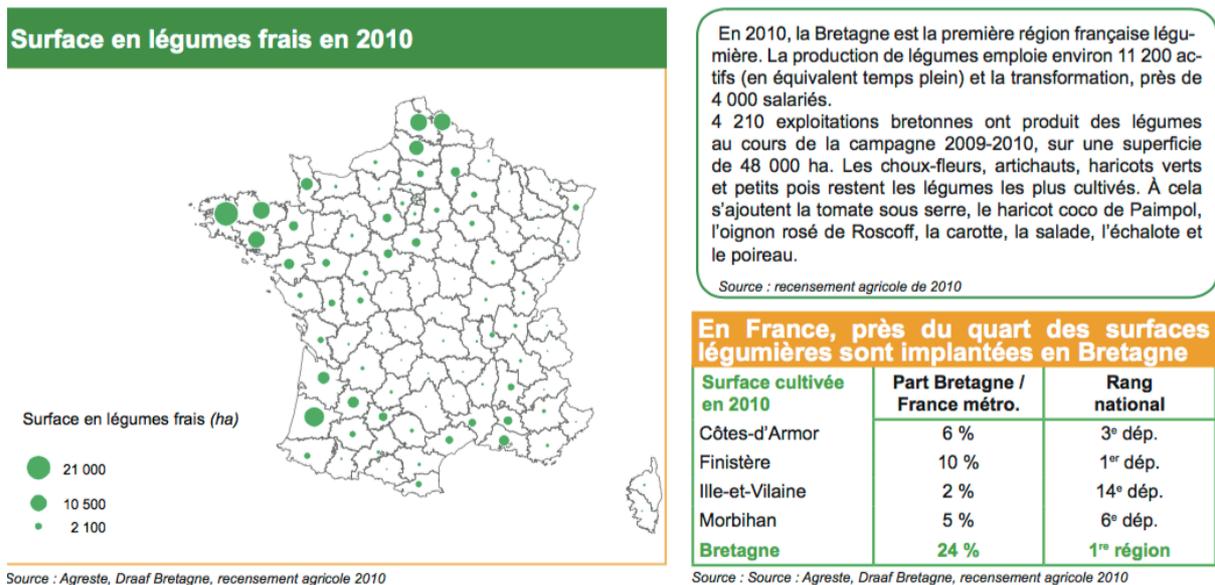


Figure 11 : Répartition des cultures en France (Tiré de AGRESTE, <http://agreste.agriculture.gouv.fr>).

Cette carte de France (figure 11) montre bien l'implantation de la culture des légumes frais en Bretagne. Cela constitue une source de revenus pour les bretons car ces cultures nécessitent des emplois, non seulement pour la culture mais aussi pour la transformation et la vente ou l'exportation. Le brocoli est donc cultivé en France et aujourd'hui il est aussi cultivé dans beaucoup d'autres pays comme il sera vu par la suite en I.A.5.

#### **I.A.4.1.2 Culture du brocoli ainsi que les maladies et nuisibles à éviter**

Le brocoli est une plante bisannuelle. Il apprécie les sols frais comme nous l'avons vu précédemment, profonds et argileux.

Les semis se font fin mai / début juin en pépinière de manière très clairsemée. Les semis de mai seront récoltés en octobre-novembre, ceux de juin bien au-delà de novembre. Dès que les plants ont 4-5 feuilles, on les repique directement dans la terre. Il faut récolter le brocoli avant que la fleur ne s'ouvre. Pendant la saison, il faut que le sol soit humide.

Il faut prévenir les attaques bactériennes : *Xanthomonas campestris* et *Pseudomonas syringae* qui sont très redoutables peu de temps avant la récolte. Il faut également se méfier de l'attaque du mildiou et de la hernie du chou (Fondation Louis Bonduelle, <http://www.fondation-louisbonduelle.org>).

Cependant, lorsqu'une plante de la famille des *Brassicaceae* héberge *Xanthomonas campestris*, cela peut être utile car la bactérie élabore, à partir du tissu végétal, un exsudat gommeux, la « gomme » xanthane qui est un dérivé de polysaccharide. Cette gomme est récoltée industriellement et utilisée pour sa viscosité constante, sa résistance aux enzymes dans l'industrie alimentaire, comme stabilisant et gélifiant dans les desserts lactés, les conserves, ainsi que dans l'industrie de peintures, cirages, imprimerie, textiles ... (Botineau M, 2010).

Des insectes peuvent également nuire à la culture du brocoli (Tableau 1) :

Tableau 1 : Insectes nuisibles à la culture du brocoli (Tiré de Agri Life communications, <http://aggie-horticulture.tamu.edu>).

Nom de l'insecte et description		Insecticides
<p>Les pucerons</p> 	<p>3 mm de long. Verts, roses, rouges, bruns ou bleu poudré. Présents surtout sur la face inférieure des feuilles. Sucent les jus des végétaux. Parfois recouverts de cire blanchâtre.</p>	<p>Malathion (interdit depuis 2008) Extrait de jus d'ail Pyréthrines, azadirachtine</p>
<p>L'arlequin de Cayenne</p> 	<p>Adulte et nymphe sur feuilles. Noir et jaune. Ressemble à bouclier et suce le jus des plantes.</p>	<p>Sevin® (carbaryl) Extrait de jus d'ail Pyréthrines, azadirachtine</p>
<p>La chenille fausse-arpenteuse du chou</p> 	<p>Peut mesurer jusqu'à 3,8cm de long, vert pale avec bande de lumière le long du dos. Mâche les feuilles.</p>	<p>Bacille de Thuringe Extrait de jus d'ail Pyréthrines</p>
<p>La piéride du chou +++</p> 	<p>Peut mesurer jusqu'à 3,2cm de long. Vert foncé avec 3 petites bandes d'or sur le dos. Fait des trous dans les feuilles.</p>	<p>Bacille de Thuringe Spinosad Extrait de jus d'ail Pyréthrines</p>

Comme vu précédemment, le brocoli peut donc être confronté à des nuisibles et des maladies dont les chenilles et les pucerons (deux insectes qui vont sucer la sève des feuilles) ainsi que le mildiou. Le mildiou est un champignon qui se développe lorsque le terrain est trop humide, avec apparition de taches brunes sur les feuilles : pour y faire face, il faut couper ces feuilles

brunes puis pulvériser de la bouillie Bordelaise.

Ces maladies et ces nuisibles engendrent par la suite un ralentissement de la croissance de la plante, pouvant même entraîner la mort de cette dernière. Pour éviter cela, il est conseillé d'espacer les plantes d'une cinquantaine de centimètres et de laisser un mètre entre les rangées pour aérer le feuillage. De plus, il est préférable de faire une rotation des cultures chaque année (Fondation Louis Bonduelle, <http://www.fondation-louisbonduelle.org>).

#### ***1.A.4.2 La récolte du brocoli***

Le brocoli est récolté à la main, quatre mois après avoir planté les semis, avant que les inflorescences ne s'ouvrent et se parsèment de petites fleurs jaunes, entre avril et novembre. Il est récolté avec un talon de 15 à 18 cm et totalement effeuillé. Le rendement de la récolte varie de 8 à 20 t/ha. Souvent présenté sous film de polypropylène rétractable, il est réfrigéré par froid humide puis maintenu à basse température jusqu'au point de vente. Les boutons floraux continuant d'évoluer en fleurs après la récolte, il faut respecter la chaîne de froid pour retarder leur jaunissement. Il est également commercialisé en surgelé (Larousse agricole, 2002).

Il est conseillé de couper les têtes du centre en premier dès que la fleur jaunie légèrement puis de laisser les jeunes pousses pour la récolte suivante (Agri life communications, <http://aggie-horticulture.tamu.edu>).

Il est noté que, du fait de la composition en soufre et d'une quantité notable d'azote dans les diverses parties des brocolis, ils se décomposent après la récolte et répandent une odeur ammoniacale très prononcée (Rodet H, 1872).

#### **1.A.5 Economie**

La Chine est le premier producteur mondial suivi de l'Inde et de l'Espagne (AGRESTE 2011). La production en Europe est de 2,2 millions de tonnes (Eurostat - Moyenne 2009-2014). L'Espagne devance l'Italie puis vient la France en 3<sup>ème</sup> position Européenne. La France produit 22000 tonnes de Brocolis par an (Agreste - Moyenne 2010-2014) dont 83% en Bretagne. La consommation est d'environ 500 grammes par personne et par an. Près d'un ménage sur 3 en achète au moins une fois dans l'année (ctifl 2010).

Les récoltes et la commercialisation des légumes de saison de l'été 2016 ont été entravées par la douceur de l'hiver. Pourtant la météo de l'été 2015 avait été favorable au démarrage de la production des légumes d'hiver.

En effet pendant cet hiver, les précipitations étaient proches des normales de saison mais avec des températures en augmentation de 2,6 degrés Celsius par rapport aux normales. De part cette douceur, la demande en légumes traditionnellement consommés durant cette période a diminué, et la précocité des récoltes de certains produits ont créé un déséquilibre des marchés.

Cependant, comme l'ont montré les chiffres de production de la fin avril 2016, le chiffre d'affaire national cumulé de la plupart des légumes a augmenté sur 1 an et présente la valeur la plus élevée par rapport à la moyenne des 5 dernières années sauf pour la carotte et surtout pour la laitue, toutes deux en recul sur 5 ans (Agreste, <http://agreste.agriculture.gouv.fr>).

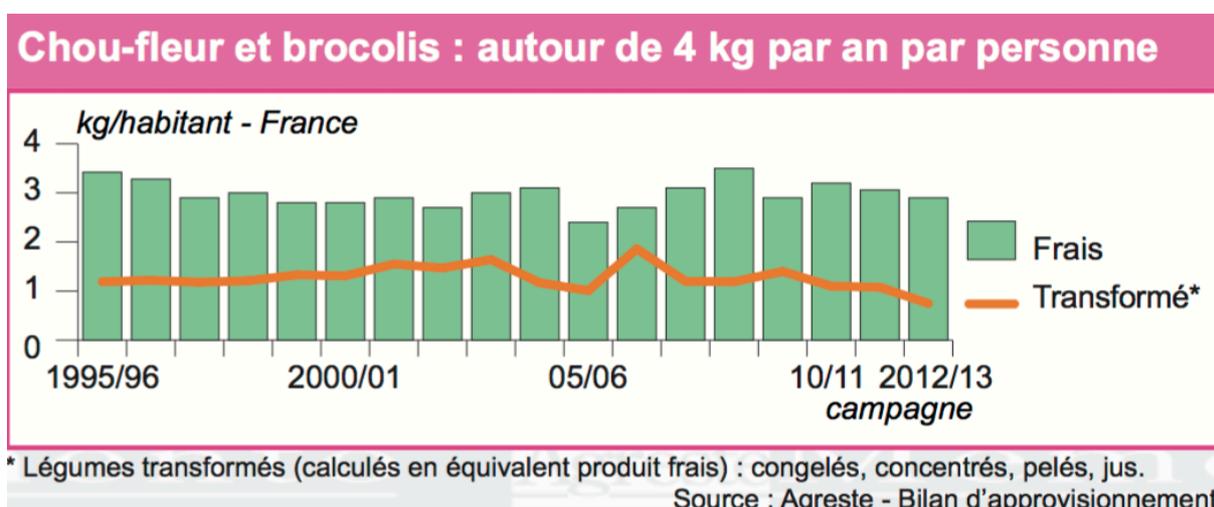


Figure 12 : Consommation brocolis et choux fleur par an par personne (Tiré de Agreste, <http://agreste.agriculture.gouv.fr>).

La figure 12 montre que la consommation de ce légume est stable de 1995 à 2013, même s'il y a un biais car elle met en commun la consommation du brocoli avec celle du chou fleur alors que le chou-fleur est d'avantage consommé en France. Il sera montré plus tard qu'il est bénéfique d'en consommer régulièrement.

<b>Les signes de qualité</b>			
Télécharger les données au format tableur			
<b>L'agriculture biologique en 2014</b>			
	Exploitations certifiées	SAU bio (millier d'ha)	SAU bio (part %)
<b>Ensemble<sup>1</sup></b>	<b>26 470</b>	<b>1 118</b>	<b>4,1</b>
<b>Productions végétales</b>	Exploitations (nombre)	Surface bio <sup>2</sup> (millier d'ha)	(part %)
Grandes cultures <sup>3</sup>	9 830	231	1,9
dont céréales	9 379	175	1,8
oléagineux	2 225	32	1,4
protéagineux	1 873	17	7,7
Total surfaces fourragères	17 081	720	5,8
dont fourrage <sup>3</sup>	12 946	310	6,5
surface toujours en herbe	12 624	410	5,4
Légumes frais et secs	6 528	18	4,5
Fruits	7 152	29	14,7
Vigne	5 081	66	8,4
Plantes à parfum, aromatiques et médicinales	1 912	5	13,2
Autres	12 254	50	4,4

Figure 13 : Part d'agriculture biologique des productions végétales (Tiré de Agreste, <http://agreste.agriculture.gouv.fr>).

1. Une exploitation certifiée bio peut produire des cultures différentes
  2. Surface bio et surfaces en conversion
- SAU : surface agricole utile

Les chiffres de la figure 13 montrent que l'agriculture biologique des légumes frais et secs a aussi son poids dans la part de marché car elle représente 4,5% de la surface agricole utile.

## I.B Utilisation alimentaire

### I.B.1 Quelques recettes à base de Brocoli

#### I.B.1.1 Bien choisir un brocoli et bien le conserver avant de le cuisiner

Tout d'abord, il serait conseillé de choisir le brocoli avec des tiges fermes et une tête compacte. Si les fleurs sont jaunissantes c'est le signe qu'il n'est pas de première fraîcheur et qu'il aura une saveur amère. Les tiges se consomment. Il faut les peler et les couper dans le sens de la longueur pour qu'elles mettent le même temps à cuire que les têtes.

On fait généralement trop cuire le brocoli, qui devient pâteux, peu appétissant, et perd certaines de ses propriétés. Comme on le verra dans cette étude par la suite il vaut mieux le cuire de préférence à la vapeur en lui laissant du croquant. Il sera ainsi meilleur et plus riche en nutriments. Le brocoli à fleurons rouges perd sa couleur à la cuisson. Si on tient à la couleur, on le servira cru.

Le rapini (ou brocoli italien) se consomme avec ses tiges et ses feuilles et n'exige qu'une très courte cuisson.

Du point de vue de la conservation, le brocoli peut rester quatre ou cinq jours dans le bac à

légumes du réfrigérateur. Pour le congeler, si besoin, il faut le blanchir cinq minutes à l'eau bouillante puis le refroidir à l'eau glacée et l'égoutter puis le mettre dans des sacs à congélation. Tout comme le chou, il peut être transformé en choucroute. Il faut utiliser les tiges plutôt que des têtes et les émincer finement.

### ***1.B.1.2 Recettes avec du brocoli.***

- gratin de brocolis : 20 min de préparation et 45 min de cuisson.

Ingrédients (pour 3 personnes) : 2 œufs, 2 tranches de jambon dégraissé, 15 cl de crème fraîche, 100 g de fromage râpé, sel, poivre, noix de muscade, un oignon, 2 gousses d'ail, un petit peu d'huile, 300 g de brocolis, chapelure.

Préparation : Faire bouillir un fond d'eau légèrement salée dans une grande casserole.

Plonger les brocolis, couvrir et laisser cuire à feu doux. Battre les 2 œufs dans un grand bol, ajouter la crème, le sel, le poivre et la noix de muscade. Mélanger.

Ajouter les 2 tranches de jambon préalablement coupées en petits morceaux ainsi que le tiers du fromage râpé. Mélanger le tout.

Lorsque les brocolis sont tendres, les égoutter le plus possible.

Préchauffer le four (180°C). Faire chauffer un fond d'huile dans la casserole et y mettre l'oignon haché grossièrement. Faire revenir à feu très doux et ne pas faire brunir !

Y ajouter les deux gousses d'ail pressées et les brocolis. Assaisonner légèrement et bien mélanger.

Verser le contenu de la casserole dans un plat à gratin. Bien étaler. Verser le mélange d'œufs, étaler le tout de façon uniforme.

Saupoudrer de chapelure et du restant de gruyère râpé. Mettre le plat au four, toujours sur 180°C et laisser cuire pendant entre 30 et 45 min (Marmiton, <http://www.marmiton.org>).

- Soupe aux brocolis : 20 min de préparation et 15 min de cuisson

Ingrédients (pour 4 personnes) : 500 g de brocolis, 1 courgette, 2 échalotes, 100 g de carottes, 2 c. à soupe de crème fraîche, 1 cube de bouillon de légumes, 1 c. à soupe de persil frais haché.

Préparation : Lavez les brocolis et détaillez-les en petits bouquets. Epluchez les carottes et

coupez-les en rondelles. Epluchez la courgette et coupez-la en petits morceaux. Pelez l'échalote et ciselez-la finement. Faites bouillir 1 litre d'eau dans une cocotte et plongez le bouillon cube. Dès qu'il est dissout ajoutez les légumes coupés en morceaux, couvrez et laissez cuire à feu vif 10 minutes à l'auto ciseur. Passez ensuite la soupe au mixeur afin de l'homogénéiser, ajoutez la crème fraîche et le persil frais haché (Cuisineaz, <http://www.cuisineaz.com>).

- Poêlée de légumes : 10 min de préparation et 15 min de cuisson

Ingrédients (pour 4 personnes) : 2 carottes, 2 courgettes, 1 brocoli, 200 g d'haricots verts, 1 poivron rouge, 2 gousses d'ail, 1 oignon rouge, 1 c. à soupe d'huile d'olive, 1 marmite de bouillon légumes.

Préparation : éplucher l'ail, l'oignon et les carottes puis couper tous les légumes en julienne sauf le brocoli. Faites chauffer l'huile d'olive dans un wok puis faites rissoler l'ail et l'oignon et y ajouter les légumes. En fin de cuisson, ajouter si vous le voulez le bouillon de légumes (Cuisineaz, <http://www.cuisineaz.com>).

- Brocoli vapeur : 5 min de préparation et 5 min de cuisson

Ingrédients (Pour 2 personnes) : 300 grammes de brocolis.

Préparation : Laver les brocolis et séparer les bouquets. Peler et éliminer la partie fibreuse des tiges et couper celles-ci en petits morceaux. Mettre les morceaux à cuire à la vapeur 5 min et servez les en accompagnement d'un plat après les avoir salés. Ajoutez un filet d'huile d'olive. Cette méthode de cuisson est la meilleure pour conserver les composés bioactifs du brocoli comme il sera vu par la suite en II.D.

## II. Description de la composition chimique du brocoli

### II.A Valeurs nutritives du brocoli

Le brocoli est un aliment contenant de nombreux composés bénéfiques pour la santé comme nous le verrons par la suite, il va être détaillé ci-dessous ses valeurs nutritives venant du site de l'ANSES (Agence nationale de sécurité sanitaire, de l'alimentation et de l'environnement) et plus précisément du tableau de la composition nutritionnelle du brocoli Ciqual 2016 (Anses, <https://pro.anses.fr/tableciqual/index.htm>).

#### Composition établie pour 100 grammes de brocoli cuit :

- **Energie**, règlement UE 1169/2011 : **95,3 kJ/100g**
- **Energie**, règlement UE 1169/2011 : **22,8 kcal/ 100g**
- **Eau** : **92,5 g/100g**
- **Protéines** : **2,1 g/100g**
- **Glucides** : **1,1 g/100g**
- **Lipides** : **0,51 g/100g**
- **Sucres** : **1,1 g/100g**
- **Amidon** : **<0,5 g/100g**
- **Fibres** : **1,5 g/100g**
- **Acides gras saturés** : **0,2 g/100g**
- **Acides gras monoinsaturés** : **0,042 g/100g**
- **Acides gras polyinsaturés** : **0,18 g/100g**
- Acides gras 12 :0, **acide laurique** : **0,002 g/100g**
- Acides gras 16 :0, **acide palmitique** : **0,11 g/100g**
- Acides gras 18 :0, **acide stéarique** : **0,013 g/100g**
- Acides gras 18 :1 9c(n-9), **acide oléique** : **0,035 g/100g**
- Acides gras 18 :2 9c, 12c(n-6), **acide linoléique** : **0,054 g/100g**
- Acides gras 18 :3 9c, 12c, 15c(n-3), **alpha-linolénique** : **0,13 g/100g**
- **Cholestérol** : **0,37 mg/100g**

Ainsi, le brocoli est peu énergétique. Il est composé en majorité d'eau. Nous allons voir par la suite que le brocoli est très riche en micronutriments et microconstituants.

## **II.B Micronutriments**

### **II.B.1 Teneur en vitamines du brocoli :**

- Vitamine E : 0,9 mg/100g
- Vitamine C : 23,9 mg/100g
- Vitamine K : 0,141 mg/100g
- Vitamine B1 ou Thiamine : <0,05 mg/100g
- Vitamine B2 ou Riboflavine : 0,05 mg/100g
- Vitamine B3 ou Niacine : < 0,05 mg/100g
- Vitamine B5 ou Acide pantothénique : 0,22 mg/100g
- Vitamine B6 : < 0,05 mg/100g
- Vitamine B9 ou folates totaux : 0,075 mg/100g
- Bêta-carotène ou Provitamine A : 0,312 mg/100g

Le brocoli est donc riche en vitamine C comme la plupart des Brassica. Le besoin nutritionnel moyen (BNM) étant de 90 mg par jour, avec 100 grammes de brocoli on a 26 % du BNM (Anses, <https://www.anses.fr>).

### **II.B.2 Composition en minéraux du brocoli :**

- Sodium : 39 mg/100g
- Magnésium : 11,2 mg/100g
- Phosphore : 51 mg/100g
- Potassium : 125 mg/100g
- Calcium : 43,3 mg/100g
- Manganèse : < 0,1 mg/100g
- Fer : < 0,1 mg/100g
- Cuivre : < 0,1 mg/100g
- Zinc : < 0,1 mg/100g

- Sélénium : < 2,58 µg/100g
- Iode : < 10 µg/100g

Le brocoli est également riche en minéraux. En effet, avec 100 grammes de brocoli, on atteint environ 5% du BNM en Calcium, 10% du BNM en Cuivre, 7% de l'AS (Apport satisfaisant) en Phosphore... (Anses, <https://www.anses.fr>).

## **II.C Métabolites présents dans le brocoli**

Les fruits et légumes contiennent une grande variété de composés dont la consommation n'est pas indispensable à la vie. Néanmoins, ces agents non-nutritifs, pourraient participer à la prévention des maladies cardiovasculaires et des cancers (voir partie III). Il faut donc encourager la consommation de fruits et légumes. Ce sont des métabolites secondaires synthétisés par les plantes en réponse aux agressions ou aux conditions environnementales, dont certains confèrent leur couleur aux fruits et légumes (anthoxantines jaunes des choux, lutéine jaune du maïs, anthocyanes bleus du raisin, lycopènes rouges des tomates, polyphénols bruns du thé ...), et qui présentent de nombreux effets biologiques. Parmi ceux des brocolis, les plus connus sont les polyphénols, les caroténoïdes et les molécules soufrées (Roberfroid RB, 2011).

### **II.C.1 Polyphénols : Flavonoïdes : flavonols (quercétine, kaempférol en majorité dans le brocoli)**

#### ***II.C.1.1 Introduction***

Les composés phénoliques constituent l'une des principales classes de métabolites secondaires. Ils ont des structures très variées et sont responsables des principales caractéristiques organoleptiques des aliments et des boissons d'origine végétale, en particulier la couleur et le goût. Ils contribuent également aux qualités nutritionnelles des fruits et légumes.

Parmi ces composés, les flavonoïdes constituent l'un des groupes les plus répandus de tous les composés phénoliques de plantes. Ils sont présents chez de nombreux Angiospermes. Jusqu'à présent, plus de 8000 variétés de flavonoïdes ont été identifiés. En 1930, Szent-Györgyi a isolé une nouvelle substance à partir d'oranges et l'a classée comme « vitamine P » car elle réduisait la perméabilité des vaisseaux sanguins, mais, plus tard, il est devenu clair que cette substance n'était pas une vitamine car elle n'était pas essentielle à la vie. On l'a donc nommée

« flavonoïde ». Les polyphénols sont les antioxydants les plus abondants de l'alimentation humaine (Tiwari BK *et al.*, 2013) (Tapas AR *et al.*, 2008).

### II.C.1.2 Structure

Ces composés sont reconnus par leur cycle aromatique qui contient un ou plusieurs groupements hydroxyles. Tous les flavonoïdes contiennent 15 atomes de carbone dans leur noyau basique : deux cycles à six chaînons reliés par une unité de trois atomes de carbone, qui peuvent ou non faire partie d'un troisième cycle. Un classement a été créé en fonction du nombre de cycles phénoliques et des groupements liés à ces cycles.

En effets, 2 groupes de polyphénols existent : les flavonoïdes et les non flavonoïdes (figure 14).

- Tout d'abord, le groupe des flavonoïdes est caractérisé par une structure en C6-C3-C6 comme par exemple les flavones, flavanones, flavonols, dihydroflavonols, flavan-3-ols, isoflavones, anthocyanidols et pro-anthocyanidols.
- Ensuite, le groupe des non-flavonoïdes est classé en fonction du nombre de carbones et comprend des sous-classes comme par exemple les phénols simples, l'acide benzoïque, les tannins hydrolysables, l'acide cinnamique, les coumarines, les benzophénones, les stilbènes, les lignanes, les chalcones, les acétophénones, l'acide phényl acétique (Tiwari BK *et al.*, 2013).

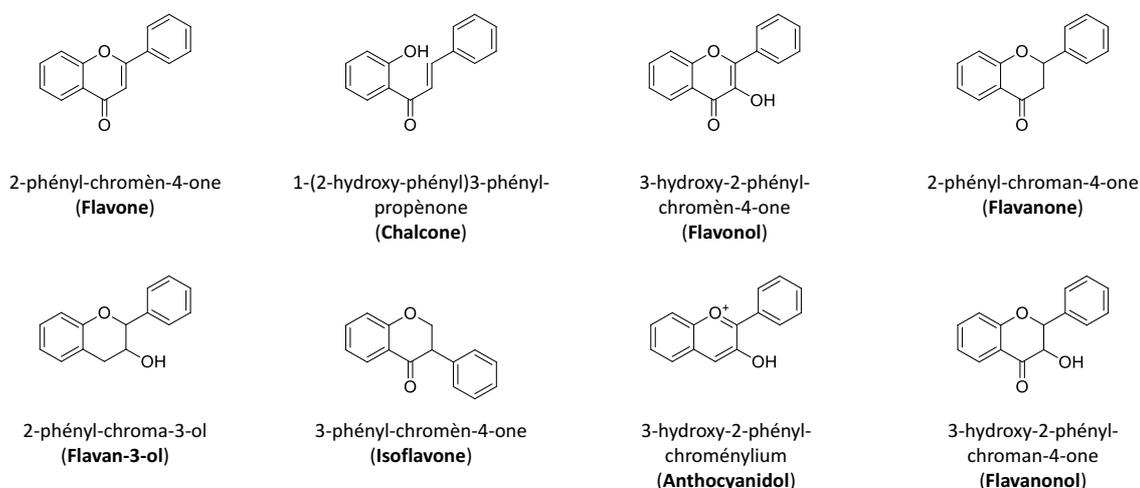


Figure 14 : Structures chimiques de quelques polyphénols du groupe des flavonoïdes sensu lato.

### ***II.C.1.3 Détermination des quantités en flavonoïdes du brocoli.***

Le brocoli cru contient 32 mg/kg de Quercétine et 100 mg/kg de Kaempférol (Encyclopédie des plantes médicinales : identification, préparations, soins, 1997).

L'analyse des flavonoïdes est basée sur la méthode de Merken et Beecher (2000) c'est-à-dire par HPLC (chromatographie en phase liquide à haute performance). Des échantillons de brocolis surgelés (2,0 g) sont mélangés avec 80 ml de méthanol / eau (62,5 : 27,5, v / v) dans un ballon de 500 ml puis les échantillons sont chauffés à reflux avec de l'acide chlorhydrique et il s'en suit de nombreuses étapes avant d'arriver à la teneur en flavonoïdes du brocoli (Koh E *et al.*, 2009).

## **II.C.2 Caroténoïdes : lutéine et bêta-carotène.**

### ***II.C.2.1 Introduction***

Les caroténoïdes sont des pigments naturels liposolubles donnant des couleurs jaunes, oranges ou rouges aux plantes, animaux et micro-organismes. Ils ont des propriétés antioxydantes (Krinsky NI et Yeum KJ, 2003), et d'autres propriétés physiologiques comme l'immunostimulation (McGraw KJ et Ardia DR, 2003). Un grand nombre de données épidémiologiques d'observation suggèrent que des concentrations sanguines plus élevées de  $\beta$ -carotène et d'autres caroténoïdes obtenues à partir d'aliments sont associées à un risque plus faible de plusieurs maladies chroniques (Institute of Medicine, 2000).

