

**VETAGRO SUP**  
**CAMPUS VÉTÉRINAIRE DE LYON**

Année 2017 - Thèse n° 017

***APPROCHE MÉTABOLIQUE DU TRAITEMENT DU CANCER  
CHEZ LE CHIEN ET LE CHAT : ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE  
ET DE FAISABILITÉ AU TRAVERS DE CAS TRAITÉS AU  
CENTRE HOSPITALIER VÉTÉRINAIRE SAINT-MARTIN***

**THÈSE**

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I  
(Médecine - Pharmacie)  
et soutenue publiquement le 12 Juillet 2017  
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

*INGLEBERT Marine*

Née le 21 juin 1993

à Lille



VetAgro Sup





**VETAGRO SUP**  
**CAMPUS VÉTÉRINAIRE DE LYON**

Année 2017 - Thèse n° 017

***APPROCHE MÉTABOLIQUE DU TRAITEMENT DU CANCER  
CHEZ LE CHIEN ET LE CHAT : ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE  
ET DE FAISABILITÉ AU TRAVERS DE CAS TRAITÉS AU  
CENTRE HOSPITALIER VÉTÉRINAIRE SAINT-MARTIN***

**THÈSE**

Présentée à l'UNIVERSITÉ CLAUDE-BERNARD - LYON I  
(Médecine - Pharmacie)

et soutenue publiquement le 12 Juillet 2017  
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

*INGLEBERT Marine*

Née le 21 juin 1993

à Lille



VetAgro Sup





Liste de Enseignants du Campus Vétérinaire de Lyon MAJ: 13/04/2017

Civilité	Nom	Prénom	Département	Grade
Mme	ABITBOL	Marie	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
M.	ALVES-DE-OLIVEIRA	Laurent	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
Mme	ARCANGIOLI	Marie-Anne	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
M.	ARTOIS	Marc	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
Mme	AYRAL	Florence	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences Stagiaire
Mme	BECKER	Claire	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
Mme	BELLUCO	Sara	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
Mme	BENAMOU-SMITH	Agnès	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
M.	BENOIT	Etienne	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
M.	BERNY	Philippe	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
Mme	BONNET-GARIN	Jeanne-Marie	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
Mme	BOULOCHER	Caroline	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
M.	BOURDOISEAU	Gilles	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
M.	BOURGOIN	Gilles	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
M.	BRUYERE	Pierre	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
M.	BUFF	Samuel	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
M.	BURONFOSSE	Thierry	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
M.	CACHON	Thibaut	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
M.	CADORÉ	Jean-Luc	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
Mme	CALLAIT-CARDINAL	Marie-Pierre	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
M.	CAROZZO	Claude	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
M.	CHABANNE	Luc	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
Mme	CHALVET-MONFRAY	Karine	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
Mme	DE BOYER DES ROCHES	Alice	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
Mme	DELIGNETTE-MULLER	Marie-Laure	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
M.	DEMONT	Pierre	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
Mme	DJELOUADJI	Zorée	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
Mme	ESCRIOU	Catherine	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
M.	FAU	Didier	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
Mme	FOURNEL	Corinne	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
M.	FREYBURGER	Ludovic	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
M.	FRIKHA	Mohamed-Ridha	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
Mme	GILOT-FROMONT	Emmanuelle	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
M.	GONTHIER	Alain	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
M.	GRANCHER	Denis	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
Mme	GREZEL	Delphine	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
M.	GUERIN	Pierre	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
Mme	HUGONNARD	Marine	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
M.	JANKOWIAK	Bernard	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences Contractuel
M.	JAUSSAUD	Philippe	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
Mme	JOSSON-SCHRAMME	Anne	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences Contractuel
M.	JUNOT	Stéphane	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
M.	KODJO	Angeli	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
Mme	KRAFFT	Emilie	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
Mme	LAABERKI	Maria-Halima	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
Mme	LAMBERT	Véronique	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
Mme	LATTARD	Virginie	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
Mme	LE GRAND	Dominique	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
Mme	LEBLOND	Agnès	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
Mme	LEDOUX	Dorothee	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences Contractuel
M.	LEFEBVRE	Sébastien	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences Stagiaire
Mme	LEFRANC-POHL	Anne-Cécile	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
M.	LEPAGE	Olivier	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
Mme	LOUZIER	Vanessa	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
M.	MARCHAL	Thierry	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
M.	MOUNIER	Luc	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
M.	PEPIN	Michel	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
M.	PIN	Didier	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
Mme	PONCE	Frédérique	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
Mme	PORTIER	Karine	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
Mme	POUZOT-NEVORET	Céline	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
Mme	PROUILLAC	Caroline	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
Mme	REMY	Denise	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
Mme	RENE MARTELLET	Magalie	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
M.	ROGER	Thierry	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
M.	SABATIER	Philippe	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
M.	SAWAYA	Serge	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
M.	SCHRAMME	Michael	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
Mme	SERGENTET	Delphine	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
M.	THIEBAULT	Jean-Jacques	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
M.	TORTEREAU	Antonin	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
M.	VIGUIER	Eric	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
Mme	VIRIEUX-WATRELOT	Dorothee	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences Contractuel
M.	ZENNER	Lionel	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur



# **Remerciements**

**A Madame le Professeur Françoise MORNEX**

De la faculté de médecine de Lyon,  
Pour nous faire l'honneur d'accepter la présidence de ce jury de thèse,  
Hommages respectueux.

**A Madame le Professeur Frédérique PONCE**

De VetAgroSup, campus vétérinaire de Lyon  
Pour avoir accepté d'encadrer ce travail, et m'avoir accompagnée dans la découverte du  
monde de la cancérologie vétérinaire,  
Pour vos conseils, et votre enseignement de qualité,  
Sincères remerciements.

**A Monsieur le Professeur Philippe BERNY,**

De VetAgroSup, campus vétérinaire de Lyon  
Pour avoir accepté de juger ce travail,  
Pour votre enthousiasme et votre disponibilité,  
Sincères remerciements.

**A Monsieur le Docteur Hubert LINCET,**

Du Centre de Recherche en Cancérologie de Lyon,  
Pour vos conseils et votre patience, et pour m'avoir permis de faire mes premiers pas dans la  
recherche,  
Pour l'intérêt que vous avez porté à ce manuscrit,  
Profonde reconnaissance.

**A Monsieur le Docteur Stéphane DOLIGER,**

De la Clinique Vétérinaire du Salève,  
Pour avoir été à l'initiative de ce travail,  
Sincères remerciements.





**A mes parents,**

Pour leur soutien sans faille dans toutes les situations, pour leur confiance inébranlable, un immense merci.

**A mon frère,**

Pour ta présence toutes ces années, pour me rendre visite partout où je vais, merci.

**A mes grands parents,**

Pour leur amour inconditionnel, leur gentillesse et leur confiance de tous les jours, que je n'oublierai jamais.

**A Max,**

Pour ton soutien, ta confiance, ta bonne humeur, nos voyages, nos rires et nos silences. Pour les merveilleux moments et les moins drôles, et les projets à venir. Ich liebe dich.

**A mes amis de Lille,**

A Marion, Emna, Loulou, Mahaut, Simon, Hélène, Matthieu, pour tous les beaux moments depuis l'enfance, pour les souvenirs de lycée et les voyages d'aujourd'hui.

**A mes amis de Paris,**

Aux copains du foyer et de la prépa, pour leur joie de vivre et les bons moments passés ensemble, pour cette aventure qui nous a tant marqués.

**A mes amis de Marcy,**

A mon ancienne et ma poulotte, pour votre accueil, votre sourire, votre confiance, nos confidences et nos voyages. A Charlotte et Guilhem, pour tous les moments passés ensemble à voyager, et refaire le monde. Aux copains de l'IVSA Lyon, pour les beaux échanges. A toutes les belles rencontres de l'école véto, merci d'avoir été là.

**A ceux qui ont marqué mon parcours,**

Aux enseignants non vétérinaires qui ont marqué l'intégralité de mon parcours par leurs conseils, leur patience et leur soutien. Je pense régulièrement à vous. A mes maîtres de stage, internes et résidents, qui au fil des années m'ont guidée dans ma formation et m'ont aidée à développer mes compétences et connaissances. Aux internes et cliniciens de la VetmedUni Vienna, pour leur accueil chaleureux et leur disponibilité sans égale. A mes senseïs, pour leur rigueur et leur discipline, indispensables pour la réalisation de ce parcours.

**A l'équipe de la Clinique Vétérinaire de l'Espoir,**

Pour m'avoir accompagnée dans mes débuts de vétérinaire assistant, pour leur confiance, leur bonne humeur et leurs explications.

**Aux rencontres de voyage,**

Petites et grandes, qui m'ont fait grandir et cultiver le goût de l'aventure et de la découverte. A Katie, aux copains du Canada, aux membres de l'IVSA global, aux rencontres d'Erasmus, Merci de m'avoir tendu la main et ouvert les yeux.



# Table des matières

Table des annexes.....	16
Table des figures .....	17
Table des tableaux .....	18
Table des abréviations .....	19
INTRODUCTION.....	21
Partie 1 : Le métabolisme de la cellule cancéreuse et les molécules pouvant le cibler : approche fondamentale .....	23
I. Rappels sur la production d'énergie dans la cellule saine.....	25
A. La glycolyse et la néoglucogenèse .....	25
B. Le cycle de Krebs et la phosphorylation oxydative.....	27
1. Le cycle de Krebs.....	27
2. La phosphorylation oxydative (OxPhos) .....	28
C. Les navettes glycérol-phosphate et malate-aspartate.....	29
D. Une régulation possible de ces voies métaboliques.....	30
E. L'importance des coenzymes .....	31
F. Conclusion partielle .....	32
II. Spécificités du métabolisme de la cellule tumorale .....	33
A. L'effet Warburg et son interprétation au fil des années .....	33
B. La prise en charge du glucose par la cellule cancéreuse, la glycolyse et la voie des pentoses phosphates.....	34
1. L'entrée dans la cellule par les transporteurs du glucose (GLUT, SGLT) et la prise en charge par les hexokinases.....	34
2. La phosphofructokinase 1 (PFK1) et sa régulation.....	35
3. L'aldolase et la triose phosphate isomérase .....	35
i. L'aldolase .....	35
ii. La triose phosphate isomérase (TPI) .....	36
4. La glycéraldéhyde 3-phosphate déshydrogénase (GAPDH) .....	36
5. La phosphoglycérate mutase (PGM1).....	36

6.	La pyruvate kinase (PK) .....	36
7.	La transcétolase, une enzyme clef de la voie des pentoses phosphates .....	38
C.	Un cycle de Krebs au fonctionnement modifié .....	38
1.	L'altération des enzymes du cycle de Krebs.....	38
i.	La citrate synthase .....	38
ii.	L'isocitrate déshydrogénase (IDH) .....	38
iii.	La succinate déshydrogénase (SDH).....	38
iv.	La fumarate hydratase (FH).....	39
2.	L'importance de la glutamine et de la glutaminolyse .....	39
i.	La glutaminolyse .....	39
ii.	Un possible fonctionnement inverse du cycle de Krebs.....	41
D.	Les voies de signalisation en aval d'Akt, une « Warburg » kinase .....	42
1.	L'activation de Akt .....	42
2.	L'implication de mammalian target of rapamycin (mTOR).....	42
3.	Le facteur HIF-1 (Hypoxia Inducible Factor-1) .....	44
E.	L'importance de l'acide lactique et d'un microenvironnement tumoral acide.....	47
1.	La production de l'acide lactique, essentiel à la survie tumorale .....	47
i.	La lactate déshydrogénase et les transporteurs des monocarboxylates .....	47
ii.	Le rôle de l'ATP-citrate lyase .....	48
2.	L'importance des efflux de protons .....	49
i.	L'ATP-ase de type V.....	49
ii.	L'échangeur Na <sup>+</sup> /H <sup>+</sup> (NHE-1).....	50
iii.	Les anhydrases carboniques (CA, Carbonic Anhydrases).....	50
iv.	Bilan des transporteurs impliqués dans l'efflux de protons.....	51
F.	Les relations entre oncogènes et métabolisme, vers une explication de l'origine du cancer ?.....	51
1.	L'importance de la génétique.....	51
2.	L'importance des aspects métaboliques.....	52
G.	Conclusion partielle.....	54
III.	Les molécules ciblant le métabolisme de la cellule tumorale .....	55
A.	Cibler l'entrée de glucose dans la cellule <i>via</i> l'inhibition de GLUT1 .....	55
1.	La phlorétine .....	55
2.	Le fasentin.....	55

3.	La silybine.....	56
4.	Les WZ.....	56
5.	L'imatinib .....	57
6.	Les polyphénols .....	57
B.	Cibler la glycolyse .....	58
1.	<i>Via</i> les inhibiteurs de l'hexokinase (HK).....	58
i.	Le 2-DG.....	58
ii.	Le 3-Bromopyruvate (3-BP).....	59
iii.	Le méthyljasmonate.....	60
iv.	Le lonidamine (LND).....	61
v.	L'association du 2-DG, du LND et du 3-BP sensibilise aux corticoïdes .....	61
2.	<i>Via</i> l'inhibition de la Glycéraldéhyde .....	62
3.	<i>Via</i> la diminution de l'activité de la PFK.....	63
i.	Cibler directement la PFK.....	63
ii.	Cibler indirectement la PFK en diminuant le pH intracellulaire .....	63
4.	<i>Via</i> une action sur la pyruvate kinase (PK).....	63
i.	Les inhibiteurs de la pyruvate kinase (PK).....	63
ii.	Les activateurs de la pyruvate kinase (PK) .....	64
C.	Cibler la voie des pentoses phosphates (PPP) .....	65
1.	Inhiber la transcétolase.....	65
2.	Inhiber la Glucose-6 Phosphate Déshydrogénase (G6PD) .....	65
D.	Cibler le métabolisme de la glutamine .....	66
1.	Cibler la glutaminase .....	66
2.	Cibler la glutamate déshydrogénase .....	66
3.	Cibler les transaminations .....	66
E.	Cibler le facteur HIF-1 .....	67
1.	Cibler l'ARN messager de HIF-1- $\alpha$ et sa transcription .....	67
2.	Inhiber les modifications post-transcriptionnelles et la traduction protéique .....	68
3.	Inhiber les versions protéiques de HIF-1- $\alpha$ et de HIF-1 .....	68
F.	Cibler la voie AMPK (AMP-activated protein kinase)-mTOR.....	69
1.	La metformine.....	69
2.	Les inhibiteurs de mTOR.....	70
G.	Cibler la formation d'acétyl-CoA, à la base des réactions anaboliques .....	72
1.	Cibler la pyruvate déshydrogénase (PDH).....	72

i.	Le dichloroacétate (DCA) .....	72
ii.	L'acide alpha lipoïque (ALA) .....	74
2.	Cibler l'ATP-citrate Lyase (ACLY) .....	74
H.	Cibler l'équilibre acido-basique .....	75
1.	Réduire la formation du lactate <i>via</i> les inhibiteurs de la lactate déshydrogénase..	75
2.	Limiter l'import de lactate <i>via</i> l'inhibition des MCT-1 .....	76
3.	Accentuer l'acidification intracellulaire <i>via</i> les inhibiteurs des molécules gérant les efflux de protons .....	77
i.	Les inhibiteurs des pompes à protons (IPP), régulant la V-ATPase.....	77
ii.	Les inhibiteurs de l'échangeur Na <sup>+</sup> /H <sup>+</sup> (NHE-1) .....	78
iii.	Les inhibiteurs des anhydrases carboniques (CA) IX et XII .....	78
I.	Conclusion partielle .....	79

Partie 2 : Utilisation clinique des molécules ciblant le métabolisme énergétique modifié des cellules tumorales .....

I.	Préalable à l'étude .....	89
A.	Contexte en médecine humaine .....	89
1.	Méthodologie .....	89
2.	Résultats .....	90
3.	Discussion et conclusions .....	98
i.	Bilan .....	98
ii.	Critères de sélection .....	98
iii.	Détails des doses utilisées et des effets indésirables connus des molécules retenues en médecine humaine .....	98
B.	Contexte en médecine vétérinaire.....	100
1.	Méthodologie .....	100
2.	Résultats .....	100
i.	L'utilisation des inhibiteurs de pompes à protons (IPP).....	100
ii.	La metformine (MET) .....	102
iii.	L'hydroxycitrate (HCA).....	102
iv.	L'acide alpha lipoïque (ALA) .....	103
v.	Le dichloroacétate (DCA) .....	103
vi.	Le citrate (CIT).....	104
vii.	Le 3-Bromopyruvate (3-BP).....	104

viii.	Le 2-désoxyglucose (2-DG) .....	104
3.	Conclusions et discussion .....	105
II.	Rapport de cas cliniques.....	106
A.	Matériels et méthodes .....	106
1.	Critères d'inclusion des patients .....	106
2.	Molécules utilisées et critères de la prescription .....	106
i.	Molécules utilisées et association.....	106
ii.	Doses utilisées et voie d'administration .....	107
iii.	Provenance des molécules.....	107
B.	Résultats.....	108
1.	Patients inclus .....	108
2.	Suivi clinique, effets secondaires et perception des propriétaires .....	110
i.	Suivi clinique.....	110
ii.	Observation des effets secondaires.....	110
iii.	Perception des propriétaires .....	110
iv.	Synthèse.....	111
3.	Examens paracliniques suite à l'instauration du traitement métabolique .....	115
i.	Imagerie médicale .....	115
ii.	Bilans sanguins.....	115
C.	Discussion.....	119
1.	Les patients inclus dans l'étude .....	119
2.	Les critères de choix des molécules utilisées.....	119
3.	La tolérance des animaux à la thérapie métabolique .....	119
i.	Tolérance sans chimiothérapie associée .....	120
ii.	Tolérance avec chimiothérapie associée.....	120
4.	L'efficacité de la thérapie métabolique.....	121
i.	Une interprétation limitée.....	121
ii.	L'évolution tumorale.....	122
iii.	La survie globale .....	122
iv.	L'impact sur le métabolisme de la cellule tumorale.....	123
5.	Conclusions.....	123

III.	Perspectives .....	124
A.	Introduction .....	124
B.	Protocole d'étude .....	125
1.	Objectifs .....	125
2.	Contacts – sites de l'étude.....	125
3.	Justifications .....	125
i.	Justification du choix des molécules .....	126
ii.	Justification du choix du type de cancer étudié.....	127
iii.	Justification du choix d'une chirurgie pré-étude ou non .....	128
iv.	Justification du choix de l'espèce étudiée .....	128
4.	Déroulé des événements.....	128
5.	Conception de l'étude .....	128
6.	Sélection des animaux.....	129
i.	Prérequis pour rentrer dans l'étude.....	129
ii.	Informations et examens nécessaires.....	130
7.	Hospitalisation des animaux .....	130
8.	Rations .....	131
9.	Traitement administré .....	131
i.	La chimiothérapie.....	131
ii.	La thérapie métabolique .....	131
iii.	Planning des contrôles.....	132
10.	Évaluation de l'efficacité .....	132
i.	Développement tumoral .....	132
ii.	Survie.....	133
iii.	Qualité de vie.....	134
11.	Statistiques .....	134
i.	Estimation du nombre d'animaux nécessaires (puissance de l'étude).....	134
ii.	Analyse des résultats .....	135
12.	Procédures pour enregistrer et analyser les données.....	135
13.	Effets secondaires .....	135
14.	Suppléments .....	136
15.	Changements dans le protocole.....	136
16.	Références .....	136
C.	Autres angles d'études intéressants .....	137



1. Quel est l'impact réel de la TM sur le métabolisme tumoral ?.....	137
2. Sur quels mécanismes agit la TM en association avec la chimiothérapie ?.....	137
3. Quelle est l'efficacité de la TM.....	138
i. ... en association avec la radiothérapie ?.....	138
ii. ... en association avec une dose plus faible de chimiothérapie que les doses de références ?.....	138
iii. ... utilisée seule ?.....	138
iv. ... en association avec la diète cétogène ?.....	138
CONCLUSION .....	139
Références bibliographiques .....	141
Annexes .....	165

## **Table des annexes**

Annexe 1 : Les mécanismes de l'apoptose.....	165
Annexe 2 : Résultats complémentaires ALA .....	167
Annexe 3 : Détails des différentes phases de réalisation d'un essai clinique.....	170
Annexe 4 : Table des valeurs usuelles IDEXX (numération et formule sanguine et examen biochimique de base) chez le chien et le chat .....	172
Annexe 5 : Statuts de performance permettant de sélectionner les patients à inclure dans l'étude.....	173
Annexe 6 : Système de condition corporelle (Note d'Etat Corporel NEC) .....	174
Annexe 7 : Grille d'évaluation de la toxicité d'un traitement par le clinicien .....	175
Annexe 8 : Grille d'évaluation des effets secondaires d'un traitement et de la qualité de vie de l'animal par le propriétaire .....	176

## Table des figures

Figure 1 : Les 10 réactions de la glycolyse et les enzymes les catalysant. ....	26
Figure 2 : Le cycle de Krebs et les enzymes impliquées. ....	27
Figure 3 : Les phosphorylations oxydatives et la synthèse d'ATP. ....	28
Figure 4 : Les navettes glycérol-phosphate (gain de 2 ATP) et malate-aspartate (gain de 3 ATP). ....	29
Figure 5 : La régulation allostérique de la glycolyse par les intermédiaires du métabolisme énergétique. ....	30
Figure 6 : Le contrôle de l'activation de la PDH par les intermédiaires du métabolisme énergétique. ....	31
Figure 7 : Une vue d'ensemble simplifiée du métabolisme du glucose. ....	32
Figure 8 : Une représentation schématique de la coopération métabolique. ....	34
Figure 9 : Une connexion entre la glycolyse et le cycle de Krebs modifiée. ....	37
Figure 10 : La glutaminolyse. ....	40
Figure 11 : Le métabolisme de la glutamine au cœur du métabolisme énergétique de la cellule cancéreuse. ....	40
Figure 12 : L'activité inverse de l'IDH. ....	41
Figure 13 : La voie de signalisation PI3K-Akt. ....	42
Figure 14 : Schéma bilan des voies d'activation et du rôle de mTOR. ....	43
Figure 15 : La voie de l'AMPK-mTOR. ....	44
Figure 16 : L'activation de HIF-1 en situation d'hypoxie. ....	45
Figure 17 : Le facteur HIF-1 favorise l'activité de nombreuses enzymes de la glycolyse. ....	46
Figure 18 : L'activité de la LDH. ....	47
Figure 19: Les échanges de lactate au sein d'un tissu tumoral. ....	48
Figure 20 : Le rôle de l'ACLY. ....	49
Figure 21 : Les efflux de protons. ....	51
Figure 22 : La régulation du métabolisme par les oncogènes. ....	52
Figure 23 : Récapitulatif des expériences d'après Kaiparettu et al., (2013) et Elliott et al., (2012). ....	53
Figure 24 : Cibler la glycolyse. ....	58
Figure 25 : Modes d'action du 3-BP. ....	62
Figure 26 : Les inhibiteurs de HIF-1 peuvent agir à différents niveaux. ....	67
Figure 27 : Mode d'action du DCA remis en contexte. ....	72

## **Table des tableaux**

Tableau 1 : Cibler les transaminations .....	66
Tableau 2 : Intérêt du DCA in vitro .....	73
Tableau 3 : Tableau bilan des molécules ciblant le métabolisme de la cellule cancéreuse .....	80
Tableau 4 : Etat des lieux de l'utilisation de molécules ciblant le métabolisme tumoral modifié en médecine humaine.....	90
Tableau 5 : Doses et voies d'administration.....	107
Tableau 6 : Hémopathies malignes et tumeurs solides - Diversité des cas étudiés, avec précision des traitements antérieurs à l'instauration de la TM.....	108
Tableau 7 : Traitements mis en place et suivi clinique .....	112
Tableau 8 : Suivi des numérations formule et des examens biochimiques.....	116
Tableau 9 : Justification des molécules choisies .....	127

## Table des abréviations

$\alpha$ -KGDH : $\alpha$ -CétoGlutarate DésHydrogénase	MDHc/m : Malate Déshydrogénase cytosolique/ mitochondriale
Acétyl-CoA : Acétyl-Coenzyme A	MDR : Multi Drug Resistant
ACLY : ATP Citrate Lyase	MTD : Maximum Tolerated Dose
ADN : Acide DésoxyriboNucléique	mTOR : mammalian Target Of Rapamycin
ADP : Adénosine Di Phosphate	NAD : Nicotinamide Adénine Dinucléotide
ALA : Alpha Lipoïc Acid	NBC : cotransporteur du bicarbonate de sodium
ALAT : Alanine Amino Transférase	NEC : Note d'Etat Corporel
6-AN : 6-AminoNicotinamide	NHE : Na <sup>+</sup> /H <sup>+</sup> exchanger
AMM : Autorisation de Mise sur le Marché	O <sub>2</sub> : Dioxygène
AMP : Adénosine Mono Phosphate	OAA : OxaloAcétate
AMPK : AMP Kinase	OMP : OméPrazole
ARNm : AcideRiboNucléique messenger	OSA : OstéoSarcome
siARN : small interfering AcideRiboNucléique	OxPhos : Phosphorylation Oxydative
ATP : Adénosine Tri Phosphate	PAL : Phosphatase AlcaLine
BID : Bis In Die (deux fois par jour)	PD : Maladie Progressive
3-BP : 3-BromoPyruvate	PDH : Pyruvate DésHydrogénase
CA: Carbonic Anhydrase	PDK : Pyruvate DésHydrogénase Kinase
CHV : Centre Hospitalier Vétérinaire	PFKFB : 6-PhosphoFructo-2-Kinase/Fructose-2,6- Bisphosphatase
CIT : CITrate	PET : Positron Emission Tomography
CN : ChieN	PFK : PhosphoFructoKinase
CO <sub>2</sub> : molécule de dioxyde de carbone	2-PG : 2-PhosphoGlycérate
CT : ChaT	3-PG : 3-PhosphoGlycérate
DCA : DiChloroAcétate	PGDH : PhosphoGlycérate DésHydrogénase
2-DG : 2-DésoxyGlucose	PGI : PhosphoGlucosomérase
DHAP : DiHydroxyAcétone Phosphate	PGK : PhosphoGlycérate Kinase
FAD : Flavine Adénine Dinucléotide	PGM : PhosphoGlycérate Mutase
F1,6-BP : Fructose 1,6-BiPhosphate	PHD: Prolyl HyDroxylase
FH : Fumarate Hydratase	Pi : Phosphate inorganique
F2,6-P : Fructose 2,6-bisPhosphate	PI3K: PhosphoInositide 3-Kinase
5-FU : 5-Fuorouracil	PK : Pyruvate Kinase
GA3P : GlycérAldéhyde-3-Phosphate	PKC : Protéine Kinase C
GAPDH : GlycérAldéhyde 3-Phosphate DésHydrogénase	PO : Per Os (par voie orale)
GDHc/m : Glycérol-Phosphate Déshydrogénase cytosolique/mitochondriale	PPP : Pentose Phosphate Pathway
GDP : Guanosine Di Phosphate	PR : Réponse Partielle
GLUTs : GLUcose Transporters	ROS : Reactive Oxygen Species
G6P : Glucose-6-Phosphate	SD : Maladie Stable
G6PD : Glucose-6-Phosphate désHydrogénase	SDH : Succinate DésHydrogénase
GTP : Guanosine Tri Phosphate	SGLT : Sodium Glucose Linked Transporter
H <sub>2</sub> O: molécule d'eau	SID : Semel In Die (une fois par jour)
HCA : HydroxyCitrate	TCA cycle : TriCarboxylicAcid (cycle de Krebs)
HIF : Hypoxia Inducible Factor	TID : Ter In Die (trois fois par jour)
HK : HexoKinase	TIGAR : TP53-Induced Glycolysis and Apoptosis Regulator
IDH : Isocitrate DésHydrogénase	TKTL : Transketolase Like enzyme
IGF-1 : Insulin-Like Growth Factor 1	TM : Thérapie Métabolique
IV : Intra-Veineux	TMM : Tumeur MaMmaire
LDH : Lactate DésHydrogénase	TPI : Triose Phosphate Isomérase
LND : LoNiDamine	TSC : Tuberos Sclerosis Complex
LSP : LanSoPrazole	VEGF : Vascular Endothelium Growth Factor
MCT : MonoCarboxylate Transporter	



# **INTRODUCTION**

Les travaux de recherche menés en cancérologie ont permis de définir des caractéristiques spécifiques de la cellule cancéreuse, appelées « Hallmarks of cancer ». Ce sont : l'indépendance vis-à-vis des signaux de prolifération, l'insensibilité aux signaux anti-prolifératifs, la résistance à l'apoptose, la perte de la sénescence, la capacité d'angiogénèse, la capacité d'invasion et de diffusion métastatique (Hanahan et Weinberg, 2000).

Plus tard, l'approfondissement des connaissances en cancérologie a permis de définir de nouvelles caractéristiques, parmi lesquelles l'instabilité génomique, la résistance à l'immunité antitumorale, l'inflammation favorisant le développement tumoral, et la reprogrammation du métabolisme énergétique (Hanahan et Weinberg, 2011). Ce dernier point avait été souligné dès le début du XX<sup>ème</sup> siècle par Otto Warburg, médecin, physiologiste et biochimiste. Il avait observé que les cellules cancéreuses utilisaient la glycolyse comme moyen d'approvisionnement en énergie, et ce même en conditions aérobies. L'interprétation était que le défaut de respiration mitochondriale était à l'origine même du cancer. La découverte de cet effet, nommé effet Warburg, lui valut le prix Nobel en 1931.

L'étude plus spécifique du métabolisme énergétique des cellules tumorales offre de nouvelles perspectives thérapeutiques. L'objet de ce travail est d'étudier dans une première partie les principes clefs du métabolisme de la cellule cancéreuse expliquant l'effet Warburg et ses conséquences, pour pouvoir ensuite dégager les molécules principales utilisables *in vitro* comme chez l'animal de laboratoire.

Nous verrons dans une deuxième partie que certaines de ces molécules ont pu déjà être utilisées en médecine humaine avec des résultats prometteurs. Néanmoins, l'application clinique concrète est parfois difficile et l'utilisation efficace de ces molécules nécessite des essais cliniques plus nombreux et pertinents. L'objectif de notre deuxième partie est tout d'abord de faire un état des connaissances actuelles en médecine humaine. Nous proposerons ensuite, chez le chien, en clinique vétérinaire, l'introduction de ces molécules ciblant le métabolisme des cellules cancéreuses (thérapie métabolique) au sein de protocoles thérapeutiques standardisés. Une étude de faisabilité à partir de cas cliniques traités au Centre Hospitalier Vétérinaire Saint-Martin conduira à une proposition de protocole d'essai clinique ayant pour but d'évaluer l'efficacité de la thérapie métabolique en association avec la chimiothérapie sur la survie des animaux.

Les études chez le chien nous permettent de travailler sur des cancers spontanés et sur une échelle de temps réduite, le chien développant des cancers beaucoup plus rapidement. Par ailleurs, le cancer ne présente pas de barrière d'espèces, et les résultats pourraient conduire à de nouvelles perspectives en médecine humaine.





**Partie 1 : Le métabolisme de la cellule cancéreuse et  
les molécules pouvant le cibler : approche  
fondamentale**



# **I. Rappels sur la production d'énergie dans la cellule saine**

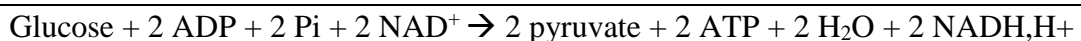
La cellule animale saine est capable de générer de l'énergie sous forme d'ATP (Adénosine Tri Phosphate) de différentes manières. Nous nous intéresserons dans cette partie spécifiquement au métabolisme du glucose. Dans le cytoplasme, la glycolyse transforme le glucose en pyruvate. En présence de dioxygène (O<sub>2</sub>), le pyruvate permet *via* la synthèse d'acétyl-Coenzyme A (acétyl-CoA) le fonctionnement du cycle de Krebs (TCA cycle) dans la mitochondrie, ce qui entraîne la réduction des coenzymes Nicotinamide Adénine Dinucléotide (NADH,H<sup>+</sup>) et Flavine Adénine Dinucléotide (FADH<sub>2</sub>). L'oxydation de ces coenzymes est couplée à la production d'ATP à l'issue des phosphorylations oxydatives ayant lieu au niveau de la membrane mitochondriale interne.

## **A. La glycolyse et la néoglucogenèse**

La glycolyse se compose de dix réactions enzymatiques qui se déroulent dans le cytoplasme cellulaire en l'absence ou en présence d'O<sub>2</sub>. Elle peut être divisée en deux phases. La première phase est une phase de préparation qui consomme de l'énergie (investissement de 2 molécules d'ATP aboutissant après 4 réactions à la formation de 2 molécules de Glycéraldéhyde-3-Phosphate (GA3P). La deuxième phase correspond à une phase de récupération de l'énergie (gain de 4 ATP) (Figure 1).

Cette voie métabolique produit, en plus des deux molécules de pyruvate, deux molécules d'ATP et deux coenzymes réduits NADH,H<sup>+</sup>. La glycolyse est la voie majeure de production de pyruvate (Berg et al., 2013a).

Le bilan énergétique global à partir d'1 molécule de glucose est le suivant (ADP = Adénosine Di Phosphate, Pi = Phosphate Inorganique, H<sub>2</sub>O = molécule d'eau) :



En présence d'O<sub>2</sub>, les phosphorylations oxydatives régénèrent les coenzymes réduits qui sont indispensables à la glycolyse (cf. I.B.).

En absence d'O<sub>2</sub>, ce sont les fermentations (lactique ou éthanolique suivant le bagage enzymatique de la cellule) dans le cytoplasme qui régénèrent les coenzymes réduits de la glycolyse. C'est le cas par exemple des cellules musculaires, lors d'un effort intense (fermentation lactique permise par l'enzyme lactate déshydrogénase (LDH)), qui ne produisent leur ATP que grâce à la glycolyse. Il est donc à noter l'importance majeure de la glycolyse pour les cellules en hypoxie.

Certaines des réactions de la glycolyse sont réversibles : ce sont les réactions endergoniques (différence d'enthalpie libre  $\Delta G$  proche de l'équilibre), utilisées lors de la néoglucogenèse, voie permettant de former 1 molécule de glucose à partir de dérivés non

glucidiques. La néoglucogenèse met en jeu pour les réactions irréversibles (réactions 1,3, et 10) ses propres enzymes.

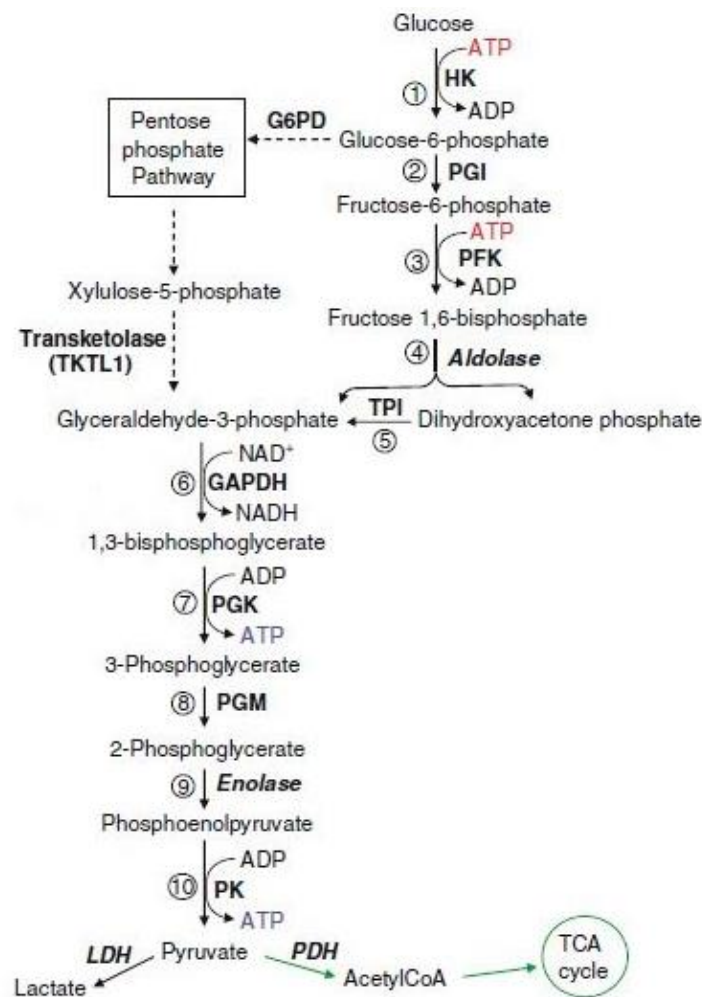


Figure 1 : Les 10 réactions de la glycolyse et les enzymes les catalysant.

D'après Pelicano et al., 2006.

HK = HexoKinase, PGI = PhosphoGlucoseIsomérase, PFK = PhosphoFructoKinase, TPI = TriosePhosphateIsomérase, GAPDH = GlycérAldéhyde 3-PhosphateDésHydrogénase, PGK = PhosphoGlycérate Kinase, PGM = PhosphoGlycérate Mutase, PK = Pyruvate Kinase, PDH = Pyruvate DésHydrogénase, ADP = Adénosine Di Phosphate, G6PD = Glucose-6-PhosphateDésHydrogénase

La glycolyse est un processus intégré aux autres voies du métabolisme (ensemble des réactions chimiques qui se déroulent dans la cellule pour lui permettre de vivre et de proliférer), comme par exemple la voie des pentoses phosphates (Pentose Phosphate Pathway = PPP) ou le cycle de Krebs. Son contrôle se fait majoritairement par le contrôle des enzymes catalysant les réactions irréversibles. Sa régulation allostérique sera détaillée dans la suite de notre travail.

Le pyruvate formé à l'issue de la glycolyse peut rentrer dans la mitochondrie où il est pris en charge par le complexe enzymatique de la pyruvate déshydrogénase (PDH) pour donner 1 molécule d'acétyl-CoA et de NADH. Cet acétyl-CoA alimente le cycle de Krebs. Si le pyruvate ne rentre pas dans la mitochondrie, il est transformé en lactate *via* la lactate déshydrogénase (LDH).

## B. Le cycle de Krebs et la phosphorylation oxydative

### 1. Le cycle de Krebs

Le cycle de Krebs, ou cycle de l'acide citrique (citrate), se compose de 8 réactions enzymatiques (Figure 2) qui se déroulent dans la matrice mitochondriale. C'est une voie commune d'oxydation des molécules organiques (sucres, acides aminés, acides gras) qui se rejoignent au travers de l'oxydation de l'acétyl-CoA. Ces réactions du catabolisme (réactions de dégradations moléculaires) oxydatif sont couplées à la réduction de nombreux coenzymes, ensuite exploités dans les réactions de phosphorylations oxydatives au rendement en ATP très important. Certains intermédiaires du cycle de Krebs sont utilisés dans des réactions de l'anabolisme (réactions de synthèses moléculaires) : le cycle de Krebs est un processus amphibolique (Berg et al., 2013b).

Le bilan du cycle de Krebs, à partir du pyruvate, est le suivant (CO<sub>2</sub> = molécule de dioxyde de carbone) :

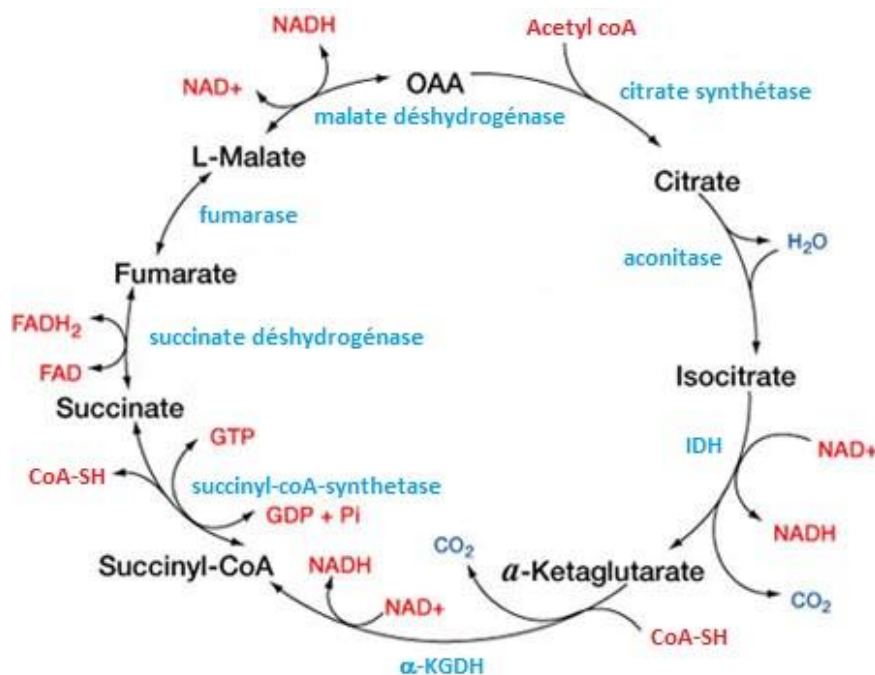
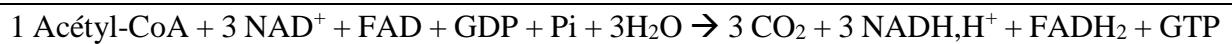


Figure 2 : Le cycle de Krebs et les enzymes impliquées.

OAA = OxAlOAcétate, α-KGDH = α-CétoGlutarate DésHydrogénase, GTP = Guanosine Tri Phosphate, GDP = Guanosine Di Phosphate, Pi = Phosphate Inorganique, IDH = Isocitrate DésHydrogénase

## 2. La phosphorylation oxydative (OxPhos)

Les coenzymes réduits  $\text{NADH,H}^+$  et  $\text{FADH}_2$  issus du cycle de Krebs sont capables de céder leurs électrons aux complexes transporteurs d'électrons présents dans la membrane mitochondriale interne. Le transfert d'électrons est couplé à un pompage de protons à travers la membrane interne (*via* les complexes I, III et IV), qui, elle, est imperméable aux protons (Figure 3). Le gradient de protons mis en place de part et d'autre de la membrane interne oriente le retour des protons vers la matrice mitochondriale à travers le complexe ATP synthase (complexe V). L'ATP synthase, composée des sous unités  $\text{F}_0$  et  $\text{F}_1$ , produit de l'ATP suite à la condensation d'ADP et de phosphate inorganique ( $\text{P}_i$ ). L' $\text{O}_2$  est l'accepteur final des électrons cédés par les coenzymes réduits, et l' $\text{H}_2\text{O}$  (molécule d'eau) est le produit final. L'efficacité de ce processus dépend fortement de la composition lipidique de la membrane mitochondriale interne, dont la cardiolipine, qui en est un composant majoritaire.

En termes de bilan énergétique, l'oxydation d'1  $\text{NADH,H}^+$  permet la synthèse de 3 ATP, et celle d'1  $\text{FADH}_2$  de 2 ATP. Au terme des réactions exposées, l'oxydation complète du glucose conduit à la formation de 36 ou 38 ATP (Berg et al., 2013c). Ces chiffres varient en fonction de la navette empruntée pour l'oxydation du  $\text{NADH,H}^+$  issu de la glycolyse, comme nous allons l'expliquer par la suite.

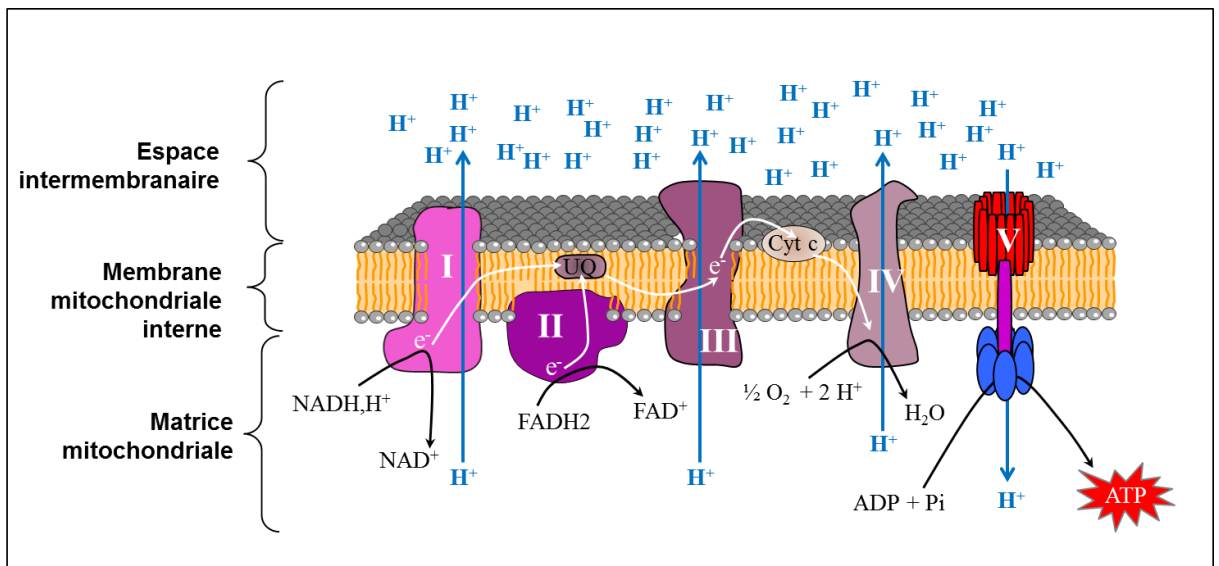


Figure 3 : Les phosphorylations oxydatives et la synthèse d'ATP.

D'après Lincet, 2013.

Il est intéressant de noter que le complexe II correspond à l'enzyme succinate déshydrogénase, qui intervient également dans le cycle de Krebs (Figure 2).

## C. Les navettes glycérol-phosphate et malate-aspartate

La compartimentation cellulaire implique nécessairement des échanges entre cytoplasme et mitochondrie, dont la mitochondrie est dépendante. Le transfert du pouvoir réducteur du  $\text{NADH,H}^+$  issu de la glycolyse, pour qui la membrane mitochondriale est imperméable, peut se faire selon deux mécanismes différents (Berg et al., 2013c).

- La navette glycérol-phosphate, retrouvée principalement dans les cellules squelettiques et les cellules nerveuses. Elle transfère le pouvoir réducteur du  $\text{NADH,H}^+$ , par l'intermédiaire du glycérol-phosphate, issu de la réduction du dihydroxyacétone phosphate (DHAP) cytosolique. Une glycérol-phosphate déshydrogénase cytosolique (GDHc) assure la réduction du DHAP cytosolique en glycérol phosphate, réaction couplée à l'oxydation du  $\text{NADH,H}^+$  (Figure 4). Une glycérol-phosphate déshydrogénase mitochondriale (GDHm) (située sur la face externe de la mitochondrie) permet l'oxydation du glycérol-phosphate en DHAP, réaction couplée à la réduction du FAD en  $\text{FADH}_2$ . En termes de bilan énergétique, la formation d'1 ATP est perdue par rapport au pouvoir réducteur du  $\text{NADH,H}^+$ , ce qui explique les différences de rendement en ATP calculées à l'issue de l'oxydation complète du glucose.
- La navette malate-aspartate, retrouvée principalement dans les cellules du foie et du cœur, réduit l'oxaloacétate (OAA) cytosolique en malate *via* une malate déshydrogénase cytosolique (MDHc). Le malate, après son entrée dans la matrice mitochondriale est pris en charge par une malate déshydrogénase mitochondriale (MDHm) qui l'oxyde de nouveau en OAA (Figure 4). Cette oxydation est couplée à la réduction d'un  $\text{NAD}^+$  en  $\text{NADH,H}^+$ . La transamination de l'OAA conduit à la formation d'aspartate qui peut franchir les membranes mitochondriales et retourner dans le cytosol, où il donne de nouveau de l'OAA cytosolique après transamination.

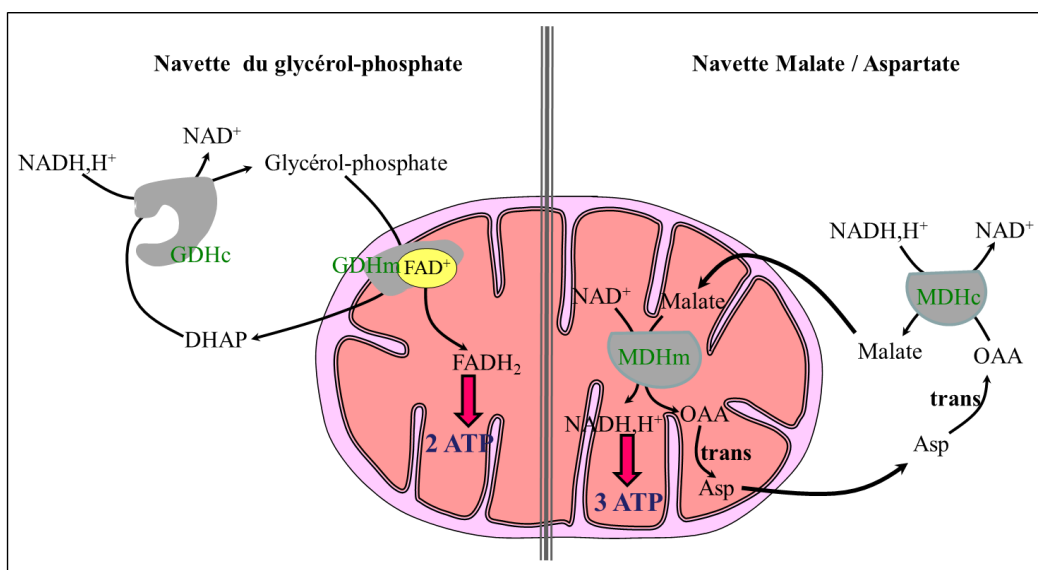


Figure 4 : Les navettes glycérol-phosphate (gain de 2 ATP) et malate-aspartate (gain de 3 ATP).

D'après Lincet, 2013.

## D. Une régulation possible de ces voies métaboliques

L'ATP obtenu à l'issu de ces réactions intervient dans la régulation allostérique des voies métaboliques qui l'ont créé.

Par exemple, l'activité enzymatique de la phosphofructokinase 1 (PFK1), enzyme qui catalyse la 3<sup>ème</sup> réaction irréversible de la glycolyse, est diminuée lorsque le ratio ATP/ADP est élevé (Figure 5). Les intermédiaires métaboliques en amont de cette réaction que sont le glucose-6-phosphate et le fructose-6-phosphate sont alors orientés vers d'autres voies métaboliques. Ainsi, le glucose-6-phosphate peut être utilisé dans la voie des pentoses phosphates (Figure 1). Au contraire, un ratio ATP/ADP faible aboutit à une levée d'inhibition de l'enzyme PFK1 et donc à la poursuite de la glycolyse.

Une inhibition allostérique similaire est exercée par le phosphoénolpyruvate et par le citrate sur la PFK1 (Figure 5). Le citrate est un intermédiaire du cycle de Krebs qui diffuse vers le cytoplasme lors d'un excès de sa formation au sein de la matrice mitochondriale. Il est alors transformé en OAA et acétyl-CoA. Ce dernier est une molécule au carrefour des voies métaboliques et permet la synthèse d'acide gras (par l'acétyl-CoA Carboxylase), de précurseurs de stéroïdes, ainsi que l'acétylation des histones.

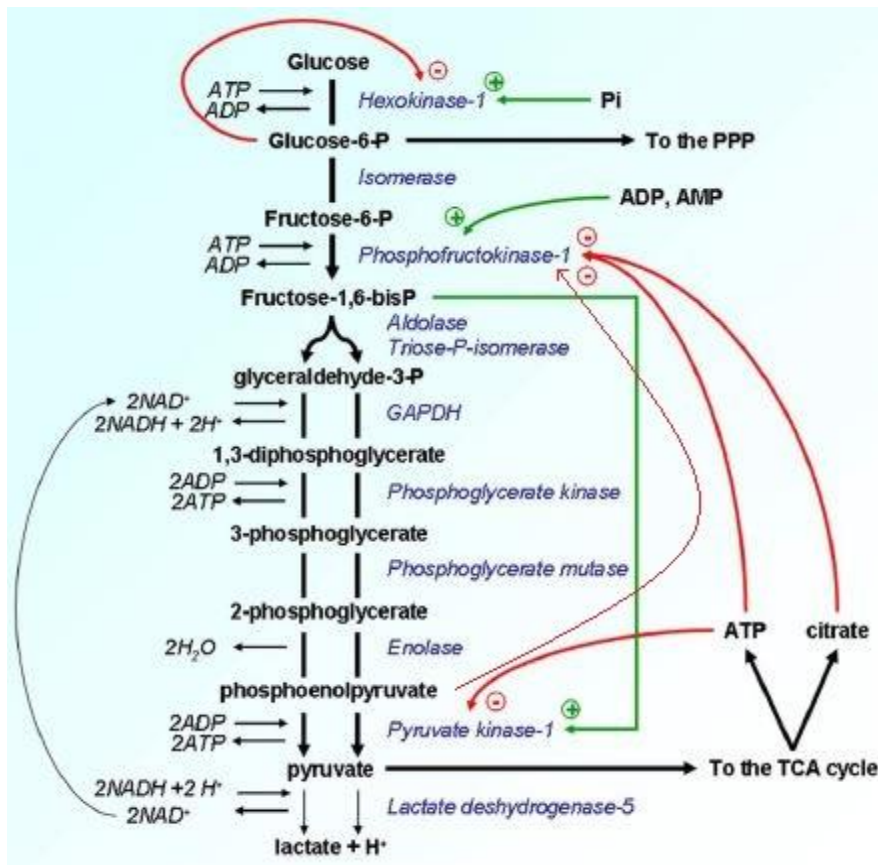


Figure 5 : La régulation allostérique de la glycolyse par les intermédiaires du métabolisme énergétique.

Modifié d'après Porporato et al., 2011 (flèches rouges : inhibition, flèches vertes : activation)



Cette régulation allostérique de la glycolyse se comprend au regard de la disponibilité en  $O_2$  pour les cellules et du besoin en ATP (Berg et al., 2013a). En présence d' $O_2$ , une quantité importante de certains produits du cycle de Krebs (ATP, citrate) inhibent le flux glycolytique (flèches rouges de la Figure 5). En revanche, quand l'oxygène vient à manquer (situation d'hypoxie), l'oxydation complète du glucose par le cycle de Krebs n'est plus possible, conduisant à une diminution de production d'ATP et de citrate. Par conséquent, l'inhibition de la glycolyse est levée et cette dernière fonctionne avec un turn over important pour pallier la production diminuée d'ATP. Lors d'hypoxie sévère, les niveaux de fructose 1,6-BiPhosphate (F1,6-BP), d'ADP, d'AMP (Adénosine Mono Phosphate), de Pi augmentent, provoquant ainsi un flux accru de la glycolyse (Figure 5). Cette dernière permet alors de fournir suffisamment d'ATP à la cellule pour maintenir la survie même en condition d'hypoxie sévère. Ce contrôle du métabolisme glycolytique par la disponibilité en  $O_2$  est nommé l'effet Pasteur.

L'activité de la PDH est contrôlée de manière similaire. La pyruvate déshydrogénase kinase 1 (PDK1) inhibe la PDH en condition d'hypoxie *via* le facteur Hypoxia Inducible Factor 1 (HIF-1). De même un ratio ATP/ADP élevé provoque une inactivation de la PDH (Figure 6). Dans ce cas, le pyruvate n'est pas métabolisé par la PDH, il reste dans le cytoplasme où il est réorienté pour former du lactate par la LDH, mécanisme qui sera détaillé par la suite (Figure 18).

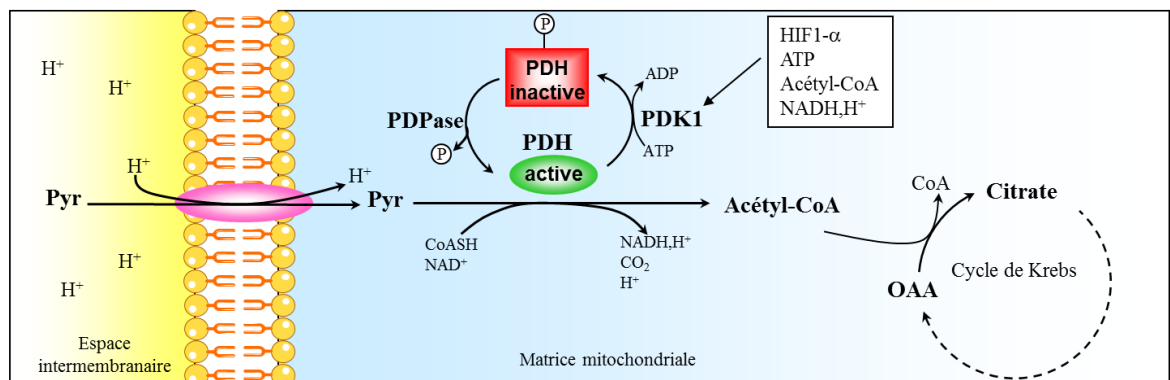


Figure 6 : Le contrôle de l'activation de la PDH par les intermédiaires du métabolisme énergétique.

## E. L'importance des coenzymes

Le  $NAD^+$  issu des réactions catalysées par les déshydrogénases cytosoliques (malate déshydrogénase, LDH, glycérol phosphate déshydrogénase,...) est essentiel à de nombreuses voies métaboliques. Il est crucial pour l'activité de la GAPDH dans la glycolyse, mais aussi lors de la synthèse des bases pyrimidiques ou encore lors de la réparation de l'ADN (Acide DésoxyriboNucléique). Son rôle dans l'activation des sirtuines, déacétylases impliquées dans l'angiogenèse, mais aussi dans la progression tumorale et le contrôle du cycle cellulaire, en fait un élément clé pour comprendre le métabolisme de la cellule tumorale (Witt et al., 2009).

