



**HAL**  
open science

# Influence du métabolisme mitochondrial dans la survie et la mort des cellules tumorales : intérêt du ciblage mitochondrial pour le traitement des cancers

Fanny André

## ► To cite this version:

Fanny André. Influence du métabolisme mitochondrial dans la survie et la mort des cellules tumorales : intérêt du ciblage mitochondrial pour le traitement des cancers. Médecine humaine et pathologie. Université du Droit et de la Santé - Lille II, 2017. Français. NNT : 2017LIL2S001 . tel-01662470

**HAL Id: tel-01662470**

**<https://theses.hal.science/tel-01662470>**

Submitted on 13 Dec 2017

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

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

**UNIVERSITE LILLE – NORD DE FRANCE  
ECOLE DOCTORALE BIOLOGIE ET SANTÉ**

## **THÈSE**

Pour l'obtention du grade de

**DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ LILLE – NORD DE FRANCE**

**SPÉCIALITÉ : BIOLOGIE CELLULAIRE**

Présentée par

**FANNY ANDRÉ**

# **INFLUENCE DU METABOLISME MITOCHONDRIAL DANS LA SURVIE ET LA MORT DES CELLULES TUMORALES : INTÉRÊT DU CIBLAGE MITOCHONDRIAL POUR LE TRAITEMENT DES CANCERS**

Thèse dirigée par :  
M. le Professeur Philippe MARCHETTI

Soutenue le 19 Janvier 2017

## **JURY**

Rapporteurs :

Mme. la Professeure Carine MICHIELS

M. le Professeur Antoine GALMICHE

Examineurs :

M. le Docteur Thierry IDZIOREK

M. le Professeur Philippe MARCHETTI



À mon fils, Léo,



Je tiens tout d'abord à remercier l'ensemble des membres de mon jury de thèse, Madame Carine MICHIELS et Monsieur Antoine GALMICHE qui ont accepté d'être les rapporteurs de ma thèse. Je remercie également Messieurs Thierry IDZIOREK et Philippe MARCHETTI d'avoir accepté d'examiner mes travaux de recherche.

Je remercie le Professeur Bruno QUESNEL pour m'avoir accueillie au sein de son équipe et pour avoir suivi attentivement l'avancé de mon projet lors de ces 3 années de thèse. J'ai beaucoup apprécié votre regard critique et vos conseils avisés.

Je remercie le Professeur Philippe MARCHETTI pour m'avoir accueillie dans son groupe et avoir accepté d'être mon directeur de thèse. J'ai beaucoup appris de vos connaissances que je qualifierais de « sans fin », votre regard critique et votre enthousiasme pour mener à bien ce projet. Merci pour votre disponibilité et votre confiance qui m'a fait m'élever et gagner en maturité. Soyez assuré de mon respect et de ma reconnaissance.

Je remercie le Docteur Jérôme KLUZA pour m'avoir formé bien même avant que la thèse ne commence. Merci pour ta patience, tes conseils scientifiques avisés et ta disponibilité.

Je remercie le Docteur Thierry IDZIOREK pour son implication dans le déroulement de ma thèse. Merci pour vos participations actives lors des nombreuses réunions.

Je remercie les membres de mon équipe, ceux qui sont présents mais également ceux qui sont partis, ainsi que les membres de l'unité EA4483.

Je remercie tout particulièrement Paola,

Tu es une personne exceptionnelle, comme on en voit peu dans la recherche. J'admire chez toi ta grande gentillesse mais également ton incroyable intelligence. Tu m'as apporté tout au long de cette thèse, le soutien nécessaire lors des bons mais également des moins bons moments. Je te remercie pour nos nombreux fous rires, nos « Starbucks », nos « Häagen Dazs » ... et j'en passe.

Enfin, je te suis profondément reconnaissante pour le savoir que tu m'as transmis, ce goût pour la bibliographie un peu trop « fluotées » et nos fameuses « petites

fiches résumé» mais également pour les nombreuses formations techniques que tu m'as enseigné. Merci, pour cette merveilleuse amitié.

Merci à Fatou et Bérénice,

J'ai eu l'immense chance de partager des moments uniques avec vous. Je ne peux que me souvenir des chansons du vendredi soir et en particulier « Survivor », des chorégraphies sur notre chère Beyoncé ainsi que de nos petits craquages tard le soir : KETCHUP !!!! Je vous remercie d'avoir toujours su me faire sourire même lors de coups durs ... Je ne peux que finir ce remerciement par notre petit hymne « Who run the world ...Girls ».

Un grand merci à ma petite Delphine,

Tu es une personne incroyable, pleine de bonne humeur. Tu as été mon rayon de soleil chaque matin au labo. Je me souviens de nos échanges autour de cafés et de petits pains... Je te remercie également pour toute l'aide technique que tu m'as apportée lors de la thèse.

Merci à Edmone,

Tu es une personne exceptionnelle pour moi. Tu représentes « ma voie de la sagesse ». Tu as toujours les mots et les bons conseils qui me permettent d'avancer. Je te remercie profondément pour tout nos fous rires et nos fameux resto « Thaï » du jeudi midi.

Merci à Yara,

Tu es une réellement une boule d'énergie remplie d'optimisme. J'ai apprécié tout tes supers conseils et nos échanges souvent très « fashion ». Je me rappellerais tout nos resto thaï, nos pizzas, burritos... Bref tout ce qui n'est pas super « diet ».

Merci à Latifa,

Je te remercie sincèrement pour tout ces jolis moments passés. Merci pour tout nos instants « papotages » mais également ta gentillesse, tes sourires et ta bonne humeur contagieuse.

Merci à Mélanie,

Pour ton sourire contagieux et les « Beaux gosses » collés sur les murs de mon bureau. C'est vrai que ça aide lors de longues journées.

Merci à Camille,

Pour ton enthousiasme débordant et ta façon si particulière de relativiser. Nous avons partagé des supers moments ensemble.

Merci à Pierre Elliott,

Merci pour ta bonne humeur et tes conseils quotidiens. Pour toutes tes petites blagues au quotidien et ce surnom qui me colle toujours à la peau « Fafa ». Ma première année de thèse aurait été moins drôle sans toi.

Merci à Aurélie,

Pour ton soutien bien même avant la thèse. Je te remercie pour ta gentillesse et tes bons conseils. Tu es également une des premières personnes à m'avoir formé lors de mon arrivé au labo, il y a déjà 6 ans.

Merci à Manel,

Je te remercie pour tout tes conseils et ta gentillesse que ce soit aussi bien d'un point de vue professionnel que personnel.

Merci à Anne, Salim et Reeka,

Pour votre bonne humeur quotidienne.

Enfin, je remercie Mélanie de l'IRCL,

Je te remercie pour tout le soutien que tu m'as apporté dans cette thèse. Pour ta gentillesse et tes nombreux conseils. Merci, de m'avoir épaulé quand j'en avais besoin.

Je suis très heureuse et reconnaissante d'avoir partagé ces moments forts qui ont fait de moi la personne que je suis devenue.



Je remercie profondément mes parents Laurence et Pierre qui ont toujours cru en moi et qui m'ont toujours encouragé à donner le meilleur de moi-même.

Merci à mes frères Aurélien et Pierre-Alexandre (Pierro), pour le bonheur que vous m'apportez quotidiennement.

À ma petite Cloé, tu fais de moi une marraine comblée.

Merci à Sonia,

Nous avons eu la chance de partager ces grands moments d'écriture. Tu as été d'un réel soutien tout au long de la thèse.

Je remercie Mandy,

Pour tous les moments exceptionnels que nous avons vécus. Je retiens tous nos fous rires ainsi que le soutien moral que tu m'as apporté lors de la thèse et bien à côté.

À mes amis, Jean Baptiste, Yves, Anthony, Marion, Pauline et Gwen,

Pour nos nombreuses soirées qui m'ont permis de m'évader. Bien que nous ayons des vies professionnelles très différentes, vous savez toujours me motiver et m'encourager pour aller plus loin. Merci pour ces belles amitiés.

Un énorme merci à mon Mari, Jacques,

Je te remercie sincèrement pour ta patience, ton aide et ta compréhension tout au long de mes études et particulièrement la thèse. Je ne suis pas très expressive au quotidien c'est pourquoi je profite de cet instant unique pour te témoigner tout mon respect et mon amour.

Enfin, Je ne te remercierais jamais assez d'avoir fait de moi une maman, sans doute le rôle le plus important dans ma vie à présent.

Je dédie cette thèse à mon fils, Léo.

Du haut de tes 15 mois, tes 76 centimètres et tes 8 petits kilos, tu émerveilles chacune de mes journées.

Je t'aime profondément.

# **TABLE DES MATIÈRES**



<b>TABLE DES MATIÈRES .....</b>	<b>10</b>
<b>ABREVIATIONS .....</b>	<b>15</b>
<b>PRÉAMBULE .....</b>	<b>23</b>
<b>INTRODUCTION .....</b>	<b>25</b>
<b>PARTIE 1 : RÔLE DE LA MITOCHONDRIE DANS LE CANCER.....</b>	<b>27</b>
1. La mitochondrie au carrefour de la survie et de la mort des cellules ....	28
1.1. Implication de la mitochondrie dans la mort cellulaire : .....	28
1.1.1. Implication de la mitochondrie dans la mort par apoptose .....	28
1.1.1.1. L'apoptose mitochondriale: .....	28
1.1.1.1.1. Les protéines de la famille Bcl-2 .....	30
1.1.1.1.2. Régulation de la MOMP par les membres de la famille Bcl-2 .....	31
1.1.1.2. Amplification de la voie des récepteurs de mort par la mitochondrie .....	34
1.1.1.3. Dérégulation du processus apoptotique dans le cancer .....	36
• Prévention de la MOMP dans les cellules cancéreuses .....	36
• Mécanismes en aval de la MOMP inhibant les caspases .....	38
1.1.2. Implication de la mitochondrie dans d'autres types de mort cellulaire ....	40
1.1.2.1. La nécroptose .....	40
1.1.2.2. La ferroptose .....	42
1.2. Implication de la mitochondrie dans la survie des cellules : la mitophagie.....	44
2. Particularité du métabolisme des cellules tumorales .....	46
2.1. Le Phénotype « Warburg » .....	46

1.1.1. L'effet Warburg, un métabolisme orienté vers la synthèse de macromolécules .....	49
1.1.2. Les enzymes dérégulées contribuant à l'effet Warburg.....	50
1.2. Le métabolisme mitochondrial dans les cellules tumorales.....	51
1.2.1. Découplage du flux glycolytique mitochondrial.....	51
1.2.1.1. Inactivation de la Pyruvate Dehydrogenase: .....	52
1.2.1.2. Perte de l'import du pyruvate mitochondrial .....	54
1.2.2. Réactions anaplérotiques mitochondriales.....	55
1.2.2.1. Les réactions anaplérotiques induites par l'utilisation de la glutamine... 55	
1.2.2.2. Les réactions anaplérotiques induites par la pyruvate carboxylase .....	59
1.2.3. La $\beta$ -oxydation des acides gras par la mitochondrie.....	61
1.3. Le métabolisme mitochondrial des cellules tumorales est influencé par des signaux internes et externes.....	63
1.3.1. L'influence oncogénique .....	63
1.3.2. L'environnement cellulaire .....	77

## **PARTIE 2 : CIBLAGE MITOCHONDRIAL DANS LE CANCER..... 86**

1. La mitochondrie, une cible attractive.....	86
1.1. Le mitochondrie : source de stress oxydant .....	86
1.1.1. La production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et les systèmes de détoxification.....	86
1.1.1.1. Maintien de l'homéostasie redox en condition physiologique .....	86
1.1.1.2. Le stress oxydant des cellules tumorales.....	88
1.1.2. Les conséquences biologiques des ROS .....	93
1.2. L'activité mitochondriale a un rôle essentiel dans la tumorigenèse.....	96

1.2.1. Rôle de l'activité mitochondriale dans la prolifération et la survie des cellules tumorales.....	96
1.2.2. Rôle de l'activité mitochondriale dans l'invasion et la métastase .....	97
1.2.3. Rôle de l'activité mitochondriale dans la résistance aux agents anticancéreux .....	99
1.3. Rôle de métabolisme mitochondrial dans la survie en condition de stress : Exemple du stress réticulaire.....	100
1.3.1. Stress réticulaire et cancer .....	100
1.3.2. Rôle du métabolisme mitochondrial dans la réponse au stress réticulaire .....	106
2. Les cibles mitochondriales dans le traitement du cancer.....	109
2.1. La chaîne respiratoire mitochondriale .....	109
2.2. L'import du pyruvate via l'inhibition de la PDK.....	111
2.3. Les voies métaboliques mitochondriales .....	112
2.3.1. Glutaminase.....	112
2.3.2. CPTI.....	114
2.4. L'isocitrate dehydrogenase 2 (IDH2).....	115
2.5. L'adénosine nucléotidyl transférase (ANT).....	115
2.6. Protéines de la famille Bcl-2 .....	116
<b>PROBLEMATIQUE .....</b>	<b>119</b>
<b>RESULTATS .....</b>	<b>123</b>
<b>RÉSUMÉ ARTICLE 1.....</b>	<b>125</b>

RÉSUMÉ ARTICLE 2.....	128
RÉSUMÉ ARTICLE 3.....	134
<b>DISCUSSION .....</b>	<b>139</b>
DISCUSSION PARTIE 1 .....	141
DISCUSSION PARTIE 2 .....	145
DISCUSSION PARTIE 3 .....	149
DISCUSSION GÉNÉRALE.....	155
<b>BIBLIOGRAPHIE .....</b>	<b>165</b>
<b>ANNEXES.....</b>	<b>285</b>