### ***II.C.2.2 Structure***

Les caroténoïdes se composent de 40 atomes de carbone (tétraterpènes) avec des doubles liaisons conjuguées (figure 15).

Les caroténoïdes absorbent la lumière bleue et ont deux rôles majeurs dans les plantes et les algues, du fait de leur structure poly-insaturée :

- Ils absorbent l'énergie de la lumière pour produire la réaction de photosynthèse.
- Ils protègent également la chlorophylle et toutes les autres structures cellulaires du photo vieillissement.

Plus de 600 caroténoïdes connus sont classés en 2 familles :

- Les carotènes : composés d'une chaîne hydrocarbonée non oxygénée.
- Les xanthophylles : contenant un groupement oxygène. Les brocolis contiennent deux caroténoïdes appartenant à cette famille : la lutéine et la zéaxanthine.

Tous les caroténoïdes présentent des propriétés antioxydantes. Chez les humains, 4 caroténoïdes (alpha, beta, gamma-carotène et beta-cytoxanthène) sont également des prodrogues de la vitamine A : en effet, les caroténoïdes à structure hexacyclique  $\beta$  (type  $\beta$ -carotène) non substituée sont transformés en deux molécules de rétinol (Vitamine A) au niveau de la muqueuse intestinale (hydrolyse de la liaison 15-15') sous l'influence d'une caroténoïde dioxygénase. Ils sont donc appelés caroténoïdes provitaminiques A. Les gamma- et delta-carotènes ne génèrent qu'une seule molécule de rétinol. A l'inverse, le lycopène, la lutéine et la zéaxanthine n'ont pas d'activité vitaminique A et sont donc appelés caroténoïdes non-provitaminiques A (Tiwari BK *et al.*, 2013).

Certains caroténoïdes comme la lutéine et la zéaxanthine, les seuls présents au niveau de la macula, auraient une action au niveau des yeux. En effet, ces derniers absorbent une partie de la lumière bleue et les rayons proches des UV (ultraviolet) pour protéger la macula. Il se pourrait que ces deux caroténoïdes diminuent le risque de dégénérescence maculaire liée à l'âge qui est la cause la plus courante de cécité irréversible chez les personnes de plus de 65 ans aux Etats-Unis, au Canada et en Europe d'après l'institut de médecine des Etats-Unis (Institute of Medicine, 2000).

Plusieurs études ont montré que les personnes ayant une nourriture riche en caroténoïdes provenant des fruits et légumes sont en meilleure santé et ont une plus faible mortalité avec les nombreuses maladies chroniques (Diplock AT *et al.*, 1998) (Tiwari BK *et al.*, 2013).

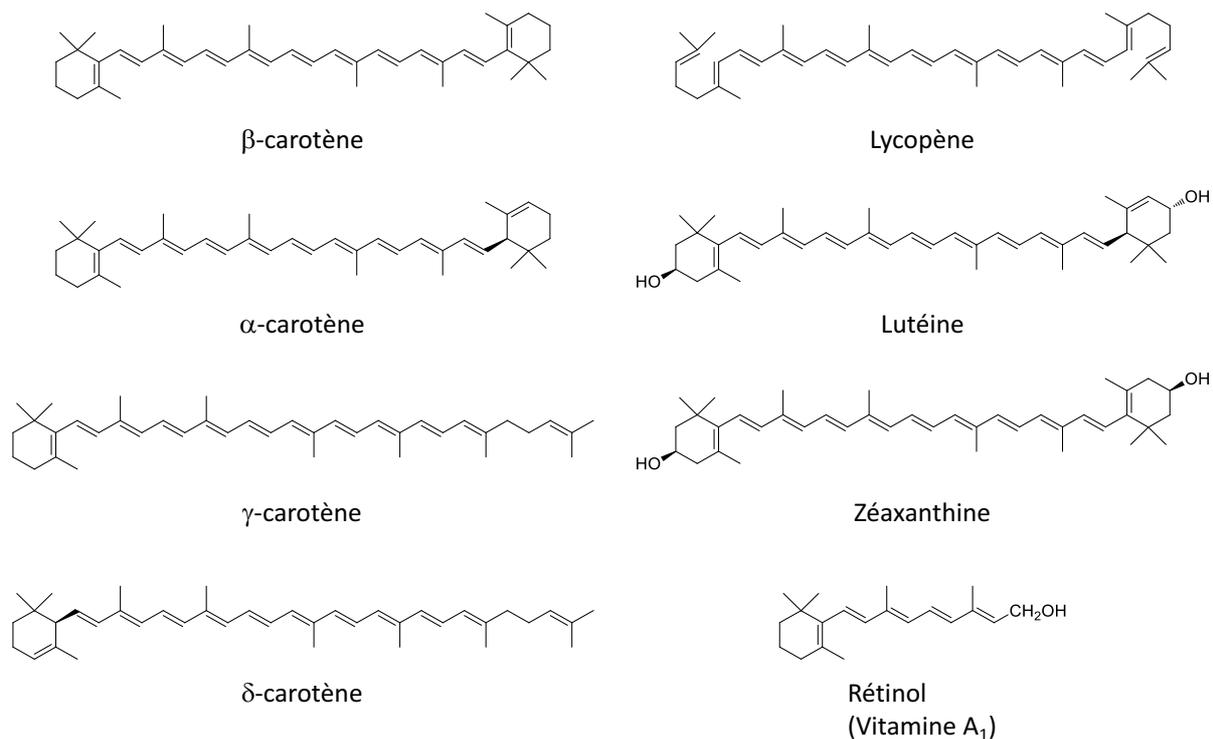


Figure 15 : Structure de quelques caroténoïdes.

### II.C.3 Molécules soufrées : glucosinolates (précurseurs des isothiocyanates)

Les premières observations sur les propriétés uniques des glucosinolates (Beta-thiogluco-side-N-hydroxysulfates) et de leurs métabolites les isothiocyanates ou « huiles de moutarde », comme ils étaient appelés avant, datent du 17<sup>ème</sup> siècle. L'intéressement pour ces molécules est venu du goût piquant des graines de moutarde. La première molécule découverte fut la sinalbine en 1831 en l'isolant de graines de moutarde blanche. Depuis cette découverte plus d'une centaine de glucosinolates a été isolée.

Les glucosinolates sont un groupe de thioglucosides végétaux, précurseurs des isothiocyanates, que l'on retrouve dans de nombreuses familles de légumes mais essentiellement chez les Brassicacées. La concentration peut aller jusqu'à 1% ou plus du poids sec de certaines espèces telles que les choux de Bruxelles, le chou, le chou-fleur, et le brocoli...

Leur structure (figure 16) est caractérisée par un groupement sulfate, un groupement oxime, un glucose sous forme de thioglucoside, ainsi que d'une partie génine dérivant d'un acide aminé et responsable de la chimiodiversité dans cette classe chimique particulière (tableau 2). En général, dans la plupart des espèces végétales, il y a seulement entre un et quatre glucosinolates différents, présents dans des concentrations relativement élevées (Fahey JW *et al.*, 2001).

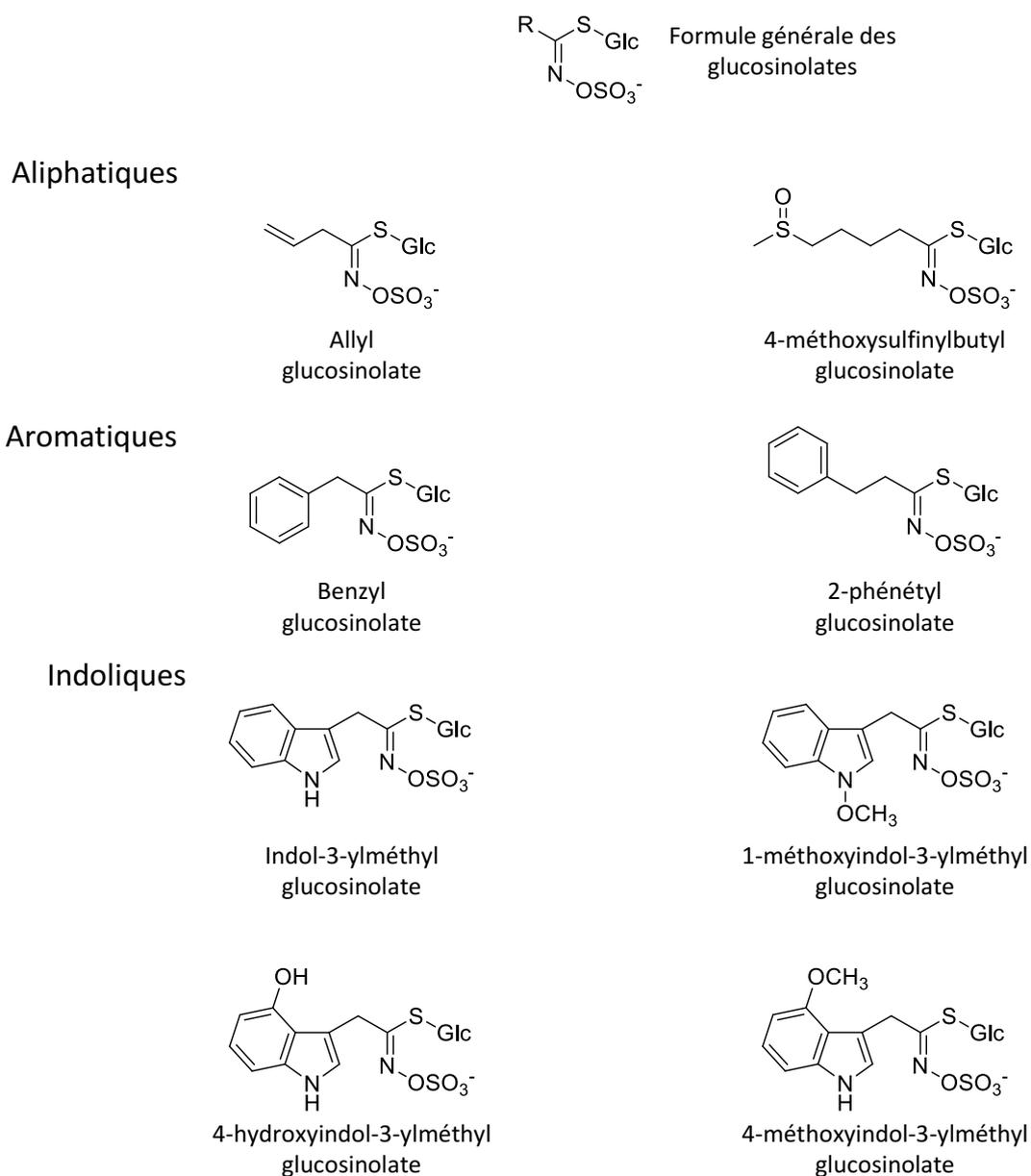
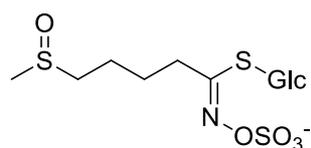


Figure 16 : Structure basique des glucosinolates et exemples des 3 principaux types.

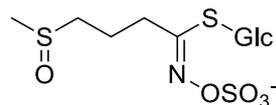
Tableau 2 : Glucosinolates présents dans le brocoli (Tiré de Latté KP et al., 2011).

Composés	Caractéristiques structurales	Quantité (µmol/g poids sec)
Glucoibérine	Alkylsulfinyl GLS	0 – 7,8
Glucoraphanine	Alkylsulfinyl GLS	0,3 – 38,4
Glucoalyssine	Alkylsulfinyl GLS	0 – 5,9
Glucoerucine	Alkylthio GLS	Traces
Glucoibervirin	Alkylthio GLS	Traces
Gluconapine	Alkenyl GLS	0 – 1,0
Progoitrine	Alkenyl GLS	0,1 – 16,1
Sinigrine	Alkenyl GLS	0 – 0,01
Napoleiferine	Alkenyl GLS	0,3 – 0,7
Glucobrassicinapine	Alkenyl GLS	0 – 0,6
Epiprogoitrine	Alkenyl GLS	0 – Traces
Gluconasturtiine	Aromatic GLS	0 – 0,4
Glucobrassicine	Indole GLS	1,1 – 33,4
Neoglucobrassicine	Indole GLS	0,2 – 19,9
4-Hydroxyglucobrassicine	Indole GLS	0 – 0,6
4-Methoxyglucobrassicine	Indole GLS	0,2 – 2,0
Composition totale GLS		12,8 – 20,9

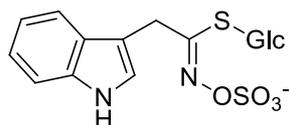
Ainsi, 16 glucosinolates ont été détectés dans le brocoli. Les glucoraphanines, glucoiberines et les indoles glucosinolates comme les glucobrassicines et neoglucobrassicines sont les principaux glucosinolates de ce groupe (figure 17). La glucoraphanine présente le plus grand intérêt, principalement de part sa dégradation en sulforaphane, le métabolite qui a fait l'objet du plus grand nombre d'études pharmacologiques et cliniques et qui serait responsable des activités biologiques et des intérêts nutritionnels du brocoli comme il sera vu par la suite. Les quatre principaux glucosinolates sont illustrés ci-dessous.



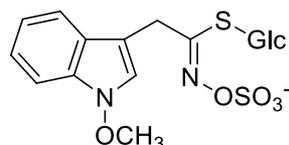
Glucoraphanine



Glucoibérine



Glucobrassicine



Néoglucobrassicine

Figure 17 : Structures des principaux glucosinolates du brocoli.

Les glucosinolates sont chimiquement stables et biologiquement inactifs avant d'être hydrolysés par la myrosinase, une Beta-thioglycosidase responsable de la formation des isothiocyanates à partir des glucosinolates. Comme nous le verrons plus tard, des études épidémiologiques et des recherches expérimentales sur des cellules (étude *in vitro*) et des animaux (étude *in vivo*) ont montré que certains isothiocyanates seraient à l'origine de nombreux effets bénéfiques pour la santé (protection contre les cancers entre autres).

#### II.C.4 Le sulforaphane et autres isothiocyanates, produits de dégradation des glucosinolates.

##### II.C.4.1 Formation des isothiocyanates à partir des glucosinolates par la myrosinase

Le système glucosinolates-myrosinase est un système substrat-enzyme unique, dans lequel l'enzyme myrosinase est responsable du turn-over des glucosinolates. Lorsque la plante est abimée ou exposée à une attaque d'insectes, les cellules intactes sont rompues, ce qui conduit la myrosinase à entrer en contact avec les glucosinolates et à les hydrolyser en glucose et des intermédiaires instables issus des génines. Ces intermédiaires instables se décomposent spontanément en composés tel que (selon le pH) le sulfate d'hydrogène, ou une série de

composés biologiquement actifs contenant du soufre ou de l'azote tels que des isothiocyanates, des nitriles, des thiocyanates, ou des épithionitriles (figure 18). Les isothiocyanates sont responsables du goût spécifique des légumes appartenant à la famille des Brassicacées (Ludikhuyze L *et al.*, 1999).

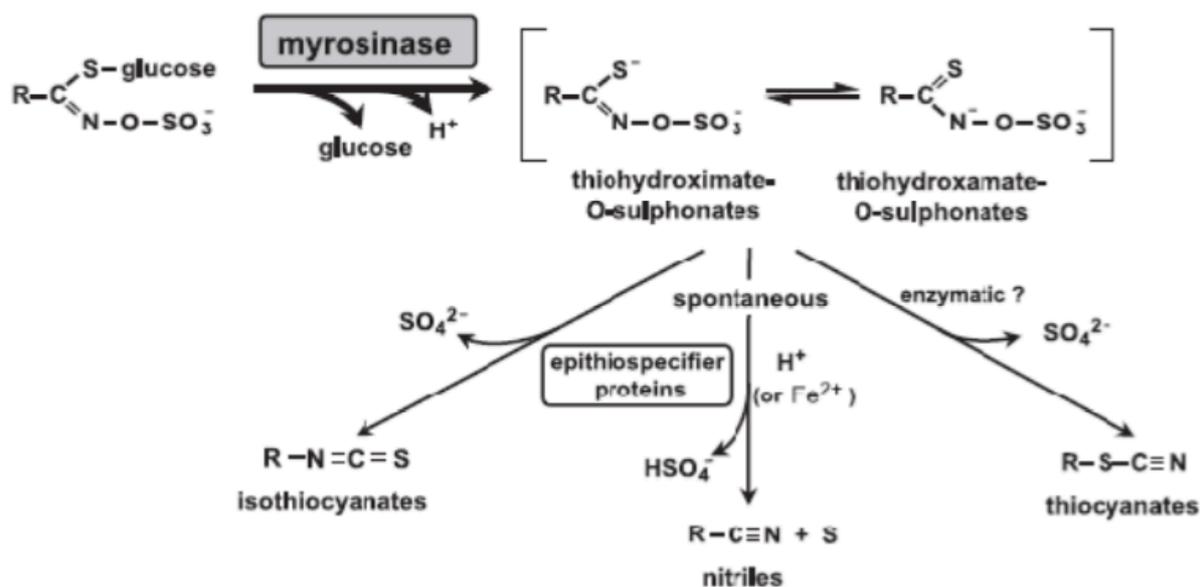


Figure 18 : Réaction d'hydrolyse des glucosinolates par la myrosinase et formation des métabolites (Tiré de Kleinwächter M et Selmar D, 2004).

L'un de ces produits de décomposition est le sulforaphane (ou 4-méthylsulfinylbutyl isothiocyanate, figure 19), un isothiocyanate produit par la myrosinase à partir de la glucoraphanine (ou 4-méthylsulfinylbutyl glucosinolate). Le sulforaphane est l'un des composés les plus bénéfiques du brocoli comme il sera démontré dans cette étude par la suite (Guo R *et al.*, 2013).

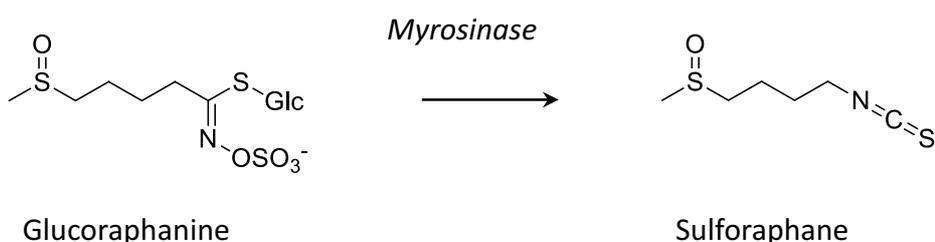


Figure 19 : Formation du sulforaphane par hydrolyse enzymatique de la glucoraphanine.

### ***II.C.4.2 La myrosinase***

La myrosinase (thiogluco-side glucohydrolase), est présente dans toutes les plantes contenant des glucosinolates, notamment les Brassicaceae.

#### **II.C.4.2.1 Structure de la myrosinase**

Le terme myrosinase désigne un ensemble d'enzymes de type thiogluco-side glucohydrolases. Ce sont des glycopeptides contenant un grand nombre d'hydrates de carbone, en particulier des résidus de mannose, différents groupes thiol, disulfures et un atome de zinc dans l'interface des sous unités de la myrosinase. Les myrosinases sont des dimères avec des liaisons disulfures de 75 kDa.

L'analyse structurale par rayon X a montré que la myrosinase de *Sinapis alba* L, est un dimère lié par un atome de zinc et possède une structure caractéristique avec 8 cylindres. Une structure 3D de myrosinase à partir de graines de *Sinapis alba* est illustrée à la figure 20. Le substrat est lié de manière covalente au nucléophile dans le site actif en magenta. Extrémité N terminale en bas à gauche et l'extrémité C terminale en bas du centre (João Diogo Cristóvão Pinto de Castelo-Branco, 2010).



*Figure 20 : Schéma d'une structure 3D de myrosinase de graines de Sinapis alba (Tiré de João Diogo Cristóvão Pinto de Castelo-Branco, 2010).*

Des études immunologiques ont montré qu'elles peuvent former des complexes de haut poids moléculaire (MW) avec des protéines de liaison de la myrosinase et des protéines de la myrosinase associée : de ce fait, les myrosinases dans les Brassicacées peuvent former des complexes de poids moléculaires différents (500-600 kDa, 270-350 kDa et 140-200 kDa). 14 iso enzymes ont été identifiées dans des extraits de graines de *Sinapis alba*, plus connu sous le nom de la moutarde blanche. Dans *Brassica napus*, autrement dit le colza, il a été démontré que l'activité enzymatique de 2 iso-enzymes diffère selon le substrat qui est un glucosinolate (João Diogo Cristóvão Pinto de Castelo-Branco, 2010).

#### **II.C.4.2.2 Localisation de la myrosinase**

La localisation de la myrosinase et des glucosinolates dans la plante reste encore un sujet de discorde.

D'après une étude de João Diogo Cristóvão Pinto de Castelo-Branco s'effectuant sur la base de nombreuses études antérieures, la dégradation des glucosinolates par la myrosinase ne se produirait que lorsqu'il y a des dommages aux tissus ou des perturbations. Elle en a conclu que 3 schémas de répartition de la myrosinase et des glucosinolates sont possibles :

- La myrosinase et les glucosinolates sont localisés dans le même compartiment subcellulaire des mêmes cellules mais sous des formes « inactives » ;
- Localisation dans des compartiments subcellulaires différents dans la même cellule ;
- Localisation dans différentes cellules, dans le même compartiment ou dans différents compartiments subcellulaires (João Diogo Cristóvão Pinto de Castelo-Branco, 2010).

D'après Fahey *et al.*, la myrosinase et les glucosinolates sont présents dans des cellules de structures différentes ce qui signifie que la séparation physique existe uniquement dans des cellules intactes (Fahey JW *et al.*, 2001).

La myrosinase est distribuée dans toutes les parties de la plante, y compris les feuilles, les racines, les fleurs, les fruits et les graines (Textor S et Gershenzon J, 2009). Lors de la rupture des cellules, l'eau entre en contact avec les différents constituants, la myrosinase hydrolyse les glucosinolates en fonction des conditions environnementales (par exemple les nuisibles, la récolte, les conditions climatiques...) et alimentaires (la transformation des aliments, la transformation par la mastication, ...) (João Diogo Cristóvão Pinto de Castelo-Branco, 2010).

#### **II.C.4.2.3 Fonctionnalité de la myrosinase**

L'activité de la myrosinase dépend, en plus de la structure conformationnelle de facteurs intrinsèques, comme la présence d'acide ascorbique, de la protéine épithiospecifer (ESP), des ions  $Mg^{2+}$ , du pH, de l'eau et de facteurs extérieurs comme la température, la pression ou la concentration en sels.

Il a été démontré que l'acide ascorbique induit un changement conformationnel dans le centre actif de la myrosinase : il augmente son activité à des concentrations faibles ou modérées, et la diminue quand il est présent dans des concentrations élevées. Le  $MgCl_2$  lui-même ne joue pas le rôle d'un activateur, mais, lorsqu'il est combiné avec de l'acide ascorbique, il améliore l'activité enzymatique. Le pH optimal de fonctionnement de la myrosinase dépend de son origine. Par exemple, pour le brocoli, le pH optimal est la gamme de 6,5-7,0, ce qui correspond au pH de jus de brocoli frais. La myrosinase du chou blanc et rouge a été caractérisée par un pH optimum de 8, tandis que celle de la moutarde blanche et du colza exerce une activité maximale dans la plage de pH de 4,5 à 4,9 (Ludikhuyze L *et al.*, 2000).

L'activité de la myrosinase peut montrer des différences significatives entre et au sein des espèces appartenant à la famille des Brassicacées, dans les différentes parties des plantes et entre les différentes saisons (João Diogo Cristóvão Pinto de Castelo-Branco, 2010). Ainsi, le taux de conversion des glucosinolates en isothiocyanates peut varier de 1 à 40% (Bruneton, 2016).

L'épithiospecifier est une petite protéine (30 à 40 kDa) qui inhibe la myrosinase de manière non compétitive, ce qui signifie que l'ESP agit sur un site différent du site de liaison du substrat. Elle est inactivée en l'absence d'ions ferreux. C'est une protéine thermosensible qui a une action de cofacteur non catalytique de la myrosinase dans la production du sulforaphane nitrile qui est un composé non bioactif. Ainsi, le sulforaphane nitrile est le principal produit d'hydrolyse lorsque le brocoli est écrasé à température ambiante. Le préchauffage des pousses de brocoli à 60 ° C augmente de manière considérable la formation de sulforaphane catalysée par la myrosinase dans des extraits de tissus végétaux après broyage. Cette méthode est également associée à une diminution de la formation de sulforaphane nitrile et de l'activité de la protéine épithiospécifier (figure 21) (Matusheski NV *et al.*, 2004).

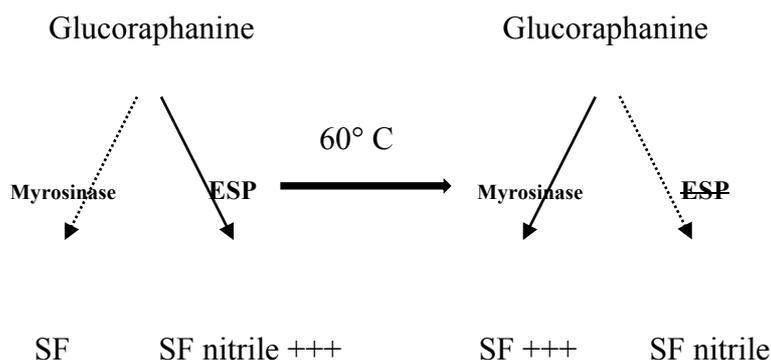


Figure 21 : Schéma de l'hydrolyse des glucoraphanines par la myrosinase et L'ESP (Tiré de Matusheski NV *et al.*, 2004).

#### II.C.4.2.4 Influence de l'environnement

Le système glucosinolate-myrosinase des plantes peut être perturbé par différents facteurs environnementaux et ontogéniques. La température, les conditions de croissance tels que l'azote ou l'assimilation du soufre (Pérez-Balibrea S *et al.*, 2010), l'application de sélénium (Nyberg S, 1991), un déficit en eau et le stade phénologique peuvent tous avoir un impact sur le contenu en glucosinolates dans les plantes. Les méthodes de cuisson peuvent également influencer sur le contenu comme nous le verrons par la suite.

#### II.C.4.3 Détermination des quantités en isothiocyanates et glucosinolates contenues dans les brocolis.

La quantification des isothiocyanates et des glucosinolates contenus dans les brocolis est complexe. En effet, il est difficile d'extraire quantitativement les deux types de composés tout en évitant l'hydrolyse des glucosinolates par la myrosinase. Beaucoup d'efforts ont été consacrés à l'élaboration de méthodes efficaces pour l'isolement et l'identification des glucosinolates. Ce problème a été surmonté par de nouveaux procédés qui vont être décrits.

Tout d'abord il est possible de fournir des extraits appropriés pour l'analyse des glucosinolates par chromatographie appariée-ion (Prester T *et al.*, 1996).

On peut aussi effectuer la mesure spectroscopique des isothiocyanates et des glucosinolates par une réaction de cyclo condensation avec le 1,2-benzènedithiol (Zhang Y *et al.*, 1992).

Ce sont des méthodes assez complexes visibles dans le tableau 3 qui ne seront pas expliquées dans cette étude.

Compound	Method
Total glucosinolates	Palladium chloride and thymol assays
	Glucose- and sulphate-release enzyme assays
	ELISA
	Near infra-red reflectance (NIR) spectroscopy; alkaline degradation and thioglucose detection
	High resolution nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy
Individual intact glucosinolates	Reverse phase HPLC
	Thermospray LC with tandem MS; high performance capillary electrophoresis; capillary GC-MS, GC-MS, GC-MS-MS
Desulpho-glucosinolates	Reverse phase HPLC
Degradation products	X-ray fluorescence spectroscopy (XRF); GC or GC-MS; HPLC

*Tableau 3 : Liste des méthodes utilisées pour analyser les glucosinolates et leurs métabolites (Tiré de Moreno DA et al., 2006).*

### **III. Etudes des effets des métabolites des glucosinolates sur la santé : Le sulforaphane en particulier.**

Les effets du sulforaphane seront détaillés très précisément dans cette partie car c'est le métabolite qui a fait l'objet du plus grand nombre d'études pharmacologiques et cliniques, et qui serait responsable des activités biologiques et des intérêts nutritionnels du brocoli.

#### **III.A Protection contre la neurodégénérescence**

Parmi les constituants du brocoli, le sulforaphane a démontré avoir des effets neuroprotecteurs dans plusieurs études expérimentales. Des rapports dans la littérature ont montré un rôle pléiotrope de ce composé naturel, grâce à sa capacité à atteindre différentes cibles et à moduler différentes voies dans les cellules neuronales / gliales.