Le coenzyme réduit  $NADPH,H^+$  est, quant à lui, utilisé pour les voies de biosynthèse des acides gras, des acides nucléiques et des acides aminés. Il est produit par la partie oxydative

de la PPP, par la transformation du malate en pyruvate par l'enzyme malique, par la glutamate déshydrogénase et/ou par l'isocitrate déshydrogénase (IDH). De plus, il joue un rôle essentiel dans les mécanismes de détoxification et d'antioxydant au sein de la cellule, en maintenant le pool de glutathion sous forme réduite, ce qui empêche l'accumulation des ROS (Reactive Oxygen Species) (Kuo et al., 2000).

## F. Conclusion partielle

Chaque cellule animale produit son énergie à l'issue du métabolisme des glucides, des lipides et des protéines (non développés dans cette partie). Les carbones des molécules énergétiques sont oxydés en  $\text{CO}_2$ , et les électrons libérés à l'issue de ces réactions sont utilisés pour la synthèse d'ATP, énergie libre nécessaire à la synthèse de macromolécules, au transport de molécules ou d'ions, ainsi qu'aux mouvements cellulaires. Les réactions d'oxydation du glucose (glycolyse, cycle de Krebs) sont des processus régulés permettant à la cellule de s'adapter à son environnement et ses besoins énergétiques. Le rendement est maximal en présence d' $\text{O}_2$ , mais la cellule est capable de s'adapter en conditions d'hypoxie. Le schéma suivant (Figure 7) représente de façon simplifiée le métabolisme du glucose, à l'origine des biosynthèses cellulaires indispensables à la prolifération et à la survie cellulaire.

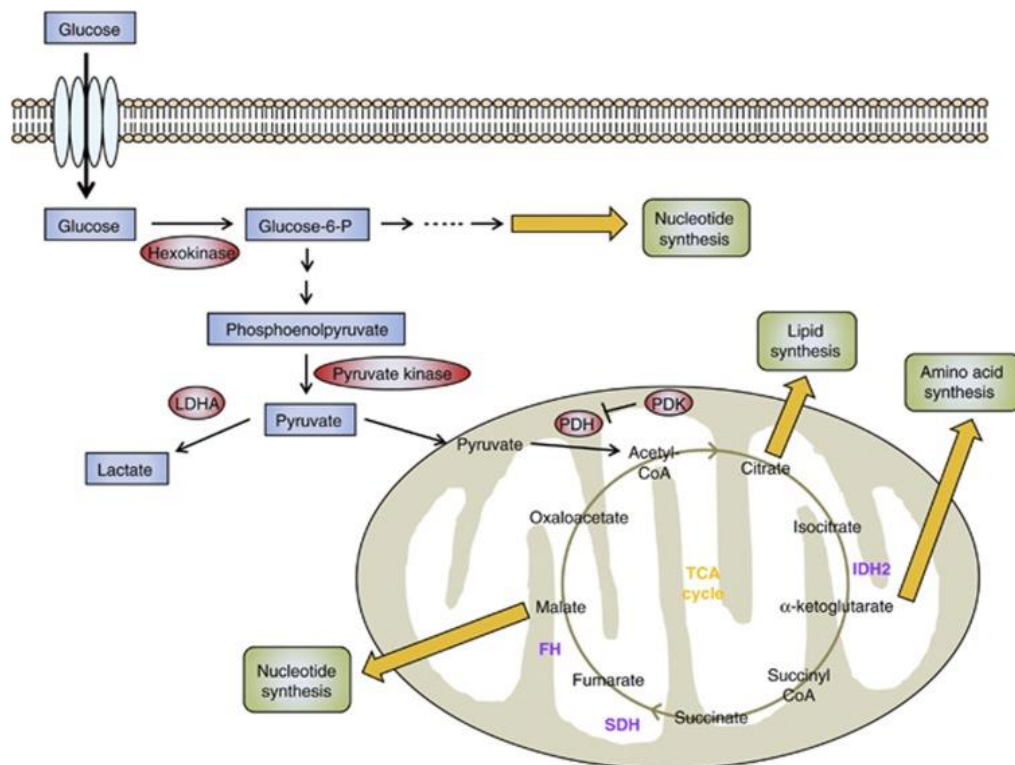


Figure 7 : Une vue d'ensemble simplifiée du métabolisme du glucose. D'après Jang et al., 2013.

Voyons maintenant comment ces caractéristiques de l'ensemble des cellules animales se retrouvent modifiées dans les cellules cancéreuses, leur conférant une possibilité de biosynthèses et de prolifération accrue.

## **II. Spécificités du métabolisme de la cellule tumorale**

### **A. L'effet Warburg et son interprétation au fil des années**

L'effet Warburg est défini par la capacité des cellules cancéreuses à utiliser les fermentations aérobies, qui consistent en une consommation accrue de glucose et une production d'acide lactique, et ce même en présence d'O<sub>2</sub> (Warburg, 1956a). Cet effet se comprend comme un effet Pasteur anormal. Selon l'effet Pasteur, dans une cellule normale, lorsque la quantité d'O<sub>2</sub> n'est pas suffisante, une glycolyse anaérobie (production de lactate) se produit.

Nous allons nous attacher à expliquer les mécanismes de la mise en place de l'effet Warburg au sein de la cellule cancéreuse, ainsi que ses conséquences (gestion de l'acide lactique et des protons). Les autres voies du métabolisme biochimique (détail des réactions anaboliques, entre autres) ne seront pas développées.

La théorie initiale d'Otto Warburg (1924) est que la glycolyse aérobie est due à un défaut initial de la respiration cellulaire chez les cellules tumorales (Warburg, 1956b). D'après lui, ce phénomène est à la base du processus tumoral. En plus des dysfonctionnements de la respiration mitochondriale, un environnement hypoxique, des signaux oncogéniques et des altérations des enzymes du métabolisme contribuent à l'effet Warburg (Pelicano et al., 2006). Cet ensemble multifactoriel conduit à la reprogrammation métabolique de la cellule cancéreuse, au sens des voies métaboliques classiques qui sont activées ou réprimées dans les cellules tumorales comparée aux cellules saines (DeBerardinis et Chandel, 2016).

Cet effet Warburg caractérise la plupart des tumeurs, quelle que soit leur origine cellulaire ou tissulaire. Cette caractéristique est à la base des techniques d'imagerie de type PET-Scan (Positron Emission Tomography). La détection des tumeurs grâce à leur consommation de l'analogie du glucose (2-désoxy-2-(18F)-Fluoro-D-Glucose) est largement utilisée. Le PET-scan est également utilisé pour suivre l'efficacité d'une chimiothérapie (Vander Heiden et al., 2009). L'intensité de la consommation de glucose permettrait également de définir l'agressivité et/ou le caractère prolifératif des cellules tumorales (Szablewski, 2013).

Depuis quelques années, les recherches se sont attachées à démontrer les imprécisions de la théorie d'Otto Warburg. Certains auteurs observaient en effet un phénomène de respiration mitochondriale dans des cellules tumorales (Weinhouse, 1956). Ces observations ont conduit à développer le concept de coopération entre cellules cancéreuses, cellules « glycolytiques » d'une part (qui respectent à la lettre l'effet Warburg, et vivent dans un environnement hypoxique), et les cellules « oxydatives » qui utilisent les phosphorylations oxydatives suite à la conversion du lactate en pyruvate. Depuis quelques années sont également décrites les cellules du stroma, qui fonctionnent sur un mode glycolytique et fournissent du lactate aux cellules fonctionnant sur un mode oxydatif. Ces interactions métaboliques se retrouvent dans la bibliographie sous le nom de « reverse » effet Warburg (Lee et Yoon, 2015). Nous

rediscuterons de ce phénomène dans la suite de notre travail, mais la Figure 8 suivante permet de mieux se représenter la coopération métabolique (Icard et Lincet, 2013).

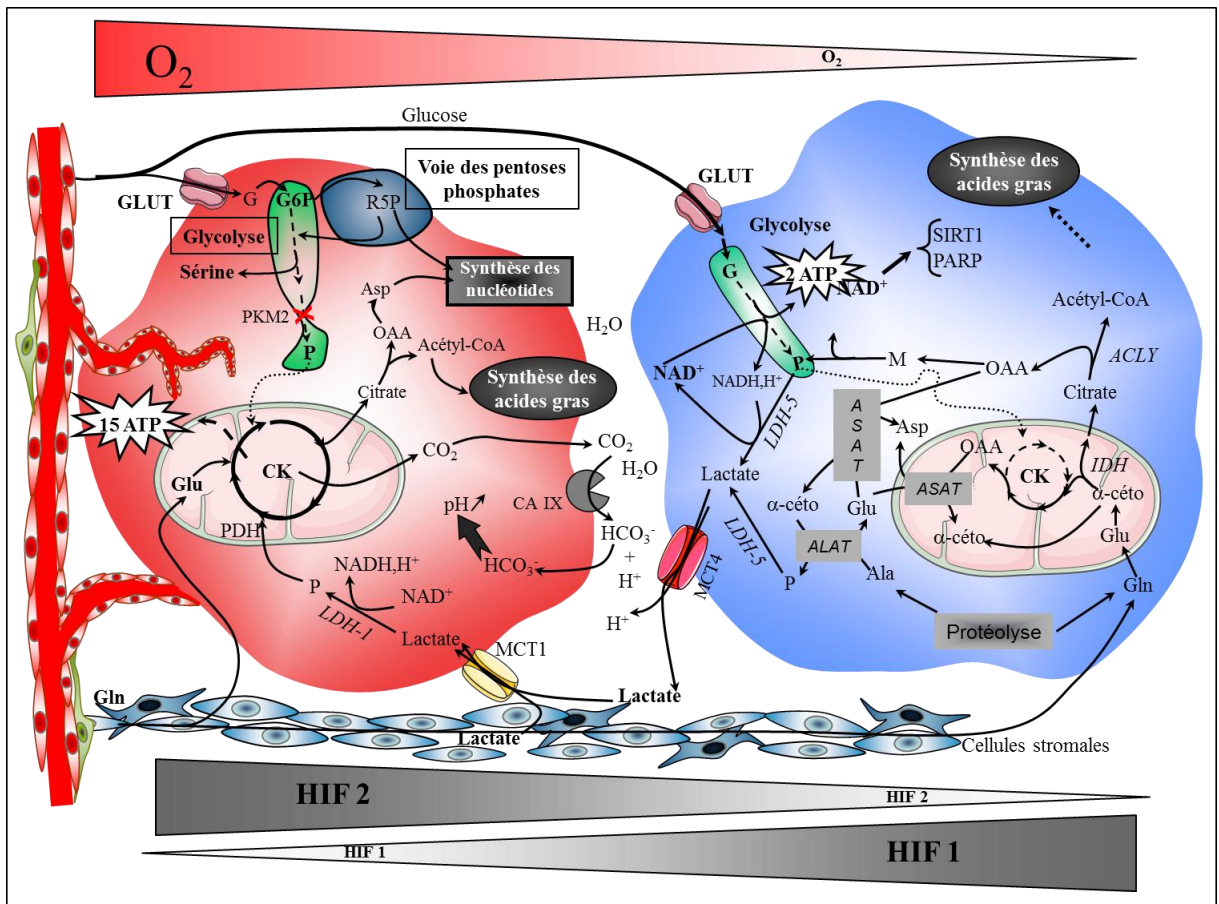


Figure 8 : Une représentation schématique de la coopération métabolique.

D'après Icard et Lincet, 2013.

## B. La prise en charge du glucose par la cellule cancéreuse, la glycolyse et la voie des pentoses phosphates

1. L'entrée dans la cellule par les transporteurs du glucose (GLUT, SGLT) et la prise en charge par les hexokinases

Avant de pouvoir être utilisé par la cellule, le glucose, composé hydrophile, doit traverser la bicouche lipidique de la membrane plasmique. Il peut alors emprunter deux types de transporteurs.

- 1- La famille des GLUTs (GLUcose Transporters) : ce sont des transporteurs passifs, le glucose pénètre selon son gradient de concentration. Les expressions des

isoformes GLUT1, GLUT2 et GLUT3 sont augmentées dans de nombreux types tumoraux et souvent corrélées à un mauvais pronostic (Macheda et al., 2005).

- 2- La famille des SGLTs (Sodium Glucose Linked Transporter) : ce sont des symports  $\text{Na}^+$ /glucose où le glucose pénètre dans la cellule grâce à l'énergie créée par le gradient de sodium (Szablewski, 2013). L'isoforme SGLT1 est exprimée dans des tumeurs primaires et des lésions métastatiques du pancréas (Casneuf et al., 2008).

Cette augmentation du nombre de transporteurs au glucose permet de comprendre l'approvisionnement intense de la cellule cancéreuse en glucose. Une fois dans le cytoplasme, ce dernier est phosphorylé par l'enzyme hexokinase (HK). Cette phosphorylation est nécessaire pour que le glucose reste dans la cellule. Cette enzyme est présente sous la forme de quatre isoformes différentes, selon le mode d'expression tissulaire. L'isoforme de type II (HKII) est surexprimée dans différents types de cellules cancéreuses (Pastorino et Hoek, 2003).

## 2. La phosphofructokinase 1 (PFK1) et sa régulation

La PFK1, enzyme qui catalyse la 3<sup>ème</sup> réaction de la glycolyse, voit son activité biologique diminuer quand le pH intracellulaire est acide (Erecińska et al., 1995). Au sein de la cellule cancéreuse, le pH intracellulaire est alcalin, favorisant ainsi l'activation de la PFK1 (Cardone et al., 2005). Cette même enzyme est activée de manière allostérique par le fructose 2,6-bisphosphate (F2,6-P). Le F2,6-P est produit à partir du fructose 6-phosphate par une famille d'enzyme issue de quatre gènes différents (6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-bisphosphatase = PFKFB). Le F2,6-P peut contrer l'inhibition allostérique de l'activité de la PFK1 obtenue avec le ratio ATP/ADP élevé (cf. I.D), et renforcer la glycolyse même en cas de ratio ATP/ADP élevé (Yalcin et al., 2009). Généralement, dans les cellules cancéreuses, ce ratio est maintenu à un niveau faible car l'ATP est consommé très rapidement. Ainsi, l'enzyme PFK1 subit une double activation. De plus, le milieu hypoxique entourant les cellules cancéreuses augmente l'expression des différentes isoformes de PFKFB, et ce de manière différente selon les tissus (Minchenko et al., 2003). Par exemple, l'isoforme PFKFB4 est particulièrement surexprimée dans des cellules de cancer du sein et du côlon (Minchenko et al., 2005). Ces critères contribuent à une glycolyse accrue dans la cellule cancéreuse.

## 3. L'aldolase et la triose phosphate isomérase

### *i. L'aldolase*

L'aldolase catalyse la réaction réversible entre le fructose-1,6-biphosphate et le glycéraldéhyde-3-phosphate (GA3P). L'isoforme A est surexprimée dans de nombreux tissus tumoraux comme ceux par exemple de carcinome hépatocellulaire (Lincet et Icard, 2015).

## *ii. La triose phosphate isomérase (TPI)*

Cette enzyme homodimérique convertit le dihydroxyacétone phosphate (DHAP) en GA3P, utilisé pour la suite de la glycolyse. Le niveau d'expression de la TPI est élevé dans des cellules de cancers du poumon (Li et al., 2006). Elle semblerait être également en plus grande quantité dans des cellules chimiorésistantes en comparaison à des cellules sensibles à la chimiothérapie (Di Michele et al., 2010).

### 4. La glycéraldéhyde 3-phosphate déshydrogénase (GAPDH)

La glycéraldéhyde 3-phosphate déshydrogénase (GAPDH) catalyse la phosphorylation et l'oxydation du GA3P pour donner du 1,3-biphosphoglycérate. L'entrée massive de glucose dans la cellule cancéreuse active la GAPDH (Vilà et al., 2000). L'expression de cette enzyme est associée à la croissance cellulaire, au développement et à l'agressivité des tumeurs. L'étude de Guo et al. montre que l'expression de cette enzyme est augmentée dans de nombreux cancers (poumon, sein, prostate...) (Guo et al., 2013). Ceci est en lien avec la glycolyse accrue de ces cancers (Lincet et Icard, 2015).

### 5. La phosphoglycérate mutase (PGM1)

La phosphoglycérate mutase 1 (PGM1) transforme le 3-phosphoglycérate (3-PG) en 2 phosphoglycérate (2-PG). Elle est retrouvée souvent surexprimée dans les cellules cancéreuses (Ren et al., 2010). Elle participe à la régulation des voies de biosynthèse en contrôlant le niveau de son substrat. La PGM1 surexprimée provoque un taux important de 2-PG qui active par un rétrocontrôle positif la phosphoglycérate déshydrogénase (PGDH), enzyme impliquée dans la synthèse de la sérine (Hitosugi et al., 2012).

### 6. La pyruvate kinase (PK)

La pyruvate kinase (PK) est l'enzyme limitante de la glycolyse : elle catalyse sa dernière étape. Elle existe sous 4 isoformes : type L (liver) et R (red blood cells), et les types M1 et M2 (muscles ou cerveau). Le type M2 est présent dans les cellules embryonnaires et les cellules souches adultes. Il est également retrouvé dans les cellules cancéreuses ayant une tumorigénicité plus importante que celles exprimant PKM1 (Christofk et al., 2008). Une étude récente montre que le gène de la PKM2 est surexprimé dans des prélèvements histologiques de cancer du pancréas, et que plus l'expression était forte, plus réduite était la survie (Mohammad et al., 2016).



La PKM2 joue un rôle essentiel lors de la glycolyse, mais également en tant que coactivateur transcriptionnel pour les facteurs de transcription c-Myc et HIF-1- $\alpha$  (Filipp, 2013). Le gène codant pour la PK étant également sous le contrôle de c-Myc et HIF-1- $\alpha$ , l'action de la PKM2 permet une boucle de rétroaction positive concernant ces facteurs de transcription (détaillés dans le II.D.2 et II.F.1).

De plus, la PKM2 est activée de manière allostérique par l'intermédiaire glycolytique fructose 1,6-BiPhosphate (F1,6-BP), et peut interagir avec des protéines tyrosine phosphorylées qui relarguent du F1,6-BP et diminuent ainsi l'activité enzymatique de la PK. Cela rend les métabolites de la glycolyse disponibles pour les voies anaboliques (comme la PPP, la synthèse des acides aminés ou des acides gras). Cela suggère qu'une activation de la PKM2 pourrait interférer avec les voies anaboliques issues du métabolisme du glucose (Anastasiou et al., 2012).

Un autre aspect de l'adaptation de la cellule cancéreuse se retrouve dans l'analyse de la connexion entre la glycolyse et le cycle de Krebs. L'isoforme PKM2 catalysant la dernière réaction de la glycolyse conduit à un goulot d'étranglement de cette dernière. De plus, l'inhibition de la PDH conduit à déconnecter la glycolyse du cycle de Krebs. Certains métabolites de la glycolyse sont alors disponibles pour participer aux voies anaboliques nécessaires à la prolifération des cellules cancéreuses (Figure 9). Par exemple, l'accumulation de 3-PG active la PGDH, qui est orientée vers la synthèse de sérine puis de glycine (synthèse protéique).

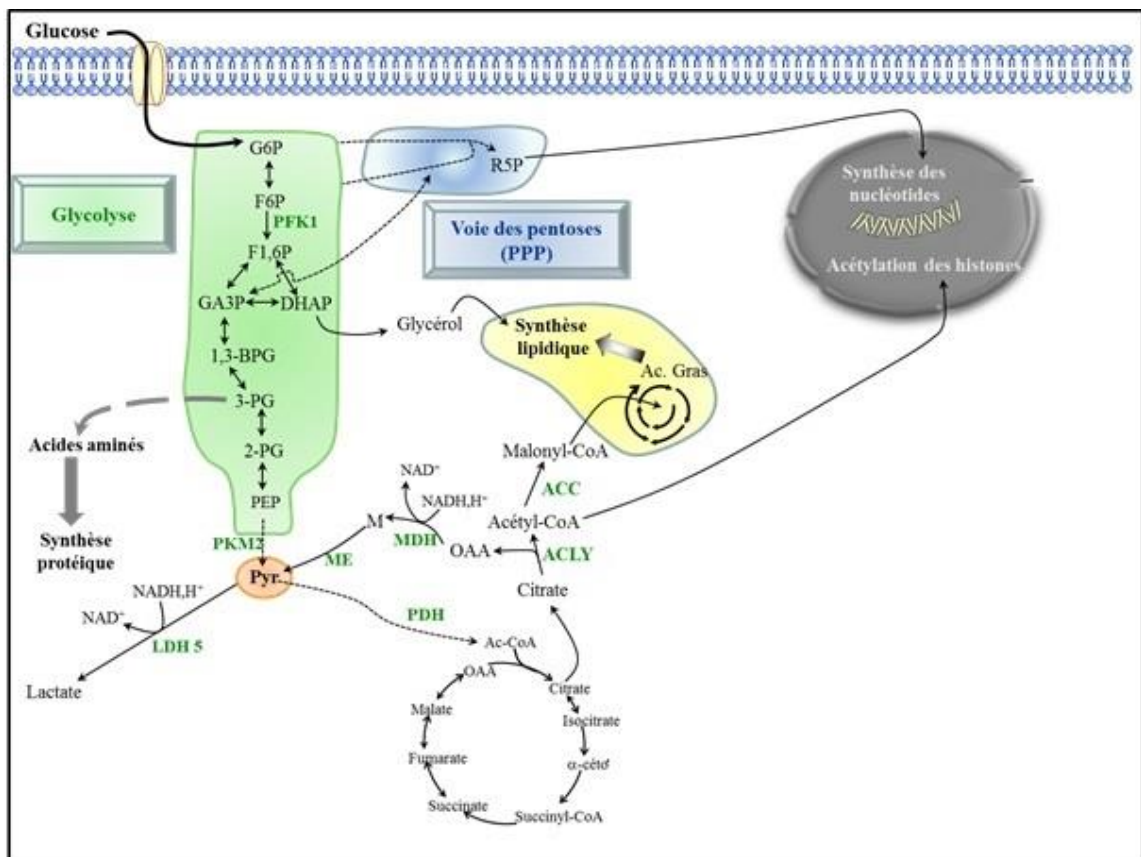


Figure 9 : Une connexion entre la glycolyse et le cycle de Krebs modifiée.

Modifié d'après Icard et Lincet, 2013.

## 7. La transcétolase, une enzyme clef de la voie des pentoses phosphates

L'oxydation du glucose-6-phosphate par la G6PD aboutit à la formation d'oses, comme le ribose-5-phosphate, impliqués dans des réactions de biosynthèse (acides nucléiques, coenzymes, acides gras, hormones stéroïdes, composés phénoliques...) essentielles à la survie de la cellule cancéreuse. Une isoenzyme de la transcétolase, la transcétolase like enzyme TKTL1, est surexprimée dans de nombreux types de cancers (Coy et al., 2005). Cette enzyme stimule la PPP. Son expression est associée à un mauvais pronostic dans le cancer du côlon par exemple (Ahopelto et al., 2016).

## C. Un cycle de Krebs au fonctionnement modifié

### 1. L'altération des enzymes du cycle de Krebs

#### *i. La citrate synthase*

La première enzyme du cycle de Krebs catalyse la réaction irréversible entre l'acétyl-CoA et l'OAA, à l'origine de citrate et de Coenzyme A. Sa perte d'activité conduit à une baisse de la concentration cytosolique en citrate et à la tumorigenèse (Lin et al., 2012). Les mécanismes liant l'altération du métabolisme mitochondrial et la tumorigenèse ne sont pas encore complètement élucidés. Qu'ils soient une cause ou une conséquence de la cancérogenèse, leur intérêt thérapeutique n'est pas pour autant diminué.

#### *ii. L'isocitrate déshydrogénase (IDH)*

Les isocitrate déshydrogénases (IDH) sont des enzymes qui oxydent réversiblement l'isocitrate en  $\alpha$ -cétoglutarate et  $\text{CO}_2$  en présence d'un accepteur d'électrons. Il existe plusieurs isoenzymes, dont une forme cytoplasmique (IDH1) à  $\text{NADP}^+$  qui participe à la lipogénèse et une forme mitochondriale (IDH2) à  $\text{NAD}^+$  qui participe au cycle de Krebs.

Les IDH sont altérées dans certaines tumeurs, comme les gliomes et les leucémies myéloïdes aiguës (Clark et al., 2016 ; Dang et al., 2016). Elles produisent du D-2-HydroxyGlutarate, considéré comme ayant des propriétés d'oncogène (Jin et al., 2011).

#### *iii. La succinate déshydrogénase (SDH)*

La succinate déshydrogénase (SDH) catalyse l'oxydation du succinate en fumarate lors du cycle de Krebs. La perte de fonction de cette enzyme entraîne une accumulation de succinate (Pollard et al., 2005), elle est considérée comme un gène suppresseur de tumeurs (Gottlieb et



Tomlinson, 2005). Par exemple, des mutations de la SDH peuvent entraîner le développement de phéochromocytomes (Astuti et al., 2001), de paragangliomes (Niemann et Müller, 2000), ou de carcinome rénal (Cornejo et al., 2015). Cette enzyme constitue également le complexe II des phosphorylations oxydatives. Par conséquent, des mutations de la SDH affectent aussi la fonction respiratoire de la mitochondrie.

#### *iv. La fumarate hydratase (FH)*

La fumarate hydratase (FH) catalyse la formation de L-malate à partir du fumarate. Sa mutation peut entraîner des cancers de l'utérus (Mann et al., 2015), des phéochromocytomes (Clark et al., 2014), des paragangliomes (Castro-Vega et al., 2014). Elle agit comme un gène suppresseur de tumeurs. Sa perte de fonction entraîne l'accumulation de fumarate.

## 2. L'importance de la glutamine et de la glutaminolyse

### *i. La glutaminolyse*

La glutamine est un acide aminé non essentiel issu de la protéolyse. Elle est impliquée dans la synthèse des nucléotides, des lipides et dans l'approvisionnement du cycle de Krebs. Le catabolisme de la glutamine est appelé la glutaminolyse (Figure 10). La 1<sup>ère</sup> étape de la glutaminolyse est la conversion de la glutamine en glutamate et ammoniac *via* la glutaminase, réaction pouvant avoir lieu dans le cytoplasme comme dans la mitochondrie. Le ratio glutamate/glutamine permet de quantifier le métabolisme de la glutamine. L'analyse métabolomique réalisée par Budczies et al. sur 270 échantillons de cancer du sein et 97 échantillons sains a révélé un ratio glutamate/glutamine plus élevé dans les cellules tumorales (Budczies et al., 2015), et en particulier dans celles n'exprimant pas le récepteur aux oestrogènes (ER-).

La glutaminase existe sous trois isoformes : la glutaminase liver-type, la glutaminase kidney-type, et la glutaminase C. La glutaminase C apparaît comme l'isoenzyme la plus spécifique pour répondre aux besoins métaboliques accrus de la cellule cancéreuse (Cassago et al., 2012).

Dans la mitochondrie, le glutamate est ensuite oxydé en  $\alpha$ -cétoglutarate grâce à la glutamate déshydrogénase, en parallèle de la formation de NADH. L' $\alpha$ -cétoglutarate rejoint ensuite le cycle de Krebs. Dans le cytoplasme, l'aspartate transaminase catalyse la transformation du glutamate en  $\alpha$ -cétoglutarate et de l'OAA en aspartate pouvant servir à la biosynthèse des nucléotides.

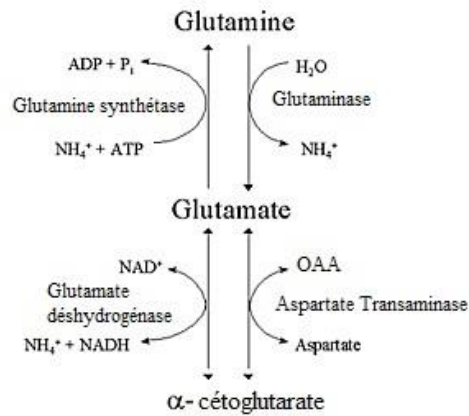


Figure 10 : La glutaminolyse.

L'oxydation de la glutamine peut donc remplacer le pyruvate pour faire tourner le cycle de Krebs, notamment en conditions anaérobies. Ainsi, la glutaminolyse permet une production d'ATP par les phosphorylations oxydatives et alimente les voies de biosynthèse de protéines, lipides, acides nucléiques (Figure 11) (DeBerardinis et Cheng, 2010).

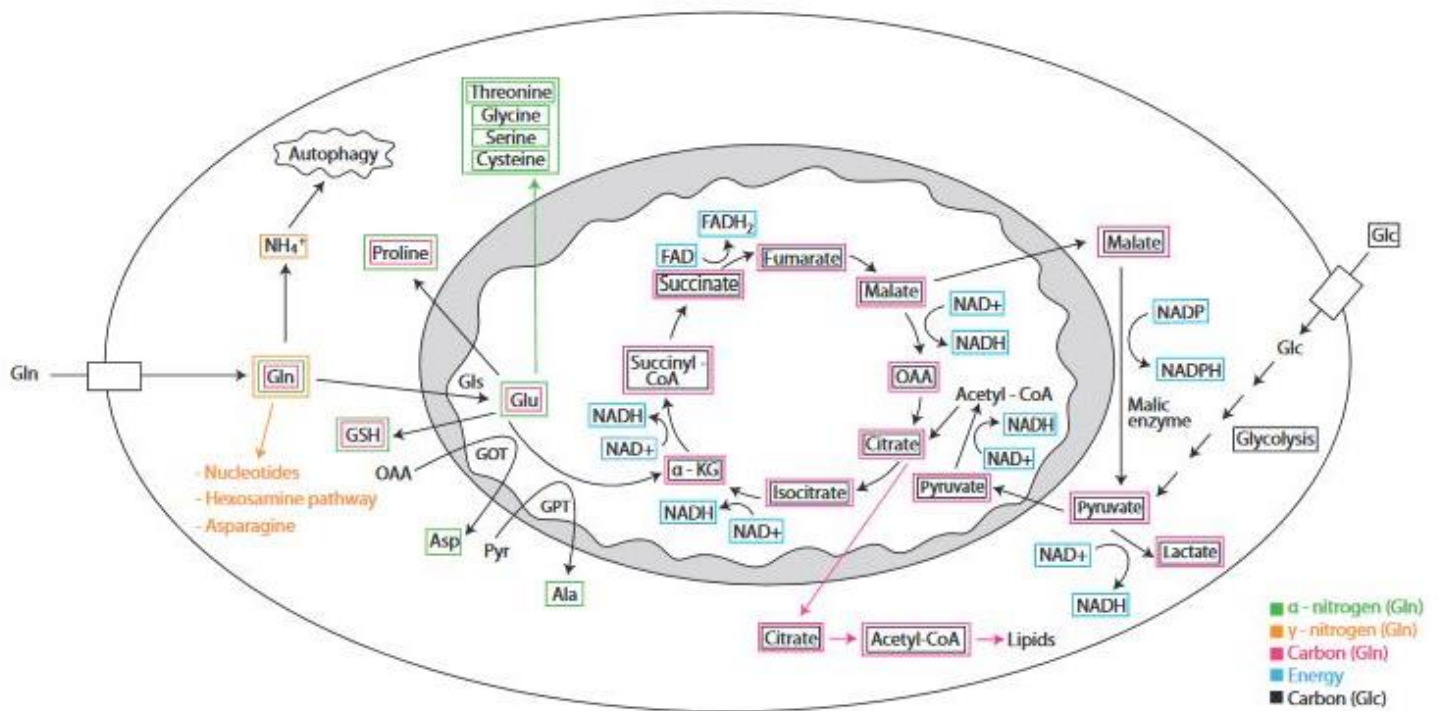


Figure 11 : Le métabolisme de la glutamine au cœur du métabolisme énergétique de la cellule cancéreuse.

D'après Daye et Wellen, 2012.

La glutamate déshydrogénase 1 est souvent surexprimée dans certains cancers. Elle contribue à l'homéostasie redox des cellules cancéreuses en contrôlant les niveaux d' $\alpha$ -cétoglutarate et de son métabolite le fumarate. En effet, le fumarate peut activer l'enzyme glutathion peroxidase 1, qui inhibe à son tour la production de radicaux libres (Jin et al., 2015).

## ii. *Un possible fonctionnement inverse du cycle de Krebs*

Il est intéressant de noter que certaines cellules cancéreuses sont dépendantes de la glutamine pour leur survie. Une hypothèse avancée pour expliquer la survie des cellules cancéreuses utilisant le métabolisme de la glutamine est l'activité inverse de l'IDH (II.C.1.ii). Les isoformes IDH1 et IDH2 peuvent en effet également effectuer une carboxylation réductive de l' $\alpha$ -cétoglutarate en isocitrate (Filipp et al., 2012), qui peut être converti en citrate. Une fois sorti de la mitochondrie, ce dernier est pris en charge par l'ATP Citrate Lyase (ACLY), qui le transforme en acétyl-CoA et OAA (Hirschey et al., 2015). Ce fonctionnement inverse d'une partie du cycle de Krebs permet de comprendre comment la cellule cancéreuse fabrique tous les composés nécessaires à sa survie, et ce même en conditions d'hypoxie (Figure 12).

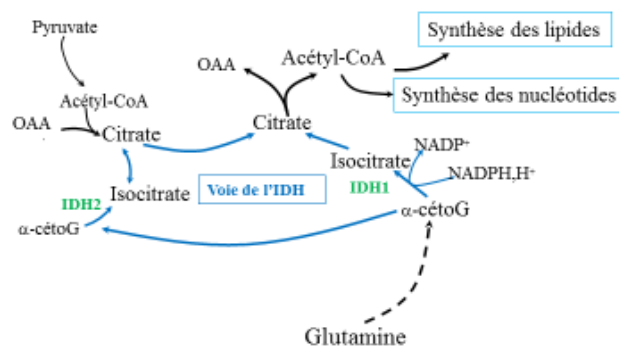


Figure 12 : L'activité inverse de l'IDH.

## D. Les voies de signalisation en aval d'Akt, une « Warburg » kinase

### 1. L'activation de Akt

La voie de signalisation PI3K (PhosphoInositide 3-Kinase)-Akt est très souvent altérée lors du processus tumoral et joue un rôle important dans la survie cellulaire (DeBerardinis et Chandel, 2016). Cette activation est également favorisée par l'oncogène Ras (Ramjaun et Downward, 2007). L'activation massive de la protéine kinase Akt stimule la glycolyse de manière importante, en augmentant l'expression des transporteurs du glucose, mais aussi en phosphorylant des enzymes comme l'HK ou la PFK1 (Elstrom et al., 2004). L'activation de la voie PI3K-Akt participe également à la stabilisation du facteur HIF-1- $\alpha$ , *via* l'implication de mTOR (Figure 13).

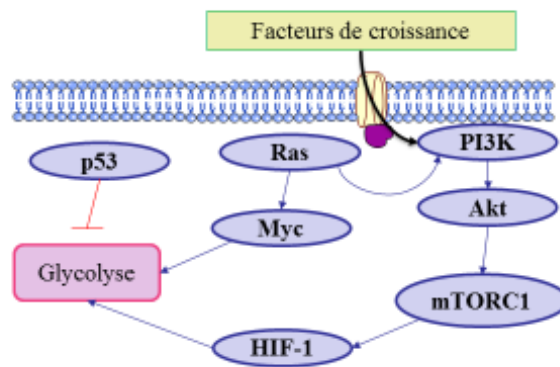


Figure 13 : La voie de signalisation PI3K-Akt.

### 2. L'implication de mammalian target of rapamycin (mTOR)

Le mammalian target of rapamycin (mTOR) est une protéine kinase phosphorylant des résidus sérine et/ou thréonine kinase intracellulaire, capable d'intégrer de nombreux signaux environnementaux. Elle est impliquée dans de nombreux processus biologiques comme la synthèse protéique, la croissance et la prolifération cellulaire. Par exemple, mTOR stimule la transcription, entre autre, de HIF-1- $\alpha$  et c-Myc. mTOR existe au sein de deux complexes protéiques distincts, mTORC1 et mTORC2. L'activation de mTORC1 est retrouvée au sein de nombreux cancers (Li et al., 2014a).

mTORC1 est en aval de la voie PI3K-Akt. Akt agit en inhibant le complexe TSC2 (tuberous sclerosis complex 2) qui lui-même est un inhibiteur de mTORC1 (Figure 14). mTORC1 agit en permettant l'activation par phosphorylation de la protéine S6 kinase (p70-S6K) et la phosphorylation du facteur d'initiation protéique 4E-BP1 (eukaryotic initiation factor 4E-binding protein-1).

L'activation de p70-S6K permet la transcription d'ARN messager (ARNm) codant pour des protéines impliquées dans la croissance cellulaire. Elle exerce un rétrocontrôle négatif sur

la voie de signalisation PI3K-AKT en initiant la dégradation du récepteur à l'insuline, lui-même activateur de PI3K. Elle peut également exercer un rétrocontrôle négatif sur l'activation de mTOR en stimulant TSC1 et TSC2 (Figure 14).

La phosphorylation de la protéine 4E-BP1 la rend incapable d'inactiver par fixation la protéine eIF4E qui peut alors, comme p70-S6K, jouer un rôle d'activateur de la transcription (Figure 14).

Le fonctionnement du complexe mTORC2, découvert plus récemment, semble relativement limité. Il provoque la phosphorylation d'Akt sous l'effet de facteurs environnementaux comme l'insuline, et indirectement active le complexe mTORC1 (Figure 14). mTORC2 régule également l'actine du cytosquelette, *via* la GTPase RHO et la protéine kinase C (PKC). L'actine joue un rôle dans la régulation des mouvements et dans l'adhésion cellulaire.

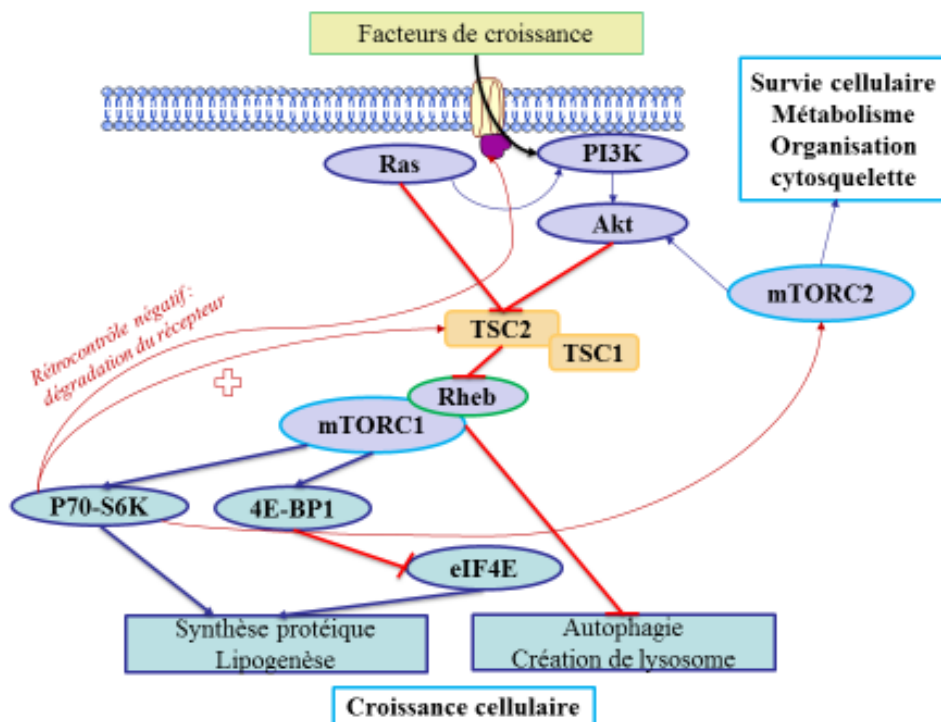


Figure 14 : Schéma bilan des voies d'activation et du rôle de mTOR.

L'influx massif de glucose dans la cellule cancéreuse conduit à l'activation de la voie mTORC1 car l'enzyme GAPDH va se lier à son substrat le GA3P et libérer le facteur Rheb, membre atypique de la superfamille Ras, qui peut ainsi activer mTORC1 (Long et al., 2005). Cette voie est essentielle à la prolifération cellulaire (Inoki et Guan, 2006).

Une autre voie pouvant moduler mTOR est la voie de l'AMPK (AMP kinase). Cette enzyme a un rôle de jauge de l'énergie cellulaire. Une grande quantité d'AMP, retrouvée en situation d'hypoxie par exemple, active de manière allostérique l'AMPK. L'AMPK va alors pouvoir d'une part phosphoryler le PFKFB3, favorisant la glycolyse, et d'autre part inhiber indirectement mTOR par activation de TSC1 (Figure 15).

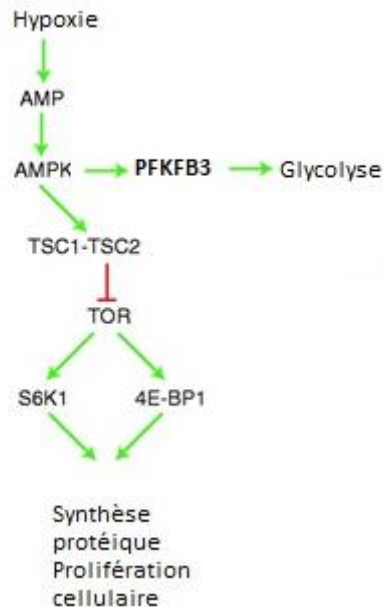


Figure 15 : La voie de l'AMPK - mTOR

Par ailleurs, mTORC1 joue également un rôle sur le métabolisme de la cellule cancéreuse en activant le facteur HIF-1- $\alpha$  même en conditions de normoxie (Robey et Hay, 2009).

### 3. Le facteur HIF-1 (Hypoxia Inducible Factor-1)

HIF-1 est un régulateur du métabolisme du glucose très important, notamment dans les cellules cancéreuses. Ce facteur de transcription induit par l'hypoxie est essentiel à la régulation de la réponse tumorale à l'hypoxie (angiogenèse, glycolyse accrue, résistance à l'apoptose) (Semenza, 2010). Son activité est régulée par la disponibilité de la sous unité HIF-1- $\alpha$ , présente en quantité plus importante lors de conditions hypoxiques. En effet, en présence d'O<sub>2</sub>, les prolyl hydroxylases (PHD) hydroxylent HIF-1- $\alpha$  qui est ensuite dégradé par le protéasome. Lors d'un processus tumoral où les cellules sont majoritairement en hypoxie, ce phénomène est inhibé provoquant la stabilisation de HIF-1- $\alpha$ . C'est le cas par exemple du myélome multiple (Bhaskar et Tiwary, 2016). La sous unité HIF-1- $\alpha$  est alors transloquée dans le noyau et peut activer le facteur de transcription HIF-1 en formant un hétérodimère avec HIF-1- $\beta$  (Figure 16).

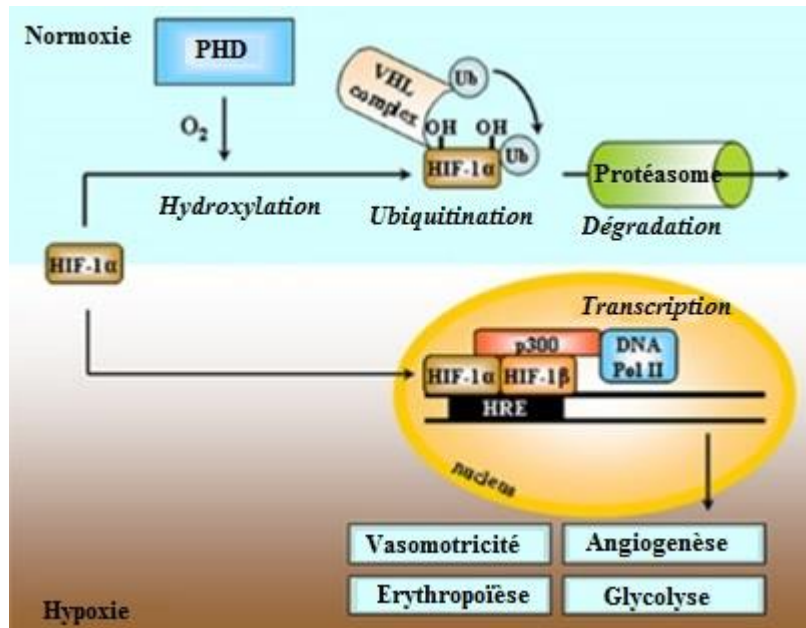


Figure 16 : L'activation de HIF-1 en situation d'hypoxie.

D'après Porporato et al., 2011.

Les gènes ciblés par ce facteur de transcription sont nombreux, comme par exemple le VEGF (facteur de croissance de l'endothélium vasculaire), des enzymes de la glycolyse (Figure 17) ou encore des transporteurs du lactate, les MonoCarboxylate Transporter (MCT), que nous allons décrire par la suite.

Par ailleurs, HIF-1- $\alpha$  active la PDK1, enzyme inhibant la PDH (Figure 17). De ce fait, le pyruvate est disponible pour être transformé en lactate (par la LDH5) (Keith et al., 2012). HIF-1- $\alpha$  apparaît alors comme un facteur protéique permettant à la cellule cancéreuse de s'adapter à son environnement en modifiant son métabolisme.



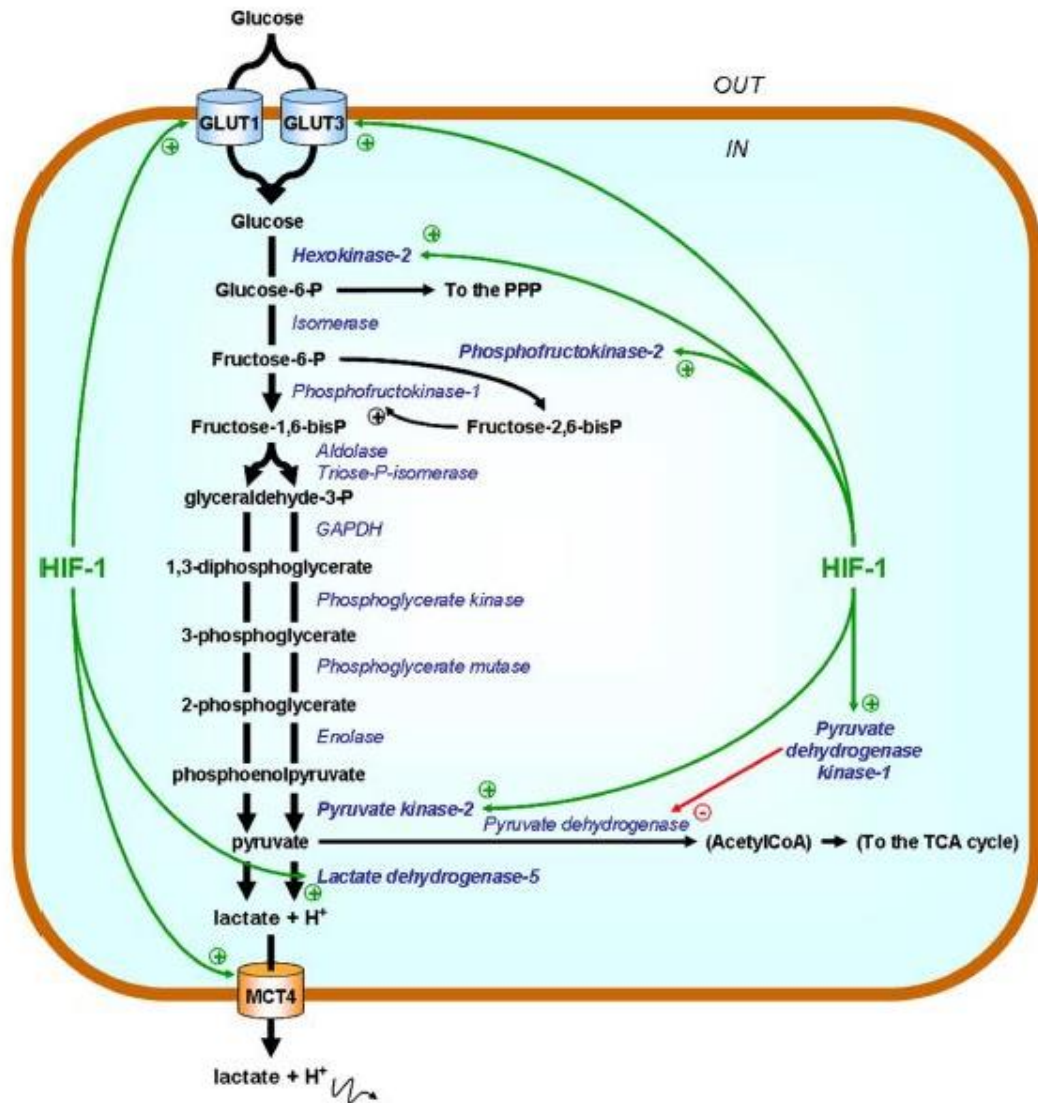


Figure 17 : Le facteur HIF-1 favorise l'activité de nombreuses enzymes de la glycolyse.

D'après Porporato et al., 2011.

De manière intéressante, HIF-1 peut également être activé même en conditions normoxiques. La présence de lactate dans le milieu permet de mimer l'activation de HIF-1. En effet, les PHD sont inhibées par les produits d'oxydation du lactate, empêchant la dégradation de HIF-1- $\alpha$  (Sonveaux et al., 2012).



## E. L'importance de l'acide lactique et d'un microenvironnement tumoral acide

### 1. La production de l'acide lactique, essentiel à la survie tumorale

#### i. *La lactate déshydrogénase et les transporteurs des monocarboxylates*

La lactate déshydrogénase (LDH) est une enzyme tétramérique composée de deux sous-unités (A et B), codées par les gènes LDH-A (ou LDH-5) et LDH-B. 5 isoenzymes peuvent être formées (Figure 18). LDH-A favorise la réaction enzymatique dans le sens pyruvate vers lactate, alors que LDH-B réalise la réaction inverse (lactate en pyruvate), qui est ensuite disponible pour le cycle de Krebs.

Le gène codant pour la LDH-A est activé par c-Myc et/ou HIF-1. En hypoxie, le pyruvate va alors être transformé en lactate et générant du  $\text{NAD}^+$ , crucial à la glycolyse. Cela permet à la cellule tumorale hypoxique de produire l'ATP nécessaire à sa survie.

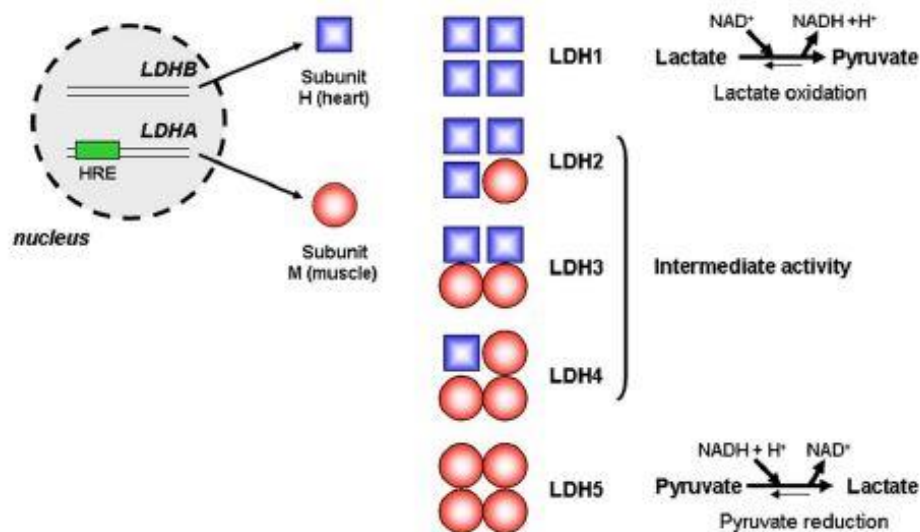


Figure 18 : L'activité de la LDH.

D'après Porporato et al., 2011.

Une étude récente montre que le gène de la LDH-A est surexprimé dans des prélèvements histologiques de cancer du pancréas, et que plus l'expression était forte, plus faible était la survie (Mohammad et al., 2016). Le lactate ainsi produit est ensuite exporté avec un proton ( $\text{H}^+$ ) dans le milieu extracellulaire par le transporteur MCT4, qui appartient à la famille des monocarboxylates (MCTs). Cela contribue à l'acidification du milieu extracellulaire (Halestrap, 2012). L'expression de MCT4 est induite par HIF-1 en conditions d'hypoxie. La LDH-A et le MCT4 contribuent alors à la survie des cellules tumorales (Fantin et al., 2006).

Le transporteur MCT1 est également retrouvé dans certaines tumeurs. Contrairement à MCT4 qui exporte le lactate dans le microenvironnement, MCT1 provoque son entrée dans la

cellule pouvant fonctionner sur un mode oxydatif. Le lactate est alors transformé par la LDH-B en pyruvate qui sera métabolisé en ATP et CO<sub>2</sub> par le cycle de Krebs. Il permet d'expliquer la théorie de symbiose métabolique dans les tumeurs (Feron, 2009 ; Icard et al., 2014), que nous avons abordé au paragraphe II.A.

Le schéma suivant (Figure 19) résume les enzymes et transporteurs impliqués dans le métabolisme du lactate.

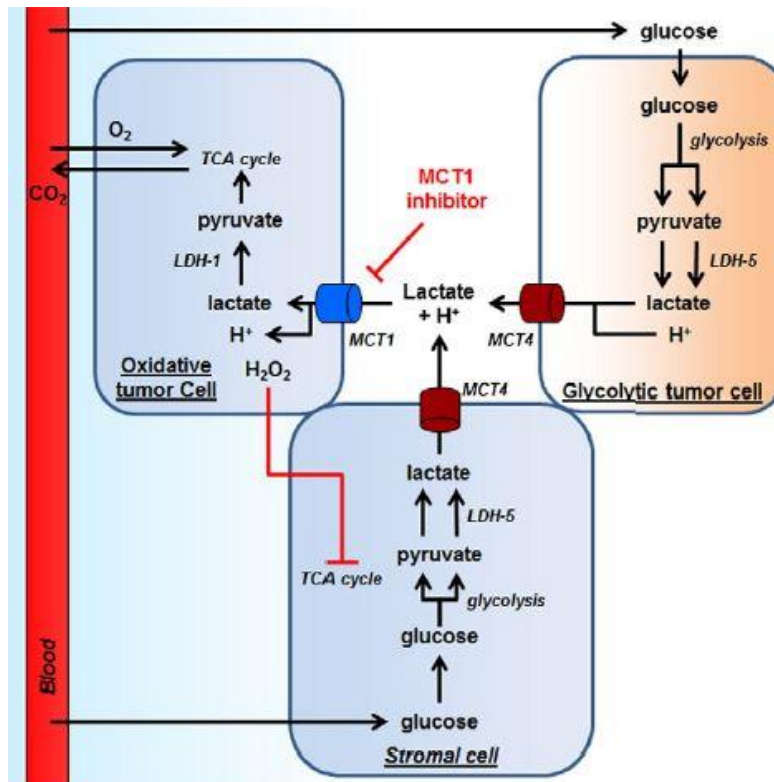


Figure 19 : Les échanges de lactate au sein d'un tissu tumoral.

D'après Spugnini et al., 2015

## ii. Le rôle de l'ATP-citrate lyase

L'ATP-Citrate Lyase (ACLY) est une enzyme cytosolique (extra-mitochondriale) indispensable à la jonction du métabolisme glucidique et lipidique. L'activité de l'ACLY est plus importante dans un grand nombre de cancers. Cela a été démontré après analyse immunohistochimique de 162 tumeurs (adénocarcinome du poumon). De plus, cette activité est corrélée au stade, au grade, et au pronostic (Migita et al., 2008). En présence d'ATP et de Coenzyme A, l'ACLY convertit le citrate en acétyl-CoA et en OAA (réaction inverse de la première réaction du cycle de Krebs). Cet acétyl-CoA peut ensuite être utilisé pour la synthèse *de novo* de lipides (cholestérol et acides gras à longue chaîne) essentielle à la prolifération cellulaire et/ou pour l'acétylation des histones (Figure 20).

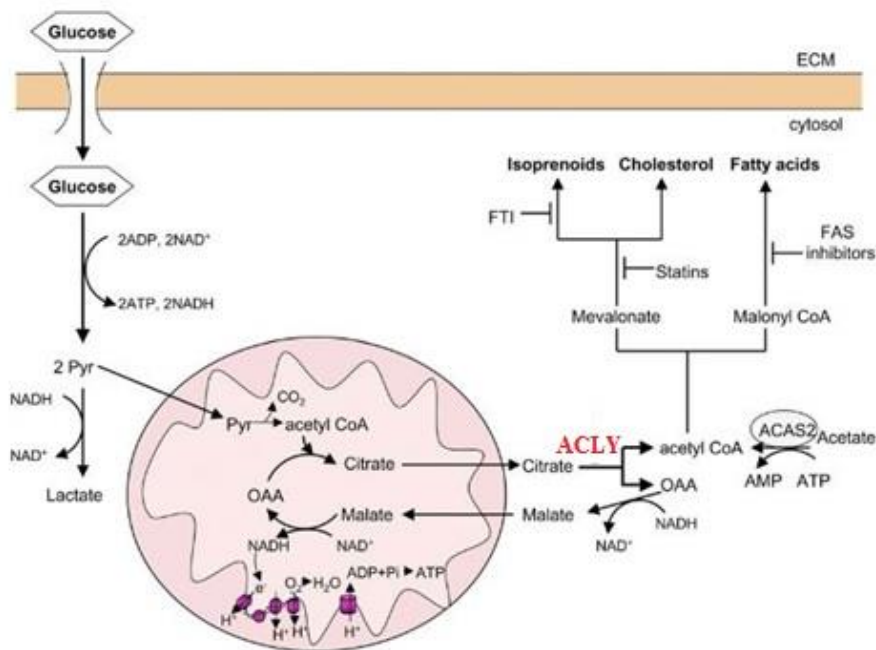


Figure 20 : Le rôle de l'ACLY.

D'après Hatzivassiliou et al., 2005.