## **ABRÉVIATIONS**

---





**ACAT** : Acetyltransferase

**ACL** : ATP citrate lyase

**ACO** : Aconitase

**ACT2** : Transporteur de Glutamine

**ADN** : Acide désoxyribonucléique

**AIF** : Apoptosis-Induced Factor

**$\alpha$ -KG** :  $\alpha$ -Kétoglutarate

**AMPK** : AMP-activated protein kinase

**ANT** : Adenine Nucleotide Transferase

**APAF-1** : Apoptotic Protease Activating Factor 1

**ARN** : Acide ribonucléique

**ASCC** : Acetyl CoA Synthetase

**ASK1** : Apoptosis signal-regulating kinase 1

**ATF 4/6**: Activating Transcription Factor 4/6

**ATP** : Adenosine triphosphate

**BCL-2** : B cell Lymphoma-2

**BCL-XL** : B-cell Lymphoma-Extra Large

**BCR-ABL** : B-cell Receptor - Abelson

**BGP** : 1,3-Bisphosphoglycerate

**BMSC** : Cellules stromales dérivées de la moelle osseuse

**BNIP3** : BCL2/Adenovirus E1B 19kDa Interacting Protein 3

**BPH** : Benign Prostatic Hyperplasia

**BPTES** : N,N'-[Thiobis(2,1-ethanediy-1,3,4-thiadiazole-5,2-diy)]bisbenzeneacetamide

**CAF** : Cancer Associated Fibroblast

**CAM** : Cancer Associated Macrophage

**CAT** : Acetylcarnitine Transferase

**CHOP** : CCAAT-enhancer-binding protein homologous protein

**CISD1** : CDGSH Iron Sulfur Domain 1

**COX** : Cyclooxygenase

**CPT1** : Carnitine palmitoyltransferase I

**CRM** : Chaîne respiratoire mitochondriale

**CYPD** : Cyclophiline D

**$\Delta\psi$ M** : Potentiel de Membrane Mitochondrial

**DCA** : Dichloroacétate

**DEX** : Dexaméthasone

**DFO** : Déferoxamine

**DHAP** : Dihydroxyacétone Phosphate

**DON** : 5 - Oxo - norleucine

**DRP1** : Dynamin related protein 1

**EGFR** : Epithelial Growth Factor Receptor

**EIMM** : Espace InterMembranaire Mitochondrial

**EMT** : Transition épithélio-mésenchymateuse

**ERAD** : Endoplasmic Reticulum – Associated Degradation

**ERK** : Extracellular signal - Regulated Kinase

**ERSE** : ER Stress Response Element

**ETC** : Chaîne de transport des électrons

**FAD** : Flavine adénine dinucléotide

**FAO** : Oxydation des acides gras

**FAS** : Fatty Acid Synthase

**F-3-P** : Fructose-3-Phosphate

**F-6-P** : Fructose-6-Phosphate

**F-B-P** : Fructose-1,6-Bisphosphate

**FGFR** : Fibroblast Growth Factor Receptor

**FH** : Fumarate Hydratase

**FIH / HIFAN**: Factor Inhibiting HIF/ Hypoxia Inducible Factor 1, alpha Subunit Inhibitor

**FLT3/ITD** : Fms-like tyrosine kinase 3 / Internal Tandem Duplication

**FQR** : Flavoprotein ubiquinone oxidoreductase

**5-FU** : 5-Fluorouracil

**FUNDC1** : FUN14 Domain Containing 1

**GC** : Glucocorticoïdes

**GCL** : Glutamate-Cystéine Ligase

**GDH** : Glutamate Dehydrogenase

**GILZ** : Glucocorticoid-Induced Leucine Zipper

**GLUT** : Glucose Transporter

**GLS** : Glutaminase

**G-3-P** : Glyceraldehyde-3-Phosphate

**G-6-P** : Glucose-6-Phosphate

**G6PD** : Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase

**GPDH** : Glycerol-3-Phosphate Dehydrogenase

**GPX** : Glutathion peroxydase

**GR** : Glucocorticoïd Receptor

**GR** : Glutathione Reductase

**GRE** : Glucocorticoïd Response Element

**GRP75/78** : Glucose Regulated Protein 75/78

**GSAO** : 4-[N-[S-glutathionylacetyl]amino] phenylarsenoxide

**GSF** : Succinic-Glutathion

**GSH/GSSG** : Glutathion

**GSS** : Glutathion Synthase

**HCS** : Cellules souches Hématopoïétiques

**2-HG** : 2-Hydroxyglutarate

**HIF** : Hypoxia-inducible factor

**HK2** : Hexokinase 2

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : peroxyde d'hydrogene

**HPGL/PCC :**  
Paragangliome/Phéochromocytome  
héréditaire

**HRE :** Hypoxia Response Element

**IDH :** Isocitrate dehydrogenase

**IF-1 :** ATPase inhibitory factor-1

**IRE1 $\alpha$  :** Inositol-Requiring Enzyme 1  $\alpha$

**JNK :** c-Jun N-terminal kinases

**KEAP1 :** Kelch-like ECH-Associated  
Protein 1

**LAL :** Leucémie Aigue Lymphoïde

**LAM :** Leucémie Aigue Myéloïde

**LDH-A :** Lactate Dehydrogenase – A

**LLC :** Leucémie Lymphoïde Chronique

**LMC :** Leucémie Myéloïde Chronique

**LKB1 :** Liver kinase B1

**LOX :** Lipooxygenase

**MAM :** Mitochondrial Associated  
Membrane

**MAO :** Monoamine Oxidase

**MAPK :** Mitogen-activated protein  
kinase

**MCL1 :** Myeloid Cell Leukemia 1

**MCP :** Mort Cellulaire Programmée

**MCT :** Monocarboxylate transporter

**ME1 :** Malic enzyme 1

**MEC :** Matrice ExtraCellulaire

**MEF :** Mouse Embryonic Fibroblast

**MEM :** Membrane Externe  
Mitochondriale

**MFN:** Mitofusin

**MIM :** Membrane Interne  
Mitochondriale

**MITF :** Microphthalmia- associated  
Transcription Factor

**MLKL :** Mixed Lineage Kinase domain-  
Like

**MM :** Myelome Multiple

**MMP :** Matrix MetalloProtéase

**MOMP :** Mitochondrial Outer Membrane  
Permeabilization

**MPC :** Mitochondrial Pyruvate Carrier

**MPT :** Mitochondrial Permeability  
Transition

**mtDNA :** ADN mitochondrial

**mTORC1 :** mammalian target of  
rapamycin complex 1

**NAD :** Nicotinamide Adénine  
Dinucléotide

**NADP :** Nicotinamide Adénine  
Dinucléotide Phosphate

**NF $\kappa$ B :** Nuclear Factor Kappa B

**NHL :** Non-Hodgkinien Lymphoma

**NOX :** NADPH Oxydase

**NRF2 :** Nuclear Factor erythroid derived  
2 Factor

**NSCLC** : Cancer du poumon non à petites cellules

**O<sub>2</sub><sup>°</sup>** : Anion superoxyde

**OAA** : Oxaloacétate

**OGDH** : Oxoglutarate déhydrogénase

**OH<sup>°</sup>** : Radical hydroxyl

**OPA-1** : Optic Atrophy – 1

**PC** : Pyruvate carboxylase

**PCa** : Cancer de la prostate

**PDH** : Pyruvate Déhydrogénase

**PDK** : Pyruvate Déhydrogénase Kinase

**PDP** : Pyruvate déhydrogénase phosphatase

**PEITC** : Phenethyl isothiocyanate

**PENAO** : 4-(N-(S-penicillaminylacetyl)amino) phenylarsonous acid

**PEP** : Phosphoénolpyruvate

**PERK** : Protein Kinase-like ER Kinase

**PET** : Tomographie par émission de positon

**PFK1** : Phospho-fructokinase 1

**PGC1-α** : Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha

**2-PG** : 2-Phosphoglycerate

**3-PG** : 3-Phosphoglycerate

**PHGDH** : Phosphoglycerate Déhydrogénase

**PI3K** : phosphoinositide 3-kinase

**PINK 1** : PTEN-induced putative kinase 1

**PKM2** : Pyruvate kinase M2

**PLA** : Proximity Ligation Assay

**PPP** : Voie des pentoses phosphates

**PTEN** : Phosphatase and tensin homolog

**PTP** : Pore de Transition de Perméabilité

**PRDX** : Peroxyredoxine

**PUMA** : P53 Upregulated Modulator of Apoptosis

**PYK2** : Protein Kinase 2

**R-5-P** : Ribose-5-Phosphate

**RIPK** : Receptor Interacting Protein Kinase

**ROS** : Reactive Oxygen Species

**RSL3** : Ras Selective Lethal 3

**RTK** : Récepteur tyrosine kinase

**SRC** : « Sarc » Sarcome

**SCLC** : Cancer du poumon à petites cellules

**SCO2** : Cytochrome C Oxidase Assembly Protein

**SDH** : Succinate déhydrogénase

**SIRT** : Sirtuine

**SMAD** : SMAD Family Member 3

**SOD** : Superoxyde dismutase

**S1P/S2P** : Site 1 Protease/ Site 1  
Protease

**STAT3** : Signal transducer and activator  
of transcription 3

**TAL** : Transaldolase

**TGFβ** : Transforming growth factor beta

**TIGAR** : TP53-Induced Glycolysis and  
Apoptosis Regulator

**TKI** : Inhibiteur tyrosine kinase

**TKT** : Transketolase

**TLR** : Toll-Like Receptor

**TNBC** : Triple Negative Breast Cancer

**TNF** : Tumor Necrosis Factor

**TNFR** : Tumor Necrosis Factor Receptor

**TOS** : Tocophéryl Succinate

**TRAF2** : TNF receptor-associated factor  
2

**TRDX** : Thioredoxines

**TXNIP** : Thioredoxin-Interacting Protein

**UPR** : Unfolded Protein Response

**VDAC** : Voltage dépendant anion  
channel

**VHD** : Von Hippel-Lindau

**xCT** : Transporteur de cystéine

**XBP1** : X-Box-binding Protein 1

**XIAP** : X-Linked Inhibitor of Apoptosis

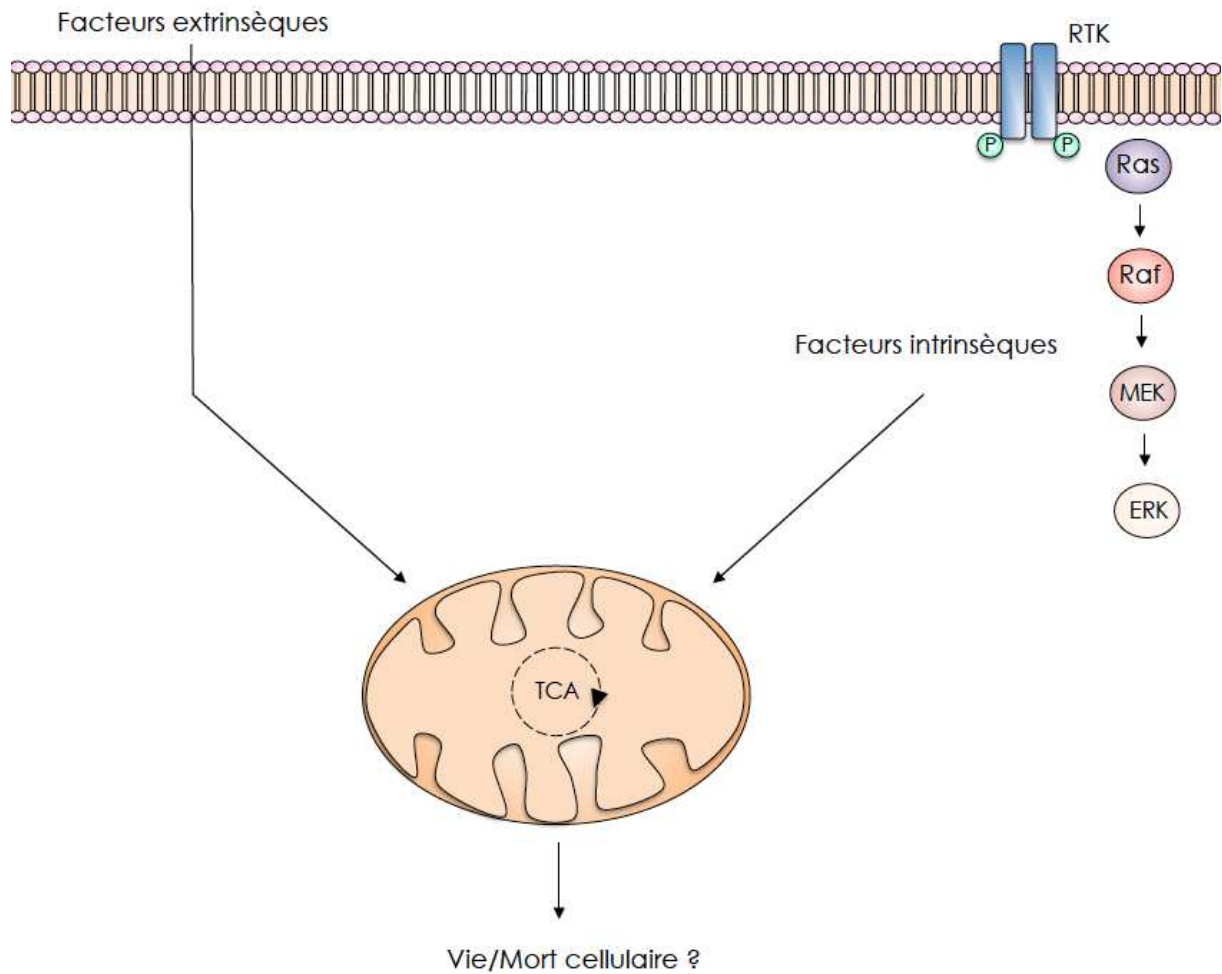


## PREAMBULE

Notre laboratoire s'intéresse au rôle des mitochondries dans la sensibilité/résistance aux agents anticancéreux. Les résultats de ces dernières années ont conduit à envisager la mitochondrie comme une cible potentielle pour le traitement des cancers.

En effet, la mitochondrie a une place privilégiée dans la signalisation cellulaire, au carrefour de la survie et de la mort de la cellule. La mitochondrie est un organite, (1) qui est capable d'intégrer une multitude de signaux en amont, en particulier ceux déclenchés par le stress (2) qui, consécutivement, est capable de moduler le métabolisme énergétique au travers la production d'ATP, en assimilant une multitude de substrats tels que le pyruvate, la glutamine et les acides gras. La mitochondrie participe également à la biosynthèse de macromolécules essentielles pour la prolifération des cellules cancéreuses, au travers des voies anaboliques et cataboliques. (3) qui, participe activement aux différentes formes de mort cellulaire. Ainsi selon la réponse générée, la mitochondrie intervient dans la décision de vie et de mort de la cellule. Le travail présenté ici s'inscrit directement dans cette thématique en se focalisant sur l'implication de la mitochondrie dans la réponse aux stress réticulaires.





**Figure 1: Implication de la mitochondrie dans la réponse aux stress cellulaires.**

La mitochondrie est capable d'intégrer une multitude de signaux internes et externes qui vont moduler le métabolisme énergétique. En fonction des signaux intégrés et de leur intensité, la mitochondrie va permettre la vie ou la mort de la cellule.

## INTRODUCTION

---



# **PARTIE 1 : RÔLE DE LA MITOCHONDRIE DANS LE CANCER**

La tumorigenèse est un processus multi étape au cours duquel de nombreuses altérations génétiques conduisent à la transformation progressive de cellules normales en cellules cancéreuses. A l'heure actuelle, on dénombre pas moins de 200 types de cancers différents traduisant ainsi une grande diversité causée à la fois par une hétérogénéité entre les tumeurs mais également au sein d'une même tumeur (Giampazolias E et al., 2016). En dépit de cette diversité, il a été démontré que les cellules cancéreuses partagent des caractéristiques communes. En effet, les cellules cancéreuses ont la capacité de résister à la mort cellulaire, de métastaser, d'induire l'angiogenèse, d'échapper au système immunitaire, ont une instabilité génétique ainsi qu'une reprogrammation de leur métabolisme énergétique (Hanahan, D et al., 2011). Chacun de ces changements physiologiques acquis durant le processus de tumorigenèse représente une cible thérapeutique pour le traitement des cancers.

Depuis quelques années, des études se portent sur un organe qui aurait un rôle clé dans la plupart des caractéristiques citées par Hanahan, la mitochondrie.

La mitochondrie est un organe pluripotent capable de contrôler à la fois la vie et la mort cellulaire. En effet, la mitochondrie constitue la source principale de génération d'ATP et est impliquée dans des voies anaboliques et cataboliques multiples. Outre son rôle métabolique, il a été démontré que la mitochondrie est fortement impliquée dans la réponse aux stress cellulaires en engendrant notamment l'autophagie ou encore l'apoptose.

L'implication de la mitochondrie dans ces processus est essentielle pour maintenir l'homéostasie cellulaire, en effet, il a été démontré que des défauts mitochondriaux ou des altérations des voies de signalisations convergents ou provenant de la mitochondrie engendrent des pathologies chez l'homme et notamment le cancer (Galluzzi L et al., 2012). Il apparaît clairement que par son rôle multiple, la mitochondrie constitue une cible thérapeutique prometteuse dans le traitement des cancers.

# 1. La mitochondrie au carrefour de la survie et de la mort cellulaire

## 1.1. Implication de la mitochondrie dans la mort cellulaire :

### 1.1.1. Implication de la mitochondrie dans l'apoptose :

La mort cellulaire programmée (MCP) ou apoptose est un processus physiologique impliqué notamment dans l'embryologie, le développement du système nerveux mais également dans l'élimination de cellules potentiellement dangereuses pour l'organisme. L'apoptose est accompagnée de modifications morphologiques caractéristiques telles qu'un rétrécissement cellulaire, un bourgeonnement membranaire mais également une condensation chromatiniennne. Cette mort cellulaire implique l'activation de protéases spécifiques appelées caspases responsables de la dégradation des composants cellulaires. Les caspases sont présentes dans la cellule sous forme de précurseurs inactifs ou zymogènes. On définit des caspases initiatrices dont les caspases 2, 8 et 9 activées par autoclivage et des caspases effectrices comme les caspases 3, 6 et 7 activées par les caspases initiatrices.