Les données expérimentales les plus récentes sur le rôle du sulforaphane vont être montrées dans la lutte contre le stress oxydatif du cerveau dans les maladies neurodégénératives aiguës et chroniques. La biodisponibilité du sulforaphane est également considérée, car elle constitue un aspect fondamental dans l'évaluation de la bioactivité "*in vivo*" d'un composé nutritionnel.

##### **III.A.1 Mécanisme de l'action antioxydante du sulforaphane**

Certaines études récentes ont montré que le sulforaphane serait un antioxydant qui agirait indirectement en induisant le facteur de transcription Nrf2 dépendant de la phase 2 enzymatique (figure 22). Le facteur de transcription Nrf2 régule l'expression génique par l'élément de réponse promoteur antioxydant. Ce dernier régule la transcription des gènes codants pour des enzymes de détoxification et des protéines anti-oxydantes jouant un rôle important dans le système de défense cellulaire, telles que la glutathion-S-transférase, l'hème oxygénase-1, la quinone réductase, l'UDP-glucuronyltransférase.

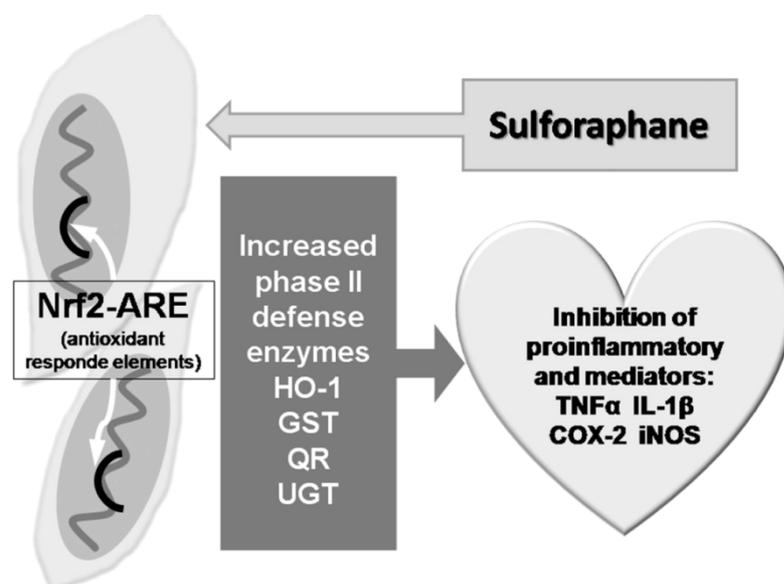


Figure 22 : Effets du sulforaphane sur l'activation de Nrf2  
(Tiré de Vazquez-Prieto MA et Miatello RM, 2010).

Le sulforaphane serait un activateur du facteur de transcription Nrf2 qui régule l'expression génique à travers l'élément de réponse antioxydant promoteur (ARE). Nrf2 régule la transcription d'une batterie d'enzymes protectrices et métaboliques. COX-2, la cyclooxygénase 2 ; GST, glutathion S-transférase ; HO-1, l'hème oxygénase-1 ; IL-1 $\beta$ , interleukine 1 bêta ; iNOS, la synthèse inductible de l'oxyde nitrique ; QR, la quinone réductase ; TNF $\alpha$ , facteur de nécrose tumorale alpha ; UGT, UDP-glucuronosyltransférase.

Le sulforaphane aurait des effets anti-inflammatoires sur les cellules endothéliales vasculaires et donc pourrait être utilisé comme médicament dans les maladies inflammatoires (Chen XL *et al.*, 2009).

### **III.A.1.2 Effets du sulforaphane sur le long terme.**

#### **III.A.1.2.1 Etude *in vitro***

Bien que le sulforaphane soit absorbé et éliminé par le corps en quelques heures, certains résultats ont démontré que l'ingestion de brocolis ou de sulforaphane peut induire une protection à long terme contre les dommages induits par les radicaux libres. En effet, les résultats d'une analyse ont montré que l'exposition à 4 heures de sulforaphane induisait Nrf2, augmentait la synthèse de protéines pendant 24 heures à des niveaux élevés observables 48 heures (Bergström P *et al.*, 2011).

### **III.A.1.2.2 Etude *in vivo***

De plus, dans une étude sur des cardiomyocytes de rats, il a été démontré que le sulforaphane pouvait induire une diminution à long terme de la production intracellulaire de ROS, augmenterait également la viabilité cellulaire et diminuerait la fragmentation de l'ADN accompagné par l'induction d'antioxydants et d'enzymes de phase II (Angeloni C *et al.*, 2009).

Ces résultats indiquent que la stimulation à court terme de la voie Nrf2 par le sulforaphane se traduit par une élévation à long terme des effets antioxydants endogènes.

### **III.A.2 Effets protecteurs du sulforaphane contre les maladies neurodégénératives.**

Le stress oxydatif est impliqué dans de nombreuses maladies neurodégénératives et est un mécanisme proposé pour les processus dégénératifs liés à l'âge dans son ensemble (Nguyen T *et al.*, 2000). Le sulforaphane des brocolis a une action contre le stress oxydatif (via différents mécanismes qui seront détaillés dans la partie III.B.2.2) et joue donc un rôle dans la protection contre les maladies neurodégénératives.

#### ***III.A.2.1 Effets sur les maladies neurodégénératives aiguës.***

##### **III.A.2.1.1 Les lésions cérébrales traumatiques**

Une lésion cérébrale traumatique est une maladie de développement complexe qui se traduit par une phase précoce de dommages mécaniques du tissu cérébral suivie d'une phase secondaire avec des événements cellulaires et moléculaires qui causent des dommages oxydatifs et la mort des cellules cérébrales (Gaetz M, 2004).

- Etudes *in vivo* :

Des études récentes sur des rats présentant des lésions cérébrales traumatiques ont montré que l'administration post-lésions de sulforaphane réduisait l'altération de la barrière hémato-encéphalique et l'œdème cérébral. En effet, Zhao *et al.* ont montré que le sulforaphane atténuait la perte de canaux de l'aquaporine-4 dans le noyau de la lésion et augmentait encore les niveaux de protéines aquaporines-4 dans la région de la pénombre à 24 h et 3 jours après les lésions

(Zhao J *et al.*, 2005). De plus, Zhao *et al.* ont démontré que l'administration de sulforaphane, après une lésion cérébrale chez un rat, préservait les fonctions de la barrière hémato-encéphalique : ceci est médié par l'augmentation de l'expression de Nrf2 (voir à ce sujet le chapitre III.A.1) (Zhao J *et al.*, 2007). Ceci a été confirmé récemment dans une autre étude sur des souris et des rats (Hong Y *et al.*, 2010).

### ***III.A.2.2 Effets sur les maladies neurodégénératives chroniques.***

#### **III.A.2.2.1 La maladie d'Alzheimer**

La maladie d'Alzheimer est la maladie neurodégénérative la plus fréquente qui englobe la plupart des cas de démences vécus par les personnes âgées : elle se caractérise par un déclin progressif de la mémoire et une altération d'au moins une autre fonction cognitive (Tannenberg RK *et al.*, 2006).

Plus de 35 millions de personnes dans le monde en sont atteints. Cette maladie neurodégénérative est caractérisée par l'accumulation de plaques bêta-amyloïdes (A $\beta$ ) qui entraînent des lésions oxydatives, une inflammation et une augmentation des niveaux de calcium intracellulaire. Les deux marqueurs principaux de la maladie sont l'agrégation des plaques amyloïdes et l'agrégation intracellulaire de la protéine Tau hyperphosphorylée (Loewen CA, Feany MB, 2010).

- Etudes *in vitro* :

Park *et al.* ont confirmé l'aptitude du sulforaphane à améliorer l'activité du protéasome et donc à protéger les cellules neuronales de la cytotoxicité médiée par les plaques amyloïdes A $\beta$ 1-42. En effet, le protéasome joue un rôle majeur dans la dégradation des protéines anormales dans les cellules (Park HM *et al.*, 2009).

Une étude plus récente a aussi démontré qu'en plus d'être anti-oxydant, le sulforaphane stimulait l'activité du protéasome entraînant une protection des cellules (Gan N *et al.*, 2010). Cette étude suggère que l'induction du protéasome par le sulforaphane peut faciliter la clairance des peptides A $\beta$ 1-42 et donc conduire à l'amélioration des maladies associées à des protéines anormales comme l'Alzheimer.

- Etude *in vivo* :

Une étude a évalué le potentiel effet neuroprotecteur du sulforaphane sur des souris ayant des plaques amyloïdes induites. Ils ont surtout remarqué qu'il y avait une amélioration des fonctions cognitives et n'ont pas trouvé d'effet d'inhibition de l'agrégation des plaques amyloïdes. Les auteurs en ont conclu que le sulforaphane pouvait aider à la déficience cognitive et pouvait protéger des dommages provoqués par les plaques amyloïdes (Kim HV *et al.*, 2013).

- Etude clinique :

Une étude a constaté que la consommation élevée de légumes était associée à un déclin cognitif plus faible chez les femmes âgées. Les effets les plus importants ont été rapportés avec une consommation plus élevée de légumes à feuilles vertes comme les épinards, la laitue et les légumes de la famille des Brassicacées comme le brocoli (Kang JH *et al.*, 2005).

Ces études montrent bien un intérêt potentiel de la consommation de brocolis dans la maladie d'Alzheimer. Cependant il faudrait réaliser d'avantages d'études cliniques pour démontrer une efficacité réelle et connaître la dose efficace de sulforaphane qui induit le maximum d'effets bénéfiques.

### **III.A.2.2.2 La maladie de Parkinson**

La maladie de Parkinson est une maladie neurodégénérative chronique, lentement évolutive, d'origine le plus souvent inconnue. Des formes rares et héréditaires de la maladie ont été isolées. D'autre part, certains facteurs environnementaux comme l'exposition importante et prolongée aux pesticides ou à certains solvants peuvent entraîner le déclenchement de la maladie mais cela reste une maladie multifactorielle. Elle touche une structure de quelques millimètres située à la base du cerveau : la substance noire. Elle est composée de neurones dopaminergiques qui disparaissent progressivement. La maladie de Parkinson débute 5 à 10 ans avant l'apparition des premiers symptômes cliniques, lorsqu'environ la moitié des neurones dopaminergiques a disparu. Le diagnostic peut être facile du fait de la présence de deux au moins des trois symptômes suivants :

- La lenteur du mouvement (bradykinésie)
- Un tremblement au repos de la main et/ou du pied unilatéral
- La raideur (hypertonie)

(France parkinson, <http://www.franceparkinson.fr>).

- Etude *in vitro* :

Dans une étude de Han *et al.*, il a été démontré que le sulforaphane pourrait protéger les cellules dopaminergiques de la cytotoxicité du 6-OHDA et du BH4. Le 6-OHDA ou 6-Hydroxydopamine est une neurotoxine utilisée comme réactif pharmacologique pour détruire sélectivement les neurones dopaminergiques de la voie nigrostriée et noradrénergique. Le BH4 (Tétrahydrobioptérine) est utilisé aussi comme réactif pharmacologique pour détruire les lignées cellulaires productrices de dopamine. Ce mécanisme protecteur du sulforaphane se ferait par élimination de la dopamine quinone intracellulaire : en effet, l'activité enzymatique de la NAD(P)H-quinone oxyréductase et le niveau d'ARNm seraient augmentés par le sulforaphane et les protéines quinones modifiées seraient diminuées (Han JM *et al.*, 2007).

Le stress oxydatif et l'inflammation jouent un rôle critique dans la progression de la maladie de Parkinson ; or on sait que le sulforaphane protégerait les cellules du stress oxydatif en induisant l'expression de Nrf2. Une étude a observé que le sulforaphane inhiberait la cytotoxicité induite par la 6-OHDA dans des cellules spécifiques en augmentant la translocation nucléaire de Nrf2 et l'expression de l'hème oxygénase-1 (Deng C1 *et al.*, 2012).

Une autre étude confirme que l'activation de Nrf2 par le sulforaphane pourrait jouer un rôle important dans la protection des neurones dopaminergiques contre la toxicité induite par la 6-OHDA dans les cultures organogéniques nigrostriatales de rat (Siebert A *et al.*, 2009).

Pour conclure, de nombreuses études *in vitro* et *in vivo* chez l'animal ont montré la capacité du sulforaphane à prévenir les différentes maladies neurodégénératives comme les lésions cérébrales traumatiques, la maladie d'Alzheimer et la maladie de Parkinson. Le sulforaphane aurait des effets neuroprotecteurs sur ces différentes maladies neurodégénératives qu'elles soient aiguës ou chroniques et cela se fait grâce à sa capacité d'induire le gène Nrf2. Le sulforaphane pourrait être un composé prometteur avec des propriétés neuroprotectrices qui peuvent jouer un rôle important dans la prévention des maladies neurodégénératives.

### III.B Effets du sulforaphane et autres métabolites des glucosinolates sur les cancers.

Depuis de nombreuses années, les études épidémiologiques accumulent les arguments confirmant l'importance de la consommation de fruits et légumes pour diminuer le risque de cancer. Dans les brocolis, les métabolites des glucosinolates, et notamment le sulforaphane sont mis en avant pour leurs actions bénéfiques contre de nombreux cancers. Nous allons voir s'il y a une corrélation entre une consommation élevée de brocolis et une diminution du risque de cancer.

#### III.B.1 Le cancer

##### III.B.1.1 introduction

Les expériences de cancérogénèse chimique réalisées sur des modèles animaux montrent que la cancérogénèse peut être schématiquement divisée selon trois phases : l'initiation, la promotion et la progression tumorale (figure 23) (Anses, <http://www.anses.fr>).

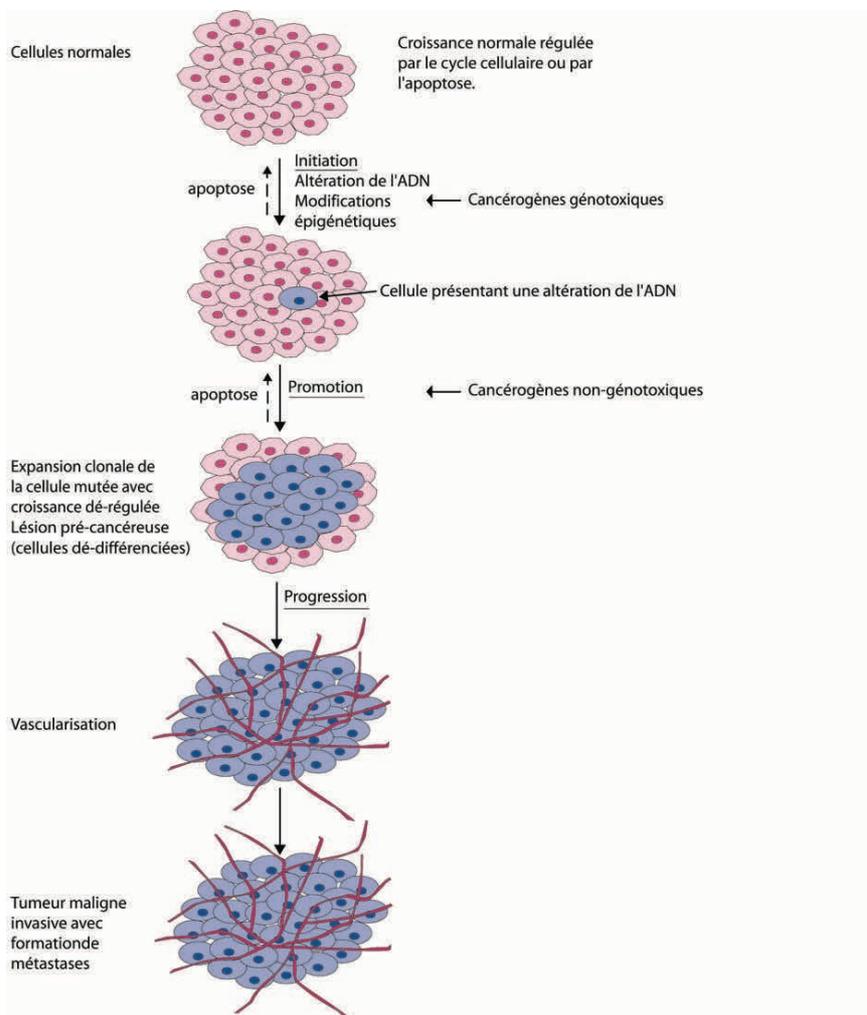


Figure 23 : Schéma des étapes de la cancérogénèse (Tiré du rapport d'expertise collective de l'Anses, 2011).

**La cancérogénèse se déroule donc en 3 phases.** Tout d'abord, l'initiation déclenchée par l'altération de l'ADN, ensuite, la promotion correspondant à l'expansion clonale d'une cellule mutée, et enfin la progression dépendante de la vascularisation au cours de laquelle la tumeur maligne se propage éventuellement dans d'autres tissus et peut former des métastases.

L'initiation correspond à l'altération du génome d'une cellule lui conférant la propriété d'échapper aux régulations cellulaires. Dans les cellules somatiques, des altérations de l'acide désoxyribonucléique (ADN) d'origine endogène (erreurs au cours de la réplication de l'ADN ou de la mitose, effet des radicaux libres produits par le métabolisme cellulaire sur l'ADN, hypo- ou hyper-méthylation de l'ADN) ou induites par des facteurs environnementaux cancérogènes apparaissent fréquemment au cours de la vie. Une altération de l'ADN n'est transmise aux cellules dérivant de la cellule « initiée » que si elle n'est pas létale et n'est pas réparée.

La promotion tumorale est une phase relativement longue (pouvant durer plusieurs années chez l'Homme) au cours de laquelle la cellule initiée va proliférer et conduire progressivement au développement d'un clone de cellules mutées. La multiplication cellulaire étant exponentielle, un nombre limité de divisions cellulaires suffit à engendrer un nombre considérable de cellules tumorales. Divers facteurs endogènes (facteurs de croissance et hormones) ou exogènes (toxiques chimiques, facteurs alimentaires, etc.), du fait de leur action répétitive, vont déréguler certains des mécanismes fins qui contrôlent la multiplication cellulaire.

La progression tumorale est une phase complexe qui consiste en l'accumulation de nouvelles anomalies du génome, la vascularisation de la tumeur (angiogenèse) et en l'acquisition de la capacité d'invasion conférant ainsi à la tumeur une plus grande malignité (Anses, <http://www.anses.fr>).

### ***III.B.1.2 Complexité des interactions entre facteurs nutritionnels et cancer***

Le cancer est une maladie multifactorielle faisant intervenir des déterminants individuels (patrimoine génétique, statut hormonal, etc.), comportementaux (tabac, nutrition, etc.) et environnementaux (rayonnement solaire, expositions professionnelles, etc.).

Par « facteurs nutritionnels » sont sous entendus tous les aliments dont l'alcool, les micronutriments mais aussi les comportements individuels, l'activité physique (notamment par son effet sur le bilan énergétique) et l'état nutritionnel (dénutrition, surpoids, obésité, etc.).

Des études, réalisées le plus souvent sur des modèles cellulaires ou chez l'animal, mettent en évidence le rôle des facteurs nutritionnels sur différents mécanismes impliqués dans la cancérogenèse. Ces travaux montrent qu'un même facteur peut agir sur plusieurs mécanismes, avoir des effets directs ou indirects et, dans certains cas, exercer des effets ambivalents. De même, plusieurs facteurs peuvent agir en synergie ou en antagonisme.

Les résultats obtenus *in vitro* ou observés chez l'animal ne sont pas directement extrapolables à l'Homme. C'est particulièrement le cas pour les composés dont la biodisponibilité est faible ou inconnue chez l'Homme. Par ailleurs, certains facteurs nutritionnels peuvent interagir avec des facteurs propres à l'individu (liés aux polymorphismes génétiques, au micro-biote colique ou au statut ménopausique) ou avec d'autres facteurs cancérogènes (tabac). Enfin, l'évolution des habitudes alimentaires d'une population et la variabilité interindividuelle des comportements alimentaires augmentent la difficulté d'établir une relation causale entre alimentation et santé, en particulier en ce qui concerne les risques de cancers (Anses, <http://www.anses.fr>).

### ***III.B.1.3 Méthodologie d'établissement des niveaux de preuve des relations entre facteurs nutritionnels et cancer***

La complexité des relations entre facteurs nutritionnels et cancer impose une méthodologie adaptée pour en définir le niveau de preuve. Différents types d'études sont nécessaires : études épidémiologiques d'observation ou d'intervention, études sur animaux ou sur cellules. Il n'est pas possible de tirer de conclusion à partir d'une observation isolée provenant d'une seule étude, qu'elle qu'en soit la méthodologie. De plus, dans le cas d'une alimentation complexe ou de facteurs délétères, il n'est pas possible de mettre en œuvre des études d'intervention randomisées et contrôlées.

Ainsi, les liens de causalité sont établis par l'examen de l'ensemble des données épidémiologiques et mécanistiques disponibles. L'expertise collective internationale réalisée par le World Cancer Research Fund International (WCRF) et l'American Institute for Cancer Research (AICR) en 2007 a permis de qualifier de « convaincante », « probable », « limitée mais évocatrice » ou « peu probable » la relation entre facteurs nutritionnels et risque de cancer, en prenant en compte la diversité des populations et de leurs expositions aux facteurs nutritionnels (WCRF/AICR, 2007). Toutefois, pour de nombreux facteurs nutritionnels, par

manque de données suffisantes, il n'est pas possible de caractériser le niveau de preuve (WCRF/AICR, 2007 ; IARC, 2008) (Anses, <http://www.anses.fr>).

La prévention nutritionnelle des cancers aujourd'hui en France s'inspire fortement des recommandations du rapport de 2007 du fond mondial pour la recherche sur le cancer (WCRF/AICR 2007). L'institut national du cancer a actualisé ces recommandations en 2009 dans le PNNS 2009, et le PNNS a établi une révision des repères de consommation alimentaire en 2016. Actuellement on estime à environ un tiers la proportion des 12 cancers les plus communs qui pourraient être évités grâce à la prévention nutritionnelle (y compris la restriction de l'alcool) dans les pays développés, dont la France (WCRF, AICR, 2007) (Anses, <http://www.anses.fr>).

Ainsi, l'approche portfolio, qui associe l'analyse de données issues de différentes méthodologies et complémentaires (*in vitro*, *in vivo*, chez l'animal, cliniques, épidémiologiques, méta-analyses), montre qu'il n'existe pas d'aliment ou de nutriment qui puisse être directement incriminé de façon isolée dans la survenue d'un cancer. La prévention nutritionnelle des cancers s'appuie ainsi sur des recommandations de comportement et ne cible pas la consommation ou l'éviction d'un aliment en particulier.

Toutefois, l'analyse de la pertinence des facteurs nutritionnels en termes de prévention des cancers dans la population française permet d'identifier un socle de recommandations prioritaires qui s'intègrent dans la politique globale de santé publique telle qu'énoncée dans le Programme National Nutrition Santé (PNNS).

Il s'agit de :

- Réduire la consommation des boissons alcoolisées ;
- Promouvoir une alimentation équilibrée et diversifiée ;
- Promouvoir la pratique d'activité physique.

La recommandation « promouvoir une alimentation équilibrée et diversifiée » englobe plusieurs recommandations importantes en termes de prévention des cancers et également de nature à prévenir certaines pathologies associées à la nutrition. Il s'agit plus particulièrement des recommandations visant à consommer au moins 400 g de fruits et légumes par jour soit 5

portions de 80 grammes, à diversifier les sources de protéines en alternant les viandes rouges avec des viandes blanches, des œufs ou du poisson et en limitant la consommation de viandes rouges à moins de 500 g par semaine. Il faut limiter la consommation de sel et enfin éviter la supplémentation en vitamines, minéraux ou micronutriments qui ne permet pas de tirer profit des synergies possibles entre les différents composants des aliments (fruits et légumes en particulier qui apportent aussi des fibres) et peut conduire à des apports excessifs (Anses, <http://www.anses.fr> ).

### **III.B.2 : Les métabolites des glucosinolates et le cancer.**

#### ***III.B.2.1 Introduction***

De nombreuses études épidémiologiques supposent que la consommation de légumes de la famille des Brassicacées comme le brocoli diminue le risque d'induction de certains cancers car ils auraient des effets antimutagènes. Les hydrocarbures aromatiques polycycliques, les amines hétérocycliques et les nitrosamines ainsi que les autres carcinogènes alimentaires nécessitent une activation métabolique pour provoquer des lésions de l'ADN et probablement par la suite un cancer. Cette activation se fait par des enzymes de phase 1. Les métabolites des glucosinolates que nous trouvons dans les bouquets de brocolis sont, parmi les produits naturels, les plus importants favorisant la santé. Ils sont connus pour leur probable contribution à l'activité anti-carcinogène du brocoli. Plusieurs produits d'hydrolyse des glucosinolates aliphatiques comme les glucoraphanines sont aussi connus pour réduire le risque de cancers (Steinkellner H *et al.*, 2001).

#### ***III.B.2.2 Etude des principaux mécanismes de ces métabolites pour lutter contre les cancers.***

Ces métabolites, comprenant le sulforaphane qui a été le plus étudié, auraient de nombreux effets permettant de lutter contre les cancers. Ils activeraient des mécanismes comme l'inhibition des enzymes de phase 1. Cela entrainerait donc une inhibition du développement des cancers comme il a été observé chez des animaux. De plus, ils induiraient des enzymes de phase 2 de détoxification ce qui permettrait de piéger les formes réactives de l'oxygène et pourrait favoriser leur élimination (Higdon JV *et al.*, 2007).

De plus, cela entraînerait une diminution de l'inflammation, la stimulation des fonctions immunitaires, l'inhibition de la transformation maligne, la régulation de la croissance des cellules malignes, l'inhibition de l'angiogenèse ... Cela donnerait une synergie de chimio prévention. Mais des effets délétères ont aussi été rapportés dans la littérature dans quelques expérimentations discutant d'un effet de promotion tumorale lors d'expositions prolongées. Des études épidémiologiques ont montré que l'exposition aux isothiocyanates et indoles lors de la consommation de brocolis (et autres Brassicacées) pourrait diminuer le risque de cancer mais les effets protecteurs peuvent être influencés par des variations génétiques individuelles de par le métabolisme et l'élimination de ces métabolites comme nous le verrons par la suite (Higdon JV *et al.*, 2007) (Juge N *et al.*, 2007).

- Induction de la phase 2 de détoxification enzymatique :

Un mécanisme anti-carcinogène intéressant serait l'induction de la phase 2 de détoxification enzymatique par exemple avec les glutathions S transférases, les époxydes hydrolases, la NAD(P)H quinone réductase et glucuronosyltransférase. En effet, c'est une stratégie efficace pour parvenir à une protection contre la cancérogénèse, mutagénèse et autres formes de toxicité des ROS. Lorsque l'on consomme beaucoup de fruits et de légumes on remarquerait une forte réduction du risque de développer des tumeurs malignes. Un certain nombre de plantes comestibles contiennent des quantités élevées de composés régulant les enzymes du métabolisme des xénobiotiques. Les plantes comestibles appartenant à la famille des Brassicacées contiennent des quantités élevées d'isothiocyanates, la plupart du temps sous la forme de leurs précurseurs comme vu précédemment. Certains, comme le sulforaphane, seraient de très puissants inducteurs des enzymes de phase 2 : ils accélèrent la détoxification des électrophiles et des ROS et donc protègent contre la mutagénèse et néoplasie. Le sulforaphane serait le plus puissant inducteur d'origine naturelle des enzymes de phase II détoxifiant l'organisme des molécules carcinogènes. Le sulforaphane, extrait des pousses de brocoli, est 10 à 100 fois plus efficace sur l'induction de la phase 2 de détoxification que les brocolis matures (Fahey JW *et al.*, 1997).

L'induction d'iso enzymes GST, mécanisme intéressant anti-carcinogène vu précédemment, serait connectée (avec l'implication d'un élément anti-oxydant ARE : antioxydant-responsive element) au facteur de transcription nucléaire Nrf2 (nuclear factor E2-related factor 2) (Fahey JW *et al.*, 2001).

- Inhibition des enzymes de phase 1 :

Le sulforaphane inhiberait le CYP2E1 et le CYP1A1 dans une préparation de foie de rat microsomial et dans des cellules de foie humain *in vitro* (Barceló S *et al.*, 1996). Le sulforaphane inhiberait également de manière dose-dépendante l'activité des CYP1A et 2B1/2 dans des hépatocytes de rat et l'expression de l'ARNm du CYP3A4 aurait été diminuée par le sulforaphane dans des hépatocytes humains (Mahéo K *et al.*, 1997).

L'inhibition enzymatique des cytochromes est un mécanisme important pour prévenir la formation de métabolites carcinogènes.

- Interaction avec les transporteurs d'efflux de la cassette de liaison à l'ATP (ABC : ATP binding cassette), influençant ainsi la pharmacocinétique d'autres substrats.