L'OAA, quant à lui, aboutit à la production d'acide lactique après deux réactions produisant du  $\text{NAD}^+$  et  $\text{NADPH}$ ,  $\text{H}^+$ . Dans une cellule saine, la plupart du lactate est exporté dans le sang jusqu'au foie, où il est utilisé *via* le cycle de Cori pour la synthèse de glucose. Dans l'environnement tumoral, le lactate est utilisé par les cellules en normoxie (Figure 19).

## 2. L'importance des efflux de protons

Le métabolisme accru du glucose, ainsi que celui des acides aminés, produit une grande quantité de protons,  $\text{H}^+$ . Une acidification trop importante du cytosol serait délétère, par exemple en entraînant une baisse de l'activité de PFK1 ; les  $\text{H}^+$  sont alors exportés hors de la cellule cancéreuse et acidifient le milieu extracellulaire. Ils peuvent également être séquestrés à l'intérieur de vacuoles intracellulaires. Différentes pompes à protons et transporteurs permettent cette acidification caractéristique. Cela contribue à la formation du microenvironnement tumoral hostile (Spugnini et al., 2015).

### *i. L'ATP-ase de type V*

L'ATP-ase de type V est une enzyme présente dans les membranes de compartiments intracytoplasmiques et dans la membrane plasmique. Elle est capable d'hydrolyser des molécules d'ATP en transférant des  $\text{H}^+$  de part et d'autre de la membrane dans laquelle ils se trouvent. Une augmentation de l'expression de cette enzyme est considérée comme une adaptation de la cellule cancéreuse à son microenvironnement. Son activité participe

notamment à l'invasion tumorale et à la chimiorésistance (les molécules de chimiothérapie sont des bases faibles, elles sont neutralisées lors de la protonation en milieu acide).

De nombreux modèles cellulaires métastatiques agressifs sont caractérisés par une augmentation de l'activité de la V-ATPase, résultant en un phénomène d'autophagie accru (essentiel pour que la cellule cancéreuse survive) (De Milito et al., 2010).

*ii. L'échangeur  $Na^+/H^+$  (NHE-1)*

Cet échangeur se trouve naturellement dans les cellules saines, il est activé lors d'acidification cytosolique. Son hyperactivité dans les cellules cancéreuses contribue au maintien d'un pH cytosolique basique, favorable au développement de mutations, à une prolifération non contrôlée, au développement de résistance et à la propagation tumorale (Reshkin et al., 2000).

*iii. Les anhydrases carboniques (CA, Carbonic Anhydrases)*

Les anhydrases carboniques (CA) sont des métalloenzymes transmembranaires catalysant la réaction réversible d'addition d'1 molécule d'eau sur 1 molécule de gaz carbonique pour donner de l'acide carbonique. Ce dernier se dissocie au pH physiologique en un ion bicarbonate et un  $H^+$ . Les CA sont ainsi impliquées dans l'équilibre acide-base de la cellule. Les CAIX et CAXII sont retrouvées majoritairement au niveau de tumeurs hypoxiques (Tafreshi et al., 2016). Dans les tissus normaux, ces isoformes sont inactives. La CAIX semble surexprimée dans un grand nombre de cancer (Spugnini et al., 2015). Elle participe à l'acidification du microenvironnement tumoral et est également impliquée dans la progression tumorale par sa capacité à réguler le pH et l'adhésion cellulaire.

#### iv. Bilan des transporteurs impliqués dans l'efflux de protons

Le schéma suivant (Figure 21) récapitule tous les acteurs participant à l'efflux de protons hors de la cellule. En plus des molécules décrites précédemment, on retrouve le cotransporteur du bicarbonate de sodium (NBC), qui permet la réabsorption de  $\text{HCO}_3^-$  qui pourra réagir dans le cytosol avec un  $\text{H}^+$ . La pompe Na/K favorise l'export de sodium qui sinon s'accumulerait dans la cellule de par l'activité de NHE et NBC.

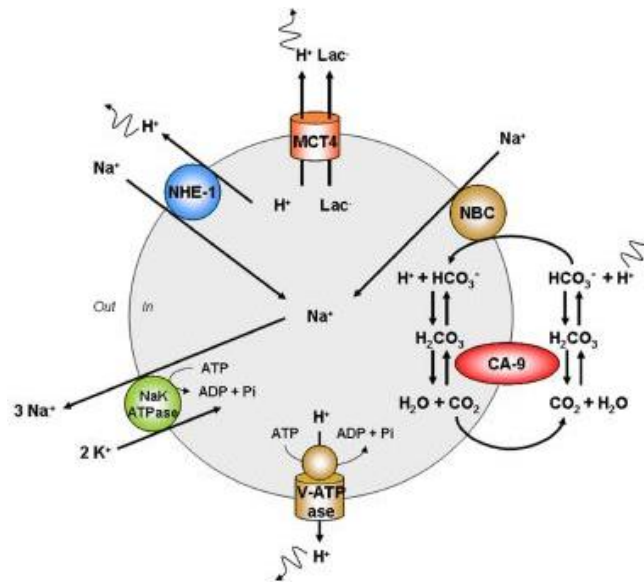


Figure 21 : Les efflux de protons.

D'après Porporato et al., 2011

## F. Les relations entre oncogènes et métabolisme, vers une explication de l'origine du cancer ?

### 1. L'importance de la génétique

L'intensité de la glycolyse dans les cellules cancéreuses serait due à l'activation d'oncogènes suite à des mutations, et à la perte d'expression des gènes suppresseurs de tumeurs. Parmi ces mutations, la voie PI3K-Akt, c-Myc et p53 peuvent altérer le métabolisme biochimique (Chen et Russo, 2012).

Par exemple, le gène *c-myc* apparaît surexprimé dans de nombreux cancers, et régule l'expression de nombreux gènes en lien avec le métabolisme énergétique tels ceux de l'HK, de la GAPDH, de la PKM2, et de la LDH. Cette surexpression renforce l'effet Warburg. De plus, c-Myc favoriserait la glutaminolyse mitochondriale, permettant ainsi l'apport suffisant en ATP pour la cellule cancéreuse (Wise et al., 2008).

Nous avons développé l'implication de la protéine Akt précédemment (II.D), ainsi que l'importance de la voie PI3K-Akt.

Enfin, la protéine p53, dont le gène est un des plus fréquemment mutés quel que soit le type de cancer, agit comme inhibiteur de la glycolyse (Vousden et Ryan, 2009), *via* une augmentation de l'expression de l'enzyme fructose-2,6-biphosphatase TIGAR (TP53-induced glycolysis and apoptosis regulator) (Figure 22). La perte d'activité de la protéine p53 participe à la spécificité de la glycolyse anaérobie des cellules cancéreuses et à la diminution des phosphorylations oxydatives (Bensinger et Christofk, 2012) car p53 active la synthèse de la cytochrome c oxydase 2 (enzyme impliquée dans la chaîne de transporteur d'électrons).

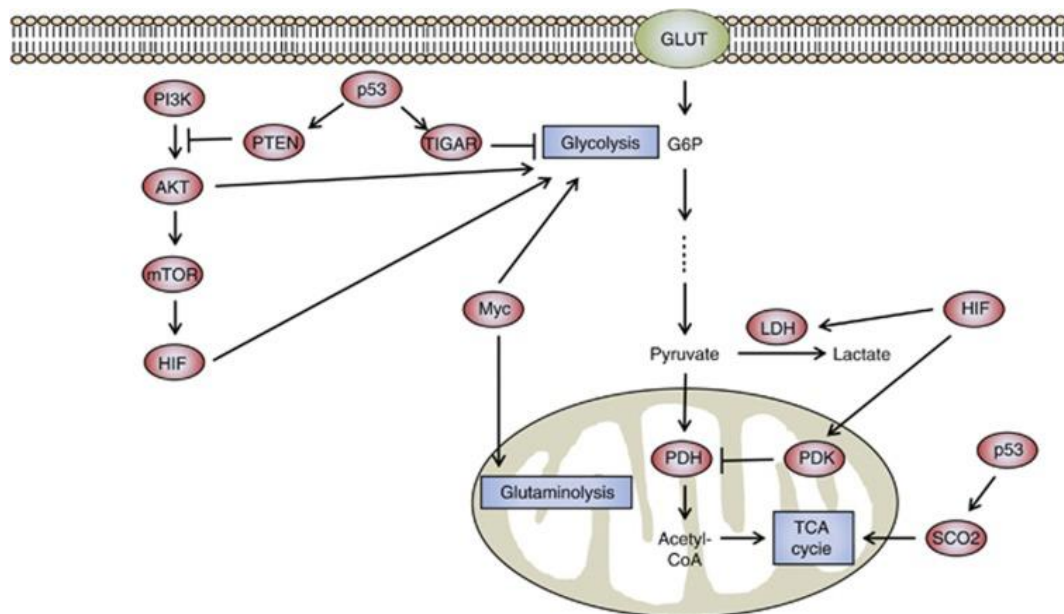


Figure 22 : La régulation du métabolisme par les oncogènes. D'après Jang et al., 2013.

D'autres théories soutiennent que les particularités du métabolisme énergétique sont à l'origine même du cancer, et que les mutations génétiques ne sont qu'une conséquence. Détaillons un instant ces arguments, qui apportent des précisions sur le métabolisme de la cellule tumorale.

## 2. L'importance des aspects métaboliques

D'après Seyfried (2012), les perturbations mitochondriales sont trop importantes pour permettre le fonctionnement correct des phosphorylations oxydatives (Seyfried, 2012. Chapitre 5 : « Respiratory Dysfunction in Cancer Cells »). En effet, comme le détaille Pedersen, les modifications de structure, de forme et de composition des mitochondries ne permettraient pas leur fonctionnement normal. Les mitochondries des cellules cancéreuses sont en effet moins nombreuses, avec moins de crêtes mitochondriales indispensables au bon fonctionnement des phosphorylations oxydatives. Plus les mitochondries apparaissent modifiées, plus la tumeur étudiée semble agressive (Pedersen, 2007).



Selon Seyfried et al., l'insuffisance respiratoire conduit à une dépendance de la cellule envers les phosphorylations non oxydatives pour l'approvisionnement en énergie et pour la survie. Elle est due à l'effet cumulatif de facteurs environnementaux et génétiques qui altèrent la fonction mitochondriale (Seyfried et al., 2014).

Les mutations génétiques étant trop disparates, les perturbations mitochondriales seraient à l'origine des mutations, *via* le phénomène de réponse rétrograde (signaux épigénétiques émis de la mitochondrie vers le noyau). Seyfried s'appuie sur l'expérience suivante pour démontrer sa thèse, où le transfert d'un noyau issu d'une cellule tumorale dans un cytoplasme de cellule saine conduit à l'obtention de cellules saines (expérience 3), alors que le transfert d'un noyau normal dans un cytoplasme de cellule tumorale conduit à l'obtention de cellules tumorales (expérience 4) (Figure 23).

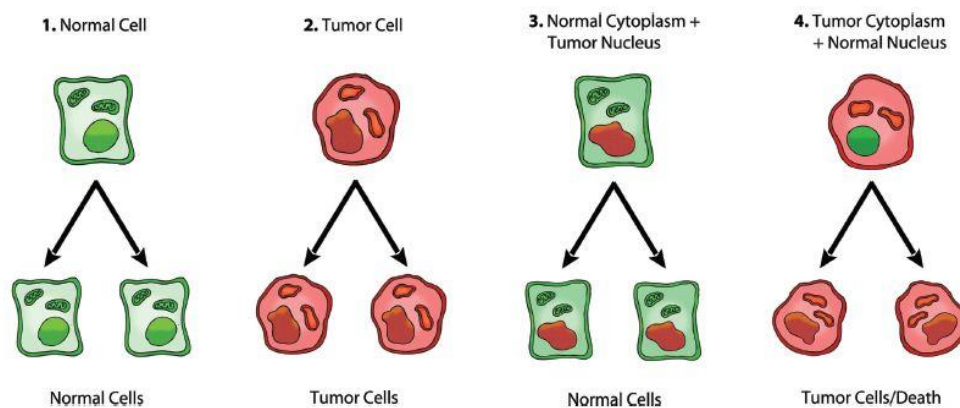


Figure 23 : Récapitulatif des expériences d'après Kaiparettu et al., (2013) et Elliott et al., (2012).

Ceci rejoint la théorie initiale de Warburg (1956b) selon laquelle le dysfonctionnement métabolique de la cellule était à l'origine de la cancérogenèse. Cette théorie (Warburg 1956a) fut discréditée par Weinhouse car de nombreuses cellules tumorales en culture apparaissent respirer (Weinhouse et al. 1956). Si ce phénomène peut être expliqué par la théorie de symbiose métabolique et l'effet Warburg inversé (« reverse » effet Warburg), ce phénomène est expliqué d'après Seyfried par les phosphorylations du substrat (Seyfried, 2012. Chapitre 7 : « Is respiration normal in cancer cells ? »).

Les phosphorylations du substrat (glycolyse, réaction de la succinyl-CoA synthétase lors du cycle de Krebs) fournissent un apport en ATP qui ne nécessite pas forcément d'oxygène. Un gradient moteur de protons pourrait toujours opérer grâce à une action à l'envers de la  $F_1F_0$ ATPase. L'isoforme HK II fournirait l'ATP issu de la glycolyse à la mitochondrie pour maintenir ce gradient de protons. Cela expliquerait en partie comment les cellules tumorales peuvent survivre en milieu hypoxique malgré les dommages de leurs mitochondries.

De plus, si les phosphorylations oxydatives étaient normales dans les cellules cancéreuses, en présence d' $O_2$ , la production de lactate diminuerait (car le pyruvate serait oxydé dans le cycle de Krebs et ne serait pas disponible pour la réaction catalysée par la LDH). Il aborde alors la notion de pseudo respiration, où la cellule consomme de l' $O_2$  et produit de l'ATP, non pas par les phosphorylations oxydatives mais par les phosphorylations du substrat. Il faut néanmoins faire attention, en culture, à l'effet Crabtree, qui se produit lorsque des

niveaux élevés en glucose et autres métabolites dans le milieu de culture augmentent la glycolyse et inhibent les oxydations phosphorylatives (Diaz-Ruiz et al., 2011).

Un autre argument soutenant cette théorie se retrouve dans l'analyse du lipidome (contenu et composition lipidique d'une cellule ou d'un de ses organites). Ce lipidome est essentiel pour l'intégrité des biomembranes, car le fonctionnement des protéines de la chaîne de transporteurs d'électrons est dépendant en partie de la composition lipidique de la membrane mitochondriale interne. La cardiolipine (1,3-diphosphatidyl-sn-glycérol) est le lipide le plus important de la membrane mitochondriale interne. L'étude de Kiebish et al. met en évidence des anomalies de composition de la cardiolipine au sein de lignées tumorales (astrocytome, gliome), ce qui entraîne un mauvais fonctionnement de la chaîne de transport d'électrons (Kiebish et al., 2008).

## **G. Conclusion partielle**

Les cellules cancéreuses ont des besoins en énergie très importants (biosynthèse de molécules nécessaires à la division cellulaire, phénomène d'angiogenèse). Dans un environnement hypoxique défavorable, la survie cellulaire est possible par un fonctionnement accéléré de la glycolyse (*via* des transporteurs au glucose plus nombreux et des enzymes glycolytiques activées). Cette dernière apparaît déconnectée du cycle de Krebs, qui fonctionne en partie « à l'envers » afin de synthétiser de l'acétyl-CoA, molécule au carrefour des voies de synthèse cellulaire, suite à la glutaminolyse. Ce fonctionnement accéléré de la glycolyse est également possible en présence d'O<sub>2</sub>, ce qui définit l'effet Warburg.

Le facteur de transcription induit par l'hypoxie HIF-1 est essentiel à la régulation de la réponse tumorale à l'hypoxie (angiogenèse, glycolyse accrue, résistance à l'apoptose). L'effet Warburg dans les cellules cancéreuses s'explique en partie par l'activation d'oncogènes suite à des mutations, et à la perte d'expression des gènes suppresseurs de tumeurs. Parmi ces mutations, la voie de signalisation PI3K-Akt, c-Myc et p53 ont un rôle important. Les dysfonctionnements de la respiration mitochondriale, et les altérations des enzymes du métabolisme contribuent également à l'effet Warburg.

L'intense métabolisme du glucose conduit à une production de protons et de lactate importante par les cellules cancéreuses glycolytiques. La gestion de l'équilibre redox de la cellule est donc fondamentale. Les transporteurs de protons et du lactate jouent un rôle essentiel dans l'acidification du microenvironnement tumoral. Le lactate ainsi exporté est disponible pour les cellules « oxydatives » qui utilisent la phosphorylation oxydative suite à la conversion du lactate en pyruvate (phénomène de coopération cellulaire).

À travers tous ces aspects, nous comprenons la complexité du métabolisme biochimique énergétique, alors que n'ont été abordées ici que les bases servant à envisager une thérapie abordable dans le monde vétérinaire. Ainsi, nous n'avons pas développé les phénomènes épigénétiques (méthylation d'enzymes clés telles l'HK II par exemple, rôle des sirtuines...), décrits plus précisément dans la revue de Upadhyay et al., (2013). Voyons maintenant quelles molécules peuvent être utilisées pour cibler les voies métaboliques précédemment décrites.



### III. Les molécules ciblant le métabolisme de la cellule tumorale

Si la progression et le comportement sont variables d'une tumeur à l'autre, l'étude précédente du métabolisme de la cellule cancéreuse met en lumière des points communs à tous les cancers, pouvant être utilisés pour un objectif thérapeutique.

Nous allons répertorier dans cette partie les molécules utilisables *in vitro* et *in vivo* pour cibler les spécificités du métabolisme du glucose et de la glutamine ainsi que celles agissant sur l'équilibre acido-basique de la cellule cancéreuse.

#### A. Cibler l'entrée de glucose dans la cellule *via* l'inhibition de GLUT1

La surexpression des transporteurs du glucose semblerait rendre les cellules cancéreuses résistantes aux différentes chimiothérapies. En partant de ce postulat, plusieurs molécules ont été testées *in vitro* et/ou *in vivo*.

##### 1. La phlorétine

L'équipe de Cao et al. a utilisé la **phlorétine**, inhibiteur des GLUT, pour sensibiliser les cellules cancéreuses à la daunorubicine dans des conditions hypoxiques (Cao et al., 2007). Ces travaux montrent l'intérêt de cibler le métabolisme énergétique pour favoriser l'efficacité de la chimiothérapie. De plus, la phlorétine semble entraîner *in vitro* des phénomènes d'apoptose dans des cellules de cancer du foie (Wu et al., 2009) et dans un modèle de cancer du poumon (Min et al., 2015). L'étude de Wu et al. montre également une activité *in vivo* de la phlorétine à 10 mg/kg en intrapéritonéal sur un modèle souris nude avec une xéno greffe de cancer du foie. Sur un modèle de souris nude xéno greffé avec des cellules d'une lignée de cancer du poumon, la phlorétine a été administrée en intrapéritonéal à faible dose (10 mg/kg) et à forte dose (20 mg/kg) démontrant l'effet dose dépendant de cette dernière (Min et al., 2015).

##### 2. Le fasentin

L'étude de Wood et al. utilise le **fasentin** (N-[4-chloro-3-(trifluorométhyl)phényl]-3-oxobutanamide) pour rendre les cellules plus sensibles au récepteur Fas (impliqué dans les mécanismes d'apoptose, cf. annexe 1). D'après cette étude, le fasentin serait un inhibiteur partiel des transporteurs au glucose GLUT1 (Wood et al., 2008).

### 3. La silybine

La **silybine** est un flavonoïde naturel issu du Chardon-Marie *Silybum marianum*, inhibiteur des GLUT (Zhan et al., 2011). Son dérivé, la déhydro-silybine, semble inhiber la prise en charge du glucose de manière plus importante. D'après de nombreuses études, la silybine inhibe de ce fait la croissance des cellules cancéreuses. Par exemple, dans un modèle *in vitro* de carcinome des cellules basales, en utilisant des lignées cellulaires qui dérivent de tumeurs murines, l'équipe de Tilley et al. démontre la diminution de la croissance cellulaire en présence de silybine et de son produit d'activation le 2,3-déhydro-silibinine (Tilley et al., 2016). *In vivo*, dans leur modèle d'allogreffe ectopique, l'administration orale de silybine et de 2,3-déhydro-silibinine (200 mg/kg) inhibe la croissance tumorale de respectivement 44% et 71% ( $p < 0.05$ ). Les mécanismes impliquent une inhibition du signal mitogène, un déclenchement de l'apoptose, une suppression de l'activation de facteurs de transcription.

La silybine montre également un effet bénéfique en association avec de la chimiothérapie. Dans un modèle *in vitro* de carcinome du poumon à petites cellules, un effet synergique avec l'étoposide et la doxorubicine est démontré (Sadava et Kane, 2013), à une dose de 50  $\mu\text{mol/L}$ . La silybine augmente également les effets inhibiteurs de la croissance de molécules comme le géfitinib et le sorafénib (dans un modèle *in vitro* de carcinome hépatocellulaire, Gu et al., 2015).

L'effet de la silybine en association avec la radiothérapie a été testé sur des lignées cellulaires de cancer de la prostate et de cancer du poumon (Nambiar et al., 2015). *In vitro*, à 25  $\mu\text{mol/L}$ , la silybine favorise l'inhibition de la croissance cellulaire par les rayonnements ionisants (2,5-10 Gy - 96%,  $p < 0,001$ ), ainsi que la production de ROS et l'apoptose, en limitant les signaux de survie et la réparation suite à l'ionisation. *In vivo*, sur un modèle de souris avec une xéngreffe de cancer de la prostate, la silybine (200 mg/kg) favorise la radiosensibilité, augmente la réponse apoptotique (de 10 fois,  $p < 0,01$ ), limite la réparation des dommages de l'ADN, et limite la toxicité due à la radiothérapie.

### 4. Les WZ

L'équipe de Liu et al. a développé des molécules mimant l'inhibition des GLUT1, **WZB27** et **WZB115**. Elles inhibent le transport du glucose au sein de la cellule, ainsi que la prolifération cellulaire, et induisent un phénomène d'apoptose dans des lignées cellulaires de cancer du poumon et de cancer du sein sans affecter les cellules saines environnantes (Liu et al., 2010).

Une autre molécule ciblant les transporteurs du glucose a été développée par la même équipe en 2012 (Liu et al., 2012) Il s'agit du **WZB117**, qui inhibe la croissance cellulaire *in vitro* dans des lignées de cellules cancéreuses du poumon et du sein, mais également *in vivo* dans un modèle de souris nude (xéngreffe issue de cellules de cancer du poumon). L'injection intrapéritonéale une fois par jour de WZB117 à une dose de 10 mg/kg entraîne une réduction

de plus de 70% de la taille de la tumeur greffée. D'après cette étude, les mécanismes seraient une induction de la sénescence en plus de la diminution du taux d'ATP intracellulaire. Cette même molécule pourrait inhiber la capacité de régénération et d'initiation tumorale des cellules souches cancéreuses, sans compromettre leur potentiel de prolifération (Shibuya et al., 2015).

#### 5. L'imatinib

L'étude de Barnes et al. s'intéresse à l'expression de la tyrosine kinase Bcr-Abl, responsable du développement des cellules cancéreuses de leucémie myéloïde chronique (Barnes et al., 2005). L'utilisation du **gleevec (Imatinib)**, un inhibiteur des tyrosine kinases ciblant spécifiquement la Bcr-Abl, permet l'internalisation de près de 90% des transporteurs, et donc un apport en glucose très diminué pour la cellule leucémique exprimant Bcr-Abl.

#### 6. Les polyphénols

L'étude récente de Martel et al. montre que les polyphénols semblent inhiber le transport du glucose dans des lignées cellulaires de cancer du sein (Martel et al., 2016). Des investigations supplémentaires sont nécessaires pour statuer de l'efficacité sur la croissance tumorale.

## B. Cibler la glycolyse

L'addiction des cellules cancéreuses à la glycolyse afin de maintenir une production d'énergie suffisante les rend vulnérables aux différents inhibiteurs de la glycolyse. Les cellules dont la respiration mitochondriale est intacte seront capables de produire leur énergie *via* les phosphorylations oxydatives, mais les cellules glycolytiques avec une respiration mitochondriale défectueuse en seront incapables. Le schéma suivant (Figure 24) résume les bases de cette stratégie.

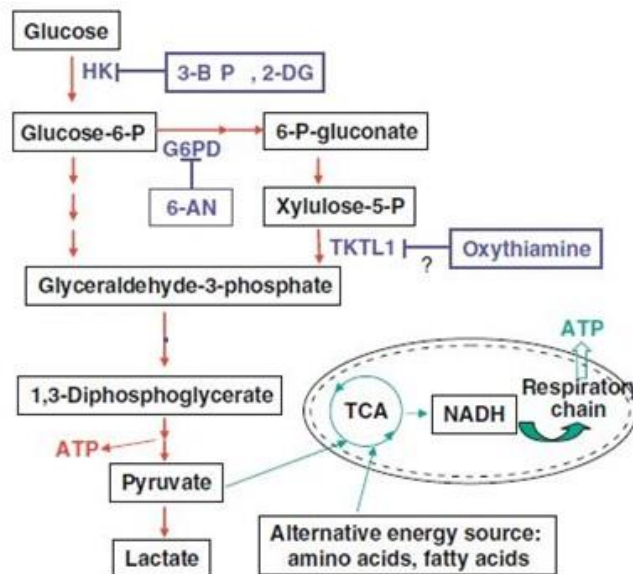


Figure 24 : Cibler la glycolyse.

D'après Pelicano et al., 2006

### 1. Via les inhibiteurs de l'hexokinase (HK)

La première étape de la glycolyse est catalysée par l'HK. Le produit de cette réaction, le glucose-6-phosphate (G6P), est un intermédiaire métabolique pouvant être utilisé pour la suite de la glycolyse ou dévié vers la voie des pentoses phosphates.

#### *i. Le 2-DG*

Dans le cytoplasme, le **2-désoxyglucose** (2-DG) est phosphorylé en 2-DG-6-phosphate (Russell et al., 1992) par l'HK, qui ne peut pas être métabolisé comme le G6P. Le 2-DG-6-phosphate s'accumule donc dans la cellule et conduit à une inhibition de la glycolyse au niveau de la 1<sup>ère</sup> étape. De plus, il semble aussi avoir un effet sur l'HK liée à la mitochondrie, suggérant également un effet sur le métabolisme mitochondrial (Lynch et al., 1991).

Un certain nombre d'études montre l'effet cytotoxique du 2-DG sur les cellules cancéreuses avec des défauts de respiration mitochondriale ou dans un environnement hypoxique (Maher et al., 2004).

L'étude de Zhang et al. s'intéresse au traitement de 12 lignées cellulaires cancéreuses humaines avec le 2-DG. La diminution de la prolifération cellulaire et l'augmentation de l'apoptose sont visibles dans certaines lignées *in vitro* mais ces résultats demandent plus d'investigations pour démontrer une efficacité générale du 2-DG (Zhang et al., 2006). En effet, son efficacité est toujours freinée par la présence de glucose et ne semble que réduire partiellement la disponibilité de ce dernier pour la glycolyse.

Un autre intérêt de l'utilisation du 2-DG pourrait être l'augmentation de l'efficacité de la chimiothérapie. C'est le cas par exemple en combinaison avec de l'adriamycine et du paclitaxel dans un modèle *in vivo* d'ostéosarcome humain (xénogreffe sur souris nude) et dans un modèle de cancer du poumon (Mashek et al., 2004). Néanmoins, cette étude souligne qu'*in vivo*, l'administration du 2-DG seul ne montre pas d'activité anticancéreuse significative.

L'équipe de Zhao et al. montre que l'association du 2-DG au trastuzumab renforce l'action de ce dernier *in vitro* sur des lignées de cellules de cancer du sein (Zhao et al., 2011). Le 2-DG montre également une efficacité lors de résistance au cisplatine (Sullivan et al., 2014a).

## ii. *Le 3-Bromopyruvate (3-BP)*

L'analogue du pyruvate **3-Bromopyruvate** (3-BP) est un agent alkylant inhibiteur de l'HK II initialement mis en évidence dans un modèle lapin de cancer du foie (Ko et al., 2001). Il réduit la production d'ATP dans la cellule cancéreuse et montre une activité cytotoxique envers ces dernières ainsi que dans les cellules métastatiques. Le relargage du cytochrome c permet une mort cellulaire massive, et ce également dans les cellules mutirésistantes aux drogues (Xu et al., 2005).

*In vivo*, dans un modèle souris de cancer du poumon, l'activité chimiopréventive du 3-BP a pu être testée (Zhang et al., 2012), et montre une diminution de la multiplication tumorale (à une dose de 20 mg/kg par voie orale) suite à l'induction de l'apoptose des cellules cancéreuses. Des inhalations à 10 mg/mL montrent les mêmes résultats, mais sans toxicité hépatique associée. Les mêmes effets sont retrouvés *in vivo* dans un modèle de cancer de l'estomac (Xian et al., 2015). L'utilisation *in vivo* (2 mM intrapéritonéal) dans des modèles de rats de carcinome hépatocellulaire conduit à la réduction tumorale pour tous les modèles (Ko et al., 2004). Dans des lignées cellulaires de cancer du sein, l'action du 3-BP est testée *in vitro* seule et en association avec le tamoxifène (Attia et al., 2015). Le déclenchement de l'apoptose est retrouvé, ainsi que la modulation des capacités d'angiogenèse et de métastase. Les résultats sont confirmés *in vivo* dans un modèle de souris (diminution du volume tumoral, de l'angiogenèse, augmentation du stress oxydatif). Par ailleurs, le 3-BP semble favoriser la cytotoxicité due à la daunorubicine à travers la régulation des MCT1 dans des lignées cellulaires de cancer du sein (Liu et al., 2015b). *In vivo*, le 3-BP associé à la daunorubicine stoppe la

croissance cellulaire de tumeurs mammaires implantées dans un modèle souris nude, et permet l'accumulation de la daunorubicine dans les cellules tumorales.

Le 3-BP ne peut pas être facilement utilisé dans le traitement des gliomes en raison de son incapacité à traverser la barrière hémato-encéphalique. L'équipe de Wicks et al. a testé son efficacité en association avec le témozolomide et en association avec la radiothérapie (Wicks et al., 2015). *In vivo*, dans un modèle de rat de gliome de haut grade (allogreffe), cette équipe démontre un effet synergique entre le 3-BP et le témozolomide, de même qu'avec la radiothérapie.

Un tableau plus exhaustif de l'ensemble des études *in vitro* et *in vivo* existantes peut être trouvé dans l'article de Azevedo-Silva et al., 2016.

L'association avec la **rapamycine**, un inhibiteur de mTOR, a été évaluée dans un modèle de cancer du poumon chez la souris. La rapamycine et le 3-BP, administrés par aérosol, montrent chacun des effets préventifs dans la propagation du cancer. Un effet synergique a été démontré pour diminuer la prolifération cellulaire, et ce sans toxicité hépatique (Zhang et al., 2015).

L'association avec le **citrate de sodium** a été évaluée dans des lignées cellulaires de cancer de l'estomac et dans un modèle souris nude (Wang et al., 2016). De manière cohérente avec les résultats individuels des deux molécules, *in vitro*, le 3-BP et le citrate de sodium stoppent la prolifération cellulaire, déclenchent le phénomène d'apoptose, et diminuent la production de lactate et d'ATP. L'action sur l'apoptose se comprend par la downrégulation de l'expression de protéines antiapoptotiques telles que Bcl-2, tandis que l'expression des protéines pro-apoptotiques comme Bax sont uprégulées (cf. Annexe 1). Dans le modèle *in vivo*, l'injection intrapéritonéale de 3-BP et de citrate de sodium supprime la croissance tumorale et induit l'apoptose des cellules.

### *iii. Le méthyljasmonate*

De plus, le **méthyljasmonate** pourrait également inhiber l'HK (Pathania et al., 2009). HKII est associée avec le canal anionique voltage dépendant VDAC dans les mitochondries des cellules cancéreuses. Cette association semble protéger les cellules tumorales de la perméabilisation de la membrane externe de la mitochondrie. Le méthyljasmonate semble perturber spécifiquement cette interaction hydrophobe (Goldin et al., 2008), et en dissociant l'HK de la mitochondrie, cela entraîne un relargage du cytochrome c. Les mécanismes d'action spécifiques sur les cellules cancéreuses (car le méthyljasmonate n'a pas d'effet sur les cellules normales) sont répertoriés dans la revue de Cesari et al., 2014.

Les effets du méthyljasmonate ont été démontrés dans des fractions mitochondriales de différentes lignées cancéreuses murines et de cellules de leucémie lymphoblastique T humaine, mais également *in vitro* et *in vivo* pour des cellules de myélome multiple (Klippel et al., 2012). Son action synergique avec le cisplatine ou la radiothérapie est étudiée dans des lignées de cancer de l'utérus (Milrot et al., 2013).

*iv. Le lonidamine (LND)*

Le **lonidamine** (LND) est un dérivé de l'acide indazole-3-carboxylique, connu depuis longtemps pour diminuer la consommation de dioxygène par les cellules (Floridi et al., 1981). Il inhibe en effet la glycolyse à travers l'inhibition de l'HK II liée aux mitochondries (diminution de la phosphorylation du glucose et donc de la quantité de métabolites disponibles pour la glycolyse) (Cervantes-Madrid et al., 2015). Le LND inhibe la production de lactate et contribue à l'accumulation de ce dernier *via* l'inhibition de l'efflux de lactate, effet que l'on retrouve *in vivo* comme *in vitro*. Dans de nombreuses études *in vitro* recensées par Pelicano et al., le LND inhibe la glycolyse et la respiration de manière dose dépendante, conduisant à la diminution du stock en ATP cellulaire (Pelicano et al., 2006). De plus, dans des lignées de cancer du sein, le LND augmente la cytotoxicité de nombreux agents alkylants, comme le cisplatine, ou encore la doxorubicine (démonstré dans plusieurs lignées cellulaires par l'équipe de Nath et al., 2015). Enfin, il déclenche l'apoptose dans des lignées cellulaires de cancer du foie (Li et al., 2002).

*v. L'association du 2-DG, du LND et du 3-BP sensibilise aux corticoïdes*

L'association de ces 3 molécules a été étudiée dans le contexte de leucémie lymphoblastique aïgue, dont l'échec thérapeutique est souvent dû à une résistance aux corticoïdes. L'étude de Hulleman et al. a montré que les gènes associés au métabolisme du glucose sont exprimés différemment entre les patients résistants ou non aux corticoïdes (Hulleman et al., 2009). Il semblerait que l'inhibition de la glycolyse permette de sensibiliser les patients résistants aux corticoïdes. Le traitement *in vitro* de cellules résistantes à la prednisolone avec du 2-DG, du LND ou du 3-BP augmente la sensibilité aux glucocorticoïdes. Ce n'est pas le cas sur les cellules sensibles initialement.

## 2. Via l'inhibition de la Glyceraldéhyde 3-phosphate déshydrogénase

L'étude de Ganapathy-Kanniappan et al. suggère que la pyruvylation de la GAPDH par le **3-BP** diminue son activité enzymatique (Ganapathy-Kanniappan et al., 2009).

Le schéma suivant (Figure 25) résume les autres rôles du 3-BP, non seulement sur les enzymes de la glycolyse, mais également sur des acteurs mitochondriaux (non développés dans ce travail).

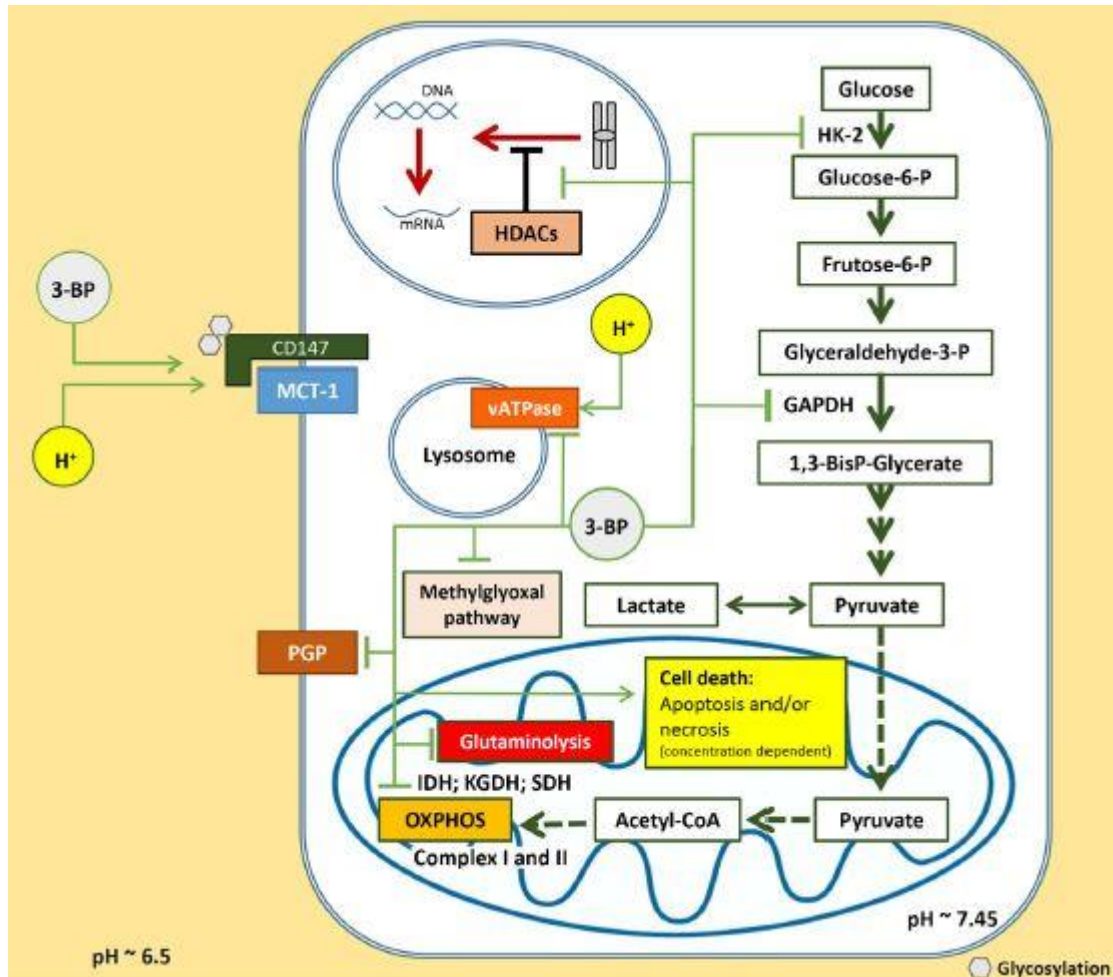


Figure 25 : Modes d'action du 3-BP.

D'après Azevedo et al., 2016.

L'**iodoacétate** semble également avoir des effets anticancéreux grâce à son inhibition de la GAPDH (Fahim et al., 2003).



### 3. Via la diminution de l'activité de la PFK

#### *i. Cibler directement la PFK*

Le **citrate** est une molécule essentielle du métabolisme et permet de réguler la production énergétique cellulaire, comme nous l'avons expliqué dans le paragraphe I.D. En quantité suffisante, il exerce un rétrocontrôle négatif sur la glycolyse et le cycle de Krebs et stimule la néoglucogenèse et la synthèse de lipides. Le citrate est en effet un inhibiteur de la PFK1 et de la PFK2.

Son intérêt thérapeutique a été montré *in vitro* sur des lignées de cellules de carcinome gastrique (après 24 à 72 h de traitement à 5, 10 et 220 mM) (Lu et al., 2011).

De plus, un effet synergique avec le cisplatine a été montré sur des cellules de mésothéliome résistantes au cisplatine (Zhang et al., 2009).

En association avec un inhibiteur synthétique de la protéine anti-apoptotique Bcl-x<sub>L</sub>, le citrate inhibe la prolifération cellulaire et déclenche l'apoptose dans des lignées cellulaires de cancer de l'ovaire de manière beaucoup plus performante que l'inhibiteur synthétique seul (Lincet et al., 2013).

Le **3-PO** (3-(3-pyridinyl)-1-(4-pyridinyl)-2-propène-1-one) inhibe l'activateur allostérique de la PFK1, le F2,6-P, ce qui entraîne une inhibition de la glycolyse (Clem et al., 2008). Le 3-PO agit spécifiquement en inhibant la PFKFB3. *In vivo*, cela entraîne une suppression de la croissance tumorale. *In vitro*, le 3-PO semble être sélectif envers les cellules tumorales, par rapport aux cellules non tumorales.

#### *ii. Cibler indirectement la PFK en diminuant le pH intracellulaire*

On a vu précédemment que le pH intracellulaire alcalin de la cellule cancéreuse favorise l'activation de la PFK1 et donc la glycolyse. Les molécules agissant sur l'équilibre acido-basique de la cellule seront développées au III. H.

### 4. Via une action sur la pyruvate kinase (PK)

#### *i. Les inhibiteurs de la pyruvate kinase (PK)*

Un analogue structurel de la somatostatine, le **TT-232**, est un inhibiteur de la PKM2, qui nous l'avons vu précédemment, est l'isoforme la plus fréquemment retrouvée dans les cellules cancéreuses (Szokolóczy et al., 2005).

L'étude de Vander Heiden et al. a permis d'identifier de nombreux inhibiteurs spécifiques de la PKM2 (Vander Heiden et al., 2010). Ces molécules ciblent le site de fixation au F1,6-BP, qui active également les isoformes rénales et celles des globules rouges. Des

problèmes de toxicité pourraient néanmoins se déclarer si l'activité de la PK est inhibée dans le foie et les globules rouges (Dong et al., 2016). On comprend alors l'intérêt de l'étude de Chen et al., qui montre que la **shikonine** (produit issu de la racine de *Lithospermum erythrorhizon*) et son énantiomère l'**alkannine** inhibent la PKM2 à des concentrations telles que 50% de l'activité de la PKM2 est inhibée, sans affecter l'activité de la PKM1 ou des autres isoformes (Chen et al., 2011).

L'alkannine *in vitro* (1  $\mu$ M, 3  $\mu$ M and 10  $\mu$ M) inhibe la croissance, la prolifération et la migration de lignées cellulaires de gliome de manière dose dépendante. Elle peut également inhiber la phosphorylation de mTOR (Gao et al., 2015).

La shikonine permet de sensibiliser des lignées cellulaires de cancer du sein au paclitaxel (Li et al., 2014b). La combinaison des deux molécules semble, entre autres, inhiber la protéine Akt. *In vivo*, dans le modèle de xéno greffe, la shikonine en association au paclitaxel prolonge la survie et permet de réduire la taille de la tumeur.

L'ajout de F1,6-BP dans le milieu inhibe néanmoins l'action de ces molécules. L'utilisation de **small interfering ARN** (siARN) ciblant la PKM2 augmente l'apoptose dans de nombreuses lignées cellulaires cancéreuses. Ce phénomène est moins présent dans les cultures de fibroblastes ou de cellules endothéliales normales, suggérant une spécificité tumorale. *In vivo*, dans un modèle de xéno greffe, ces siARN induisent la régression des tumeurs (Goldberg et Sharp, 2012).

## ii. *Les activateurs de la pyruvate kinase (PK)*

Par ailleurs, les activateurs de la PKM2 favorisent la formation de tétramères de la PKM2 (forme active), ce qui lève le goulot d'étranglement de la glycolyse (Anastasiou et al., 2012). Les intermédiaires de la glycolyse utilisés comme précurseurs de biosynthèse (voie de la sérine par exemple) pour la cellule cancéreuse ne sont donc plus disponibles pour la prolifération de la cellule cancéreuse (Kung et al., 2012).

Par exemple, le **PA-12**, un activateur de la PKM2, limite la prolifération cellulaire *in vitro* dans des lignées cellulaires de cancer du poumon (Kim et al., 2015).

## C. Cibler la voie des pentoses phosphates (PPP)

Cette voie alternative du métabolisme du glucose permet de générer du pentose (synthèse des acides nucléiques indispensables à la cellule cancéreuse) et du NADPH.

### 1. Inhiber la transcétolase

L'**oxythiamine**, un antagoniste de la thiamine, inhibe la transcétolase, enzyme de la PPP (Raïs et al., 1999). Un partiel effet anticancéreux a été démontré *in vitro* et *in vivo*. Par ailleurs, des modèles de souris où le gène de la transcétolase était totalement inhibé montrent une meilleure réponse au traitement avec le sorafénib (Xu et al., 2016).

### 2. Inhiber la Glucose-6 Phosphate Déshydrogénase (G6PD)

Le **6-AN** (6-aminonicotinamide), un analogue du NADP, inhibe la G6PD, enzyme qui catalyse la première réaction de la PPP. Une diminution de l'activité de la G6PD diminue l'entrée du glucose dans la PPP et réduit ainsi une voie majeure de biosynthèse pour la cellule cancéreuse. On comprend facilement que le 6-AN montre une activité anticancéreuse *in vitro*, et il rendrait les lignées cellulaires plus sensibles à la radiothérapie (Varshney et al., 2005). En association avec le 2-DG, cet effet est renforcé. La neurotoxicité *in vivo* du 6-AN limite cependant son utilisation (Penkowa et al., 2004).

Par ailleurs, l'**imatinib** semble également diminuer l'activité de la G6PD dans des lignées de cellules leucémiques (Pelicano et al., 2006).

Néanmoins, une déficience naturelle en cette enzyme n'entraîne pas de protection contre la formation de cancers, probablement grâce aux effets compensateurs d'autres enzymes produisant du NADPH (Cocco, 1987).

## D. Cibler le métabolisme de la glutamine

Si cibler le métabolisme du glucose de la cellule cancéreuse apparaît prometteur, l'utilisation de la glutamine pour pallier le manque de glucose est possible pour de nombreuses cellules cancéreuses. Il faut donc également s'intéresser aux inhibiteurs du métabolisme de la glutamine.

### 1. Cibler la glutaminase

Le bis-2-(5-phénylacétimido-1,2,4,thiadiazol-2-yl)éthyl sulfide (**BPTES**) semblerait inhiber la croissance d'un certain nombre de cancers induits chez la souris. Cette molécule inhibe en effet la glutaminase de manière allostérique (Robinson et al., 2007).

Le **composé 968** inhibe la glutaminase C. Il freine le développement des cellules cancéreuses dans des lignées de cancer du sein et de lymphome B (Wang et al., 2010). En association avec l'erlotinib, il permet d'inhiber la prolifération cellulaire de cellules de cancer du poumon non à petites cellules résistants à l'erlotinib (Xie et al., 2016).

Le **composé 839** limite également la croissance tumorale dans des modèles de xénogreffe de cancer du sein triple négatif, seul et en association avec le paclitaxel (Gross et al., 2014).

L'utilisation de l'analogue de la glutamine, le **6-Diazo-5-oxo-L-norleucine (DON)** permet de limiter la croissance tumorale et d'augmenter la survie dans un modèle de souris de cancer métastatique (Shelton et al., 2010). Son association au **lonidamine** montre des résultats prometteurs : l'inhibiteur de la glycolyse et l'inhibiteur de la glutaminolyse semblent agir en synergie (Cervantes-Madrid et al., 2015).

### 2. Cibler la glutamate déshydrogénase

Dans un modèle cellulaire issu de glioblastome, l'utilisation d'un **siARN** ciblant la glutamate déshydrogénase permet de diminuer la prolifération cellulaire (Yang et al., 2009).

L'utilisation de l'inhibiteur **R162** par l'équipe de Jin et al. entraîne un déséquilibre redox dans la cellule cancéreuse, limitant la prolifération cellulaire et la croissance tumorale (Jin et al., 2015).

### 3. Cibler les transaminations

Tableau 1 : Cibler les transaminations

Cible	Molécule utilisée	Source
Alanine Transaminase	<b>L-cycloserine</b>	Beuster et al., 2011
Aspartate Transaminase	<b>Amino Oxyacetate</b>	Thornburg et al., 2008

## E. Cibler le facteur HIF-1

Ce facteur oncogène en lien avec le métabolisme énergétique de la cellule peut être ciblé de différentes manières, comme le représente le schéma suivant (Figure 26).

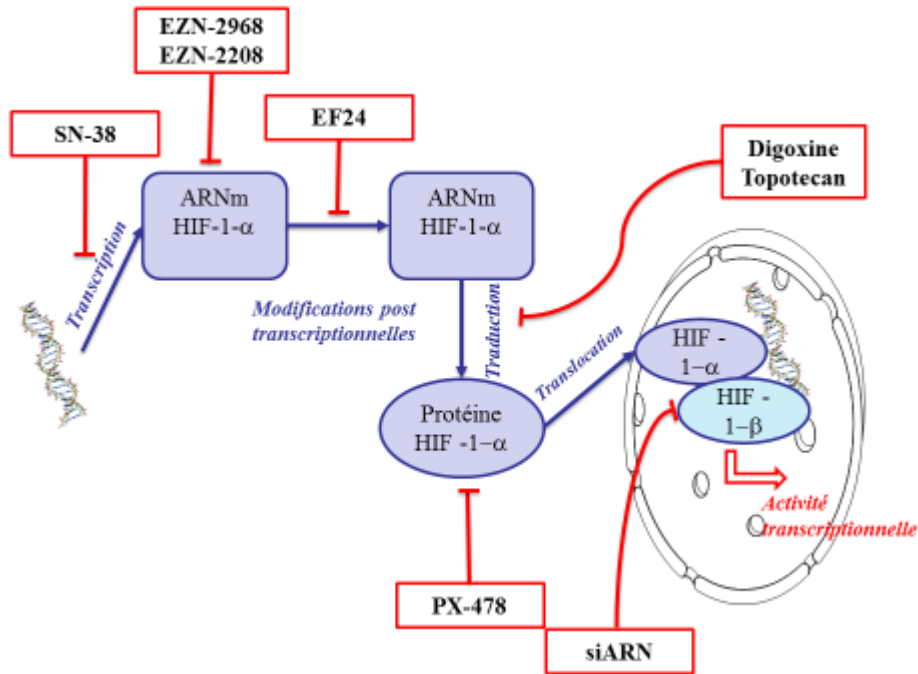


Figure 26 : Les inhibiteurs de HIF-1 peuvent agir à différents niveaux.

### 1. Cibler l'ARN messager de HIF-1-α et sa transcription

Le **SN-38** est le métabolite actif de l'**irinotécan**, un inhibiteur de la topoisomérase 1 (enzyme permettant la transcription de l'ADN). Le SN-38 a également une action sur la transcription de l'ARNm de HIF-1-α (Kamiyama et al., 2005). L'irinotécan montre des propriétés synergiques avec l'axitinib dans le traitement du cancer du pancréas (Canu et al., 2011). Il est utilisé en chimiothérapie classique pour le traitement des cancers colorectaux. Le SN-38 limite quant à lui la prolifération tumorale *in vitro* et *in vivo* dans un modèle de cancer du poumon (Maurya et al., 2011).

**EZN-2968** est un antagoniste de l'ARNm de HIF-1-α. *In vitro*, dans des lignées cellulaires de cancer de prostate et de glioblastome, EZN-2968 induit une inhibition de la croissance des cellules tumorales. *In vivo*, dans un modèle de souris nude de cancer de la prostate, le traitement à base de EZN-2968 entraîne une réduction de la masse tumorale (Greenberger et al., 2008).

L'utilisation du **EZN-2208**, agissant sur l'ARNm de HIF-1- $\alpha$ , limite l'angiogenèse *in vitro* et *in vivo* (xénogreffe de gliome) (Sapra et al., 2011). Son utilisation pour le traitement du lymphome non Hodgkinien apparaît efficace (Sapra et al., 2009).

## 2. Inhiber les modifications post-transcriptionnelles et la traduction protéique

Le traitement de cellules cancéreuses du sein et de la prostate à l'aide du **Diphényl difluorocétone (EF24)** entraîne l'inhibition de l'activité transcriptionnelle de HIF-1- $\alpha$ . L'EF24 agit au niveau des modifications post transcriptionnelles de HIF-1- $\alpha$  (Thomas et al., 2008). Comme expliqué précédemment (II.D.2), HIF-1- $\alpha$  est un facteur régulant la glycolyse aérobie d'une part, et l'expression des GLUT1 d'autre part. L'utilisation d'inhibiteur de HIF-1- $\alpha$  joue donc sur ces deux voies, et conduit à la diminution de la prolifération des cellules cancéreuses.

Ensuite, la **digoxine**, glycoside cardiotonique, inhibe la traduction d'une unité protéique de HIF-1- $\alpha$ . Cela réduit l'expression des gènes codant pour l'HK et les GLUT. La diminution de la prolifération cellulaire *in vitro* dans des modèles de cancer de la prostate en fait un excellent candidat (Platz et al., 2011). Dans des modèles de souris de lymphome, l'injection intrapéritonéale de 0,5 ou 2 mg/kg de digoxine inhibe la croissance tumorale de manière dose dépendante (Zhang et al., 2008).

Enfin, le **topotécan**, un inhibiteur de la topoisomérase 1, agit également au niveau de la traduction protéique de HIF-1- $\alpha$  (Rapisarda et al., 2004). Son utilisation en association avec le pazopanib montre des effets prometteurs *in vitro* dans le traitement du cancer du sein (Di Desidero et al., 2015).

## 3. Inhiber les versions protéiques de HIF-1- $\alpha$ et de HIF-1

**PX-478** (acide S-2-amino-3-[4'-N,N,-bis(2-chloroéthyl)amino]phényl propionique N-oxyde dihydrochloride) est un inhibiteur de HIF-1- $\alpha$ , et donc de l'activité de HIF-1. Son activité antitumorale est démontrée pour des xénogreffes de tumeurs humaines comme le cancer du côlon (Welsh et al., 2004).

Le développement de **siARN** dirigé contre HIF-1 permet d'induire l'apoptose de cellules de mélanome malin (Chen et al., 2016).

La revue de Masoud et Li présente également d'autres inhibiteurs qui ne ciblent pas directement les versions protéiques de HIF-1 mais les protéines avec lesquelles ce dernier interagit (Masoud et Li, 2015). De manière indirecte, ces protéines participent à la stabilisation du facteur HIF-1 et leur inhibition conduit à une activité anormale de la protéine.

## F. Cibler la voie AMPK (AMP-activated protein kinase)-mTOR

Nous avons vu précédemment que l'activation de mTOR est un facteur d'agressivité tumorale, et que l'AMPK inhibe mTOR. L'hyperglycémie et l'hyperinsulinémie sont deux facteurs impliqués dans la tumorigenèse *via* différentes voies qui mènent directement ou indirectement à l'activation de mTOR.

### 1. La metformine

L'intérêt de l'utilisation de ce médicament en cancérologie est dû aux résultats d'études épidémiologiques montrant une incidence réduite de cancer chez des patients diabétiques de type 2 prenant comme traitement de la metformine (Libby et al., 2009). **La metformine** est initialement connue comme un activateur de l'AMPK, utilisée pour soigner le diabète de type 2. Elle inhibe également le complexe I de la chaîne de transports d'électrons *via* l'inhibition de la réduction de l'ubiquinone. Elle stimule de manière indépendante la production de ROS par le complexe I flavine (Andrzejewski et al., 2014). Son rôle direct sur la mitochondrie semble en faire une molécule particulièrement intéressante en thérapie anticancéreuse (Griss et al., 2015). Ce rôle en ferait également une molécule intéressante en termes de prévention (Cazzaniga et Bonanni, 2015).

Si certains biais des études épidémiologiques ont été soulignés (Suissa et Azoulay, 2012) et que d'autres études rétrospectives ne démontrent pas de rôle de la metformine pour améliorer la survie des patients diabétiques (Wu et al., 2016), le développement récent des recherches sur la metformine souligne le rôle essentiel qu'elle a à jouer en thérapie anticancéreuse.

L'effet de la metformine a par exemple été testé sur des lignées cellulaires de cancer de l'ovaire. *In vitro*, la metformine diminue la prolifération cellulaire et entraîne un arrêt du cycle cellulaire sans déclencher l'apoptose (Lengyel et al., 2015). La même équipe a étudié l'action de la molécule en prévention sur un modèle de souris (250 mg/kg/j en intrapéritonéal). Les souris prétraitées avec de la metformine développaient 60% de tumeurs en moins que le groupe contrôle. L'action de la metformine, en association avec le paclitaxel, a été étudiée dans un modèle génétique de cancer de l'ovaire de souris, qui montre une réduction de plus de 60% du poids tumoral (réduction plus importante que l'utilisation de la metformine seule ou du paclitaxel seul). Ce rôle sensibilisant à la chimiothérapie de la metformine se retrouve également *in vitro* et *in vivo* en association avec la gemcitabine dans un modèle de cancer du pancréas (Shi et al., 2016), ou encore avec le 5-fluorouracil (5-FU) dans des modèles *in vitro* de cancers de l'oesophage, du colon, ou encore de carcinome épidermoïde de la cavité buccale (Harada et al., 2016). *In vivo*, la même étude montre que l'injection intrapéritonéale de metformine (200 mg/kg) et de 5-FU (10 mg/kg) pendant 4 semaines (5 jours par semaine) diminue la croissance tumorale de 77,6% en comparaison avec la metformine seule (59,9%) ou au 5-FU seul (52%).

L'étude de l'association de la metformine avec le cisplatine a été réalisée dans des lignées cellulaires de cancer de la vessie. Les deux molécules ensemble étaient plus efficaces pour diminuer la prolifération cellulaire *in vitro* que chacune séparément. Dans le modèle de xéno greffe *in vivo*, la combinaison des deux molécules inhibe la croissance tumorale et l'angiogenèse (Wang et Wu, 2015). Dans un modèle *in vivo* de carcinome hépatocellulaire, la metformine a une action synergique sur le sorafenib, en supprimant la prolifération cellulaire et en accentuant l'apoptose. La transition épithélio-mésenchymateuse est également supprimée par la combinaison des deux molécules *in vivo* et *in vitro*. La récurrence post-opératoire ainsi que le phénomène métastatique semblent également minimisés par le traitement avec les deux molécules (You et al., 2016).