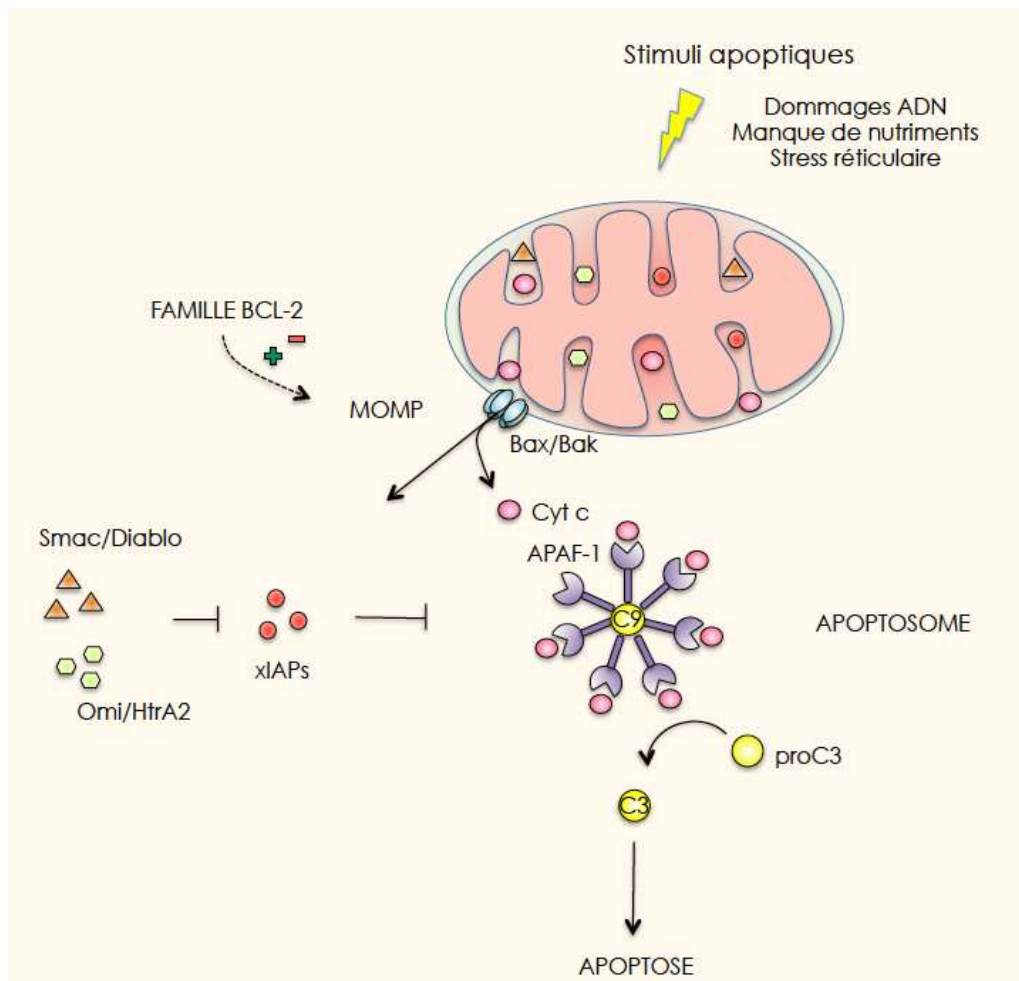
Deux voies principales apoptotiques ont été décrites : la voie extrinsèque ou voie des récepteurs de mort induite par l'interaction d'un ligand avec un récepteur et la voie intrinsèque ou voie mitochondriale induite de façon autonome suite à divers stress cellulaires tels que la privation en nutriments, un stress calcique ou des dommages à l'ADN. Il a été mis en évidence que ces deux voies peuvent être finement régulées par la mitochondrie (Green DR et al., 2015).

#### 1.1.1.1. L'apoptose mitochondriale :

L'apoptose intrinsèque ou mitochondriale est induite à la suite de diverses perturbations intracellulaires. Elle est caractérisée par la formation d'une plateforme d'activation appelée apoptosome, nécessaire au déroulement de l'apoptose.

Lors de l'apoptose mitochondriale, le cytochrome c est relargué de l'espace intermembranaire mitochondrial (EIMM) vers le cytosol. Il va se lier aux protéines APAF1 (Apoptotic protease - activating factor 1) qui constituent la plateforme d'assemblage de l'apoptosome. Ce complexe multiprotéique va permettre l'activation de

la caspase 9 qui induira par la suite le clivage et l'activation des caspases effectrices, responsables de la dégradation des composants cellulaires lors de l'apoptose (Figure 2).



**Figure 2: l'apoptose mitochondriale.**

L'apoptose mitochondriale est induite suite à divers stress tels que les dommages à l'ADN, le manque de nutriments et le stress réticulaire. En réponse à ces stimuli apoptotiques, la mitochondrie va déclencher l'apoptose en favorisant la MOMP permettant le relargage du cytochrome c et de facteurs solubles de l'EIMM vers le cytosol. Le cytochrome c va aller se lier aux protéines APAF1 formant ainsi l'apoptosome, plateforme permettant le recrutement et l'activation de la caspase initiatrice 9. La caspase 9 activée va pouvoir à son tour activer les caspases effectrices comme la caspase 3 et induire l'apoptose. L'apoptose est régulée par les facteurs solubles Smac/Diablo, Omi/HtrA2 et xIAPs relargués suite à la MOMP mais également par la famille des protéines Bcl-2.

Dans les cellules saines, le cytochrome c est retrouvé uniquement dans l'EIMM. Son interaction avec APAF1 implique la perméabilisation de la membrane mitochondriale (MOMP : mitochondrial outer membrane permeabilization) induite par les stimuli apoptotiques.

En plus d'induire le relargage du cytochrome c, la MOMP induit la libération de toutes les protéines solubles de l'EIM. Parmi ces protéines, on retrouve des négatifs de l'apoptose, les protéines xIAPs (X-linked inhibitor of apoptosis). Ces protéines sont composées d'un domaine BIR qui permet l'interaction et l'inhibition des caspases, notamment les caspases 3, 7 et 9 ; mais également d'un domaine E3 ubiquitine Ligase qui va permettre d'ubiquitinyler les caspases favorisant ainsi leur dégradation protéasomale. De plus, il a été démontré que ces protéines favorisent l'activation d'un facteur impliqué dans la survie, le facteur NFκB. Les IAPs (x-IAPs ou c-IAPs) sont régulées négativement par les protéines Smac/Diablo et Omi/HtrA2. En effet, il a été démontré que Smac/Diablo interagit avec les IAPs ce qui permet de libérer les caspases séquestrées. Omi/HtrA2 quant à elle, est une sérine protéase mitochondriale qui va cliver de façon irréversible les IAPs (Vasudevan V et al., 2015).

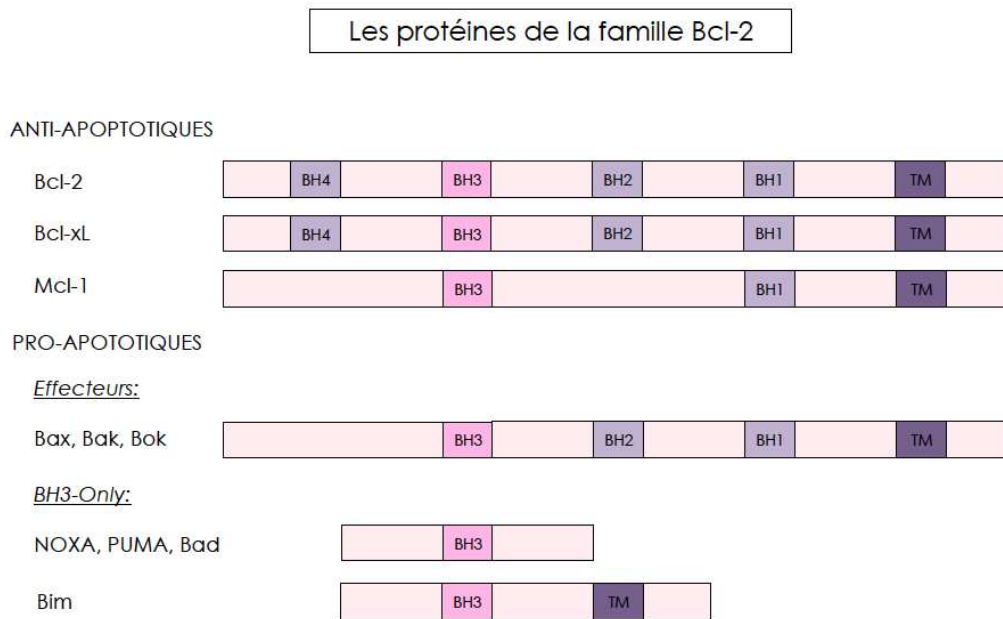
La MOMP est régulée finement par de nombreuses protéines ayant un rôle majeur dans le déroulement de l'apoptose mitochondriale : les protéines de la famille Bcl-2 (B cell Lymphoma-2) (Galluzi L et al., 2012) (Green DR et al., 2015).

#### 1.1.1.1.1. Les protéines de la famille Bcl-2 :

Dans le lymphome à cellules B a été découvert une nouvelle translocation entre les chromosomes 14 et 18 t(14;18) qui place le gène de Bcl-2 à la suite du promoteur de la chaîne lourde des immunoglobulines permettant la surexpression de la protéine Bcl-2. Cette protéine permet d'augmenter la survie de ces cellules en inhibant l'apoptose. Environ 25 variants de cette protéine avec des degrés d'homologie différents ont été découverts constituant les membres de la famille Bcl-2 ; Ces protéines pouvant être soit pro ou antiapoptotiques (Hata AN et al., 2015).

Les membres de la famille Bcl-2 sont définis par la présence de courtes séquences conservées BH (Bcl-2 Homology) (BH1, BH2, BH3 et BH4) d'environ 20 acides aminés ainsi qu'un domaine transmembranaire à l'exception des protéines BH3-only. La présence ou non de ces domaines va déterminer la fonction apoptotique de la protéine.

Ces protéines sont réparties en 3 catégories : les protéines antiapoptotiques telles que les protéines Bcl-2, Bcl-XL (B-cell Lymphoma-Extra Large) et Mcl-1 (Myeloid Cell Leukemia 1); les protéines proapoptotiques effectrices Bax et Bak et les protéines BH3-only telles que Bim, Bid, Bad, NOXA et PUMA (p53 Upregulated Modulator of Apoptosis) (Figure 3).



**Figure 3: Classification des protéines de la famille Bcl-2.**

On distingue les protéines antiapoptotiques telles que Bcl-2, Bcl-xL et Mcl-1 ; les protéines proapoptotiques effectrices comme Bax, Bak et Bok et les protéines BH3-Only proapoptotiques regroupant notamment NOXA, PUMA, Bad et Bim.

#### 1.1.1.1.2. Régulation de la MOMP par les membres de la famille Bcl-2

- **La formation d'un pore Bax/Bak induit la MOMP**

Il existe une balance entre les protéines Bcl-2 pro et antiapoptotiques déterminant la vie ou la mort de la cellule. En condition normale, les protéines antiapoptotiques vont être majoritaires et vont séquestrer les protéines proapoptotiques. Cette situation est contrebalancée lors de stimuli apoptotiques permettant ainsi d'induire la MOMP et l'apoptose. La MOMP est finement régulée par les protéines de la famille Bcl-2.

En effet, la MOMP est induite par les protéines proapoptotiques effectrices : les protéines Bax et Bak. La protéine Bak est localisée de façon constitutive sur la MEM tandis que Bax est cytosolique. Lors de stimuli apoptotiques, la protéine Bax va être activée et rejoindre Bak sur la MEM. Cette activation va conduire à leur oligomérisation formant ainsi un pore permettant la MOMP et le relargage du cytochrome c de l'EIMM vers le cytosol. L'oligomérisation et l'activation des protéines Bax et Bak sont finement régulées à la fois par les protéines pro et antiapoptotiques.



En effet, les protéines proapoptotiques BH3-only vont permettre d'induire la MOMP via l'interaction directe avec les effecteurs Bax et Bak et de façon indirecte en séquestrant les protéines antiapoptotiques Bcl-2. On définit 2 groupes de protéines BH3-only : les BH3-only activatrices comme Bim et Bid qui vont activer directement les protéines Bax et Bak et les BH3-only sensibilisatrices comme Bad et NOXA qui vont activer la MOMP uniquement de façon indirecte, en séquestrant les protéines antiapoptotiques. Il a été démontré qu'en fonction de leur concentration, les BH3-only activatrices peuvent également séquestrer les protéines antiapoptotiques Bcl-2 dans le but d'inhiber la MOMP.

A contrario, les protéines antiapoptotiques Bcl-2 localisées au niveau de la membrane mitochondriale vont inhiber l'oligomérisation de Bax/Bak, tout d'abord en séquestrant Bax, empêchant ainsi la MOMP ; mais également en séquestrant les protéines BH3-only activatrices (Bhola PD et al., 2016) (Siddiqui WA et al., 2016) (Figure 4).

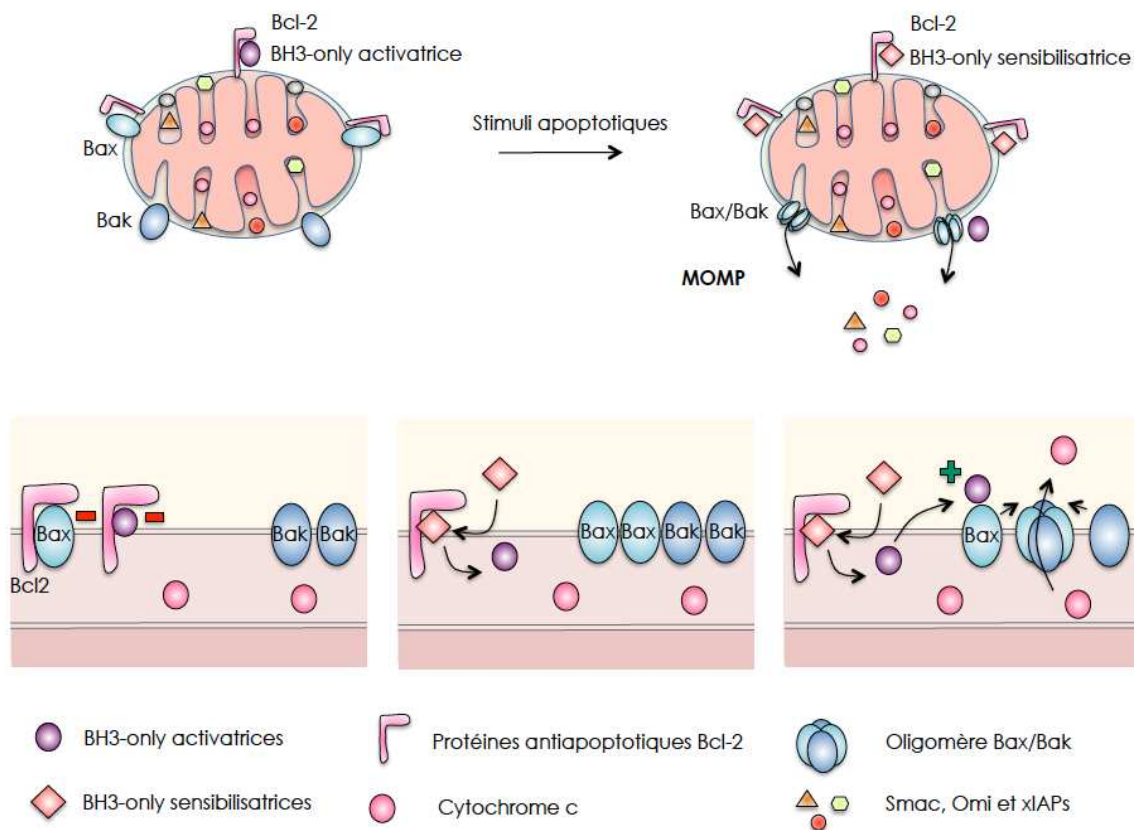
Aujourd'hui, le déroulement de la MOMP est relativement controversé. En effet, une seconde hypothèse explique ce phénomène : le phénomène de transition de perméabilité mitochondriale (MPT : Mitochondrial permeability transition).

- **Phénomène de transition de perméabilité mitochondriale**

Ce phénomène est causé par une augmentation brutale de la perméabilité de la membrane interne mitochondriale (MMI) aux solutés. Cela aboutit à une chute du potentiel de membrane mitochondrial ( $\Delta\psi_m$ ), un swelling mitochondrial et la rupture de la membrane interne libérant ainsi les protéines solubles mitochondriales y compris le cytochrome c.

Cette MTP aurait pour origine la formation d'un méga canal appelé le pore de transition de perméabilité (PTP). Le PTP est un gros complexe formé à la jonction de la MMI et de la MME et composé de protéines comme les VDACs (Voltage dépendant anion channels), l'Adenine Nucleotide transferase (ANT) et la cyclophiline D (CYPD) (Siddiqui WA et al., 2015). Il a été démontré que les protéines de la famille Bcl-2 peuvent interagir avec le PTP. En effet, les protéines antiapoptotiques Bcl-2 et Bcl-XL inhiberaient le VDAC et l'ANT tandis que Bax coopérerait avec les membres du PTP pour induire la mort cellulaire. Aujourd'hui le rôle de la MPT dans l'apoptose est critiqué notamment du fait que la chute du  $\Delta\psi_m$  peut se produire après le relargage du cytochrome c dans certains types d'apoptose suggérant alors que la MPT n'est pas forcément responsable de

relargage du cytochrome c et donc de l'apoptose. (Tsujiimoto Y et al., 2007). De plus, des études réalisées sur des thymocytes, des hépatocytes, des cellules intestinales ou encore des fibroblastes (MEFs) provenant de souris déficientes en CYPD montrent l'induction d'apoptose en réponse à divers stimuli apoptotiques tels que les rayons X, le TNF $\alpha$  ou encore l'étoposide. A l'heure actuelle, des études suggèrent une participation de la MOMP dans la mort cellulaire nécrotique plutôt que dans la mort apoptotique (Nakagawa T et al., 2005) (Baines CP et al., 2005). Bien que ces 2 hypothèses ne soient totalement élucidées et comprises, il paraît clair que les protéines de la famille Bcl-2 sont essentielles au contrôle de la MOMP.