Les transporteurs ABC utilisent l'énergie dérivée de l'ATP pour transporter des molécules contre un gradient de concentration à travers des membranes cellulaires. Certains isothiocyanates ont été testés pour leurs interactions avec des transporteurs ABC comprenant la glycoprotéine P (P-gp), la protéine de résistance à plusieurs médicaments 1 (MRP1), la protéine de résistance à plusieurs médicaments 2 (MRP2) et la protéine de résistance au cancer du sein (BCRP). L'accumulation de sulforaphane intracellulaire est augmentée par l'inhibition de P-gp et MRP1 dans des essais *in vitro*, ce qui a montré que le sulforaphane est un substrat pour ce transporteur (Telang U et Morris ME, 2009). Ces transporteurs sont surexprimés dans de nombreuses tumeurs solides ce qui conduit à une résistance à de nombreux médicaments contre les cancers. Leur inhibition par les isothiocyanates pourrait représenter un nouveau mécanisme de lutte contre les cancers. De plus, les transporteurs ABC sont aussi exprimés à des niveaux basaux dans certains tissus et jouent sur l'absorption et l'élimination de composés exogènes : leur inhibition par les isothiocyanates pourrait conduire à des interactions régime/médicament (Tseng E *et al.*, 2002).

- Induction de l'apoptose :

Plus récemment, il a été découvert que les isothiocyanates induiraient l'apoptose, ce qui aboutirait à la suppression des cellules génétiquement endommagées et donc arrêterait l'expansion clonale. Ceci a été démontré dans de nombreuses études *in vitro* (Bonnesen C *et al.*, 2001) (Singh AV *et al.*, 2004) ... De nombreuses études ont révélé que les isothiocyanates

inhibent la croissance des cellules cancéreuses dans des cultures *in vitro* en arrêtant le cycle cellulaire et en induisant l'apoptose (Xiao D et Singh SV, 2007).

- Activité anti-angiogénique :

L'angiogénèse dans les tumeurs permet la croissance et l'invasivité des cellules cancéreuses conduisant à des métastases. Il a été montré récemment que les isothiocyanates inhiberaient l'activité de transcription du facteur nucléaire NFκB et supprimeraient l'expression du gène de régulation de NFκB y compris VEGF. Ce sont des mécanismes intéressants car le facteur NFκB serait impliqué dans l'angiogénèse des cellules tumorales et VEGF jouerait également un rôle dans l'angiogénèse en accélérant la prolifération, la migration et la différenciation des cellules endothéliales. Ceci sera vu dans de nombreuses études que nous verrons par la suite (Xiao D et Singh SV, 2007).

- Mécanisme anti-carcinogène de l'indole-3-carbinol.

La même chose serait vraie pour les produits de dégradation des glucosinolates indoliques, notamment les glucobrassicines (Kim YS et Milner JA, 2005).

L'objectif de notre étude est de détailler les effets du sulforaphane mais il n'est pas possible de détailler les effets des glucosinolates contre les cancers sans parler de l'indole-3-carbinol qui aurait aussi de nombreux effets bénéfiques.

L'un des composés bioactifs le plus largement étudié au sein des brocolis est l'indole-3-carbinol (I3C, figure 24). Ce composé provient de la dégradation d'isothiocyanates instables produits par la myrosinase à partir d'indolyl-méthyle glucosinolates comme la glucobrassicine lorsque les brocolis sont écrasés ou cuits.

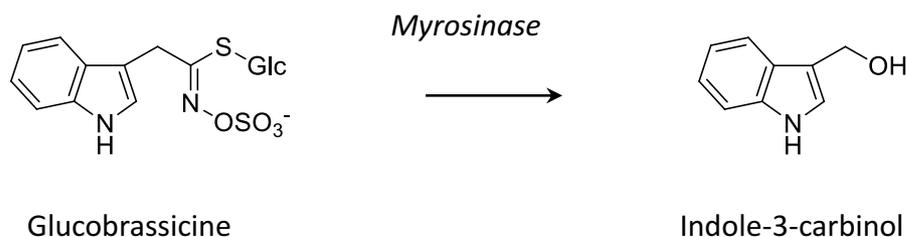


Figure 24 : Structure de l'indole-3-carbinol.

L'I3C ingéré peut être converti en un dimère biologiquement actif : le 3,3'-diindolylmethane (DIM), dans le tractus gastro-intestinal. Etant donné que le DIM s'accumule dans le noyau, il contribue probablement à des événements nucléaires qui ont été attribués à l'I3C. Plusieurs mécanismes peuvent expliquer les propriétés anticancéreuses de I3C / DIM, y compris des changements dans la progression du cycle cellulaire, l'apoptose, la cancérogène, la bioactivation et réparation de l'ADN. On ignore lequel de ces phénomènes est le plus important pour apporter les propriétés anticancéreuses attribuées au brocoli. Une meilleure compréhension des objectifs de I3C / DIM dans la prolifération et / ou de l'apoptose des cellules tumorales, en particulier ceux qui sont liés à des facteurs de réglementation nucléaire, devrait aider à élaborer des stratégies d'intervention appropriées pour promouvoir la prévention du cancer (Young SK et Milner JA, 2005).

Une grande partie de la mise au point dans le passé sur les composés présents dans les légumes de la famille des Brassicacées qui pourraient réduire le risque de cancer du sein s'était portée sur l'indole-3-carbinol. Michnovicz Bradlow et d'autres émirent l'hypothèse que l'indole-3-carbinol aurait des effets anti-oestrogéniques, principalement par induction de la 2-hydroxylation de l'œstradiol, ce qui entraînerait des métabolites non œstrogéniques (Michnovicz JJ et Bradlow HL, 1990).

De plus l'indole-3-carbinol pourrait se lier au récepteur des œstrogènes avec une faible affinité ce qui exercerait une activité anti-estrogènes (Yuan F *et al.*, 1999).

L'indole-3-carbinol inhiberait également l'activité 17 $\beta$ -œstradiol et régulerait négativement l'expression de gènes sensibles aux œstrogènes (Meng Q *et al.*, 2000).

### ***III.B.2.3 Ces métabolites ont une action préventive ou traitante sur quels cancers ?***

À l'heure actuelle, il n'y a pas suffisamment de bibliographie pour soutenir un rôle pour les brocolis comme agents chimio préventifs contre les cancers autres que celui du poumon, colorectal, du sein, de l'estomac, de la prostate et le cancer du pancréas. C'est pour cela que nous allons étudier ceux-ci.

### **III.B.2.3.1 Le cancer de la prostate**

#### **III.B.2.3.1.1 Introduction :**

En France, le cancer de la prostate occupe la 4<sup>ème</sup> place de cause de mortalité, faisant moins de 10 000 décès par an. L'augmentation de la baisse de la mortalité par cancer de la prostate depuis une quinzaine d'années est due à l'amélioration de la prise en charge de ce cancer par de nouvelles thérapies. Le facteur de risque principal est l'âge, en effet il est découvert la majorité du temps après 70 ans. De nombreuses études ont montré que le nombre de cas de cancers de la prostate est beaucoup plus important dans les pays d'Europe du Nord et d'Amérique du Nord. En effet, on a remarqué une faible incidence dans les pays d'Asie du Sud-Est. Une attention particulière en ce qui concerne l'alimentation doit être portée à cause de la longue latence avant le diagnostic clinique et la prévalence dans les pays développés (Institut national du cancer, <http://www.e-cancer.fr>).

#### **III.B.2.3.1.2 Etudes :**

- *In vitro* :

Le sulforaphane présente une activité pro-apoptotique dose-dépendante et induit l'arrêt de la croissance de cellules de prostate cancéreuses en culture (Chiao JW *et al.*, 2002). Il est rapporté dans une étude que le sulforaphane supprime la prolifération des cellules PC-3 de cancer de la prostate humaine en culture en induisant l'apoptose (Singh AV *et al.*, 2004).

- *In vivo* :

Une étude a montré que le sulforaphane serait très efficace pour assurer une protection contre les cancers induits chimiquement sur les animaux. Il y est aussi démontré que l'administration orale de sulforaphane retarderait significativement la croissance de xénogreffes de PC-3 chez des souris nues à une concentration qui peut être générée par l'apport alimentaire de brocolis et autres légumes crucifères. En conclusion, les résultats de la présente étude plaident fortement en faveur d'une évaluation pré-clinique et clinique systématique de sulforaphane pour son activité contre le cancer de la prostate humaine (Singh AV *et al.*, 2004).

- Essais cliniques :

Quatre des huit études cas-témoins publiées depuis 1990 ont montré que la quantité de légumes crucifères consommés était significativement plus faible chez les hommes diagnostiqués avec un cancer de la prostate par rapport aux hommes contrôlés sans cancer de la prostate (Cohen JH *et al.*, 2000) (Jain MG *et al.*, 1999) (Joseph MA *et al.*, 2004) (Kolonel LN *et al.*, 2000). Néanmoins, parmi les quatre études de cohorte prospective qui ont examiné les associations entre la consommation de légumes crucifères et le risque de cancer de la prostate, aucune n'a constaté des associations inverses statistiquement significatives (Giovannucci E *et al.*, 2003) (Muscat JE et Taioli E, 1990) (Key TJ *et al.*, 2004) (Schuurman AG *et al.*, 1998).

De nombreux essais randomisés sur l'évaluation des éléments de preuves pour l'efficacité et la sécurité de l'utilisation de la phytothérapie dans le traitement des récurrences de cancer de la prostate indiqués par une augmentation du PSA (antigène prostatique spécifique) dans lesquels il était temps de commencer un traitement par anti-androgènes ont été rassemblés dans une revue en 2016. La conclusion de cette revue est que le sulforaphane et les autres « phytothérapiques » sont sûrs et bien tolérés mais il y a peu de preuves qu'ils peuvent influencer sur la dynamique du PSA. Aucune recommandation ne peut être faite pour l'utilisation de ces agents dans la gestion de la morbidité et de la mortalité pour le cancer de la prostate. Les études étaient généralement de bonne qualité, mais malheureusement la taille des échantillons était essentiellement petite et de courte durée (Van Die MD *et al.*, 2016).

Cependant, une étude prospective qui comprenait la plus longue période de suivi et le plus grand nombre de cancers de la prostate a trouvé une association inverse significative entre la consommation de légumes crucifères et le risque de cancer de la prostate lorsque l'analyse était limitée aux hommes qui ont eu un test de PSA. Cette étude a aussi évoqué le fait que le sulforaphane serait plus efficace lorsqu'il serait présent tôt dans l'alimentation et non pas lorsque le cancer serait en phase tardive (Giovannucci E *et al.*, 2003).

De plus, la consommation élevée de légumes de la famille des Brassicacées peut avoir une fonction thérapeutique chez des patients hospitalisés, selon une étude épidémiologique canadienne récente. Sur 1138 hommes atteints du cancer de la prostate, on a décrit une corrélation significative entre une forte consommation de brocoli et de chou-fleur (1 portion était un peu faible, tandis que 3-5 portions étaient plus efficaces par semaine) et un risque réduit

de cancer de la prostate à un stade élevé et surtout en cas de cancer extra prostatique (stade III ou IV de tumeurs) (Kirsh VA *et al.*, 2007). La revue systématique de la littérature publiée par le WCRF en 2006 a évalué deux cohortes prospectives, un cas-témoin niché et six cas-témoins étudiés. Il y avait peu de preuves d'une association à partir des études de cohorte. Cependant, les résultats des études cas-témoins ont montré des preuves d'un effet protecteur des légumes crucifères (WCRF / AICR, 2007). Une étude cas-témoins rapportée sur les légumes crucifères a montré une variabilité de risque d'avoir un cancer de la prostate par rapport à la consommation de ces légumes en fonction du génotype de chacun liés à GST, à savoir des variantes dans GSTM1 et GSTT1, en tant que facteurs de risque de cancer de la prostate comme il sera vu par la suite dans la partie III.B.2.4. Cependant, aucun effet majeur n'a été trouvé (Bekkering T *et al.*, 2006).

### **III.B.2.3.2 Le cancer du sein**

#### **III.B.2.3.2.1 Introduction :**

Le cancer du sein est le cancer le plus fréquent chez la femme en France, dans l'Union Européenne et aux Etats-Unis. Il représente plus d'un tiers des nouveaux cas de cancer chez la femme. Le nombre de cas diminue depuis 10 ans : cependant ce cancer reste la première cause de décès par cancer chez les femmes en 2012. Le dépistage est très important car, s'il est dépisté précocement, il peut être guéri dans 9 cas sur 10. Il y a eu 48763 nouveaux cas estimés en France en 2012 et l'âge moyen du diagnostic est de 63 ans (Institut national du cancer, <http://www.e-cancer.fr>).

La consommation de légumes peut réduire le risque de cancer du sein par de nombreux mécanismes, surtout grâce à un certain nombre de leurs composés comme les caroténoïdes, la vitamine A, E, C, le selenium, les isoflavones et les glucosinolates.

### III.B.2.3.2.2 Etudes :

#### - *In vivo* :

Les jeunes pousses de brocoli (3 jours) contenant soit le sulforaphane soit des glucoraphanines (précurseurs du sulforaphane) comme inducteurs principaux sont très efficaces pour réduire l'incidence, la multiplicité et le taux de développement des tumeurs mammaires de rats traités par diméthylbenzanthracène. Les mécanismes seraient une induction enzymatique et une augmentation du niveau de glutathion. Cela a été vérifié dans une étude où l'on a mesuré l'augmentation de la NAD(P)H : quinone réductase (typique de phase 2) dans des cellules d'hépatomes de souris. Cet essai a montré que le sulforaphane est le principal inducteur. Celui-ci induit plusieurs enzymes de phase 2 dans les cellules en culture et les tissus de souris. De plus, en bloquant l'action du 7,12-diméthylbenz(a)anthracène (DMBA) : un inducteur de tumeurs mammaires, il stoppe la formation de ces tumeurs chez le rat et inhibe la formation de nodules néoplasiques dans des cultures de glandes mammaires de souris (Fahey JW *et al.*, 1997).

#### - Etudes cliniques :

Une étude réalisée sur 740 femmes de race blanche ayant un cancer du sein a été réalisée au Niagara. La consommation de légumes crucifères, en particulier les brocolis, a été légèrement inversement associée au risque de cancer du sein chez les femmes pré ménopausées ( $P=0,058$ ), alors que les associations étaient plus faibles voire nulles chez les femmes ménopausées (Ambrosone CB *et al.*, 2004).

Cependant, une étude suédoise n'a trouvé aucune relation entre la consommation de brocolis et le cancer du sein (Terry P *et al.*, 2001). Plusieurs études cas-témoins aux États-Unis, en Suède (comme vu précédemment) et en Chine ont constaté que les proportions de la consommation de légumes de la famille des Brassicacées ont été significativement plus faibles chez les femmes diagnostiquées avec un cancer du sein que dans les groupes témoins sans cancer (Fowke JH *et al.*, 2003) (Terry P *et al.*, 2001), mais les résultats d'une analyse groupée de sept grandes études de cohortes prospectives ont suggéré que la consommation de fruits et légumes durant la vie n'est pas associée à une réduction du risque d'avoir un cancer du sein (Smith-Warner SA *et al.*, 2001).

Pour conclure, la revue de littérature publiée par le World Cancer Research Fund en 2007 ne signale pas d'association significative entre la consommation de légumes crucifères et une diminution du risque de cancer du sein dans plusieurs études (WCRF / AICR, 2007). Si tous ces résultats sont mitigés, il semble que les brocolis aient une action sur les cancers hormonodépendants comme il a été vu précédemment. Il faudra cependant plus de preuves pour établir un lien direct entre une consommation de brocoli et une diminution du risque de cancer du sein.

### **III.B.2.3.3 Le cancer du pancréas**

#### **III.B.2.3.3.1 Introduction :**

Il y a eu approximativement 9 000 nouveaux cas de cancer du pancréas en France en 2011. Le cancer du pancréas est une maladie qui affecte autant d'hommes que de femmes. L'âge le plus courant du diagnostic est aux alentours de 50 ans. Pour le cancer du pancréas, il existe trois facteurs de risque identifiés : le tabac, le surpoids ou l'obésité et les prédispositions génétiques (Institut national du cancer, <http://www.e-cancer.fr>).

#### **III.B.2.3.3.2 Etudes :**

- *In vivo* :

Dans une étude, il a été administré du sulforaphane à des hamsters ayant un cancer du pancréas. Les lésions pancréatiques comprenant l'hyperplasie et l'adénocarcinome ont diminué de façon significative lors de l'initiation mais pas en post-initiation. Ces données suggèrent que le sulforaphane bloque l'initiation de la carcinogénèse pancréatique du hamster (Kuroiwa Y *et al.*, 2006).

- Etudes cliniques :

Une étude de cohorte réalisée sur 183522 personnes aux Etats-Unis n'a trouvé aucune preuve d'une association inverse entre la consommation de légumes et le cancer du pancréas dans l'ensemble mais les associations inverses ont été observées pour les légumes verts chez les

personnes à haut risque (Nothlings U *et al.*, 2007).

Dans une autre étude, une association inverse mais non significative a été observée avec la consommation de légumes crucifères en général (trois portions ou plus par semaine par rapport à moins d'une portion par semaine). Par contre, la consommation de chou en particulier a été associée à un risque plus faible de cancer du pancréas (une ou plusieurs portions par semaine par rapport à une consommation inexistante) statistiquement significative (Larsson SC *et al.*, 2006). Cela a été revalidé par une autre étude. En effet, la revue systématique de la littérature publiée par le WCRF en 2007 a évalué deux études de cohortes et six études cas-témoins dans lesquelles les résultats penchaient pour une relation inverse entre la consommation de légumes crucifères et le risque de cancer du pancréas (WCRF / AICR, 2007). L'une des études cas-témoins les mieux conçues a montré que les consommateurs fréquents de légumes crucifères (à savoir, plus de quatre portions par semaine) ont une réduction de 50% du risque de cancer du pancréas (Silverman DT *et al.*, 1998).

Il est donc difficile de savoir s'il existe véritablement un lien entre la consommation de brocoli et le risque de développer un cancer du pancréas au vu de ces résultats contradictoires.

### **III.B.2.3.4 Le cancer du poumon**

#### **III.B.2.3.4.1 Introduction :**

Le cancer du poumon est aujourd'hui la première cause de décès par cancer en France et dans le monde. Alors qu'on note une décroissance de ce cancer chez les hommes, il est en progression constante chez les femmes. Le facteur de risque principal du cancer du poumon est le tabagisme. Ainsi, bien que l'impact d'augmentation de la consommation de légumes de la famille des Brassicacées comme le brocoli soit susceptible d'être faible par rapport au bénéfice de l'arrêt du tabac, d'après le PNNS « la relation est jugée probable entre une consommation de fruits et légumes suffisante (5 fruits et légumes frais par jour) et la diminution du risque de cancer bronchique » (Institut national du cancer, <http://www.e-cancer.fr>).

#### III.B.2.3.4.2 Etudes :

- *In vitro* :

Il a été démontré dans une étude la capacité des phénéthyl-isothiocyanates N-acétylcystéine à réduire la croissance cellulaire et induire l'apoptose des cellules A549 d'adénocarcinome pulmonaire humain se divisant rapidement (Yang Y-M *et al.*, 2005).

- *In vivo* :

Une étude a démontré que les isothiocyanates d'origine naturelle provenant de légumes crucifères inhiberaient la formation d'adénomes pulmonaires induits par l'activité carcinogène du tabac chez des souris au stade post initiation. L'activité d'inhibition de la tumeur serait due à l'activation de la protéine activatrice et l'induction de l'apoptose dans les tissus pulmonaires ce qui suggère que ces composés peuvent aussi inhiber le développement d'adénocarcinomes pulmonaires (Conaway CC *et al.*, 2005).

- Etudes cliniques :

Bien qu'un certain nombre d'études cas-témoins ont constaté que les personnes diagnostiquées avec un cancer du poumon avaient un apport significativement réduit en légumes de la famille des Brassicacées par rapport aux groupes témoins sans cancer (Verhoeven DT *et al.*, 1996), les résultats des études de cohortes récentes et plus prospectives sont mitigées. Des études prospectives réalisées sur des hommes et des femmes néerlandaises (Voorrips LE *et al.*, 2000), des femmes américaines (Feskanich D *et al.*, 2000), et des hommes finlandais (Neuhouser ML *et al.*, 2003), ont constaté que des apports plus élevés en légumes crucifères (plus de trois portions par semaine) seraient associés à une réduction significative du risque de cancer du poumon ; mais les études prospectives faites sur des hommes aux États-Unis (Feskanich D *et al.*, 2000) et des hommes et femmes européennes (Smith-Warner SA *et al.*, 2003) n'ont trouvé aucune association inverse. Dans un examen systémique récent publié par Lam et ses collègues (Lam TK *et al.*, 2009), une recherche de la littérature épidémiologique a été réalisée en Décembre 2007 en utilisant 15 bases de données bibliographiques. Trente études sur l'association entre le cancer du poumon et, soit la consommation totale des légumes appartenant aux Brassicacées, soit de Brassicacées spécifiques, ont été incluses. Les données suggèrent que

la consommation de légumes crucifères peut être légèrement inversement associée au risque de cancer du poumon. De plus, une interaction gène-alimentation a été identifiée. En effet, les individus portant une délétion homozygote pour GSTM1 et GSTT1 avaient la plus forte association inverse entre la consommation totale de légumes crucifères et le risque de cancer du poumon. Le mécanisme de cette interaction gène-alimentation sera décrit dans la partie III.B.2.4 (Lam TK *et al.*, 2009).

### **III.B.2.3.5 Le cancer colorectal**

#### **III.B.2.3.5.1 Introduction :**

Le risque de cancer colorectal est élevé en France. Il l'est aussi dans les autres pays de l'Europe de l'ouest, les Etats-Unis, l'Australie et le Japon. En incluant les hommes et les femmes, le cancer colorectal se situe en France au 3<sup>ème</sup> rang des cancers les plus fréquents : le 2<sup>ème</sup> rang chez les femmes et le 3<sup>ème</sup> chez les hommes. Il est surtout présent chez les personnes de plus de 50 ans et l'âge moyen du diagnostic est de 70 ans chez l'homme et 73 ans chez la femme. En 2012, il y a eu 42152 nouveaux cas de cancer colorectal et l'on suppose que cela pourrait passer à 45000 en 2020 (Institut national du cancer, <http://www.e-cancer.fr>).

#### **III.B.2.3.5.2 Etudes :**

- *In vitro* :

Le sulforaphane inhiberait la prolifération de cellules de colon cancéreuses humaines dans une culture en induisant l'apoptose provoquant l'arrêt du cycle cellulaire (Gamet-Payrastre L *et al.*, 2000).

- *In vivo* :

Une étude a montré l'efficacité de l'utilisation du sulforaphane et des phénéthyl isothiocyanates sur des rats ayant un cancer du côlon induit. Ce résultat est une preuve de laboratoire importante pour un rôle potentiel du sulforaphane et des isothiocyanates dans la protection du cancer du côlon (Chung FL *et al.*, 2000).

- Etudes cliniques :

Bien qu'un certain nombre d'études cas-témoins menées avant 1990 ont révélé que les personnes atteintes de cancer colorectal étaient plus susceptibles d'avoir des apports inférieurs de divers légumes crucifères que les personnes sans cancer colorectal (Benito E *et al.*, 1990), les études de cohortes les plus prometteuses n'ont pas trouvé d'associations inverses significatives entre consommation de légumes crucifères et le risque de développer un cancer colorectal à court terme (Michels KB *et al.*, 2000) (McCullough ML *et al.*, 2003). Une exception était une étude prospective, menée sur des adultes néerlandais, qui a constaté que les hommes et les femmes les plus consommateurs de légumes crucifères (en moyenne 58 g / j) étaient significativement moins susceptibles de développer le cancer du côlon que ceux dont les consommations étaient les plus faibles (en moyenne 11 g / j) (Voorrips LE *et al.*, 2000). Étonnamment, des apports plus élevés de légumes crucifères ont été associés à un risque accru de cancer du rectum chez les femmes incluses dans cette étude. Comme dans le cas du cancer du poumon, la relation entre la consommation de légumes crucifères et le risque de cancer colorectal peut être compliquée par des polymorphismes génétiques. Les résultats de plusieurs études épidémiologiques récentes suggèrent que les effets protecteurs de la consommation de légumes crucifères peuvent être influencés par les différences héritées de la capacité des individus à métaboliser et à éliminer les produits d'hydrolyse des glucosinolates (Voir la section III.B.2.4).

***III.B.2.4 Il existerait une variabilité interindividuelle de la réponse du corps humain à la consommation de glucosinolates due au polymorphisme génétique.***

Il y a beaucoup de preuves sur le fait que les différences génétiques chez les humains peuvent influencer les effets de la consommation de légumes de la famille des Brassicacées sur le risque de cancer (Peterson S et Lampe JW, 2002). Les glutathione-S-transférases (GSTs) appartiennent à une famille d'enzymes métabolisant une grande variété de composés, comprenant les isothiocyanates, permettant l'augmentation de leur élimination de l'organisme. Le polymorphisme génétique qui affecte l'enzyme GST a été identifié chez les humains. Un variant du gène GSTM1 et du gène GSTT1 appelé « Null » contient de nombreuses délétions et les individus homozygotes pour le gène GSTM1-null et GSTT1-null ne peuvent produire l'enzyme GST correspondante (Coles BF et Kadlubar FF, 2003). L'activité de la GST étant plus faible chez ces individus, cela peut entraîner une élimination plus lente et donc une

exposition plus longue aux isothiocyanates après la consommation de brocolis (Seow A *et al.*, 1998).

Ainsi, plusieurs études épidémiologiques ont montré que les associations inverses entre la consommation d'isothiocyanates de légumes appartenant à la famille des Brassicacées comme le brocoli et le risque de cancer du poumon (Zhao B, 2001) (London SJ *et al.*, 2000) ou d'un cancer du côlon (Slattery ML *et al.*, 2000) ont été plus prononcées chez les individus GSTM1-null et / ou GSTT1-null. Ces résultats montrent que les effets protecteurs de la consommation élevée de légumes Brassicacées peuvent être améliorés chez les individus qui éliminent des composés potentiellement protecteurs comme les isothiocyanates plus lentement.

Pour conclure, de nombreuses études ont mis en évidence qu'il existait un lien entre une consommation élevée de légumes de la famille des Brassicacées et une incidence moindre de cancer notamment du poumon, colorectal, du sein, de la prostate ou encore bien d'autres. Cependant les études actuelles démontrent que ce lien n'est pas si clair car il y a de nombreux paramètres à prendre en compte. En effet, le style de vie entre en jeu. De plus, des interactions gène-régime récemment découvertes démontrent que près de la moitié de la population n'a pas un gène spécifique impliqué dans la métabolisation des glucosinolates par l'organisme. La croissance de certaines tumeurs est tout de même réduite ou même inhibée. D'autres composés ont un rôle majeur dans la prévention des cancers comme les anti-oxydants et les minéraux.

### **III.C Infection à *Helicobacter pylori***

#### **III.C.1 Introduction et traitement.**

*Helicobacter pylori* infecte environ 50% de la population adulte dans le monde entier. *Helicobacter pylori* est une bactérie, elle est à l'origine de gastrites, d'ulcères et donc augmente le risque d'apparition d'un cancer de l'estomac (Sobhani I, 2003).

Son éradication est donc un enjeu de santé publique mais elle est parfois compliquée par le développement de résistances aux antibiotiques et par un réservoir d'*Helicobacter* dans les cellules gastriques épithéliales. Le traitement standard est une trithérapie d'une semaine avec deux antibiotiques comme la clarithromycine et l'amoxicilline ou le métronidazole pour les personnes allergiques aux Bétalactamines associés à un inhibiteur de la pompe à protons comme l'oméprazole par exemple.

Les résistances au métronidazole ou à la clarithromycine ont été découvertes dans la population mondiale ce qui conduit à l'échec thérapeutique. En France, depuis les années 2000, les taux d'éradication obtenus avec la trithérapie à base de clarithromycine ont diminué pour être actuellement inférieurs à 70 % : pour cela, depuis 2016, la trithérapie de 7 jours ne doit plus être prescrite en traitement probabiliste. Les traitements actuels sont plutôt des traitements concomitants de 14 jours voire une quadrithérapie bismuthée de 10 jours (figure 25) (Fahey JW *et al.*, 2002).