De manière intéressante, l'étude de l'association de la metformine avec le **DCA** montre une action synergique des deux molécules (Li et al., 2016). L'étude *in vitro* sur des lignées cellulaires de cancer de l'ovaire montre que le DCA potentialise l'action de la metformine en atténuant une accumulation de lactate excessive, alors que la metformine sensibilise le DCA en diminuant l'expression de la protéine Mcl-1, responsable d'autophagie. *In vivo*, les deux molécules en synergie suppriment la croissance des greffes tumorales dans des modèles de souris nude.

L'action de la metformine sur des cellules souches de cancer du sein a été étudiée en utilisant des cellules souches primaires de carcinome mammaire de chien (Barbieri et al., 2015). Des marqueurs spécifiques similaires aux marqueurs humains sont en effet retrouvés. Les cellules souches se sont montrées résistantes à la doxorubicine *in vitro* mais sensibles à la metformine. Dans le modèle *in vivo*, l'administration de metformine diminuait la croissance tumorale.

Dans un modèle de carcinome adrénocortical *in vitro* et *in vivo*, le traitement avec la metformine diminuait la prolifération cellulaire de manière dose dépendante et temps dépendant, en déclenchant la machine apoptotique et en montrant une stimulation de l'AMPK ainsi qu'une inhibition de mTOR (Poli et al., 2016). Cette inhibition de mTOR se retrouvant dans les mécanismes d'action de la metformine, voyons maintenant quelles autres molécules peuvent directement cibler cette voie.

## 2. Les inhibiteurs de mTOR

La **rapamycine** (sirolimus) est un inhibiteur de mTOR dont l'utilisation s'est développée en cancérologie. C'est un des inhibiteurs de mTOR les mieux connus, utilisé en première intention comme immunosuppresseur. Il ne permet pas d'inhiber complètement les deux complexes mTORC1 et mTORC2, comme expliqué dans la revue de Xie et al. (2016), mais il permet entre autre de ralentir le processus de sénescence, ce qui pourrait être mis en relation avec son action anticancéreuse (Blagosklonny, 2012).

L'équipe de Imrali et al. étudie son action antiproliférative sur des lignées cellulaires de cancer de la prostate. Son association avec le cisplatine rend l'action de ce dernier plus efficace



(Imrali et al., 2016). Son association avec un inhibiteur de la glycolyse dérivé du 3-BP montre des résultats intéressants dans le cas des neuroblastomes (Levy et al., 2012) et des leucémies (Akers et al., 2011).

D'autres inhibiteurs de mTOR existent, comme l'**évérolimus** (RAD001), le **temsirolimus** (CCI-779), et le **ridaforolimus** (AP23573). De nouvelles générations d'inhibiteurs se développent, ainsi que des inhibiteurs de mTOR compétitifs de l'ATP. Par exemple, le **Palomid 529**, un inhibiteur de mTOR de 3<sup>ème</sup> génération, permet de limiter la croissance tumorale dans des modèles de souris (cancers du sein déficients en Brca1) (Xiang et al., 2011). Néanmoins, les inhibiteurs de mTOR montrent beaucoup de toxicité étant donné que la voie qu'ils bloquent se retrouve dans de nombreux types cellulaires. Leurs effets sont également atténués par des boucles de rétrocontrôle négatif régulant mTORC1, qui habituellement suppriment les signaux de la cascade en amont, mais qui sont réactivés lors de l'utilisation d'inhibiteurs de mTOR. Les inhibiteurs de mTOR compétitifs de l'ATP empêchent cette réactivation car ils ne sont pas des inhibiteurs allostériques comme la rapamycine par exemple (Li et al., 2014a).

## G. Cibler la formation d'acétyl-CoA, à la base des réactions anaboliques

### 1. Cibler la pyruvate déshydrogénase (PDH)

#### i. Le dichloroacétate (DCA)

La pyruvate déshydrogénase kinase 1 (PDK1) phosphoryle la PDH et la rend inactive, empêchant ainsi la formation d'acétyl-CoA. La PDK (isoformes PDK1-4) est inhibée par le **dichloroacétate (DCA)** (Figure 27), analogue du pyruvate, molécule connue depuis fort longtemps (Whitehouse et Randle, 1973) et utilisée dans le traitement de l'acidose lactique.

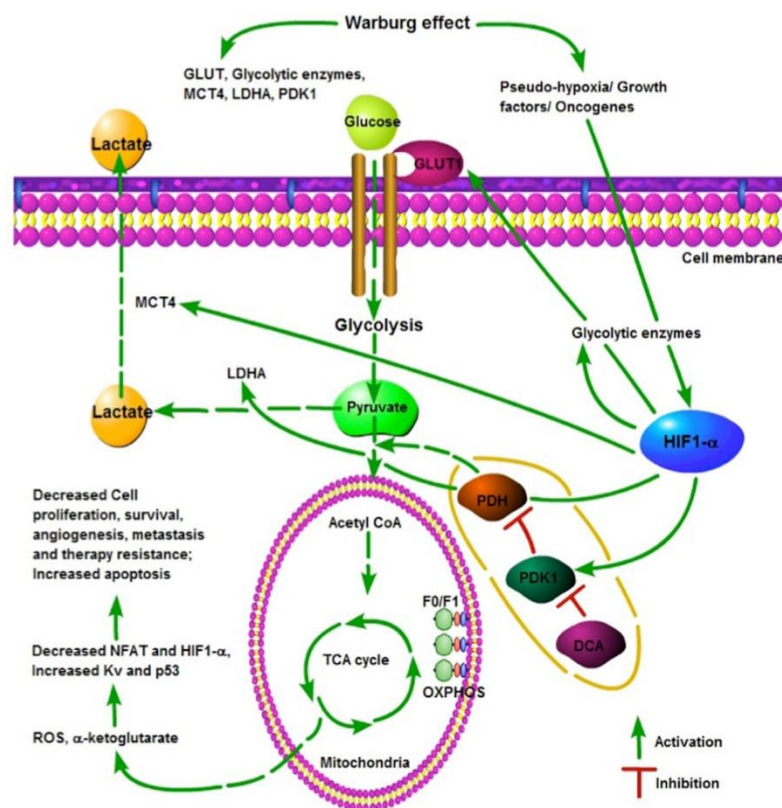


Figure 27 : Mode d'action du DCA remis en contexte.

D'après Bhat et al., 2015.

La revue de Papandreou et al. met en lumière les spécificités du DCA, dont l'effet anticancéreux apparaît plus efficace *in vivo* qu'*in vitro* (Papandreou et al., 2011). De nombreuses études montrent le grand intérêt du DCA (Tableau 2).

Tableau 2 : Intérêt du DCA in vitro

Type de cancer	Effets	Références
Poumon, Glioblastome, Sein	Apoptose, inhibition de la croissance	Bonnet et al., 2007 Duan et al., 2013
Prostate	Inhibition de la croissance, radiosensibilisation modérée	Cao et al., 2008
Endomètre	Inhibition de la croissance	Wong et al., 2008
Pédiatrique	Apoptose à forte concentration, action sur la réponse à la chimiothérapie	Heshe et al., 2011
Colorectal	Apoptose à de très fortes concentrations	Madhok et al., 2010 Lin et al., 2014a
Myélome multiple	Faibles doses de DCA (5-10 mM) : inhibe la glycolyse et améliore la respiration cellulaire Fortes doses (10-25 mM) : production de ROS, apoptose, suppression de la prolifération Sensibilisation au bortezomib – amélioration de la survie	Sanchez et al., 2013

Le DCA sensibilise également de nombreuses lignées cellulaires résistantes à la chimiothérapie. L'accumulation de citrate engendrée par son utilisation rend les cellules de nouveau sensibles au paclitaxel (Zhou et al., 2015). La revue de Lee et Yoon exploite également de nombreux articles étudiant l'action du DCA, dont certains qui soulignent que l'efficacité de la molécule seule n'est pas optimale (Lee et Yoon, 2015).

De manière intéressante en médecine vétérinaire et en recherche comparée, les recherches de Dagli et al. montrent la sensibilité similaire des lignées cellulaires épithéliales tumorales mammaires humaines et canines pour des concentrations supérieures à 20 mM (Dagli et al., 2017).

La combinaison de deux molécules de DCA avec une molécule de cisplatine a donné naissance à la molécule de **mitaplatine** (Dhar et Lippard, 2009). Cette dernière permet donc de cibler à la fois l'ADN et le métabolisme de la cellule tumorale. Le mitaplatine permet entre autre de lever la chimiorésistance au cisplatine dans des lignées cellulaires d'adénocarcinome épidermoïde et d'hépatome (Xue et al., 2012)

## ii. *L'acide alpha lipoïque (ALA)*

L'**acide alpha lipoïque**, ou acide lipoïque (ALA), est un composé thiol considéré comme un antioxydant naturel. C'est un coenzyme essentiel à la réaction de conversion du pyruvate en acétyl-CoA, car il semble agir par l'inhibition de la PDK (Abolhassani et al., 2012).

D'après l'étude de Wenzel et Nickel, l'ALA induit l'apoptose dans des lignées cellulaires de cancer du côlon (Wenzel et Nickel, 2005). De même, il a été démontré que l'ALA provoque une baisse de la prolifération cellulaire de manière dose dépendante dans des cellules de cancer du sein (Na et al., 2009) mais conduit également à la diminution de la survie cellulaire et à l'induction de l'apoptose de manière indépendante ou non des caspases dans des cellules du poumon (Choi et al., 2009). De manière plus précise, il semblerait que, pour les cellules épithéliales gastriques, l'ALA inhibe l'expression d'oncogène (c-myc) et l'hyperprolifération en bloquant la NADPH oxydase (Byun et al., 2014). Plus récemment, l'équipe de Puchsaka et al. a démontré que l'ALA sensibilise les cellules de lignées de cancer du poumon au traitement par le cisplatine (Puchsaka et al., 2016).

Des recherches menées sous la supervision du Docteur Hubert Lincet sur des lignées de cellules cancéreuses du sein au Centre de Recherche en Cancérologie de Lyon (CRCL) ont permis de préciser nos résultats concernant l'ALA. Les différents résultats, visuels ou de comptage, montrent l'effet dose dépendant de l'ALA sur les cellules cancéreuses après 72 h de traitement, que ce soit en termes de prolifération cellulaire, de mortalité, ou d'apoptose (visualisée avec l'étude des protéines PARP et Mcl-1 par Western Blot). L'ALA semble favoriser l'apoptose sur les cellules cancéreuses et réduire la prolifération cellulaire. Néanmoins, l'ALA à 0,5 mM et 1 mM semble favoriser la prolifération cellulaire jusqu'à 48 h. Cela pourrait être expliqué par le fait que l'augmentation en faible quantité des ROS favorise la prolifération (Sullivan et Chandel, 2014). Les détails des expériences peuvent être retrouvés en annexe 2.

## 2. Cibler l'ATP-citrate Lyase (ACLY)

L'ACLY provoque le clivage du citrate en OAA et en acétyl-CoA. Ce dernier métabolite est essentiel pour les voies de biosynthèses des lipides, des hormones... En bloquant l'ACLY, le citrate s'accumule dans le cytoplasme où il inhibe par rétrocontrôle négatif la PFK1, et les voies de biosynthèses lipidiques seront appauvries en acétyl-CoA.

Extrait de l'écorce du fruit *Garcinia cambogia*, l'**hydroxycitrate** (HCA) est un inhibiteur puissant de l'ACLY. Il existe quatre stéréoisomères de l'HCA, mais le (2S,3S)-2-hydroxycitrate (encore appelé 4S-HCA) présent dans l'extrait sec de *G. cambogia* est la forme la plus active pour inhiber l'ACLY.

L'utilisation en association avec **l'ALA** montre un effet cytotoxique majeur pour les lignées cellulaires de carcinome transitionnel de la vessie, de mélanome et de cancer du poumon (traitement de 72h avec 8  $\mu$ M d'ALA et 300  $\mu$ M d'HCA). *In vivo*, dans des modèles

syngéniques (carcinome transitionnel de la vessie, mélanome et cancer du poumon), la survie est augmentée et la croissance tumorale retardée, en comparaison avec un traitement au cisplatine ou 5-FU (Schwartz et al., 2010). L'HCA semblerait également inhiber la croissance cellulaire et sensibiliser les cellules leucémiques à la daunorubicine (Zhu et al., 2015).

L'action du HCA avec le **méthyljasmonate** a été étudiée dans des cellules de cancer de la vessie et montre que le méthyljasmonate sensibilise les cellules à l'action de l'HCA (Wang et al., 2014).

Le **SB-204990** est un composé chimique inhibiteur de l'ACLY. Il limite la prolifération cellulaire *in vitro* et réduit la survie des cellules cancéreuses issues des lignées de cancer du poumon, de la prostate et de l'ovaire. *In vivo*, dans un modèle de xéno greffe de cancer du pancréas chez des souris nude, SB-204990 inhibe la croissance tumorale (Hatzivassiliou et al., 2005). L'ACLY peut également être inhibée par des **siARN** conduisant à un arrêt de la prolifération cellulaire *in vitro* et un arrêt de la croissance tumorale *in vivo* dans une lignée de cancer du poumon (Migita et al., 2008).

## H. Cibler l'équilibre acido-basique

L'acidification du milieu intracellulaire entraîne une baisse d'activité des enzymes glycolytiques (telles la PFK, cf. III.B.3.ii), l'inhibition de la traduction protéique, l'arrêt du cycle cellulaire (Smallbone et al., 2007). Ceci explique l'importance de l'export de protons vers le milieu extracellulaire pour la cellule tumorale et conduit à l'acidification du microenvironnement tumoral. Cette acidification entraîne la dégradation de ce dernier et favorise la capacité métastatique des cellules tumorales (Kato et al., 2013). Il est intéressant de noter que la prise orale de bicarbonate chez des modèles de souris réduirait la diffusion métastatique (Robey et al., 2009).

### 1. Réduire la formation du lactate *via* les inhibiteurs de la lactate déshydrogénase

Une diminution de l'activité de la LDH conduit à l'inhibition de la glycolyse et possède des effets anticancéreux dans les lignées cellulaires étudiées (Fantin et al., 2006). L'inhibition de la LDH empêche la transformation du pyruvate en lactate, et le pyruvate peut ainsi rentrer dans la mitochondrie et être disponible pour les phosphorylations oxydatives.

Par exemple, l'inhibition de la LDH-A par le **FX11** [acide 3-dihydroxy-6-méthyl-7-(phénylméthyl)-4-propylnaphthalène-1-carboxylique], un des composés du gossypol, entraîne l'inhibition de la progression de cellules de lymphome humain *in vitro*, ainsi que dans un modèle *in vivo* de xéno greffe de cellules pancréatiques. L'inhibition de la croissance est obtenue en combinaison avec un inhibiteur de la synthèse du NAD<sup>+</sup>, le FK866 (Le et al., 2010).

L'acide benzoïque 3-((3-carbamoyl-7-(3,5-diméthylisoxazol-4-yl)-6-méthoxyquinolin-4-yl) amino) (**AB3**) est un inhibiteur de la LDH-A, qui conduit à inhiber la production de lactate

dans de nombreuses lignées de carcinome hépatocellulaire et de cancer du sein. Il permet aussi une activité plus marquée du cycle de Krebs et le blocage de la glycolyse. De plus, il favorise l'activité de la PKM2 et déclenche l'apoptose dans les lignées de carcinome hépatocellulaire (Billiard et al., 2013).

La **galloflavine**, un autre inhibiteur de la LDH, inhibe la croissance cellulaire dans des lignées de cancer de l'endomètre (*via* des mécanismes de stress cellulaire, d'apoptose...) (Han et al., 2015).

Ces phénomènes ont été retrouvés avec l'utilisation d'**oxamate** (pouvant occuper le site actif de la LDH à la place du pyruvate) dans des lignées de cellules cancéreuses de l'estomac (Liu et al., 2015a), qui s'avère également avoir une toxicité beaucoup plus réduite sur les cellules normales (Yang et al., 2014). L'utilisation d'oxamate en association avec le trastuzumab inhibe la croissance tumorale dans un modèle de xénogreffe de cancer du sein (Zhao et al., 2011a). De plus, l'équipe de Seth et al. travaillant sur des cellules de cancer du poumon déficientes en LDH-A, a montré que l'inhibition de cette enzyme sensibilise les cellules au paclitaxel (Seth et al., 2011). Ces résultats sont en accord avec les travaux de Zhou et al., qui montrent que l'utilisation de l'oxamate, en association avec le paclitaxel, déclenchent l'apoptose dans des lignées cellulaires de cancer du sein résistantes au paclitaxel (Zhou et al., 2010).

Les inhibiteurs de la LDH-A peuvent également avoir un effet sur les cellules souches dérivées de glioblastome. Les inhibiteurs **NHI-1** et **NHI-2** bloquent la formation de ces cellules souches et déclenchent une différenciation cellulaire et un phénomène d'apoptose (Daniele et al., 2015). Réduire l'activité de la LDH-A augmente également le pool d'H<sup>+</sup> intracellulaire et contribue à l'acidification du milieu intracellulaire.

## 2. Limiter l'import de lactate *via* l'inhibition des MCT-1

L'inhibiteur historique des MCT-1 est le  $\alpha$ -cyano-4-hydroxycinnamate (**CHC**). Il présente des effets antitumoraux seul ou en association avec de la radiothérapie dans des modèles souris. L'inhibition des MCT1 engendre en effet un shift du métabolisme des cellules tumorales utilisant le lactate pour les processus oxydatif vers un métabolisme glycolytique. Cela prive les cellules hypoxiques glycolytiques avoisinantes de leur unique substrat, et réduit donc la progression tumorale. Les cellules restantes seraient sensibles à la radiothérapie (Sonveaux et al., 2008). Un effet antiangiogénique est également à noter (Sonveaux et al., 2012).

Le **7ACC** (7-aminocarboxycoumarins) est un nouveau composé inhibant l'import de lactate dans la cellule mais pas son export (Draoui et al., 2014). Cela permet de cibler les cellules utilisant le lactate comme carburant (cellules cancéreuses oxydatives). Le 7ACC retarde la croissance de lignées cellulaires de cancer du col de l'utérus, de cancer colorectal et de cancer du sein. Contrairement au CHC, le 7ACC n'empêche pas l'entrée du 3-BP dans les cellules grâce à MCT1 (Draoui et al., 2014).

L'utilisation de l'inhibiteur **AZD3965** dans un modèle *in vitro* et *in vivo* de cancer du poumon montre l'efficacité de la molécule à réduire la croissance tumorale dans un milieu hypoxique (Polański et al., 2014).

Dans un modèle d'ostéosarcome, il semble que la diminution de l'expression de MCT1 limite la dissémination métastatique et favorise l'action de l'adriamycine (Zhao et al., 2014).

### 3. Accentuer l'acidification intracellulaire via les inhibiteurs des molécules gérant les efflux de protons

#### *i. Les inhibiteurs des pompes à protons (IPP), régulant la V-ATPase*

L'**oméprazole (OMP)** est un inhibiteur des pompes à protons H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> (gastriques) dont l'activation, comme celle des autres IPP, nécessite un environnement acide, permettant de cibler partiellement les cellules tumorales.

Les IPP permettraient d'agir sur la fonction de régulation de la V-ATPase en limitant le flux lysosomal (De Milito et al., 2010). L'**esoméprazole** est l'isomère-S de l'oméprazole. Son action limitant la prolifération cellulaire dans un modèle *in vitro* et *in vivo* de mélanome métastasé montre des résultats prometteurs (De Milito et al., 2010). Il permet également d'intervenir sur le flux lysosomal lors du processus d'autophagie et de diminuer la signalisation de mTOR (Marino et al., 2010).

Le traitement préalable de lignées cellulaires de mélanome, d'adénocarcinome et de lymphome à l'oméprazole, au pantoprazole et au lansoprazole (différents IPP) permet de sensibiliser les cellules aux agents de chimiothérapie (cisplatine, 5-FU, et vinblastine). Ceci est associé à l'inhibition de l'activité de la V-ATPase (augmentation du pH extracellulaire et du pH à l'intérieur des lysosomes). Dans un modèle de xénogreffe de mélanome, l'utilisation d'oméprazole en amont permet de sensibiliser la tumeur au cisplatine (Luciani et al., 2004). Cet effet de sensibilisation à la chimiothérapie est retrouvé dans des lignées cellulaires *in vitro* de carcinome de l'ovaire et dans un modèle *in vivo* avec le paclitaxel (Lee et al., 2015).

Une autre équipe montre l'effet de sensibilisation des IPP à la chimiothérapie avec l'étude *in vitro* d'une lignée de leucémie lymphoblastique aigue B. Les cellules sont plus sensibles à la vinblastine lorsqu'elles sont traitées préalablement avec de l'oméprazole. De plus, l'oméprazole seul induit une inhibition de la prolifération cellulaire de manière dose dépendante et temps dépendant (*via* une altération lysosomale et une acidification du cytosol). Ces résultats se retrouvent *in vivo* dans un modèle de souris (De Milito et al., 2007). De nombreuses études, répertoriées dans la revue de Spugnini et al. (2015), soulignent l'importance thérapeutique de l'oméprazole en cancérologie.

Les mêmes propriétés ont été retrouvées avec l'utilisation d'un autre IPP, le **lansoprazole (LSP)**. Ce dernier sensibilise *in vitro* et *in vivo* des cellules de mélanome métastatique au paclitaxel (Azzarito et al., 2015) et permettrait d'utiliser des doses beaucoup

moins toxiques de chimiothérapie. Il potentialise également l'action de la doxorubicine dans de nombreux modèles de tumeurs solides (Yu et al., 2015).

## *ii. Les inhibiteurs de l'échangeur $\text{Na}^+/\text{H}^+$ (NHE-1)*

L'échangeur  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  NHE-1 est connu pour augmenter le pH intracellulaire (Reshkin et al., 2000). L'**amiloride**, un inhibiteur de cet échangeur, induit un phénomène d'apoptose dans des lignées cellulaires de cancer de l'œsophage *via* une diminution, entre autre, de la production de VEGF. Dans des lignées cellulaires d'ostéosarcome canin, l'amiloride montre un effet toxique dose dépendant envers les cellules cancéreuses (Walsh et al., 2015). *In vivo*, dans des modèles de rats, l'amiloride montre un effet antimétastatique (Ja et al., 1988).

De nouveaux inhibiteurs comme le **cariporide** se développent (Harguindey et al., 2013). Leur diversité est détaillée dans la revue de Masereel et al., 2003. On peut citer par exemple le **Composé 9t** (3-méthyl-4-fluoro analogue de 5-aryl-4-(4-(5-méthyl-14-imidazole-4-yl) pipéridine-1-yl) pyrimidine), qui est extrêmement sélectif, ou encore le **Phx-3**.

Développer des inhibiteurs de NHE-1 présente également un intérêt en association avec une chimiothérapie. Des lignées cellulaires de cancer du sein déficientes en NHE-1 montrent par exemple une réponse beaucoup plus importante au paclitaxel (Amith et al., 2015). L'amiloride permet également de sensibiliser les cellules à la doxorubicine et au cisplatine (Walsh et al., 2015).

## *iii. Les inhibiteurs des anhydrases carboniques (CA) IX et XII*

La CAIX, par sa distribution au niveau des tumeurs hypoxiques sans équivalent actif dans les tissus normaux, est une cible de choix en thérapeutique. Le développement d'anticorps se liant à son domaine extracellulaire empêche la cellule cancéreuse de s'adapter à son environnement hypoxique. L'exemple de l'**anticorps monoclonal VII/20** est développé dans un modèle de souris (xénogreffe de carcinome colorectal) (Zatovicova et al., 2010).

L'utilisation d'un autre inhibiteur des CA, l'**indisulam** (E7070), en association avec le cisplatine, l'oxaliplatine et le 5-FU dans un modèle *in vitro* et *in vivo* de cancer du poumon montre des résultats intéressants (Ozawa et al., 2004). Une liste plus exhaustive des inhibiteurs spécifiques des isoformes tumorales qui se développent est présentée dans la revue de Spugnini et al., 2015.



## I. Conclusion partielle

La diversité et la complémentarité des voies métaboliques du glucose et de la glutamine exposées précédemment, ainsi que les voies de gestion des efflux de protons, expliquent le grand nombre de molécules envisageables pour cibler les cellules cancéreuses. La coopération métabolique pouvant s'établir entre les cellules cancéreuses (métabolisme glycolytique / métabolisme oxydatif) permet de comprendre les limites de certains inhibiteurs de la glycolyse et d'apprécier l'intérêt particulier des molécules ciblant l'équilibre acido-basique de la cellule. N'ont pas été abordées les nombreuses molécules en développement permettant de cibler le métabolisme mitochondrial en lui-même (complexes enzymatiques des phosphorylations oxydatives, enzymes du cycle de Krebs, machine apoptotique, canaux membranaires comme le VDAC...) en raison de leur accès difficile en clinique vétérinaire. Les revues de Pathania et al. (2009), Weinberg et Chandel (2015), Caino et Altieri (2016) s'y intéressent plus particulièrement. Il faut néanmoins souligner l'inhibition du complexe I de la chaîne de transports d'électrons par la metformine.

Si certains articles soulignent les limites de l'efficacité des molécules ciblant la glycolyse (comme le 2-DG par exemple), il ressort néanmoins que l'ensemble des molécules détaillées, si elles ne montrent pas une efficacité quand elles sont utilisées seules, peuvent agir en synergie soit entre elles (différents mécanismes d'action), soit avec des molécules de chimiothérapie conventionnelle. Leur rôle de sensibilisation à la radiothérapie est également fondamental. Une comparaison de différents agents ciblant le métabolisme du glucose a été effectuée sur des modèles *in vitro* de cancers du sein et de cancers de l'ovaire, montrant leur efficacité dans des conditions normoxiques selon les associations (Xintaropoulou et al., 2015). Le tableau bilan suivant permet d'apprécier la diversité des molécules existantes et leurs différents atouts.

Dans la suite de notre étude, nous focaliserons notre attention sur les molécules qui ont déjà pu être utilisées en clinique en médecine humaine.

Tableau 3 : Tableau bilan des molécules ciblant le métabolisme de la cellule cancéreuse

Mécanisme d'action	Molécule	In vitro	In vivo	Action avec la chimiothérapie	Action avec la radiothérapie	Source
<b>Cibler l'entrée du glucose par les GLUT</b>						
<b>Inhibition GLUT</b>	<b>Phlorétine</b>	Cancer du foie Cancer du poumon		Cancer de la vessie : <i>daunorubicine</i>		Cao et al., 2007 Wu et al., 2009 Min et al., 2015
	<b>Fasentin</b>					Wood et al., 2008
	<b>Silybine</b>	Carcinome des cellules basales		Carcinome du poumon : <i>étoposide – doxorubicine</i> Carcinome hépatocellulaire : <i>géfitinib, sorafénib</i>	Cancer de la prostate	Zhan et al., 2011 Tilley et al., 2016 Sadava et Kane., 2013 Nambiar et al., 2015 Gu et al., 2015
	<b>WZB-27, 115, 117</b>	Cancer du poumon				Liu et al., 2010 et 2012 Shibuya et al., 2015
	<b>Polyphénols</b>					Martel et al., 2016
<b>Internalisation GLUT</b>	<b>Imatinib</b>	Leucémie myéloïde chronique				Barnes et al., 2005
<b>Cibler la glycolyse</b>						
<b>Inhibition HK</b>	<b>2-DG</b>	Différentes lignées	Différents modèles	Cancer du poumon - Ostéosarcome : <i>adriamycine, paclitaxel</i> Cancer du sein : <i>cisplatine</i>		Zhang et al., 2006 Maschek et al., 2004 Zhao et al., 2011 Sullivan et al., 2014a
	<b>3-BP</b>	Cancer du poumon Carcinome hépatocellulaire	Cancer de l'estomac Cancer du sein Carcinome hépatocellulaire	Cancer du sein : <i>tamoxifène, daunorubicine</i> Gliome : <i>témolozomide</i>	Gliome	Xu et al., 2005 Zhang et al., 2012 Xian et al., 2015 Attia et al., 2015 Liu et al., 2015b Wicks et al., 2015 Ko et al., 2004

	<b>Méthyljasmonate</b>	Myélome multiple		Cancer de l'utérus : <i>cisplatine</i>	Cancer de l'utérus	Pathania et al., 2009 Klippel et al., 2012 Milrot et al., 2013
	<b>LND</b>	Différentes lignées (dont foie)	Différents modèles	Cancer du sein : <i>cisplatine</i> , <i>doxorubicine</i>		Floridi et al., 1981 Li et al., 2002 Pelicano et al., 2006 Nath et al., 2015
<b>Inhibition GAPDH</b>	<b>3-BP</b>	Oui				Ganapathy-Kanniappan et al., 2009
	<b>Iodoacétate</b>	Oui				Fahim et al., 2003
<b>Inhibition PFK</b>	<b>Citrate</b>	Carcinome gastrique		Mésothéliome : <i>cisplatine</i>		Lu et al., 2011 Zhang et al., 2009
<b>Inhibition PFKFB3</b>	<b>3-PO</b>	Différentes lignées	Cancer du sein			Clem et al., 2008
<b>Inhibition PKM2</b>	<b>TT-232</b>	Différentes lignées	Différents modèles			Szokolóczi et al., 2005
	<b>Shikonine</b>	Différentes lignées	Différents modèles	Cancer du sein : <i>paclitaxel</i>		Li et al., 2014b
	<b>Alkannine</b>	Gliome				Gao et al., 2015
	<b>siARN</b>	Différentes lignées	Différents modèles			Goldberg et Sharp, 2012
<b>Activation PKM2</b>	<b>PA-12</b>	Cancer du poumon				Kim et al., 2015
<b>Cibler la voie des pentoses phosphates</b>						
<b>Inhibition TKTL</b>	<b>Oxythiamine</b>	Différentes lignées	Différents modèles			Xu et al., 2016
<b>Inhibition G6PD</b>	<b>6-AN</b>	Différentes lignées			Gliome, carcinome épidermoïde ( <i>in vitro</i> )	Varshney et al., 2005
	<b>Imatinib</b>	Leucémie				Pelicano et al., 2006
<b>Cibler la glutaminolyse</b>						
	<b>BPTES</b>	Différentes lignées				Robinson et al., 2007

<b>Inhibition glutaminase</b>	<b>Composé 968</b>	Cancer du sein Lymphome B		Cancer du poumon : <i>erlotinib</i>		Wang et al., 2010 Xie et al., 2016
	<b>Composé 839</b>	Cancer du sein		Cancer du sein : <i>paclitaxel</i>		Gross et al., 2014
	<b>DON</b>	Cancer métastatique				Shelton et al. 2010
<b>Inhibition glutamate déshydrogénase</b>	<b>siARN</b>	Glioblastome				Yang et al., 2009
	<b>R162</b>	Cancer du poumon Cancer du sein				Jin et al., 2015
<b>Inhibition Alanine transaminase</b>	<b>L-cycloserine</b>					Beuster et al., 2011
<b>Inhibition Aspartate transaminase</b>	<b>Amino Oxyacetate</b>					Thornburg et al., 2008
<b>Cibler HIF-1</b>						
<b>Cibler l'ARNm de HIF-1-<math>\alpha</math> et sa transcription</b>	<b>Irinotecan</b>			Cancer du pancréas : <i>axitinib</i>		Canu et al., 2011
	<b>SN-38</b>	Cancer du poumon				Kamiyama et al., 2005 Maurya et al., 2011
	<b>EZN-2968</b>	Cancer de la prostate Glioblastome	Cancer de la prostate			Greenberger et al., 2008
	<b>EZN-2208</b>	Lymphome non Hodgkinien Gliome				Sapra et al., 2009, 2011
<b>Inhibition des modifications post-transcriptionnelles et la traduction protéique de HIF-1-<math>\alpha</math></b>	<b>EF24</b>	Cancer du sein et de la prostate				Thomas et al., 2008
	<b>Digoxine</b>	Cancer de la prostate	Lymphome			Platz et al., 2011 Zhang et al., 2008
	<b>Topotecan</b>	Cancer du sein		Cancer du sein : <i>pazopanib</i>		Di Desidero et al., 2015
<b>Inhibition des versions protéiques</b>	<b>PX-478</b>	Cancer du côlon				Welsh et al., 2004
	<b>siAR</b>	Mélanome malin				Chen et al., 2016

<b>de HIF-1-<math>\alpha</math> et HIF-1</b>						
<b>Cibler la voie AMPK – m TOR</b>						
<b>Activation AMPK</b>	<b>Metformine</b>	Cancer de l’ovaire Carcinome adrénocortical	Cancer du pancréas Cancer de la vessie Carcinome adrénocortical	Cancer de l’ovaire : <i>paclitaxel</i> Cancer du pancréas : <i>gemcitabine</i> Différentes lignées : <i>5-FU</i> Cancer de la vessie : <i>cisplatine</i> Cellules souches : <i>doxorubicine</i>		Lengyel et al., 2015 Shi et al., 2016 Harada et al., 2016 Wang et Wu, 2015 Barbieri et al., 2015 Poli et al., 2016
<b>Inhibition mTOR</b>	<b>Sirolimus</b>	Cancer de la prostate		Cancer de la prostate : <i>cisplatine</i>		Imrali et al., 2016
	<b>Palomid 529 (entre autres)</b>	Cancer du sein (déficient en Brca 1)				Xiang et al., 2011
<b>Cibler la formation d’acétyl-CoA</b>						
<b>Inhibition PDH</b>	<b>DCA</b>	Poumon, glioblastome, Sein Prostate, Endomètre, Pédiatrique, Colorectal Myélome multiple		Cancer du poumon : <i>paclitaxel</i> Myélome multiple : <i>bortézomib</i>	Cancer de la prostate	Bonnet et al., 2007 Duan et al., 2013 Cao et al., 2008 Wong et al., 2008 Heshe et al., 2011 Madhok et al., 2010 Lin et al., 2014a Sanchez et al., 2013 Zhou et al., 2015
		Tumeur mammaire (humaine et canine)				Dagli et al., 2017
	<b>ALA</b>	Cancer du sein Cancer du côlon		Cancer du poumon : <i>cisplatine</i>		Na et al., 2009 Puchsaka et al., 2016 U Wenzel et Nickel., 2005

<b>Inhibition ACLY</b>	<b>HCA</b>	Cancer du poumon, de la vessie, mélanome		Cellules leucémiques : <i>daunorubicine</i>		Zhu et al., 2015 Schwartz et al., 2010
	<b>SB-204990</b>	Différentes lignées	Cancer du pancréas			Hatzivassiliou et al., 2005
	<b>siARN</b>	Cancer du poumon				Migita et al., 2008
<b>Cibler l'équilibre acido-basique</b>						
<b>Inhibition LDH</b>	<b>FX11</b>	Lymphome	Cancer du pancréas			Le et al., 2010
	<b>AB3</b>	Carcinome hépatocellulaire Cancer du sein				Billiard et al., 2013
	<b>Galloflavine</b>	Cancer de l'endomètre				Han et al., 2015
	<b>Oxamate</b>	Cancer de l'estomac		Cancer du sein : <i>trastuzumab</i> , <i>paclitaxel</i>		Liu et al., 2015a Zhao et al., 2011a Zhou et al., 2010
	<b>NHI-1, NHI-2</b>	Cellules souches glioblastome				Daniele et al., 2015
<b>Inhibition MCT-1</b>	<b>CHC</b>	Oui			Oui	Sonveaux et al., 2008
	<b>7ACC</b>	Différentes lignées				Draoui et al., 2014
	<b>AZD3965</b>	Cancer du poumon				Polanski et al., 2014
<b>Inhibition des pompes à protons</b>	<b>Oméprazole</b>	Leucémie		Mélanome, adénocarcinome, lymphome : <i>cisplatine</i> , <i>5-FU</i> , <i>vinblastine</i> Leucémie : <i>vinblastine</i> Carcinome de l'ovaire : <i>paclitaxel</i>		Luciani et al., 2004 Lee et al., 2015 De Milito et al., 2007 Spugnini et al., 2015
	<b>Esoméprazole</b>	Mélanome métastatique				De Milito et al., 2010
	<b>Lansoprazole</b>	Mélanome métastatique		Mélanome, adénocarcinome, lymphome : <i>Cisplatine</i> , <i>5-FU</i> <i>Vinblastine</i>		Azzarito et al., 2015 Yu et al., 2015

				Mélanome métastatique : <i>Paclitaxel</i> Tumeurs solides : <i>doxorubicine</i>		
<b>Inhibition NHE-1</b>	<b>Amiloride</b>	Cancer de l'œsophage Ostéosarcome canin	Cancer métastatique	Ostéosarcome canin : <i>doxorubicine, cisplatine</i>		Walsh et al., 2015 Harguindey et al., 2013
	<b>Cariporide</b>					Masereel et al., 2003
	<b>Composé 9t</b>					
	<b>Phx-3</b>					
<b>Inhibition CAIX</b>	<b>Anticorps VII/20</b>		Carcinome colorectal			Zatovicova et al., 2010 Spugnini et al., 2015
	<b>Indisulam</b>	Cancer du poumon		Cancer du poumo : <i>cisplatine, oxaliplatine, 5-FU</i>		Ozawa et al., 2004





**Partie 2 : Utilisation clinique des molécules ciblant le  
métabolisme énergétique modifié des cellules  
tumoraux**



# **I. Préalable à l'étude**

Nous avons vu l'ampleur de la diversité des molécules ciblant les différentes voies du métabolisme (du glucose, de la glutamine) et l'équilibre acido-basique de la cellule cancéreuse. Ciblons maintenant notre étude sur celles qui tout d'abord ont déjà été utilisées en pratique et qui seraient ensuite facilement utilisables et abordables financièrement en médecine vétérinaire.

## **A. Contexte en médecine humaine**

### **1. Méthodologie**

Les essais cliniques et les recherches en médecine humaine concernant les molécules décrites précédemment connaissent un essor impressionnant. Pour les molécules abordables en clinique, les différents aboutissements cliniques sont synthétisés dans le tableau suivant (Tableau 4). La méthode de recherche utilisée est la suivante :

- Synthèse des essais cliniques mentionnés dans les articles de recherche fondamentale exposés précédemment,
- Recherche complémentaire sur PubMed avec les mots clefs « nom de la molécule » AND « cancer » AND « clinical »,
- Recherche complémentaire dans la base de données des études cliniques en médecine humaine (ClinicalTrials.gov) avec les mots clefs « nom de la molécule » AND « cancer ». Pour avoir une idée du développement de ces molécules dans les essais cliniques, le nombre issu de la recherche sur ce site est indiqué dans la dernière colonne (« nombre »). Si la molécule a deux noms, le nombre d'essais cliniques le plus important trouvé avec un des noms est indiqué.

La plupart des essais cliniques sont encore en phase de recrutement et ne sont donc pas détaillés. Ceux dont les résultats sont disponibles et pertinents sont (dans la mesure du possible) présentés. La phase de l'essai clinique est précisée (détail des différentes phases d'essai clinique en annexe 3). Ce tableau ne peut malheureusement être exhaustif, des essais cliniques ont pu être manqués lors de la recherche, de nouveaux résultats ont pu être publiés entre la date de la recherche (septembre 2016) et la soutenance de ce travail (12 juillet 2017).

## 2. Résultats

Tableau 4 : Etat des lieux de l'utilisation de molécules ciblant le métabolisme tumoral modifié en médecine humaine.

SID = Semel In Die (une fois par jour), BID = Bis in Die (deux fois par jour), PO = Per Os (par voie orale)

Molécule	Doses	Type de cancer	Traitement associé	Phase	Effets	Source	Nombre
<b><i>Cibler l'entrée du glucose par les GLUT</i></b>							
<b>Silybine</b>	13 g PO par jour en 3 doses pour 2-10 semaines	Cancer de la prostate avancé	Aucun	Phase II	Bien toléré hormis une toxicité hépatique asymptomatique (Hyperbilirubinémie)	Flaig et al., 2007 NCT00487721	4
	2, 4, 8, à 12 g par jour- doses divisées pour 12 semaines	Carcinome hépatocellulaire	Aucun	Phase I	Mort des patients – arrêt essai	Siegel et al., 2014	
	1 g PO BID pendant 4 semaines	Cancer du poumon	Erlotinib	Phase II	Arrêt étude	NCT02146118	
<b>Polyphénols</b>	6 tasses thé vert pendant 2-8 semaines	Cancer de la prostate	Comparaison thé noir	Phase II	Marqueur PSA diminué avec thé vert	Henning et al., 2015 NCT00685516	37
<b><i>Cibler la glycolyse</i></b>							
<b>2-DG</b>	250 mg/kg	Glioblastome multiforme	Radiothérapie 5 Gy/fraction/semaine	Phase II	Pas de toxicité aiguë Nausées – vomissements Toxicité cerveau à plus fortes doses	Singh et al., 2005 Dwarakanath et al., 2009 Tennant et al., 2010	124
	Doses croissantes 45 mg/kg retenu	Cancer de la prostate	Aucun	Phase I	Toxicité de grade 3 pour 60 mg/kg	Stein et al., 2010	
	30 mg/kg PO pendant 2 semaines (cycle de 3 semaines)	Cancer de la prostate	Aucun	Phase II	Arrêt de l'étude Pas assez de données	NCT00633087	
	7 jours par semaine une semaine sur deux 63 mg/kg dose retenue	Cancers du poumon, de sein, pancréatique, de la tête et du cou, de l'estomac	Docetaxel	Phase I	Effets secondaires : fatigue, nausées, suées	NCT00096707 Raez et al., 2013	

<b>3-BP</b>	250 mg BID	Carcinome hépatocellulaire	Aucun	Rapport de cas	Bonne tolérance Survie augmentée	Ko et al., 2012	0
	1-2,2 mg/kg IV	Mélanome métastatique stade IV	Paracétamol 3 g/jour	Rapport de cas	Pas de cytotoxicité, bonne tolérance Effet anticancéreux faible	El Sayed et al., 2014	
<b>LND</b>	450 mg PO en deux ou trois prises	Glioblastome	Aucun	Phase II	Pas d'effets thérapeutiques Hépatotoxicité	Porporato et al., 2011	0
		Hyperplasie prostatique bénigne	Aucun	Phase II/III			
		Cancer du sein	Epirubicine Cisplatine	Phase II	Potentialise (pas toujours significativement) l'effet de la chimiothérapie myalgies 60% – douleurs testiculaires 27% - ototoxicité 10% - effets gastro-intestinaux (nausées, vomissements) 24% - asthénie 16% - hyperesthésie, arthralgie, anorexie, photophobie <10%	Cervantes-Madrid et al., 2015 Berruti et al., 2002	
		Cancer du poumon	Epirubicine Cisplatine	Phase II			
		Cancer de l'ovaire	Epirubicine Cisplatine Paclitaxel	Phase II			
		Cancer tête et cou	Radiothérapie	Phase II			
		Cancer du sein métastatique	Différentes chimiothérapies	Phase III			
Cancer du poumon	Différentes chimiothérapies	Phase III					
<b>Citrate</b>	10 g TID	Mésothéliome péritonéal	Oméprazole	Rapport de cas			Bonne tolérance, excellente évolution
	2 g TID au maximum	Cancer de la thyroïde	Oméprazole / sucralfate	Rapport de cas	Bonne tolérance, diminution calcitonine	Bucay, 2009	
<b>TT-232 = TLN-232 = CAP-232</b>	Perfusion continue 0,48 mg/kg par jour pendant 21 jours + 7 jours repos	Carcinome rénal métastase - mélanome	Aucun	Phase II	Arrêt (raisons légales) Bonne tolérance jusqu'alors (exposée en 2008 au congrès European Society for Medical Oncology)	NCT00422786	2
	Perfusion continue pendant 21 jours + 7 jours repos	Mélanome métastatique récidivant	Aucun	Phase II	Perte de licence	NCT00735332	

<i>Cibler la voie des pentoses phosphates</i>							
<b>6-AN</b>	0,2 mg/kg pendant 4 semaines	Différents cancers avancés	Aucun	Phase I/II	Neurotoxique à fortes doses Pas de propriétés anticancéreuses à dose tolérée	Herter et al., 1961	0
<i>Cibler la glutaminolyse</i>							
<b>DON</b>	160 mg/m <sup>2</sup> (pendant 3 j tous les 21 j) 300 mg/m <sup>2</sup> (pendant 5 j toutes les 2 semaines) 50 mg/m <sup>2</sup> (pendant 5 j tous les 28 j)	Cancers du poumon et colorectal	Aucun	Phase II	Peu d'efficacité seul Nausées Vomissements	Cervantes-Madrid et al., 2015	0
	50 mg/m <sup>2</sup> /jours pendant 5 jours toutes les 4 semaines	Sarcomes - mésothéliomes	Aucun	Phase II	Pas d'efficacité sur la survie. Tolérance moyenne	Earhart et al., 1990	
<b>CB 839</b>	Doses croissantes, cycle de 21 jours	Tumeurs solides	Paclitaxel Everolimus Erlotinib Docetaxel Cabozantinib	Phase I	En phase de recrutement	NCT02071862	8
	Doses croissantes, cycle de 21 ou 28 jours	Tumeurs hématologiques	Dexaméthasone e Pomalidomide	Phase I	Résultats non encore publiés	NCT02071888	
	Doses croissantes, cycle de 21 ou 28 jours	Leucémies	Azacitidine	Phase I	Résultats non encore publiés	NCT02071927	
<i>Cibler HIF-1</i>							
<b>Irinotecan SN-38</b>	IV tous les 28 jours	Cancer colorectal métastatique	Cetuximab Bevacizumab	Phase III	Efficacité plus importante avec le cetuximab que le bevacizumab	NCT00499369	1129
<b>EZN-2968</b>	Perfusion de 2 h toutes les semaines pendant 3 semaines (cycle de 6 semaines)	Différents types	Aucun	Phase I	Résultats non postés	NCT00466583	3
<b>EZN-2208</b>	12-30 mg/m <sup>2</sup> IV 1 h tous les 21 j	Neuroblastome	Filgrastime	Phase I	24 mg/m <sup>2</sup> dose retenue	Norris et al., 2014	6

	9 mg/m <sup>2</sup> les jours 1, 8, et 15 tous les 28 j	Cancer colorectal	Aucun	Phase II	Bonne tolérance Même survie que le groupe qui avait du cetuximab en plus	Garrett et al., 2013	
<b>Digoxine</b>	Tous les jours deux semaines avant la chirurgie	Cancer du sein	Aucun	Phase II	En cours	NCT01763931	18
	Non communiqué	Cancer du poumon	Erlotinib	Phase II	Réponse partielle pour 1 patient	NCT00281021	
	125-250 µg PO pendant 28 j	Cancer de la prostate	Aucun	Phase II	Bonne tolérance, pas de différence significative avec contrôles historiques	Lin et al., 2014b NCT01162135	
<b>Topotecan</b>	IV – dose non connue	Différents types	Acétylcystéine	Phase II	En cours	NCT02569957	349
	1 mg/m <sup>2</sup> pendant 3 j	Cancer du poumon	Cisplatine Radiothérapie	Phase II	Neutropénie Survie augmentée	Kubo et al., 2016	
	4,0 mg/m <sup>2</sup> /jour les jours 1-8 et 15 d'un cycle de 28 j OU 1,25 mg/m <sup>2</sup> /jour pendant 5 jours tous les 21 j	Différents types - gynécologiques	Aucun	Phase II	Toxicité moins importante pour traitement (J1, J8, J15) mais aussi moins d'efficacité	Herzog et al., 2011 NCT00114166	
<b>PX-478</b>	PO, doses croissantes 5 premiers jours cycle de 21 jours	Tumeurs solides avancées Lymphome	Aucun	Phase I	En cours	NCT0022652	1
<b><i>Cibler la voie AMPK – m TOR</i></b>							
<b>Metformine</b>	250 mg PO SID	Polypes colorectaux	Aucun	Phase III	Moins de polypes - prévention	Higurashi et al., 2016 UMIN000006254	283
	500 mg TID	Cancer du sein HER2+	Chimiothérapie néo adjuvante Trastuzumab	Phase II	Non retrouvés	Martin-Castillo et al., 2010	
	1500 mg	Cancer du sein métastatique	Exemestane Rosiglitazone	Phase I	Bonne tolérance 30% maladie stable	Esteva et al., 2012	
	850 mg PO BID (5 ans)	Cancer du sein (stade précoce)	Aucun	Phase III	En cours - Amélioration poids / insuline / glucose	Goodwin et al., 2015 NCT01101438	
	500 mg pendant 1 semaine puis 1 g pendant 1 semaine	Cancer du sein avant opération	Aucun	Essai pré opératoire	Bonne tolérance – étude biomarqueurs	Hadad et al., 2015	

	2 g PO répartis en (500 mg matin – 1g midi -500 mg soir)	Cancer du poumon	Radiothérapie	Phase II	En cours	NCT02285855	
	500 mg	Cancers stades avancés	Temsirolimus	Phase I	En cours	NCT01529593	
	850 mg PO BID	Cancer du sein avant chirurgie	Aucun	Phase I	Trop peu de patients	NCT00984490	
<b>Everolimus RAD 001</b>	10 mg PO SID	Carcinome des cellules rénales métastatiques	Aucun	Phase III	Survie augmentée Fatigue, développement d'infections	Motzer et al., 2010 NCT00410124	1090
	5 mg PO SID	Cancer de la prostate métastatique	Carboplatine Prednisone	Phase II	Bonne tolérance Peu d'efficacité clinique	Vaishampayan et al., 2015 NCT01051570	
	5-10 mg/jour pendant 21 jours	Cancer du poumon	Aucun	Phase I	Bonne tolérance	NCT00401778	
	10 mg PO SID	Cancer du poumon avancé	Octreotide	Phase III	Plus d'efficacité que l'octreotide seul Bonne tolérance	Fazio et al., 2013 NCT00412061	
	10 mg PO SID	Tumeurs neuroendocrines	Aucun	Phase III	Amélioration de la survie Stomatite	Lombard-Bohas et al., 2015 NCT00510068	
	5 mg PO SID	Cancer du sein triple négatif métastatique	Carboplatine	Phase II	Toxicité hématologique Bonne efficacité	Singh et al., 2014 NCT01127763	
	10 mg PO SID	Cancer du sein HER2+	Paclitaxel Trastuzumab	Phase III	Amélioration survie Stomatite, diarrhée, alopecie	Hurvitz et al., 2015 NCT01007942	
	5 mg PO SID		Vinorelbine Trastuzumab	Phase III	Amélioration de la survie Leucopénie - neutropénie	André et al., 2014 NCT01007942	
	10 mg PO SID	Cancer du sein HER2-	Tamoxifène	Phase II	Amélioration de la survie	Bachelot et al., 2012	
	10 mg PO SID		Exemestane	Phase III	Amélioration de la survie	Baselga et al., 2012 NCT00863655	
<b>Temsirolimus CCI-779</b>	30 mg par jour 5 j toutes les 2 semaines		Letrozole	Phase III	Pas d'amélioration de la survie	Wolff et al., 2013 NCT00083993	
	Pas de données trouvées	Carcinome des cellules rénales métastatiques	Aucun	Phase III	Survie augmentée par rapport au traitement conventionnel	Ravaud et al., 2010	



	IV jour 1, 8, 15, 22	Cancer de l'ovaire et autres	Aucun	Phase II	Bonne tolérance Efficacité modeste	Behbakht et al., 2011 NCT00429793	
<b><i>Cibler la formation d'acétyl-CoA</i></b>							
<b>DCA</b>	4 mg/kg BID 30 j 12,5 mg/kg BID 30 j	Cancer cerveau Glioblastome	Aucun	Phase I	Bonne tolérance	Dunbar et al., 2014 NCT01111097	9
	6,25 mg/kg PO BID	Cancer poumon non à petites cellules stade III Cancer du sein métastatique stade IV	Cisplatine Docetaxel	Phase II	Mort des patients – arrêt étude (embolie pulmonaire)	Garon et al., 2014 NCT01029925	
	Non communiqué	Glioblastome	Aucun	Rapport de cas	Neuropathie réversible, dose dépendante	Michelakis et al., 2010	
	12,5 mg/kg PO BID	Carcinome épidermoïde tête/cou	Cisplatine 100 mg/m <sup>2</sup> (jour 1, 22, et 43) associé à de la radiothérapie (70 Gy/35 /7)	Phase II	Effets secondaires similaires avec ou sans DCA	NCT01386632 Powell et al., 2015	
<b>ALA</b>	IV 600 mg IV	Différents types	HCA 500 mg TID Naltrexone 5 mg	Rapport de cas	Progression tumorale stable ou lente Nausées, vomissements	Schwartz et al., 2014	21
	PO 1200 mg	Adénocarcinome pancréatique métastatique	HCA 720 mg Gemcitabine Celecoxib	Rapport de cas	Amélioration de la survie	Guais et al., 2012	
<b>Analogue ALA = CPI-613</b>	Perfusion 2940 mg/m <sup>2</sup> pendant 2 h	Tumeurs hématologiques réfractaires ou récidivantes	Aucun	Phase I	Bonne tolérance à cette dose	Lee et al., 2013	
	Perfusion 500-1000 mg/m <sup>2</sup> pendant 2 h, 2 fois par semaine pendant 3 semaines, une semaine de repos	Tumeur pancréatique neuroendocrinienne stade IV	Aucun	Rapport de cas	2 effets secondaires de grade I Progression-Free-Survival > 15 mois	Lee et al., 2011	

	Perfusion 1150-2300 mg/m <sup>2</sup> pendant 2 h, 2 fois par semaine pendant 3 semaines, une semaine de repos	Carcinome hépatocellulaire stade IV	Aucun	Rapport de cas	Nausées, fatigue Stabilisation de la maladie en progression	Senzer et al., 2012	
<b>HCA</b>	500 mg TID	Différents types	ALA 600 mg IV Naltrexone 5 mg	Rapport de cas	Progression tumorale stable ou lente Nausées, vomissements	Schwartz et al., 2014	0
	720 mg	Adénocarcinome pancréatique métastatique	ALA 1200 mg Gemcitabine Celecoxib	Rapport de cas	Amélioration de la survie	Guais et al., 2012	
<b><i>Cibler l'équilibre acido-basique</i></b>							
<b>AT 101 R-(-)-gossypol</b>	40 mg BID	Différents types de cancer	Paclitaxel Carboplatine	Phase I	Bonne tolérance	Zhao et al., 2011b	23
	40 mg BID pendant 3 jours puis 20 mg pendant 14 jours	Carcinome épidermoïde tête cou	Docetaxel	Phase II	Pas d'amélioration de la survie	NCT01285635 Sacco et al., 2014	
	20 mg BID –21 jours sur 28 jours	Glioblastome multiforme	Aucun	Phase II	Bonne tolérance Stabilisation tumorale	Fiveash et al., 2009	
	20 mg BID – cycle de 21 ou 28 jours	Adénocarcinome prostatique	Thérapie hormonale	Phase II	Pas encore de résultats	NCT00666666	
	21 jours / 28	Cancer du poumon	Aucun	Phase II	Bonne tolérance	NCT00773955	
	30 mg BID les 3 premiers jours d'un cycle de 21 jours		Docetaxel	Phase II randomisé	Résultats non encore publiés	NCT00544960	
<b>AZD3965</b>	Doses croissantes – cycle de 28 jours	Tumeurs solides Cancers de la prostate, de l'estomac Lymphome B	Aucun	Phase I	Pas encore de résultats	NCT01791595	1
<b>Oméprazole</b>	40 mg PO	Cancer tête cou	Carboplatine + 5-FU, paclitaxel, ou pemetrexed	Phase II	Essai arrêté car manque de fonds	NCT02013453	48
	Non communiqué	Tumeurs solides	Patupilone	Phase I	Résultats non encore publiés	NCT00420615	

<b>Esoméprazole</b>	60 mg SID – 120 mg SID	Ostéosarcome « chondroblastique »	Méthotrexate- cisplatine- adriamycine	Phase II - prospective	Amélioration réponse chimiothérapie dans 60% (contre 25%)	Ferrari et al., 2013	28
	160-200 mg PO SID 3jours par semaine pendant 66 semaines	Cancer du sein métastatique	Cisplatine Docetaxel	Phase II	Améliore la réponse à la chimiothérapie	Wang et al., 2015 NCT01069081	
<b>Indisulam (E7070)</b>	Non communiqué	Cancer du sein métastatique	Capecitabine	Phase II	Pas d'efficacité	NCT00165880	11
	Toutes les 3 semaines par perfusion soit 700 mg/m <sup>2</sup> à J1 ou 130 mg/m <sup>2</sup> les 5 premiers jours	Cancer du poumon avancé	Aucun	Phase II	Pas d'efficacité	Talbot et al., 2007	
	700 mg/m <sup>2</sup> pendant 1 h toutes les 3 semaines	Mélanome métastatique	Aucun	Phase II	Bonne tolérance Pas d'efficacité	Smyth et al., 2005 NCT00014625	
	40-160 mg/m <sup>2</sup> toutes les semaines		Aucun	Rapport de cas	Bonne tolérance Efficacité, régression tumorale	Baur et al., 2007	
	Doses croissantes	Tumeurs solides	Carboplatine	Phase I	Dose recommandée 500 mg/m <sup>2</sup>	Dittrich et al., 2007	

### 3. Discussion et conclusions

#### *i. Bilan*

De nombreuses molécules ont déjà pu être testées d'un point de vue clinique en médecine humaine. Certaines ne montrent pas d'efficacité, ou seulement en association avec de la chimiothérapie ou d'autres molécules. L'association avec un autre traitement n'a pas toujours été investiguée. Néanmoins, certaines semblent prometteuses, que ce soit par leur efficacité seule (freine le développement tumoral), ou par leur rôle de sensibilisation à la chimiothérapie ou la radiothérapie. Cela permet d'améliorer l'efficacité dans le cas de tumeurs chimiorésistantes, mais également d'envisager une diminution des doses de chimiothérapie utilisées et donc de diminuer la toxicité associée. L'aspect économique de ces traitements est également intéressant, car certaines molécules sont très abordables. Si cela n'intéresse pas forcément les laboratoires qui pourraient développer des essais cliniques, c'est un avantage non négligeable pour les propriétaires de nos animaux de compagnie.