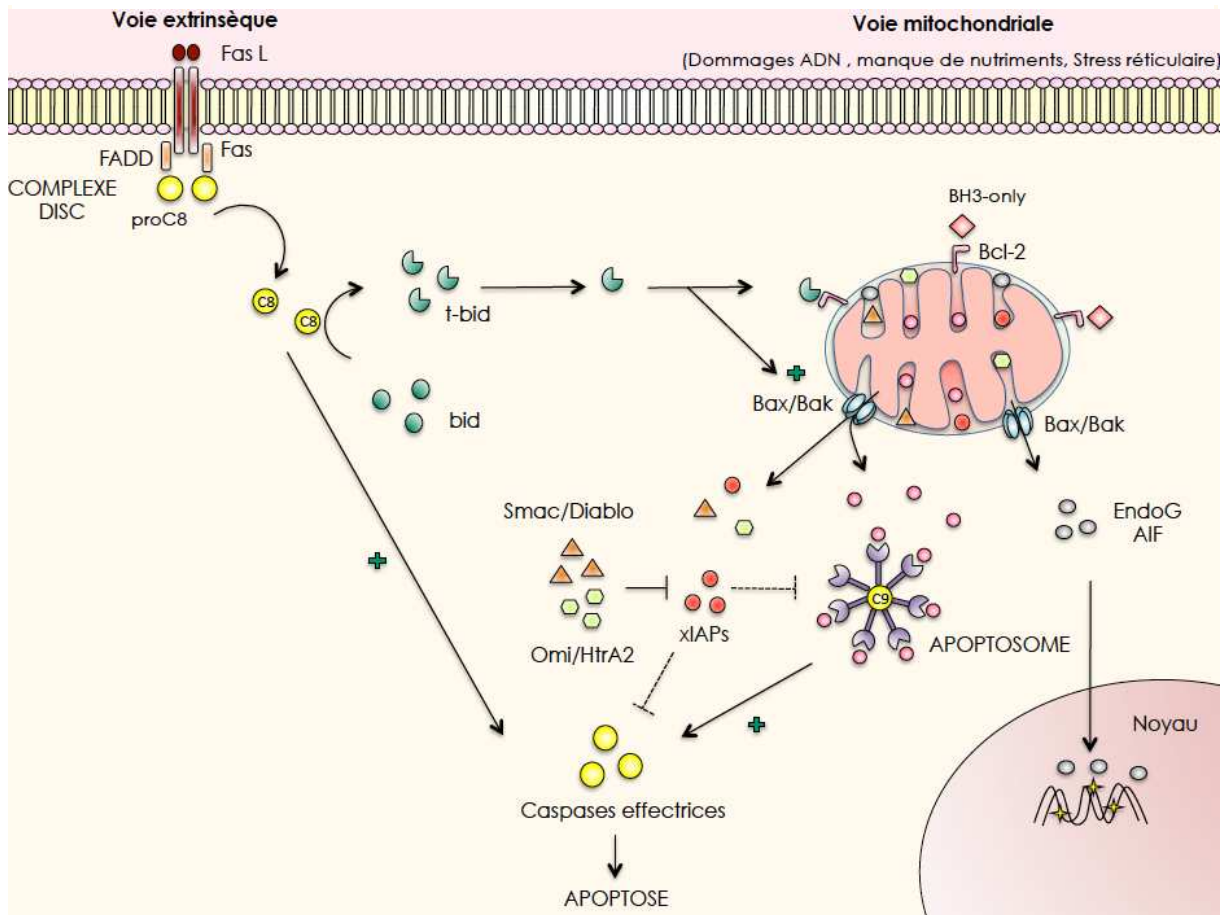
**Figure 4 : Régulation de la formation du pore Bax/Bak induisant la MOMP, par les protéines de la famille Bcl-2.**

La MOMP est finement régulée par la famille des protéines Bcl-2. En condition normale, les protéines Bcl-2 antiapoptotiques majoritairement présentes inhibent à la fois l'oligomérisation des effecteurs proapoptotiques Bax et Bak qui sont responsables directement de la MOMP, mais également les protéines proapoptotiques BH3-only activatrices. Lors de stimuli apoptotiques, les protéines proapoptotiques vont devenir majoritaires. Les protéines BH3-only sensibilisatrices vont séquestrer les protéines antiapoptotiques inhibant leur activité et libérant les protéines BH3-only activatrices qui vont pouvoir aller activer l'oligomérisation de Bax et BAK induisant la formation d'un pore nécessaire à la MOMP.

### 1.1.1.2. Amplification de la voie des récepteurs de mort par la mitochondrie :

La voie des récepteurs de mort est causée par la liaison d'un ligand comme Fas-L ou le TNF (Tumor Necrosis Factor) à des récepteurs de mort tels que Fas ou encore le TNFR. Cette liaison conduit à la formation d'une plateforme protéique permettant le recrutement et l'activation de la caspase 8. Suite à cette activation, la caspase 8 va pouvoir activer les caspases effectrices et induire l'apoptose. Cette activation directe des caspases effectrices par la caspase 8 est retrouvée dans les cellules dites de type I tels que les lymphocytes.

Dans les cellules appelées de types II, telles que les cellules hépatiques et les cellules pancréatiques  $\beta$ , l'activation de la caspase 8 n'est pas suffisante pour activer les caspases effectrices et l'apoptose. En effet, les procaspases effectrices sont régulées négativement par la protéine XIAP empêchant ainsi leur activation. La caspase 8 va alors induire la voie apoptotique mitochondriale en activant la protéine BH3-only Bid par clivage protéolytique aboutissant à une protéine tronquée et active t-Bid qui va induire la MOMP dépendante de Bax/Bak. La MOMP va induire le relargage des protéines Smac et Omi qui sont des régulateurs négatifs de XIAP, ce qui va permettre l'activation des caspases effectrices (Jost PJ et al., 2009) (Green DR, et al., 2015) (Figure 5).



**Figure 5 : Figure récapitulative sur les voies apoptotiques.**

L'apoptose peut être induite par la voie mitochondriale (voie intrinsèque) mais également par la voie des récepteurs de mort (voie extrinsèque). La voie mitochondriale est induite suite à différents stress tels que les dommages à l'ADN, le manque de nutriments et le stress réticulaire. Lors de stimuli apoptotiques, la cellule va induire l'expression de protéines proapoptotiques qui vont inhiber les protéines antiapoptotiques permettant ainsi la MOMP et le relargage du cytochrome c et de facteurs protéiques solubles. Le relargage du cytochrome c va conduire à l'activation de la caspase initiatrice 9 au travers la formation de l'apoptosome. La caspase 9 va ensuite pouvoir activer les caspases effectrices comme la caspase 3 et donc induire la mort cellulaire. La voie des récepteurs de mort est induite suite à la fixation d'un ligand comme Fas-L à un récepteur de mort Fas. Cette liaison va permettre la formation d'un complexe DISC formé de la protéine FADD et de procaspase 8 permettant l'activation de cette dernière. La caspase peut ensuite activer la caspase 3 et induire l'apoptose. Dans certains types cellulaires, l'activation de la caspase 8 n'est pas suffisante pour induire la mort, alors la caspase 8 va cliver une protéine BH3-only Bid (Forme tronquée t-Bid) et induire la voie mitochondriale afin de permettre l'apoptose. Lors de la MOMP, il y a libération de régulateurs négatifs de l'apoptose comme les protéines xIAPs mais également libération de régulateurs positifs de l'apoptose, les protéines Smac/Diablo et Omi/HtrA2. De plus, les endonucleases G et la protéine AIF sont également libérées permettant la dégradation de l'ADN.

### 1.1.1.3. Dérégulation du processus apoptotique dans le cancer

Il est relativement bien connu que le processus apoptotique est dérégulé dans diverses pathologies comme les cancers où la suppression de la signalisation apoptotique contribue significativement à la carcinogenèse et à la progression tumorale (Hata AN et al., 2015). Les cellules cancéreuses vont développer des mécanismes leur permettant d'échapper à l'apoptose notamment en inhibant l'apoptose mitochondriale.

Pour cela, elles vont développer des mécanismes pour prévenir la MOMP ainsi que des mécanismes en aval de la MOMP, inhibant les caspases (Figure 6).

#### 1.1.1.3.1. Prévention de la MOMP dans les cellules cancéreuses :

- **Perte du suppresseur de tumeur p53 :**

La protéine p53 est un facteur de transcription essentiel à la vie de la cellule. Il permet de répondre aux stress cellulaires tels que les dommages à l'ADN en induisant l'expression de la protéine p21 permettant ainsi l'arrêt dans le cycle cellulaire. P53 va alors permettre la réparation des dommages causés en induisant l'expression de nombreuses protéines. Cependant, lorsque les dommages cellulaires sont trop importants, il va être capable d'induire la mort de la cellule par apoptose notamment au travers la transcription des protéines PUMA (Nakano K et al., 2001) et NOXA (Oda E et al., 2000) et au travers la répression de Bcl-2 (Miyashita T et al., 1994). Il a également été démontré que p53 peut interagir directement avec les protéines Bcl-2 et Bcl-XL afin d'inhiber leur activité, mais également avec Bax induisant ainsi la MOMP et l'apoptose (Marchenko ND et al., 2014). Cependant, la protéine p53 est mutée dans plus de 50% des cancers et cette mutation prévient l'apoptose induite par les dommages à l'ADN.

- **Surexpression des protéines antiapoptotiques Bcl-2 :**

Les cellules cancéreuses sont caractérisées par la surexpression des protéines antiapoptotiques de la famille Bcl-2. Cette surexpression peut avoir une origine transcriptionnelle et post-transcriptionnelle. En effet, il a été démontré que le facteur de transcription NFκB (Nuclear Factor κB) permet la survie des cellules B et T en augmentant la transcription des gènes codant pour les protéines Bcl-2, Bcl-XL et A1 (Kucharczak J et al., 2003). Outre la dérégulation transcriptionnelle, il a été démontré

que l'inhibition de mi-RNA réprimant l'expression de Bcl-2 dans le cancer du sein (Mobarra N et al., 2015) et dans la leucémie lymphoïde chronique (LLC) (Cimmino A et al., 2005) permet une stabilisation de Bcl-2 et favorise la tumorigenèse. Dans une autre étude, il a été démontré que l'épissage alternatif de Mcl-1 permet de générer un variant capable de séquestrer et d'inhiber Bim favorisant ainsi la résistance de cellules de neuroblastomes à l'apoptose (Hagenbuchner J et al., 2013).

La surexpression des protéines antiapoptotiques peut également avoir une origine post traductionnelle. En effet, ces protéines peuvent être sujettes à des mécanismes de phosphorylation induits par des voies de signalisation impliquées dans la tumorigenèse. En effet, il a été démontré que la protéine ERK permet la phosphorylation de Bcl-2 augmentant ainsi sa stabilité dans les cellules myéloïdes (Deng X et al., 2000) (Breitschopf K et al., 2000).

- **Altération des effecteurs apoptotiques Bax/Bak :**

Dans les cellules cancéreuses, les effecteurs apoptotiques impliqués dans la MOMP vont être dérégulés dans le but d'inhiber l'apoptose. En effet la perte génomique de Bax et Bak a été observée dans une variété de cancers. De plus, il a été démontré que Bax et Bak peuvent être phosphorylées dans différents cancers tels que le cancer du sein, de la prostate, du colon ou encore le cancer du poumon empêchant ainsi le déroulement de l'apoptose (Fox JL et al., 2015) (Xin M et al., 2005).

- **Diminution de l'expression des protéines BH3-Only :**

En plus d'augmenter l'expression des protéines antiapoptotiques, les cellules cancéreuses présentent une diminution de l'expression des protéines proapoptotiques BH3-only dans le but ultime d'échapper à l'apoptose. Cette inhibition d'expression peut se faire au travers des mécanismes de délétions alléliques. La délétion de PUMA a été observée dans les cellules souches hématopoïétiques ou encore dans les maladies neurodégénératives permettant une protection contre l'apoptose induite par les radiations ou un stress réticulaire (Shao L et al., 2010) (Kieran D et al., 2007). Une délétion de Bim a également été observée dans le cancer du poumon et dans les leucémies myéloïdes chroniques (LMC) (Wu SG et al., 2016) (Ko TK et al., 2016).

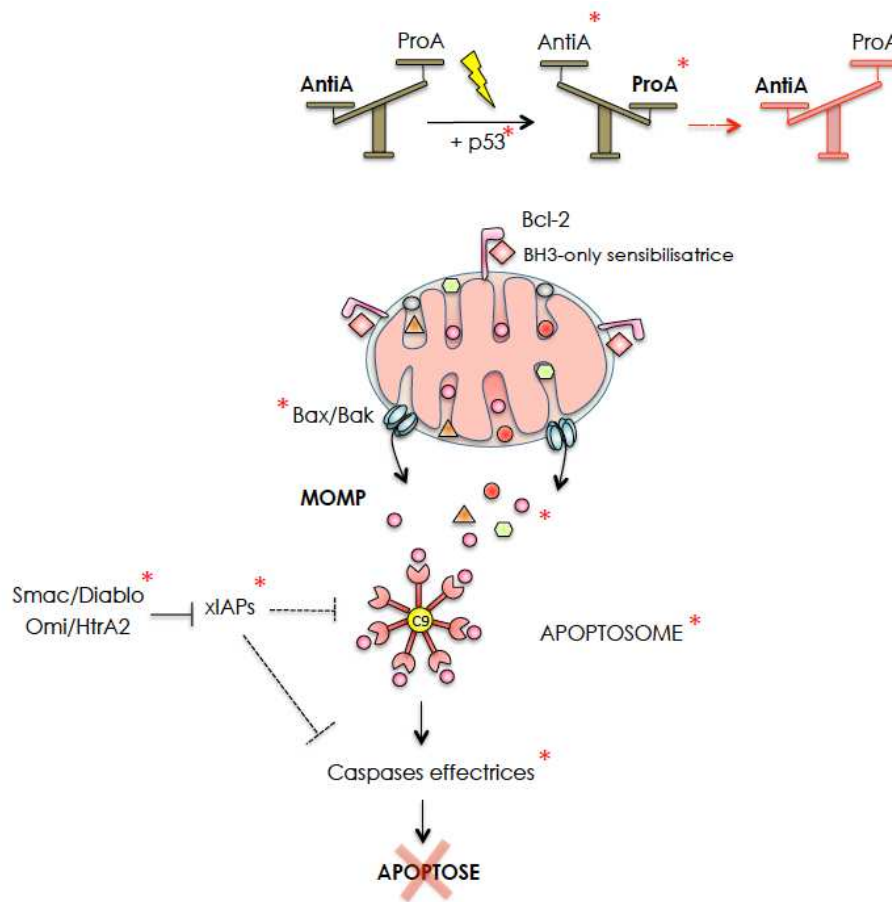
L'expression des protéines BH3-only peut être également altérée au travers des mécanismes de phosphorylation. En effet, la protéine Bim peut être phosphorylée par ERK sur les résidus Ser55/65/73 dans des fibroblastes (MEFs). Cette phosphorylation est associée à la dégradation de Bim et donc l'inhibition de l'apoptose (Hubner A et al., 2008).

#### 1.1.1.3.2. Mécanismes en aval de la MOMP inhibant les caspases :

A l'origine, la MOMP est vue comme un point de non retour. Cependant il a été démontré que les neurones ou encore les cellules tumorales peuvent subir la MOMP et survivre.

Cette survie nécessite une inhibition des caspases.

L'inhibition des caspases peut se faire (i) au travers l'altération de l'apoptosome notamment via la dégradation protéasomale du cytochrome c ainsi que le silencing ou la phosphorylation inhibitrice de APAF1. La formation de l'apoptosome peut également être compromise par la surexpression des inhibiteurs des cIAP1 et 2, les protéines Smac/Diablo et Omi/Htra2. (ii) Directement par les xIAPs surexprimées (Lopez J et al., 2015).



### Figure 6 : Mécanismes d'échappement à l'apoptose.

Le processus apoptotique est dérégulé dans les cellules cancéreuses. Au cours de la transformation tumorale, les cellules cancéreuses acquièrent des caractéristiques particulières dont celle de l'échappement à l'apoptose. Pour permettre l'échappement à l'apoptose, elles vont développer des stratégies comme la perte du suppresseur de tumeur p53, une dérégulation de la balance protéines antiapoptotiques/proapoptotiques en faveur de l'expression des protéines antiapoptotiques. Les effecteurs protéiques impliqués dans la MOMP, Bax et Bak peuvent être également dérégulés par des événements de phosphorylation. En Aval de la MOMP, il a été démontré qu'une dégradation du cytochrome c ainsi que le silencing de APAF1 altèrent la fonctionnalité de l'apoptosome. L'expression des caspases peut être également inhibée par la surexpression des protéines xIAPs et par l'inhibition des protéines Smac/Diablo et Omi/HtrA2.