**QUADRITHÉRAPIE BISMUTHÉE : 10 jours**

**Pylera\* : 3 gélules 4 fois/j**  
(après le repas du matin, du midi, du soir et au coucher)  
et **Oméprazole 20 mg matin et soir**

Chaque gélule de Pylera\* contient : 140 mg de sous citrate de bismuth, 125 mg de métronidazole et 125 mg de tétracycline

Prendre le Pylera\* après le repas, avec un grand verre d'eau (au coucher)

Prévenir patient des effets secondaires : selles noires- diarrhées, dysgueusie (goût métallique), langue noire et effet antabuse (lié au métronidazole) ... Eviter consommation d'alcool et exposition solaire  
Contre indiqué chez les femmes enceintes, les enfants <12 ans, les insuffisants hépatiques ou rénaux

---

**TRAITEMENT CONCOMITANT : 14 jours**

**Amoxicilline 1gr : matin et soir**  
**Métronidazole 500 mg : matin et soir**  
**Clarithromycine 500 mg : matin et soir**  
**IPP\* : matin et soir**

Deux IPP ont été retenus :  
Esomeprazole 40 mg matin et soir ou Rabéprazole : 20 mg matin et soir

Prévenir le patient des effets secondaires: troubles digestifs, réactions cutanées, effet antabuse (lié au métronidazole), ... Eviter consommation d'alcool ++

---

**TEST RESPIRATOIRE à l'Urée <sup>13</sup>C**

toujours après un délai minimum de :  
4 semaines sans antibiotique  
2 semaines sans IPP  
A jeun le jour du test

Deux ordonnances sont remises au patient :  
1) Pour la pharmacie : Test respiratoire à l'urée marquée <sup>13</sup>C  
2) Pour le laboratoire : Test respiratoire à l'urée marquée <sup>13</sup>C  
Recueil et analyse de l'air expiré.

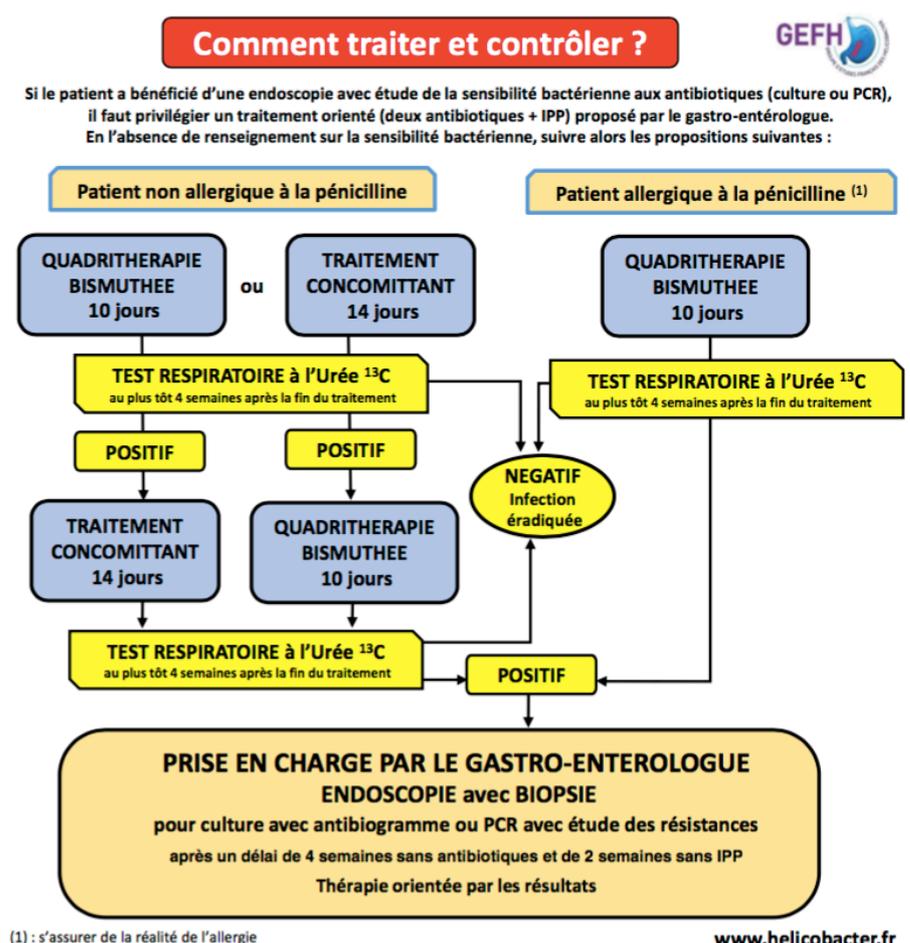


Figure 25 : Fiche de recommandations thérapeutique pour la prise en charge de l'infection à *Helicobacter pylori* mise à la disposition des médecins généralistes (Tiré de GEFH, <http://www.helicobacter.fr>).

Il existe un test de diagnostic rapide pour dépister une infection à *Helicobacter pylori* : le test rapide à l'uréase que l'on utilise en salle d'endoscopie. S'il est positif on peut directement initier un traitement d'éradication. S'il est négatif, cela n'exclut pas une infection. Le test n'est pas recommandé pour le contrôle de l'éradication chez les patients traités par IPP ou antibiotiques. En France, ce test n'est pas pris en charge par l'assurance maladie (GEFH, <http://www.helicobacter.fr>).

En plus des résistances, l'échec du traitement peut être lié aux nombreux effets indésirables et donc à une mauvaise observance du patient (Bell GD *et al.*, 1992).

### **III.C.2 Le sulforaphane, intérêts pour faciliter l'élimination de *Helicobacter Pylori* ?**

#### ***III.C.2.1 Mécanisme d'action du sulforaphane contre Helicobacter Pylori.***

Les personnes ayant une gastrite associée à *Helicobacter pylori* présentent des lésions de la muqueuse gastrique. Cela peut être dû à *Helicobacter pylori* directement ou à une conséquence de la réaction inflammatoire. En effet, *Helicobacter pylori* cause la libération de radicaux libres d'oxygène par les polynucléaires et d'autres cellules inflammatoires initiant la peroxydation lipidique (Chang YW *et al.*, 2015).

La formation des radicaux libres d'oxygène ainsi que la peroxydation sont à l'origine des lésions tissulaires et peuvent être à l'origine de la pathogénésie des lésions chroniques et donc d'un cancer (Davies GR *et al.*, 1994). Récemment, il a été observé qu'un extrait de germes de brocoli contenant du sulforaphane pouvait réduire la colonisation de *Helicobacter*, atténuer l'expression dans la muqueuse du TNF (*tumor necrosis factor*) et d'interleukines, atténuer l'inflammation et ainsi diminuer la gastrite chez les souris et les humains infectés. Cet effet protecteur du sulforaphane se manifeste uniquement si les souris expriment le gène nrf2. Donc il y aurait encore une variabilité interindividuelle (Yanaka A *et al.*, 2009).

Comme il a été vu précédemment, le sulforaphane aurait un puissant effet inducteur des enzymes de phase 2 de détoxification, comme la glutathione S-transférase, et donc des effets antioxydants, anti-inflammatoires, et des effets anticancéreux.

#### ***III.C.2.2 Etudes de l'efficacité du sulforaphane contre les infections à Helicobacter Pylori.***

##### *- Etudes in vitro*

Le sulforaphane a montré un effet bactériostatique sur 3 souches de référence ainsi que sur 45 isolats cliniques de *Helicobacter pylori*. De plus il serait bactéricide car il exercerait une élimination intracellulaire de *Helicobacter Pylori* des cellules épithéliales humaines. Il a également été démontré que le sulforaphane inhibe l'action des benzoapyrènes à l'origine de tumeurs de l'estomac. En éliminant *Helicobacter Pylori* et en bloquant la formation de tumeurs de l'estomac le brocoli deviendrait un aliment utile en prévention du cancer de l'estomac (Fahey JW *et al.*, 2002).

De plus, la consommation de 25 grammes par jour de légumes de la famille des Brassicacées diminuerait de près d'un quart le risque de cancer gastrique (Steevens J *et al.*, 2011).

- Etudes *in vivo*

Dans l'étude de Yanaka *et al.* (Yanaka A *et al.*, 2009), l'étude faite sur des souris ayant le gène *nrf2* a montré une probable efficacité du sulforaphane dans l'infection à *Helicobacter pylori* et l'atténuation de la gastrite. Cette étude a été faite en administrant oralement 3 pmol de sulforaphane par jour par souris et a démontré un effet antibiotique direct sur les colonies. Néanmoins, les données de cette étude ne permettent pas de savoir si l'atténuation de la gastrite est due à la diminution de la colonisation ou à l'induction des enzymes de la phase 2 de détoxification.

- Etudes cliniques

Dans un petit essai clinique, la consommation de pousses de brocolis riches en glucoraphanines jusqu'à 56 g par jour pendant une semaine a été associée à une éradication de *Helicobacter pylori* chez 3 des 9 patients ayant une gastrite (Galan MV *et al.*, 2004). Dans une autre étude, 48 patients infectés par *Helicobacter pylori* ont été assignés au hasard à la consommation de pousses de brocoli (70 g / j contenant 420 pmol de précurseurs de sulforaphane) pendant 8 semaines ou à la consommation d'un poids égal de germes de luzerne (ne contenant pas de sulforaphane) comme placebo. La consommation de germes de brocoli a diminué les niveaux d'uréase mesurés par le test respiratoire à l'urée ainsi que la quantité de l'antigène *Helicobacter pylori* dans les selles : les deux biomarqueurs de colonisation par *H. pylori*. De plus, elle a diminué les pepsinogènes sériques I et II (biomarqueurs de l'inflammation gastrique). La consommation du placebo n'a pas entraîné d'effets. Le sulforaphane augmenterait donc la protection de la muqueuse gastrique contre le stress oxydatif induit par *Helicobacter pylori*. Cependant, après l'arrêt de la consommation de brocolis, les paramètres ont augmenté à nouveau pour retrouver les valeurs d'origine avant l'étude. Cela montre que la quantité testée de germes de brocoli n'a pas conduit à une éradication permanente de *Helicobacter pylori* (Yanaka A *et al.*, 2009).

## **III.D Sulforaphane et arthrose.**

### **III.D.1 Introduction**

L'arthrose est considérée comme une maladie à part entière abîmant le cartilage et l'os. Aujourd'hui les mécanismes sont mal connus et font l'objet d'une recherche active. Il y aurait entre 9 et 10 millions de Français touchés par cette maladie dont 65% des personnes âgées de plus de 65 ans et 80% des personnes de plus de 80 ans. Au départ, cette maladie est silencieuse puis, avec le temps, elle peut devenir très douloureuse et handicapante. Les facteurs de risque sont l'âge, des prédispositions génétiques (notamment pour l'arthrose des mains), des antécédents de fractures, un dysfonctionnement métabolique... D'autres maladies articulaires comme l'ostéonécrose, la polyarthrite rhumatoïde ou la chondrocalcinose (dépôt de calcium dans l'articulation) peuvent également favoriser son apparition.

L'arthrose se traduit par une déminéralisation de l'os situé sous le cartilage, par la diminution de la densité du cartilage, par le pincement de l'interligne articulaire dû à l'usure du cartilage c'est-à-dire la diminution de l'espace entre les deux os d'une articulation. La maladie arthrosique s'exprime par des périodes avec des poussées inflammatoires puis des périodes de rémission. L'arthrose peut toucher les cervicales dans 75% des cas, l'épaule, la hanche, les lombaires dans 70% des cas, le pouce, le genou et les chevilles. Les symptômes sont des raideurs, des douleurs articulaires faibles le matin puis augmentent au cours de la journée, des troubles du sommeil à cause de la douleur, le gonflement des articulations, des excroissances osseuses, des craquements... Le diagnostic de l'arthrose se fait par un examen clinique et des radiographies de l'articulation.

Actuellement, il n'existe pas de traitement capable de protéger le cartilage, et on utilise surtout des traitements symptomatiques antalgiques comme le paracétamol. On utilise aussi des compléments alimentaires disponibles en pharmacie qui soulagent plus lentement mais durablement mais qui ne sont plus remboursables de par la réévaluation de leur service médical rendu comme le Chondrosulf® et la Piasclédine® par exemple. Ils contiennent de la chondroïtine sulfate, de la glucosamine sulfate, des insaponifiables d'avocat et de soja ou encore la diacerrhéine (Le site de l'arthrose, [www.lesitedelarthrose.com](http://www.lesitedelarthrose.com)) (INSERM, <http://www.inserm.fr>).

### III.D.2 Etudes des effets du sulforaphane contre l'arthrose

Une étude a essayé de voir si le sulforaphane des brocolis avait une utilité dans la protection du cartilage contre l'arthrose. Ils se sont basés sur des études *in vitro* avec des modèles de cartilages nasaux de bovins et des études *in vivo* sur la destabilisation du ménisque interne des souris pour évaluer la chondroprotection (Davidson RK *et al.*, 2013). D'après cette étude, le sulforaphane serait capable d'inhiber l'expression des métalloprotéinases induites par les cytokines pro-inflammatoires dans les chondrocytes primaires des articulations humaines et dans les fibroblastes des cellules synoviales. Une autre étude a également démontré que le sulforaphane inhibe l'expression de métalloprotéinases et de la COX-2 et la production des PGE2 qui sont impliqués dans la synovite et la polyarthrite rhumatoïde. Cela laisse donc supposer une probable utilité dans la prise en charge de la polyarthrite rhumatoïde (Choi YJ *et al.*, 2014).

Le sulforaphane agirait indépendamment de Nrf2, qui a un rôle dans l'induction de la phase II et, en outre, indépendamment de l'activité des histones désacétylases pour réguler l'expression des métalloprotéinases dans les chondrocytes des articulations de l'homme. Le sulforaphane serait capable d'atténuer la signalisation de NFkB par l'inhibition de sa liaison de l'ADN dans les chondrocytes articulaires humains, avec diminution de l'expression de plusieurs gènes de NFkB dépendants. Le sulforaphane stopperait ainsi indirectement la destruction induite par les cytokines du cartilage nasal de bovins (Kim HA *et al.*, 2012). Cette étude en conclut que le sulforaphane inhibe une large gamme de mécanismes cataboliques dans les chondrocytes articulaires et donc qu'il pourrait être un médicament de choix sûr et efficace pour l'inhibition de la dégradation du cartilage dans les maladies arthritiques.

Le brocoli pourrait donc participer à la prévention et au traitement de l'arthrose car le sulforaphane, libéré après sa consommation, pourrait ralentir la destruction du cartilage dans les articulations.

## **III.E Le sulforaphane : implication dans les maladies cardiovasculaires.**

### **III.E.1 Introduction**

Les maladies cardio-vasculaires sont la première cause de mortalité dans le monde. On estime à 17,5 millions le nombre de décès imputables aux maladies cardio-vasculaires, soit 31% de la mortalité mondiale totale. Parmi ces décès, on estime que 7,4 millions sont dus à une cardiopathie coronarienne et 6,7 millions à un AVC (chiffres 2012) (Site OMS, <http://www.who.int/fr/>).

Les maladies cardiovasculaires sont une classe de maladies qui impliquent le cœur ou les vaisseaux sanguins, comme la maladie cardiaque ischémique, la maladie cardiaque hypertensive ainsi que la maladie artérielle périphérique. En règle générale, les maladies cardiovasculaires sont liées à l'hypertension, l'athérosclérose, l'obésité ou le diabète et, donc, on peut agir sur ces quatre facteurs pour les prévenir. Les maladies cardiovasculaires sont maintenant de plus en plus répandues dans les pays en développement. En effet, l'affluence élevée des sociétés industrialisées conduit à avoir une alimentation abondante et riche en calories, l'accès à de la main d'œuvre qui réduit l'activité physique et l'accès au tabac. Les cultures traditionnelles basées sur la consommation de céréales, de fruits et légumes avec une activité physique intense et une vie moins stressante sont remplacées par des cultures urbaines plus intenses (Luepker RV, 2011).

### **III.E.2 Les effets du sulforaphane contre l'athérosclérose.**

#### ***III.E.2.1 Etude in vivo***

Le sulforaphane pourrait avoir un rôle contre l'athérosclérose de par son activité anti-inflammatoire. En effet, une étude consistant en l'administration de sulforaphane à des souris a conclu que l'activation pharmacologique de Nrf2 par le sulforaphane permet de réduire l'activation sur les sites susceptibles d'avoir de l'athérosclérose et peut fournir une nouvelle stratégie thérapeutique pour prévenir ou réduire l'athérosclérose (Zakkar M *et al.*, 2009).

Les médiateurs pro-inflammatoires influencent l'athérosclérose en induisant des molécules d'adhésion cellulaire vasculaire tels que la molécule d'adhésion 1 (VCAM-1) sur les cellules endothéliales par l'intermédiaire de la signalisation, y compris par les intermédiaires p38 MAP

kinase. Ceci a été confirmé par Zakkar *et al.* Dans une autre étude effectuée sur des rats, il a été mis en évidence que le sulforaphane supprimerait l'activation des cellules endothéliales grâce à l'inhibition de la signalisation p38-VCAM-1 par l'intermédiaire du facteur de transcription Nrf2 dans le type sauvage. En outre, le sulforaphane protégerait le cœur contre les lésions d'ischémie-reperfusion surtout dues à la présence de ROS par une augmentation des taux d'enzymes anti-oxydantes (Piao CS *et al.*, 2010). Le sulforaphane supprimerait également le TNF alpha qui a un rôle dans l'induction de la production des ROS (Kim JY *et al.*, 2012).

Un autre effet intéressant est que le sulforaphane pourrait diminuer l'obésité ; or on sait que l'obésité est associée à un désordre métabolique. C'est un facteur de risque pour l'athérosclérose et les maladies cardiovasculaires. L'étude a été faite sur des souris en leur administrant différents degrés de nourriture grasse avec 0,1% de sulforaphane dans un cas et 0% dans l'autre. Il a été démontré que le sulforaphane atténuait le stockage des graisses dans les adipocytes et dans le foie. De plus, les taux de cholestérol totaux et de triglycérides étaient moins élevés chez les souris ayant reçu une nourriture grasse accompagnée de sulforaphane que dans l'autre régime. Ces résultats font apparaître que le sulforaphane pourrait induire des effets anti-obésité en inhibant l'adipogenèse (Choi KM *et al.*, 2014).

L'agrégation plaquettaire joue un rôle important dans la thrombose artérielle, ce qui conduit à l'athérosclérose et aux maladies cardiovasculaires. Chuang *et al.* ont démontré que le sulforaphane serait capable d'inhiber l'agrégation plaquettaire chez l'homme et donc réduirait la formation de thrombus (Chuang WY *et al.*, 2013).

Toutes ces études indiquent que le sulforaphane aurait une action sur Nrf2, serait capable de réduire l'inflammation et la production de ROS, préviendrait l'obésité induite par une alimentation riche en graisse et aurait un effet anti-thrombotique... Ces résultats indiquent que le sulforaphane pourrait être un agent thérapeutique potentiel pour la prévention de l'athérosclérose, réduisant ainsi le risque de maladie cardiovasculaire.

### **III.E.3 Effets sur l'hypertension**

#### ***III.E.3.1 Etude in vivo***

Dans une étude, deux doses différentes de sulforaphane ont été administrées, respectivement 0,5 et 5,5 pmol par rat par jour. Des effets sur les paramètres de stress oxydatif et de pression artérielle ont été observés uniquement avec la dose plus élevée, bien que certains effets positifs sur la fonction endothéliale aient été observés avec la dose plus faible. Le sulforaphane des brocolis aurait donc une action sur la pression artérielle (Wu L *et al.*, 2004).

### **III.E.4 Effets sur les lésions cérébrales ischémiques**

La physiopathologie de la lésion cérébrale ischémique implique divers mécanismes biochimiques, tels que l'excitotoxicité médiée par le glutamate, la génération de ROS, l'apoptose et l'inflammation (Zhao J *et al.*, 2006).

#### **- Etudes *in vivo* :**

Dans un modèle d'ischémie cérébrale néonatale, Ping *et al.* ont observé sur des rats que le sulforaphane augmentait significativement l'expression de Nrf2 et de l'hème oxygénase 1, ce qui était accompagné d'une réduction de la proportion d'infarctus. En particulier, le traitement a réduit le nombre de neurones apoptotiques, l'activation de la macroglie et certains paramètres oxydatifs (Ping Z *et al.*, 2010). De plus, Zhao *et al.* ont démontré que l'administration retardée d'une dose unique de sulforaphane diminuait significativement le volume d'infarctus cérébral chez les rats après ischémie focale. Le mécanisme est toujours l'activation de Nrf2 (Zhao J *et al.*, 2006).

Mais si ces études suggèrent un probable intérêt thérapeutique du sulforaphane dans les lésions ischémiques cérébrales, des études cliniques sont attendues pour avoir de meilleures preuves d'une efficacité chez l'homme.

### **III.E.5 Etudes sur l'effet préventif de la consommation de sulforaphane sur l'apparition d'un diabète et sur l'apparition de complications chez des individus diabétiques.**

#### ***III.E.5.1 Le sulforaphane en prévention du diabète.***

##### **III.E.5.1.1 Etudes *in vitro***

La différenciation adipocytaire est activée par une hyperplasie des adipocytes, ce qui conduit à l'obésité. Choi *et al.* ont démontré que le sulforaphane diminue l'accumulation de gouttelettes lipidiques et de triglycérides dans les adipocytes de souris et inhibent également la prolifération des adipocytes (Choi KM *et al.*, 2012).

##### **III.E.5.1.2 Etudes *in vivo***

Une étude a évalué l'effet du sulforaphane sur des rats traités par streptozotocine pour induire un diabète après administrations de 0,1 ; 0,25 ; ou 0,5 mg/kg de sulforaphane par gavage oral. Les rats diabétiques ont présenté une élévation des triglycérides, de l'urée, de la créatinine et le sulforaphane a été capable d'inverser cette altération (De Souza CG *et al.*, 2012). Un prétraitement par sulforaphane chez des souris serait capable de bloquer le développement d'un diabète de type 1 induit par streptozotocine (Song MY *et al.*, 2009).

Les facteurs étiologiques impliqués dans le développement du diabète de type 2 sont nombreux et complexes comme l'obésité, l'inflammation systémique chronique, la stéatose hépatique, l'hyperlipidémie, une résistance à l'insuline ... Une étude a cherché le rôle de Nrf2 dans la prévention de la stéatose hépatique, la résistance à l'insuline, l'obésité et le diabète de type 2. L'obésité et l'accumulation de graisse dans les tissus adipeux ont été significativement diminuées chez des souris nourries avec une nourriture très grasse additionnée de sulforaphane et Xu J *et al.* ont remarqué chez elles une augmentation de l'expression du gène Nrf2 comparativement aux souris qui n'ont pas eu de sulforaphane (Xu J *et al.*, 2012).

Ces résultats suggèrent que la résistance à l'insuline, le syndrome métabolique et le diabète pourraient être évités par des effets organisés par le sulforaphane sur l'expression et la fonction Nrf2.

### **III.E.5.2 Le sulforaphane protègerait des complications du diabète**

Le diabète de type 2 est un désordre complexe endocrinien et métabolique avec une prévalence élevée dans le monde entier. En plus de la résistance à l'insuline et le dysfonctionnement des cellules Bêta des ilots de Langerhans, l'augmentation du stress oxydatif et de l'inflammation jouent un rôle clé dans le développement du diabète de type 2 et la progression des complications micro et macro vasculaires. La consommation d'aliments fonctionnels et de leurs composants « nutraceutiques » comme traitement complémentaire, est une nouvelle approche dans la gestion du diabète et la prévention de ses complications à long terme (Dämon S *et al.*, 2011) (Evans JL *et al.*, 2002).

#### **III.E.5.2.1 Etude *in vitro***

Une étude, effectuée *in vitro* sur des cellules endothéliales humaines, met en évidence que le sulforaphane, par l'activation de Nrf2, empêcherait le dysfonctionnement biochimique des cellules endothéliales induit par l'hyperglycémie (Xue M *et al.*, 2008).

#### **III.E.5.2.2 Etude *in vivo***

Un groupe de recherche a montré que les souris diabétiques traitées par du sulforaphane pendant trois mois auraient montré une incidence réduite de maladies cardiovasculaires à la fin du traitement et également au bout de 6 mois (Bai Y *et al.*, 2013).

### III.E.5.2.3 Les différents mécanismes du sulforaphane pour lutter contre les complications du diabète et leurs études :

Le sulforaphane serait utile pour lutter contre les complications du diabète. De nombreuses études ont été faites chez des patients ayant un diabète de type 2. On sait que les complications des diabètes de type 1 et 2 sont semblables. Le sulforaphane va agir avec des effets variés décrits ci-dessous pour lutter contre les complications (figure 26).

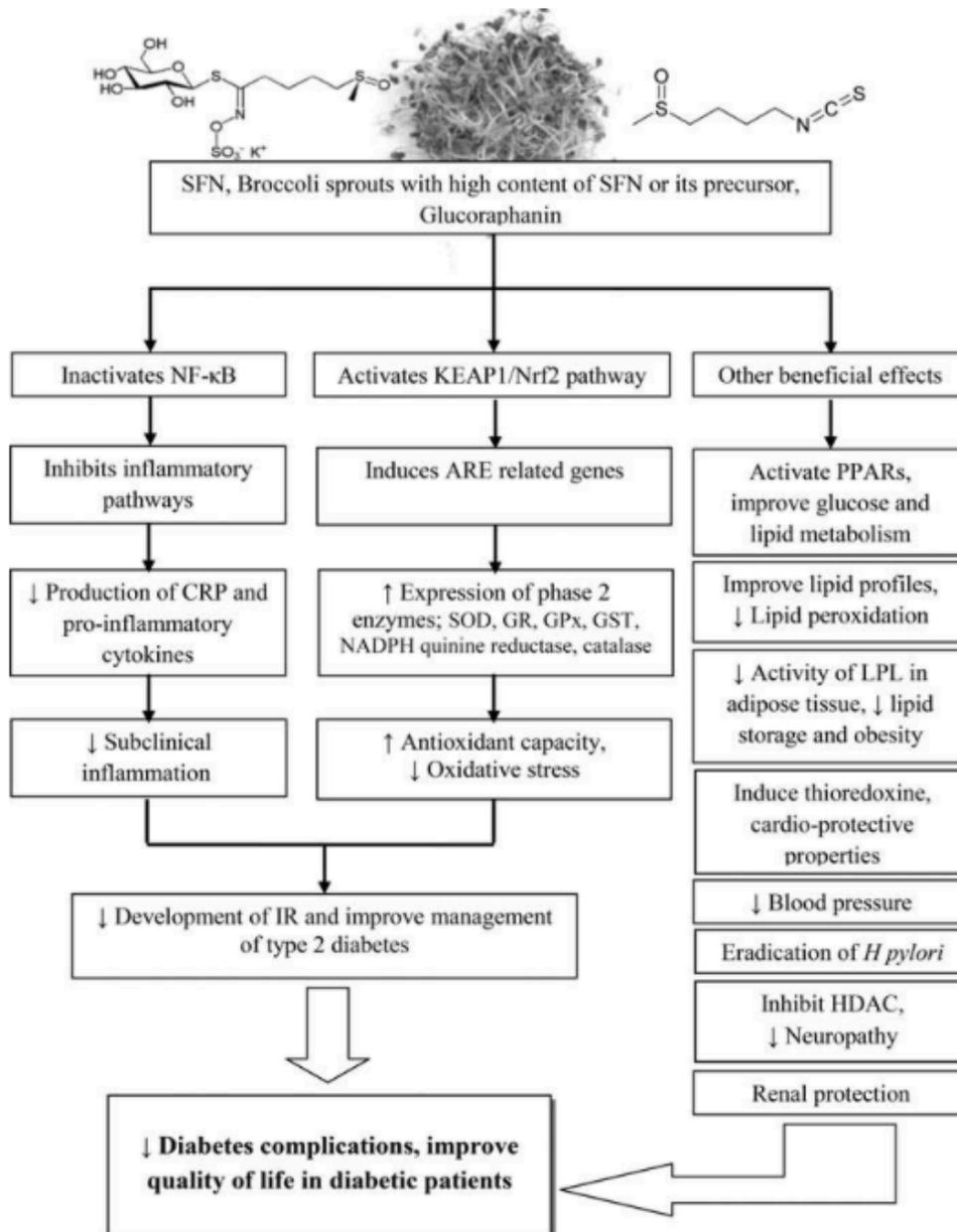


Figure 26 : Propriétés potentielles du sulforaphane des pousses de brocolis expliquant son intérêt dans la prise en charge du diabète de type 2 (Tiré de Bahadoran et al., 2013).

- Effet anti oxydatif :

Comme il a été vu précédemment, l'effet oxydatif a un rôle clé dans les complications du diabète. Récemment, dans une étude randomisée en double aveugle avec placebo incluant 81 personnes, les effets de hautes doses de sulforaphane (22.5micromol / g) contenues dans de la poudre de germes de brocolis ont été étudiés sur le stress oxydatif chez des patients ayant un diabète de type 2. Quatre semaines de supplémentation avec 10 grammes par jour de poudre de germes de brocolis ont entraîné une diminution significative des taux de la malondialdéhyde et des lipoprotéines de basse densité (LDL) oxydés. Des consommations de 5 et 10 grammes par jour de germes de brocolis en poudre ont augmenté de manière significative la capacité antioxydante totale et ont diminué l'indice de stress oxydatif, défini comme le rapport de l'état d'oxydation totale de la capacité antioxydante totale (Bahadoran Z *et al.*, 2011).