#### *ii. Critères de sélection*

Au vu des résultats précédents, nous ne retiendrons pour la suite de notre étude dans le monde vétérinaire que les molécules ayant montré des résultats prometteurs en clinique humaine (efficacité seule ou en association avec la chimiothérapie), et qui sont accessibles facilement (commande en pharmacie, sur internet...).

Tout d'abord, les molécules ayant été exclues sont celles :

- Qui ont perdu leur licence
- Qui présentent trop de toxicité ou une absence de propriétés anticancéreuses à la dose tolérée
- Dont l'essai clinique est en cours ou dont les résultats n'ont pas encore été publiés

Le critère financier a ensuite été pris en compte pour effectuer une sélection plus poussée. Les inhibiteurs de mTOR ont ainsi été écartés.

Au bilan, les molécules suivantes ont été retenues: les inhibiteurs de pompe à protons (IPP), l'hydroxycitrate (HCA), l'acide alpha lipoïque (ALA), le dichloroacétate (DCA), la metformine (MET), le citrate (CIT), le 3-BP, le 2-DG.

#### *iii. Détails des doses utilisées et des effets indésirables connus des molécules retenues en médecine humaine*

La tolérance à ces molécules a pu être déterminée suite aux études de phase I. Par ailleurs, certaines sont déjà utilisées couramment pour une autre utilisation (MET dans le traitement du diabète de type II, DCA dans le traitement de l'acidose lactique congénitale).

- **Les IPP** sont des molécules utilisées depuis longtemps pour diminuer l'acidité gastrique (traitement des ulcères duodénaux ou gastriques, traitement de l'œsophagite par reflux, traitement du syndrome de Zollinger-Ellison). Des doses allant jusque 2 mg/kg sont très bien tolérées (deux prises par jour). Les résumés des caractéristiques du produit des différents médicaments décrivent les effets secondaires éventuels. Les effets indésirables les plus fréquents (1-10% des patients) sont les céphalées, les douleurs abdominales, la constipation, la diarrhée, les flatulences et les nausées/vomissements.
- Les effets secondaires de la **MET** sont principalement des nausées, de l'anorexie et des ballonnements, et plus rarement des vomissements et des épisodes de diarrhée. Ces effets secondaires peuvent être limités en fractionnant les prises et en augmentant les doses progressivement (une dose de 1200 mg/jour est généralement bien tolérée selon le résumé des caractéristiques du produit). Les biguanides sont réputés pour augmenter le risque de développer une acidose lactique sévère. Cependant, l'utilisation de la metformine n'est pas associée à un risque plus élevé de développer une acidose lactique par rapport aux autres traitements antihyperglycémiant (Salpeter et al., 2010).
- **L'HCA** ne présente pas d'effets secondaires particuliers, et ce jusqu'à des doses de 2800 mg/jour chez l'humain (Stohs et al., 2009). Il est utilisé dans des programmes de régime pour favoriser la perte de poids. Une éventuelle toxicité envers la spermatogenèse est mise en évidence chez le rat de laboratoire, mais n'est pas retrouvée chez l'humain (Chuah et al., 2012). Quelques rapports de cas rapportent une progression tumorale lente en association avec l'ALA (Schwartz et al., 2014).
- **L'ALA** est utilisé en cas de polyneuropathie diabétique. Des essais cliniques (ALADIN) montrent que la dose de 600 mg trois fois par jour est très bien tolérée (Ruhnau et al., 1999 ; Ziegler et al., 1999), et ce pendant plusieurs mois.
- **Le DCA** est utilisé depuis longtemps en médecine humaine (en particulier pour le traitement de l'acidose lactique congénitale). L'étude de Stacpoole et al. montre que la dose de 12,5 mg/kg deux fois par jour pendant 6 mois est bien tolérée (Stacpoole et al., 2006). La principale toxicité sur le long terme est neurologique avec l'apparition d'une neuropathie périphérique, généralement réversible à l'arrêt du traitement. Une attention particulière devra donc être portée à l'examen neurologique afin de diminuer les doses si nécessaire.
- **Le CIT** est utilisé en médecine humaine pour favoriser l'alcalinisation des urines dans le traitement et la prévention des lithiases uriques et cystiniques. Il est utilisé comme alcalinisant au cours des traitements uricosuriques et uricolytiques. Son intérêt en prévention de l'acidose métabolique est également démontré. La dose de 4-8 g par jour est bien tolérée chez l'adulte, avec comme effet secondaire principal des épisodes de diarrhées. Aucun cas de surdosage n'a été observé. Chez un patient, la dose de 10 g trois fois par jour n'a pas révélé de toxicité (Bucay, 2011).
- **Le 3-BP** a été utilisé sur quelques cas sporadiques avec des résultats très prometteurs (Ko et al., 2012). La dose de 1-2,2 mg/kg IV ne semble pas présenter de toxicité (El Sayed et al., 2014), sans que l'efficacité ne soit démontrée.
- **Le 2-DG** a été utilisé dans plusieurs essais cliniques. La dose de 45 mg/kg semble celle adéquate afin de limiter les effets secondaires (fatigue, altération du goût) (Stein et al., 2010).

Les molécules retenues possèdent un potentiel indéniable *in vitro* et sur des modèles *in vivo* (Partie 1, II). Leur utilisation chez l'homme dans le cadre d'essais cliniques existe depuis plusieurs années (Partie 2, I. A. 2). Etudions maintenant l'utilisation des molécules retenues à ce niveau dans notre travail en médecine vétérinaire.

## B. Contexte en médecine vétérinaire

### 1. Méthodologie

La recherche effectuée sur PubMed a été effectuée comme suit, à partir des molécules retenues précédemment : « nom de la molécule » AND « dog » AND « cat ». La recherche a été effectuée en septembre 2016 et actualisée en avril 2017. Les articles retenus ont ensuite été sélectionnés selon leur pertinence. Peu d'études étant disponibles avec ce moyen de recherche, une recherche complémentaire a été effectuée avec la base de données des études en santé animale de l'Association Américaine de Médecine Vétérinaire (American Veterinary Medical Association, AAHSD Study Search) afin d'avoir une idée du nombre d'essais cliniques en cours dans les universités vétérinaires nord-américaines.

Les portails de toxicologie de l'Institut National de l'Environnement Industriel et des RISques (« INERIS - Portail Substances Chimiques, accueil »), de l'Organisation de Coopération et de Développement Economiques (Organization for Economic Co-operation and Development « eChemPortal - Substance Search »), ainsi que le portail Toxnet (US National Library of Medicine « Toxicology data Network ») ont également été utilisés afin d'obtenir des données sur les animaux de laboratoire pour les cas où les études cliniques manquaient.

### 2. Résultats

Peu d'études sont malheureusement disponibles aujourd'hui ; nous proposons cependant un bilan de ce qui existe en médecine vétérinaire.

#### *i. L'utilisation des inhibiteurs de pompes à protons (IPP)*

Une première étude concerne des animaux dont la progression tumorale continue malgré la chimiothérapie mise en place (Spugnini et al., 2011). Elle consiste à évaluer la capacité du lansoprazole à lever la chimiorésistance (cancers réfractaires, tumeurs qui ne répondent plus au traitement conventionnel). Le lansoprazole est un inhibiteur de pompes à protons activé dans un environnement acide. Il est habituellement utilisé à une faible dose de 1 mg/kg pour le traitement de l'acidité gastrique ou à plus forte dose (2 mg/kg) pour le traitement des gastrinomes.

Le groupe témoin est constitué de 17 animaux (10 chiens et 7 chats) pour lesquels les propriétaires ont choisi de poursuivre la chimiothérapie (sans IPP). Les animaux de l'étude ont reçu du lansoprazole en plus de la chimiothérapie. 27 chiens et 7 chats de propriétaires ont été enrôlés dans l'étude entre septembre 2009 et avril 2011.

Le protocole consiste en une dose d'attaque de lansoprazole 5 mg/kg SID pendant 3 jours consécutifs en même temps que l'administration de la chimiothérapie (pour diminuer le pH dans l'environnement tumoral et favoriser la réponse à la chimiothérapie), puis d'une dose à 1 mg/kg SID (pour éviter une hyperacidité gastrique rebond) pendant 4 jours.

La réponse au traitement et la toxicité sont évaluées systématiquement, ainsi qu'un examen physique et une mesure de la tumeur. Des radiographies thoraciques et une échographie abdominale sont réalisées tous les 2 mois pour documenter l'extension de la tumeur. Le traitement était poursuivi pendant 6 mois après rémission complète dans le cas des patients atteints de lymphome, et pendant 3 mois après rémission pour les tumeurs solides.

Les résultats sont globalement satisfaisants : le lansoprazole est en majorité bien toléré (4 chiens ont eu des effets secondaires gastro-intestinaux avec vomissements, diarrhées et flatulences), et 67,6% des animaux ont montré une réponse partielle ou complète (contre 17% de réponse partielle uniquement pour le groupe témoin). Les animaux de l'étude n'ayant pas répondu ont néanmoins montré une amélioration significative de leur qualité de vie (réduction de la douleur et amélioration de leur statut de Karnofski). Ces résultats suggèrent que le lansoprazole contribue à lever la chimiorésistance, tout en améliorant la qualité de vie et en étant généralement bien toléré.

Le même groupe s'est ensuite intéressé à l'efficacité du lansoprazole non pas sur des tumeurs chimiorésistantes, mais en association avec la chimiothérapie métronomique (Spugnini et al., 2014). Le groupe témoin est un groupe historique constitué de 10 animaux uniquement traités avec de la chimiothérapie métronomique.

24 animaux (22 chiens et 2 chats) sont enrôlés dans l'étude (stade avancé, métastases ou chimiorésistance de cancers solides). En plus de leur chimiothérapie métronomique (cyclophosphamide 12,5 mg/m<sup>2</sup> et piroxicam 0,3 mg/kg) est ajouté du lansoprazole à haute dose (5 mg/kg pendant 3 jours puis 1 mg/kg pendant 4 jours) et du bicarbonate de sodium dans l'eau de boisson (le pH de l'eau de boisson doit être de 9). Pour les chats, la chimiothérapie métronomique utilisée est le chlorambucil (4 mg/m<sup>2</sup>) et le piroxicam (0,3 mg/kg).

La réponse au traitement et la toxicité sont évalués systématiquement, ainsi qu'un examen physique et une mesure de la tumeur. Des radiographies thoraciques et une échographie abdominale sont réalisées tous les 2 mois pour documenter l'extension de la tumeur. Des analyses biochimiques et de numération formule sont effectuées toutes les 2 semaines. Le traitement était poursuivi pendant 1 an après rémission complète. Selon les cas, l'arrêt de la chimiothérapie métronomique était effectué plus tôt.

Les résultats sont globalement satisfaisants, seulement 2 chiens présentent des effets secondaires gastro-intestinaux (vomissements, diarrhée). 75% des patients présentent une réponse partielle ou complète, contre 40% pour le groupe témoin. La médiane de survie est de 34 semaines pour le groupe de l'étude contre 2 semaines pour le contrôle (p = 0,042).

L'ajout de lansoprazole et l'alcalinisation de l'eau de boisson sont globalement bien tolérés, ce qui permet de potentialiser la réponse à la chimiothérapie métronomique et la qualité de vie des patients. Ceci est valable pour tous les types de cancers enrôlés dans l'étude.

<p><u>LSP</u> : dose habituelle à 1-2 mg/kg PO, bien toléré à 5 mg/kg PO pendant 3 jours puis 1 mg/kg pendant 4 jours (chat, chien)</p>
---

## ii. *La metformine (MET)*

L'inhibition de la glycogénolyse a été démontrée sur des chiens à la dose de 0,15 mg/kg/min IV (Chu et al., 2000). Un essai clinique est actuellement en cours à l'université du Saskatchewan concernant l'utilisation de la MET sur les lymphomes chimiorésistants de chien. Les chiens sont testés pour l'expression du gène MDR (Multi Drug Resistant). Il apparaît que dans une grande majorité de cas (résultats non publiés, communication personnelle 2016), l'utilisation de la MET réverserait l'expression du gène MDR.

Chez le chat diabétique, un essai clinique utilisant la MET à une dose de 50 mg/chat toutes les 12 heures a été réalisé. Les effets secondaires étaient de la léthargie, de l'inappétence, des vomissements et une perte de poids (Nelson et al., 2004).

Chez le chat, une étude pilote prospective a été réalisée avec un traitement à base de MET per os administrée pendant 14 jours chez 9 chats ayant des tumeurs spontanées mesurables, sans groupe témoin (Wypij, 2015). Les paramètres suivis étaient une numération formule, un examen biochimique, la mesure du lactate, du pH, de l'IGF-1 (Insulin-Like Growth Factor 1) et du VEGF. L'utilisation de la dose maximale tolérée de 10 mg/kg BID présente des effets secondaires modérés (anorexie, vomissements, perte de poids). Une diminution de l'hématocrite est également à noter. 6/9 chats ont développé une hyperlactatémie et 1 chat a développé une acidose lactique non symptomatique. En termes de réponse clinique, seuls 2 chats (sur 9) ont eu une modeste réduction de la taille de la tumeur.

<u>MET</u> : 10 mg/kg PO BID avec effets secondaires modérés (chat, chien)
--

## iii. *L'hydroxycitrate (HCA)*

L'hydroxycitrate a été testé chez le chien dans le cadre du traitement de l'arthrose en combinaison avec du collagène et du chrome. 1800 mg/chien de HCA ont été utilisés sans que des effets secondaires ne soient mis en évidence. Les contrôles biochimiques des paramètres du foie et des reins étaient également inchangés (Peal et al., 2007).

Chez le rat, la LD<sub>50</sub> a été évaluée à plus de 5000 mg/kg (Ranjith et al., 2011).

Chez le chat, une étude a été menée afin d'évaluer le rôle du *Garcinia cambogia* sur la perte de poids. Les chats ont reçu 45 mg/kg de ce fruit sans présenter d'effets secondaires notables (Leray et al., 2006). Il est à noter que le fruit contient entre 10 et 30% de HCA, qui peut être facilement extrait (Semwal et al., 2015).

<u>HCA</u> : jusqu'à 50 mg/kg PO bien toléré chez le chien, 5-10 mg/kg PO bien toléré chez le chat
--



**iv. L'acide alpha lipoïque (ALA)**

L'étude chez le rat suggère que la dose sans effet nocif observable (NOAEL) est de 60 mg/kg/jour (Cremer et al., 2006). La mortalité était même diminuée par rapport au groupe contrôle.

La dose létale médiane de l'ALA chez le chien est de 400-500 mg/kg (Packer et al., 1995). D'après une étude de cas, l'ALA est toxique à des doses de 190 mg/kg et 210 mg/kg avec des symptômes d'hypoglycémie, d'insuffisance hépatique, d'insuffisance rénale (Loftin et Herold, 2009). Une étude sur 30 chiens montre que l'utilisation d'une dose de 50 mg/kg PO au long cours (12 mois) présente une bonne tolérance (Paetau-Robinson et al., 2013). Les effets secondaires étaient d'ordre gastro-intestinaux (vomissements), et il n'y avait pas de répercussions sur le bilan hémato-biochimique.

Chez le chat, la dose maximale tolérée est beaucoup plus faible (30 mg/kg) (Hill et al., 2004).

<u>ALA</u> : chien : 50 mg/kg PO SID ; chat : 30 mg/kg PO SID maximum
---

**v. Le dichloroacétate (DCA)**

L'étude de Maisenbacher et al. s'intéresse à la pharmacocinétique du DCA administré par voie orale (6,25 mg/kg BID pendant 4 semaines) chez le chien (Maisenbacher et al., 2013). Il apparaît que la clairance du DCA est plutôt lente en comparaison au rat et à l'humain. Le détail des effets secondaires éventuels n'est malheureusement pas disponible.

L'utilisation du DCA a tout d'abord été étudiée chez le chien diabétique, en comparaison au chien sain. Dans cette étude, chez le chien sain, l'administration chronique du DCA (150 mg/kg SID pendant 7 jours) entraîne une diminution de la glycémie, des concentrations en lactate, pyruvate et OAA (Ribes et al., 1979). Le détail des effets secondaires éventuels n'est malheureusement pas disponible.

Si aucune étude précise n'est disponible, un site internet permet de calculer la dose théorique nécessaire à son chien (PetDCA). Aucun recul n'existe concernant les effets secondaires. La dose de 10 mg/kg par jour (5 mg/kg PO BID) est recommandée par ce site.

D'autres études sont nécessaires pour préciser la dose adéquate et les effets secondaires associés.

<u>DCA</u> : suggestion de 5 mg/kg PO BID (chien), pas de données chez le chat
--

**vi. Le citrate (CIT)**

L'acide citrique présente une toxicité faible. La dose sans effet observé est de 1200 mg/kg/jour chez le rat, 1500 mg/kg/jour chez le lapin et 1400 mg/kg/jour chez le chien.

Aucun effet secondaire n'a été rapporté par la prise orale chez 3 chiens de 1380 mg/kg d'acide citrique par jour pendant 120 jours. Les résultats sont similaires chez le lapin.

<u>CIT</u> : 1400 mg/kg/jour PO chez le chien, pas de données chez le chat
--

**vii. Le 3-Bromopyruvate (3-BP)**

L'étude de Vali et al. démontre l'avantage en termes de survie de l'utilisation du 3-BP sur des rats avec des doses de 1,75 mM en intra-artériel (Vali et al., 2008). On note une absence de toxicité pour cette dose (Kunjithapatham et al., 2013). Sur des lapins, l'utilisation d'une dose de 25 mM en intra-artériel entraîne de nombreux effets secondaires (toxicité hépatique et gastro-intestinale, dose dépendante et pouvant entraîner la mort) (Chang et al., 2007).

L'étude de Godin et al. s'intéresse à l'administration chez le chien du 3-BP en voie intra-artérielle, pendant 5 jours consécutifs, et ce à deux semaines d'intervalle (Godin et al., 2015). Les groupes recevant la dose de 7,5 mg/kg sont morts. La dose sans effet observé est inférieure à 0,25 mg/kg/dose. Cette dose se retrouve lors de l'injection intrapéritonéale (2 heures par jour pendant 21 jours consécutifs). La plus haute dose non sévèrement toxique, en intra-artériel comme en intrapéritonéal, est inférieure à 2,5 mg/kg/dose.

Les données concernant l'administration par voie orale de cette molécule sont malheureusement marginales (une étude sur le rat, dont les résultats ne sont pas disponibles).

En comparaison avec les données de médecine humaine, et en tenant compte de la toxicité observée lors de l'utilisation en intra-artériel, la dose de 1 mg/kg en intraveineux semble être un point de départ intéressant. Des études de toxicité en IV et par voie orale chez l'animal de compagnie sont nécessaires.

<u>3-BP</u> : pas d'informations sur l'utilisation per os (chien, chat)
---

**viii. Le 2-désoxyglucose (2-DG)**

Le 2-DG a été testé en administration par voie orale sur des rats, sans effets secondaires notables (Lane et al., 1998). Aucun effet secondaire n'a été rapporté lors de l'utilisation IV de 2-DG chez le chien (0,5 mL/min sur 15 minutes chez des chiens entre 15 et 25 kg) (Frohman et Nagai, 1976). Aucune information récente n'a pu être trouvée sur l'utilisation du 2-DG sur les chiens et les chats.

<u>2-DG</u> : pas d'informations sur l'utilisation per os (chien, chat)
---

### 3. Conclusions et discussion

Dans les 8 molécules retenues à l'issue du raisonnement de la partie 2, I.A, il s'avère qu'il n'y a aujourd'hui pas d'indication pour l'utilisation raisonnée du 3-bromopyruvate et du 2-désoxyglucose en thérapie par voie orale chez l'animal de compagnie.

Pour les 6 autres molécules, il n'existe des données scientifiques dans le cadre du traitement du cancer que dans le cas des IPP (Spugnini et al., 2014). Néanmoins, l'utilisation de ces molécules pour d'autres usages (IPP, MET, HCA) ou les études toxicologiques (CIT, ALA) sur les modèles animaux permettent de déterminer, dans la plupart des cas, les doses sans effets nocifs observables (voir encadrés). Ces informations, entre autres, ont permis l'utilisation de manière empirique de ces molécules en clinique vétérinaire (cf. Partie 2, II).

Il n'existe aujourd'hui pas d'essai clinique publié en médecine vétérinaire concernant l'utilisation de ces molécules. Il en existe néanmoins pour les inhibiteurs de mTOR, notamment la rapamycine, que nous avons exclue pour des raisons financières. De nombreux essais cliniques en cours aux États-Unis concernent la rapamycine. Le détail de ces essais peut être trouvé dans la base de données des études en santé animale de l'Association Américaine de Médecine Vétérinaire (AAHSD000069 - AHSD000087 - AAHSD000185 - AAHSD000136 – AAHSD000258 - COTC021- AAHSD000120 - AAHSD000086 - AAHSD004140 - AAHSD000114 - AAHSD000076 - AAHSD000079).

Voyons maintenant comment les 6 molécules retenues jusqu'alors ont pu être utilisées de manière empirique en clinique, et les apports de cette utilisation pour ce travail.

## II. Rapport de cas cliniques

Cette partie consiste en une étude descriptive de plusieurs patients (chats et chiens) cancéreux chez lesquels une thérapie à base de molécules ciblant le métabolisme de la cellule cancéreuse a été mise en place. Cette thérapie sera appelée **thérapie métabolique** (TM), au sens de thérapie à base d'une association de molécules ciblant le métabolisme spécifique de la cellule cancéreuse. Cette étude préliminaire a motivé la réalisation de cette thèse d'exercice et vise à évaluer la tolérance des animaux aux molécules sélectionnées précédemment.

### A. Matériels et méthodes

#### 1. Critères d'inclusion des patients

Tous les cas ont été suivis au Centre Hospitalier Vétérinaire (CHV) Saint-Martin par le docteur Stéphane Doliger entre 2013 et 2015. Les protocoles ont été instaurés soit à l'issue d'une rémission obtenue à l'aide d'une chimiothérapie classique, soit en parallèle d'un traitement conventionnel (chimiothérapie MTD (Maximum Tolerated Dose), métronomique ou anti-inflammatoires anti COX-2) lorsque les clients étaient intéressés. Le traitement était également proposé en thérapie palliative en cas de tumeur non opérable ou lorsque les propriétaires étaient demandeurs d'une alternative aux thérapies conventionnelles.

Les animaux ayant reçu une prescription de thérapie métabolique (TM) ont été recherchés dans le logiciel du CHV en juillet 2015, à l'aide du mot clef « métabolique », et des noms des molécules utilisées. Suite à l'étude de ces premiers dossiers collectés, n'ont été conservés que les animaux ayant suivi un minimum de 2 semaines de traitement à base d'une molécule ciblant le métabolisme et dont la date de décès était connue. 2 semaines de traitement sont en effet nécessaires pour évaluer la réponse au traitement, observer les effets secondaires éventuels et ainsi déterminer la tolérance.

#### 2. Molécules utilisées et critères de la prescription

##### *i. Molécules utilisées et association*

Les thérapies mises en place varient selon les animaux. Ont été utilisés de l'acide lipoïque (ALA), du dichloroacétate (DCA), de l'hydroxycitrate (HCA), de la metformine (MET), de l'oméprazole (OMP), du lansoprazole (LSP), et du citrate (CIT). Les molécules utilisées sont celles pour lesquelles une dose utilisable per os chez l'animal de compagnie a pu être déterminée d'après les publications.

Selon les patients, les molécules ont été associées de différentes manières. Les critères de décision de la prescription étaient aléatoires. Il n'y a pas eu de rationnel pour l'association

d'une molécule particulière à un cancer spécifique, et les combinaisons ont été faites de façon empirique. Les éléments suivants entraient également en ligne de compte :

- la disponibilité des molécules (difficulté de reconditionnement) au moment de la première consultation,
- la toxicité d'une molécule pour une espèce. Par exemple, chez le chat, l'acide lipoïque n'a pas été utilisé, même à faible dose, en raison du risque d'hépatotoxicité (Hill et al., 2004). Par conséquent pour cette espèce, seuls des protocoles DCA/HCA, ou DCA sont retrouvés.

L'article de Schwartz et al. a inspiré le protocole ALA /DCA /HCA (Schwartz et al., 2014), et les recherches de Spugnini et al. détaillées précédemment (Partie II, I.B.2.i) ont conduit à utiliser ce qu'on appellera le protocole de Spugnini SPU (chimiothérapie métronomique + LSP (5 mg/kg PO pendant 3 jours puis 1 mg/kg PO pendant 4 jours) + bicarbonate de sodium (pH eau = 9)). Les différents articles exposés précédemment justifient de l'utilisation de la MET. Les différentes associations retenues ont été les suivantes :

- ALA / DCA / HCA,
- ALA / HCA / MET +/- OMP ou LSP ou SPU,
- DCA +/- HCA,
- SPU = Protocole de Spugnini (LSP dose pulsée + bicarbonate) ou protocole modifié (OMP dose pulsée + bicarbonate),
- Le citrate a été utilisé sur un cas unique.

## ii. Doses utilisées et voie d'administration

Tableau 5 : Doses et voies d'administration.

	ALA	DCA	HCA	MET	OMP	CIT
Chat (CT)	10 mg/kg/j max	10-20 mg/kg BID	15-20 mg/kg BID			
Chien (CN)	10-20 mg/kg BID	10-20 mg/kg BID	10-20 mg/kg BID à TID	10-20 mg/kg BID	1 mg/kg SID	330 mg/kg TID
Remarques	Hépatotoxicité CT	Commencer à ½ dose SID		Commencer à ½ dose SID	Ou LSP	1 cas
<b>Tous sont à administrer avec un repas (par voie orale)</b>						

## iii. Provenance des molécules

Certaines molécules sont disponibles en commande sur internet, comme l'ALA et le HCA (cf. site internet Betterlife). Pour se procurer du DCA, il faut commander la matière première chimique et ensuite reconditionner en gélules selon la posologie souhaitée pour l'animal. Les autres molécules sont disponibles en pharmacie humaine, comme le CIT (FONCITRIL ND), l'OMP (MOPRAL ND), le LSP (LANZOR ND) et la MET (GLUCOPHAGE ND).

## B. Résultats

### 1. Patients inclus

44 animaux ont été identifiés lors de la première sélection, puis suite à l'étude de ces premiers dossiers collectés, n'ont été conservés que les animaux ayant suivi un minimum de 2 semaines de traitement. L'étude se base finalement sur un total de 18 cas (4 chats et 14 chiens).

Le tableau suivant (Tableau 6) présente l'ensemble des animaux étudiés, afin d'apprécier la diversité de leurs races, de leurs maladies, de leurs âges. Les hémopathies malignes (bleu) sont séparées des tumeurs solides (vert).

6 patients présentent une hémopathie maligne :

- 5 chiens (4 lymphomes B et un lymphome non investigué) entre 3 et 11 ans, dont une femelle stérilisée et 4 mâles entiers,
- 1 chat (lymphome digestif) mâle castré de 16 ans.

12 patients présentent une tumeur solide :

- 9 chiens (9 tumeurs différentes) entre 8 et 17 ans, dont 4 femelles stérilisées, 4 mâles entiers et un mâle castré,
- 3 chats (3 tumeurs différentes) entre 11 et 15 ans, dont 1 femelle entière et 2 mâles castrés.

Pour certains patients, un bilan d'extension complet a été réalisé, ainsi qu'un suivi de la réponse au traitement par des bilans sanguins et des scanners de contrôle. Les données ne sont malheureusement pas disponibles pour l'ensemble des cas.

Tableau 6 : Hémopathies malignes et tumeurs solides - Diversité des cas étudiés, avec précision des traitements antérieurs à l'instauration de la TM.

Rang	Race	Sexe	Age	Tumeur	Précisions	Traitement antérieur
<b>Hémopathies malignes</b>						
CN 2	Labrador	M	11	Lymphome B	Aucune	L-CHOP
CN 3	Labrador	M	8	Lymphome B	Stade IV ( <i>référé</i> )	L-CHOP
CN 6	Bouvier Bernois	M	9	Lymphome B	Stade IV ou V ( <i>référé</i> )	Prednisolone 1 mg/kg L-Asparaginase
CN 7	Golden	M	3	Lymphome multicentrique	Stade III non confirmé ( <i>référé</i> )	L-CHOP
CN 14	Bouvier Bernois	F OV	5	Lymphome B	Stade V ( <i>référé</i> )	L-CHOP (8 séances)
CT 2	Européen	MC	16	Lymphome digestif à petites cellules (bas grade)	Aucune	Prednisolone Chlorambucil Chloraminophène 0,5 mg/kg <i>Nombre de séances inconnu</i>

Rang	Race	Sexe	Age	Tumeur	Précisions	Traitement antérieur
<b>Tumeurs solides</b>						
CN 1	Yorkshire	F OV	12	Nodules fibro-histiocytaires	Métastases hépatiques ( <i>scanner</i> )	Splénectomie
CN 4	American Staffords hire	F OV	8	Carcinome thyroïdien	Métastases pulmonaires ( <i>scanner</i> )	Chirurgie – Carboplatine 300 mg/m <sup>2</sup> x1 séance
CN 5	Berger noir	M	17	Carcinome pulmonaire	Aucune	Antibiothérapie (PO et inhalations)
CN 8	Bouledogue français	MC	9	Carcinome épidermoïde croc mandibulaire droit + hémangiosarcome cœur droit non confirmé	Nodules hépatiques de nature indéterminée + NL rétro-pharyngien médial hypertrophié ( <i>scanner</i> )	Piroxicam 0,3 mg/kg Hémi-mandibulectomie rostrale
CN 9	Setter anglais	F OV	10	Lymphome splénique T + carcinome thyroïdien + adénocarcinome gastrique	Métastases pulmonaires ( <i>scanner</i> )	Splénectomie – doxorubicine 30 mg/m <sup>2</sup> x1 séance
CN 10	Labrador	F OVH	10	Tumeur thyroïdienne + tumeur mammaire	Absence de métastases pulmonaires et abdominales - Métastase probable NL pré scapulaire D ( <i>scanner</i> )	Exérèse tumeur mammaire
CN 11	Berger allemand	M	8	Hémangiosarcome articulaire	Métastases pulmonaires et ganglionnaires ( <i>scanner</i> )	Exérèse hémangiosarcome
CN 12	West Highland	M	11	Adénocarcinome rectal	Métastases pulmonaires ( <i>scanner</i> )	Exérèse chirurgicale
CN 13	Labrador	M	11	Mélanome achromique de la cavité buccale (gencive + palais)	Absence de métastases pulmonaires ( <i>scanner</i> )	Carboplatine 300 mg/m <sup>2</sup> x6 séances Exérèse chirurgicale masse visible
CT 1	Européen	MC	11	Carcinome épidermoïde de la gencive	Absence de métastases pulmonaires ( <i>scanner</i> )	Meloxicam
CT 3	Européen	MC	13	Carcinome épidermoïde maxillaire	Métastases pulmonaires ( <i>scanner</i> )	Aucun
CT 4	Européen	F	15	Récidive fibrosarcome (2 ans après chirurgie)	Métastases pulmonaires ( <i>scanner</i> )	Aucun

L-CHOP= Protocole de chimiothérapie associant différentes molécules : L-Asparaginase - Cyclophosphamide (Endoxan) – Doxorubicine (Hydroxydaunorubicine) - Vincristine (Oncovin) – Prednisolone

M : mâle - MC : mâle castré – F : femelle - F OV : femelle ovariectomisée – F OVH : femelle ovariohystérectomisée

## 2. Suivi clinique, effets secondaires et perception des propriétaires

Le tableau suivant (Tableau 7) présente le suivi clinique, les effets secondaires et la perception du propriétaire suite à l'instauration de la thérapie métabolique (TM), ainsi que la survie globale-totale en semaines (durée entre l'instauration du premier traitement et le décès ou la perte de vue de l'animal), et la survie globale-TM en semaines (durée entre l'instauration du traitement métabolique et le décès ou la perte de vue de l'animal). Le symbole « > » est utilisé si l'animal est toujours vivant. Le traitement instauré est décliné dans les différentes colonnes « chimiothérapie » pour la chimiothérapie MTD ou métronomique, « métabolique » pour les molécules ciblant le métabolisme utilisées, et « AI » pour l'emploi d'anti-inflammatoires. La chronologie de l'instauration de la TM par rapport aux thérapies antérieures et à une éventuelle rémission est précisée, dans la mesure du possible, dans la première colonne. Les doses non indiquées ne sont pas connues.

### *i. Suivi clinique*

Dans la majorité des cas, les animaux présentaient un examen clinique complet sans anomalies, excepté le développement d'un syndrome de Claude Bernard Horner et une dégradation de l'état général pour le CT 3, 5 semaines après la mise en place de la TM. Un bon état général est traduit par « BEG » dans le tableau 7.

Cliniquement, l'évolution tumorale a été suivie par mesure de la tumeur lorsque cela était possible, par exemple par palpation des nœuds lymphatiques dans les cas de lymphome. Les résultats disponibles sont retrouvés dans le tableau 7.

### *ii. Observation des effets secondaires*

De manière générale, le vétérinaire rapporte une très bonne tolérance de la TM chez les chats et les chiens. L'état général des animaux est diminué pour 2 animaux sur 18 (CT 3, CN 1). Le CN 1 a développé des épisodes d'ataxie et d'abattement 1 mois et demi après la mise en place de la TM. Des effets secondaires gastro-intestinaux ont été relevés chez 6 animaux. Une hospitalisation d'une nuit a été nécessaire pour l'un d'entre eux (CN 10).

### *iii. Perception des propriétaires*

- **Confort de vie à la maison** : Concernant les chats, des informations sont disponibles pour 3 chats sur les 4. Ces 3 animaux présentent un bon état général et un bon confort de vie à la maison. Concernant les chiens, des informations sont disponibles pour les 14 animaux étudiés. 11/14 présentent un bon état général et un bon confort de vie à la maison.
- **Effets indésirables** : Concernant les chats, des épisodes de diarrhées, vomissement et dysorexie sont rapportés pour le CT 2. Concernant les chiens, des épisodes de dysorexie



et vomissements sont présents pour 4 chiens, des épisodes de diarrhées chez 2 chiens. 2 animaux apparaissent abattus (dont 1 uniquement par épisodes).

- **Satisfaction des propriétaires** : Ils sont satisfaits du traitement mis en place et rapportent une bonne tolérance au traitement. Aucune plainte ou insatisfaction n'a été rapportée.

#### *iv. Synthèse*

La comparaison des différents animaux permet de conclure que les animaux présentent globalement une bonne tolérance au traitement, avec un bon confort de vie. Les propriétaires sont satisfaits. Les effets secondaires principaux sont d'ordre gastro-intestinal (diarrhée, vomissement, dysorexie) et surviennent dans un tiers des cas (6 animaux/18). Un traitement symptomatique permet de limiter diarrhées et vomissements. Le passage à une ration ménagère permet de stimuler l'appétit de l'animal.

Tableau 7 : Traitements mis en place et suivi clinique

//TM : chimiothérapie réalisée le même jour que le début de la thérapie métabolique - Sx post TM : chimio réalisée x semaines après le début de la thérapie métabolique

	Instauration thérapie métabolique (TM)	Traitements en association			Évolution clinique, observation des effets secondaires, imagerie médicale	Perception du propriétaire	Survie globale (semaines)	
		Métabolique	Chimiothérapie	AI			Totale	TM
<b>Tumeurs solides</b>								
CN 1	3 semaines après la splénectomie	ALA 37,5 mg/kg BID DCA 20 mg/kg BID HCA 20 mg/kg TID	Lomustine 4 mg/kg S6 post TM	Prednisolone //TM	BEG Episodes d'abattement et d'ataxie S6 post TM Scanner de contrôle S6 post TM : nombre de métastases hépatiques plus important	BEG Episodes d'abattement et d'ataxie	17	12,5
CN 4	3 semaines après la 1 <sup>ère</sup> séance de carboplatine	MET – ALA – HCA – LSP	Carboplatine 300 mg/m <sup>2</sup> // TM, S4 post TM, S8 post TM	Non	BEG	BEG	>183	>180
CN 5	5 mois après les premiers symptômes	SPU	Chloraminophène 0,15 mg/kg SID	Piroxicam 0,3 mg/kg //TM	Suivi vétérinaire traitant Scanner de contrôle S8 post TM : lésion stable	Abattu	76	56
CN 8	4 mois après diagnostic et chirurgie	ALA 20 mg/kg TID HCA 20 mg/kg TID MET 20 mg/kg BID OMP 1 mg/kg	Non	Non	BEG, bonne tolérance Echographie abdominale de contrôle S6 post TM : disparition des métastases hépatiques (cytoponctions non diagnostiques)	BEG	50	50
CN 9	2 <sup>ème</sup> séance de chimiothérapie	MET – ALA – HCA	Doxorubicine 30 mg/m <sup>2</sup> // TM, S4 post TM	Non	Diarrhée importante après changement alimentaire	Dysorexie	77	65
CN 10	15 jours après chirurgie et diagnostic	MET 15 mg/kg BID ALA 10 mg/kg BID HCA 30 mg/kg BID SPU	Carboplatine 300 mg/m <sup>2</sup> // TM, S4 post TM Doxorubicine 30 mg/m <sup>2</sup> S2, S10 post TM Chlorambucil 6 mg/m <sup>2</sup> /j S12 post TM	Piroxicam 0,3 mg/kg	BEG Diarrhées et vomissements après séance de chimiothérapie (doxorubicine S2 post TM) – hospitalisation nécessaire	Episodes de diarrhées (lorsque fortes doses de LSP)	> 90	> 88

CN 11	1 mois après la chirurgie	SPU	Chloraminophène 6 mg/m <sup>2</sup> /j Puis alternance une semaine sur deux avec Etoposide 50 mg/m <sup>2</sup> /j S16 post TM	Piroxicam 0,3 mg/kg	BEG, alerte, pas de boiterie Scanner de contrôle S12 post TM : récurrence Apparition d'une boiterie S20 post TM Scanner de contrôle S28 post TM : augmentation du nombre de métastases pulmonaires + Métastase chambre postérieure globe oculaire droit	BEG Apparition d'épisodes de vomissements lors de la récurrence	35	31
CN 12	10 mois après chirurgie	ALA 40 mg/kg SID DCA 14 mg/kg BID HCA 14 mg/kg TID OMP 1 mg/kg SID	Non	Prednisolone 0,7 mg/kg tous les 3 jours	BEG avec épisodes de dysorexie et vomissements	BEG avec épisodes de dysorexie et vomissements	48	8
CN 13	6 semaines après l'exérèse chirurgicale, 20 semaines après la 1 <sup>ère</sup> chimiothérapie	ALA 10 mg/kg BID DCA 10 mg/kg BID HCA 13 mg/kg TID MET 16 mg/kg à la place du DCA (8 mois post TM) CIT 330 mg/kg TID	Carboplatine 300 mg/m <sup>2</sup> S3, S7, S12, S17, S20, S24, S28, S32 post TM	Meloxicam	BEG 1 épisode de prostatite S24 post TM Scanner de contrôle S16 post TM : apparition de métastases pulmonaires Scanner de contrôle S32 post TM : progression du nombre de métastases pulmonaires	BEG	66	46
CT 1	5 mois après le diagnostic	DCA 20 mg/kg BID HCA 20 mg/kg BID (un an après le DCA seul)	Non	Meloxicam (commencé 5 mois avant, poursuivi avec TM)	BEG Régression tumorale partielle S20 post TM (diminution de plus de 50% du volume tumoral) puis stabilité pendant 2 ans	BEG	170	150
CT 3	Pas de traitement antérieur	DCA 10 mg/kg BID HCA 20 mg/kg BID	Carboplatine 10 mg/kg toutes les 4 semaines	Meloxicam 0,1 mg/kg SID // TM	Développement d'un syndrome de Claude Bernard Horner et dégradation de l'état général (abattement, apathie)		7	7
CT 4	Pas de traitement antérieur, 2 mois post diagnostic	DCA 15 mg/kg BID HCA 15 mg/kg BID	Masitinib 10 mg/kg trois fois par semaine S8 post TM après progression tumorale	Non	BEG Tumeur stable (mesures régulières) pendant 2 mois sous TM puis progression	BEG	45	45

Hémopathies malignes								
CN 2	7 mois après le début du L-CHOP, pas de	ALA 20 mg/kg BID HCA 20 mg/kg BID MET 20 mg/kg SID	Chloraminophène 6 mg/m <sup>2</sup> /j (4 mois après le début de la TM)	Prednisolone 0,6 mg/kg un jour sur deux	BEG - Généralisation lymphome, à la palpation (S28 post TM)	BEG	84	53

	rémission obtenue	OMP 1 mg/kg SID		(poursuivie après L-CHOP)	<i>Échographie abdominale</i> de contrôle S28 post TM : Généralisation lymphome			
CN 3	Après 2 ans de rémission obtenue avec le L-CHOP	ALA 9 mg/kg TID HCA 10 mg/kg BID MET 27 mg/kg BID LSP 1 mg/kg SID et 4 mg/kg 3 jours avant chimiothérapie	Vinblastine // TM Lomustine S3 post TM Procarbazine S3 post TM	Non	BEG - Rémission après l'initiation du traitement	BEG	> 208	> 120
CN 6	10 jours après la première injection de L-Asparaginase	MET 13,5 mg/kg ALA – HCA	Vincristine 0,75 mg/m <sup>2</sup> // TM puis S1, S2, S4, S8, S12, S24 post TM Cyclophosphamide 250 mg/m <sup>2</sup> // TM, S4, S8, S12 post TM Lomustine 80 mg/m <sup>2</sup> S6, S16, S24 post TM	Prednisolone 0,5 mg/kg jusqu'à S4 post TM	BEG Rémission complète à S3 post TM Rechute S20 post TM	BEG	28	27
CN 7	Rémission clinique complète après 1 <sup>ère</sup> séance L-CHOP, TM S3 après la dernière chimiothérapie	ALA 25 mg/kg SID DCA 10 mg/kg BID HCA 10 mg/kg TID	Non	Non	BEG Poursuite de la rémission clinique complète Rechute S10 post TM	BEG, bonne tolérance pas de diarrhée ni vomissements	36	12
CN 14	8 mois post diagnostic, en rémission clinique complète, lors de la 9 <sup>ème</sup> séance de chimiothérapie	MET 20 mg/kg BID ALA 10 mg/kg BID HCA 10 mg/kg BID	Vincristine 0,7 mg/m <sup>2</sup> // TM, S2, S6 post TM Cyclophosphamide S2 post TM Lomustine 60 mg/m <sup>2</sup> // TM, S6 post TM	Non	BEG et dysorexie Poursuite de la rémission clinique complète	BEG et dysorexie	52	18
CT 2	1 an et demi après le diagnostic	DCA 13 mg/kg BID	Chloraminophène S2 post TM	Prednisolone 0,5 mg/kg tous les deux jours //TM	BEG <i>Échographie abdominale</i> de contrôle S28 post TM : rémission tumorale apparente	BEG Épisodes de diarrhées, vomissement, dysorexie	165	93

### 3. Examens paracliniques suite à l'instauration du traitement métabolique

#### *i. Imagerie médicale*

Le suivi de la progression tumorale (tumeur primaire ou métastases) par imagerie (radiographie, échographie, scanner) a été réalisé de manière non systématique (4 animaux ont eu des scanners de contrôle, 3 des échographies de contrôle). Le suivi est présenté dans le tableau 7 (colonne « Évolution clinique, observation des effets secondaires, imagerie médicale »).

#### *ii. Bilans sanguins*

Le suivi des numérations et formules sanguines et des analyses biochimiques de base a quant à lui été réalisé de manière beaucoup plus régulière. Le tableau suivant (tableau 8) présente 10 chiens et 3 chats dont le suivi a été régulier. Certains animaux ont été suivis chez leur vétérinaire traitant et les résultats n'ont pas toujours pu être récupérés.

Seules les anomalies sont reportées dans le tableau suivant (les valeurs usuelles peuvent être retrouvées en annexe 4). Lorsqu'elles sont disponibles, les valeurs des paramètres biochimiques et de numération formule du jour de l'instauration de la TM sont reportées (S0). Les différents contrôles (à 2 semaines S2, 4 semaines S4...) sont présentés. L'absence d'anomalie dans les valeurs est représentée par « RAS ». Les cases grisées sont celles où les données ne sont pas disponibles.

Tableau 8 : Suivi des numérations et formules sanguines et des examens biochimiques.

Seules les anomalies sont reportées. RAS = pas d'anomalies ; Hb = Hémoglobine ; Ht = Hématocrite ; BUN = Blood Urea Nitrogen ; ALAT = AlanineAminoTransférase ; PAL = Phosphatase Alcaline ; Créa = Créatinine

	S0	S2	S4	S6	S8	S12	S16	S24
CN 1				BUN = 0,35 g/L ALAT = 675 U/L		Hb = 8,6 g/dL Ht = 25,1 % ALAT = 675 U/L PAL = 974 U/L		
CN 4	Urée = 0,63 g/L ALAT = 155 U/L		Urée = 0,6 g/L ALAT = 159 U/L		Urée = 0,9 g/L ALAT = 220 U/L			
CN 5	ALAT = 279 U/L PAL = 248 U/L		RAS		RAS	RAS à S10		
CN 6	Ht = 33,9 % Hb = 11,7 g/dL Neutrophilie (20,71 x10 <sup>9</sup> /L) avec leucocytose (23,52 x10 <sup>9</sup> /L) associée ALAT = 671 U/L PAL = 771 U/L	ALAT = 233 U/L PAL = 526 U/L	RAS	RAS	Lymphopénie (0,37 x10 <sup>9</sup> /L) avec leucopénie (4,86 x10 <sup>9</sup> /L) associée	RAS	Lymphopénie (0,29 x10 <sup>9</sup> /L) avec leucopénie (4,08 x10 <sup>9</sup> /L) associée	RAS
CN 9	Ht = 33,2% Hb = 11,8 g/dL ALAT = 223 U/L	Ht = 29,8% Hb = 11,0 g/dL	Ht = 32,1% Hb = 11,3 g/dL ALAT = 210 U/L					
CN 10	RAS	RAS	RAS		Ht = 33,5 % Hb = 12,3 g/dL Neutropénie (2,08 x10 <sup>9</sup> /L) avec leucopénie (4,16 x10 <sup>9</sup> /L) associée	Ht = 31,4 % Hb = 11,2 g/dL ALAT = 134 U/L	Ht = 34,9 % Hb = 13,0 g/dL	

					ALAT = 183 U/L			
CN 11	RAS	RAS		RAS	RAS	RAS	RAS à S16 et S20	RAS à S24 et S28
CN 12		PAL = 482 U/L Neutrophilie (23,5 x10 <sup>9</sup> /L) et monocytose (3 x10 <sup>9</sup> /L) avec leucocytose (28,98 x10 <sup>9</sup> /L) associée		PAL = 301 U/L Neutrophilie (21,8 x10 <sup>9</sup> /L) avec leucocytose (21,83 x10 <sup>9</sup> /L) associée				
CN 13	RAS				RAS			RAS <b>S40</b> : Neutrophilie (17,08 x10 <sup>9</sup> /L) avec leucocytose (21,44 x10 <sup>9</sup> /L) associée
CN 14	Hb = 13,0 g/dL		Hb = 12,6 g/dL Créa = 19,6 mg/L ALAT = 505 U/L	Créa = 18,5 mg/L ALAT = 262 U/L	RAS à <b>S10</b>			
CT 1			Neutropénie 1,84 x10 <sup>9</sup> /L sans leucopénie associée			Neutropénie 1,31 x10 <sup>9</sup> /L sans leucopénie associée	RAS	
CT 2	BUN = 0,48 g/L	BUN = 0,42 g/L	BUN = 0,4 g/L		BUN = 0,42 g/L		BUN = 0,38 g/L	RAS à S24, S28, S32
CT 4	Créa = 31 mg/L	Créa = 29 mg/L	Créa = 29 mg/L		Créa = 33 mg/L	Créa = 36 mg/L	Créa = 37 mg/L	Créa = 34 mg/L

En comparant les différences des examens biochimiques et de la numération formule sanguine entre le contrôle sanguin à S0 et les contrôles suivants, il ressort que :

- Aucun bilan sanguin n'a été effectué à S0 chez le CN 1, ce qui rend la comparaison avec les contrôles impossible. Néanmoins, on peut penser que les ALAT augmentées à S6 sont dues au syndrome de Cushing diagnostiqué chez ce patient. Les paramètres hépatiques (PAL, ALAT) extrêmement augmentés peu avant l'euthanasie de l'animal peuvent être mis en relation avec les nombreuses métastases hépatiques visualisées au scanner. L'anémie concomitante est le plus probablement due à l'évolution de la tumeur et non à la TM qui n'avait pas été modifiée depuis S0.
- L'augmentation des paramètres hépatiques (ALAT) du CN 4 est déjà présente à S0 et ne semble donc pas en lien avec la TM. La modification de ce paramètre n'étant pas retrouvée chez les autres animaux, on peut penser qu'il s'agit d'une évolution propre à l'animal, sans lien avec la thérapie instaurée.
- Les modifications à S0 du CN 5 ne se retrouvent pas aux contrôles à S4 et S8.
- Les valeurs des paramètres hépatiques du CN 6 se stabilisent à l'arrêt de la corticothérapie. Les épisodes de lymphopénie se retrouvent par vagues après certaines séances de chimiothérapie.
- Le CN 9 présente des modifications similaires à S0 et aux contrôles suivants. Qu'ils soient dus à l'évolution de la maladie de l'animal ou à la chimiothérapie instaurée, elles n'ont en tout cas pas évolué lors de la mise en place de la TM.
- L'anémie modérée du CN 10 à partir du contrôle à S8 peut s'expliquer par la chimiothérapie comme par la TM ou l'évolution de la maladie. Elle tend à s'améliorer au contrôle à S16 alors que la TM a été maintenue. L'épisode de neutropénie à S8 est résolu au contrôle à S10 sans modification de la TM.
- Les bilans sanguins du CN 11 ne présentent pas d'anomalies.
- L'absence de bilan sanguin avant le début du traitement du CN 12 ne permet pas d'interpréter la leucocytose.
- L'épisode de neutrophilie du CN 13 est associé à un début de nécrose de la tumeur accompagné d'une infection. Il ne semble donc pas en lien avec la TM, maintenue pendant 40 semaines auparavant. Le DCA a été remplacé par la MET en fin de traitement car il semblait fatiguer l'animal d'après la propriétaire. Aucun bilan sanguin n'est disponible après ce changement.
- Les modifications observées chez le CN 14 ne sont pas reliées à une atteinte de l'état général de l'animal et les paramètres sanguins se normalisent à S10.
- Pour le CT 1, les épisodes de neutropénie à S4 et S12 ne sont pas associés à des répercussions sur l'état général de l'animal. La valeur des leucocytes reste dans les valeurs usuelles. 5 mois avant le début du traitement, une numération formule révélait également une neutropénie à  $2,23 \times 10^9/L$ , non expliquée. Ce paramètre se normalise à S16 sans modification du protocole métabolique.
- La mise en place du traitement chez les CT 2 et CT 4 n'est associée à aucune modification des paramètres de biochimie ou de numération formule sanguine par rapport à S0.

La comparaison des différents animaux permet de conclure que ceux-ci présentent globalement une bonne tolérance au traitement, sans changement majeur des paramètres biochimiques et de la numération formule sanguine attribuables à la thérapie métabolique.



## C. Discussion

### 1. Les patients inclus dans l'étude

Les patients inclus dans l'étude présentent une grande variété de tumeurs, rendant difficile l'harmonisation des résultats (pour les tumeurs solides, il y a 12 tumeurs différentes pour 12 patients). Les différences épidémiologiques (différentes espèces, différentes races) ainsi que la variété des traitements antérieurs reçus ajoutent à l'hétérogénéité des patients.

Concernant les hémopathies malignes, les lymphomes n'ont pas été caractérisés et classés en sous-types. L'information la plus précise est celle de « lymphome B », mais de nombreuses catégories peuvent être déclinées (Ponce et al., 2010), influençant le pronostic et les choix de traitement. Il est donc difficile de comparer ces lymphomes entre eux, car ils ne présentent pas le même comportement selon leur sous-catégorie.

Les bilans d'extension ont parfois été effectués (scanner), mais certains sont incomplets (pas de cytoponctions ou de ponction de moelle pour les hémopathies malignes, pas d'investigation systématique du nœud lymphatique sentinelle pour les tumeurs solides) ou inexistantes (cas référés sans informations détaillées par exemple).

### 2. Les critères de choix des molécules utilisées

Le contexte en médecine vétérinaire du préalable à l'étude, réalisé dans la partie 2, I.B, reprend la littérature disponible aboutissant au choix des molécules utilisées par voie orale. Les doses utilisées s'inspirent des résultats de la littérature. Néanmoins, les doses de DCA utilisées dans cette étude préliminaire sont plus élevées chez le chien (10-20 mg/kg BID) que celles de la littérature (suggestion de 5 mg/kg BID). Le DCA a été utilisé chez le chat (pas d'évidence trouvée dans la littérature) entre 10 et 20 mg/kg et aucun effet secondaire n'a été observé pour cette espèce.

Il n'y a pas eu de démarche systématique dans l'établissement des protocoles (différentes molécules selon les cas, en association ou non avec de la chimiothérapie), ce qui rend impossible l'évaluation de la tolérance ou de l'efficacité pour une molécule en particulier. Le terme de thérapie métabolique est donc généralement utilisé, sauf dans les cas où l'impact d'une molécule peut être dégagé.

### 3. La tolérance des animaux à la thérapie métabolique

La tolérance est ici comprise comme la capacité de l'organisme à supporter, sans effet secondaire gênant, l'administration de la thérapie. L'étude descriptive réalisée permet de conclure à une bonne tolérance des animaux concernant l'utilisation des molécules ciblant le métabolisme de la cellule tumorale.

Les propriétaires rapportent une bonne qualité de vie de l'animal, et les effets indésirables d'ordre gastro-intestinal sont rapportés pour un tiers des cas. Un traitement symptomatique permet de limiter diarrhées et vomissements. Si l'utilisation de la MET entraîne de l'anorexie lors de l'augmentation des doses (comme chez l'humain), le passage à une ration ménagère permettrait de stimuler l'appétit de l'animal. Cependant, un suivi des effets secondaires plus précis, tels qu'effectué dans les études de Spugnini et al., permettrait de préciser nos résultats et de mieux évaluer l'impact des molécules utilisées sur l'état clinique de l'animal. Une évaluation plus rigoureuse de la qualité de vie de l'animal doit être réalisée pour renforcer les résultats, d'autant plus que ce critère est bien souvent plus important que la survie de l'animal en elle-même.

Aucun changement majeur des paramètres biochimiques et de la numération formule sanguine n'est attribuable exclusivement à la thérapie métabolique. Différents protocoles ayant été utilisés, en association ou non avec de la chimiothérapie, il est difficile d'attribuer les quelques changements observés à une molécule en particulier.

#### *i. Tolérance sans chimiothérapie associée*

Les CN 7 et CN 8 sont les seuls ayant reçu uniquement une thérapie métabolique. Un bon état général est rapporté pour ces animaux, sans effets indésirables. Aucun suivi d'analyses biochimiques et de numération formule n'est disponible pour ces animaux.

Pour le CN 12, traité avec une thérapie métabolique (ALA/DCA/HCA/OMP) et de la prednisolone, des épisodes de dysorexie et de vomissements sont rapportés. Les épisodes de vomissements peuvent être dus à l'utilisation prolongée de prednisolone, mais la thérapie métabolique peut également être responsable de la dysorexie et des vomissements.

Le DCA a été utilisé chez le chat (CT 1) à 20 mg/kg sans chimiothérapie associée et sans effets secondaires rapportés (pas de signes de neuropathie périphérique). La valeur des neutrophiles, modifiée à S4 et S12, se normalise à S16 sans modification du protocole métabolique. Il est difficile d'établir un lien entre les deux. Les autres animaux ne présentant pas de modification similaire, on peut penser que cette neutropénie n'est pas en lien avec la mise en place de la thérapie métabolique.

#### *ii. Tolérance avec chimiothérapie associée*

Les épisodes d'ataxie du CN1 pourraient être dus à une neuropathie périphérique (Stacpoole et al., 2006) induite par un surdosage du DCA (20 mg/kg BID).

Les épisodes de diarrhée observés pour le CN 9 ont été expliqués par le changement alimentaire (chien sujet aux troubles digestifs à chaque changement de croquettes).

Concernant les chats, des épisodes de diarrhées, vomissement et dysorexie sont rapportés pour le CT 2. Il est difficile d'associer ces épisodes au DCA sachant que le CT 2 prenait également une chimiothérapie métronomique avec du chloraminophène. Les autres chats n'ont pas présenté d'effets secondaires particuliers.

#### 4. L'efficacité de la thérapie métabolique

L'efficacité d'une thérapie peut se décliner selon différents aspects. Si l'impact direct sur le métabolisme des cellules tumorales est un critère intéressant, il ne traduit pas nécessairement une efficacité clinique. L'évolution tumorale (régression tumorale, stabilité de la maladie, progression tumorale), évaluée par la taille de la tumeur, et la survie globale (durée entre le début du traitement et le décès ou la perte de vue du patient), sont deux critères permettant d'évaluer l'efficacité clinique d'une thérapie.

##### *i. Une interprétation limitée*

Cette étude descriptive n'a pas pour but de démontrer une efficacité en termes de stabilité de la maladie ou d'amélioration significative de la survie car de nombreuses données sont manquantes et les cas collectés hétérogènes.

Tout d'abord, l'utilisation de différentes molécules selon les cas (thérapie métabolique associée à de la chimiothérapie ou des anti-inflammatoires ou non) rend la comparaison entre les animaux difficile. L'absence de groupe témoin limite encore l'interprétation.