## 1.1.2. Implication de la mitochondrie dans d'autres types de mort cellulaire :

### 1.1.2.1. La nécrose régulée ou nécroptose

La nécrose est souvent caractérisée comme une mort cellulaire passive et accidentelle. Cependant de nombreuses études ont démontré que la nécrose peut être induite et être régulée comme l'apoptose, bien qu'elle soit indépendante des caspases. Cette nécrose régulée porte le nom de nécroptose (Figure 7).

Les inducteurs de nécroptose sont nombreux et variés. Parmi eux, l'activation des récepteurs au TNF $\alpha$ , les récepteurs des cellules T (T cell receptors), les récepteurs Toll-Like (TLR) mais également les stress métaboliques et génotoxiques. Ce type de mort cellulaire implique la formation d'un complexe mutiprotéique appelé « nécrosome » formé des protéines kinases RIPK1 (Receptor interacting protein kinase), RIPK3 et MLKL (Mixed lineage kinase domain-like). Sous l'action du TNF $\alpha$  et lorsque la caspase 8 est inhibée, le TNFR va recruter les protéines kinases RIPK1 et RIPK3 qui vont alors se phosphoryler. La phosphorylation de RIPK3 sur la Ser227 chez l'homme va ensuite permettre la phosphorylation (sur Ser345, Ser 347 et Thr349 chez l'homme) et le recrutement de la kinase MLKL pour former le nécrosome (Vanden Berghe T et al., 2014).

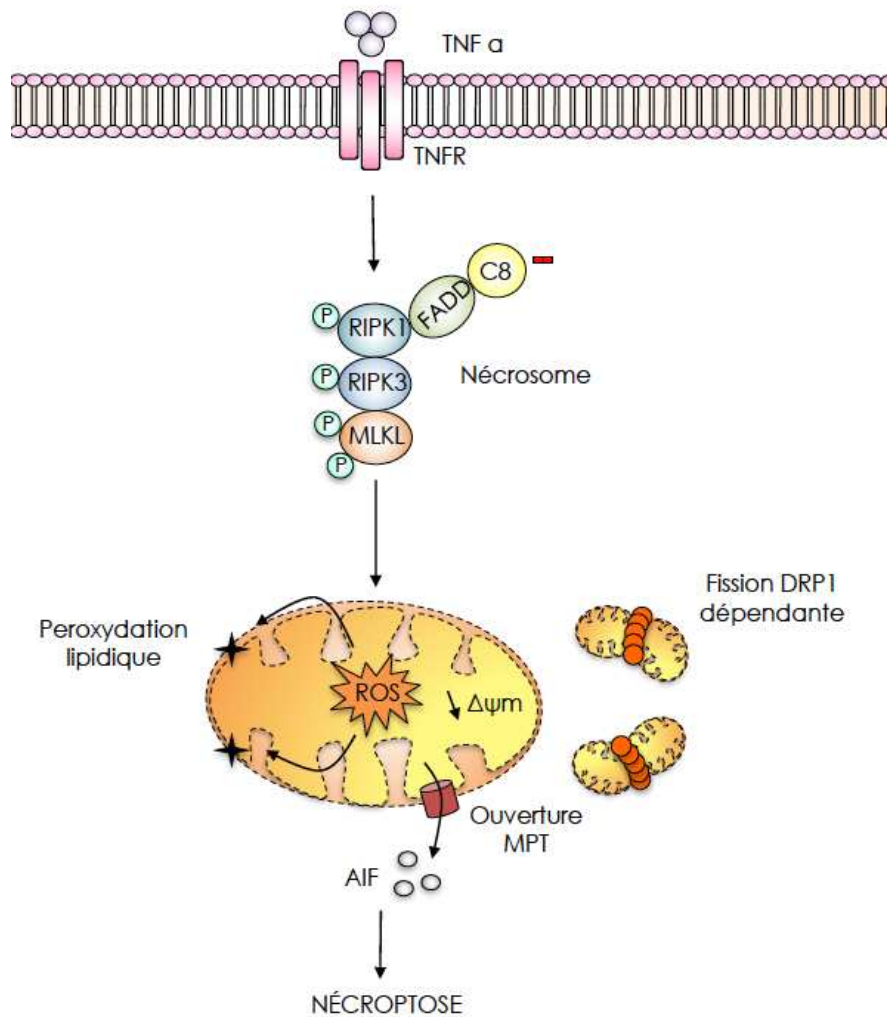
Des études montrent que la mitochondrie serait impliquée dans la nécroptose. En effet, lors de la nécroptose, il y a une augmentation de la production de ROS (Espèces réactives de l'oxygène) responsables entre autres de la peroxydation lipidique des membranes. La peroxydation lipidique a pour conséquence d'augmenter la perméabilité de la membrane mitochondriale, ce qui permet le relargage du facteur AIF qui va pouvoir entrer dans le noyau et cliver l'ADN.

Il a été démontré que l'augmentation de la production de ROS mitochondriaux est due à une dysfonction mitochondriale induite lors de la nécroptose (Su Z et al., 2015). En effet, dans les cellules épithéliales bronchiques humaines BEAS-2B, il a été mis en évidence que l'altération de la fonction mitochondriale via l'utilisation de CCCP (découplant mitochondrial) ou d'oligomycine A (inhibiteur de la FO-F1 ATPase) se traduit par une diminution de la respiration mitochondriale et une chute de la production d'ATP aboutissant à l'induction de mort cellulaire nécroptotique (Koo MJ et al., 2016). Dans

d'autres études, comme dans les cellules de fibrosarcome, il a été montré que STAT3 (Signal Transducer and Activator of Transcription 3) peut être phosphorylée par RIPK1 lors de nécroptose induite par le TNF $\alpha$  ce qui a pour conséquence d'induire son interaction avec GRIM-19 (sous unité du CI mitochondrial) et de permettre sa translocation dans la mitochondrie. Cette translocation mitochondriale de STAT3 va conduire à la production de ROS mitochondriaux et à la mort (Shulga N et al., 2012). Dans le lymphome de Hodgkin, l'inhibition des voies PI3K (Phosphoinositide 3-Kinase) et ERK (Extracellular signal-regulated Kinase) se traduit par la mort cellulaire nécroptotique des cellules. Cette nécroptose est associée à une dysfonction mitochondriale et à l'augmentation de la production de ROS puisque la necrostatin-1 (inhibiteur de la nécroptose) abolit les effets (Locatelli SL et al., 2016).

En plus de la production de ROS, le niveau d'ATP cytosolique chute également. Ceci est dû à une diminution du transport d'ATP de la mitochondrie vers le cytosol ainsi qu'au fait que le fonctionnement de la PARP1, très active lors de la nécroptose, consomme beaucoup d'ATP. Outre la production de ROS et la chute d'ATP, des mécanismes de fission mitochondriale - dépendante de DRP1 (Dynamin Related Protein 1) sont induits lors de la nécroptose. Ceci est permis via l'induction de la protéine mitochondriale PGAM qui est activée par le nécrosome et qui en retour va activer DRP1 (Su Z et al., 2015).

La nécrose est souvent caractérisée par l'ouverture du pore de transition de perméabilité mitochondriale (MPT). L'ouverture de ce mégacanal est entre autres responsable de la chute du potentiel de membrane mitochondrial, de l'altération de l'OxPHOS mitochondriale, de la production de ROS et du swelling mitochondrial. Ce MPT se compose entre autres de la CYPD qui semble être importante pour la nécroptose puisque le KO de CYPD dans des MEFs atténue la mort cellulaire nécroptotique induite par le TNF $\alpha$  (He S et al., 2009).



**Figure 7: Implication de la mitochondrie dans la nécroptose.**

La nécroptose nécessite la formation d'un complexe appelé « nécrosome » composé des protéines RIPK1, RIPK3 et MLKL. Une fois activée, le nécrosome peut induire la mort en permettant notamment des altérations mitochondriales. En effet, lors de la nécroptose, la production de ROS induit la peroxydation lipidique des membranes mais également une diminution du potentiel de membrane mitochondrial de même que l'ouverture du pore de transition, ce qui permet entre autres la libération des protéines AIF. Lors de la nécroptose, il est également observé une augmentation de la fission mitochondriale dépendante de DRP1.

### 1.1.2.2. La ferroptose

En 2012, le laboratoire de Stockwell a décrit une nouvelle forme de mort cellulaire programmée, la ferroptose. La ferroptose se distingue morphologiquement des autres types de mort comme l'apoptose ou la nécrose. Par exemple, les cellules ferroptotiques sont caractérisées par l'absence de rupture ou bourgeonnement de la membrane plasmique, ce qui est le cas lors de nécrose et apoptose, respectivement. Elles possèdent un noyau de taille normale et une absence de modification chromatinienne. Cependant,

les mitochondries, elles, sont de petites tailles avec une diminution voire une disparition des crêtes mitochondriales (Xie Y et al., 2016).

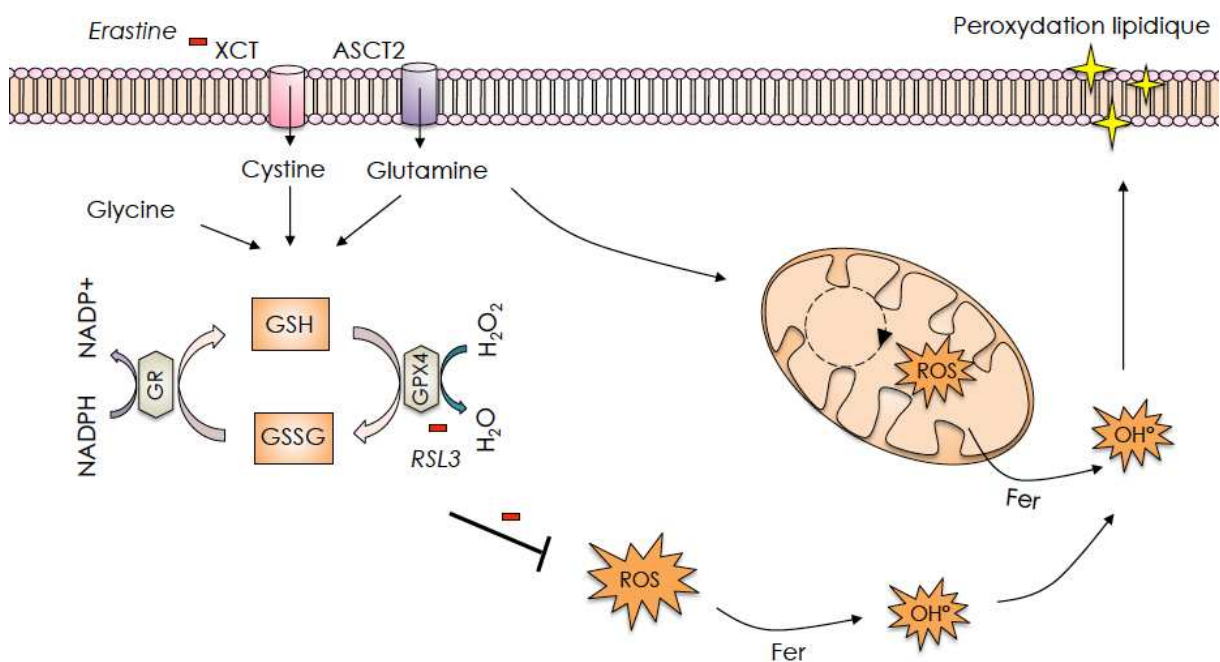
La ferroptose est déclenchée par des conditions ou des molécules qui inhibent la synthèse de glutathion ou l'expression/activité de la Glutathion Peroxydase 4 (GPX4) (Figure 8).

L'inhibition de la synthèse de glutathion notamment par l'erastine (inhibiteur du système antiport cystine/glutamate  $X_c^-$ ) ou l'inhibition de l'expression/activité de GPX4 par un inhibiteur spécifique RSL3 (Ras Selective Lethal 3) dans les cellules de leucémie lymphoïde aigue (LAL) aboutie à l'accumulation de dérivés issus de la peroxydation lipidique au niveau de la membrane plasmique, permise par l'accumulation d'espèces réactive de l'oxygène (ROS) (Dächert J et al., 2016). Cette forme de mort cellulaire est dépendante du métabolisme du Fer, qui va permettre au travers du cycle de Fenton de générer des ROS. Les chélateurs de Fer comme la deferoxamine (DFO), les antioxydants comme l' $\alpha$ -tocophérol et la vitamine E (Carlson BA et al., 2016) mais également les inhibiteurs de la peroxydation lipidique comme la ferrostatine, la liproxstatine et le zileuton inhibent la ferroptose induite par l'erastine et par le RSL3 montrant bien l'importance de ROS et du Fer pour la ferroptose (Cao JY et al., 2016).

Si ce type de mort reste encore relativement peu connu, certaines études tendent à penser que la mitochondrie pourrait y participer. Tout d'abord, l'erastine, inducteur de ferroptose est capable de lier directement le VDAC2/3 dans les cellules BjeLR. L'expression du VDAC serait également une composante importante pour la sensibilité à l'erastine (Xie Y et al., 2016) puisque le KO de VDAC2/3 conduit à une résistance à la ferroptose induite par l'erastine.

Bien que l'essentiel des ROS produits lors de la ferroptose semble provenir du Fer (via la réaction de Fenton), certaines études suggèrent que la mitochondrie pourrait contribuer en partie à cette production de ROS. En effet, certaines études comme celles de l'équipe de Jiang (Gao M et al., 2015) démontrent que l'utilisation mitochondriale de la glutamine au travers la glutaminolyse permet d'induire des ROS participant à la ferroptose. Ceci a été démontré via l'abolition de la ferroptose suite à l'inhibition de l'OxPHOS mitochondriale par l'oligomycine A. Une autre étude, dans le carcinome hépatocellulaire humain a démontré que la protéine mitochondriale CISD1 (CDGSH Iron Sulfur Domain 1) protège de la ferroptose induite par la peroxydation lipidique mitochondriale. La protéine CISD1 est fréquemment mutée dans l'hépatocarcinome (Yuan H et al., 2016). Le

rôle de la peroxydation des lipides mitochondriaux dans la ferroptose est relativement peu connu cependant une étude a montré que l'inhibition spécifique de la peroxydation lipidique mitochondriale par l'utilisation d'inhibiteurs ciblant le nitroxyde mitochondrial permet d'inhiber la mort cellulaire ferroptotique dans différentes lignées de cellules cancéreuses (Krainz T et al., 2016). Le rôle de ROS mitochondriaux dans la ferroptose reste cependant très controversé notamment par le fait que la sonde sensible aux ROS d'origine mitochondrial reste non oxydée dans les cellules traitées à l'erastine.



**Figure 8: Induction de la ferroptose par inhibition de la synthèse/regénération de glutathion.**

L'erastine, inhibiteur de XCT et le composé RSL3, inhibiteur de GPX4 sont connus pour induire la ferroptose. En effet, l'inhibition de la synthèse/regeneration de GSH permet l'accumulation de ROS qui vont pouvoir réagir avec le Fer via la réaction de Fenton dans le but d'induire la peroxydation lipidique des membranes et la mort.

## 1.2. Implication de la mitochondrie dans la survie cellulaire : la mitophagie.

L'autophagie est un processus catalytique permettant la dégradation lysosomale de composants cellulaires comme les protéines, les lipides ou les organites. Elle permet de maintenir l'homéostasie grâce à la dégradation des composants cellulaires endommagés

mais est également une voie de survie enclenchée face à divers stress métaboliques comme l'hypoxie ou la privation en nutriments.

Il a été démontré que la mitochondrie participe activement à l'autophagie notamment à la formation des autophagophores mais elle peut également être la cible de l'autophagie. En effet, les mitochondries altérées vont être éliminées par un type d'autophagie particulier appelé la mitophagie. La mitophagie est hautement régulée par des phénomènes de fission et fusion mitochondriales impliquant les protéines mitochondriales DRP1 ou encore les Mitofusines MFN1/ MFN2 (Mitofusines) et OPA1 (Optic Atrophy 1). De plus, elle est induite par de nombreuses voies telles que les voies PINK1/PARKIN, BNIP3 ou encore l'axe FUNDC1 (FUN14 Domain Containing 1) (Hamacher-Brady A et al., 2016).

L'autophagie et la mitophagie sont perçues comme des suppresseurs de tumeurs. Cependant, ces voies sont fréquemment dérégulées dans beaucoup de pathologies et notamment dans le cancer.