Il a été vu plusieurs fois que le sulforaphane aurait des effets anti-oxydatifs et anti-inflammatoires très utiles pour lutter contre les complications du diabète mais qu'en est-il des autres effets ?

- Effet sur l'insulino résistance dans le diabète de type 2 :

On sait aussi que la résistance à l'insuline est à l'origine de complications métaboliques et cardiovasculaires du diabète (Lebovitz HE, 2001). Des études *in vitro* et *in vivo* révèlent que l'inflammation, l'augmentation du stress oxydatif, et l'accumulation de métabolites de peroxydation lipidique dans les muscles, le foie, les adipocytes et les cellules bêta du pancréas contribuent à l'insulino-résistance, le dysfonctionnement des cellules bêta et le développement du diabète de type 2 (Hoehn KL *et al.*, 2009) (Henriksen EJ *et al.*, 2011) (Park K *et al.*, 2009). La principale approche pharmacologique pour augmenter la sensibilité à l'insuline sont les biguanides et les thiazolidinediones. Mais une potentielle nouvelle approche est l'utilisation de composés antioxydants (Laakso M *et al.*, 2001).

Une étude a donc étudié, dans un essai randomisé en double aveugle sur 81 personnes, l'effet du sulforaphane sur la résistance à l'insuline dans le diabète de type 2. Après 4 semaines, les résultats sont une diminution de la concentration en insuline dans le sérum et de la résistance à l'insuline (Bahadoran Z *et al.*, 2012). On pense que ces effets seraient dus à la composante anti-oxydative et anti-inflammatoire du sulforaphane. Un autre mécanisme qui expliquerait l'effet du sulforaphane dans la diminution de la résistance à l'insuline serait son effet sur NF-kB car ce dernier est connu pour avoir un rôle clé dans la résistance à l'insuline et le diabète de type 2

avec ses complications. L'inhibition de cette voie en plus de la protection *in vitro* des cellules bêta pancréatiques augmente aussi la sensibilité à l'insuline (Patel S et Santani D, 2009). D'autres mécanismes seraient à l'étude ...

- Effet sur le métabolisme lipidique :

Dans le diabète de type 2, l'hypertriglycéridémie est connue comme un prédicteur puissant et indépendant de la maladie coronarienne. L'objectif principal du traitement hypolipémiant dans le diabète est de diminuer la triglycéridémie (Nicolucci A *et al.*, 2007).

Quelques études ont étudié les effets des brocolis sur le profil lipidique. Dans une expérimentation sur des animaux, l'administration d'un extrait éthanolique de pousses de brocoli selon 2 dosages 200 et 400 g / kg pendant 4 semaines chez les rats nourris avec un régime alimentaire riche en matières grasses a entraîné une diminution du taux de cholestérol sérique total, du LDL-cholestérol (LDL-C), des TG, du risque de facteurs cardiovasculaires (le rapport : cholestérol / haute densité de cholestérol des lipoprotéines [HDL-C]), et l'augmentation de HDL-C (Lee J *et al.*, 2009).

- Effet sur *Helicobacter pylori* :

Il a été vu dans la partie III.C que le sulforaphane avait une action protectrice contre les effets néfastes de *Helicobacter pylori*. Des études ont montré que l'infection à *H. pylori* chez les patients diabétiques pourrait interférer avec le contrôle glycémique. Cela entraînerait des valeurs plus élevées d'hémoglobine glyquée (HbA1c), une augmentation de l'inflammation et de la résistance à l'insuline. Cela favoriserait le développement des complications du diabète à long terme (Demir M *et al.*, 2008) (Hamed SA *et al.*, 2008) (Tanriverd O *et al.*, 2011).

Ainsi, si le sulforaphane permet l'éradication de *Helicobacter pylori*, il pourrait donc permettre chez les personnes diabétiques et infectées par *H. Pylori* de maintenir leur glycémie à des valeurs normales et de limiter les complications du diabète.

- Effets sur l'hypertension artérielle :

L'augmentation de la pression artérielle chez les patients ayant un diabète de type 2 est un important facteur de risque cardiovasculaire. L'augmentation du stress oxydatif, la production de peroxy-nitrites, et l'épuisement des GSH réduit vus dans le diabète pourraient entraîner le développement de l'hypertension artérielle (Jesmin J *et al.*, 2010). Il a été vu précédemment,

dans la partie III.E.3 dans l'étude de Wu L *et al.* que le sulforaphane serait capable de faire varier la pression artérielle.

- Effets sur certains cancers :

L'apparition de certains cancers fait partie des complications du diabète. Il a été vu dans la partie III.B.2 que le sulforaphane avait potentiellement un rôle dans la prévention de ceux-ci.

- Effets sur la prévention de la néphropathie du diabétique :

De nombreuses études ont observé que l'activation de la voie de signalisation de la réponse antioxydante Nrf2-dépendante peut avoir un potentiel thérapeutique pour la prévention de la néphropathie diabétique (Li B *et al.*, 2012).

Sur la base de cette hypothèse, Cui *et al.* ont récemment montré que le traitement du modèle de souris diabétique avec 0,5 mg de sulforaphane par kg de poids corporel pendant 3 mois empêcherait la fibrose rénale induite par le diabète, l'inflammation, le stress oxydatif, et protégerait contre la néphropathie diabétique par l'intermédiaire d'une régulation positive des gènes Nrf2 des reins (Cui W *et al.* 2012).

- Effets sur la prévention de la fibrose :

Le facteur beta de croissance transformant (TGF- $\beta$  : cytokine profibrotique principale qui contribue au développement de la fibrose hépatique) peut être inhibé par l'activation de Nrf2 par le sulforaphane d'après l'étude de Oh CJ *et al.* De plus, le sulforaphane pourrait prévenir les effets profibrotiques de l'hyperglycémie dans les cellules tubulaires rénales par la régulation positive de la voie de signalisation Nrf2 (Cui W *et al.*, 2012).

Toutes ces complications du diabète montrent que les traitements actuels ne sont pas suffisants pour les limiter et que l'utilisation de traitements supplémentaires comme par exemple les aliments fonctionnels comme les brocolis pourraient être d'une grande aide. Le sulforaphane notamment, d'après les études *in vitro*, *in vivo* et cliniques vues ci-dessus, a montré une probable efficacité et donc une utilité comme supplément au traitement et des complications du diabète.

### **III.E.6 Etudes sur l'activité anti-cholestérolémiante.**

#### ***III.E.6.1 Etudes in vivo***

Une étude a examiné les effets anti-cholestérolémiants des brocolis par rapport à d'autres légumes chez des rats nourris avec une source de cholestérol. Les rats qui ont consommé des brocolis présenteraient une hypercholestérolémie plus faible que les autres. Ils en ont conclu que la consommation quotidienne de brocolis pourrait abaisser les taux sériques de cholestérol total et de LDL cholestérol chez les patients présentant une hypercholestérolémie (Suido H *et al.*, 2003).

Le mécanisme des effets des pousses de brocolis sur le métabolisme des lipides n'est pas très clair. Cependant, une étude *in vitro* a montré que les composés des phytonutriments dans les brocolis, tels que les isothiocyanates, se lient aux acides biliaires et réduisent l'absorption des graisses (Kahlon TS *et al.*, 2007).

#### ***III.E.6.2 Etudes cliniques***

Une étude de phase 1 réalisée sur un petit échantillon de 12 personnes a montré qu'un apport d'une semaine de germes de brocoli a diminué le LDL cholestérol, le cholestérol total et augmenté le HDL cholestérol chez un être humain en bonne santé (Murashima M *et al.*, 2004).

En revanche, dans un essai clinique en double aveugle, l'ingestion de 10 grammes par jour de pousses de brocoli en poudre pendant 4 semaines d'intervention chez des patients souffrant d'hypertension, n'a eu aucun effet sur les taux de LDL-C, le cholestérol total et HDL-C (Christiansen B *et al.*, 2010).

Une étude récente a été faite sur 130 volontaires qui ont été randomisés en deux bras. Dans chaque groupe, une partie de la population a consommé 400 grammes de brocolis par semaine pendant 12 semaines et l'autre 400 grammes de brocolis par semaine également mais qui ont été enrichis en glucoraphanine, précurseur du sulforaphane. Dans les 2 cas, il a été observé une diminution du LDL cholestérol, cependant la baisse était environ 2 fois plus élevée avec les brocolis enrichis en glucoraphanine. Cela montre une probable efficacité du sulforaphane contre les dyslipidémies. Cet effet serait dû à la diminution de la synthèse du cholestérol (Armah CN *et al.*, 2015).

On a donc vu que les brocolis, grâce à leur composition riche en sulforaphane, auraient un rôle dans la diminution de l'hypercholestérolémie. Le mécanisme de cet effet n'est cependant pas complètement élucidé.

### **III.E.7 Application clinique du sulforaphane dans la prévention des maladies cardiovasculaires.**

Il a été vu précédemment que le sulforaphane aurait des effets positifs *in vitro*, *in vivo* et dans des études cliniques sur la protection contre les pathologies cardiovasculaires. Cependant, il n'y a pas d'études sur l'identification de la consommation optimale pour avoir les effets attendus du sulforaphane chez les hommes. Depuis que l'on sait que les brocolis contiennent du sulforaphane il est recommandé d'en consommer régulièrement en prévention des pathologies cardiovasculaires. Saha *et al.* ont indiqué que l'extraction de 100-200 mg de poudre de brocoli, en utilisant une série d'étapes de purification, fournissait une dose raisonnable de sulforaphane de 23,5  $\mu\text{mol}$  (Saha S *et al.*, 2012). De plus, Cramer *et al.* ont montré que l'incubation de brocolis frais dans de l'eau, à température ambiante pendant 24 h avec l'addition de 0,8 U de myrosinase a produit 1,69  $\mu\text{mol}$  de sulforaphane par gramme de poids frais en moyenne (Cramer JM *et al.*, 2012).

Ces taux de sulforaphane présents dans les brocolis sont à mettre en relation avec la quantité de sulforaphane qu'il est nécessaire d'ingérer pour atteindre les niveaux de prévention des maladies cardiovasculaires.

Il a été montré que 10  $\mu\text{mol}$  de sulforaphane pourrait protéger les cardiomyocytes *in vitro* et que 0,5 mg / kg (2,8  $\mu\text{mol}$  / kg) de sulforaphane pourrait prévenir les maladies cardiovasculaires chez les souris diabétiques induites par STZ. Selon la formule de conversion entre les souris et l'homme (Blanchard OL et Smoliga JM, 2015), la dose efficace de sulforaphane chez l'homme est supposée être de 0,05 mg / kg (0,28  $\mu\text{mol}$  / kg) par jour. Autrement dit, si un homme a un poids corporel de 70 kg, la dose de sulforaphane nécessaire pour observer des effets bénéfiques pour la santé sera de 19,6  $\mu\text{mol}$  par jour, ce qui correspond à une consommation de brocoli frais d'environ 12 g par jour. Elle est beaucoup plus faible que la dose (150  $\mu\text{mol}$  par jour) utilisée dans l'essai de chimio prévention du cancer qui n'avait pas montré d'effets toxiques (Latté KP *et al.*, 2011.).

Par conséquent, cela implique que le sulforaphane serait bien toléré s'il était utilisé aux doses

théoriques cliniquement efficaces dans la prévention des maladies cardiovasculaires.

Pour conclure, la consommation de brocolis, grâce à ses probables effets antioxydants, en activant Nrf2 pourrait donc prévenir les maladies cardiovasculaires. De plus, la consommation requise de sulforaphane est facile à obtenir, compatible avec une alimentation raisonnable, dans les recommandations du PNNS 2016 et inoffensive pour l'homme. Cependant, d'autres essais cliniques seraient nécessaires afin d'étudier les effets et la dose optimale de sulforaphane dans la prévention des maladies cardiovasculaires.

Les brocolis auraient donc de multiples effets positifs sur la santé de l'homme. Comment en obtenir tous les bienfaits ? Nous allons voir par la suite que le meilleur moyen est d'en consommer régulièrement en les cuisant à la vapeur.

## **IV. DISCUSSION : Concentration en sulforaphane efficace pour avoir le meilleur apport qualitatif, différentes manières de l'obtenir et risques possibles avec de fortes doses.**

### **IV.A Concentration en glucosinolates efficace pour apporter les effets bénéfiques du brocoli pour la prévention des cancers**

Le brocoli est une des meilleures sources en sulforaphane. Une portion peut contenir, selon la saison, le tri et la fraîcheur, jusqu'à 60 mg de glucoraphanine, le précurseur du sulforaphane. Les concentrations traditionnelles de sulforaphane qui inhiberaient la croissance de xénogreffes de cancer humain chez la souris sont de 4,4 mg / kg par jour (Kallifatidis G *et al.*, 2009). Celles-ci correspondent à 330 mg par jour de sulforaphane calculée pour une personne de 75 kg. Cette quantité de sulforaphane est difficile à atteindre par la consommation de brocoli seule, car elle correspond à six brocolis crus entiers qui devraient être consommés par jour sur la base de 55 mg de glucoraphanines présents en moyenne dans 500 g de brocoli. Les pousses de brocolis contiennent 20 à 100 fois plus de glucoraphanines que les brocolis matures tandis que la teneur en sulforaphane, l'un des produits de dégradation des glucoraphanines, est 10 fois supérieure à celle dans les plantes matures (Fahey JW *et al.*, 1997).

### **IV.B Différentes manières d'obtenir cette concentration efficace en glucosinolates.**

#### **IV.B.1 Effets des différents modes de cuisson sur la composition du brocoli et amélioration de sa qualité nutritionnelle par élicitation.**

##### ***IV.B.1.1 Introduction***

Le brocoli contient de nombreux composés favorables à un bon état de santé. Il a été décrit comme un légume avec une valeur nutritionnelle élevée. La cuisson de ce légume peut malheureusement diminuer l'apport nutritif qu'il procure à l'état cru. Cependant, l'apport gustatif est beaucoup plus agréable lorsqu'il est cuit. C'est pour cela qu'il faut connaître la méthode de cuisson la plus adaptée.

Un article paru dans un journal d'une université d'horticulture de chine a présenté les effets des différents modes de cuisson sur la composition du brocoli (Yuan G *et al.*, 2009).

#### ***IV.B.1.2 Mise en abime d'une étude de Yuan et al. de l'université d'horticulture de Chine sur les effets des différents modes de cuisson sur le brocoli.***

##### **IV.B.1.2.1 Description de l'étude**

De nombreuses études ont démontré que les vertus du brocoli sont diminuées lors de la cuisson par des changements significatifs dans sa composition chimique. En effet, cela affecterait la biodisponibilité et le contenu des composés bénéfiques. Par exemple, il y aurait généralement une diminution de la teneur en vitamine C, caroténoïdes, polyphénols, glucosinolates dans les brocolis (Cieslik E *et al.*, 2007).

Dans l'Ouest du monde le brocoli est généralement d'avantage cuit par ébullition ou au micro-ondes, alors que dans l'Est (chine particulièrement), le brocoli est généralement d'avantage saisi dans un wok avec de l'huile (Liu XQ et Li YH, 2000).

L'objectif de l'étude de Yuan G *et al.* était d'analyser les effets de 5 types de cuisson sur les teneurs en vitamine C, les protéines solubles, les sucres, les caroténoïdes et les glucosinolates dans le brocoli. Ils ont utilisé pour les tests, des brocolis (*Brassica oleracea* var. *italica* cv. *Youxiu*) récoltés dans la matinée lorsqu'il faisait frais et ramenés au laboratoire en 10 minutes, c'est-à-dire préparés extemporanément.

Les 5 types de cuisson étaient : sautés, l'ébullition, la cuisson vapeur, le micro-ondes, et portés à ébullition puis sautés. Toutes les méthodes de cuisson utilisées ont été testées et refaites 3 fois en essais randomisés.

##### **IV.B.1.2.2 Résultats de cette étude**

- Effets de la cuisson sur la chlorophylle : La teneur en chlorophylle après cuisson par ébullition, sauté, ébullition puis sauté, et micro-ondes dans le brocoli était réduite respectivement de 27%, 23%, 18% et 16% ( $P < 0,05$ ) alors qu'il n'y avait pas de changement avec la cuisson vapeur.
- Effets de la cuisson sur les protéines solubles et sucres solubles : leurs teneurs étaient significativement affectées par tous les types de cuisson. La meilleure méthode serait la cuisson vapeur alors que les moins bonnes pour les protéines seraient l'ébullition et l'ébullition puis sauté. Les moins bonnes méthodes de cuisson pour les sucres seraient sauté ainsi que l'ébullition puis sauté.

- Effets de la cuisson sur la vitamine C et les caroténoïdes totaux : toutes les cuissons, sauf la cuisson à la vapeur, ont causé des pertes très élevées en vitamine C ( $P < 0,05$ ). La perte la plus élevée observée était après ébullition puis sauté ainsi que l'ébullition (38% et 33% respectivement), suivie de la cuisson par micro-ondes et sauté (16% et 24% respectivement).

Les cuissons par micro-ondes, vapeur, sauté ont gardé quasiment la totalité des caroténoïdes totaux alors que l'ébullition et l'ébullition puis sauté ont causé la perte de 13% et 28% respectivement ( $P < 0,05$ ).

- Effets de la cuisson sur les glucosinolates totaux (aliphatiques et indoles) : le contenu des glucosinolates totaux dans le brocoli après cuisson est présenté dans la figure 27. On a vu que, si le contenu en glucosinolates aliphatiques totaux avait bien diminué avec toutes les cuissons de 55%, 54%, 60% et 41%, respectivement avec sauté, ébullition + sauté, micro-ondes, et ébullition, la cuisson vapeur n'avait pas modifié le contenu en glucosinolates aliphatiques. Par contre le contenu en glucosinolates indoles totaux avait significativement diminué avec toutes les cuissons ( $P < 0,05$ ).

De plus, le taux de perte en indoles glucosinolates totaux dans le brocoli était significativement supérieur au taux de perte en glucosinolates aliphatiques totaux avec tous les types de cuisson sauf la cuisson par micro-ondes ( $P < 0,05$ ).

Type	Trivial name	Glucosinolate side chain
AG	Glucoraphanin	4-Methylsulphinylbutyl
	Glucobrassicin	3-Methylsulfinylpropyl
	Progoitrin	2(R)-2-hydroxy-3-butenyl
IG	Glucobrassicin	3-Indolylmethyl
	Neoglucobrassicin	1-Methoxy-3-indolylmethyl
	4-Methoxyglucobrassicin	4-Methoxy-3-indolylmethyl

AG: aliphatic glucosinolates; IG: indole glucosinolates

Tableau 4 : Glucosinolates identifiés dans le brocoli (*Brassica oleracea L. var. italica cv. Youxiu*) (Tiré de Yuan G et al., 2009).

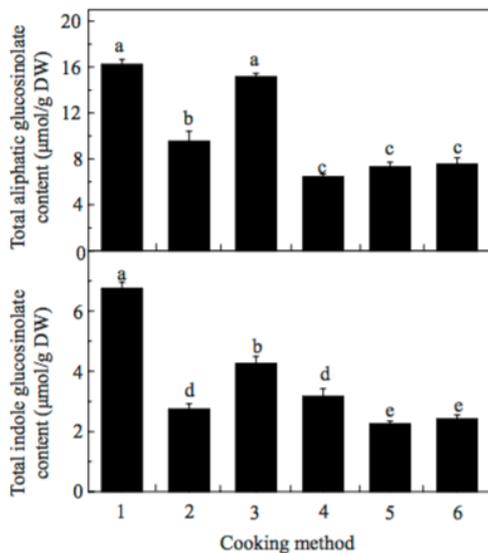


Figure 27 : Le contenu en aliphatique total et indole glucosinolates dans le brocoli cuit par différentes méthodes : chaque valeur est la moyenne de trois échantillons répétés (Tiré de de Yuan G et al.).

DW : dry weight. 1 : brut ; 2 : ébullition, 3 : vapeur ; 4 : micro-ondes ; 5 : sautés ; 6 : ébullition puis sauté.

(Les valeurs ne partageant pas une lettre commune sont significativement différentes de  $P < 0,05$ .)

#### IV.B.1.2.3 Discussion

Cinq types de cuisson différente ont été testés sur le brocoli dans cette étude pour ensuite analyser les changements dans sa composition.

Le degré de verdure des légumes verts dû à la chlorophylle est important pour en vérifier leur qualité (Nisha P *et al.*, 2004). La chlorophylle aurait des effets anticarcinogènes et antimutagènes d'après Turkmen *et al.* (Turkmen N *et al.*, 2006). D'après l'étude, toutes les cuissons sauf la cuisson vapeur diminueraient la teneur en chlorophylle.

De plus toutes les cuissons ont produit de grandes pertes en protéines solubles et sucres solubles surtout l'ébullition suivie de sauté et l'ébullition car il y a des pertes par lixiviation à l'eau. (Yuan G *et al.*, 2009).

La vitamine C serait l'un des composés les plus importants du brocoli et a un rôle important pour le corps humain (Lee SK et Kader AA, 2000). La concentration en vitamine C dans le brocoli après cuisson est en général diminuée (Serrano M *et al.*, 2006). En effet, d'après l'étude, l'ébullition, la cuisson micro-ondes et le fait de les faire sauter avec de l'huile produiraient des pertes considérables en vitamine C.

Les caroténoïdes seraient mieux conservés que la vitamine C. L'ébullition seule et l'ébullition puis sautés feraient perdre aux brocolis respectivement 13% et 28% en caroténoïdes alors que le micro-ondes, la vapeur et sauté ne feraient aucun changement.

**Toutes les cuissons diminueraient les quantités respectives de glucosinolates d'après Yuan G *et al.***

La composition en glucosinolates ne reflète pas forcément la composition en isothiocyanates correspondants (Matusheski NV *et al.*, 2006). Le brocoli subit une série de stress pendant la récolte et l'entreposage ce qui peut modifier sa composition en glucosinolates. Par exemple, la coupe des brocolis avant cuisson induit une dégradation de la myrosinase donc les glucosinolates seront moins hydrolysés.

Cuisiner les brocolis affecterait la composition en glucosinolates comme vu précédemment. Cependant d'autres facteurs entrent en jeu comme le temps de cuisson et les dégâts de la température sur les tissus du brocoli.

Néanmoins, il apparaîtrait que la cuisson vapeur préserverait la totalité des glucosinolates dans les Brassicacées (Song L et Thornalley PJ, 2007), parfois elle en augmenterait même la quantité dans les brocolis (Miglio C *et al.*, 2008). La bonne préservation ou l'augmentation des glucosinolates pourrait être partiellement expliquée par l'inactivation de la myrosinase et par la dégradation des tissus de la plante par la chaleur (Vallejo F *et al.*, 2002), car une partie de ses molécules serait liée aux parois cellulaires et libérée seulement après effondrement des structures cellulaires (Gliszczyńska-Swigło A *et al.*, 2006).

Cela s'approche des conclusions de l'étude : en effet, la vapeur n'avait pas affecté le contenu en glucosinolates aliphatiques alors que les glucosinolates indoles avaient diminué de 37%. Les différences observées entre les études pourraient être dues à des différences de taille de coupe, de morphologie du brocoli et du temps de cuisson à la vapeur (Yuan G *et al.*, 2009).

Il avait été rapporté que l'ébullition produisait une grande perte en glucosinolates dans les végétaux (Ciska E et Kozłowska H, 2001). L'étude de Yuan G *et al.* a montré que les quantités de glucosinolates aliphatiques et indoles ont été significativement diminuées par l'ébullition ou l'ébullition puis sauté (41% et 60% respectivement). Cela vient du fait que les glucosinolates sont solubles dans l'eau et sont généralement perdus pendant la cuisson classique en raison de la lixiviation dans l'eau environnante avec la lyse cellulaire (Gliszczyńska-Swigło A *et al.*, 2006). D'autre part, la dégradation par la chaleur se passe à très haute température (Oerlemans K *et al.*, 2006).

D'après Yuan G *et al.*, La cuisson du brocoli au micro-ondes produirait les mêmes effets que sauté et porté à ébullition puis sauté, c'est-à-dire des pertes élevées en glucosinolates. Ce mode de cuisson aurait des effets controversés sur la teneur en glucosinolates, cela serait dû aux différentes conditions d'utilisation (temps, watt, eau) (Yuan G *et al.*, 2009). La perte élevée s'expliquerait par le volume élevé d'eau perdu par évaporation (López-Berenguer C *et al.*, 2007). L'étude de Yuan G *et al.* a montré que 5 min à 1000 watt inactiverait la myrosinase : les glucosinolates resteraient donc en quantité élevée.

Une autre étude montre que lorsque l'on cuit les brocolis de 3 à 5 min à 200°C, la quantité de glucosinolates ne serait pas modifiée (Song LJ and Thornalley PJ, 2007). Dans l'huile à 200°C, la myrosinase est inactivée donc la réaction enzymatique avec les glucosinolates n'a pas lieu alors qu'à 130/140°C dans l'étude de Yuan G *et al.*, il y avait une diminution des glucosinolates par dégradation thermique et/ou enzymatique.

Les glucosinolates aliphatiques seraient plus stables que les indoles après la récolte et après les avoir cuisinés dans la famille des Brassicacées (Cieslik E *et al.*, 2007). Dans l'étude de Yuan G *et al.*, il était décrit que la perte en indoles était significativement plus élevée que la perte en aliphatiques dans les brocolis avec toutes les cuissons sauf au micro-ondes. D'après une autre étude, la perte en indoles totaux après ébullition, cuisson vapeur, micro-ondes était supérieure à la perte en aliphatiques totaux (Vallejo F *et al.*, 2002). Il y a donc un résultat contraire qui est celui du micro-ondes.

Les glucosinolates individuels dans les aliphatiques ou indoliques subissent des taux de pertes différents. Par exemple les glucobrassicines ont le taux de perte le plus élevé (Yuan G *et al.*, 2009).

#### **IV.B.1.2.5 Conclusion**

Ces études montrent que les différentes façons de cuisiner le brocoli diminuent ses qualités nutritives et ses effets bénéfiques pour la santé.

Toutes les cuissons, sauf la cuisson vapeur, causeraient des pertes élevées en chlorophylle et vitamine C alors que seule l'ébullition et les faire sauter avec de l'huile produiraient la perte totale des caroténoïdes.

Toutes les cuissons produiraient une diminution significative des protéines totales solubles et sucres solubles bien que la vapeur produise la plus faible diminution.

Tous les glucosinolates seraient significativement modifiés par toutes les cuissons sauf la cuisson par la vapeur qui ne modifierait pas les aliphatiques. **La cuisson vapeur est celle qui produirait le moins de perte en glucosinolates** à l'inverse de les faire sauter ou bouillir puis sauter. La perte en glucobrassicines serait supérieure aux autres glucosinolates.

**La cuisson vapeur serait donc la meilleure pour conserver les bienfaits des brocolis. En effet, c'est elle qui a produit le moins d'effets sur la chlorophylle, les protéines et sucres solubles, la vitamine C et les glucosinolates.**

Les brocolis sautés ou bouillis puis sautés, méthodes très utilisées en Chine, causeraient des pertes importantes en composés essentiels aux effets bénéfiques sur la santé (Yuan G *et al.*, 2009).

#### ***IV.B.1.3 Amélioration de la qualité nutritionnelle des pousses de brocoli par élicitation***

Les métabolites secondaires des brocolis leur procurent une capacité d'adaptation aux changements environnementaux et sont impliqués dans leur système de défense (protection contre les agents pathogènes, les insectes et les UV). Pour améliorer la composition qualitative des brocolis, l'administration d'éliciteurs biotiques (agents pathogènes) ou abiotiques (froid, stress hydrique ...) qui stimulent les défenses ou les réponses au stress et la synthèse de métabolites végétaux secondaires serait considérée comme une stratégie appropriée. La nature et la dose de l'éliciteur affectent fortement les différentes classes et la concentration de ces métabolites végétaux secondaires (Baenas N *et al.*, 2014).

Par exemple, d'après une étude, l'addition de chlorure de sodium ne procurerait pas de changements significatifs sur les glucoraphanines. En revanche, le sucrose et le mannitol augmenteraient les glucosinolates en fonction de leurs concentrations. De plus, la composition en composés phénoliques totaux et flavonoïdes totaux serait significativement modifiée par l'ajout de concentrations dépendantes de mannitol, sucrose, chlorure de sodium, acide 1-aminocyclopropane-1-carboxylique et acide salicylique. Après ajout de sucrose, il y aurait également une augmentation significative des anthocyanes totaux (Natella F *et al.*, 2016). Enfin, la fumigation d'ozone augmenterait les concentrations en beta-carotène chez *Brassica pekinensis* et en  $\alpha$ -tocopherol chez *Brassica oleracea* var. *italica* (Rozpadek P *et al.*, 2015).