Ensuite, il n'y a pas de standardisation de la caractérisation des cas (pas de standardisation du diagnostic ni du bilan d'extension). Par exemple, une analyse histologique systématique permettant de définir le grade histologique, ainsi qu'un bilan d'extension complet aboutissant au stade clinique, devraient être réalisés. Le frein financier que cela représente pour les propriétaires permet de comprendre pourquoi ces examens ne sont pas systématiquement réalisés, mais ils sont indispensables à une analyse précise et une comparaison aux médianes de survie historiques. Les médianes de survie des animaux étudiés recevant un traitement conventionnel ne peuvent pas être comparées aux médianes de survie historiques en raison de cette absence de caractérisation précise. L'évaluation des autres paramètres permettant d'évaluer l'efficacité d'un traitement (Disease Free Interval...) est également compromise.

Enfin, il est impossible de conclure à une efficacité réelle des protocoles en termes de ralentissement de la croissance tumorale car cette dernière n'a pas été caractérisée précisément pour tous les animaux. Cliniquement, l'évolution tumorale a été suivie par mesure de la tumeur lorsque cela était possible, par palpation des nœuds lymphatiques dans les cas de lymphome par exemple (mesures non réalisées de manière systématique). Des examens paracliniques ont également été effectués, mais les examens n'étaient pas systématiques.

Voyons néanmoins quelles conclusions peuvent être tirées des données disponibles.

## *ii. L'évolution tumorale*

- Sans chimiothérapie associée

De manière intéressante, le CN 8, traité uniquement à base d'un protocole métabolique, voit ses probables métastases hépatiques (cytologie non diagnostique mais aspect très en faveur à l'échographie) disparaître après 2 mois de traitement. Cela peut correspondre, en l'absence de diagnostic de certitude, à l'évolution classique de nodules de régénération hépatique. Cependant, dans le cas de métastases hépatiques, ce résultat encouragerait la poursuite des recherches dans l'utilisation de la thérapie métabolique.

- Avec chimiothérapie associée

L'association du traitement métabolique à la chimiothérapie, sans contrôle témoin, ne permet pas de déterminer le bénéfice réel de la TM. C'est le cas, par exemple du CN 3, encore en vie aujourd'hui. La rémission clinique du lymphome B de stade IV obtenue après la chimiothérapie à la vinblastine a été entretenue par la poursuite du traitement, soit grâce au traitement métabolique, soit à la chimiothérapie, soit à l'association des deux.

## *iii. La survie globale*

Pour les médianes connues et comparables aux médianes historiques en tenant compte des limites exposées précédemment, certaines se démarquent de manière intéressante. Prenons tout d'abord l'exemple du CN 3, traité initialement pour un lymphome B de stade IV avec un protocole de chimiothérapie L-CHOP. Une rémission complète de 22 mois a été obtenue en 2 mois, puis à la rechute du lymphome, un protocole à base de vinblastine, lomustine, et procarbazine a été mis en place en parallèle à une thérapie métabolique (il y a aujourd'hui plus de 30 mois). Les données publiées, suite à l'établissement d'un « protocole d'échappement », donnent une médiane de durée de rémission de 60 à 129 jours selon les molécules ou protocoles utilisés (Lenz et al., 2016). Dans le cas du CN 3, on est à plus de 6 fois cette durée.

Prenons ensuite l'exemple du CT 1, traité pour un carcinome épidermoïde de la gencive initialement avec du méloxicam et des doses croissantes de DCA. De l'HCA a été rajouté au traitement un an après. Une survie de 160 semaines a été atteinte pour ce chat. Le carcinome épidermoïde présente un mauvais pronostic s'il n'est pas possible de le retirer en marges saines (Withrow et al., 2013). L'étude de Hayes et al. s'intéresse aux traitements palliatifs pouvant améliorer la survie dans le cas de carcinomes épidermoïdes non opérables (Hayes et al., 2007). L'utilisation des anti-inflammatoires non stéroïdiens améliore la survie (médiane de survie de 44 jours, un individu ayant atteint 773 jours) mais ne permet pas d'atteindre une survie de 160 semaines (1120 jours) comme dans le cas du CT 1.

Ces quelques exemples ne sont toutefois que des cas isolés pouvant faire l'objet de rémissions longues, exceptionnelles mais connues parfois également avec les traitements standards.

#### *iv. L'impact sur le métabolisme de la cellule tumorale*

L'impact des molécules utilisées sur le métabolisme des cellules tumorales n'a pas été correctement évalué, principalement par manque de critères d'évaluation disponibles. Il aurait été intéressant d'ajouter au suivi de la numération formule sanguine et des paramètres biochimiques rénaux et hépatiques, un ionogramme complet. Un dosage de métabolites (lactate, pyruvate...) et une mesure du pH dans des biopsies tumorales régulières permettrait d'évaluer plus précisément l'impact du traitement sur le métabolisme cellulaire.

#### 5. Conclusions

Les limites de cette étude préalable sont nombreuses (hétérogénéité des molécules utilisées, traitements parallèles mis en place, diversité des cancers étudiés, absence de standardisation du diagnostic et du bilan d'extension...) et ne permettent pas d'aboutir à une conclusion d'efficacité de la TM. En revanche, cette première étude d'observation suggère la possibilité d'utilisation de ces molécules en clinique vétérinaire. En effet, cette étude montre la bonne tolérance des animaux vis-à-vis de la TM, ainsi que l'excellent confort de vie lors de la prise du traitement. La TM a été utilisée en relais après un traitement cytotoxique de première intention, soit en parallèle (notamment dans le but de limiter les phénomènes de chimiorésistance) soit en approche palliative pour les propriétaires qui le souhaitent.

Quelques cas intéressants ont été mis en évidence concernant la survie des animaux ou la progression tumorale, encourageant la poursuite des recherches. Envisageons maintenant les perspectives dans ce domaine, dans le but de proposer un protocole d'essai clinique rigoureux permettant d'évaluer l'efficacité de la TM sur la progression tumorale et la survie des animaux.

### **III. Perspectives**

#### **A. Introduction**

Le but de cette partie est de proposer un modèle d'essai clinique respectant les bonnes pratiques cliniques de design, de réalisation et d'analyse. Un essai clinique rigoureusement mené nécessite la réalisation de différentes phases :

- **La phase 0** permet de valider la cible thérapeutique, d'étudier la pharmacodynamique et pharmacocinétique des molécules et d'en sélectionner une idéale pour la suite.
- **La phase I** étudie la tolérance à court terme et permet d'établir une dose optimale de traitement.
- **La phase II** évalue l'efficacité et l'activité de la molécule.
- **La phase III** évalue l'efficacité thérapeutique par rapport aux traitements de référence. Une Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) est délivrée à la suite de la phase III si les résultats sont favorables.
- **La phase IV** consiste en des études post AMM pour évaluer l'efficacité en pratique courante et apporter de nouvelles informations ou des suivis de pharmacovigilance.

Les objectifs plus précis des différentes phases ainsi que leur méthodologie sont présentés en annexe 3.

L'état des lieux réalisé dans le préalable à l'étude (Partie 2, I.) montre que des données de pharmacocinétique et pharmacodynamique existent pour la MET, le DCA, l'OMP, le CIT (études de phase I et II déjà réalisée, cf. tableau 4). En revanche, ces données manquent pour l'ALA et l'HCA (seuls des rapports de cas sont disponibles).

L'idéal serait de réaliser un essai clinique de phase 0 chez le chien afin de préciser les différents mécanismes pharmacologiques et pharmacocinétiques (biodisponibilité chez l'animal, distribution dans la tumeur). Si le rapport de cas (Partie 2, II.) a permis de montrer la tolérance à court terme des molécules utilisées, il ne peut en aucun cas être assimilé à une phase I d'essai clinique, car la réalisation d'une phase I complète avec des doses croissantes est nécessaire.

Néanmoins, il est possible d'envisager un essai clinique de phase II réalisé avec les informations dégagées de notre travail. Si des phases 0 et I rigoureuses sont évidemment nécessaires, il est possible de gagner du temps en se posant la question de l'efficacité (phase II) de la thérapie métabolique aujourd'hui. C'est ce que nous proposons dans le protocole d'étude suivant.

## B. Protocole d'étude

Il est nécessaire de respecter différents critères dans la réalisation de cette étude afin de limiter au maximum les différents biais inhérents aux essais cliniques (biais de sélection limité par une bonne planification de l'étude, biais de mesure, biais de confusion, biais de suivi...).

Ce protocole a été inspiré des règles de conduite du site de l'Agence Européenne pour l'Evaluation des Produits Médicaux (European Agency for the Evaluation of Medicinal Products - VICH Topic GL9), ainsi que de la publication de l'OMS (Organization, World Health, n°48, 1979).

### 1. Objectifs

Le but de l'étude est d'évaluer l'efficacité de la thérapie métabolique (TM) en association avec un protocole de chimiothérapie conventionnelle sur la survie des animaux cancéreux.

### 2. Contacts – sites de l'étude

Les personnes responsables de l'essai clinique doivent être mentionnées, notamment :

- L'investigateur : personne responsable de tous les aspects de la réalisation de l'étude.
- Le sponsor : individu ou compagnie pouvant être responsable de l'initiation et du management et qui finance l'étude clinique en cours.
- La personne moniteur : désignée par le sponsor pour monitorer et suivre les progrès de l'étude clinique. Il vérifie que les bonnes pratiques cliniques sont appliquées. Il fait le lien entre le sponsor et l'investigateur.

Les adresses des différentes universités et cliniques vétérinaires participant à l'étude doivent être mentionnées.

### 3. Justifications

Les données précliniques (partie 1) et cliniques (partie 2, I. et II.) générales exposées dans ce travail justifient l'intérêt d'une évaluation rigoureuse de l'efficacité de la TM en termes de survie des animaux atteints de cancer.

### *i. Justification du choix des molécules*

L'étude de la littérature ne permet pas d'orienter notre choix vers une molécule plutôt qu'une autre en médecine vétérinaire. Les molécules étudiées possèdent en majorité un rôle de sensibilisation à la chimiothérapie *in vitro*. Il n'existe pas de rationnel d'utilisation des molécules en association.

Il faut donc prendre en compte d'autres critères, comme par exemple :

- **Les facilités d'approvisionnement, de reconditionnement** ; il est plus facile de s'approvisionner des molécules utilisées en médecine humaine en pharmacie. La pureté des molécules provenant d'une commande sur internet est toujours à vérifier. Ce critère sera donc notre critère de sélection majeur afin d'assurer la pureté des molécules.
- **Le mécanisme d'action des molécules** ; il peut être intéressant de cibler différentes voies du métabolisme (combinaison de modes d'action différents) afin d'augmenter les chances d'efficacité. La revue de Lee et al. (2015) suggère en effet que l'efficacité thérapeutique maximale de la TM serait atteinte en associant un inhibiteur de la glycolyse avec un inhibiteur de la respiration mitochondriale, et un inhibiteur des transporteurs de protons (Lee et al., 2015). C'est ce que nous avons donc choisi.
- **La bonne tolérance des animaux.**
- **Les facilités d'administration** (par voie orale, BID au maximum pour une meilleure observance des propriétaires, pas plus de trois molécules à associer).

D'après ces critères et le raisonnement résumé dans le tableau 9, nous choisissons l'utilisation du CIT, de la MET, de l'OMP.



Tableau 9 : Justification des molécules choisies

	OMP	MET	HCA	ALA	DCA	CIT
<b>Facilités d'approvisionnement ou de reconditionnement</b>	Pharmacie humaine	Pharmacie humaine	Commande sur Internet	Commande sur Internet	Commande sur Internet – à reconditionner	Pharmacie humaine
Littérature en cancérologie vétérinaire	Oui	En cours	Non	Non	Non	Non
Sensibilisation à la chimiothérapie <i>in vitro</i>	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Non
Association dans la littérature	Avec CIT	Avec DCA	Avec ALA	Avec HCA	Avec MET	Avec OMP
Tolérance	Bonne	Bonne	Bonne	Bonne	Bonne à faible dose	Bonne
Mécanisme d'action	IPP (régulation V-ATPase)	Activation AMPK + Inhibition complexe I OxPhos	Inhibition ACLY	Inhibition PDK	Inhibition PDK1	Inhibition PFK
Voie ciblée	Acidification intracellulaire	AMPK-mTOR OxPhos	Formation acétyl-CoA			Glycolyse

## ii. Justification du choix du type de cancer étudié

Les modifications du métabolisme tumoral se retrouvant dans tous les types histologiques de tumeur, la TM est en théorie utilisable sur tout type de tumeur. Pour notre étude, les critères de choix du cancer à étudier sont :

- Un mauvais pronostic pour observer un bénéfice réel ou non, ainsi que pour une rapidité d'interprétation des résultats.
- Une durée de vie suffisante pour pouvoir observer un impact de la thérapie.
- Une fréquence de la maladie suffisante pour avoir un nombre suffisant de cas.
- Un aspect comparatif avec un cancer existant chez l'homme (intérêt en recherche comparée).

Les deux pistes retenues pour la suite de notre étude sont : l'ostéosarcome (OSA) et les tumeurs mammaires (TMM) de grade III.

### *iii. Justification du choix d'une chirurgie pré-étude ou non*

L'exérèse chirurgicale faisant partie du traitement standard en première intention des deux types de cancers choisis, elle sera donc une condition nécessaire à l'inclusion dans l'étude.

### *iv. Justification du choix de l'espèce étudiée*

L'étude se déroulera chez le chien car il existe des standards de thérapie plus précis que chez le chat. Le chien est de plus un modèle d'oncologie comparée très intéressant (Paoloni et Khanna, 2007), utilisé par exemple par le Consortium d'Essais Cliniques en Oncologie Comparative (Comparative Oncology Trials Consortium (COTC)), qui regroupe 22 universités nord américaines mettant en place des essais cliniques de recherche comparée (Gordon et al., 2009).

Les études chez le chien nous permettent en effet de travailler sur des cancers spontanés (avec un système immunitaire en place) et sur une échelle de temps réduite (les cancers se développent beaucoup plus rapidement que chez l'homme). Les chiens partagent notre environnement quotidien et sont donc de bons modèles épidémiologiques, qui ont déjà été utilisés (Glickman et al., 2004). Différents paramètres sont facilement contrôlables chez nos animaux de compagnie, comme le régime alimentaire, le statut hormonal, le statut urbain ou rural. De nombreux animaux de compagnie développent des cancers et les propriétaires sont de plus en plus demandeurs de nouveaux traitements. Les cancers des chiens répondent également à la chimiothérapie, se disséminent, et présentent des phénomènes de chimiorésistance et de récurrence comme chez l'homme. De nombreuses tumeurs sont comparables histologiquement entre les deux espèces, comme par exemple le lymphome canin avec le lymphome non Hodgkinien chez l'homme (Seelig et al., 2016). Des similarités génétiques tumorales sont présentes et l'étude comparative du génome du chien et de l'homme réalisé par le Consortium de Génomique et d'Oncologie Comparative Canine (CCOGC) permettra de dégager de nombreux modèles précis (CCOGC « *Home* »).

## 4. Déroulé des événements

Il conviendra de fixer une date de début de la réalisation de l'essai, une période d'administration des molécules et une phase d'observation post administration.

## 5. Conception de l'étude

L'étude idéale est une étude prospective randomisée en double aveugle (distribution aléatoire des patients dans différents groupes. Ni le vétérinaire ni le propriétaire ne savent quelle

thérapie reçoit l'animal) et multicentrique. Les méthodes de randomisation (procédures à suivre pour attribuer les animaux dans les différents groupes) et d'aveuglement (autres techniques de réduction des biais dans l'accès au traitement) seront à préciser. Les différentes cliniques vétérinaires participant à l'étude devront harmoniser leurs techniques et la collecte des résultats, avec l'aide éventuelle des sponsors et des moniteurs.

Le but de l'étude étant d'évaluer l'efficacité de la thérapie métabolique (TM) en association avec la chimiothérapie sur la survie des animaux, il convient donc d'étudier trois groupes :

- Groupe 1 : groupe contrôle recevant une chimiothérapie conventionnelle seule
- Groupe 2 : groupe recevant une chimiothérapie conventionnelle associée à la TM
- Groupe 3 : groupe recevant une chimiothérapie conventionnelle associée à un placebo

L'approbation du protocole de l'étude par un comité d'éthique devra être effectuée, avec le consentement éclairé des propriétaires.

## 6. Sélection des animaux

### *i. Prérequis pour rentrer dans l'étude*

#### ➤ Critères d'inclusion

Les animaux sont des chiens de propriétaire, mâle ou femelle, stérilisés ou non, de tout âge, de toutes races. Les critères d'inclusion suivants doivent être remplis :

- Confirmation histologique de la tumeur maligne. Une relecture histologique des biopsies par un pathologiste spécialiste est préférable pour confirmer le diagnostic et uniformiser les résultats.

Nous avons proposé deux exemples de réflexion, l'étude sera bien entendu réalisée uniquement avec un type histologique de cancer. Tous les ostéosarcomes pourraient être étudiés. Concernant les tumeurs mammaires, seules celles de grade III remplissent nos critères de justification du choix de cancer. Cela concerne les tumeurs peu différenciées, avec un haut grade de malignité (Peña et al., 2013).

- Normalité des fonctions rénales et hépatiques.
- Absence d'anomalie cardiaque (par rapport à l'utilisation de la doxorubicine).
- Absence de maladie systémique sous-jacente (diabète, maladie de Cushing...).
- Compliance du propriétaire pour les contrôles réguliers.
- Espérance de vie de l'animal d'au moins 4 semaines.
- Critères de performance inférieur ou égal à 3 selon les statuts de performance inspirés par l'Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG-ACRIN), adaptés pour l'animal (annexe 5).
- Pas de réalisation d'un traitement antérieur (notamment pas de prise d'anti-inflammatoires, stéroïdiens ou non stéroïdiens).

- Planification de la chirurgie de retrait de la masse (standardisée, en marges saines) en cours.
- Minimum de traitements symptomatiques parallèles (réduction des biais).
- Critères d'exclusion : pas de chirurgie souhaitée, traitement antérieur, autre traitement souhaité (radiothérapie par exemple).
- Critères de retrait de l'étude post-inclusion : à tout moment le propriétaire de l'animal pourra décider de quitter l'étude, utilisation de tout autre traitement anticancéreux utilisation d'anti-inflammatoires si ces derniers ne font pas partie du traitement standard.

## *ii. Informations et examens nécessaires*

Pour chaque patient, les informations suivantes sont nécessaires. Certaines sont des facteurs pronostiques éventuels qu'il pourra être intéressant d'étudier lors de l'analyse des résultats.

- Commémoratifs (le statut physiologique est à préciser, ainsi que la note d'état corporel (NEC), entre 1 et 9, détaillée en annexe 6, ainsi que le poids) et anamnèse complète. Dans l'hypothèse de travail sur des tumeurs mammaires, la prise de contraceptifs hormonaux dans la vie de la chienne est à préciser.
- Examen physique
- Mesure de la taille de la tumeur (à standardiser) et localisation précise de la masse primaire
- Bilan de l'état général et bilan d'extension complet
  - numération et formule sanguines
  - profil biochimique
  - ionogramme
  - radiographies thoraciques (3 vues)
  - échographie abdominale
  - ou scanner corps entier
  - cytoponction du/des nœud(s) lymphatique(s) sentinelle(s)
- Traitements en cours

## 7. Hospitalisation des animaux

L'hospitalisation des animaux est nécessaire pour le suivi post-opératoire, pendant 24 heures pour la gestion de la douleur (à l'aide de dérivés morphiniques et pas d'anti-inflammatoires), dans un chenil homologué (espace par animal suffisant, ventilation adéquate...). Le retour à la maison est ensuite possible. L'hospitalisation sera à nouveau nécessaire pour la réalisation des chimiothérapies, selon la réglementation en vigueur.

## 8. Rations

Une ration homogène pour tous les animaux est nécessaire. L'utilisation d'une ration adaptée à l'animal cancéreux est idéale (teneur faible en glucides), comme par exemple la ration n/d de chez Hill's. Néanmoins, ces rations sont plus onéreuses que des rations physiologiques classiques. Quel que soit le type de ration choisi pour tous les animaux de l'étude, la ration est à adapter à la note d'état corporel de l'animal et il faudra peser les rations afin d'évaluer la quantité ingérée. Cela permettra de réaliser une analyse nutritionnelle par la suite. Les à-côtés sont à proscrire. Si ceux-ci sont utilisés pour stimuler l'appétit de l'animal, cela devra être précisé dans les résultats. La mise à disposition d'eau doit être illimitée.

## 9. Traitement administré

### *i. La chimiothérapie*

Les molécules de chimiothérapie sont choisies selon le standard de référence. La chimiothérapie est à administrer avec les précautions nécessaires. Les consignes de gestion des excréments doivent être expliquées aux propriétaires afin de limiter l'exposition de ces derniers.

Par exemple, dans le cas de l'ostéosarcome, un protocole à base de doxorubicine (30 mg/m<sup>2</sup>) toutes les 2 semaines pour 5 cycles est recommandé (Moore et al., 2007), en effectuant les 2 premières séances avant la chirurgie.

Dans le cas d'une tumeur mammaire de haut grade, deux protocoles sont recommandés par les experts. Le premier est un protocole à base de doxorubicine (30 mg/m<sup>2</sup>) toutes les 3 semaines pour 5 cycles, à commencer 2 semaines après la chirurgie (Simon et al., 2006). Le second est un protocole à base de carboplatine (300 mg/m<sup>2</sup>) toutes les 3 semaines pour 3 cycles suivi d'une thérapie à base d'anti COX-2 (5 mg/kg) pendant 6 mois (Lavalle et al., 2012). Il conviendra d'en choisir un des deux.

### *ii. La thérapie métabolique*

La thérapie métabolique sera constituée de l'association des molécules sélectionnées précédemment, administrées de la manière suivante :

**CIT 700 mg/kg BID** : pour un chien de 20 kg, il faut donner 3,5 sachets de FONCITRIL 4000 ND le matin et le soir.

+ **MET 10 mg/kg BID** : pour un chien de 20 kg, il faut donner 1/5 de sachet de GLUCOPHAGE 1000 ND matin et soir.

+ **OMP 5 mg/kg SID** le jour de l'administration de la chimiothérapie et les 2 jours suivant, **puis 1 mg/kg SID** : pour un chien de 20 kg, il faut donner 5 gélules de

MOPRAL 20 ND le jour de la chimiothérapie et les 2 jours suivant, puis 1 gélule par jour le reste du temps.

L'administration se fait par voie orale, à la maison, deux fois par jour, tous les jours jusqu'au décès de l'animal. Le degré d'exposition pour les propriétaires n'est pas dangereux, les molécules n'ont pas d'action sur l'ADN et pas de toxicité démontrée à court terme.

Pour la bonne réalisation de l'étude, les molécules doivent être reconditionnées ensemble afin de respecter l'aveuglement des propriétaires et des vétérinaires. Un planning papier à compléter pour vérifier l'observance peut être distribué.

### *iii. Planning des contrôles*

Les contrôles doivent être calqués sur les contrôles requis par le planning d'administration de la chimiothérapie. Au cours de ces contrôles, la grille de toxicité disponible en annexe 7 sera à remplir.

Par la suite, on peut proposer des bilans sanguins toutes les 4 semaines (remplissage de la grille de toxicité en annexe 7) et des bilans d'imagerie tous les 3 mois.

## 10. Évaluation de l'efficacité

Comme développé dans la discussion de la partie précédente (Partie 2, II. C), l'efficacité d'une thérapie peut se décliner selon différents aspects (l'impact direct sur le métabolisme des cellules tumorales, le développement tumoral évalué par la taille de la tumeur, et la survie globale). L'influence du traitement sur la maladie se traduit également par son impact sur la qualité de vie.

L'étude de l'impact direct sur le métabolisme tumoral ne traduit pas nécessairement une efficacité clinique. Il ne sera donc pas proposé dans cette étude, mais détaillé dans la partie suivante (Partie 2, III. C), avec la proposition de différents marqueurs tumoraux à évaluer.

### *i. Développement tumoral*

Il faut idéalement travailler avec une tumeur qui puisse être mesurée afin d'évaluer la réponse clinique avec des mesures objectives (cliniquement ou par l'imagerie), toutes les quatre semaines (Therasse et al., 2000). De manière théorique, deux types de lésions sont définies : les lésions mesurables (lésions dont le plus grand axe est au minimum de 20 mm) et les lésions non mesurables (lésions inférieures à 10 mm ou les lésions dont les limites sont difficiles à définir). Différents critères peuvent ensuite être utilisés pour évaluer la réponse des tumeurs solides (critères RECIST = critères d'évaluation de la réponse des tumeurs solides).

- **La réponse complète (CR)** : disparition de toutes les lésions cibles, confirmée par un nouvel examen réalisé à quatre semaines.
- **La réponse partielle (PR)** : diminution d'au moins 30 % de la somme des plus grands diamètres de chaque lésion cible, en prenant pour référence la somme initiale des plus grands diamètres, confirmée par un nouvel examen réalisé à quatre semaines
- **La progression tumorale (PD)** : augmentation d'au moins 20 % de la somme des plus grands diamètres de chaque lésion cible, en prenant pour référence la plus petite somme des plus grands diamètres, rapportée depuis le début du traitement, ou apparition de une ou de plusieurs nouvelles lésions
- **La stabilité tumorale (SD)** : diminution tumorale insuffisante pour définir une réponse partielle et/ou augmentation tumorale inférieure à celle nécessaire pour définir une progression tumorale, en prenant pour référence la plus petite somme des plus grands diamètres depuis le début du traitement.

Pour nos exemples, l'utilisation de ce système pour évaluer objectivement le développement tumoral n'est pas possible comme nous travaillons après excision chirurgicale. La réalisation d'examens d'imagerie permettra de suivre le développement d'éventuelles métastases qui, elles, sont mesurables. La réalisation d'examens cliniques réguliers permettra d'objectiver une éventuelle récurrence sur le site chirurgical, signe sans équivoque de développement tumoral. Le Disease Free Intervall (intervalle de temps entre la chirurgie et la récurrence) permet d'objectiver cette récurrence.

## *ii. Survie*

L'influence du traitement sur la maladie comprend également l'évaluation de la survie de l'animal, qui apporte un bénéfice thérapeutique plus concret que l'évolution tumorale.

- **La survie globale (OS – Overall Survival)** est le critère de référence. C'est la durée entre le début du traitement et le décès ou la perte de vue du patient. La **survie spécifique** est la survie globale amputée des décès non liés à la maladie cancéreuse.
- **La survie sans récurrence (DFS - Disease Free Survival)** est calculée à partir de l'obtention d'une rémission complète.
- **La survie sans progression (PFS - Progression Free Survival)** est l'intervalle de temps entre la date de randomisation et la date de première progression ou le décès, quelle que soit sa cause.
- **Le temps jusqu'à progression (TTP)** est l'intervalle de temps entre la date de randomisation et la date de première progression. Les patients décédés sans progression sont censurés à la date de décès.

Concernant ces durées de survie, le biais représenté par l'euthanasie (décision du propriétaire, influence du vétérinaire) est à prendre en compte. En médecine vétérinaire, le traitement est souvent considéré comme une approche palliative et la qualité de vie prime bien souvent sur la durée de survie.

### *iii. Qualité de vie*

La qualité de vie est essentielle chez les animaux de compagnie et est considérée comme le critère à prendre en compte dans la décision d'arrêt du traitement ou d'euthanasie.

Le rôle du vétérinaire est alors de contrôler les signes cliniques, d'évaluer le temps de progression tumorale symptomatique, d'estimer la douleur, l'inconfort et la vitalité de l'animal. L'utilisation de dérivés morphiniques dans la prise en charge de la douleur est à encourager et à mentionner dans les résultats. D'autres paramètres tels que la prise de nourriture, le poids, la NEC sont à prendre en compte. Certains paramètres sont subjectifs et ne doivent pas être considérés suffisants pour démontrer le bénéfice d'un traitement. Cela souligne aussi l'importance de réaliser l'étude en double aveugle. L'utilisation d'une grille d'évaluation de la qualité de vie permet une évaluation statistique correcte, et d'être exhaustif lors des contrôles cliniques.

Deux grilles peuvent être utilisées en association :

- Une grille permettant au clinicien d'évaluer la toxicité du traitement (annexe 7)
- Une grille à remplir par le propriétaire permettant d'évaluer les effets secondaires et la qualité de vie (annexe 8)

## 11. Statistiques

La réalisation d'un test statistique est essentielle afin de calculer la probabilité ( $p$ ) que l'on aurait d'observer un résultat s'il n'y avait pas de différence entre les deux groupes. Une différence sera alors statistiquement significative seulement si la valeur de  $p$  donnée par le test est inférieure au seuil de 5%.

### *i. Estimation du nombre d'animaux nécessaires (puissance de l'étude)*

L'estimation a été réalisée à l'aide d'un test bilatéral disponible dans le polycopié d'interprétation des essais cliniques pour la pratique médicale (Cucherat, 2013).

Pour l'exemple de l'ostéosarcome, en faisant l'hypothèse d'une fréquence de l'évènement « décès à 1 an » de 50% sans TM (Berg et al., 1995) et de 45% avec TM, il est nécessaire d'inclure **4184 patients** (pour une puissance de 90% et un risque alpha de 5%) dans l'étude.

Pour l'exemple des tumeurs mammaires de grade III, en faisant l'hypothèse d'une fréquence de l'évènement « décès à 2 ans » de 59% (Peña et al., 2013) sans TM et de 50% avec TM, il est nécessaire d'inclure **1276 patients** (pour une puissance de 90% et un risque alpha de 5%) dans l'étude.

Néanmoins, le critère de la réduction relative du risque aléatoire est arbitraire (la fréquence de l'évènement avec TM n'est pas connue), et il n'existe aujourd'hui pas de données pour le déterminer.



Nous pouvons alors raisonner par l'absurde en partant du fait que les études vétérinaires réalisées aujourd'hui en Europe comprennent environ 200 animaux. Pour les mêmes fréquences d'évènements, l'étude sera alors suffisamment puissante uniquement si :

- ✓ La fréquence de l'évènement « décès à 1 an » pour le traitement de l'OSA avec TM est de **28%** (196 patients).
- ✓ La fréquence de l'évènement « décès à 2 ans » pour le traitement de la TMM avec TM est de **37%** (206 patients).

Cela semble peu probable. Le grand nombre d'animaux nécessaires pour démontrer une réduction relative du risque aléatoire faible souligne l'intérêt de proposer cette étude dans toutes les cliniques vétérinaires qui le souhaitent (étude multicentrique), comme sur le modèle de ce qui est réalisé aujourd'hui par le COTC (cf. Partie II, III. B. *iv.*).

De plus, les évènements choisis pour raisonner concernent la survie. Or, il pourrait être intéressant de raisonner par exemple avec un évènement « qualité de vie améliorée : passage d'une moyenne de qualité de vie de 3 à 2 ». Les notes de qualité de vie peuvent être attribuées à l'aide de la grille disponible en annexe 8.

## *ii. Analyse des résultats*

Les courbes de survie pourront être réalisées avec la méthode de Kaplan Meier, et le test du log-rank permettra de comparer les 3 courbes de survie en prenant en compte toute l'information sur l'ensemble du suivi sans nécessité de faire des hypothèses sur la distribution des temps de survie (test non paramétrique). Il consiste à comparer le nombre d'évènements observés au nombre d'évènements attendus sous l'hypothèse nulle d'égalité de fonctions de survie des groupes. La statistique de test suit sous cette hypothèse approximativement une distribution du Chi<sup>2</sup> à 2 degrés de liberté.

### 12. Procédures pour enregistrer et analyser les données

Il est nécessaire d'harmoniser l'enregistrement des données entre les différents centres, avec un logiciel spécifique.

### 13. Effets secondaires

La fréquence des contrôles doit être suffisante pour observer les effets secondaires. C'est le cas avec l'utilisation d'un protocole de chimiothérapie qui nécessite des contrôles réguliers. Les actions appropriées pour limiter les effets secondaires doivent être définies. Il peut s'agir, par exemple, de l'administration préventive d'antiémétiques ou de protecteurs intestinaux. Les effets secondaires doivent être enregistrés selon les recommandations en vigueur de l'Agence Européenne des Médicaments (EMA) ou du Groupe d'Oncologie Vétérinaire Comparée

(VCOG, modèle disponible en annexe 7), et les procédures spécifiques adoptées précisées (quels types d'antiémétiques à partir de quel grade de vomissements, etc.).

La toxicité cumulative à long terme pourra ensuite être évaluée à l'issue de l'étude.

#### 14. Suppléments

Les suppléments consistent en des informations à communiquer aux propriétaires, ou des instructions pour le personnel dans l'étude (sécurité d'administration des molécules de chimiothérapie...).

#### 15. Changements dans le protocole

Des instructions spécifiques sont à prévoir en cas de déviation ou de changements de protocoles (exclusion de l'étude). Les effets à obtenir pour le groupe 2 doivent être au moins aussi bons que le groupe 1, les analyses de résultats préliminaires n'allant pas de ce sens pourraient conduire à l'arrêt de l'étude.

#### 16. Références

Les références littéraires pertinentes doivent être communiquées dans le protocole d'étude (disponibles dans la bibliographie de ce travail).

## C. Autres angles d'études intéressants

Si l'étude proposée montre une efficacité de la TM en association avec la chimiothérapie, les points suivants devront être soulevés.

### 1. Quel est l'impact réel de la TM sur le métabolisme tumoral ?

Les chiens atteints de cancer ne présentent pas systématiquement une hyperlactatémie (Touret et al., 2010), donc le dosage des lactates sanguins ne pourra pas être utilisé comme moyen simple d'évaluer l'impact de la TM sur le métabolisme tumoral. Des limites similaires sont observés avec le dosage de la LDH (Marconato et al., 2009). Il faudra donc plutôt réaliser des biopsies tumorales régulières (concept de médecine de précision, étude métabolomique) en choisissant des marqueurs spécifiques. Par exemple, les marqueurs de prolifération (Ki67) et d'apoptose (protéines PARP et Mcl-1) seraient intéressants à évaluer. La date d'échantillonnage et le délai avant l'analyse devront être précisés.

La concentration de l'IGF-1 (insulin-like growth factor 1) pourrait être un marqueur intéressant à suivre en parallèle de la thérapie métabolique. Une étude est actuellement en cours sur des chiens traités pour un lymphome (thérapie conventionnelle) à l'université de Tufts afin de déterminer s'il y a une différence avec des chiens sains. Il faudra prendre en compte que le format du chien influence le dosage de l'IGF-1 (Eigenmann et al., 1984).

Un suivi du développement tumoral avec la technique du PET-Scan permettra également de préciser l'impact de la TM sur le métabolisme du glucose.

### 2. Sur quels mécanismes agit la TM en association avec la chimiothérapie ?

Est-ce une action propre sur des mécanismes différents ? Existe-t-il une synergie éventuelle ? La TM permettrait-elle de diminuer par exemple la chimiorésistance ? En effet, les phénomènes de résistance à la chimiothérapie conventionnelle se retrouvent également en médecine vétérinaire. Entres autres, des transporteurs cellulaires permettant l'efflux des drogues de chimiothérapie hors des cellules cancéreuses devront être étudiés, comme la glycoprotéine P (codée par le gène MDR1), la BCRP (Breast cancer resistance protein) et la LRP (Lung resistance protein).

### 3. Quelle est l'efficacité de la TM...

#### *i. ... en association avec la radiothérapie ?*

Les données *in vitro*, *in vivo*, ainsi que certains essais cliniques en médecine humaine suggèrent également une efficacité de la TM en association avec la radiothérapie (cf. Tableau 3).

#### *ii. ... en association avec une dose plus faible de chimiothérapie que les doses de références ?*

Cette étude aurait pour objectif de diminuer les effets secondaires de la chimiothérapie conventionnelle (réduction des doses).

#### *iii. ... utilisée seule ?*

En effet, les propriétaires ne souhaitant pas réaliser de chimiothérapie ne peuvent pas participer à l'étude proposée. Une étude de ce type ne pourra pas être randomisée car le critère de décision des propriétaires conditionnera l'attribution dans un groupe ou l'autre. Il apparaît en effet peu éthique de proposer un groupe ne recevant qu'un traitement placebo.

#### *iv. ... en association avec la diète cétogène ?*

L'intérêt de la diète cétogène dans la prévention et la lutte contre le cancer sont développés dans l'ouvrage de Seyfried (2013). Les corps cétoniques (bêta hydroxybutyrate et acétoacétate) sont alors un carburant alternatif lorsque la glycémie est basse et sont incapables de maintenir en vie une cellule tumorale en l'absence de glucose ou de glutamine. Une thérapie qui diminue la concentration en glucose et élève celle en corps cétoniques va affamer les cellules tumorales glucose dépendantes tout en protégeant et nourrissant les autres cellules. Les molécules exposées sont d'autant plus efficaces qu'elles sont associées à une diète cétogène, comme par exemple le 2-DG (Marsh et al., 2008).

## CONCLUSION

Les cellules tumorales présentent un métabolisme énergétique spécifique, propice au développement de nouvelles perspectives thérapeutiques. Notre travail porte sur l'étude de ce métabolisme modifié (reprogrammation métabolique), qui implique de nombreux enzymes (de la glycolyse, du cycle de Krebs, de la glutaminolyse, du métabolisme du lactate...), transporteurs (GLUT...) et facteurs de transcription (HIF...).

Ces acteurs très divers du métabolisme spécifique des cellules tumorales sont des cibles thérapeutiques intéressantes. Les différentes molécules de ciblage existantes montrent des résultats prometteurs *in vitro*, lorsque utilisées seules ou en association, mais aussi parfois en association avec de la chimiothérapie conventionnelle ou de la radiothérapie. Des résultats existent aussi sur des modèles *in vivo*, avec pour certains traitements des limites pouvant être expliquées par la coopération métabolique entre les cellules cancéreuses (métabolisme glycolytique (consommation accrue de glucose et production d'acide lactique, et ce même en présence d'O<sub>2</sub>) versus métabolisme oxydatif (utilisation des phosphorylations oxydatives)).

L'application clinique est en plein essor en médecine humaine et encore à ses balbutiements en médecine vétérinaire. Suite aux résultats des nombreux essais cliniques en médecine humaine, parfois controversés selon les traitements et les doses utilisées, l'attention s'est portée sur des molécules aux mécanismes d'action complémentaires (thérapie métabolique), présentant une efficacité seule ou en association avec de la chimiothérapie, avec des effets secondaires réduits, disponibles facilement et abordables financièrement.

Nous avons réalisé une étude de faisabilité à partir de 18 cas cliniques (14 chiens et 4 chats, présentant différents types histologiques de tumeurs) traités au Centre Hospitalier Vétérinaire Saint-Martin avec des molécules ciblant le métabolisme tumoral, utilisées seules ou en association avec de la chimiothérapie ou des anti-inflammatoires. Le but de cette étude de faisabilité est d'évaluer la tolérance des animaux à la thérapie métabolique. Cette analyse consiste en une première étude d'observation évaluant la possibilité d'utilisation de ces molécules en clinique vétérinaire. Les résultats montrent la bonne tolérance des animaux vis-à-vis de la thérapie, ainsi que l'excellent confort de vie lors de la prise du traitement.

Ainsi, la thérapie métabolique propose une approche alternative, répondant à une attente sociétale réelle pour des thérapies non conventionnelles. Elle offre un intérêt compassionnel pour les propriétaires ne souhaitant pas s'engager dans un processus de chimiothérapie (pour des raisons financières ou éthiques). Son efficacité reste cependant à démontrer, et la première étape de poursuite des recherches pourrait être l'étude de son rôle en association avec la chimiothérapie. La possibilité de synergie des molécules de thérapie métabolique avec la chimiothérapie, mise en évidence *in vitro* semble en effet prometteuse pour lever les phénomènes de résistance à la chimiothérapie conventionnelle. Un protocole d'essai clinique permettant d'évaluer l'efficacité de la thérapie métabolique en association avec la chimiothérapie sur la survie des animaux a donc été proposé.

Cibler le métabolisme de la cellule cancéreuse en médecine vétérinaire permettrait ainsi d'offrir des solutions complémentaires aux propriétaires, tout en participant aux progrès de la recherche en cancérologie comparée.

Thèse de Mme INGLEBERT Marine

Le Professeur responsable  
VetAgro Sup campus vétérinaire

F. PONCE

Le Directeur général  
VetAgro Sup

Par Délégation  
Dr. L. FREIBURGER  
Directeur de l'Enseignement  
et de la Vie Étudiante  
VetAgro Sup Campus Vétérinaire

Le Président de la Thèse  
GROUPEMENT DES CENTRES HOSPITALIERS SUD  
CENTRE HOSPITALIER LYON SUD  
69495 PIERRE BÉNITE CEDEX  
Radiothérapie-Oncologie - Pav 1F  
Professeur Françoise MORNEX  
Vu et permis d'impression  
RPPS 19003048401  
Tél. 04 78 86 42 53  
Fax 04 78 86 42 64  
Lyon, le

Pour Le Président de l'Université,  
Le Président du Comité de Coordination des Etudes Médicales  
Professeur Pierre COCHAT



## Références bibliographiques

- Abolhassani, M, A Guais, E Sanders, F Champion, I Fichtner, J Bonte, G Baronzio, G Fiorentini, M Israël, et L Schwartz. 2012. « Screening of Well-Established Drugs Targeting Cancer Metabolism: Reproducibility of the Efficacy of a Highly Effective Drug Combination in Mice ». *Investigational New Drugs* 30 (4): 1331-42.
- Ahopelto, K, C Böckelman, J Hagström, S Koskensalo, et C Haglund. 2016. « Transketolase-like Protein 1 Expression Predicts Poor Prognosis in Colorectal Cancer ». *Cancer Biology & Therapy* 17 (2): 163-68.
- Akers, L J, W Fang, A G Levy, A R Franklin, P Huang, et P A Zweidler-McKay. 2011. « Targeting Glycolysis in Leukemia: A Novel Inhibitor 3-BrOP in Combination with Rapamycin ». *Leukemia Research* 35 (6): 814-20.
- Alfarouk, K O, D Verduzco, C Rauch, A K Muddathir, H H B Adil, G O Elhassan, M E Ibrahim, et al. 2014. « Glycolysis, Tumor Metabolism, Cancer Growth and Dissemination. A New PH-Based Etiopathogenic Perspective and Therapeutic Approach to an Old Cancer Question ». *Oncoscience* 1 (12): 777-802.
- American Veterinary Medical Association. *AAHSD Study Search*. [en ligne], URL : [https://ebusiness.avma.org/aaahsd/study\\_search.aspx](https://ebusiness.avma.org/aaahsd/study_search.aspx). [consulté le 10 avril 2017]
- Amith, S R, J M Wilkinson, S Baksh, et L Fliegel. 2015. « The Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> Exchanger (NHE1) as a Novel Co-Adjuvant Target in Paclitaxel Therapy of Triple-Negative Breast Cancer Cells ». *Oncotarget* 6 (2): 1262-75.
- Anastasiou, D, Y Y, W J. Israelsen, J-K Jiang, M B Boxer, B S Hong, W Tempel, et al. 2012. « Pyruvate Kinase M2 Activators Promote Tetramer Formation and Suppress Tumorigenesis ». *Nature Chemical Biology* 8 (10): 839-47.
- André, F, R O'Regan, M Ozguroglu, M Toi, B Xu, G Jerusalem, N Masuda, et al. 2014. « Everolimus for Women with Trastuzumab-Resistant, HER2-Positive, Advanced Breast Cancer (BOLERO-3): A Randomised, Double-Blind, Placebo-Controlled Phase 3 Trial ». *The Lancet. Oncology* 15 (6): 580-91.
- Andrzejewski, S, S Gravel, M Pollak, et J St-Pierre. 2014. « Metformin Directly Acts on Mitochondria to Alter Cellular Bioenergetics ». *Cancer & Metabolism* 3 (2): 12-15.
- Astuti, D, F Latif, A Dallol, P L M Dahia, F Douglas, E George, F Sköldbberg, E S Husebye, C Eng, et E R Maher. 2001. « Gene Mutations in the Succinate Dehydrogenase Subunit SDHB Cause Susceptibility to Familial Pheochromocytoma and to Familial Paraganglioma ». *The American Journal of Human Genetics* 69 (1): 49-54.
- Attia, Y M., H S El-Abhar, M M Al Marzabani, et S A Shouman. 2015. « Targeting Glycolysis by 3-Bromopyruvate Improves Tamoxifen Cytotoxicity of Breast Cancer Cell Lines ». *BioMed Central Cancer* 27 (15): 838-45.
- Azevedo-Silva, J, O. Queirós, F Baltazar, S Ułaszewski, A Goffeau, Y H Ko, P L Pedersen, A Preto, et M Casal. 2016. « The Anticancer Agent 3-Bromopyruvate: A Simple but Powerful Molecule Taken from the Lab to the Bedside ». *Journal of Bioenergetics and Biomembranes* 48 (4): 349-62.
- Azzarito, T, G Venturi, A Cesolini, et S Fais. 2015. « Lansoprazole induces sensitivity to suboptimal doses of paclitaxel in human melanoma ». *Cancer Letters* 356 (2, Part B): 697-703.

- Bachelot, T, C Bourcier, C Cropet, I Ray-Coquard, J Ferrero, G Freyer, S Abadie-Lacourtoisie, et al. 2012. « Randomized Phase II Trial of Everolimus in Combination with Tamoxifen in Patients with Hormone Receptor-Positive, Human Epidermal Growth Factor Receptor 2-Negative Metastatic Breast Cancer with Prior Exposure to Aromatase Inhibitors: A GINECO Study ». *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 30 (22): 2718-24.
- Barbieri, F, SThellung, A Ratto, E Carra, V Marini, C Fucile, A Bajetto, et al. 2015. « In vitro and in vivo antiproliferative activity of metformin on stem-like cells isolated from spontaneous canine mammary carcinomas: translational implications for human tumors ». *BioMed Central Cancer* 15 (8): 221-28.
- Barnes, K, E McIntosh, A D Whetton, G Q Daley, J Bentley, et S A Baldwin. 2005. « Chronic Myeloid Leukaemia: An Investigation into the Role of Bcr-Abl-Induced Abnormalities in Glucose Transport Regulation ». *Oncogene* 24 (20): 3257-67.
- Baselga, J, M Campone, M Piccart, H A Burris, H S Rugo, T Sahmoud, S Noguchi, et al. 2012. « Everolimus in Postmenopausal Hormone-Receptor-Positive Advanced Breast Cancer ». *The New England Journal of Medicine* 366 (6): 520-29.
- Baur, M, M Gneist, T Owa, et C Dittich. 2007. « Clinical Complete Long-Term Remission of a Patient with Metastatic Malignant Melanoma under Therapy with Indisulam (E7070) ». *Melanoma Research* 17 (5): 329-31.
- Behbakht, K, M W Sill, K M. Darcy, C Rubin, R S Mannel, S Waggoner, R J Schilder, K Q Cai, A K Godwin, et R K Alpaugh. 2011. « Phase II Trial of the MTOR Inhibitor, Temsirolimus and Evaluation of Circulating Tumor Cells and Tumor Biomarkers in Persistent and Recurrent Epithelial Ovarian and Primary Peritoneal Malignancies: A Gynecologic Oncology Group Study ». *Gynecologic Oncology* 123 (1): 19-26.
- Bensinger, S J, et H R Christofk. 2012. « New aspects of the Warburg effect in cancer cell biology ». *Seminars in Cell & Developmental Biology, Cancer Cell Metabolism & Notch Signaling*, 23 (4): 352-61.
- Berg, J, M Weinstein, D Springfield, et W Rand. 1995. « Results of Surgery and Doxorubicin Chemotherapy in Dogs with Osteosarcoma. ». *Journal of the American Veterinary Medical Association* 206 (10): 1555-60.
- Berg J M, J L Tymoczko et L Stryer. 2013a. « Glycolyse et Néoglucogénèse ». *Biochimie 7ème édition*. Paris : Lavoisier, 453-91.
- Berg J M, J L Tymoczko et L Stryer. 2013b. « Cycle de l'acide citrique ». *Biochimie 7ème édition*. Paris : Lavoisier, 497-518.
- Berg J M, J L Tymoczko et L Stryer. 2013c. « La phosphorylation oxydative ». *Biochimie 7ème édition*. Paris : Lavoisier, 525-59.
- Berruti, A, R Bitossi, G Gorzegno, A Bottini, P Alquati, A De Matteis, F Nuzzo, et al. 2002. « Time to Progression in Metastatic Breast Cancer Patients Treated with Epirubicin Is Not Improved by the Addition of Either Cisplatin or Lonidamine: Final Results of a Phase III Study with a Factorial Design ». *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 20 (20): 4150-59.
- Betterlife. *Betterlife.com Vitamins and Supplements*. [en ligne], URL : <http://www.betterlife.com/>. [consulté le 15 septembre 2016]
- Beuster, G, K Zarse, C Kaleta, R Thierbach, M Kiehntopf, P Steinberg, S Schuster, et M Ristow. 2011. « Inhibition of Alanine Aminotransferase in Silico and in Vivo Promotes Mitochondrial Metabolism to Impair Malignant Growth ». *Journal of Biological Chemistry* 286 (25): 22323-30.
- Bhaskar, A, et B N Tiwary. 2016. « Hypoxia Inducible Factor-1 Alpha and Multiple Myeloma ». *International Journal of Advanced Research* 4 (1): 706-15.



- Bhat, T A, S Kumar, A K Chaudhary, N Yadav, et D Chandra. 2015. « Restoration of Mitochondria Function as a Target for Cancer Therapy ». *Drug Discovery Today* 20 (5): 635-43.
- Billiard, J, J B Dennison, J Briand, R S Annan, D Chai, M Colón, C S Dodson, et al. 2013. « Quinoline 3-Sulfonamides Inhibit Lactate Dehydrogenase A and Reverse Aerobic Glycolysis in Cancer Cells ». *Cancer & Metabolism* 1 (1): 1-19.
- Blagosklonny, M V. 2012. « Rapalogs in Cancer Prevention: Anti-Aging or Anticancer? » *Cancer Biology & Therapy* 13 (14): 1349-54.
- Bonnet, S, S L Archer, J Allalunis-Turner, A Haromy, C Beaulieu, R Thompson, C T Lee, et al. 2007. « A Mitochondria-K<sup>+</sup> Channel Axis Is Suppressed in Cancer and Its Normalization Promotes Apoptosis and Inhibits Cancer Growth ». *Cancer Cell* 11 (1): 37-51.
- Bucay, A H. 2009. « Hypothesis proved...citric acid (citrate) does improve cancer: A case of a patient suffering from medullary thyroid cancer ». *Medical Hypotheses* 73 (2): 271-79.
- Bucay, A H. 2011. « Clinical report: A patient with primary peritoneal mesothelioma that has improved after taking citric acid orally ». *Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology* 35 (3): 241-48.
- Budczies, J, B M Pfitzner, B Györffy, K Winzer, C Radke, M Dietel, O Fiehn, et C Denkert. 2015. « Glutamate Enrichment as New Diagnostic Opportunity in Breast Cancer ». *International Journal of Cancer* 136 (7): 1619-28.
- Byun, E, J W Lim, J M Kim, et H Kim. 2014. «  $\alpha$ -Lipoic Acid Inhibits Helicobacter Pylori-Induced Oncogene Expression and Hyperproliferation by Suppressing the Activation of NADPH Oxidase in Gastric Epithelial Cells ». *Mediators of Inflammation* 38 (8): 232-39.
- Caino, M C, et D C Altieri. 2016. « Molecular Pathways: Mitochondrial Reprogramming in Tumor Progression and Therapy ». *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research* 22 (3): 540-45.
- Canu, B, A Fioravanti, P Orlandi, T Di Desidero, G Alì, G Fontanini, A Di Paolo, M Del Tacca, R Danesi, et G Bocci. 2011. « Irinotecan Synergistically Enhances the Antiproliferative and Proapoptotic Effects of Axitinib In Vitro and Improves Its Anticancer Activity In Vivo ». *Neoplasia (New York, N.Y.)* 13 (3): 217-29.
- Cao, W, S Yacoub, K T Shiverick, K Namiki, Y Sakai, S Porvasnik, C Urbanek, et C J Rosser. 2008. « Dichloroacetate (DCA) Sensitizes Both Wild-Type and over Expressing Bcl-2 Prostate Cancer Cells in Vitro to Radiation ». *The Prostate* 68 (11): 1223-31.
- Cao, X, L Fang, S Gibbs, Y Huang, Z Dai, P Wen, X Zheng, W Sadee, et D Sun. 2007. « Glucose Uptake Inhibitor Sensitizes Cancer Cells to Daunorubicin and Overcomes Drug Resistance in Hypoxia ». *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* 59 (4): 495-505.
- Cardone, R A, V Casavola, et S J Reshkin. 2005. « The Role of Disturbed PH Dynamics and the Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> Exchanger in Metastasis ». *Nature Reviews. Cancer* 5 (10): 786-95.
- Casneuf, V F, P Fonteyne, N Van Damme, P Demetter, P Pauwels, B de Hemptinne, M De Vos, C Van de Wiele, et M Peeters. 2008. « Expression of SGLT1, Bcl-2 and P53 in Primary Pancreatic Cancer Related to Survival ». *Cancer Investigation* 26 (8): 852-59.
- Cassago, A, A P S Ferreira, I M Ferreira, C Fornezari, E R M Gomes, K S Greene, H M Pereira, R C Garratt, S M G Dias, et A L B Ambrosio. 2012. « Mitochondrial Localization and Structure-Based Phosphate Activation Mechanism of Glutaminase C with Implications for Cancer Metabolism ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 109 (4): 1092-97.

- Castro-Vega, L J, A Buffet, A A De Cubas, A Cascón, M Menara, E Khalifa, L Amar, et al. 2014. « Germline Mutations in FH Confer Predisposition to Malignant Pheochromocytomas and Paragangliomas ». *Human Molecular Genetics* 23 (9): 2440-46.
- Cazzaniga, M, et B Bonanni. 2015. « Breast Cancer Metabolism and Mitochondrial Activity: The Possibility of Chemoprevention with Metformin ». *BioMed Research International* 97 (21) 93-99.
- CCOGC. *Home* [en ligne], URL : <http://ccogc.net/>. [consulté le 10 mai 2017]
- Cervantes-Madrid, D, Y Romero, et A Lez. 2015. « Reviving Lonidamine and 6-Diazo-5-Oxo-L-Norleucine to Be Used in Combination for Metabolic Cancer Therapy, Reviving Lonidamine and 6-Diazo-5-Oxo-L-Norleucine to Be Used in Combination for Metabolic Cancer Therapy ». *BioMed Research International* 69 (4): 1155-62.
- Cesari, I M, E Carvalho, M F Rodrigues, B Dos Santos Mendonça, N Dias Amôedo, et F D Rumjanek. 2014. « Methyl Jasmonate: Putative Mechanisms of Action on Cancer Cells Cycle, Metabolism, and Apoptosis ». *International Journal of Cell Biology* 57 (20): 97-115.
- Chang, J M, J W Chung, H J Jae, H Eh, K R Son, K C Lee, et J H Park. 2007. « Local Toxicity of Hepatic Arterial Infusion of Hexokinase II Inhibitor, 3-Bromopyruvate: In Vivo Investigation in Normal Rabbit Model ». *Academic Radiology* 14 (1): 85-92.
- Chen, J, J Xie, Z Jiang, B Wang, Y Wang, et X Hu. 2011. « Shikonin and Its Analogs Inhibit Cancer Cell Glycolysis by Targeting Tumor Pyruvate Kinase-M2 ». *Oncogene* 30 (42): 4297-4306.
- Chen, J, et J Russo. 2012. « Dysregulation of glucose transport, glycolysis, TCA cycle and glutaminolysis by oncogenes and tumor suppressors in cancer cells ». *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer* 1826 (2): 370-84.
- Chen, Z, T Zhang, B Wu, et X Zhang. 2016. « Insights into the Therapeutic Potential of Hypoxia-Inducible Factor-1 $\alpha$  Small Interfering RNA in Malignant Melanoma Delivered via Folate-Decorated Cationic Liposomes ». *International Journal of Nanomedicine* 114 (11): 991-1002.
- Choi, S Y, J H Yu, et H Kim. 2009. « Mechanism of Alpha-Lipoic Acid-Induced Apoptosis of Lung Cancer Cells ». *Annals of the New York Academy of Sciences* 1171 (8): 149-55.
- Christofk, H R, M G Vander Heiden, M H Harris, A Ramanathan, R E Gerszten, R Wei, M D Fleming, S L Schreiber, et L C Cantley. 2008. « The M2 Splice Isoform of Pyruvate Kinase Is Important for Cancer Metabolism and Tumour Growth ». *Nature* 452 (7184): 230-33.
- Chu, C A, N Wiernsperger, N Muscato, M Knauf, D W Neal, et A D Cherrington. 2000. « The acute effect of metformin on glucose production in the conscious dog is primarily attributable to inhibition of glycogenolysis ». *Metabolism* 49 (12): 1619-26.
- Chuah, L O, S K Yeap, W Y Ho, Bo K Beh, et N B Alitheen. 2012. « In Vitro and In Vivo Toxicity of Garcinia or Hydroxycitric Acid: A Review ». *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine : eCAM* 2 (1) 15-26.
- Clark, G R, M Sciacovelli, E Gaude, D M Walsh, G Kirby, M A Simpson, R C Trembath, et al. 2014. « Germline FH Mutations Presenting with Pheochromocytoma ». *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 99 (10): 2046-50.
- Clark, O, K Yen, et I K Mellingerhoff. 2016. « Molecular Pathways: Isocitrate Dehydrogenase Mutations in Cancer ». *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research* 22 (8): 1837-42.
- Clem, B, S Telang, A Clem, A Yalcin, J Meier, A Simmons, M A Rasku, et al. 2008. « Small-Molecule Inhibition of 6-Phosphofructo-2-Kinase Activity Suppresses Glycolytic Flux and Tumor Growth ». *Molecular Cancer Therapeutics* 7 (1): 110-20.