Les cellules cancéreuses sont souvent caractérisées par une augmentation de l'activité autophagique leur permettant de s'adapter aux conditions de vie défavorables, leur permettant d'obtenir des substrats nécessaires pour leur prolifération et survie. De nombreux cancers sont caractérisés par des mutations au niveau des protéines induisant la mitophagie (Chourasia AH et al., 2015). La protéine Parkin est fréquemment mutée dans les cellules cancéreuses thyroïdiennes. Sa mutation induit une dérégulation de la mitophagie (Lee J et al., 2015). L'expression de BNIP3 (BCL2/Anedovirus E1B 19kDa Interacting Protein 3) est quant à elle inhibée dans l'adénocarcinome pancréatique ductal et dans le cancer du sein triple négatif (TNBC) (Chourasia AH et al., 2015). L'altération de la mitophagie a pour conséquence une augmentation du nombre de mitochondries défectueuses.

Une mitophagie défectueuse peut être à l'origine de l'agressivité des cancers. Par exemple, dans le cancer gastrique, un défaut de mitophagie va conduire à une augmentation de la masse mitochondriale permettant la production massive de ROS. Les ROS vont pouvoir stabiliser des facteurs importants impliqués dans le métabolisme énergétique glycolytique des cellules cancéreuses favorisant ainsi l'agressivité du cancer (Shida M et al., 2016).

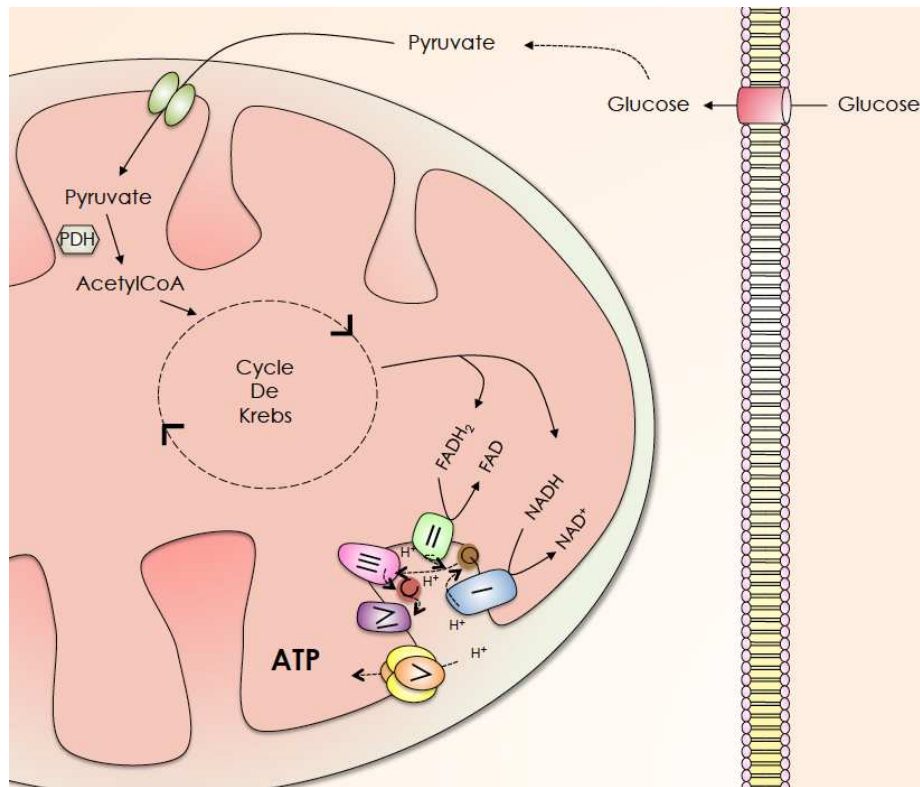
## 2. Le métabolisme des cellules tumorales

### 2.1. Le phénotype « Warburg »

La reprogrammation du métabolisme énergétique a été récemment décrite comme caractéristique essentielle à la tumorigenèse (Hanahan D et al., 2011). Les cellules tumorales ont un métabolisme énergétique remodelé dans le but de subvenir à leurs besoins prolifératifs.

En présence d'oxygène, les cellules différenciées vont métaboliser le glucose en pyruvate qui va être incorporé dans la mitochondrie puis transformé en AcetylCoenzyme A (AcetylCoA) par la pyruvate dehydrogenase (PDH). L'AcetylCoA est intégré au cycle de Krebs afin de produire du NADH et FADH<sub>2</sub>, cofacteurs nécessaires au fonctionnement de la chaîne respiratoire mitochondriale (CRM). Ces cofacteurs sont des donneurs d'électrons qui vont à la suite de réactions d'oxydoréduction, générer un gradient de proton de la matrice mitochondriale vers l'EEIM permettant le fonctionnement de la FO-F1 ATP Synthase produisant l'ATP. Ce phénomène s'appelle la phosphorylation oxydative (OxPHOS) (Figure 9). En absence d'oxygène, ces cellules vont convertir le pyruvate en lactate.

Dans les années 1920, les travaux d'Otto Warburg ont démontré que les cellules cancéreuses ont un métabolisme particulier. En effet, il a découvert que les cellules tumorales issues d'ascites convertissent le glucose en lactate et ce même en présence d'oxygène. Ce métabolisme particulier est retrouvé dans un grand nombre de cancers et porte le nom d'effet Warburg (Warburg O et al., 1926) (Vander Heiden MG et al., 2009) (Figure 10). L'utilisation de la glycolyse par les cellules cancéreuses dans le but de produire de l'ATP paraît étonnante car elle est nettement moins efficace en termes de rendement énergétique. En effet, l'OxPHOS génère 36 ATPs par molécule de glucose contre 2 ATPs pour la glycolyse.



**Figure 9: La phosphorylation oxydative mitochondriale.**

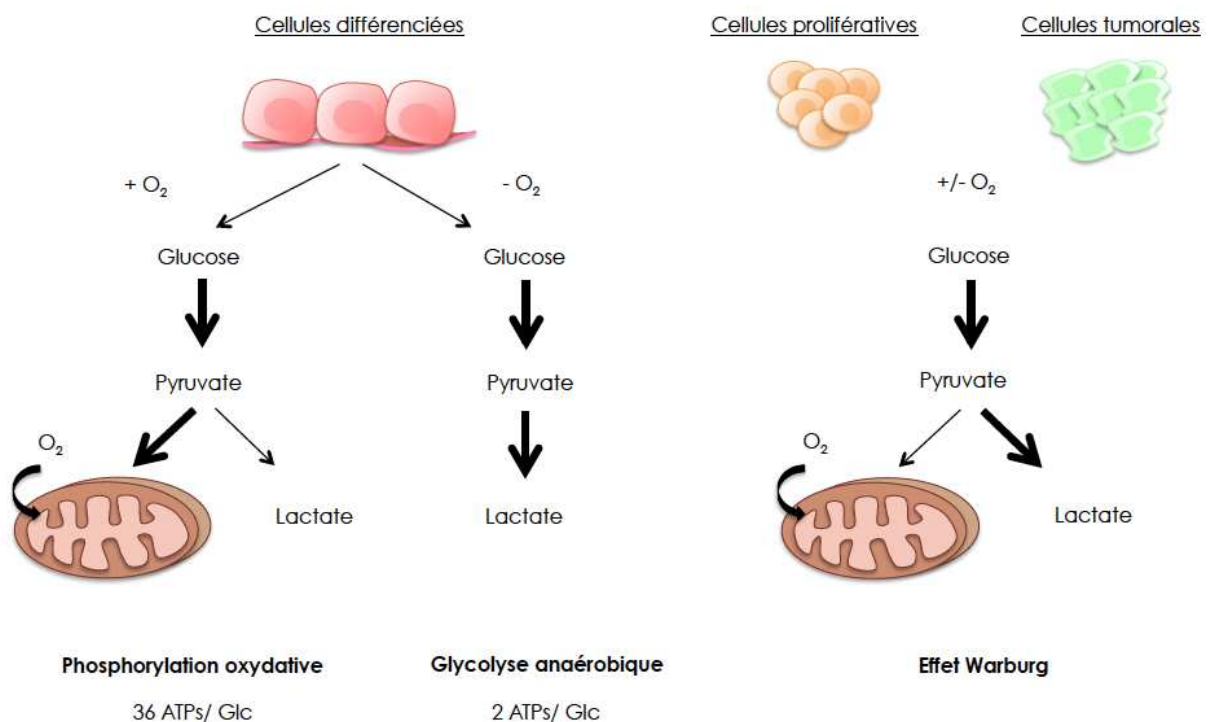
Les cellules différenciées transforment le glucose en pyruvate au travers la glycolyse. Celui-ci rejoint la mitochondrie et est converti par la pyruvate dehydrogenase (PDH) en Acetyl-CoA qui va entrer dans le cycle de krebs et permettre de multiples réactions enzymatiques générant le NADH et FADH<sub>2</sub>, cofacteurs nécessaires au fonctionnement de la NADH-ubiquinone oxydoreductase (complexe I) et Succinate-ubiquinone oxydoreductase (complexe II) de la chaîne respiratoire mitochondrial (CRM), respectivement. L'oxydation de ces cofacteurs va générer un flux d'électrons des complexes I et II vers l'ubiquinol-cytochrome C oxydoreductase (complexe III) puis vers la cytochrome C oxydase (complexe IV). Ce transfert d'électrons va permettre la génération d'un gradient électrochimique de protons (H<sup>+</sup>) qui va fournir l'énergie nécessaire pour le fonctionnement de la FO-F1 ATP synthase (complexe V) et la production d'ATP.

Afin d'expliquer, ce « shift métabolique » de l'OxPHOS vers la glycolyse, Warburg émet alors l'hypothèse que les mitochondries des cellules cancéreuses sont défectueuses et donc incapables de fournir l'ATP nécessaire (Warburg O., 1956). Des 1956, cette théorie est remise en cause par Weinhouse qui démontre que les cellules cancéreuses et notamment celles d'ascites possèdent une respiration fonctionnelle (Weinhouse S., 1956). Depuis d'autres travaux ont également démontré l'importance de la mitochondrie dans la tumorigenèse. En effet, l'ablation d'ADN mitochondrial dans les cellules cancéreuses de sein et de cerveau induit des défauts de tumorigenèse (Cavalli LR et al., 1997).



Si aujourd'hui, l'hypothèse de la défaillance mitochondriale est écartée, reste à déterminer la raison pour laquelle les cellules tumorales vont utiliser préférentiellement la glycolyse pour subvenir à leurs besoins. Certains auteurs comme Cairns ou Vander Heiden supposent que cette voie permet la production de macromolécules nécessaires à la prolifération cellulaire, le maintien de l'état redox cellulaire essentiel à la survie des cellules cancéreuses et la production d'ATP notamment en condition hypoxique (Cairns RA et al., 2011) (Vander Heiden MG et al., 2011).

La glycolyse est notamment supportée par le fait que les cellules cancéreuses captent beaucoup plus de glucose que les cellules normales. Cette caractéristique a par ailleurs permis de développer un outil clinique de monitoring et de détection de tumeurs appelé : la tomographie par émission de positon (TEP). La TEP est basée sur l'utilisation d'un analogue de glucose radiomarqué, le 2-FDG (2-deoxy-2-fluoro-D-glucose) fortement incorporé dans les tumeurs.



**Figure 10 : La reprogrammation métabolique des cellules cancéreuses.**

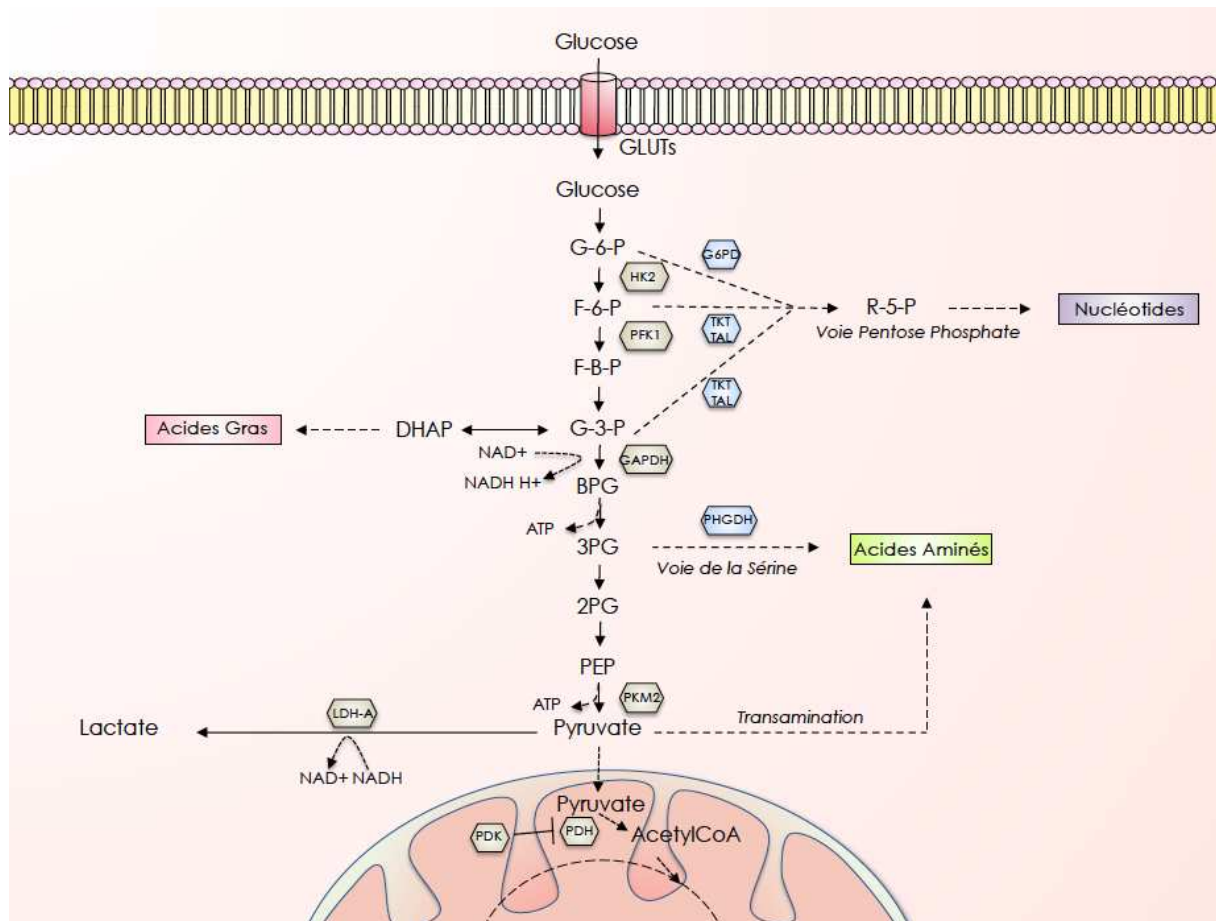
En condition physiologique et en présence d'oxygène, les cellules métabolisent le glucose en pyruvate au travers la glycolyse. Ce pyruvate va entrer dans la mitochondrie et générer de l'ATP au travers la phosphorylation oxydative (OxPHOS). En condition d'hypoxie, ces cellules vont convertir le glucose en pyruvate qui sera ensuite transformé en lactate. Les cellules cancéreuses ont un métabolisme particulier. En effet, que ce soit en présence ou absence d'oxygène, elles vont convertir le pyruvate dérivé du glucose, en lactate. Cette particularité porte le nom d'effet Warburg. \* Schéma inspiré de Cairns RA et al., 2011

### 2.1.1. L'effet Warburg, un métabolisme orienté vers la synthèse de macromolécules :

La division des cellules nécessite la duplication de tous les éléments cellulaires incluant les acides nucléiques, les protéines et les lipides. Par conséquent, les cellules cancéreuses ont besoin d'une grande quantité de précurseurs pour la synthèse de ces macromolécules nécessaires à leur prolifération. La glycolyse est une voie métabolique hautement branchée pouvant fournir un grand nombre de ces précurseurs.

En effet, le Glucose-6-Phosphate (G-6-P), le Fructose-6-Phosphate (F-6-P), et le Glyceraldehyde-3-Phosphate (G-3-P) peuvent fournir au travers la voie des pentoses phosphates (PPP) du Ribose-5-Phosphate (R-5-P), précurseur des nucléotides. Les acides aminés peuvent être produit au travers la voie de la sérine grâce au 3-Phosphoglycérate (3-PG) mais également via la transamination du pyruvate en alanine. La glycolyse peut également permettre la biosynthèse de lipides. En effet le G-3-P et le 3-PG peuvent être utilisés pour la synthèse des phospholipides. (Cantor JR et al., 2012) (Lunt SY et al., 2011).

Ces différents substrats carbonés vont permettre également au travers la glycolyse, la génération de NADH, cofacteur nécessaire aux réactions enzymatiques permettant la synthèse de ces macromolécules (Figure 11).