Ces résultats montrent que l'addition d'un éliciteur peut être un moyen efficace pour enrichir les germes de brocoli en molécules bioactives favorisant un apport qualitatif élevé.

#### **IV.B.2 Autres possibilités pour obtenir la quantité optimale de sulforaphane afin d'avoir les effets attendus : brocolis génétiquement modifiés, compléments alimentaires ...**

Généralement, pour la prévention de certaines maladies, comme il a été vu précédemment, la consommation de brocolis dans des quantités normales (une fois par semaine) peut suffire. Cependant, vu la proportion de brocolis qu'il faudrait avaler pour avoir certains effets attendus dans des pathologies, certaines personnes ont essayé de développer des brocolis génétiquement modifiés plus riches en glucoraphanines. En effet, des brocolis génétiquement modifiés appelés « Beneforte® » brocolis ont des quantités de glucoraphanines allant de 2,5 à 3 fois supérieures aux brocolis non modifiés (Traka MH *et al.*, 2013). Richard Mithen et son équipe ont également cherché à créer un « super brocoli ». Ils en ont conclu qu'un seul gène est probablement responsable de niveaux élevés de composés contenant du soufre dans de nouvelles variétés commerciales de brocolis (Crop sciences, 2013).

D'autres méthodes sont en train d'être mises au point pour avoir la quantité désirée de sulforaphane directement à l'endroit voulu sans avoir à manger de grandes quantités de brocolis, donc en limitant aussi les risques de modification de l'INR chez les patients sous anti-vitamine K et d'autres effets. En effet, dans l'arthrose, un nouveau traitement serait en cours d'évaluation avec une formulation injectable en intra-articulaire (Ko JY *et al.*, 2013). De plus, une équipe a fait une étude pour étudier la stabilité du sulforaphane dans une formulation topique (Franklin SJ *et al.*, 2014).

Alternativement, il existe des compléments alimentaires de pousses de brocoli lyophilisées ou directement de molécules dérivées du brocoli disponibles dans le commerce (figure 28 et figure 29). Certains de ces produits contiennent jusqu'à 10 mg de sulforaphane par comprimé.



Figure 28 : Extrait de brocoli Solgar®.



Figure 29 : Prostaphane® (Tiré de Prostaphane®, <http://www.prostaphane.fr>).

Prostaphane® est conseillé comme un « Complément alimentaire destiné aux hommes ressentant les premiers signes du vieillissement physiologique de la prostate tels qu'une envie fréquente d'uriner, un affaiblissement du jet, une sensation de ne pas vider complètement sa vessie... ». Le laboratoire Nutrinov® a réussi à produire un complément alimentaire à base de sulforaphane libre et stabilisé. Il doit cependant se conserver au réfrigérateur à une température allant de 4 à 8 degrés Celsius. Prostaphane® est produit à partir de graines de brocoli. Ces graines ont été récoltées en Europe et ont été sélectionnées pour leur qualité et leur teneur en sulforaphane. La graine a subi tout d'abord une étape de déshuilage qui consiste à retirer l'huile contenue dans la graine. La farine obtenue a été soumise à différentes étapes d'extraction de façon à préserver le sulforaphane. Une fois extrait, le sulforaphane a été stabilisé par micro encapsulation selon un procédé spécifique breveté. Ce procédé a permis l'obtention d'une poudre concentrée en sulforaphane libre et stabilisée. Cette poudre a été finalement intégrée dans un comprimé de façon à délivrer 10 mg de sulforaphane par comprimé. Un comprimé renferme l'équivalent de 100 grammes de brocoli cru. La posologie est de 1 à 3 comprimés par

jour au cours du repas voire 6 dans certains cas. Les personnes en hypothyroïdie ou ayant un traitement de la thyroïde doivent consulter leur médecin (Prostaphane, <http://www.prostaphane.fr>).

Cependant, les doses thérapeutiques actives de sulforaphane n'ont pas été déterminées dans des études cliniques à ce jour et les doses actives chez la souris ne peuvent pas être comparées à celles qui sont actives chez l'homme. Lors du calcul de la quantité de sulforaphane provenant de l'alimentation, il doit être considéré que, seulement environ 20% des glucoraphanines sont biodisponibles et métabolisées en sulforaphane. Ce pourcentage de glucoraphanine peut être augmenté en mâchant les légumes plus longtemps pour assurer la libération de la myrosinase et éviter l'ébullition qui inactive la myrosinase (Shapiro *TA et al.*, 2001).

#### **IV.C Risques possibles avec de fortes doses**

Dans une étude de Lai RH *et al.*, il a été administré de fortes doses de glucoraphanine à des rats pour en vérifier l'innocuité. Les rats ont reçu par gavage 240 mg/kg de glucoraphanine quotidiennement pendant quatre jours. L'examen histopathologique n'a révélé aucun tissu anormal autre que le caecum, où l'inflammation dépendait de la dose, légère à 120 mg / kg et sévère à 240 mg / kg, qui est une dose fortement supra-physiologique. Il a été conclu que des doses allant de 30 à 60 mg/kg de glucoraphanines sont sûres et permettraient une amélioration de la fonction hépatique et pulmonaire grâce à un effet antioxydant et chimiopréventif (Lai RH *et al.*, 2008).

## Conclusion

La composition complexe et riche du brocoli en composés bénéfiques en fait un légume de choix pour l'alimentation humaine afin de garder le meilleur état de santé possible. En effet, il a été démontré qu'un des composés présent en quantité importante dans le brocoli, le sulforaphane, présenterait des effets bénéfiques pour l'homme comme par exemple la prévention des maladies cardiovasculaires et des cancers. Le sulforaphane aurait également des effets dans les neurodégénérescences, dans l'éradication de *Helicobacter pylori*, et dans des processus inflammatoires tels que l'arthrose... Certains n'hésitent pas à extrapoler ces effets bénéfiques sur la santé et à proposer un intérêt futur pour le traitement de certains cancers !

Il ne faut tout de même pas en abuser et s'en méfier dans certains cas. En effet, les brocolis peuvent présenter quelques effets indésirables dûs à la présence de vitamine K capable de modifier l'INR donc à risque chez les personnes sous traitement anti-vitamine-K (Gigon, 2009). De plus, les brocolis sont des aliments fermentescibles donc peuvent occasionner un inconfort digestif (ballonnements, gaz...) (Gigon, 2009). De par leur action sur les voies de détoxification hépatique, il conviendra également de faire attention lors de la prise régulière concomitante d'extraits de brocoli et de médicaments métabolisés par le foie.

Hormis ces effets indésirables qui touchent une minorité de personnes de manière très limitée, le brocoli est bien un légume de choix que l'on peut consommer régulièrement. En effet, des études récentes sur les risques possibles liés à la consommation de pousses de brocoli montrent qu'il présente une excellente tolérance et une absence totale de toxicité, notamment sur le foie et la thyroïde (Shapiro TA *et al.*, 2006). On pourra conclure par la formule d'Hippocrate : « que ta nourriture soit ton médicament et que ton médicament soit dans ta nourriture ».

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

### BIBLIOGRAPHIE OUVRAGES et ARTICLES.

- Ambrosone CB, McCann SE, Freudenheim JL, Marshall JR, Zhang Y, Shields PG. Breast cancer risk in premenopausal women is inversely associated with consumption of broccoli, a source of isothiocyanates, but is not modified by GST genotype. *Journal of Nutrition*. **2004**, 134 :1134–8.
  
- Angeloni C, Leoncini E, Malaguti M, Angelini S, Hrelia P, Hrelia S. Modulation of phase II enzymes by sulforaphane : implications for its cardioprotective potential. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **2009**, 57 :5615–5622.
  
- Armah CN, Derdemezis C, Traka MH, Dainty JR, Doleman JF, Saha S, Leung W, Potter JF, Lovegrove JA, Mithen RF. Diet rich in high glucoraphanin broccoli reduces plasma LDL cholesterol : Evidence from randomised controlled trials. *Molecular Nutrition and Food Research*. **2015**, 59 : 918–926.
  
- Baenas N, García-Viguera C, Moreno D. Elicitation : A Tool for Enriching the Bioactive Composition of Foods. *Molecules*. **2014**, 19 : 13541-13563.
  
- Bahadoran Z, Mirmiran P, Azizi F. Potential efficacy of broccoli sprouts as a unique supplement for management of type 2 diabetes and its complications. *Journal of Medicinal Food*. **2013**, 16 : 375–382.
  
- Bahadoran Z, Mirmiran P, Hosseinpanah F, Hedayati M, Hosseinpour-Niazi S and Azizi F. Broccoli sprouts reduce oxidative stress in type 2 diabetes : a randomized double-blind clinical trial. *European Journal of Clinical Nutrition*. **2011**, 65 :972–977.
  
- Bahadoran Z, Tohidi M, Nazeri P, Mehran M, Azizi F, Mirmiran P. Effect of broccoli sprouts on insulin resistance in type 2 diabetic patients : a randomized double-blind clinical trial. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. **2012**, 63 : 767–771.
  
- Bai Y, Cui W, Xin Y, Miao X, Barati MT, Zhang C, Chen Q, Tan Y, Cui T, Zheng Y, Cai L. Prevention by sulforaphane of diabetic cardiomyopathy is associated with up-regulation of Nrf2 expression and transcription activation. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. **2013**,

57 :82–95.

- Barceló S, Gardiner J.M, Gescher A, Chipman J.K. CYP2E1-mediated mechanism of anti-genotoxicity of the broccoli constituent sulforaphane. *Carcinogenesis*, **1996**, 17, 277–282.
  
- Bekkering T, Beynon R, Burke M, *et al.* The associations between food, nutrition and physical activity and the risk of prostate cancer and underlying mechanisms. Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer : a global perspective: *World Cancer Research Fund*, 2006.
  
- Bell GD, Powell K, Burridge SM, Pallearos A, Jones PH, Gant PW, Harrison G, Trowell JE. Experience with ‘triple’ anti-*Helicobacter pylori* eradication therapy : side effects and the importance of testing the pre-treatment bacterial isolate for metronidazole resistance. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*. **1992**, 6 :427–435.
  
- Benito E, Obrador A, Stiggelbout A, Bosch FX, Mulet M, Munoz N, Kaldor J. A population-based case-control study of colorectal cancer in Majorca. I. Dietary factors. *International Journal of Cancer*. **1990**, 45 :69–76.
  
- Bergström P, Andersson HC, Gao Y, Karlsson Jo, Nodin C, Anderson MF, Nilsson M, Hammarsten O. Repeated transient sulforaphane stimulation in astrocytes leads to prolonged Nrf2-mediated gene expression and protection from superoxide-induced damage. *Neuropharmacology*. **2011**, 60 :343–353.
  
- Blanchard OL, Smoliga JM. Translating dosages from animal models to human clinical trials- revisiting body surface area scaling. *The FASEB Journal*. **2015**, 29 :1629-34.
  
- Bonnesen C, Eggleston IM, Hayes JD. Dietary indoles and isothiocyanates that are generated from cruciferous vegetables can both stimulate apoptosis and confer protection against DNA damage in human colon cell lines. *Cancer Research*. **2001**, 61 : 6120–30
  
- Botineau M. Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Lavoisier 2010.1336p.
  
- Chang YW, Jang JY, Kim YH, Kim JW, Shim JJ. The effects of broccoli sprout extract

containing sulforaphane on lipid peroxidation and *Helicobacter pylori* infection in the gastric mucosa. *Gut and Liver*. **2015**, 9 :486-493.

- Chen XL, Dodd G, Kunsch C. Sulforaphane inhibits TNF-alpha-induced activation of p38 MAP kinase and VCAM-1 and MCP-1 expression in endothelial cells. *Inflammation Research*. **2009**, 58 : 513–521.

- Chiao JW, Chung FL, Kancherla R, Ahmed T, Mittelman A, Conaway CC. Sulforaphane and its metabolite mediate growth arrest and apoptosis in human prostate cancer cells. *International Journal of Oncology*. **2002**, 20 :631-6.

- Choi KM, Lee YS, Kim W *et al*. Sulforaphane attenuates obesity by inhibiting adipogenesis and activating the AMPK pathway in obese mice. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. **2014**, 25 :201-7.

- Choi KM, Lee YS, Sin DM, Lee S, Lee MK, Lee YM, Hong JT, Yun YP, Yoo HS. Sulforaphane inhibits mitotic clonal expansion during adipogenesis through cell cycle arrest. *Obesity (Silver Spring)*. **2012**, 20 :1365-71.

- Choi YJ, Lee WS, Lee EG, Sung MS, Yoo WH. Sulforaphane inhibits IL-1 $\beta$ -induced proliferation of rheumatoid arthritis synovial fibroblasts and the production of MMPs, COX-2, and PGE2. *Inflammation*. **2014**, 37 :1496–1503.

- Christiansen B, Bellostas Muguerza N, Petersen AM, *et al*. Ingestion of broccoli sprouts does not improve endothelial function in humans with hypertension. *PLoS One*. **2010**, 5 : e12461.

- Chuang WY, Kung PH, Kuo CY, Wu CC. Sulforaphane prevents human platelet aggregation through inhibiting the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway. *Thrombosis and Haemostasis*. **2013**, 109 :1120-30.

- Chung FL, Conaway CC, Rao CV, Reddy BS. Chemoprevention of colonic aberrant crypt foci in Fischer rats by sulforaphane and phenethyl isothiocyanate. *Carcinogenesis*. **2000**, 21 :2287–91.

- Cieslik E, Leszczyńska T, Filipiak-Florkiewicz A, Pisulewski PM. Effects of some technological processes on glucosinolate contents in cruciferous vegetables. *Food Chemistry*. **2007**, 105 : 976–981.
  
- Ciska E and Kozłowska H. The effect of cooking on the glucosinolates content in white cabbage. *European Food Research and Technology*. **2001** ; 212 :582–587.
  
- Coles BF, Kadlubar FF. Detoxification of electrophilic compounds by glutathione S-transferase catalysis : determinants of individual response to chemical carcinogens and chemotherapeutic drugs ? *Biofactors*. **2003**, 17 :115–30.
  
- Conaway CC, Wang CX, Pittman B, Yang, YM, Schwartz JE, Tian D, McIntee EJ, Hecht SS, Chung FL. Phenethyl isothiocyanate and sulforaphane and their N-acetylcysteine conjugates inhibit malignant progression of lung adenomas induced by tobacco carcinogens in A/J mice. *Cancer Research*. **2005**, 65 :8548–57.
  
- Cohen JH, Kristal AR, Stanford JL. Fruit and vegetable intakes and prostate cancer risk. *Journal of the National Cancer Institute*. **2000**, 92 :61–8.
  
- Cramer JM, Teran-Garcia M, Jeffery EH. Enhancing sulforaphane absorption and excretion in healthy men through the combined consumption of fresh broccoli sprouts and a glucoraphanin-rich powder. *British Journal of Nutrition*. **2012**, 107 :1333-8.
  
- Crop sciences : Super-broccoli secret solved. *Nature*. **2013**, 499 :9
  
- Cui W, Bai Y, Miao X *et al*. Prevention of diabetic nephropathy by sulforaphane : possible role of nrf2 upregulation and activation. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. **2012**, 2012 :821936.
  
- Dämon S, Schätzer M, Höfler J, Tomasec G, Hoppichler F. Nutrition and diabetes mellitus : an overview of the current evidence. *Wiener Medizinische Wochenschrift*. **2011**, 161 :282-8.
  
- Davidson RK, Jupp O, de Ferrars R, Kay CD, Culley KL, Norton R, Driscoll C, Vincent TL, Donnell ST, Bao Y, Clark IM. Sulforaphane Represses Matrix-Degrading Proteases and Protects

Cartilage From Destruction *In Vitro* and *In Vivo*. *Arthritis and Rheumatism*. **2013**, 65 : 3130-3140.

- Davies GR, Simmonds NJ, Stevens TR, Sheaff MT, Banatvala N, Laurenson IF, Blake DR, Rampton DS. *Helicobacter pylori* stimulates antral mucosal reactive oxygen metabolite production *in vivo*. *Gut*. **1994**, 35 :179-185.

- Demir M, Gokturk HS, Ozturk NA, Kulaksizoglu M, Serin E, Yilmaz U. *Helicobacter pylori* prevalence in diabetes mellitus patients with dyspeptic symptoms and its relationship to glycemic control and late complications. *Digestive Diseases and Sciences*. **2008**, 53 :2646–2649.

- Deng C1, Tao R, Yu SZ, Jin H. Sulforaphane protects against 6-hydroxydopamine-induced cytotoxicity by increasing expression of heme oxygenase-1 in a PI3K/Akt-dependent manner. *Molecular Medicine Reports*. **2012**, 5 :847-51.

- Diplock AT, Charleux JL, Crozier-Willi G, Kok FJ, Rice-Evans C, Roberfroid M, Stahl W, Viña-Ribes J. Functional food science and defence against reactive oxidative species. *British Journal of Nutrition*. **1998**, 80 : S77-S112.

- Dupont F et Guignard JL. Abrégés de botanique systématique moléculaire. 16 ème révisée. Issy les moulineaux, *Elsevier Masson*, **2015**. 336 pages.

- De Souza CG, Sattler JA, de Assis AM, Rech A, Perry ML, Souza DO. Metabolic effects of sulforaphane oral treatment in streptozotocin-diabetic rats. *Journal of Medicinal Food*. **2012**, 15 :795-801.

-Encyclopédie des plantes médicinales : identification, préparations, soins. Paris : *Larousse*, 1997. 1 Vol. 336p.

- Evans JL, Goldfine ID, Maddux BA, Grodsky GM. Oxidative stress and stress-activated signaling pathways : a unifying hypothesis of type 2 diabetes. *Endocrine Review*. **2002**, 23 :599-622.

- Fahey JW, Haristoy X, Dolan PM, Kensler TW, Scholtus I, Stephenson KK, Talalay P, Lozniewski A. Sulforaphane inhibits extracellular, intracellular and antibiotic-resistant strains of *Helicobacter pylori* and prevents benzo[a]pyrene-induced stomach tumors. *Proceedings of the National Academy Sciences*. **2002**, 99 :7610–7615.
  
- Fahey JW, Zhang Y, Talalay P. Broccoli sprouts : an exceptionally rich source of inducers of enzymes that protect against chemical carcinogens. *Proceedings of the National Academy Sciences USA*. **1997**, 94 :10367–72.
  
- Fahey JW, Zalcmann AT, Talalay P. The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. *Phytochemistry*. **2001** ; 56 : 5-51.
  
- Feskanich D, Ziegler RG, Michaud DS, Giovannucci EL, Speizer FE, Willett WC, Colditz GA. Prospective study of fruit and vegetable consumption and risk of lung cancer among men and women. *Journal of National Cancer Institute*. **2000**, 92 :1812–23.
  
- Fowke JH, Chung FL, Jin F, Qi D, Cai Q, Conaway C, Cheng JR, Shu XO, Gao YT, Zheng W. Urinary isothiocyanate levels, brassica, and human breast cancer. *Cancer Research*. **2003**, 63 :3980–6.
  
- Franklin SJ, Dickinson SE, Karlage KL, Bowden GT, Myrdal PB. Stability of Sulforaphane for Topical Formulation. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. **2014**, 40 : 494–502.
  
- Gaetz M. The neurophysiology of brain injury. *Clinical Neurophysiology*. **2004**, 115 :4-18.
  
- Galan MV, Kishan AA, Silverman AL. Oral broccoli sprouts for the treatment of *Helicobacter pylori* infection : a preliminary report. *Digestive Diseases and sciences*. **2004**, 49 :1088–90.
  
- Gamet-Payraastre L, Li P, Lumeau S, Cassar G, Dupont MA, Chevolleau, Gasc N, Tulliez J, Tercé F. Sulforaphane, a naturally occurring isothiocyanate, induces cell cycle arrest and apoptosis in HT29 human colon cancer cells. *Cancer Research*. **2000**, 60 : 1426–1433.
  
- Gan N, Wu YC, Brunet M, Garrido C *et al*. Sulforaphane activates heat shock response and enhances proteasome activity through up-regulation of Hsp27. *Journal of Biological Chemistry*.

2010, 285 :35528-36.

-Gigon F. la vérité sur ces plantes qui soignent – Paris : *express Roularta*,2009. Brocoli, 60-65

- Giovannucci E, Rimm EB, Liu Y, Stampfer MJ, Willett WC. A prospective study of cruciferous vegetables and prostate cancer. *Cancer Epidemiology Biomarkers Prevention*. 2003, 12 :1403–9.

- Gliszczyńska-Swigło A, Ciska E, Pawlak-Lemańska K, Chmielewski J, Borkowski T, Tyrakowska B. Changes in the content of health-promoting compounds and antioxidant activity of broccoli after domestic processing. *Food Additives and Contaminants*. 2006, 23 :1088-98.

- Guignard L. Le jardin botanique de la faculté de Pharmacie de Paris. Résumé des caractères des familles végétales... et un plan du jardin. 3<sup>ème</sup> éd. Toulouse : Marqueste, 1922. 92-95.

- Guibourt N. Histoire naturelle des drogues simples, ou Cours d'histoire naturelle professé à l'École supérieure de pharmacie de Paris. Tome troisième. Paris : J.-B. Baillière et fils, 1876.

- Guo R, Yuan G, Wang Q. Effect of NaCl treatments on glucosinolate metabolism in broccoli sprouts. *Journal of Zhejiang University Science B*. 2013, 14 : 124-131.

- Hamed SA, Amine NF, Galal GM, Helal SR, Tag El-Din LM, Shawky OA, Ahmed EA, Abdel Rahman MS. Vascular risks and complications in diabetes mellitus. The role of *helicobacter pylori* infection. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*. 2008, 17 :86–94.

- Han JM, Lee YJ, Lee SY, Kim EM, Moon Y, Kim HW, Hwang O. Protective effect of sulforaphane against dopaminergic cell death. *Journal of Pharmacology and Experimentation Therapeutics*. 2007, 321 :249-56.

- Henriksen EJ, Diamond-Stanic MK, Marchionne EM. Oxidative stress and the etiology of insulin resistance and type 2 diabetes. *Free Radical Biology and Medicine*. 2011, 51 :993–999.

-Higdon, JV, Delage B, Williams DE, Dashwood RH. Cruciferous vegetables and human cancer risk : epidemiologic evidence and mechanistic basis. *Pharmacological Research*, 2007, 55, 224–236.

- Hoehn KL, Salmon AB, Hohnen-Behrens C, Turner N, Hoy AJ, Maghzal GJ, Stocker R, Van Remmen H, Kraegen EW, Cooney GJ, Richardson AR, James DE. Insulin resistance is a cellular antioxidant defense mechanism. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. **2009**, 106 :17787–17892
  
- Hong Y, Yan W, Chen S, Sun CR, Zhang JM. The role of Nrf2 signaling in the regulation of antioxidants and detoxifying enzymes after traumatic brain injury in rats and mice. *Acta Pharmacologica Sinica*. **2010**, 31 :1421-30.
  
- Institute of Medicine (US) Panel on Dietary Antioxidants and Related Compounds. Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids. Washington (DC) : National Academies Press (US) ; **2000**. 8,  $\beta$ -Carotene and Other Carotenoids.
  
- Jain MG, Hislop GT, Howe GR, Ghadirian P. Plant foods, antioxidants, and prostate cancer risk : findings from case-control studies in Canada. *Nutrition and Cancer*. **1999**, 34 :173–84.
  
- Jesmin J, Rashid MS, Jamil H, Hontecillas R, Bassaganya-Riera J. Gene regulatory network reveals oxidative stress as the underlying molecular mechanism of type 2 diabetes and hypertension. *BMC Medical Genomics*. **2010**, 3 :45.
  
- João Diogo Cristóvão Pinto de Castelo-Branco. Influence of Temperature and Water Activity. Myrosinase Stability in Broccoli (*Brassica oleracea* var. *Italica*). **2010**. P82.
  
- Joseph MA, Moysich KB, Freudenheim JL, Shields PG, Bowman ED, Zhang Y, Marshall JR, Ambrosone CB. Cruciferous vegetables, genetic polymorphisms in glutathione S-transferases M1 and T1, and prostate cancer risk. *Nutrition and Cancer*. **2004**, 50 :206–13.
  
- Juge N, Mithen RF, Traka M. “Molecular basis for chemoprevention by sulforaphane : a comprehensive review,” *Cellular and Molecular Life Sciences*. **2007**, 64 : 1105–1127.
  
- Kahlon TS, Chapman MH, Smith GE. *In vitro* binding of bile acids by spinach, kale, brussels sprouts, broccoli, mustard green, green bell pepper, cabbage and collards. *Food Chemistry*. **2007**, 100 : 1531–1536.

- Kallifatidis G, Rausch V, Baumann B, *et al.* Sulforaphane targets pancreatic tumour-initiating cells by NF-kappaB-induced antiapoptotic signalling. *Gut*. **2009**, 58 :949–63.
- Kang JH, Ascherio A, Grodstein F. Fruit and vegetable consumption and cognitive decline in aging women. *Annals of Neurology*. **2005**, 57 :713-20.
- Key TJ, Allen N, Appleby P *et al.* Fruits and vegetables and prostate cancer : no association among 1104 cases in a prospective study of 130,544 men in the European prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC). *International Journal of Cancer*. **2004**, 109 :119–24.
- Kim HA, Yeo Y, Jung HA, Jung YO, Park SJ, Kim SJ. Phase 2 enzyme inducer sulphoraphane blocks prostaglandin and nitric oxide synthesis in human articular chondrocytes and inhibits cartilage matrix degradation. *Rheumatology*. **2012**, 51 :1006–16.
- Kim JY, Park HJ, Um SH, Sohn EH, Kom BO, Moon EY, Rhee DK, Pyo S. Sulforaphane suppresses vascular adhesion molecule-1 expression in TNF- $\alpha$ -stimulated mouse vascular smooth muscle cells : involvement of the MAPK, NF- $\kappa$ B and AP-1 signaling pathways. *Vascular Pharmacology*. **2012**, 56 :131-41.
- Kim YS and Milner JA. Targets for indole-3-carbinol in cancer prevention. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. **2005**, 16 :65-73.
- Kim HV, Kim HY, Ehrlich HY, Choi SY, Kim DJ, Kim Y. Amelioration of Alzheimer's disease by neuroprotective effect of sulforaphane in animal model. *Amyloid*. **2013**, 20 :7-12.
- Kirsh VA, Peters U, Mayne ST, Subar AF, Chatterjee N, Johnson CC, Hayes RB. Prospective study of fruit and vegetable intake and risk of prostate cancer. *Journal of the National Cancer Institute*. **2007**, 99 :1200–9.
- Kleinwächter M et Selmar D. A novel approach for reliable activity determination of ascorbic acid depending myrosinases. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*. **2004**, 59 : 253-265.

- Ko JY, Choi YJ, Jeong GJ, Im GI. Sulforaphane-PLGA microspheres for the intra-articular treatment of osteoarthritis. *Biomaterials*. **2013**, 34 :5359-68.
- Koh E, Wimalasiri KMS, Chassy AW, Mitchell AE. Content of ascorbic acid, quercetin, kaempferol and total phenolics in commercial broccoli. *Journal of Food Composition and Analysis*. **2009**, 22 : 637–643.
- Kolonel LN, Hankin JH, Whittemore AS, Wu AH, Gallagher RP, Wilkens LR, John EM, Howe GR, Dreon DM, West DW, Paffenbarger RS Jr. Vegetables, fruits, legumes and prostate cancer : a multiethnic case-control study. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*. **2000**, 9 :795–804.
- Krinsky NI and Yeum KJ. Carotenoid-radical interactions. *Biochemical Biophysical Research Communications*. **2003**, 305 :754-760.
- Kuroiwa Y, Nishikawa A, Kitamura Y, Kanki K, Ishii Y, Umemura T, Hirose M. Protective effects of benzyl isothiocyanate and sulforaphane but not resveratrol against initiation of pancreatic carcinogenesis in hamsters. *Cancer Letters*. **2006**, 241 : 275 – 280.
- Laakso M. Insulin resistance and its impact on the approach to therapy of Type 2 diabetes. *International Journal of Clinical Practice*. **2001**, 121 :8–12.
- Lai RH, Keck AS, Wallig MA, West L, Jeffery EH. Evaluation of the safety and bioactivity of purified and semi-purified glucoraphanin. *Food and Chemical Toxicology*. **2008**, 46 :195-202.
- Lam TK, Gallicchio L, Lindsley K *et al*. Cruciferous vegetable consumption and lung cancer risk : a systematic review. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*. **2009**, 18 :184–95.
- Larsson SC, Håkansson N, Näslund I, Bergkvist L, Wolk A. Fruit and vegetable consumption in relation to pancreatic cancer risk : a prospective study. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*. **2006**, 15 :301–5.
- Latté KP, Appel KE, Lampen A. Health benefits and possible risks of broccoli, An overview. *Food and Chemical Toxicology*. **2011**, 49 : 3287–3309.