- ClinicalTrials.gov. *Home - ClinicalTrials.gov*. [en ligne], URL : <https://clinicaltrials.gov/>. [consulté le 10 septembre 2016]
- Cocco, P. 1987. « Does G6PD deficiency protect against cancer? A critical review. » *Journal of Epidemiology and Community Health* 41 (2): 89-93.
- Cornejo, K M, M Lu, P Yang, S Wu, C Cai, W Zhong, A Olumi, R H Young, et C Wu. 2015. « Succinate Dehydrogenase B: A New Prognostic Biomarker in Clear Cell Renal Cell Carcinoma ». *Human Pathology* 46 (6): 820-26.
- Coy, J F, D Dressler, J Wilde, et P Schubert 2005. « Mutations in the Transketolase-like Gene TKTL1: Clinical Implications for Neurodegenerative Diseases, Diabetes and Cancer ». *Clinical Laboratory* 51 (5-6): 257-73.
- Cremer, D R, R Rabeler, A Roberts, et B Lynch. 2006. « Long-Term Safety of Alpha-Lipoic Acid (ALA) Consumption: A 2-Year Study ». *Regulatory Toxicology and Pharmacology: RTP* 46 (3): 193-201.
- Cucherat, M. 2013. *MedFac Calc - La calculette de la médecine factuelle*. [en ligne], URL : <http://www.spc.univ-lyon1.fr/mfcalc/index.htm>. [consulté le 25 avril 2017]
- Dagli M, M Nagamine, I Mackowiak da Fonseca, et L Gentile. 2017. « Effects of Sodium Dicholoacetate on canine and human neoplastic and non-neoplastic mammary epithelial cell cultures ». In : *Proceedings of the European Society of Veterinary Oncology*, April 20-22, 2017, Lyon, France, 77p.
- Dang, L, K Yen, et E C Attar. 2016. « IDH Mutations in Cancer and Progress toward Development of Targeted Therapeutics ». *Annals of Oncology: Official Journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO* 27 (4): 599-608.
- Daniele, S, C Giacomelli, E Zappelli, C Granchi, M Trincavelli, F Minutolo, et C Martini. 2015. « Lactate Dehydrogenase-A Inhibition Induces Human Glioblastoma Multiforme Stem Cell Differentiation and Death ». *Scientific Reports* 5 (4): 15556-63.
- Daye, D, et K E Wellen. 2012. « Metabolic reprogramming in cancer: Unraveling the role of glutamine in tumorigenesis ». *Seminars in Cell & Developmental Biology, Cancer Cell Metabolism & Notch Signaling*, 23 (4): 362-69.
- De Milito, A, R Canese, M L Marino, M Borghi, M Iero, AVilla, G Venturi, et al. 2010. « PH-Dependent Antitumor Activity of Proton Pump Inhibitors against Human Melanoma Is Mediated by Inhibition of Tumor Acidity ». *International Journal of Cancer* 127 (1): 207-19.
- De Milito, A, E Iessi, M Logozzi, F Lozupone, M Spada, M L Marino, C Federici, et al. 2007. « Proton Pump Inhibitors Induce Apoptosis of Human B-Cell Tumors through a Caspase-Independent Mechanism Involving Reactive Oxygen Species ». *Cancer Research* 67 (11): 5408-17.
- DeBerardinis, R J, et N S Chandel. 2016. « Fundamentals of cancer metabolism ». *Science Advances* 2 (5): 1126-38.
- DeBerardinis, R J, et T Cheng. 2010. « Q's next: The diverse functions of glutamine in metabolism, cell biology and cancer ». *Oncogene* 29 (3): 313-24.
- Dhar, S, et S J Lippard. 2009. « Mitaplatin, a Potent Fusion of Cisplatin and the Orphan Drug Dichloroacetate ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106 (52): 22199-204.
- Di Desidero, T, P Xu, S Man, G Bocci, et R S Kerbel. 2015. « Potent efficacy of metronomic topotecan and pazopanib combination therapy in preclinical models of primary or late stage metastatic triple-negative breast cancer ». *Oncotarget* 6 (40): 42396-410.
- Di Michele, M, S Marcone, L Cicchillitti, A Della Corte, C Ferlini, G Scambia, M B Donati, et D Rotilio. 2010. « Glycoproteomics of Paclitaxel Resistance in Human Epithelial Ovarian Cancer Cell Lines: Towards the Identification of Putative Biomarkers ». *Journal of Proteomics* 73 (5): 879-98.

- Diaz-Ruiz, R, M Rigoulet, et A Devin. 2011. « The Warburg and Crabtree effects: On the origin of cancer cell energy metabolism and of yeast glucose repression ». *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, Bioenergetics of Cancer, 1807 (6): 568-76.
- Dittrich, C, A S Zandvliet, M Gneist, A D R Huitema, A J King, et J Wanders. 2007. « A Phase I and Pharmacokinetic Study of Indisulam in Combination with Carboplatin ». *British Journal of Cancer* 96 (4): 559-66.
- Dong, G, Q Mao, W Xia, Y Xu, J Wang, L Xu, et F Jiang. 2016. « PKM2 and Cancer: The Function of PKM2 beyond Glycolysis ». *Oncology Letters* 11 (3): 1980-86.
- Draoui, N, O Schicke, E Seront, C Bouzin, P Sonveaux, O Riant, et O Feron. 2014. « Antitumor Activity of 7-Aminocarboxycoumarin Derivatives, a New Class of Potent Inhibitors of Lactate Influx but Not Efflux ». *Molecular Cancer Therapeutics* 13 (6): 1410-18.
- Duan, Y, X Zhao, W Ren, X Wang, K Yu, D Li, X Zhang, et Q Zhang. 2013. « Antitumor Activity of Dichloroacetate on C6 Glioma Cell: In Vitro and in Vivo Evaluation ». *OncoTargets and Therapy* 12 (6): 189-98.
- Dunbar, E M, B S Coats, A L Shroads, T Langaee, A Lew, J R Forder, J J Shuster, A Wagner, et P W Stacpoole. 2014. « Phase 1 Trial of Dichloroacetate (DCA) in Adults with Recurrent Malignant Brain Tumors ». *Investigational New Drugs* 32 (3): 452-64.
- Dwarakanath, B S, D Singh, A K. Banerji, R Sarin, N K Venkataramana, R Jalali, P N Vishwanath, et al. 2009. « Clinical Studies for Improving Radiotherapy with 2-Deoxy-D-Glucose: Present Status and Future Prospects ». *Journal of Cancer Research and Therapeutics* 5 (9): S21-26.
- Earhart, R H, D J Amato, A Y Chang, E C Borden, M Shiraki, M E Dowd, R L Comis, T E Davis, et T J Smith. 1990. « Phase II Trial of 6-Diazo-5-Oxo-L-Norleucine versus Aclacinomycin-A in Advanced Sarcomas and Mesotheliomas ». *Investigational New Drugs* 8 (1): 113-19.
- ECOG-ACRIN. *ECOG Performance Status*. [en ligne], URL : <http://ecog-acrin.org/resources/ecog-performance-status>. [consulté le 27 avril 2017]
- Eigenmann, J E, D F Patterson, et E R Froesch. 1984. « Body Size Parallels Insulin-like Growth Factor I Levels but Not Growth Hormone Secretory Capacity ». *Acta Endocrinologica* 106 (4): 448-53.
- El Sayed, S M, W G Mohamed, M H Seddik, A A Ahmed, A G Mahmoud, W H Amer, M M H Nabo, A R Hamed, N S Ahmed, et A A Abd-Allah. 2014. « Safety and Outcome of Treatment of Metastatic Melanoma Using 3-Bromopyruvate: A Concise Literature Review and Case Study ». *Chinese Journal of Cancer* 33 (7): 356-64.
- Elliott, R L, X P Jiang, et J F Head. 2012. « Mitochondria Organelle Transplantation: Introduction of Normal Epithelial Mitochondria into Human Cancer Cells Inhibits Proliferation and Increases Drug Sensitivity ». *Breast Cancer Research and Treatment* 136 (2): 347-54.
- Elstrom, R L, D E Bauer, M Buzzai, R Karnauskas, M H Harris, D R Plas, H Zhuang, et al. 2004. « Akt Stimulates Aerobic Glycolysis in Cancer Cells ». *Cancer Research* 64 (11): 3892-99.
- Erecińska, M, J Deas, et I A Silver. 1995. « The Effect of PH on Glycolysis and Phosphofructokinase Activity in Cultured Cells and Synaptosomes ». *Journal of Neurochemistry* 65 (6): 2765-72.
- Esteva, F J, S L Moulder, A M Gonzalez-Angulo, J Ensor, J L Murray, M C Green, K B Koenig, M Lee, G N Hortobagyi, et S Yeung. 2012. « Phase I Trial of Exemestane in Combination with Metformin and Rosiglitazone in Nondiabetic Obese Postmenopausal Women with Hormone Receptor-positive Metastatic Breast Cancer ». *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* 71 (1): 63-72.

- European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. Veterinary Medicines and Information Technology Unit. 2000. *VICH Topic GL9 (GCP) - WC500004343.pdf*. [en ligne], URL: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2009/10/WC500004343.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/10/WC500004343.pdf) [consulté le 08 mai 2017]
- Fahim, F A, A Y Esmat, E A Mady, et E K Ibrahim. 2003. « Antitumor Activities of Iodoacetate and Dimethylsulphoxide against Solid Ehrlich Carcinoma Growth in Mice ». *Biological Research* 36 (2): 253-62.
- Fantin, V R, J St-Pierre, et P Leder. 2006. « Attenuation of LDH-A Expression Uncovers a Link between Glycolysis, Mitochondrial Physiology, and Tumor Maintenance ». *Cancer Cell* 9 (6): 425-34.
- Fazio, N, D Granberg, A Grossman, S Saletan, J Klimovsky, A Panneerselvam, et E M Wolin. 2013. « Everolimus plus Octreotide Long-Acting Repeatable in Patients with Advanced Lung Neuroendocrine Tumors: Analysis of the Phase 3, Randomized, Placebo-Controlled RADIANT-2 Study ». *Chest* 143 (4): 955-62.
- Feron, O. 2009. « Pyruvate into Lactate and Back: From the Warburg Effect to Symbiotic Energy Fuel Exchange in Cancer Cells ». *Radiotherapy and Oncology: Journal of the European Society for Therapeutic Radiology and Oncology* 92 (3): 329-33.
- Ferrari, S, F Perut, F Fagioli, A B Del Prever, C Meazza, A Parafioriti, P Picci, et al. 2013. « Proton pump inhibitor chemosensitization in human osteosarcoma: from the bench to the patients' bed ». *Journal of Translational Medicine* 79 (11): 268-79.
- Filipp, F V. 2013. « Cancer Metabolism Meets Systems Biology: Pyruvate Kinase Isoform PKM2 Is a Metabolic Master Regulator ». *Journal of Carcinogenesis* 23 (12): 14-26.
- Filipp, F V, D A Scott, Z A Ronai, A L Osterman, et J W Smith. 2012. « Reverse TCA cycle flux through isocitrate dehydrogenases 1 and 2 is required for lipogenesis in hypoxic melanoma cells ». *Pigment cell & melanoma research* 25 (3): 375-83.
- Fiveash, J B, S A Chowdhary, D Peereboom, T Mikkelsen, L B Nabors, G J Lesser, M R Rosenfeld, X Ye, et S A Grossman. 2009. « NABTT-0702: A phase II study of R-(-)-gossypol (AT-101) in recurrent glioblastoma multiforme (GBM) ». *Journal of Clinical Oncology* 27 (15): 201-15.
- Flaig, T W, D L Gustafson, L Su, J A Zirrolli, F Crighton, G S Harrison, A S Pierson, R Agarwal, et L M Glodé. 2007. « A Phase I and Pharmacokinetic Study of Silybin-Phytosome in Prostate Cancer Patients ». *Investigational New Drugs* 25 (2): 139-46.
- Floridi, A, M G Paggi, M L Marcante, B Silvestrini, A Caputo, et C De Martino. 1981. « Lonidamine, a Selective Inhibitor of Aerobic Glycolysis of Murine Tumor Cells ». *Journal of the National Cancer Institute* 66 (3): 497-99.
- Frohman, L A, et K Nagai. 1976. « Central nervous system-mediated stimulation of glucagon secretion in the dog following 2-deoxyglucose ». *Metabolism* 25 (11): 1449-52.
- Ganapathy-Kanniappan, S, J H Geschwind, R Kunjithapatham, M Buijs, J A Vossen, I Tchernyshyov, R N Cole, et al. 2009. « Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase (GAPDH) Is Pyruvylated during 3-Bromopyruvate Mediated Cancer Cell Death ». *Anticancer Research* 29 (12): 4909-18.
- Gao, C, C Liang, Z Nie, Y Liu, J Wang, et D Zhang. 2015. « Alkannin Inhibits Growth and Invasion of Glioma Cells C6 through IQGAP/MTOR Signal Pathway ». *International Journal of Clinical and Experimental Medicine* 8 (4): 5287-94.
- Garon, E B, H Christofk, W Hosmer, C D Britten, A Bahng, M J Crabtree, C Sun Hong, et al. 2014. « Dichloroacetate Should Be Considered with Platinum-Based Chemotherapy in Hypoxic Tumors Rather than as a Single Agent in Advanced Non-Small Cell Lung Cancer ». *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology* 140 (3): 443-52.

- Garrett, C R, T S Bekaii-Saab, T Ryan, G A Fisher, S Clive, P Kavan, E Shacham-Shmueli, A Buchbinder, et R M. Goldberg. 2013. « Randomized Phase 2 Study of Pegylated SN-38 (EZN-2208) or Irinotecan plus Cetuximab in Patients with Advanced Colorectal Cancer ». *Cancer* 119 (24): 4223-30.
- Glickman, L T, M Raghavan, D W Knapp, P L Bonney, et M H Dawson. 2004. « Herbicide exposure and the risk of transitional cell carcinoma of the urinary bladder in Scottish Terriers ». *Journal of the American Veterinary Medical Association* 224 (8): 1290-97.
- Godin, C S, K E Engelke, et J F Geschwind. 2015. « Repeat Dose Toxicity Studies of 3-Bromopyruvate in Dogs Following Intrahepatic Artery and Intraperitoneal Infusion. » *International journal of toxicology* 34 (1): 2455-62.
- Goldberg, M S, et P A Sharp. 2012. « Pyruvate Kinase M2-Specific SiRNA Induces Apoptosis and Tumor Regression ». *The Journal of Experimental Medicine* 209 (2): 217-24.
- Goldin, N, L Arzoine, A Heyfets, A Israelson, Z Zaslavsky, T Bravman, V Bronner, A Notcovich, V Shoshan-Barmatz, et E Flescher. 2008. « Methyl Jasmonate Binds to and Detaches Mitochondria-Bound Hexokinase ». *Oncogene* 27 (34): 4636-43.
- Goodwin, P J, W R Parulekar, K A Gelmon, L E Shepherd, J A Ligibel, D L Hershman, P Rastogi, et al. 2015. « Effect of Metformin vs Placebo on and Metabolic Factors in NCIC CTG MA.32 ». *Journal of the National Cancer Institute* 107 (3): 147-59.
- Gordon, I, M Paoloni, C Mazcko, et C Khanna. 2009. « The Comparative Oncology Trials Consortium: Using Spontaneously Occurring Cancers in Dogs to Inform the Cancer Drug Development Pathway ». *PLoS Medicine* 6 (10): 152-161.
- Gottlieb, E, et I P Tomlinson. 2005. « Mitochondrial Tumour Suppressors: A Genetic and Biochemical Update ». *Nature Reviews. Cancer* 5 (11): 857-66.
- Greenberger, L M, I D Horak, D Filpula, P Sapra, M Westergaard, H F Frydenlund, C Albaek, H Schrøder, et H Ørum. 2008. « A RNA Antagonist of Hypoxia-Inducible Factor-1alpha, EZN-2968, Inhibits Tumor Cell Growth ». *Molecular Cancer Therapeutics* 7 (11): 3598-608.
- Griss, T, E E Vincent, R Egnatchik, J Chen, E H Ma, B Faubert, B Viollet, R J DeBerardinis, et R G Jones. 2015. « Metformin Antagonizes Cancer Cell Proliferation by Suppressing Mitochondrial-Dependent Biosynthesis ». *PLoS Biology* 13 (12): 312-25.
- Gross, M I, S D Demo, J B Dennison, L C, T Chernov-Rogan, B Goyal, J R Janes, et al. 2014. « Antitumor Activity of the Glutaminase Inhibitor CB-839 in Triple-Negative Breast Cancer ». *Molecular Cancer Therapeutics* 13 (4): 890-901.
- Gu, H R, S C Park, S J Choi, J C Lee, Y C Kim, C J Han, J Kim, et al. 2015. « Combined Treatment with Silibinin and Either Sorafenib or Gefitinib Enhances Their Growth-Inhibiting Effects in Hepatocellular Carcinoma Cells ». *Clinical and Molecular Hepatology* 21 (1): 49-59.
- Guais, A, G Baronzio, E Sanders, F Campion, C Mainini, G Fiorentini, F Montagnani, M Behzadi, L Schwartz, et M Abolhassani. 2012. « Adding a Combination of Hydroxycitrate and Lipoic Acid (METABLOC™) to Chemotherapy Improves Effectiveness against Tumor Development: Experimental Results and Case Report ». *Investigational New Drugs* 30 (1): 200-211.
- Guo, C, S Liu, et M Sun. 2013. « Novel Insight into the Role of GAPDH Playing in Tumor ». *Clinical & Translational Oncology: Official Publication of the Federation of Spanish Oncology Societies and of the National Cancer Institute of Mexico* 15 (3): 167-72.
- Hadad, S M, P Coates, L B Jordan, R J O Dowling, M C Chang, S J Done, C A Purdie, et al. 2015. « Evidence for Biological Effects of Metformin in Operable Breast Cancer: Biomarker Analysis in a Pre-Operative Window of Opportunity Randomized Trial ». *Breast Cancer Research and Treatment* 150 (1): 149-55.

- Halestrap, A P. 2012. « The Monocarboxylate Transporter Family—Structure and Functional Characterization ». *IUBMB Life* 64 (1): 1-9.
- Han, X, X Sheng, H M Jones, A L Jackson, J Kilgore, J E Stine, M N Schointuch, C Zhou, et V L Bae-Jump. 2015. « Evaluation of the Anti-Tumor Effects of Lactate Dehydrogenase Inhibitor Galloflavin in Endometrial Cancer Cells ». *Journal of Hematology & Oncology* 4 (8): 2-14.
- Hanahan, D, et R A Weinberg. 2000. « The Hallmarks of Cancer ». *Cell* 100 (1): 57-70.
- . 2011. « Hallmarks of Cancer: The Next Generation ». *Cell* 144 (5): 646-74.
- Harada, K, T Ferdous, T Harada, et Y Ueyama. 2016. « Metformin in Combination with 5-Fluorouracil Suppresses Tumor Growth by Inhibiting the Warburg Effect in Human Oral Squamous Cell Carcinoma ». *International Journal of Oncology* 49 (1): 276-84.
- Harguindey, S, J L Arranz, J D P Orozco, C Rauch, S Fais, R A Cardone, et S J Reshkin. 2013. « Cariporide and other new and powerful NHE1 inhibitors as potentially selective anticancer drugs – an integral molecular/biochemical/metabolic/clinical approach after one hundred years of cancer research ». *Journal of Translational Medicine* 11 (11): 282-292.
- Hatzivassiliou, G, F Zhao, D E Bauer, C Andreadis, A N Shaw, D Dhanak, S R Hingorani, D A Tuveson, et Craig B Thompson. 2005. « ATP Citrate Lyase Inhibition Can Suppress Tumor Cell Growth ». *Cancer Cell* 8 (4): 311-21.
- Hayes, A M, V J Adams, T J Scase, et S Murphy. 2007. « Survival of 54 Cats with Oral Squamous Cell Carcinoma in United Kingdom General Practice ». *The Journal of Small Animal Practice* 48 (7): 394-99.
- Henning, S M, P Wang, J W Said, M Huang, T Grogan, D Elashoff, C L Carpenter, D Heber, et W J Aronson. 2015. « Randomized Clinical Trial of Brewed Green and Black Tea in Men with Prostate Cancer Prior to Prostatectomy ». *The Prostate* 75 (5): 550-59.
- Herter, F P, S G Weissman, H G Thompson, G Hyman, et D S Martin. 1961. « Clinical Experience with 6-Aminonicotinamide ». *Cancer Research* 21 (1): 31-37.
- Herzog, T J, M W Sill, J L Walker, D O'Malley, M Shahin, K DeGeest, S A Weiner, D Mutch, R L DeBernardo, et S S Lentz. 2011. « A Phase II Study of Two Topotecan Regimens Evaluated in Recurrent Platinum-Sensitive Ovarian, Fallopian Tube or Primary Peritoneal Cancer: A Gynecologic Oncology Group Study (GOG 146Q) ». *Gynecologic Oncology* 120 (3): 454-58.
- Heshe, D, S Hoogestraat, C Brauckmann, U Karst, J Boos, et C Lanvers-Kaminsky. 2011. « Dichloroacetate Metabolically Targeted Therapy Defeats Cytotoxicity of Standard Anticancer Drugs ». *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* 67 (3): 647-55.
- Higurashi, T, K Hosono, H Takahashi, Y Komiya, S Umezawa, E Sakai, T Uchiyama, et al. 2016. « Metformin for Chemoprevention of Metachronous Colorectal Adenoma or Polyps in Post-Polypectomy Patients without Diabetes: A Multicentre Double-Blind, Placebo-Controlled, Randomised Phase 3 Trial ». *The Lancet Oncology* 17 (4): 475-83.
- Hill, A S, J A Werner, Q R Rogers, S L O'Neill, et M M Christopher. 2004. « Lipoic Acid Is 10 Times More Toxic in Cats than Reported in Humans, Dogs or Rats ». *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 88 (3-4): 150-56.
- Hirschey, M D, R J DeBerardinis, A M E Diehl, J E Drew, C Frezza, M F Green, L W Jones, et al. 2015. « Dysregulated metabolism contributes to oncogenesis ». *Seminars in Cancer Biology* 12 (35):129-50.
- Hitosugi, T, L Zhou, S Elf, J Fan, H Kang, J H Seo, C Shan, et al. 2012. « Phosphoglycerate Mutase 1 Coordinates Glycolysis and Biosynthesis to Promote Tumor Growth ». *Cancer Cell* 22 (5): 585-600.

- Hulleman, E, K M Kazemier, A Holleman, D J VanderWeele, C M Rudin, M J C Broekhuis, W E Evans, R Pieters, et M L Den Boer. 2009. « Inhibition of Glycolysis Modulates Prednisolone Resistance in Acute Lymphoblastic Leukemia Cells ». *Blood* 113 (9): 2014-21.
- Hurvitz, S A, F Andre, Z Jiang, Z Shao, M S Mano, S P Neciosup, L Tseng, et al. 2015. « Combination of Everolimus with Trastuzumab plus Paclitaxel as First-Line Treatment for Patients with HER2-Positive Advanced Breast Cancer (BOLERO-1): A Phase 3, Randomised, Double-Blind, Multicentre Trial ». *The Lancet. Oncology* 16 (7): 816-29.
- Icard, P, P Kafara, J Steyaert, L Schwartz, et H Lincet. 2014. « The metabolic cooperation between cells in solid cancer tumors ». *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer* 1846 (1): 216-25.
- Icard, P, et H Lincet. 2013. « La tumeur cancéreuse : un parasite métabolique ? » *Bulletin du Cancer* 100 (5): 427-33.
- Imrali, A, X Mao, M Yeste-Velasco, J Shamash, et Y Lu. 2016. « Rapamycin Inhibits Prostate Cancer Cell Growth through Cyclin D1 and Enhances the Cytotoxic Efficacy of Cisplatin ». *American Journal of Cancer Research* 6 (8): 1772-84.
- Institut National de l'Environnement Industriel et des RISques. *INERIS - Portail Substances Chimiques, accueil*. [en ligne], URL : <http://www.ineris.fr/substances/fr/>. [consulté le 20 avril 2017]
- Inoki, K, et K Guan. 2006. « Complexity of the TOR Signaling Network ». *Trends in Cell Biology* 16 (4): 206-12.
- Ja, K, A Mirakian, et A Kolin. 1988. « Antimetastatic Effect of Amiloride in an Animal Tumour Model. » *Anticancer Research* 8 (6): 1373-76.
- Jang, M, S S Kim, et J Lee. 2013. « Cancer Cell Metabolism: Implications for Therapeutic Targets ». *Experimental & Molecular Medicine* 45 (10): 45-56.
- Jin, G, Z J Reitman, I Spasojevic, I Batinic-Haberle, J Yang, O Schmidt-Kittler, D D Bigner, et H Yan. 2011. « 2-Hydroxyglutarate Production, but Not Dominant Negative Function, Is Conferred by Glioma-Derived NADP<sup>+</sup>-Dependent Isocitrate Dehydrogenase Mutations ». *PLoS ONE* 6 (2): 80-92.
- Jin, L, D Li, G N Alesi, J Fan, H Kang, Z Lu, T J Boggon, et al. 2015. « Glutamate Dehydrogenase 1 Signals through Antioxidant Glutathione Peroxidase 1 to Regulate Redox Homeostasis and Tumor Growth ». *Cancer Cell* 27 (2): 257-70.
- Kaipparettu, B A, Y Ma, J H Park, T Lee, Y Zhang, P Yotnda, C J Creighton, W Chan, et L C Wong. 2013. « Crosstalk from Non-Cancerous Mitochondria Can Inhibit Tumor Properties of Metastatic Cells by Suppressing Oncogenic Pathways ». *PLOS ONE* 8 (5): 47-59.
- Kamiyama, H, S Takano, K Tsuboi, et A Matsumura. 2005. « Anti-Angiogenic Effects of SN38 (Active Metabolite of Irinotecan): Inhibition of Hypoxia-Inducible Factor 1 Alpha (HIF-1 $\alpha$ )/Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) Expression of Glioma and Growth of Endothelial Cells ». *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology* 131 (4): 205-13.
- Kato, Y, S Ozawa, C Miyamoto, Y M, A Suzuki, T Maeda, et Y Baba. 2013. « Acidic Extracellular Microenvironment and Cancer ». *Cancer Cell International* 13 (1): 89-98.
- Keith, R S Johnson, et M C Simon. 2012. « HIF1 $\alpha$  and HIF2 $\alpha$ : Sibling Rivalry in Hypoxic Tumour Growth and Progression ». *Nature Reviews. Cancer* 12 (1): 9-22.
- Kiebish, M A, X Han, H Cheng, J H Chuang, et T N Seyfried. 2008. « Cardiolipin and electron transport chain abnormalities in mouse brain tumor mitochondria: lipidomic evidence supporting the Warburg theory of cancer ». *Journal of Lipid Research* 49 (12): 2545-56.



- Kim, D J, Y S Park, N D Kim, S H Min, Y You, Y Jung, H Koo, et al. 2015. « A Novel Pyruvate Kinase M2 Activator Compound That Suppresses Lung Cancer Cell Viability under Hypoxia ». *Molecules and Cells* 38 (4): 373-79.
- Klippel, S, J Jakubikova, J Delmore, M Ooi, D McMillin, E Kastritis, J Laubach, P G Richardson, K C Anderson, et C S Mitsiades. 2012. « Methyljasmonate Displays in Vitro and in Vivo Activity against Multiple Myeloma Cells ». *British Journal of Haematology* 159 (3): 340-51.
- Ko, Y H, P L Pedersen, et J F Geschwind. 2001. « Glucose Catabolism in the Rabbit VX2 Tumor Model for Liver Cancer: Characterization and Targeting Hexokinase ». *Cancer Letters* 173 (1): 83-91.
- Ko, Y H, B L Smith, Y Wang, M G Pomper, D A Rini, M S Torbenson, J Hullihen, et P L Pedersen. 2004. « Advanced Cancers: Eradication in All Cases Using 3-Bromopyruvate Therapy to Deplete ATP ». *Biochemical and Biophysical Research Communications* 324 (1): 269-75.
- Ko Y H, H A Verhoeven, M J Lee, D J Corbin, T J Vogl, et P L Pedersen. 2012. « A Translational Study “Case Report” on the Small Molecule “Energy Blocker” 3-Bromopyruvate (3BP) as a Potent Anticancer Agent: From Bench Side to Bedside ». *Journal of Bioenergetics and Biomembranes* 44 (1): 163-70.
- Kubo, T, K Fujiwara, K Hotta, T Okada, S Kuyama, S Harita, T Ninomiya, et al. 2016. « A Phase II Study of Topotecan and Cisplatin with Sequential Thoracic Radiotherapy in Elderly Patients with Small-Cell Lung Cancer: Okayama Lung Cancer Study Group 0102 ». *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 16 (8): 3135-46.
- Kung, C, J Hixon, S Choe, K Marks, S Gross, E Murphy, B DeLaBarre, et al. 2012. « Small Molecule Activation of PKM2 in Cancer Cells Induces Serine Auxotrophy ». *Chemistry & Biology* 19 (9): 1187-98.
- Kunjithapatham, R, J F Geschwind, P P Rao, T N Boronina, R N Cole, et S Ganapathy-Kanniappan. 2013. « Systemic administration of 3-bromopyruvate reveals its interaction with serum proteins in a rat model ». *BioMed Central Research Notes* 3 (6): 277-89.
- Kuo, W, J Lin, et T K Tang. 2000. « Human Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase (G6PD) Gene Transforms NIH 3T3 Cells and Induces Tumors in Nude Mice ». *International Journal of Cancer* 85 (6): 857-64.
- Lane, M A, D K Ingram, et G S Roth. 1998. « 2-Deoxy-D-Glucose Feeding in Rats Mimics Physiologic Effects of Calorie Restriction ». *Journal of Anti-Aging Medicine* 1 (4): 327-37.
- Lavalle, G E, C B De Campos, A C Bertagnolli, et G D Cassali. 2012. « Canine Malignant Mammary Gland Neoplasms with Advanced Clinical Staging Treated with Carboplatin and Cyclooxygenase Inhibitors ». *In Vivo* 26 (3): 375-79.
- Le, A, C R Cooper, A M Gouw, R Dinavahi, A Maitra, L M Deck, R E Royer, D L Vander Jagt, G L Semenza, et C V Dang. 2010. « Inhibition of Lactate Dehydrogenase A Induces Oxidative Stress and Inhibits Tumor Progression ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107 (5): 2037-42.
- Lee, K, D Khaira, R Rodriguez, C Maturo, K O'Donnell, et R Shorr. 2011. « Long-Term Stable Disease of Stage IV Pancreatic Neuroendocrine Tumors and Without Significant Adverse Effect by CPI-613, an Investigational Novel Anti-Cancer Agent ». *Case Study and Case Report* 1 (3): 137-45.
- Lee, K, J Luddy, C Maturo, R Rodriguez, D A Levitan, D D Hurd, L R Ellis, et al. 2013. « A Phase I Study Of The Safety, Efficacy and Pharmacokinetics Of The First In Class Pyruvate Dehydrogenase Complex Inhibitor Cpi-613 In Patients With Advanced Hematologic Malignancies ». *Blood* 122 (21): 486-97.

- Lee, M, et J Yoon. 2015. « Metabolic Interplay between Glycolysis and Mitochondrial Oxidation: The Reverse Warburg Effect and Its Therapeutic Implication ». *World Journal of Biological Chemistry* 6 (3): 148-61.
- Lee, Y, H Jeon, J E Hong, Y J Cho, J Y Ryu, J Choi, S H Lee, et al. 2015. « Proton Pump Inhibitors Enhance the Effects of Cytotoxic Agents in Chemoresistant Epithelial Ovarian Carcinoma ». *Oncotarget* 6 (33): 35040-50.
- Lengyel, E, L M Litchfield, A K Mitra, K M Nieman, A Mukherjee, Y Zhang, A Johnson, M Bradaric, W Lee, et I L Romero. 2015. « Metformin Inhibits Ovarian Cancer Growth and Increases Sensitivity to Paclitaxel in Mouse Models ». *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 212 (4): 479-90.
- Lenz, J A, C S Robot, et T J Stein. 2016. « Vinblastine as a Second Rescue for the Treatment of Canine Multicentric Lymphoma in 39 Cases (2005 to 2014) ». *Journal of Small Animal Practice* 57 (8): 429-34.
- Leray, V, H Dumon, L Martin, B Siliart, R Sergheraert, V Biourge, et P Nguyen. 2006. « No Effect of Conjugated Linoleic Acid or Garcinia Cambogia on Fat-Free Mass, and Energy Expenditure in Normal Cats ». *The Journal of Nutrition* 136 (7): 1982-89.
- Levy, A G, P E Zage, L J Akers, M L Ghisoli, Z Chen, W Fang, S Kannan, et al. 2012. « The Combination of the Novel Glycolysis Inhibitor 3-BrOP and Rapamycin Is Effective against Neuroblastoma ». *Investigational New Drugs* 30 (1): 191-99.
- Li, B, X Li, Z Ni, Y Zhang, Y Zeng, X Yan, Y Huang, et al. 2016. « Dichloroacetate and Metformin Synergistically Suppress the Growth of Ovarian Cancer Cells ». *Oncotarget* 2 (7):106-14.
- Li, C, Z Xiao, Z Chen, X Zhang, J Li, X Wu, X Li, et al. 2006. « Proteome Analysis of Human Lung Squamous Carcinoma ». *Proteomics* 6 (2): 547-58.
- Li, J, S G Kim, et J Blenis. 2014a. « Rapamycin: One Drug, Many Effects ». *Cell Metabolism* 19 (3): 373-79.
- Li, We, J Liu, K Jackson, R Shi, et Y Zhao. 2014b. « Sensitizing the Therapeutic Efficacy of Taxol with Shikonin in Human Breast Cancer Cells ». *PloS One* 9 (4): 79-90.
- Li, Y C, K P Fung, T T Kwok, C Y Lee, Y K Suen, et S K Kong. 2002. « Mitochondrial Targeting Drug Lonidamine Triggered Apoptosis in Doxorubicin-Resistant HepG2 Cells ». *Life Sciences* 71 (23): 2729-40.
- Libby, G, L A Donnelly, P T Donnan, D R Alessi, A D Morris, et J M M Evans. 2009. « New Users of Metformin Are at Low Risk of Incident Cancer: A Cohort Study among People with Type 2 Diabetes ». *Diabetes Care* 32 (9): 1620-25.
- Lin, C, T Cheng, W Tsai, H Tsai, K Hu, H Chang, C Yeh, Y Chen, C Liao, et W Chang. 2012. « Loss of the Respiratory Enzyme Citrate Synthase Directly Links the Warburg Effect to Tumor Malignancy ». *Scientific Reports* 5 (2): 785-96.
- Lin, G, D K Hill, G Andrejeva, J K R Boulton, H Troy, A L Fong, M R Orton, et al. 2014a. « Dichloroacetate Induces Autophagy in Colorectal Cancer Cells and Tumours ». *British Journal of Cancer* 111 (2): 375-85.
- Lin, J, T Zhan, D Duffy, J Hoffman-Censits, D Kilpatrick, E J Trabulsi, C D Lallas, et al. 2014b. « A Pilot Phase II Study of Digoxin in Patients with Recurrent Prostate Cancer as Evident by a Rising PSA ». *American Journal of Cancer Therapy and Pharmacology* 2 (1): 21-32.
- Lincet, H. 2013. « Importance des voies métaboliques et de leurs cibles dans le traitement des cancers localement agressifs ». Habilitation à Diriger des Recherches. Caen : Université de Caen Basse-Normandie, 118p

- Lincet, H, P Kafara, F Giffard, E Abeilard-Lemoisson, M Duval, M Louis, L Poulain, et P Icard. 2013. « Inhibition of Mcl-1 expression by citrate enhances the effect of Bcl-xL inhibitors on human ovarian carcinoma cells ». *Journal of Ovarian Research* 6 (10): 72-84.
- Lincet, H, et P Icard. 2015. « How Do Glycolytic Enzymes Favour Cancer Cell Proliferation by Nonmetabolic Functions? » *Oncogene* 34 (29): 3751-59.
- Liu, X, Z Yang, Z Chen, R Chen, D Zhao, Y Zhou, et L Qiao. 2015a. « Effects of the Suppression of Lactate Dehydrogenase A on the Growth and Invasion of Human Gastric Cancer Cells ». *Oncology Reports* 33 (1): 157-62.
- Liu, Y, Y Cao, W Zhang, S Bergmeier, Y Qian, H Akbar, R Colvin, et al. 2012. « A Small-Molecule Inhibitor of Glucose Transporter 1 Downregulates Glycolysis, Induces Cell-Cycle Arrest, and Inhibits Cancer Cell Growth in Vitro and in Vivo ». *Molecular Cancer Therapeutics* 11 (8): 1672-82.
- Liu, Y, W Zhang, Y Cao, Y Liu, S Bergmeier, et X Chen. 2010. « Small Compound Inhibitors of Basal Glucose Transport Inhibit Cell Proliferation and Induce Apoptosis in Cancer Cells via Glucose-Deprivation-like Mechanisms ». *Cancer Letters* 298 (2): 176-85.
- Liu, Z, Y Sun, H Hong, S Zhao, X Zou, R Ma, C Jiang, Z Wang, H Li, et H Liu. 2015b. « 3-Bromopyruvate Enhanced Daunorubicin-Induced Cytotoxicity Involved in Monocarboxylate Transporter 1 in Breast Cancer Cells ». *American Journal of Cancer Research* 5 (9): 2673-85.
- Loftin, E G, et L Herold. 2009. « Therapy and Outcome of Suspected Alpha Lipoic Acid Toxicity in Two Dogs ». *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care (San Antonio, Tex.: 2001)* 19 (5): 501-6.
- Lombard-Bohas, C, J C Yao, T Hobday, E Van Cutsem, E M Wolin, A Panneerselvam, S Stergiopoulos, M H Shah, J Capdevila, et R Pommier. 2015. « Impact of Prior Chemotherapy Use on the Efficacy of Everolimus in Patients with Advanced Pancreatic Neuroendocrine Tumors: A Subgroup Analysis of the Phase III RADIANT-3 Trial ». *Pancreas* 44 (2): 181-89.
- Long, X, Y Lin, S Ortiz-Vega, K Yonezawa, et J Avruch. 2005. « Rheb Binds and Regulates the mTOR Kinase ». *Current Biology* 15 (8): 702-13.
- Lu, Y, X Zhang, H Zhang, J Lan, G Huang, E Varin, H Lincet, L Poulain, et P Icard. 2011. « Citrate Induces Apoptotic Cell Death: A Promising Way to Treat Gastric Carcinoma? » *Anticancer Research* 31 (3): 797-805.
- Luciani, F, M Spada, A De Milito, A Molinari, L Rivoltini, A Montinaro, M Marra, et al. 2004. « Effect of Proton Pump Inhibitor Pretreatment on Resistance of Solid Tumors to Cytotoxic Drugs ». *Journal of the National Cancer Institute* 96 (22): 1702-13.
- Lynch, R M, K E Fogarty, et F S Fay. 1991. « Modulation of Hexokinase Association with Mitochondria Analyzed with Quantitative Three-Dimensional Confocal Microscopy ». *The Journal of Cell Biology* 112 (3): 385-95.
- Macheda, M L, S Rogers, et J D Best. 2005. « Molecular and Cellular Regulation of Glucose Transporter (GLUT) Proteins in Cancer ». *Journal of Cellular Physiology* 202 (3): 654-62.
- Madhok, B M, S Yeluri, S L Perry, T A Hughes, et D G Jayne. 2010. « Dichloroacetate Induces Apoptosis and Cell-Cycle Arrest in Colorectal Cancer Cells ». *British Journal of Cancer* 102 (12): 1746-52.
- Maher, J C, A Krishan, et T J Lampidis. 2004. « Greater Cell Cycle Inhibition and Cytotoxicity Induced by 2-Deoxy-D-Glucose in Tumor Cells Treated under Hypoxic vs Aerobic Conditions ». *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* 53 (2): 116-22.

- Maisenbacher, H W, A L Shroads, G Z, A D Daigle, M M Abdelmalak, I S Samper, B D Mincey, M O James, et P W Stacpoole. 2013. « Pharmacokinetics of Oral Dichloroacetate in Dogs ». *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology* 27 (12): 522-25.
- Mann, M L, M Ezzati, E D Tarnawa, et B R Carr. 2015. « Fumarate Hydratase Mutation in a Young Woman With Uterine Leiomyomas and a Family History of Renal Cell Cancer ». *Obstetrics and Gynecology* 126 (1): 90-92.
- Marconato, L, G Crispino, R Finotello, S Mazzotti, F Salerni, et E Zini. 2009. « Serum Lactate Dehydrogenase Activity in Canine Malignancies ». *Veterinary and Comparative Oncology* 7 (4): 236-43.
- Marino, M L, S Fais, M Djavaheri-Mergny, A Villa, S Meschini, F Lozupone, G Venturi, et al. 2010. « Proton pump inhibition induces autophagy as a survival mechanism following oxidative stress in human melanoma cells ». *Cell Death & Disease* 1 (10): 87-96.
- Marsh, J, P Mukherjee, et T N Seyfried. 2008. « Drug/Diet Synergy for Managing Malignant Astrocytoma in Mice: 2-Deoxy-D-Glucose and the Restricted Ketogenic Diet ». *Nutrition & Metabolism* 5 (33): 70-82.
- Martel, F, M Guedes, et E Keating. 2016. « Effect of Polyphenols on Glucose and Lactate Transport by Breast Cancer Cells ». *Breast Cancer Research and Treatment* 157 (1): 1-11.
- Martin-Castillo, B, J Dorca, A Vazquez-Martin, C Oliveras-Ferraros, E Lopez-Bonet, M Garcia, S del Barco, et J A Menendez. 2010. « Incorporating the Antidiabetic Drug Metformin in HER2-Positive Breast Cancer Treated with Neo-Adjuvant Chemotherapy and Trastuzumab: An Ongoing Clinical–translational Research Experience at the Catalan Institute of Oncology ». *Annals of Oncology* 21 (1): 187-89.
- Maschek, G, N Savaraj, W Priebe, P Braunschweiger, K Hamilton, G F Tidmarsh, L R Young, et T J Lampidis. 2004. « 2-Deoxy-D-Glucose Increases the Efficacy of Adriamycin and Paclitaxel in Human Osteosarcoma and Non-Small Cell Lung Cancers in Vivo ». *Cancer Research* 64 (1): 31-34.
- Masereel, B, L Pochet, et D Laeckmann. 2003. « An overview of inhibitors of Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger ». *European Journal of Medicinal Chemistry* 38 (6): 547-54.
- Masoud, G N, et Wei Li. 2015. « HIF-1 $\alpha$  pathway: role, regulation and intervention for cancer therapy ». *Acta Pharmaceutica Sinica. B* 5 (5): 378-89.
- Maurya, D K, R Ayuzawa, C Doi, D Troyer, et M Tamura. 2011. « Topoisomerase I inhibitor SN-38 effectively attenuates growth of human non-small cell lung cancer cell lines in vitro and in vivo ». *Journal of environmental pathology, toxicology and oncology : official organ of the International Society for Environmental Toxicology and Cancer* 30 (1): 1-10.
- Michelakis, E D, G Sutendra, P Dromparis, L Webster, A Haromy, E Niven, C Maguire, et al. 2010. « Metabolic Modulation of Glioblastoma with Dichloroacetate ». *Science Translational Medicine* 2 (31): 31-34.
- Migita, T, T Narita, K Nomura, E Miyagi, F Inazuka, M Matsuura, M Ushijima, et al. 2008. « ATP Citrate Lyase: Activation and Therapeutic Implications in Non-Small Cell Lung Cancer ». *Cancer Research* 68 (20): 8547-54.
- Milrot, E, A Jackman, E Flescher, P Gonen, I Kelson, Y Keisari, et L Sherman. 2013. « Enhanced Killing of Cervical Cancer Cells by Combinations of Methyl Jasmonate with Cisplatin, X or Alpha Radiation ». *Investigational New Drugs* 31 (2): 333-44.
- Min, J, K Huang, H Tang, X Ding, C Qi, X Qin, et Z Xu. 2015. « Phloretin Induces Apoptosis of Non-Small Cell Lung Carcinoma A549 Cells via JNK1/2 and P38 MAPK Pathways ». *Oncology Reports* 34 (6): 2871-79.

- Minchenko, O H, A Ochiai, I L Opentanova, T Ogura, D O Minchenko, J Caro, S V Komisarenko, et H Esumi. 2005. « Overexpression of 6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-bisphosphatase-4 in the human breast and colon malignant tumors ». *Biochimie* 87 (11): 1005-10.
- Minchenko, O, I Opentanova, et J Caro. 2003. « Hypoxic regulation of the 6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-bisphosphatase gene family (PFKFB-1–4) expression in vivo ». *FEBS Letters* 554 (3): 264-70.
- Mohammad, G H, S W M O Damink, M Malago, D K Dhar, et S P Pereira. 2016. « Pyruvate Kinase M2 and Lactate Dehydrogenase A Are Overexpressed in Pancreatic Cancer and Correlate with Poor Outcome ». *PloS One* 11 (3): 35-44.
- Moore, A S, W S Dernell, G K Ogilvie, O Kristal, R Elmslie, B Kitchell, S Susaneck, et al. 2007. « Doxorubicin and BAY 12–9566 for the Treatment of Osteosarcoma in Dogs: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study ». *Journal of Veterinary Internal Medicine* 21 (4): 783-90.
- Motzer, R J, B Escudier, S Oudard, T E Hutson, C Porta, S Bracarda, V Grünwald, et al. 2010. « Phase 3 Trial of Everolimus for Metastatic Renal Cell Carcinoma : Final Results and Analysis of Prognostic Factors ». *Cancer* 116 (18): 4256-65.
- Na, M H, E Y Seo, et W K Kim. 2009. « Effects of  $\alpha$ -lipoic acid on cell proliferation and apoptosis in MDA-MB-231 human breast cells ». *Nutrition Research and Practice* 3 (4): 265-71.
- Nambiar, D K, P Rajamani, G Deep, A K Jain, R Agarwal, et R P Singh. 2015. « Silibinin Preferentially Radiosensitizes Prostate Cancer by Inhibiting DNA Repair Signaling ». *Molecular Cancer Therapeutics* 14 (12): 2722-34.
- Nath, K, D S Nelson, D F Heitjan, D B Leeper, R Zhou, et J D Glickson. 2015. « Lonidamine Induces Intracellular Tumor Acidification and ATP Depletion in Breast, Prostate and Ovarian Cancer Xenografts and Potentiates Response to Doxorubicin ». *NMR in Biomedicine* 28 (3): 281-90.
- Nelson, R, D Spann, D Elliott, A Brondos, et R Vulliet. 2004. « Evaluation of the Oral Antihyperglycemic Drug Metformin in Normal and Diabetic Cats ». *Journal of Veterinary Internal Medicine* 18 (1): 18-24.
- Niemann, S, et U Müller. 2000. « Mutations in SDHC Cause Autosomal Dominant Paraganglioma, Type 3 ». *Nature Genetics* 26 (3): 268-70.
- Norris, R E, S Shusterman, L Gore, J A Muscal, M E Macy, E Fox, N Berkowitz, A Buchbinder, et R Bagatell. 2014. « Phase 1 Evaluation of EZN-2208, a Polyethylene Glycol Conjugate of SN38, in Children Adolescents and Young Adults with Relapsed or Refractory Solid Tumors ». *Pediatric Blood & Cancer* 61 (10): 1792-97.
- Organization for Economic Co-operation and Development « *eChemPortal - Substance Search* ». [en ligne], URL : <http://www.echemportal.org/echemportal/page.action?pageID=9>. [consulté le 20 avril 2017]
- Organization, World Health. *WHO Handbook for Reporting Results of Cancer Treatment*, 1979. [en ligne], URL : <http://www.who.int/iris/handle/10665/37200>. [consulté le 15 mai 2017]
- Ozawa, Y, T Owa, A Yokoi, K Yoshimatsu, et M Asada. 2004. « The Combination of Indisulam (E7070) with Cisplatin, Oxaliplatin and 5-Fluorouracil Are Synergistic in Vitro and in Vivo ». *European Journal of Cancer Supplements* 2 (8): 126-32.
- Packer, L, E H Witt, et H J Tritschler. 1995. « Alpha-lipoic acid as a biological antioxidant ». *Free Radical Biology and Medicine* 19 (2): 227-50.

- Paetau-Robinson, I, J J Brejda, et S C Zicker. 2013. « Long-Term Feeding of DL-alpha Lipoic Acid to Dogs Is Safe. » *International journal of applied research in veterinary medicine* 11 (2): 100-109.
- Paoloni, M C, et C Khanna. 2007. « Comparative Oncology Today ». *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice* 37 (6): 1023-32.
- Papandreou, I, T Goliassova, et N C Denko. 2011. « Anticancer Drugs That Target Metabolism: Is Dichloroacetate the New Paradigm? » *International Journal of Cancer* 128 (5): 1001-8.
- Pastorino, J G, et J B Hoek. 2003. « Hexokinase II: The Integration of Energy Metabolism and Control of Apoptosis ». *Current Medicinal Chemistry* 10 (16): 1535-51.
- Pathania, D, M Millard, et N Neamati. 2009. « Opportunities in discovery and delivery of anticancer drugs targeting mitochondria and cancer cell metabolism ». *Advanced Drug Delivery Reviews* 61 (14): 1250-75.
- Peal, A, M D'altilio, C Simms, M Alvey, R C Gupta, J T Goad, T D Canerdy, M Bagchi, et D Bagchi. 2007. « Therapeutic Efficacy and Safety of Undenatured Type-II Collagen (UC-II) Alone or in Combination with (-)-Hydroxycitric Acid and Chromemate in Arthritic Dogs<sup>1</sup> ». *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 30 (3): 275-78.
- Pedersen, P L. 2007. « Warburg, Me and Hexokinase 2: Multiple Discoveries of Key Molecular Events Underlying One of Cancers' Most Common Phenotypes, the "Warburg Effect", i.e., Elevated Glycolysis in the Presence of Oxygen ». *Journal of Bioenergetics and Biomembranes* 39 (3): 211-22.
- Pelicano, H, D S Martin, R H Xu, et P Huang. 2006. « Glycolysis Inhibition for Anticancer Treatment ». *Oncogene* 25 (34): 4633-46.
- Peña, L, P J De Andrés, M Clemente, P Cuesta, et M D Pérez-Alenza. 2013. « Prognostic Value of Histological Grading in Noninflammatory Canine Mammary Carcinomas in a Prospective Study With Two-Year Follow-Up: Relationship With Clinical and Histological Characteristics ». *Veterinary Pathology* 50 (1): 94-105.
- Penkowa, M, A Quintana, J Carrasco, M Giralt, A Molinero, et J Hidalgo. 2004. « Metallothionein Prevents Neurodegeneration and Central Nervous System Cell Death after Treatment with Gliotoxin 6-Aminonicotinamide ». *Journal of Neuroscience Research* 77 (1): 35-53.
- PetDCA. *Calculating Dosage*. [en ligne], URL : <http://petdca.com/calculating-dosage/> [consulté le 08 mai 2017]
- Platz, E A, S Yegnasubramanian, J O Liu, C R Chong, J S Shim, S A Kenfield, M J Stampfer, W C Willett, E Giovannucci, et W G Nelson. 2011. « A Novel Two-Stage, Transdisciplinary Study Identifies Digoxin as a Possible Drug for Prostate Cancer Treatment ». *Cancer discovery* 11 (1): 68-77.
- Polański, R, C L Hodgkinson, A Fusi, D Nonaka, L Priest, P Kelly, F Trapani, et al. 2014. « Activity of the Monocarboxylate Transporter 1 Inhibitor AZD3965 in Small Cell Lung Cancer ». *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research* 20 (4): 926-37.
- Poli, G, G Cantini, R Armignacco, R Fucci, R Santi, L Canu, G Nesi, M Mannelli, et M Luconi. 2016. « Metformin as a New Anti-Cancer Drug in Adrenocortical Carcinoma ». *Oncotarget* 1 (7) 632-45.
- Pollard, P J, J J Brière, N A Alam, J Barwell, E Barclay, N C Wortham, T.Hunt, et al. 2005. « Accumulation of Krebs Cycle Intermediates and Over-Expression of HIF1alpha in Tumours Which Result from Germline FH and SDH Mutations ». *Human Molecular Genetics* 14 (15): 2231-39.

- Ponce, F, T Marchal, J P Magnol, V Turinelli, D Ledieu, C Bonnefont, M Pastor, M L Delignette, et C Fournel-Fleury. 2010. « A Morphological Study of 608 Cases of Canine Malignant Lymphoma in France With a Focus on Comparative Similarities Between Canine and Human Lymphoma Morphology ». *Veterinary Pathology* 47 (3): 414-33.
- Porporato, P E, S Dhup, R K Dadhich, T C, et P Sonveaux. 2011. « Anticancer Targets in the Glycolytic Metabolism of Tumors: A Comprehensive Review ». *Frontiers in Pharmacology* 7 (2): 49-58.
- Powell, S F, W C Spanos, L J Black, C Ellison, W K Miskimins, S E Puumala, J H Lee, et M M Gitau. 2015. « Phase II study of dichloroacetate (DCA) in combination with chemoradiation (CRT) for unresected, locally advanced squamous cell carcinoma of the head and neck (LA-SCCHN). » *Journal of Clinical Oncology* 33 (15): 170-89.
- Puchsaka, P, C Chaotham, et P Chanvorachote. 2016. «  $\alpha$ -Lipoic Acid Sensitizes Lung Cancer Cells to Chemotherapeutic Agents and Anoikis via Integrin B1/B3 Downregulation ». *International Journal of Oncology* 49 (4): 1445-56.
- Raez, L E, K Papadopoulos, A D Ricart, E G Chiorean, R S Dipaola, M N Stein, C M Rocha Lima, et al. 2013. « A Phase I Dose-Escalation Trial of 2-Deoxy-D-Glucose Alone or Combined with Docetaxel in Patients with Advanced Solid Tumors ». *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* 71 (2): 523-30.
- Rais, B, B Comin, J Puigjaner, J L Brandes, E Creppy, D Saboureau, R Ennamany, W N Lee, L G Boros, et M Cascante. 1999. « Oxythiamine and Dehydroepiandrosterone Induce a G1 Phase Cycle Arrest in Ehrlich's Tumor Cells through Inhibition of the Pentose Cycle ». *FEBS Letters* 456 (1): 113-18.
- Ramjaun, A R, et J Downward. 2007. « Ras and Phosphoinositide 3-Kinase: Partners in Development and Tumorigenesis ». *Cell Cycle (Georgetown, Tex.)* 6 (23): 2902-5.
- Ranjith, D, P Shiva, A C Karunakara, L Diwakar, et R Chandrasekara. 2011. « Issue of Testicular Toxicity of Hydroxycitric Acid Lactone ». *Current Science* 100 (1): 24-27.
- Rapisarda, A, B Uranchimeg, O Sordet, Y Pommier, R H Shoemaker, et G Melillo. 2004. « Topoisomerase I-Mediated Inhibition of Hypoxia-Inducible Factor 1: Mechanism and Therapeutic Implications ». *Cancer Research* 64 (4): 1475-82.
- Ravaud, A, J C Bernhard, M Gross-Goupil, L Digue, et J M Ferriere. 2010. « mTOR inhibitors: temsirolimus and everolimus in the treatment of renal cell carcinoma ». *Bulletin du cancer* 4 (97): 45-51.
- Ren, F, H Wu, Y Lei, H Zhang, R Liu, Y Zhao, X Chen, et al. 2010. « Quantitative Proteomics Identification of Phosphoglycerate Mutase 1 as a Novel Therapeutic Target in Hepatocellular Carcinoma ». *Molecular Cancer* 2 (9): 81-89.
- Reshkin, S J, A Bellizzi, S Caldeira, V Albarani, I Malanchi, M Poignee, M Alunni-Fabroni, V Casavola, et M Tommasino. 2000. « Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> Exchanger-Dependent Intracellular Alkalinization Is an Early Event in Malignant Transformation and Plays an Essential Role in the Development of Subsequent Transformation-Associated Phenotypes ». *Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 14 (14): 2185-97.
- Ribes, G, G Valette, et M Loubatières-Mariani. 1979. « Metabolic Effects of Sodium Dichloroacetate in Normal and Diabetic Dogs ». *Diabetes* 28 (9): 852-57.
- Robey, I F, B K Baggett, N D Kirkpatrick, D J Roe, J Dosesco, B F Sloane, A I Hashim, et al. 2009. « Bicarbonate Increases Tumor pH and Inhibits Spontaneous Metastases ». *Cancer research* 69 (6): 2260-68.
- Robey, R B, et N Hay. 2009. « Is Akt the "Warburg kinase"?—Akt-energy metabolism interactions and oncogenesis ». *Seminars in cancer biology* 19 (1): 25-32.