**Figure 11 : La glycolyse soutient la synthèse de macromolécules.**

Les cellules cancéreuses présentent **une** captation de glucose exacerbée notamment grâce à la surexpression des transporteurs de glucose (GLUTs). Ce glucose va être transformé via différentes enzymes de la glycolyse en intermédiaires glycolytiques. Les cellules cancéreuses présentent généralement une dérégulation des enzymes de la glycolyse qui permet aux intermédiaires glycolytiques de s'accumuler, ce qui permet la synthèse de précurseurs de macromolécules comme les acides gras, les acides nucléiques (voie des PPP) et les acides aminés (voie de la sérine).

### 2.1.2. Les enzymes dérégulées contribuant à l'effet Warburg :

Les enzymes impliquées dans la voie glycolytique sont souvent dérégulées dans le but de favoriser le phénotype Warburg des cellules cancéreuses. C'est ainsi que l'hexokinase 2 (**HK2**), la Phospho-fructokinase 1(**PFK1**), la Phosphoglycérate dehydrogenase (**PHGDH**) la Pyruvate Kinase (**PKM2**) et la Pyruvate dehydrogenase kinase (**PDK**) voient leur expression augmentée dans les cellules cancéreuses (Figure 11).

La surexpression de ces enzymes permet de favoriser la synthèse de macromolécules et la génération de NADPH important pour le maintien de l'état redox cellulaire. Il a été démontré que la PHGDH est fréquemment amplifiée dans un pourcentage significatif d'échantillons tumoraux de mélanome (Ratnikov BI et al., 2016). Son expression permet

la synthèse d'acides aminés au travers la voie de la sérine, dans les cellules cancéreuses (Polet F et al., 2015). La PKM2, fortement exprimée dans les cancers, confère un avantage aux cellules cancéreuses en ralentissant la glycolyse et en permettant ainsi les réactions anaplérotiques au travers la voie PPP et la voie de la sérine. De plus, la surexpression de la PDK comme la PDK1 et la PDK3 dans le mélanome va permettre d'inhiber la transformation du pyruvate en AcetylCoA, nécessaire au cycle de Krebs, renforçant ainsi le phénotype Warburg des cellules cancéreuses (Vander Heiden MG et al., 2011) (Kluza J et al., 2012).

## 2.2. Le métabolisme mitochondrial dans les cellules tumorales

La mitochondrie a souvent été mise de côté pour expliquer le métabolisme des cellules cancéreuses. Souvent caractérisée comme défectueuse, elle apparaît aujourd'hui être essentielle à la tumorigenèse. La mitochondrie ne se restreint pas à un rôle purement énergétique (synthèse d'ATP). En effet, elle permet au travers l'utilisation de substrats carbonés autres que le glucose, la biosynthèse de macromolécules (réactions anaplérotiques mitochondriales) indispensables à la prolifération et à la survie des cellules cancéreuses.

### 2.2.1. Découplage du flux glycolytique mitochondrial

Une des caractéristiques importantes du métabolisme des cellules cancéreuses est le faible taux de pyruvate dérivé du glucose, oxydé dans la mitochondrie. En effet, la grande majorité du pyruvate produit au travers la glycolyse est transformé en lactate. Ceci s'explique notamment par la difficulté du pyruvate à entrer dans la mitochondrie pour être converti en AcetylCoA et faire fonctionner le cycle de Krebs. Ce découplage du flux glycolytique mitochondrial peut s'expliquer par l'inactivation de la pyruvate dehydrogenase (PDH), enzyme catalysant la transformation du pyruvate en AcetylCoA ; ainsi que par la sous-expression du MPC (Mitochondrial pyruvate carrier), responsable du transport du pyruvate dans la mitochondrie (Figure 12).

### 2.2.1.1. Inactivation de la Pyruvate dehydrogenase (PDH) :

La Pyruvate dehydrogenase (PDH) est un large complexe composé de 3 enzymes : la pyruvate decarboxylase (sous-unité E1) ou PDHE1 $\alpha$ , la dihydrolipoyl acetyltransferase (sous-unité E2), la dihydrolipoyl dehydrogenase (sous-unité E3) Son rôle est déterminant car elle gouverne l'entrée du pyruvate dans la mitochondrie. En effet, la PDH permet l'oxydation du pyruvate en AcetylCoA qui va ensuite entrer dans le cycle de Krebs afin de faire fonctionner la mitochondrie. Son état d'activation est conditionné par des évènements de phosphorylation et de déphosphorylation induits par des kinases et phosphatases. Il a été démontré que son inhibition est essentielle à l'effet Warburg dans les cellules cancéreuses.

- **Régulation de la PDH par des kinases**

Les Pyruvate Dehydrogenase Kinases (PDKs) sont les enzymes principales qui vont inactiver la PDH au travers la phosphorylation de résidus sérine spécifiques. On dénombre 4 isotypes de PDKs exprimés de façon tissus dépendant et activés en fonction de divers stimuli comme l'hypoxie pour la PDK1, la privation en glucose pour la PDK2 et PDK4 ou encore le taux d'ATP pour la PDK3. Dans les cancers, l'expression des PDKs est fréquemment augmentée contribuant au phénotype Warburg.

La PDK1 est surexprimée dans différents types de cancer comme le cancer tête/cou, où son expression est augmentée de façon HIF-1 dépendante (McFate et al., 2008).

La PDK2 est surexprimée dans les cancers cervicaux et significativement corrélée avec les métastases. La PDK3 est surexprimée dans le neuroblastome, le mélanome et dans le cancer du colon où la surexpression est associée à la sévérité de la maladie. La PDK4 est surexprimée dans les cancers du poumon, du rein, des ovaires et de la prostate (Saunier E et al., 2015).

L'inactivation de la PDH par les PDKs induit une diminution de l'oxydation du pyruvate mitochondriale et donc une diminution de l'OxPHOS. Elles sont importantes pour le phénotype Warburg et la progression tumorale. En effet, leur inhibition réactive la respiration mitochondriale et resensibilise les cellules aux agents thérapeutiques.

Il a été démontré dans le cancer tête/cou, que l'inhibition de la PDK1 via l'utilisation de sh-RNA restaure l'activité de la PDH, reverse l'effet Warburg et diminue la survie,

l'invasion et la croissance tumorale (McFate et al., 2008). Dans les cellules de mélanome BRAF<sup>V600E</sup>, l'inhibition de l'axe HIF-1 $\alpha$  /PDK3 par le dichloroacétate (DCA) est associée à l'augmentation de l'activité PDH ainsi qu'à la réactivation de l'OxPHOS et permet la production de ROS. Cette inhibition permet de sensibiliser les cellules de mélanome à la mort induite par des agents prooxydants mitochondriaux (Kluza J et al, 2012).

D'autres kinases peuvent phosphoryler la PDHE1 $\alpha$  et induire son inactivation, ces phosphorylations ne concernent pas des sérines mais des tyrosines. Dans les cellules du cancer du sein et du colon, il a été démontré que la tyrosine kinase Src peut phosphoryler la tyrosine Y289 induisant l'inhibition de l'activité PDH.

La suppression de l'activité PDH dans ces lignées se traduit également par la diminution de la respiration mitochondriale ainsi que la diminution de la production de ROS, le tout associé à une augmentation des métastases et une chimiorésistance. Dans les cellules cancéreuses leucémiques, la kinase oncogénique FGFR1 phosphoryle la tyrosine Y301 de PDHA1 inhibant ainsi l'activité PDH et augmentant le phénotype Warburg (Fan J et al., 2014).

La génération de mutants non phosphorylables PDHE1 $\alpha$  Y289 et PDHE1 $\alpha$  Y301 dans ces cancers est associée à l'augmentation de l'activité PDH, l'augmentation de la production de ROS et la diminution de la croissance tumorale.

- **Régulation de la PDH par des phosphatases**

La PDH est activée par des événements de déphosphorylation induits par des pyruvate dehydrogenase phosphatases (PDPs). Il existe 2 isoformes capables de déphosphoryler les sérines de la PDHA1, la PDP1 et la PDP2 ; la PDP1 ayant une meilleure activité que la PDP2. Dans les cancers, les PDPs sont souvent inactivées par des mécanismes de phosphorylation induits par des kinases ainsi que par des acétylations sur des lysines (Saunier E et al., 2015). En effet, dans les cellules leucémiques, la phosphorylation de PDP1 sur la tyrosine Y-94 induit la croissance tumorale (Shan C et al., 2014). De plus, il a été démontré dans les cellules cancéreuses de poumon que la phosphorylation de PDP1 sur la Tyrosine Y318 va permettre le recrutement d'acetyltransferase ACAT1 et la dissociation de la déacetylase SIRT3. Ceci va permettre l'acétylation de lysines à la fois sur la PDHE1 $\alpha$  et la PDP1 inactivant ainsi leur interaction et favorisant le recrutement de la PDK1. Ceci renforce l'effet Warburg et la croissance tumorale (Fan J et al., 2014).

### 2.2.1.2. Perte de l'import du pyruvate mitochondrial

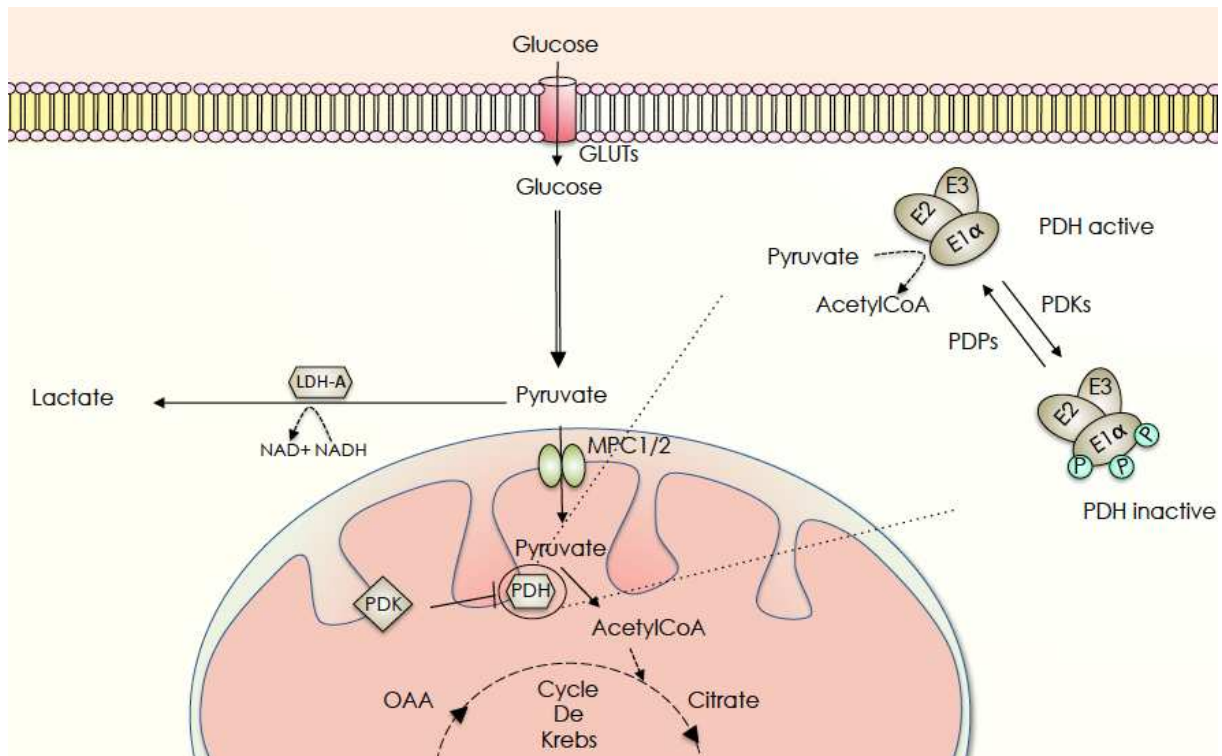
Une autre explication pour expliquer le découplage entre la glycolyse et la mitochondrie est la perte de l'import du pyruvate dans la mitochondrie. L'import du pyruvate mitochondrial est assuré par un complexe protéique multimérique appelé MPC (Mitochondrial Pyruvate Carrier). Ce complexe est situé sur la MIM et est composé de 2 sous-unités : MPC1 et MPC2.

Bien que l'inactivation du MPC soit fréquemment retrouvée dans les tumeurs et les lignées de cellules cancéreuses, c'est essentiellement le MPC1 qui est retrouvé sous exprimé ou délété dans la plupart des cancers. La dérégulation du MPC contribue à l'effet Warburg et à la tumorigenèse. En effet, la re-expression du MPC1 et MPC2, dans des cellules cancéreuses de colon est associée à une augmentation de l'oxydation du pyruvate et une diminution de la glycolyse (Schell JC et al., 2014).

Dans le cancer de la prostate, la sous expression du MPC1 témoigne de l'agressivité du cancer. En effet, le MPC1 est sous régulé dans les cellules cancéreuses métastatiques de prostate en comparaison aux cellules primaires. De plus, il a été démontré que l'expression du MPC1 est corrélée au pronostic des patients. Les patients sous régulant MPC1 (MPC1-low) ont un pronostic plus sombre que les patients l'exprimant (MPC1 high). Dans cette étude, les auteurs montrent que la surexpression du MPC1 dans des cellules MPC1-low permet de supprimer la croissance tumorale démontrant bien l'importance de la perte du MPC dans la tumorigenèse (Wang L et al, 2016).

A l'heure actuelle, la majorité des études réalisées ont permis de comprendre la structure et le rôle du MPC au sein du métabolisme des cellules cancéreuses ; reste à présent à comprendre les mécanismes conduisant à sa dérégulation.





**Figure 12: Découplage du flux glycolytique mitochondrial.**

En condition normale, le pyruvate entre dans la mitochondrie via travers le MPC (Mitochondrial Pyruvate Carrier) puis est oxydé en AcetylCoA par la PDH (Pyruvate dehydrogenase) qui peut ensuite entrer dans le cycle de krebs. La PDH est régulée négativement par la PDK (pyruvate Dehydrogenase Kinase) qui va inactiver la PDH via la phosphorylation de résidus sérines spécifiques et positivement au travers la dephosphorylation de ces résidus via les PDP (Pyruvate Dehydrogenase Phosphatases). Dans les cellules cancéreuses, le pyruvate est faiblement incorporé dans la mitochondrie et est préférentiellement converti en lactate par la LDH-A. Ceci peut être expliqué en partie par l'inactivation du MPC ou par la surexpression des PDK.

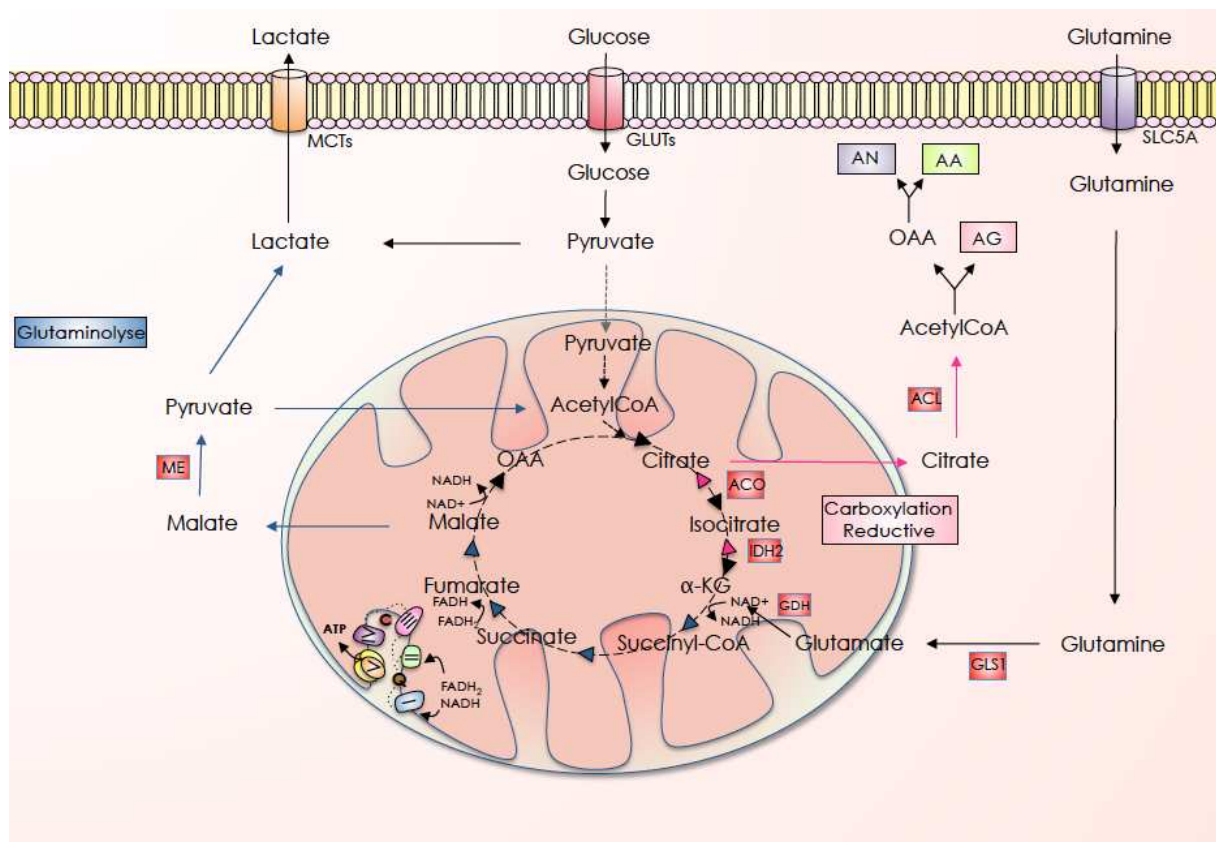
## 2.2.2. Les réactions anapérotyques mitochondriales

### 2.2.2.1. Les réactions anapérotyques induites par l'utilisation de la glutamine :

Contrairement à ce qui fut initialement proposé par Warburg, la mitochondrie n'est pas inactive ou défaillante dans les cellules cancéreuses. De nombreuses études dans différents cancers tels que le glioblastome, le cancer du poumon, la leucémie ou encore le cancer du sein montrent un rôle majeur de la mitochondrie dans la prolifération et la survie des cellules cancéreuses. Ce rôle est notamment permis grâce à la captation de glutamine par la cellule et son utilisation par la mitochondrie pour à la fois faire fonctionner la CRM et créer de la biomasse (Acides gras, Acides aminés ou Acides nucléiques) nécessaire à la prolifération et survie des cellules cancéreuses.