- Lebovitz HE. Insulin resistance : definition and consequences. *Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes*. **2001**, 109 : S135–S148.
- Lee J, Shin H, Lee Y, Kim A, Lee M. Effect of Broccoli sprouts on cholesterol-lowering and anti-obesity effects in rats fed high fat diet. *Journal of Korean Society of Food Science and Nutrition*. **2009**, 38 :309–318.
- Lee SK and Kader AA. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharvest Biology and Technology*. **2000**, 20 :207–220.
- Li B, Liu S, Miao L, Cai L. Prevention of diabetic complications by activation of Nrf2 : diabetic cardiomyopathy and nephropathy. *Experimental Diabetes Research*. 2012, 2012 :216512.
- Liu XQ, Li YH. Epidemiological and nutritional research on prevention of cardiovascular disease in China. *British Journal of Nutrition*. **2000**, 84 : S199–S203.
- Loewen CA, Feany MB. The unfolded protein response protects from tau neurotoxicity *in vivo*. *PLoS One*. **2010**, 5.
- López-Berenguer C, Carvajal M, Moreno DA, Garcia-Viguera C. Effects of microwave cooking conditions on bioactive compounds present in broccoli inflorescences. *Journal of Agricultural Food and Chemistry*. **2007**, 55 :10001–10007.
- London SJ, Yuan JM, Chung FL, Gao YT, Coetzee GA, Ross RK, Yu MC. Isothiocyanates, glutathione S-transferase M1 and T1 polymorphisms, and lung-cancer risk : a prospective study of men in Shanghai, China. *Lancet*. **2000**, 356 :724–9.
- Ludikhuyze L, Rodrigo L, Hendrickx M. The Activity of Myrosinase from Broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) : Influence of Intrinsic and Extrinsic Factors. *Journal of Food Protection*. **2000**, 63 : 400-403.
- Ludikhuyze L, Ooms V, Weemaes C, Hendrickx M. Kinetic Study of the Irreversible Thermal and Pressure Inactivation of Myrosinase from Broccoli (*Brassica oleracea* L. Cv. *Italica*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **1999**, 47 : 1794-1800.

- Luepker RV. Cardiovascular disease : rise, fall, and future prospects. *Annual Review of Public Health*. **2011**, 32 :1–3.
- Mahéo K, Morel F, Langouët S, Kramer H, Le Ferrec E, Ketterer B, Guillouzo A. Inhibition of cytochromes P-450 and induction of glutathione S- transferases by sulforaphane in primary human and rat hepatocytes. *Cancer Research*. **1997**, 57, 3649–3652.
- Matusheski NV, Juvik JA, Jeffery EH. Heating decreases epithiospecifier protein activity and increases sulforaphane formation in broccoli. *Phytochemistry*. **2004**, 65 : 1273–1281.
- Matusheski NV, Swarup R, Juvik JA, Mithen R, Bennett M, Jeffery EH. Epithiospecifier protein from broccoli (*Brassica oleracea* L. ssp. *italica*) inhibits formation of the anticancer agent sulforaphane. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **2006**, 54 :2069-76.
- McCullough ML, Robertson AS, Chao A, Jacobs EJ, Stampfer MJ, Jacobs DR, Diver WR, Calle EE, Thun MJ. A prospective study of whole grains, fruits, vegetables and colon cancer risk. *Cancer Causes Control*. **2003**, 14 :959–70.
- McGraw KJ, Ardia DR. Carotenoids, Immunocompetence, and the Information Content of Sexual Colors : An Experimental Test. *The American Naturalist*. **2003**, 162 :704-712
- Meng Q, Yuan F, Goldberg ID, Rosen EM, Auburn K, Fan S. Indole-3-carbinol is a negative regulator of estrogen receptor  $\alpha$  signaling in human tumor cells. *Journal of Nutrition*. **2000**, 130 :2927-2931.
- Michels KB, Edward Giovannucci, Joshipura KJ, Rosner BA, Stampfer MJ, Fuchs CS, Colditz GA, Speizer FE, Willett WC. Prospective study of fruit and vegetable consumption and incidence of colon and rectal cancers. *Journal of the National Cancer Institute*. **2000**, 92 :1740–52.
- Michnovicz JJ and Bradlow HL. Dietary and pharmacological control of estradiol metabolism in humans. *Annals of the New York Academy Sciences*. **1990**, 595 :291-299.
- Miglio C, Chiavaro E, Visconti A, Fogliano V, Pellegrini N. Effects of different cooking methods on nutritional and physicochemical characteristics of selected vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **2008**, 56 :139-47.

- Moreno DA, Carvajal M, Lopez-Berenguer C, Garcia-Viguera C. Chemical and biological characterisation of nutraceutical compounds of broccoli. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. **2006**, 41 :1508–1522.
- Murashima M, Watanabe S, Zhuo XG, Uehara M, Kurashige A. Phase 1 study of multiple biomarkers for metabolism and oxidative stress after one-week intake of broccoli sprouts. *Biofactors*. **2004**, 22 :271-5.
- Muscat JE and Taioli E. Diet, tobacco use, and fatal prostate cancer : results from the Lutheran Brotherhood cohort study. *Cancer Research*. **1990** ;50 :6836–40.
- Natella F, Maldini M, Nardini M, Azzini E, Foddai MS, Giusti AM, Baima S, Morelli G, Scaccini C. Improvement of the nutraceutical quality of broccoli sprouts by elicitation. *Food Chemistry*. **2016**, 201 :101–109.
- Neuhouser ML, Patterson RE, Thornquist MD, Omenn GS, King IB, Goodman GE. Fruits and vegetables are associated with lower lung cancer risk only in the placebo arm of the  $\beta$ -carotene and retinol efficacy trial (CARET). *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*. **2003**, 12 :350–8.
- Nicolucci A, Ginsberg HN, Bakris GL *et al.* Primary prevention of cardiovascular diseases in people with diabetes mellitus : a scientific statement from the American Heart Association and the American Diabetes Association. *Diabetes Care*. **2007**, 30 :162–172.
- Nothlings U, Wilkens LR, Murphy SP, Hankin JH, Henderson BE, Kolonel LN. Vegetable intake and pancreatic cancer risk : the multiethnic cohort study. *American Journal of Epidemiology*. **2007**, 165 : 138–47.
- Nguyen T, Huang HC, Pickett CB. Transcriptional regulation of the antioxidant response element. Activation by Nrf2 and repression by MafK. *The Journal of Biological Chemistry*. **2000**, 275 :15466-73.
- Nisha P, Pandit A, Singhal RS. A study on the degradation kinetics of visual green colour in spinach (*Spinacea oleracea* L.) and the effect of salt therein. *Journal of Food Engineering*. **2004**, 64 :135–142

- Nyberg S. Multiple use of plants : studies on selenium incorporation in some agricultural species for the production of organic selenium compounds. *Plant Foods for Human Nutrition*. **1991**, 41 : 69-88.
- Oerlemans K, Barrett DM, Suades CB, Verkerk R, Dekker M. Thermal degradation of glucosinolates in red cabbage. *Food Chemistry*. **2006**, 95 :19–29.
- Oh CJ, Kim JY, Min AK, Park KG, Harris RA, Kim HJ, Lee IK. Sulforaphane attenuates hepatic fibrosis via NF-E2-related factor 2-mediated inhibition of transforming growth factor- $\beta$ /Smad signaling. *Free Radical Biology and Medicine*. **2012**, 52 :671–682.
- Park K, Gross M, Lee DH, Holvoet P, Himes JH, Shikany JM, Jacobs DR. Oxidative stress and insulin resistance : the coronary artery risk development in young adults study. *Diabetes Care*. **2009**, 32 :1302–1307.
- Park HM, Kim JA, Kwak MK. Protection against amyloid beta cytotoxicity by sulforaphane : role of the proteasome. *Archives of Pharmacal Research*. **2009**, 32 :109-15.
- Patel S, Santani D. Role of NF-kappa B in the pathogenesis of diabetes and its associated complications. *Pharmacological Reports*. **2009**, 61 :595–603.
- Pérez-Balibrea S, Moreno DA, García-Viguera C. Glucosinolates in broccoli sprouts (*Brassica oleracea* var. *italica*) as conditioned by sulphate supply during germination. *Journal of Food Science*. **2010**, 75 :673–677.
- Peterson S, Lampe JW. Brassica, biotransformation and cancer risk genetic polymorphisms alter the preventive effects of cruciferous vegetables. *Journal of Nutrition*. **2002**, 132 :2991–4.
- Piao CS, Gao S, Lee GH, Kim DS, Park BH, Chae SW, Chae HJ, Kim SH. Sulforaphane protects ischemic injury of hearts through antioxidant pathway and mitochondrial K(ATP) channels. *Pharmacology Research*. **2010**, 61 :342-8.
- Ping Z, Liu W, Kang Z, Cai J *et al*. Sulforaphane protects brains against hypoxic-ischemic injury through induction of Nrf2-dependent phase 2 enzyme. *Brain Research*. **2010**, 1343 :178-85.

- Prestera T, Fahey J W, Holtzclaw W D, Abeygunawardana C, Kachinski J L, Talalay P. *Analytical Biochemical*. **1996**, 239 :168–179.
- Roberfroid RB, Coxam V, Colxenne NM. Aliments fonctionnels. Lavoisier. 2<sup>ème</sup> édition. ANSES. *Nutrition et cancer*. Mai **2011**.
- Rodet H. Botanique agricole et médicale, ou Etude des plantes qui intéressent principalement les médecins, les vétérinaires, et les agriculteurs : accompagnée de 160 planches représentant plus de 900 figures intercalées dans le texte. 2<sup>ème</sup> édition. Paris : P. Asselin, **1872**. Brassicacées, 50-58.
- Rozpądek P, Nosek M, Ślesak I, Kunicki E, Dziurka M, Miszalski Z. Ozone fumigation increases the abundance of nutrients in *Brassica* vegetables : broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) and Chinese cabbage (*Brassica pekinensis*). *European Food Research and Technology*. **2015**, 240 : 459–462.
- Saha S, Hollands W, Teucher B, Needs PW, Narbad A, Ortori CA, Barrett DA, Rossiter JT, Mithen RF, Kroon PA. Isothiocyanate concentrations and interconversion of sulforaphane to erucin in human subjects after consumption of commercial frozen broccoli compared to fresh broccoli. *Molecular Nutrition and Food Research*. **2012**, 56 :1906-16.
- Schuurman AG, Goldbohm RA, Dorant E, Van Den Brandt PA. Vegetable and fruit consumption and prostate cancer risk : a cohort study in the Netherlands. *Cancer Epidemiology, Biomarkers et Prevention*. **1998**, 7 :673–80.
- Seow A, Shi CY, Chung FL, Jiao D, Hankin JH, Lee HP, Coetzee GA, Yu MC. Urinary total isothiocyanate (ITC) in a population-based sample of middle-aged and older Chinese in Singapore : relationship with dietary total ITC and glutathione *S*-transferase M1/T1/P1 genotypes. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*. **1998**, 7 :775–81.
- Serrano M, Martinez-Romero D, Guillen F, Castillo S, Vallero D. Maintenance of broccoli quality and functional properties during cold storage as affected by modified atmosphere packaging. *Postharvest Biology and Technology*. **2006**, 39 :61–68.

- Shapiro TA, Fahey JW, Wade KL, Stephenson KK, Talalay P. Chemoprotective glucosinolates and isothiocyanates of broccoli sprouts : metabolism and excretion in humans. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*. **2001**, 10 :501–8.
- Shapiro TA, Fahey JW, Dinkova-Kostova AT, Holtzclaw WD, Stephenson KK, Wade KL, Ye L, Talalay P. Safety, tolerance, and metabolism of broccoli sprout glucosinolates and isothiocyanates : a clinical phase I study. *Nutrition and Cancer*. **2006**, 55 :53-62.
- Siebert A, Desai V, Chandrasekaran K, Fiskum G, Jafri MS. Nrf2 activators provide neuroprotection against 6-hydroxydopamine toxicity in rat organotypic nigrostriatal cocultures. *Journal of Neuroscience Research*. **2009**, 87 :1659-69.
- Silverman DT, Swanson CA, Gridley G *et al*. Dietary and nutritional factors and pancreatic cancer : a case-control study based on direct interviews. *Journal of the National Cancer Institute*. **1998**, 90 :1710–9.
- Singh AV, Xiao D, Lew KL, Dhir R, Singh SV. Sulforaphane induces caspase-mediated apoptosis in cultured PC-3 human prostate cancer cells and retards growth of PC-3 xenograft *in vivo*. *Carcinogenesis*. **2004**, 25 :83–90.
- Slattery ML, Kampman E, Samowitz W, Caan BJ, Potter JD. Interplay between dietary inducers of GST and the GSTM-1 genotype in colon cancer. *International Journal of Cancer*. **2000**, 87 :728–33.
- Smith-Warner SA, Spiegelman D, Yaun SS *et al*. Intake of fruits and vegetables and risk of breast cancer : a pooled analysis of cohort studies. *The Journal of the American Medical Association*. **2001**, 285 :769–76.
- Smith-Warner SA, Spiegelman D, Yaun SS *et al*. Fruits, vegetables and lung cancer : a pooled analysis of cohort studies. *International Journal of Cancer*. **2003**, 107 :1001–11.
- Sobhani I. *Helicobacter pylori* et cancer gastrique. *Médecine/Sciences*. **2003**, 19 :431-6.
- Song L and Thornalley PJ. Effect of storage, processing and cooking on glucosinolate content

of Brassica vegetables. *Food Chemistry and Toxicology*. **2007**, 45 :216-24.

- Song MY, Kim EK, Moon WS, Park JW, Kim HJ, So HS, Park R, Kwon KB, Park BH. Sulforaphane protects against cytokine- and streptozotocin-induced beta-cell damage by suppressing the NF-kappaB pathway. *Toxicology and Applied Pharmacology*. **2009**, 235 :57-67.

- Steevens J, Schouten LJ, Goldbohm RA, van den Brandt PA. Vegetables and fruits consumption and risk of esophageal and gastric cancer subtypes in the Netherlands Cohort Study. *International Journal of Cancer*. **2011**, 129 :2681-93.

- Steinkellner H, Rabot S, Freywald C, Nobis E, Scharf G, Chabicovsky M, Knasmuller S, Kassi F. Effects of cruciferous vegetables and their constituents on drug metabolizing enzymes involved in the bioactivation of DNA-reactive dietary carcinogens. *Mutation Research*. **2001**, 480-481, 285-297.

- Suido H, Takeuchi A, Makino T, Tanaka T, Nagaoka S. Serum cholesterol-lowering effects of a broccoli and cabbage mixture in rats. *Proceedings of the XIIIth International Symposium on Atherosclerosis, Kyoto, Japan, September 28-October 2*. **2003** : 238.

- Tannenberg RK, Scott HL, Tannenberg AE, Dodd PR. Selective loss of synaptic proteins in Alzheimer's disease : evidence for an increased severity with APOE varepsilon4. *Neurochemistry International*. **2006**, 49 :631-9.

-Tapas AR, Sakarkar DM, Kakde RB. Tropical journal of pharmaceutical research. *Flavonoids as nutraceuticals : a review*. **2008**.(1989-1999).

- Tanriverd O. Association of *Helicobacter pylori* infection with microalbuminuria in type 2 diabetic patients. *The Turkish Journal of Gastro-enterology*. **2011**, 22 :569-574.

- Telang U, Morris ME. ABC transporters and isothiocyanates : potential for pharmacokinetic diet-drug interactions. *Biopharmaceutics and Drug Disposition*. **2009**, 30 : 335- 344.

- Terry P, Wolk A, Persson I, Magnusson C. Brassica vegetables and breast cancer risk. *The Journal of the American Medical Association*. **2001**, 285 :2975-2976.
  
- Textor S, Gershenzon J. Herbivore induction of the glucosinolate–myrosinase defense system : major trends, biochemical bases and ecological significance. *Phytochemistry Reviews*. **2009**, 8 : 149–170.
  
- Tiwari BK, Brunton NP, Brennan CS. *Plant food phytochemicals*. **2013**.13-15.
  
- Traka MH, Saha S, Huseby S, Kopriva S, Walley PG, Barker GC, Moore J, Mero G, van den Bosch F, Constant H, Kelly L, Schepers H, Boddupalli S, Mithen RF. Genetic regulation of glucoraphanin accumulation in Beneforté broccoli. *New Phytologist*. **2013**, 198 :1085-95.
  
- Tseng E, Kamath A, Morris ME. Effect of organic isothiocyanates on the P-glycoprotein- and MRP1-mediated transport of daunomycin and vinblastine. *Pharmaceutical Research*. **2002**, 19 :1509-15.
  
- Turkmen N, Poyrazoglu ES, Sari F, Velioglu YS. Effects of cooking methods on chlorophylls, pheophytins and colour of selected green vegetables. *International Journal of Food Science and Technology*. **2006**, 41 :281–288.
  
- Vallejo F, Tomás-Barberán FA, García-Viguera C. Glucosinolates and vitamin C content in edible parts of broccoli florets after domestic cooking. *European Food Research and Technology*. **2002**, 215 :310–316.
  
- Van Die MD, Bone KM, Emery J, Williams SG, Pirotta MV, Paller CJ. Phytotherapeutic interventions in the management of biochemically recurrent prostate cancer : a systematic review of randomised trials. *BJU International*. **2016**, 117 :17-34.
  
- Vazquez-Prieto MA, Miatello RM. Organosulfur compounds and cardiovascular disease. *Molecular Aspects of Medicine*. **2010**, 31 :540-5.
  
- Verhoeven DT, Goldbohm RA, van Poppel G, Verhagen H, Van den Brandt PA. Epidemiological studies on brassica vegetables and cancer risk. *Cancer Epidemiology*,

*Biomarkers and Prevention*. **1996**, 5 :733–48.

-Voorrips LE, Goldbohm RA, Verhoeven DT, Van Poppel GA, Sturmans F, Hermus RJ, Van den Brandt PA. Vegetable and fruit consumption and lung cancer risk in the Netherlands cohort study on diet and cancer. *Cancer Causes Control*. **2000**, 11 :101–15.

- Voorrips LE, Goldbohm RA, van Poppel G, Sturmans F, Hermus RJ, Van den Brandt PA. Vegetable and fruit consumption and risks of colon and rectal cancer in a prospective cohort study : the Netherlands cohort study on diet and cancer. *American Journal of Epidemiol*. **2000**, 152 :1081–92.

- World Cancer Research Fund / American Institute for Cancer Research. Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Cancer : a Global Perspective. Washington DC : AICR, **2007**.

- Wu L, Ashraf MHN, Facci M, Wang R, Paterson PG, Ferrie A, Juurlink BHJ. Dietary approach to attenuate oxidative stress, hypertension, and inflammation in the cardiovascular system. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. **2004**, 101 :7094–7099.

- Xiao D, Singh SV. Phenethyl isothiocyanate inhibits angiogenesis *in vitro* and *ex vivo*. *Cancer Research*. **2007**, 67 :2239-46.

- Xue M, Qian Q, Adaikalakoteswari A *et al*. Activation of NF-E2-related factor-2 reverses biochemical dysfunction of endothelial cells induced by hyperglycemia linked to vascular disease. *Diabetes*. **2008**, 57 : 2809–2817.

- Xu J, Kulkarni SR, Donepudi AC, More VR, Slitt AL. Enhanced Nrf2 activity worsens insulin resistance, impairs lipid accumulation in adipose tissue, and increases hepatic steatosis in leptin-deficient mice. *Diabetes*. **2012**, 61 :3208-18.

- Yanaka A, Fahey JW, Fukumoto A, Nakayama M, Inoue S, Zhang S, Tauchi M, Suzuki H, Hyodo I, Yamamoto M. Dietary sulforaphane-rich broccoli sprouts reduce colonization and attenuate gastritis in *Helicobacter pylori*-infected mice and humans. *Cancer Prevention Research*. **2009**, 2 :353-60.

- Yang Y-M, Jhanwar-Uniyal M, Schwartz J, Conaway CC, Halicka HD, Traganos F, Chung FL. *N*-acetylcysteine conjugate of phenethyl isothiocyanate enhances apoptosis in growth-stimulated human lung cells. *Cancer Research*. **2005**, 65 : 8538–47.
  
- Young SK and Milner JA. Targets for indole-3-carbinol in cancer prevention. *Journal of Nutritional Biochemistry*. **2005**, 16 : 65–73.
  
- Yuan F, Chen DZ, Liu K, Sepkovic DW, Bradlow HL, Auborn K. Anti-estrogenic activities of indole-3-carbinol in cervical cells : implication for prevention of cervical cancer. *Anticancer Research*. **1999**, 19 :1673-1680.
  
- Yuan G, Sun B, Yuan J, Wang Q. Effects of different cooking methods on health-promoting compounds of broccoli. *Journal of Zhejiang University Science B*. **2009**, 10 :580-588.
  
- Zakkar M, Heiden KVD, Luong LA, Chaudury H, Cuhlmann S, Hamdulay SS, Krams R, Edirisinghe I, Rahman I, Carlsen H, Haskard DO, Mason JC, Evans PC. Activation of Nrf2 in endothelial cells protects arteries from exhibiting a proinflammatory state. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. **2009**, 29 :1851-1857.
  
- Zhao B. Dietary isothiocyanates, glutathione *S*-transferase-M1, -T1 polymorphisms and lung cancer risk among Chinese women in Singapore. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*. **2001**, 10 :1063–7.
  
- Zhao J, Kobori N, Aronowski J, Dash PK. Sulforaphane reduces infarct volume following focal cerebral ischemia in rodents. *Neuroscience Letters*. **2006**, 393 :108-12.
  
- Zhao J, Moore AN, Clifton GL, Dash PK. Sulforaphane enhances aquaporin-4 expression and decreases cerebral edema following traumatic brain injury. *Journal of Neuroscience Research*. **2005**, 82 :499-506.
  
- Zhang Y, Cho C-G, Posner G H, Talalay P. *Analytical Biochemical*. **1992**, 205 :100–107.

## BIBLIOGRAPHIE SITES INTERNET

- AGRESTE. <http://agreste.agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/conjsynt297201610legu.pdf> . (Consulté le 12 septembre 2016) ; <http://agreste.agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/R5316A22.pdf> . (Consulté le 13 septembre 2016).
  
- Agri life communications, the texas AandM university system. [http://aggie-horticulture.tamu.edu/vegetable/files/2010/10/E-279\\_cole\\_crops.pdf](http://aggie-horticulture.tamu.edu/vegetable/files/2010/10/E-279_cole_crops.pdf) . (Consulté le 28 novembre 2016).
  
- Anses. <https://www.anses.fr/fr/system/files/NUT2007sa0095Ra.pdf> . (Consulté le 11 septembre 2016) ; <https://pro.anses.fr/tableciqua/index.htm> . (Consulté le 29 janvier 2017) ; <https://www.anses.fr/fr/system/files/NUT2012SA0103Ra-1.pdf> . (Consulté le 29 janvier 2017).
  
- Cuisineaz. <http://www.cuisineaz.com/recettes/soupe-aux-brocolis-5435.aspx> . (Consulté le 17 novembre 2016) ; <http://www.cuisineaz.com/recettes/poelee-de-legumes-8392.aspx> . (Consulté le 17 novembre 2016).
  
- Fondation Louis Bonduelle. <http://www.fondation-louisbonduelle.org/france/fr/connaitre-les-legumes/atouts-nutritionnels-des-legumes/brocoli-6.html> - axzz4KJjMMR79 . (Consulté le 9 novembre 2016) ; <http://www.fondation-louisbonduelle.org/france/fr/utiliser-les-legumes/faire-son-potager/conseils-par-legume-dans-un-potager-naturel/potager-cultiver-le-brocoli.html#axzz3BTlj3ZRA> . (Consulté le 9 novembre 2016).
  
- France parkinson. <http://www.franceparkinson.fr/docs/presentation-de-la-maladie.php?p=78> . (Consulté le 4 novembre 2016).
  
- Gerbeaud.com. <http://www.gerbeaud.com/fruit-legume-de-saison/brocoli.php> . (Consulté le 20 janvier 2016).
  
- Groupe d'étude Français des Helicobacter. <http://www.helicobacter.fr/index.php/traitements-de-linfection-a-helicobacter-pylori/quel-est-le-traitement-de-linfection-a-h-pylori> . (Consulté le 06 octobre 2016).

- INSERM. <http://www.inserm.fr/thematiques/physiopathologie-metabolisme-nutrition/dossiers-d-information/arthrose> .(Consulté le 15 octobre 2016).
  
- Institut national du cancer. <http://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Les-cancers/Cancer-du-colon/Points-cles> .(Consulté le 1 octobre 2016) ; <http://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Les-cancers/Cancer-de-la-prostate/Les-points-cles> .(Consulté le 30 septembre 2016) ; <http://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Les-cancers/Cancer-du-sein/Quelques-chiffres> .(Consulté le 30 septembre 2016) ; <http://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Les-cancers/Cancer-du-pancreas/Points-cles> . (Consulté le 04 octobre 2016) ; <http://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Les-cancers/Cancer-du-poumon/Facteurs-de-risque> . (Consulté le 28 septembre 2016).
  
- INTERFEL. <http://www.lesfruitsetlegumesfrais.com> . (Consulté le 12 septembre 2016).
  
- Larousse agricole 2002 : archives. <http://www.larousse.fr/archives/agricole/page/96> . (Consulté le 25 septembre 2016).
  
- Le site de l'arthrose. [www.lesitedelarthrose.com](http://www.lesitedelarthrose.com) . (Consulté le 15 octobre 2016).
  
- Marmiton. [http://www.marmiton.org/recettes/recette\\_gratin-de-brocolis-facile\\_18753.aspx](http://www.marmiton.org/recettes/recette_gratin-de-brocolis-facile_18753.aspx) . (Consulté le 17 novembre 2016).
  
- Missouri Botanical Garden. <http://www.tropicos.org/Name/4102963> . (Consulté le 22 Novembre 2016) ; <http://www.tropicos.org/Name/42000136> . (Consulté le 24 Novembre 2016) ; <http://www.tropicos.org/Image/100137626> . (Consulté le 23 Novembre 2016) ; <http://www.tropicos.org/Image/100137625> . (Consulté le 23 Novembre 2016).
  
- OMS. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/fr/> . (Consulté le 18 octobre 2016).
  
- Plante et botanique. [http://www.plantes-botanique.org/famille\\_Brassicaceae](http://www.plantes-botanique.org/famille_Brassicaceae) . (Consulté le 26 novembre 2016).
  
- PROSTAPHANE®. <http://www.prostaphane.fr/prostaphane/quand-et-pourquoi-lutiliser.html> . (Consulté le 12 octobre 2016).

- The plant list. <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/kew-2682513> . (Consulté le 19 janvier 2017).

**Vu, le Président du jury,**

Jean-Marie BARD

**Vu, le Directeur de thèse,**

Olivier GROVEL

**Vu, le Directeur de l'UFR,**

Nom - Prénoms : Monnier - François, Xavier, Michel, René

Titre de la thèse : LE BROCOLI (*Brassica cretica* Lam.), composés bioactifs et intérêt du sulforaphane pour la santé humaine.

---

Résumé de la thèse :

Le brocoli (*Brassica cretica* Lam.), originaire d'Italie, est une variété de choux appartenant à la famille des Angiospermes. Le brocoli est un aliment comportant de nombreux composés bénéfiques pour la santé plus ou moins conservés selon le mode de cuisson. En effet, le brocoli est peu énergétique et est constitué en majorité d'eau mais il est également très riche en micronutriments tels que les vitamines et les minéraux. De plus, il est aussi très riche en métabolites tels que les polyphénols, les caroténoïdes et les molécules soufrées.

L'objectif de cette étude bibliographique est de décrire les divers effets bénéfiques du sulforaphane sur l'homme. En effet, il serait responsable de mécanismes de protection contre la neurodégénérescence, les cancers, les infections à *Helicobacter pylori*, l'arthrose et dans les maladies cardiovasculaires.

Les études portant sur la concentration en sulforaphane efficace afin d'obtenir le meilleur apport qualitatif, les différentes manières de l'obtenir ainsi que les risques possibles avec de fortes doses seront étudiées.

---

MOTS CLÉS BROCOLI, MICRONUTRIMENTS, METABOLITES, SULFORAPHANE, CANCER, MALADIES CARDIOVASCULAIRE

---

JURY

PRÉSIDENT : M. Jean-Marie BARD, Professeur de Biochimie  
Faculté de Pharmacie de Nantes

ASSESEURS : M. Olivier GROVEL, Maître de Conférences de Pharmacognosie  
Faculté de Pharmacie de Nantes  
Mme Marylène BRIANT, Pharmacien  
13 rue du Maine 44600 St Nazaire

---

Adresse de l'auteur : 22 rue Jacob 75006 PARIS