- Robinson, M M, S J McBryant, T Tsukamoto, C Rojas, D V Ferraris, S K Hamilton, J C Hansen, et N P Curthoys. 2007. « Novel Mechanism of Inhibition of Rat Kidney-Type Glutaminase by Bis-2-(5-Phenylacetamido-1,2,4-Thiadiazol-2-Yl)Ethyl Sulfide (BPTES) ». *Biochemical Journal* 406 (3): 407-14.
- Ruhnau, K J, H P Meissner, J R Finn, M Reljanovic, M Lobisch, K Schütte, D Nehrlich, H J Tritschler, H Mehnert, et D Ziegler. 1999. « Effects of 3-Week Oral Treatment with the Antioxidant Thioctic Acid (Alpha-Lipoic Acid) in Symptomatic Diabetic Polyneuropathy ». *Diabetic Medicine: A Journal of the British Diabetic Association* 16 (12): 1040-43.
- Russell, R R, J M Mrus, J I Mommessin, et H Taegtmeier. 1992. « Compartmentation of Hexokinase in Rat Heart. A Critical Factor for Tracer Kinetic Analysis of Myocardial Glucose Metabolism ». *The Journal of Clinical Investigation* 90 (5): 1972-77.
- Sacco, A, J Nor, E Belile, A Sukari, D Chepeha, C Bradford, A Eisbruch, G Wolf, S Urba, et F Worden. 2014. « Phase 2 Trial of AT-101 in Combination With Docetaxel for Recurrent, Locally Advanced, or Metastatic Head-and-Neck Squamous Cell Carcinoma (HNSCC) ». *International Journal of Radiation Oncology • Biology • Physics* 88 (2): 507-15.
- Sadava, D, et S E Kane. 2013. « Silibinin Reverses Drug Resistance in Human Small-Cell Lung Carcinoma Cells ». *Cancer Letters* 339 (1): 102-6.
- Salpeter, S R, E Greyber, G A Pasternak, et E E Salpeter. 2010. « Risk of Fatal and Nonfatal Lactic Acidosis with Metformin Use in Type 2 Diabetes Mellitus ». In *Cochrane Database of Systematic Reviews*. John Wiley & Sons, Ltd.
- Sanchez, W Y, S L McGee, T Connor, B Mottram, A Wilkinson, J P Whitehead, S Vuckovic, et L Catley. 2013. « Dichloroacetate inhibits aerobic glycolysis in multiple myeloma cells and increases sensitivity to bortezomib ». *British Journal of Cancer* 108 (8): 1624-33.
- Sapra, P, P Kraft, M Mehlig, J Malaby, H Zhao, L M Greenberger, et I D Horak. 2009. « Marked therapeutic efficacy of a novel polyethylene glycol-SN38 conjugate, EZN-2208, in xenograft models of B-cell non-Hodgkin's lymphoma ». *Haematologica* 94 (10): 1456-59.
- Sapra, P, P Kraft, F Pastorino, D Ribatti, M Dumble, M Mehlig, M Wang, M Ponzoni, L M Greenberger, et I D Horak. 2011. « Potent and sustained inhibition of HIF-1 $\alpha$  and downstream genes by a polyethyleneglycol-SN38 conjugate, EZN-2208, results in anti-angiogenic effects ». *Angiogenesis* 14 (3): 245-53.
- Sarvothaman, S, R B Undi, S R Pasupuleti, U Gutti, et R K Gutti. 2015. « Apoptosis: Role in Myeloid Cell Development ». *Blood Research* 50 (2): 73-79.
- Schwartz, L, M Abolhassani, A Guais, E Sanders, J Steyaert, F Champion, et M Israël. 2010. « A combination of alpha lipoic acid and calcium hydroxycitrate is efficient against mouse cancer models: Preliminary results ». *Oncology Reports* 23 (5): 1407-16.
- Schwartz, L, L Buhler, P Icard, H Lincet, et J Steyaert. 2014. « Metabolic Treatment of Cancer: Intermediate Results of a Prospective Case Series ». *Anticancer Research* 34 (2): 973-80.
- Seelig, D M, A C Avery, E J Ehrhart, et M A Linden. 2016. « The Comparative Diagnostic Features of Canine and Human Lymphoma ». *Veterinary Sciences* 3 (2): 120-33.
- Semenza, G L. 2010. « HIF-1: Upstream and Downstream of Cancer Metabolism ». *Current Opinion in Genetics & Development* 20 (1): 51-56.
- Semwal, R B, D K Semwal, I Vermaak, et A Viljoen. 2015. « A Comprehensive Scientific Overview of Garcinia Cambogia ». *Fitoterapia* 102 (4): 134-48.



- Senzer, N, C Bedell, C Maturo, J Luddy, R Rodriguez, R Shorr, et K Lee. 2012. « CPI-613, an investigational novel anti - cancer agent, provides long- term stable disease without significant adverse effects in a patient with stage IV relapsed hepatocellular carcinoma ». *Case Study and Case Report 2* (2): 38-45.
- Seth, P, A Grant, J Tang, E Vinogradov, X Wang, R Lenkinski, et V P Sukhatme. 2011. « On-Target Inhibition of Tumor Fermentative Glycolysis as Visualized by Hyperpolarized Pyruvate ». *Neoplasia* 13 (1): 60-71.
- Seyfried, T N. 2012 « Cancer as a Metabolic Disease. On the Origin, Management, and Prevention of Cancer ». Hoboken, New Jersey : John Wiley & Sons, 421p
- Seyfried, T N, R E Flores, A M Poff, et D P D'Agostino. 2014. « Cancer as a metabolic disease: implications for novel therapeutics ». *Carcinogenesis* 35 (3): 515-27.
- Shelton, L M, L C Huysentruyt, et T N Seyfried. 2010. « Glutamine Targeting Inhibits Systemic Metastasis in the VM-M3 Murine Tumor Model ». *International Journal of Cancer* 127 (10): 2478-85.
- Shi, Y, Z He, Z Jia, et C Xu. 2016. « Inhibitory Effect of Metformin Combined with Gemcitabine on Pancreatic Cancer Cells in Vitro and in Vivo ». *Molecular Medicine Reports* 14 (4): 2921-28.
- Shibuya, K, M Okada, S Suzuki, M Seino, S Seino, H Takeda, et C Kitanaka. 2015. « Targeting the Facilitative Glucose Transporter GLUT1 Inhibits the Self-Renewal and Tumor-Initiating Capacity of Cancer Stem Cells ». *Oncotarget* 6 (2): 651-61.
- Siegel, A B, R Narayan, R Rodriguez, A Goyal, J S Jacobson, K Kelly, E Ladas, et al. 2014. « A Phase I Dose-Finding Study of Silybin Phosphatidylcholine (Milk Thistle) in Patients with Advanced Hepatocellular Carcinoma ». *Integrative Cancer Therapies* 13 (1): 46-53.
- Simon, D, D Schoenrock, W Baumgärtner, et I Nolte. 2006. « Postoperative Adjuvant Treatment of Invasive Malignant Mammary Gland Tumors in Dogs with Doxorubicin and Docetaxel ». *Journal of Veterinary Internal Medicine* 20 (5): 1184-90.
- Singh, D, A K Banerji, B S Dwarakanath, R P Tripathi, J P Gupta, T L Mathew, T Ravindranath, et V Jain. 2005. « Optimizing Cancer Radiotherapy with 2-Deoxy-d-Glucose Dose Escalation Studies in Patients with Glioblastoma Multiforme ». *Strahlentherapie Und Onkologie: Organ Der Deutschen Röntgenesellschaft* 181 (8): 507-14.
- Singh, J, Y Novik, S Stein, M Volm, M Meyers, J Smith, C Omene, et al. 2014. « Phase 2 Trial of Everolimus and Carboplatin Combination in Patients with Triple Negative Metastatic Breast Cancer ». *Breast Cancer Research: BCR* 16 (2): 32-36.
- Smallbone, K, R A Gatenby, R J Gillies, P K Maini, et D J Gavaghan. 2007. « Metabolic Changes during Carcinogenesis: Potential Impact on Invasiveness ». *Journal of Theoretical Biology* 244 (4): 703-13.
- Smyth, J F, S Aamdal, A Awada, C Dittich, F Caponigro, P Schöffski, M Gore, et al. 2005. « Phase II Study of E7070 in Patients with Metastatic Melanoma ». *Annals of Oncology: Official Journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO* 16 (1): 158-61.
- Sonveaux, P, F Végran, T Schroeder, M C Wergin, J Verrax, Z N Rabbani, C J De Saedeleer, et al. 2008. « Targeting lactate-fueled respiration selectively kills hypoxic tumor cells in mice ». *The Journal of Clinical Investigation* 118 (12): 3930-42.
- Sonveaux, P, T Copetti, C J De Saedeleer, F Végran, J Verrax, K M Kennedy, E J Moon, et al. 2012. « Targeting the Lactate Transporter MCT1 in Endothelial Cells Inhibits Lactate-Induced HIF-1 Activation and Tumor Angiogenesis ». *PLoS ONE* 7 (3): 418-25.
- Spugnini, E P, A Baldi, S Buglioni, F Carocci, G M de Bazzichini, G Betti, I Pantaleo, F Menicagli, G Citro, et S Fais. 2011. « Lansoprazole as a Rescue Agent in Chemoresistant Tumors: A Phase I/II Study in Companion Animals with Spontaneously Occurring Tumors ». *Journal of Translational Medicine* 9 (1): 221-33.

- Spugnini, E P, S Buglioni, F Carocci, M Francesco, B Vincenzi, M Fanciulli, et S Fais. 2014. « High Dose Lansoprazole Combined with Metronomic Chemotherapy: A Phase I/II Study in Companion Animals with Spontaneously Occurring Tumors ». *Journal of Translational Medicine* 1 (12): 225-39.
- Spugnini, E P, P Sonveaux, C Stock, M Sayans, A De Milito, S Avnet, A G García, S Harguindey, et S Fais. 2015. « Proton Channels and Exchangers in Cancer ». *Biochimica Et Biophysica Acta* 1848 (10): 2715-26.
- Stacpoole, P W, D S Kerr, C Barnes, S T Bunch, P R Carney, E M Fennell, N M Felitsyn, et al. 2006. « Controlled Clinical Trial of Dichloroacetate for Treatment of Congenital Lactic Acidosis in Children ». *Pediatrics* 117 (5): 1519-31.
- Stein, M, H Lin, C Jeyamohan, D Dvorzhinski, M Gounder, K Bray, S Eddy, S Goodin, E White, et R S Dipaola. 2010. « Targeting Tumor Metabolism with 2-Deoxyglucose in Patients with Castrate-Resistant Prostate Cancer and Advanced Malignancies ». *The Prostate* 70 (13): 1388-94.
- Stohs, S J, H G Preuss, S E Ohia, G R Kaats, C L Keen, L D Williams, et G A Burdock. 2009. « No evidence demonstrating hepatotoxicity associated with hydroxycitric acid ». *World Journal of Gastroenterology : WJG* 15 (32): 4087-89.
- Suissa, S, et L Azoulay. 2012. « Metformin and the Risk of Cancer: Time-Related Biases in Observational Studies ». *Diabetes Care* 35 (12): 2665-73.
- Sullivan, E J, M Kurtoglu, R Brenneman, H Liu, et T J Lampidis. 2014a. « Targeting Cisplatin-Resistant Human Tumor Cells with Metabolic Inhibitors ». *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* 73 (2): 417-27.
- Sullivan, L B, et N S Chandel. 2014b. « Mitochondrial reactive oxygen species and cancer ». *Cancer & Metabolism* 2 (11): 86-92.
- Szablewski, L. 2013. « Expression of glucose transporters in cancers ». *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer* 1835 (2): 164-69.
- Szokolóczy, O, R Schwab, I Peták, L Orfi, A Pap, A N Eberle, T Szüts, et G Kéril. 2005. « TT232, a Novel Signal Transduction Inhibitory Compound in the Therapy of Cancer and Inflammatory Diseases ». *Journal of Receptor and Signal Transduction Research* 25 (4-6): 217-35.
- Tafreshi, N K, M C Lloyd, J B Proemsey, M M Bui, J Kim, R J Gillies, et D L Morse. 2016. « Evaluation of CAIX and CAXII Expression in Breast Cancer at Varied O<sub>2</sub> Levels: CAIX Is the Superior Surrogate Imaging Biomarker of Tumor Hypoxia ». *Molecular Imaging and Biology: MIB: The Official Publication of the Academy of Molecular Imaging* 18 (2): 219-31.
- Talbot, D C, J von Pawel, E Cattell, S M Yule, C Johnston, A S Zandvliet, A D R Huitema, et al. 2007. « A Randomized Phase II Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Study of Indisulam as Second-Line Therapy in Patients with Advanced Non-Small Cell Lung Cancer ». *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research* 13 (6): 1816-22.
- Tennant, D A, R V Durán, et E Gottlieb. 2010. « Targeting Metabolic Transformation for Cancer Therapy ». *Nature Reviews Cancer* 10 (4): 267-77.
- Therasse, P, S G Arbuck, E A Eisenhauer, J Wanders, R S Kaplan, L Rubinstein, J Verweij, et al. 2000. « New Guidelines to Evaluate the Response to Treatment in Solid Tumors ». *Journal of the National Cancer Institute* 92 (3): 205-16.
- Thomas, S L, D Zhong, W Zhou, S Malik, D Liotta, J P Snyder, E Hamel, et P Giannakakou. 2008. « EF24, a Novel Curcumin Analog, Disrupts the Microtubule Cytoskeleton and Inhibits HIF-1 ». *Cell Cycle (Georgetown, Tex.)* 7 (15): 2409-17.

- Thornburg, J M, K K Nelson, B F Clem, A N Lane, S Arumugam, A Simmons, J W Eaton, S Telang, et J Chesney. 2008. « Targeting aspartate aminotransferase in breast cancer ». *Breast Cancer Research* 10 (84): 215-23.
- Tilley, C, G Deep, C Agarwal, M F Wempe, D Biedermann, K Valentová, V Kren, et R Agarwal. 2016. « Silibinin and Its 2,3-Dehydro-Derivative Inhibit Basal Cell Carcinoma Growth via Suppression of Mitogenic Signaling and Transcription Factors Activation ». *Molecular Carcinogenesis* 55 (1): 3-14.
- Touret, M, S Boysen, et M E Nadeau. 2010. « Prospective Evaluation of Clinically Relevant Type B Hyperlactatemia in Dogs with Cancer ». *Journal of Veterinary Internal Medicine* 24 (6): 1458-61.
- US National Library of Medicine. *Toxicology data Network*. [en ligne], URL : <https://toxnet.nlm.nih.gov/>. [consulté le 09 juin 2017]
- Upadhyay, M, J Samal, M Kandpal, O V Singh, et P Vivekanandan. 2013. « The Warburg effect: Insights from the past decade ». *Pharmacology & Therapeutics* 137 (3): 318-30.
- Vaishampayan, U, D Shevrin, M Stein, L Heilbrun, S Land, K Stark, J Li, et al. 2015. « Phase II Trial of Carboplatin, Everolimus, and Prednisone in Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer Pretreated With Docetaxel Chemotherapy: A Prostate Cancer Clinical Trial Consortium Study ». *Urology* 86 (6): 1206-11.
- Vali, M, J A Vossen, M Buijs, J M Engles, E Liapi, V P Ventura, A Khwaja, et al. 2008. « Targeting of VX2 Rabbit Liver Tumor by Selective Delivery of 3-Bromopyruvate: A Biodistribution and Survival Study ». *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 327 (1): 32-37.
- Vander Heiden, M G, L C Cantley, et C B Thompson. 2009. « Understanding the Warburg Effect: The Metabolic Requirements of Cell Proliferation ». *Science (New York, N.Y.)* 324 (5930): 1029-33.
- Vander Heiden, M G, H R Christofk, E Schuman, A O Subtelny, H Sharfi, E E Harlow, J Xian, et L C Cantley. 2010. « Identification of Small Molecule Inhibitors of Pyruvate Kinase M2 ». *Biochemical Pharmacology* 79 (8): 1118-24.
- Varshney, R, B Dwarakanath, et V Jain. 2005. « Radiosensitization by 6-Aminonicotinamide and 2-Deoxy-D-Glucose in Human Cancer Cells ». *International Journal of Radiation Biology* 81 (5): 397-408.
- Vilà, M R, A Nicolás, J Morote, et A Meseguer. 2000. « Increased Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase Expression in Renal Cell Carcinoma Identified by RNA-Based, Arbitrarily Primed Polymerase Chain Reaction ». *Cancer* 89 (1): 152-64.
- Vousden, K H, et K M Ryan. 2009. « P53 and Metabolism ». *Nature Reviews. Cancer* 9 (10): 691-700.
- Walsh, M, S Fais, E P Spugnini, S Harguindey, T A Izneid, L Scacco, P Williams, C Allegrucci, C Rauch, et Z Omran. 2015. « Proton pump inhibitors for the treatment of cancer in companion animals ». *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research : CR* 34 (1):46-58.
- Wang, B, J Zhang, J Wang, S Sun, Z Wang, L Wang, Q Zhang, et al. 2015. « Intermittent High Dose Proton Pump Inhibitor Enhances the Antitumor Effects of Chemotherapy in Metastatic Breast Cancer ». *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research: CR* 5 (34): 85-96.
- Wang, D, et X Wu. 2015. « In Vitro and in Vivo Targeting of Bladder Carcinoma with Metformin in Combination with Cisplatin ». *Oncology Letters* 10 (2): 975-81.
- Wang, J, J W Erickson, R Fuji, S Ramachandran, P Gao, R Dinavahi, K . Wilson, et al. 2010. « Targeting Mitochondrial Glutaminase Activity Inhibits Oncogenic Transformation ». *Cancer Cell* 18 (3): 207-19.

- Wang, T, X Zhang, X Guo, S Xian, et Y Lu. 2016. « 3-Bromopyruvate and Sodium Citrate Target Glycolysis, Suppress Survivin, and Induce Mitochondrial-Mediated Apoptosis in Gastric Cancer Cells and Inhibit Gastric Orthotopic Transplantation Tumor Growth ». *Oncology Reports* 35 (3): 1287-96.
- Wang, Y, W Xiang, M Wang, T Huang, X Xiao, L Wang, D Tao, L Dong, F Zeng, et G Jiang. 2014. « Methyl Jasmonate Sensitizes Human Bladder Cancer Cells to Gambogic Acid-Induced Apoptosis through down-Regulation of EZH2 Expression by MiR-101 ». *British Journal of Pharmacology* 171 (3): 618-35.
- Warburg, O. 1956a. « On the Origin of Cancer Cells ». *Science (New York, N.Y.)* 123 (3191): 309-14.
- . 1956b. « On Respiratory Impairment in Cancer Cells ». *Science (New York, N.Y.)* 124 (3215): 269-70.
- Weinberg, S E, et N S Chandel. 2015. « Targeting mitochondria metabolism for cancer therapy ». *Nature chemical biology* 11 (1): 9-15.
- Weinhouse, S, D Burk, et A L Schade. 1956. « On Respiratory Impairment in Cancer Cells ». *Science* 124 (3215): 267-72.
- Welsh, S, R Williams, L Kirkpatrick, G Paine-Murrieta, et G Powis. 2004. « Antitumor Activity and Pharmacodynamic Properties of PX-478, an Inhibitor of Hypoxia-Inducible Factor-1alpha ». *Molecular Cancer Therapeutics* 3 (3): 233-44.
- Wenzel U, A Nickel. 2005. « Alpha-Lipoic acid induces apoptosis in human colon cancer cells by increasing mitochondrial respiration with a concomitant O<sub>2</sub>-\*-generation. Apoptosis ». *Apoptosis: an international journal on programmed cell death* 10 (2): 359-68.
- Whitehouse, S, et P J Randle. 1973. « Activation of pyruvate dehydrogenase in perfused rat heart by dichloroacetate ». *Biochemical Journal* 134 (2): 651-53.
- Wicks, R T, J Azadi, A Mangraviti, I Zhang, L Hwang, A Joshi, H Bow, et al. 2015. « Local delivery of cancer-cell glycolytic inhibitors in high-grade glioma ». *Neuro-Oncology* 17 (1): 70-80.
- Wise, R, R J DeBerardinis, A Mancuso, N Sayed, X Zhang, H K Pfeiffer, I Nissim, et al. 2008. « Myc Regulates a Transcriptional Program That Stimulates Mitochondrial Glutaminolysis and Leads to Glutamine Addiction ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105 (48): 18782-87.
- Withrow, S J, R Page, et D M Vail. 2013. « Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology ». 5th Edition. Elsevier Health Sciences, 750 p. ISBN: 978-1-4377-2362-5
- Witt, O, H E Deubzer, T Milde, et I Oehme. 2009. « HDAC Family: What Are the Cancer Relevant Targets? ». *Cancer Letters* 277 (1): 8-21.
- Wolff, A C, A A Lazar, I Bondarenko, A M Garin, S Brincat, L Chow, Y Sun, et al. 2013. « Randomized Phase III Placebo-Controlled Trial of Letrozole plus Oral Temsirolimus as First-Line Endocrine Therapy in Postmenopausal Women with Locally Advanced or Metastatic Breast Cancer ». *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 31 (2): 195-202.
- Wong, J Y Y, G S Huggins, M D, N C Munshi, et I De Vivo. 2008. « Dichloroacetate Induces Apoptosis in Endometrial Cancer Cells ». *Gynecologic Oncology* 109 (3): 394-402.
- Wood, T E, Dalili, C Simpson, R Hurren, X Mao, F S Saiz, M Gronda, et al. 2008. « A Novel Inhibitor of Glucose Uptake Sensitizes Cells to FAS-Induced Cell Death ». *Molecular Cancer Therapeutics* 7 (11): 3546-55.
- Wu, C, Y Ho, C Tsai, Y Wang, H Tseng, P Wei, C Lee, R Liu, et S Lin. 2009. « In Vitro and in Vivo Study of Phloretin-Induced Apoptosis in Human Liver Cancer Cells Involving Inhibition of Type II Glucose Transporter ». *International Journal of Cancer* 124 (9): 2210-19.

- Wu, H, J Walker, R Damhuis, D H Brewster, S H Wild, et Scottish Diabetes Research Network Epidemiology Group. 2016. « Metformin and Survival of People with Type 2 Diabetes and Pleural Mesothelioma: A Population-Based Retrospective Cohort Study ». *Lung Cancer (Amsterdam, Netherlands)* 99 (9): 194-99.
- Wypij, J M. 2015. « Pilot Study of Oral Metformin in Cancer-Bearing Cats ». *Veterinary and Comparative Oncology* 2 (10): 125-36.
- Xian, S, W Cao, X Zhang, et Y Lu. 2015. « 3-Bromopyruvate Inhibits Human Gastric Cancer Tumor Growth in Nude Mice via the Inhibition of Glycolysis ». *Oncology Letters* 9 (2): 739-44.
- Xiang, T, Y Jia, D Sherris, S Li, H Wang, D Lu, et Q Yang. 2011. « Targeting the Akt/MTOR Pathway in Brca1-Deficient Cancers ». *Oncogene* 30 (21): 2443-50.
- Xie, C, J Jin, X Bao, W Zhan, T Han, M Gan, C Zhang, et J Wang. 2016. « Inhibition of Mitochondrial Glutaminase Activity Reverses Acquired Erlotinib Resistance in Non-Small Cell Lung Cancer ». *Oncotarget* 7 (1): 610-21.
- Xie, J, X Wang, et C G Proud. 2016. « MTOR Inhibitors in Cancer Therapy ». *F1000Research* 5 (4): 207-17.
- Xintaropoulou, C, C Ward, A Wise, H Marston, A Turnbull, et S P Langdon. 2015. « A Comparative Analysis of Inhibitors of the Glycolysis Pathway in Breast and Ovarian Cancer Cell Line Models ». *Oncotarget* 6 (28): 25677-95.
- Xu, I M, R K Lai, S Lin, A P Tse, D K Chiu, H Koh, C Law, et al. 2016. « Transketolase Counteracts Oxidative Stress to Drive Cancer Development ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 113 (6): 725-734.
- Xu, R, H Pelicano, Y Zhou, J S Carew, L Feng, K N Bhalla, M J Keating, et P Huang. 2005. « Inhibition of Glycolysis in Cancer Cells: A Novel Strategy to Overcome Drug Resistance Associated with Mitochondrial Respiratory Defect and Hypoxia ». *Cancer Research* 65 (2): 613-21.
- Xue, X, S You, Q Zhang, Y Wu, G Zou, P C Wang, Y Zhao, et al. 2012. « Mitaplatin Increases Sensitivity of Tumor Cells to Cisplatin by Inducing Mitochondrial Dysfunction ». *Molecular Pharmaceutics* 9 (3): 634-44.
- Yalcin, A, S Telang, B Clem, et J Chesney. 2009. « Regulation of Glucose Metabolism by 6-Phosphofructo-2-Kinase/Fructose-2,6-Bisphosphatases in Cancer ». *Experimental and Molecular Pathology* 86 (3): 174-79.
- Yang, C, J Sudderth, T Dang, R G Bachoo, J G McDonald, et R J DeBerardinis. 2009. « Glioblastoma Cells Require Glutamate Dehydrogenase to Survive Impairments of Glucose Metabolism or Akt Signaling ». *Cancer Research* 69 (20): 7986-93.
- Yang, Y, D Su, L Zhao, D Zhang, J Xu, J Wan, S Fan, et M Chen. 2014. « Different Effects of LDH-A Inhibition by Oxamate in Non-Small Cell Lung Cancer Cells ». *Oncotarget* 5 (23): 11886-96.
- You, A, M Cao, Z Guo, B Zuo, J Gao, H Zhou, H Li, et al. 2016. « Metformin Sensitizes Sorafenib to Inhibit Postoperative Recurrence and Metastasis of Hepatocellular Carcinoma in Orthotopic Mouse Models ». *Journal of Hematology & Oncology* 4 (9): 20-29.
- Yu, M, C Lee, M Wang, et I F Tannock. 2015. « Influence of the Proton Pump Inhibitor Lansoprazole on Distribution and Activity of Doxorubicin in Solid Tumors ». *Cancer Science* 106 (10): 1438-47.
- Zatovicova, M, L Jelenska, A Hulikova, L Csaderova, Z Ditte, P Ditte, T Goliasova, J Pastorek, et S Pastorekova. 2010. « Carbonic Anhydrase IX as an Anticancer Therapy Target: Preclinical Evaluation of Internalizing Monoclonal Antibody Directed to Catalytic Domain ». *Current Pharmaceutical Design* 16 (29): 3255-63.

- Zhan, T, M Digel, E Küch, W Stremmel, et J Füllekrug. 2011. « Silybin and Dehydrosilybin Decrease Glucose Uptake by Inhibiting GLUT Proteins ». *Journal of Cellular Biochemistry* 112 (3): 849-59.
- Zhang, H, D Qian, Y Tan, K Lee, P Gao, Y Ren, S Rey, et al. 2008. « Digoxin and Other Cardiac Glycosides Inhibit HIF-1 $\alpha$  Synthesis and Block Tumor Growth ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105 (50): 19579-86.
- Zhang, Q, J Pan, P E North, S Yang, R A Lubet, Y Wang, et M You. 2012. « Aerosolized 3-Bromopyruvate Inhibits Lung Tumorigenesis without Causing Liver Toxicity ». *Cancer Prevention Research (Philadelphia, Pa.)* 5 (5): 717-25.
- Zhang, Q, J Pan, R A Lubet, S M Komar, B K, Y Wang, et M You. 2015. « Enhanced Antitumor Activity of 3-Bromopyruvate in Combination with Rapamycin in Vivo and in Vitro ». *Cancer Prevention Research (Philadelphia, Pa.)* 8 (4): 318-26.
- Zhang, X D, E Deslandes, M Villedieu, L Poulain, M Duval, P Gauduchon, L Schwartz, et P Icard. 2006. « Effect of 2-Deoxy-D-Glucose on Various Malignant Cell Lines In Vitro ». *Anticancer Research* 26 (5A): 3561-66.
- Zhang, X, E Varin, S Allouche, Y Lu, L Poulain, et P Icard. 2009. « Effect of Citrate on Malignant Pleural Mesothelioma Cells: A Synergistic Effect with Cisplatin ». *Anticancer Research* 29 (4): 1249-54.
- Zhao, Y, H Liu, Z L, Y D, S P LeDoux, G L Wilson, R Voellmy, et al. 2011a. « Overcoming Trastuzumab Resistance in Breast Cancer by Targeting Dysregulated Glucose Metabolism ». *Cancer research* 71 (13): 4585-97.
- Zhao, Y, M Gounder, H Lin, K H Addo, K T Levinson, M LaRosiliere, S Goodin, R A Moss, A R Tan, et M N Stein. 2011b. « Phase I study of at-101 (R(-)-gossypol) in combination with paclitaxel (P) and carboplatin (C) in solid tumors including castrate-resistant prostate cancer (CRPC). » *Journal of Clinical Oncology* 29 (7): 169-79.
- Zhao, Z, M Wu, C Zou, Q Tang, J Lu, D Liu, Y Wu, et al. 2014. « Downregulation of MCT1 Inhibits Tumor Growth, Metastasis and Enhances Chemotherapeutic Efficacy in Osteosarcoma through Regulation of the NF-KB Pathway ». *Cancer Letters* 342 (1): 150-58.
- Zhou, M, Y Zhao, Y Ding, H Liu, Z Liu, O Fodstad, A I Riker, et al. 2010. « Warburg effect in chemosensitivity: Targeting lactate dehydrogenase-A re-sensitizes Taxol-resistant cancer cells to Taxol ». *Molecular Cancer* 4 (9): 33-42.
- Zhou, X, R Chen, Z Yu, R Li, J Li, X Zhao, S Song, J Liu, et G Huang. 2015. « Dichloroacetate Restores Drug Sensitivity in Paclitaxel-Resistant Cells by Inducing Citric Acid Accumulation ». *Molecular Cancer* 5 (14): 63-72.
- Zhu, H, B Chen, X Cai, F Wang, C Gao, J Cheng, X Zhang, et al. 2015. « Effects of Garcinia Acid Combined with Daunorubicin on Expression of Pregnane X Receptor in Leukemia Cell Line K562/A02 ». *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi / Zhongguo Bing Li Sheng Li Xue Hui = Journal of Experimental Hematology / Chinese Association of Pathophysiology* 23 (4): 956-61.
- Ziegler, D, M Hanefeld, K J Ruhnau, H Hasche, M Lobisch, K Schütte, G Kerum, et R Malessa. 1999. « Treatment of Symptomatic Diabetic Polyneuropathy with the Antioxidant Alpha-Lipoic Acid: A 7-Month Multicenter Randomized Controlled Trial (ALADIN III Study). ALADIN III Study Group. Alpha-Lipoic Acid in Diabetic Neuropathy. » *Diabetes Care* 22 (8): 1296-1301.

# Annexes

## Annexe 1 : Les mécanismes de l'apoptose

L'apoptose est un processus normal d'autodestruction d'une cellule en réponse à un signal interne. L'apoptose est aussi appelée mort cellulaire programmée ou suicide cellulaire. Un des « Hallmarks of Cancer » est la résistance de la cellule cancéreuse à l'apoptose. C'est la forme la plus courante de mort cellulaire. Les autres formes sont par exemple la nécrose ou la mort cellulaire autophagique. Voyons quels sont les principaux mécanismes de l'apoptose, afin de mieux comprendre les mécanismes d'action des molécules développées dans ce travail, dont certains déclenchent des phénomènes d'apoptose.

Le phénomène d'apoptose est possible selon deux voies principales :

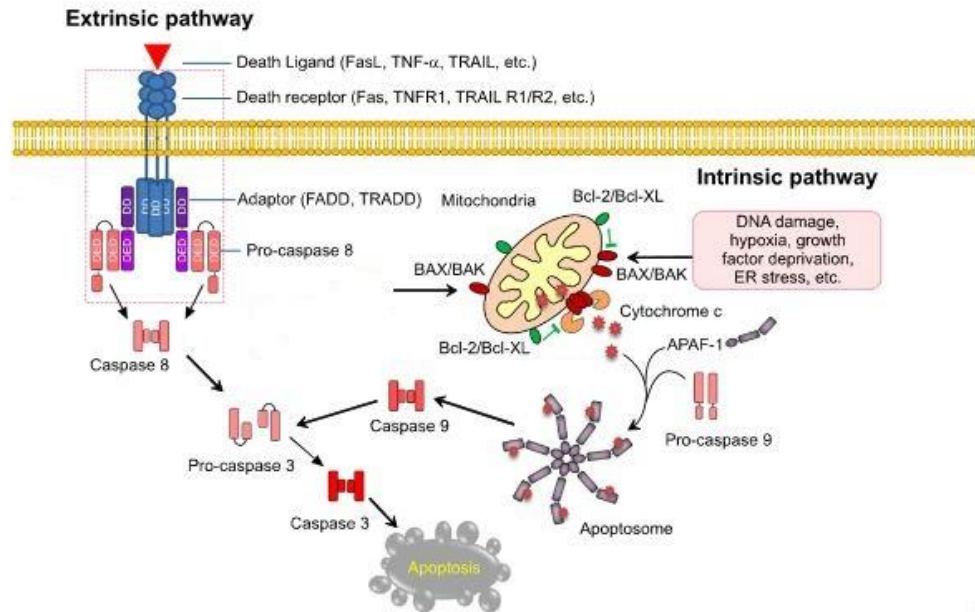
- une voie extrinsèque

Elle implique des récepteurs au facteur de nécrose tumorale, comme par exemple le récepteur Fas. Elle est déclenchée par un signal extérieur à la cellule (ligand du récepteur). L'interaction ligand/récepteur déclenche une cascade d'activation des caspases effectrices. Les caspases initiatrices peuvent alors activer la voie intrinsèque et ainsi amplifier le signal apoptotique.

- une voie intrinsèque (impliquant la mitochondrie)

En temps normal, la stabilité de la mitochondrie est assurée par la formation d'hétérodimères entre les membres anti-apoptotiques (Bcl-2, Bcl-x<sub>L</sub>, Mcl-1) et les membres pro-apoptotiques Bak et Bax. Les activateurs initiaux sont les **protéines BH3 (pro apoptotiques)**, qui se lient à **Bcl-2 (facteur anti apoptotique)**, qui est alors inhibé. Les protéines BH3 sont des sentinelles des conditions environnementales et intègrent beaucoup d'informations qualitatives et quantitatives qui déterminent le moment de la mort cellulaire.

L'inhibition du facteur **Bcl-2** entraîne une concentration des protéines pro apoptotiques **Bax** et **Bak** au niveau de la membrane mitochondriale, qui devient alors perméable : il y a libération du **cytochrome C**. Le cytochrome C se lie à **APAF-1** et l'active. APAF-1 se lie à la **caspase 9** en présence d'ATP. La **protéine Smac/DIABLO** se lie au IAP (inhibiteur des caspases indispensable lors de la vie de la cellule), levant ainsi l'inhibition sur les caspases. L'activation des caspases est un processus complexe (la caspase 9 par exemple est capable de se dimériser et de s'auto cliver et de cliver d'autres caspases).



*Les différentes voies aboutissant au phénomène d'apoptose. Modifié d'après Sarvothaman et al., 2015*

L'apoptose se termine par un démantèlement de la cellule : signaux « mange-moi » comme l'exposition de la phosphatidylsérine à la surface de la membrane cellulaire, arrêt de la réplication, fragmentation du cytosquelette et du noyau entraînant la formation de corps apoptotiques. Ces derniers sont phagocytés par les cellules environnantes (importance du système immunitaire).

Les gènes Bcl-2 sont surexprimés dans les cellules tumorales. De nombreux médicaments ciblant Bcl-2 sont en développement (pour inhiber sa fonction anti apoptotique).



## **Annexe 2 : Résultats complémentaires ALA**

Les résultats présentés sont issus d'expériences réalisées lors d'un stage au CRCL. Nous nous sommes concentrés sur l'étude de l'action de l'ALA sur deux lignées adhérentes de cellules de cancer du sein : la lignée T47D (ER+) et la lignée MDA-MB-468 (ER-). Afin d'évaluer l'action de l'ALA sur la survie des cellules cancéreuses, le protocole suivant a été réalisé.

- J-1 : Ensemencement 400 000 cellules par boîte (19 boîtes par lignée), 24 heures avant le traitement à l'ALA pour que les cellules soient adhérentes.
- J0 : Comptage des cellules et traitement des cellules avec de l'ALA (0,5 mM, 1 mM, 2 mM, 5 mM)
- A J1, J2 et J3 : comptage des cellules – clichés photographiques. Pour les temps J2 et J3, les cellules ont été centrifugées pour récupérer les protéines et procéder à des Western Blots.

Pour la lignée MDA-MB-468, il est apparu que l'éthanol limite en partie la prolifération cellulaire. L'effet de l'ALA dissout dans l'éthanol ne peut donc pas être interprété pour cette lignée et les résultats ne seront pas présentés.

### 1. Comptage des cellules

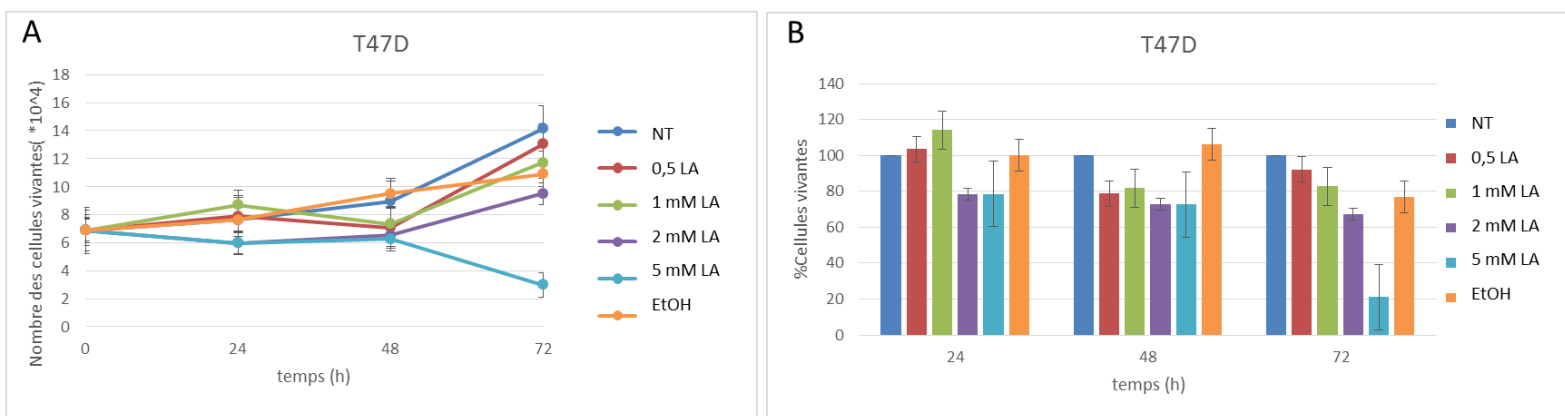
La technologie IncuCyte® ZOOM permet de déterminer la confluence des cellules en culture en temps réel, soit pour des cellules fluorescentes soit en contraste de phase, par acquisition d'image toutes les 30 min. 3000 cellules sont déposées par puits dans des plaques 96 puits. 6 h après ce dépôt, le traitement des cellules est réalisé. Le logiciel enregistre alors une image toutes les 30 min et dénombre les cellules adhérentes.

### 2. Traitement des cellules

Les boîtesensemencées la veille sont réparties de manière à avoir 3 boîtes par condition. Les différentes conditions sont les suivantes : Témoin ; ALA 0,5 mM (cellules traitées à l'ALA 0,5 mM) ; ALA 1 mM ; ALA 2 mM ; ALA 5 mM

### 3. Synthèse des comptages : Courbe de prolifération cellulaire et étude de la mortalité dans les cellules de la lignée T47D en réponse à une exposition à l'ALA

La réalisation de courbe de croissance cellulaire permet de comparer l'action de l'ALA en différentes concentrations en fonction du temps (Figures A et B). Nous pouvons reporter le nombre de cellules vivantes pour chaque concentration par rapport au nombre de cellules vivantes du témoin (100%) pour évaluer la mortalité cellulaire.



*Effet de l'acide lipoïque (ALA=LA) en fonction du temps et de la concentration dans la lignée T47D. (A) Courbe de prolifération ; (B) Pourcentage de mortalité cellulaire*

Pour la lignée T47D, l'éthanol n'entraîne pas une mort cellulaire significative. L'action de l'ALA dissout dans l'éthanol peut donc être interprétée (Figure B).

A 24 h après traitement, pour une concentration d'ALA à 0,5 mM et 1 mM, le nombre de cellules vivantes est plus important que pour les cellules non traitées. Pour une concentration d'ALA de 2 mM et 5 mM, le nombre de cellules vivantes est moins important que pour le témoin. A 72 h, un effet dose dépendant de l'ALA sur le nombre de cellules vivantes est constaté.

#### 4. Western Blot

La réalisation de Western Blot à différents instants permet d'évaluer l'évolution de l'expression de protéine en fonction du temps et de la concentration de ALA utilisée.

##### *i. Préparation des protéines à déposer*

Les protéines à déposer sont récupérées après centrifugation. La concentration initiale est obtenue après coloration au bleu de Coomassie par spectrophotométrie. Un volume de lysat protéique est prélevé de façon à voir 35 µg de protéines totales pour chaque condition expérimentale. Ce volume est complété à 25 µl par de la solution de RIPA puis 20 µL de Laemli (Bleu de bromophénol + SDS + glycérol + β-mercaptoéthanol) sont ajoutés. Après agitation au vortex et incubation au bain marie (100°C) pendant 10-15 minutes, 30 µg de protéines sont déposées par puits.

##### *ii. Western Blot*

Une électrophorèse sur gel est réalisée, la migration se déroule dans un tampon TRIS (25 mM), Glycine (180 mM), et SDS (0,1%) à 70 V pendant 15 minutes puis 100 V pendant 1 heure. Les bandes de protéines sont ensuite transférées sur une membrane de PVDF (PolyVinylidène Difluoride) pendant une heure à 100 V dans un tampon de transfert TRIS (20 mM), Glycine (0,2 mM), et méthanol (20%). Dans un premier temps, une étape de blocage des sites non spécifiques est réalisée à l'aide de Tween (T) (0,1%)-Tris Buffer Saline (TBS)-Lait (5%) = T-TBS-Lait, pendant 1 h sous agitation. Ensuite, la membrane est incubée en présence de l'anticorps primaire, qui se lie à la protéine recherchée. Les gels sont ensuite mis en contact 45 min avec l'anticorps secondaire (d'une espèce différente de celle utilisée pour l'anticorps

primaire), qui est couplé à la peroxydase. Ici, 0,5 µL d'anticorps secondaire dilué dans 12,5 mL de lait écrémé sont utilisés. Les gels sont ensuite rincés 3 fois 5 min avec une solution de T-TBS, puis 5 minutes avec une solution de PBS 1x.

### iii. Révélation

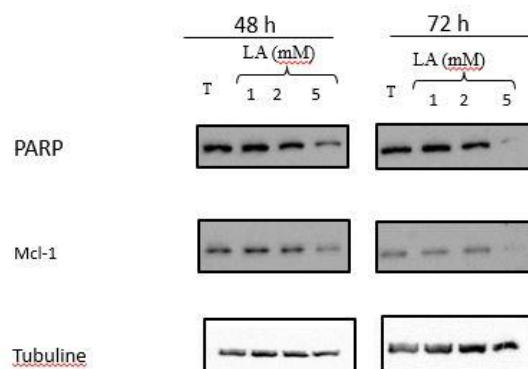
La révélation se fait par chimioluminescence après ajout d'ECL (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, luminol et substrat de la peroxydase) sur les membranes. Cette manipulation est réalisée sur une feuille de paraffine hydrophobe. Le scanner Odyssey (Li-COR) est utilisé pour la révélation.

### iv. Résultats

Nous cherchons à détecter la protéine PARP et la protéine Mcl-1.

- PARP : cette protéine est clivée lorsque la caspase 3 est activée lors du processus apoptotique. La diminution de la quantité de PARP totale signifie donc le clivage de cette protéine, c'est-à-dire un phénomène d'apoptose.
- Mcl-1 : c'est une protéine anti-apoptotique qui inhibe la libération du cytochrome c (en interagissant avec Bak et Bax) de la mitochondrie. Une diminution de la quantité de cette protéine est donc le signe d'un phénomène d'apoptose.

Le Western Blot est effectué à partir du lysat cellulaire des cellules à 48 h et 72 h car 24 h après le traitement, la différence en termes de prolifération cellulaire est infime par rapport aux cellules témoins. Les résultats suivants sont obtenus :



*Western Blot pour la lignée T47D. Détection de la PARP et de Mcl-1 en fonction de la concentration de ALA et du temps.*

La tubuline permet de s'assurer que la même quantité de protéines a été déposée initialement. Pour une concentration de 5 mM de ALA, les protéines PARP et Mcl-1 sont quasiment absentes. Ainsi, la diminution du nombre de cellules observée au comptage peut s'expliquer par l'apoptose des cellules traitées avec une concentration de 5 mM d'ALA.

A 72 h, pour une concentration de 5 mM d'ALA, la quantité de tubuline est quasiment inexistante, les cellules sont en très faible nombre. Nous observons également une diminution dose dépendante de la quantité de protéines. Ainsi, plus la dose d'ALA utilisée est importante, plus le phénomène d'apoptose est important, conduisant même à une quasi absence de cellules à la concentration de 5 mM.

### Annexe 3 : Détails des différentes phases de réalisation d'un essai clinique

	Objectifs	Méthodologie
<b>Phase 0</b>  Validation de la <b>cible</b> thérapeutique – pas de visées thérapeutiques	-Déterminer la pharmacodynamique et la pharmacocinétique (disponibilité biologique) -Etablir un niveau de dose sans effet secondaire -Sélectionner l'agent prometteur pour la phase I	-Phase courte (<7 jours) -Très peu de patients
<b>Phase I</b>  <b>Tolérance</b> à court terme et établissement de la <b>dose</b> optimale du traitement / du niveau acceptable de toxicité pour la phase II	-Déterminer la Dose Maximale Tolérée (MTD) -Définir la toxicité limitant la dose (DLT) -Caractériser la sévérité et les différents types d'effets secondaires -Développer les connaissances en pharmacocinétique (pour établir un planning d'administration) et pharmacodynamique -Données préliminaires -Etudier d'éventuels biomarqueurs de réponse	-Souvent patients très malades, faible nombre -Conduite séquentielle pour la recherche de dose : choix des doses initiale / maximale en fonction des résultats précliniques, choix du nombre de doses testées (doit rester faible) puis augmentation progressive de la dose administrée. Il existe différents plans expérimentaux.  Traditionnellement des cohortes de 3 à 6 patients par dose testée – on passe à la dose inférieure en cas de toxicité de grade 3 ou 4
<pre> graph TD     A[3 patients Dose n°1] -- 0 toxicité --&gt; B[3 patients Dose n°2]     B -- &gt; 1 toxicité --&gt; C[Arrêt essai = MTD déterminée]     B -- 0 toxicité --&gt; D[+ 3 patients Dose n°2]     D -- &gt; 1 toxicité --&gt; C     D -- 0 toxicité --&gt; E[3 patients Dose n°3]           </pre>		
<b>Phase II</b>  Evaluation de l' <b>efficacité</b> / de l'activité d'une molécule	-Déterminer une activité anti tumorale/ une efficacité dans des populations définies -Permet la prise de décision pour passer à un essai de Phase III -Estimer l'index thérapeutique	-Phase II a non comparative : un seul bras, pas de groupe contrôle -Phase II b comparative : contrôle avec placebo, en double aveugle, randomisée -Passage à la phase III si obtention d'un % supérieur à la limite d'efficacité (à définir)

	-Développer les données concernant les effets secondaires, les biomarqueurs éventuels	
<b>Phase III</b> Etude par rapport au traitement standardisé	-Evaluer l'efficacité thérapeutique par rapport aux traitements de référence -Comparaison de la qualité de vie, des coûts -Possibilité de comparer différents modes ou schémas d'administration -Evaluer les évènements indésirables	-Choix de patients homogènes, représentatifs des patients à qui sera destiné le traitement. Grand nombre de patients à inclure  -Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) à la suite de la phase III si résultats favorables
<b>Phase IV</b> Etudes post AMM	-Etude pour une nouvelle indication -Evaluer la toxicité chronique, la tolérance sur le long terme -Détection d'évènements rares -Evaluation de l'efficacité en pratique courante -Apporter de nouvelles informations : sous-groupes de patients, interactions...	-Cohortes de patients en nombre très important

**Annexe 4 : Table des valeurs usuelles IDEXX (numération et formule sanguine et examen biochimique de base) chez le chien et le chat**

Paramètre	Valeur basse		Valeur haute		Unité
	CN	CT	CN	CT	
<i>Numération et Formule Sanguine</i>					
<b>Hématies</b>	5,50	5,00	8,50	10,00	*10 <sup>12</sup> /L
<b>Hématocrite</b>	37,0	30,0	55,0	45,0	%
<b>Hémoglobine</b>	12,0	9,0	18,0	15,1	g/dL
<b>Réticulocytes</b>	10,0	3,0	110,0	50,0	K/μL
<b>Leucocytes</b>	5,50	5,82	16,90	19,5	*10 <sup>9</sup> /L
<b>Neutrophiles</b>	2,00	2,50	12,00	12,50	
<b>Lymphocytes</b>	0,50	0,40	4,90	6,80	
<b>Monocytes</b>	0,30	0,15	2,00	1,70	
<b>Eosinophiles</b>	0,10	0,10	1,49	0,79	
<b>Basophiles</b>	0,00	0,00	0,10	0,1,	
<b>Plaquettes</b>	175	175	500	600	
<i>Examen biochimique de base</i>					
<b>Glucose</b>	0,74	0,71	1,43	1,59	g/L
<b>Urée</b>	0,147	0,336	0,567	0,756	g/L
<b>BUN</b>	0,070	0,160	0,27	0,360	g/L
<b>Créatinine</b>	5,0	8,0	18,0	24,0	mg/L
<b>Protéines totales</b>	52	57	82	89	g/L
<b>Albumine</b>	23	23	40	39	g/L
<b>Globuline</b>	25	28	45	51	g/L
<b>ALAT</b>	10	12	100	130	U/L
<b>PAL</b>	23	14	212	111	U/L

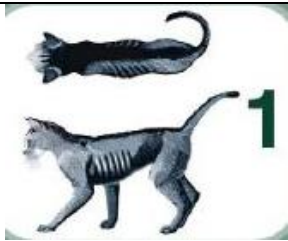
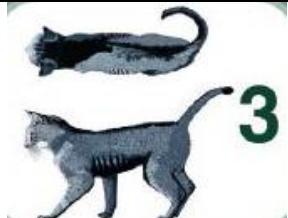

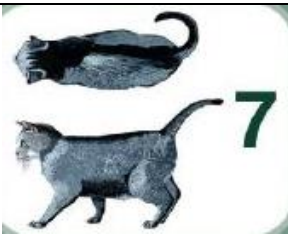

**Annexe 5 : Statuts de performance permettant de sélectionner les patients à inclure dans l'étude**

*(Inspirés de l'Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG), adaptés pour l'animal)*

<b>Grade</b>	<b>Statuts de performance ECOG adaptés pour l'animal</b>
0	Complètement actif – capable de réaliser les activités antérieures à la maladie sans restriction
1	Moins actif qu'avant la maladie mais toujours de l'entrain pour les activités de jeu et de promenades
2	Ambulatoire et propre – peu d'entrain pour les jeux et les promenades
3	Activité sévèrement compromise (absence d'entrain pour les jeux et les promenades) - ambulatoire uniquement pour aller manger et pour les sorties hygiéniques
4	Complètement handicapé, doit être nourri de force, incontinent, amorphe
5	Mort

## Annexe 6 : Système de condition corporelle (Note d'Etat Corporel NEC)

Traduction de la grille disponible dans l'ouvrage Withrow (2013), page 262

Trop maigre	1	Côtes visibles chez les chats à poils courts ; pas de grasse palpable ; creux de l'abdomen sévèrement marqué ; vertèbres lombaires et ailes de l'ilium facilement palpables	
	2	Côtes facilement visibles chez les chats à poils courts ; vertèbres lombaires évidentes avec une masse musculaire minimale ; creux de l'abdomen prononcé ; pas de grasse palpable	
	3	Côtes facilement palpables avec une couverture grasseuse minime ; vertèbres lombaires évidentes ; creux de l'abdomen évident	
	4	Côtes palpables avec une couverture grasseuse minime ; creux de l'abdomen visible ; dépôt de grasse abdominale absent	
Idéal	5	Bien proportionné ; creux de l'abdomen légèrement visible ; côtes palpables avec une couverture adipeuse légère ; dépôt de grasse abdominale minime	
Trop gras	6	Côtes palpables avec un léger excès de couverture grasseuse ; taille et dépôt de grasse abdominale distinguables mais non évidents ; creux de l'abdomen absent	
	7	Côtes non facilement palpables avec une couverture grasseuse modérée ; taille difficilement observable ; arrondissement de l'abdomen évident ; dépôt de grasse abdominale modéré	
	8	Côtes non palpables avec une couverture grasseuse en excès ; taille absente ; arrondissement de l'abdomen évident avec dépôt de grasse abdominale proéminent ; dépôt de grasse en région lombaire	
	9	Côtes non palpables sous une large couverture grasseuse ; larges dépôts grasseux en région lombaire, sur la tête et au niveau des membres ; distension abdominale, dépôt de grasse abdominale étendu	



## **Annexe 7 : Grille d'évaluation de la toxicité d'un traitement par le clinicien**

(inspiré et modifié d'après l'article de Spugnini et al., 2014)

<b>Toxicité - grades</b>	<b>Critères d'évaluation</b>
<b>Hospitalisation</b>	<b>Jours</b>
0	0
1	1
2	2-3
3	4-5
4	>5
<b>Neutropénie</b>	<b>Nombre de neutrophiles</b>
0	>2500 neutrophiles/ mm <sup>3</sup>
1	1500-2500 neutrophiles/ mm <sup>3</sup>
2	1000-1499 neutrophiles/ mm <sup>3</sup>
3	500-999 neutrophiles/ mm <sup>3</sup>
4	<500 neutrophiles/mm <sup>3</sup>
<b>Anorexie</b>	
0	Aucune
1	Inappétence
2	Anorexie <3 jours
3	Anorexie >3 jours mais <5 jours
4	Anorexie >5 jours
<b>Vomissements</b>	
0	Aucun
1	Nausées
2	Sporadiques – résolution spontanée
3	1-5 épisodes par jour, moins de 2 jours – prise d'antiémétiques
4	6-10 épisodes par jour, hospitalisation
<b>Diarrhée</b>	
0	Aucune
1	Selles molles, résolution avec changement alimentaire
2	1-4 épisodes de selles molles par jour, <2 jours
3	4-7 épisodes de selles molles par jour, ou >2 jours
4	>7 épisodes de selles molles par jour ou présence de sang ou hospitalisation
<b>Infection</b>	
0	Aucune
1	Thérapie non nécessaire
2	Thérapie nécessaire
3	Débilisant
4	Danger de mort

Une note de toxicité peut ainsi être obtenue en faisant la moyenne des différentes catégories.

**Annexe 8 : Grille d'évaluation des effets secondaires d'un traitement et de la qualité de vie de l'animal par le propriétaire**

*(inspiré et modifié d'après l'article de Spugnini et al., 2014)*

Animal		Date		
<b>Vomissements</b>				
0	1	2	3	4
Aucun	Nausées	Sporadiques – résolution spontanée	1-5 épisodes par jour, moins de 2 jours – prise d'antiémétiques	6-10 épisodes par jour, hospitalisation
<b>Diarrhée</b>				
0	1	2	3	4
Absence	Selles molles, résolution avec changement alimentaire	1-4 épisodes de selles molles par jour, <2 jours	4-7 épisodes de selles molles par jour, ou >2 jours	>7 épisodes de selles molles par jour ou présence de sang ou hospitalisation
<b>Appétit</b>				
0	1	2	3	4
Normal	Avec friandises ou stimulations, mange 100%	Perte d'appétit <3 jours ou mange 50% de la ration avec friandises	Perte d'appétit >3 jours mais <5 jours ou mange quelques bouchées de la ration avec friandises	Perte d'appétit >5 jours ou pas d'appétit ou pas d'intérêt pour la ration
<b>Flatulences</b>				
0	1	2	3	4
Normal	1-2 fois par jour	2-4 fois par jour	4-6 fois par jour	>6 fois par jour
<b>Activité</b>				
0	1	2	3	4
Normale	Abattement moyen	Abattement modéré, difficultés avec les activités quotidiennes	Léthargie sévère, ne se lève que pour sortir	Incapable de se lever seul

Une note de qualité de vie peut ainsi être obtenue en faisant la moyenne des différentes catégories.



**INGLEBERT Marine**

**Approche métabolique du traitement du cancer chez le chien et le chat :  
étude bibliographique et de faisabilité au travers de cas traités au Centre  
Hospitalier Vétérinaire Saint-Martin**

Thèse d'Etat de Doctorat Vétérinaire : Lyon, 12 Juillet 2017

**RESUME :** Les cellules tumorales présentent un métabolisme énergétique spécifique, propice au développement de nouvelles perspectives thérapeutiques. Notre travail porte sur l'étude de ce métabolisme modifié, qui implique de nombreux enzymes (de la glycolyse, du cycle de Krebs, de la glutaminolyse, du métabolisme du lactate...), transporteurs (GLUT...) et facteurs de transcription (HIF...). L'objectif de cette thèse est de tout d'abord faire un état des lieux de la littérature concernant les molécules ciblant le métabolisme du glucose, de la glutamine et l'équilibre acido-basique de la cellule. Puis, il s'agit de cibler les molécules utilisées en clinique en médecine humaine, en retenant celles aux mécanismes d'action complémentaires, présentant une efficacité seule ou en association avec de la chimiothérapie (thérapie métabolique). Nous avons réalisé une étude de faisabilité à partir de 18 cas cliniques (14 chiens et 4 chats, présentant différents types histologiques de tumeurs) traités au CHV Saint-Martin avec des molécules ciblant le métabolisme tumoral, utilisées seules ou en association avec de la chimiothérapie ou des anti-inflammatoires. Cette analyse consiste en une première étude d'observation évaluant la possibilité d'utilisation de ces molécules en clinique vétérinaire. Les résultats montrent la bonne tolérance des animaux vis-à-vis de la thérapie. L'efficacité de la thérapie métabolique reste cependant à démontrer, ce qui a motivé une proposition de protocole d'essai clinique permettant d'évaluer l'efficacité de la thérapie métabolique en association avec la chimiothérapie sur la survie des animaux.

**MOTS CLES :**

- |                           |                           |
|---------------------------|---------------------------|
| - Cancer -- Thérapeutique | - Cancer chez les animaux |
| - Métabolisme             | - Chien                   |
| - Cellules cancéreuses    | - Chat domestique         |

**JURY :**

Président : Madame le Professeur Françoise Mornex

1<sup>er</sup> Assesseur : Madame le Professeur Frédérique Ponce

2<sup>ème</sup> Assesseur : Monsieur le Professeur Philippe Berny

Membre invité : Monsieur le Docteur Hubert Lincet

**DATE DE SOUTENANCE : 12 juillet 2017**

**ADRESSE DE L'AUTEUR :**

34 rue d'Esquermes  
59000 Lille