Une fois captée, la glutamine va être déaminée par la Glutaminase (GLS) en glutamate. Dans la mitochondrie, celui-ci va être pris en charge par la Glutamate dehydrogenase (GDH) pour donner de l' $\alpha$ -kétoglutarate ( $\alpha$ -KG), métabolite du cycle de Krebs. La glutamine, au travers l' $\alpha$ -KG peut augmenter le fonctionnement de la CRM. En effet, l' $\alpha$ -KG peut être transformé en malate qui va sortir du cycle de Krebs pour être transformé en pyruvate puis en lactate dans le cytosol (Glutaminolyse). Il a été démontré que le pyruvate peut entrer dans la mitochondrie afin de fournir de l'Acetyl-CoA permettant le fonctionnement de la CRM (DeBerardinis R.J et al., 2007).



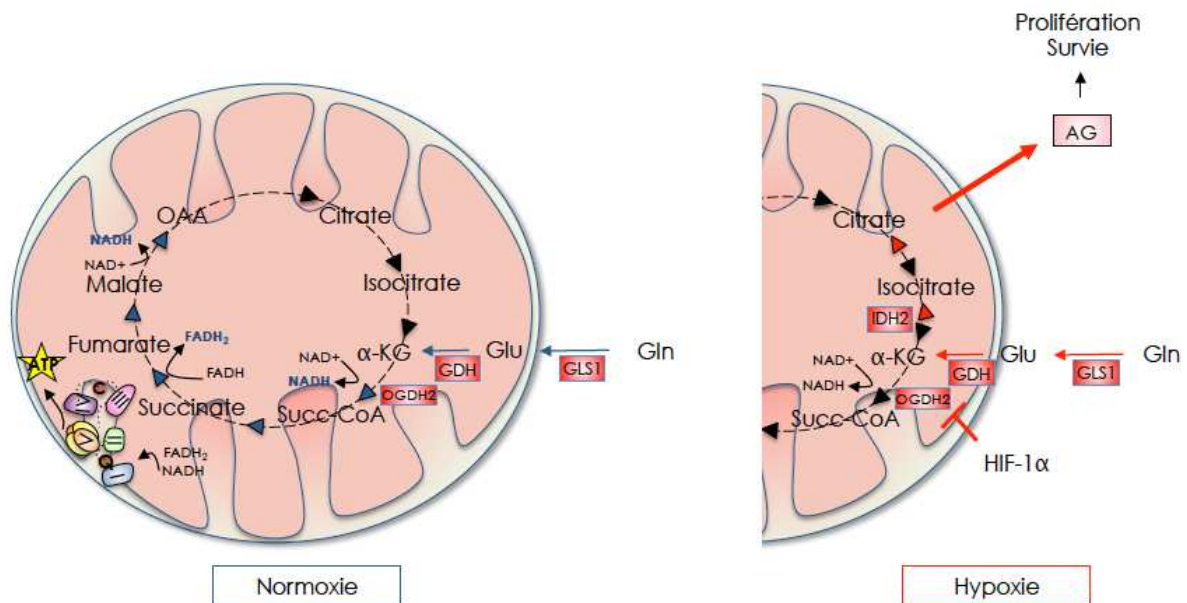
**Figure 13 : Les réactions anaplerotiques mitochondriales induites par la glutamine.** La glutamine entre dans la cellule grâce à des transporteurs spécifiques tels que SLC5A. Elle est ensuite convertie en glutamate par la Glutaminase 1 (GLS1) qui rejoint la mitochondrie pour être transformé par la Glutamate Dehydrogenase (GDH) en  $\alpha$ -Kétoglutarate ( $\alpha$ -KG) utilisable par le cycle de Krebs. L' $\alpha$ -KG peut ensuite emprunter la voie de la glutaminolyse pour fournir du malate qui sortira de la mitochondrie donnant du pyruvate grâce à l'enzyme malique (ME) qui sera soit réutilisé par la mitochondrie ou qui sera converti en lactate et excrété de la cellule. La glutamine peut également participer à la synthèse de précurseurs de macromolécules au travers la carboxylation réductrice. En effet, l' $\alpha$ -KG peut être pris en charge par l'isocitrate déshydrogénase 2 (IDH2) afin de donner de l'isocitrate qui sera à son tour converti en citrate via l'aconitase (ACO). Le citrate peut sortir de la mitochondrie et donner de l'AcetylCoA via l'Acétyl ligase (ACL), qui servira à la synthèse des acides gras (AG), acides aminés (AA) et acides nucléiques (AN).

L' $\alpha$ -KG peut également faire fonctionner le cycle de Krebs de façon reverse (Carboxylation reductive) afin d'obtenir de l'isocitrate via l'Isocitrate Déhydrogenase 2 (IDH2) puis du citrate. Le citrate va être pris en charge par l'Acetyl Ligase (ACL) pour former de l'Acetyl-CoA permettant la synthèse d'acide gras mais également la synthèse d'acides aminés comme l'aspartate (Asp) et l'alanine (Ala) ou d'acides nucléiques via la production d'oxaloacetate (OAA) (Figure 13).

- **L'anaplérose mitochondriale est induite par l'hypoxie :**

Il a été démontré que l' $\alpha$ -KG dérivée de la glutamine est un substrat essentiel pour le fonctionnement de la mitochondrie en condition hypoxique. En effet, en hypoxie, les cellules de mélanome vont utiliser la carboxylation réductive pour à partir de l' $\alpha$ -KG produire de l'isocitrate grâce à l'isocitrate dehydrogenase 2 (IDH2) puis du citrate, nécessaire à la lipogénèse. L'anaplérose mitochondriale est une caractéristique importante pour la survie en hypoxie car l'inhibition de l'IDH2 ou l'inhibition de la synthèse des acides gras conduit à une diminution importante de la prolifération des cellules de mélanome (Filipp FV et al., 2012).

Dans les cancers tête/cou, il a par ailleurs été démontré que la survie des cellules tumorales en hypoxie au travers l'utilisation de la glutamine par la mitochondrie est régulée par le facteur HIF-1 $\alpha$ . En normoxie, la glutamine va plutôt servir de substrat au cycle TCA alors qu'en hypoxie, la glutamine utilise la carboxylation réductive dans le but de produire du citrate et fournir des acides gras. Ce shift d'utilisation de glutamine est notamment permis par la dégradation protéasomale de la 2-oxoglutarate dehydrogenase (OGDH2), enzyme responsable de la conversion de l' $\alpha$ -KG en succinyl-CoA. Cette dégradation est permise par l'induction du facteur HIF-1 $\alpha$  qui va augmenter l'expression de l'ubiquitine ligase SIAH2, responsable de l'ubiquitylation de la OGDH2. (Sun RC et al., 2014) (Figure 14).



**Figure 14 : Métabolisme de la glutamine en hypoxie.** Alors qu'en normoxie, la glutamine peut être utilisée pour faire fonctionner le cycle TCA ; en condition hypoxique, les réactions anaplerotiques permettent la prolifération et la survie des cellules cancéreuses au travers la lipogenèse. Ceci est notamment dû à l'inhibition de l'oxoglutarate dehydrogenase (OGDH2) par le facteur HIF1 -  $\alpha$  ce qui empêche la glutaminolyse.

- **L'anaplerose mitochondriale est essentielle au phénotype tumoral :**

Il est connu que les cellules cancéreuses sont très avides pour la glutamine induisant ainsi des phénomènes d'addiction notamment dans le glioblastome ou dans l'hépatocarcinome. L'utilisation de la glutamine s'avère être essentielle pour la prolifération et la survie des cellules cancéreuses. En effet, l'inhibition de la GDH dans les leucémies (Goto M et al., 2014), ou l'inhibition de la glutaminase dans les cellules cancéreuses de poumon (Yuneva MO et al., 2012), diminuent la prolifération et la survie des cellules cancéreuses.

En plus de permettre la prolifération et la survie des cellules cancéreuses, il a été démontré que l'utilisation de la glutamine par la mitochondrie constitue le phénotype métastatique des cellules de mélanomes. En effet, les cellules de mélanomes métastatiques utilisent la glutamine afin d'augmenter la fonction respiratoire, la production d'ATP et la biosynthèse d'acides aminés dans ces cellules permettant leur migration. Cet effet est reversé par l'utilisation d'un inhibiteur de la glutaminase, le BPTES (Rodrigues MF et al., 2016).

L'anaplérose mitochondriale a également un rôle essentiel dans la survie des cellules cancéreuses ayant une défaillance mitochondriale. En effet, il a été démontré dans les cellules de carcinome rénal prélevées chez le patient que l'utilisation de la carboxylation réductive permet la croissance des cellules tumorales ayant une défaillance sur les complexes I et III mitochondriaux. Cette croissance serait supportée au travers la biosynthèse des lipides (Mullen AR et al., 2012).

- **Hétérogénéité dans l'utilisation mitochondriale de la glutamine par les tumeurs**

L'équipe de DeBerardinis a mis en évidence l'existence d'une hétérogénéité dans l'utilisation de la glutamine au travers la glutaminolyse ou au travers la carboxylation réductive par les cellules cancéreuses ; En fonction du type de cancer, les cellules métaboliseraient la glutamine en privilégiant une des deux voies.

Dans les glioblastomes, les cellules cancéreuses métaboliseraient la grande majorité de la glutamine au travers la glutaminolyse conduisant à une forte sécrétion de lactate. La production de lipides étant assurée par le glucose. A l'inverse, les cellules de mélanome, utiliseraient la glutamine pour produire des acides gras et très peu de lactate (DeBerardinis RJ et al., 2007).

Les cellules cancéreuses sont connues pour leur importante flexibilité métabolique. En effet, en fonction des nutriments disponibles, de la quantité d'oxygène ainsi qu'en fonction de leur destin, les cellules cancéreuses vont privilégier certaines voies métaboliques par rapport à d'autres. De nouvelles études s'avèrent nécessaires pour comprendre les décisions métaboliques de ces cellules.

#### 2.2.2.2. Les réactions anaplérotiques induites par la pyruvate carboxylase

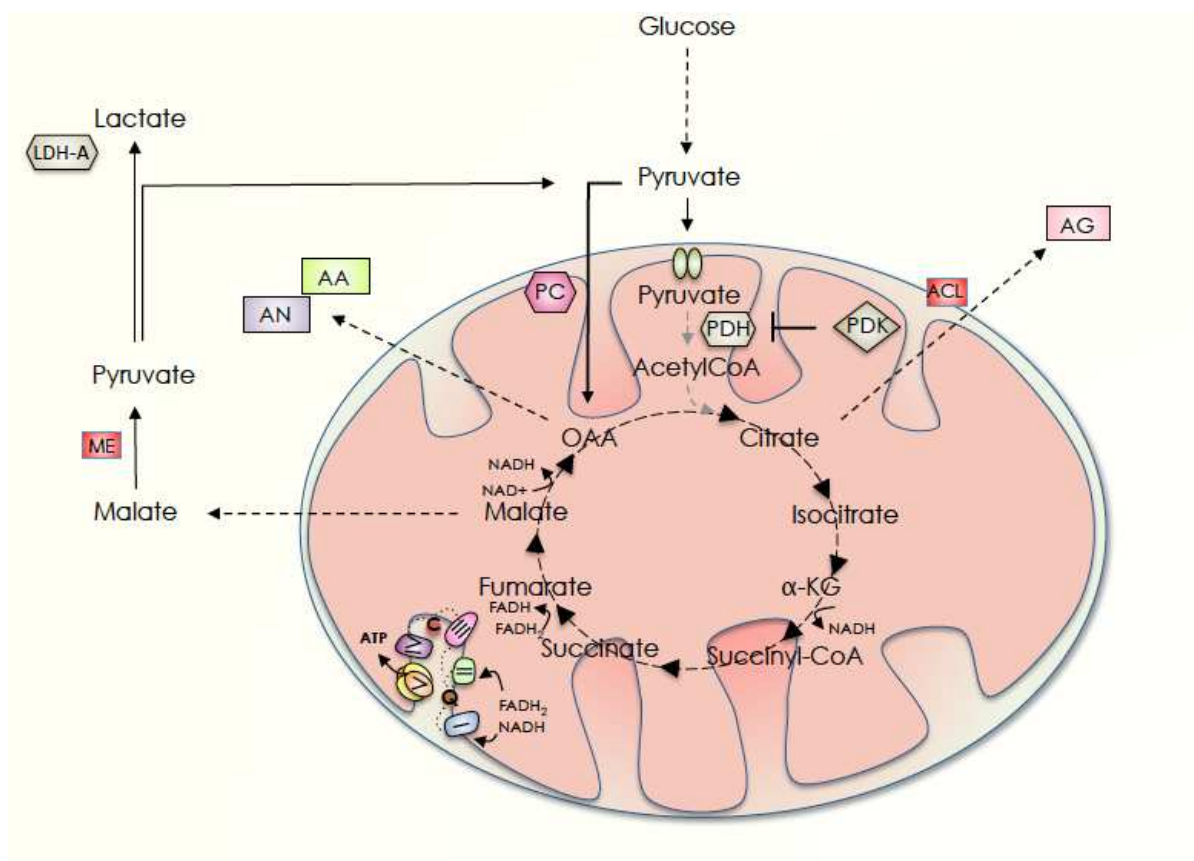
La pyruvate carboxylase (PC) est une enzyme qui catalyse la carboxylation du pyruvate en OAA, ce qui permet de réapprovisionner le cycle de Krebs et de participer à la synthèse de macromolécules. Son expression est augmentée dans les cancers notamment les cancers du poumon, du cerveau et du sein. Dans le cancer du sein, il a été démontré que son expression varie en fonction du stade du cancer. En effet, la PC est surexprimée chez les patients de stade avancé comparé à ceux de stade précoce. La surexpression a également été retrouvée dans des lignées à fort pouvoir métastatique en

comparaison à des lignées à faible pouvoir métastatique. Son expression est essentielle pour la prolifération, la migration et l'invasion des cellules cancéreuses (Phannasil P et al., 2015).

Dans le cancer du poumon, il a été démontré que la PC permet la synthèse de précurseurs de macromolécules comme les lipides et nucléotides soutenant la tumorigenèse. L'inhibition de la PC par knock-down dans des modèles de xénogreffes murins induit une diminution de synthèse des macromolécules ainsi qu'une diminution de la croissance tumorale montrant que l'anaplérose induite par la PC est importante pour la survie tumorale (Sellers K et al., 2015).

Bien que la glutamine soit privilégiée comme précurseur des réactions anaplérotiques (90%) comparé au pool d'AAO, l'utilisation de la pyruvate carboxylase représente un mécanisme de compensation lorsque les cellules tumorales en sont privées. En effet, l'équipe de DeBerardinis a démontré que le silencing de la GLS dans les glioblastomes supprime mais n'élimine pas totalement les cellules cancéreuses. Ces cellules vont mettre en place un mécanisme de compensation via l'anaplérose catalysée par la PC permettant l'utilisation du pyruvate dérivé du glucose par les cellules tumorales (Cheng T et al., 2011).

De nouvelles études ont également démontrées que la PC représente une voie de biosynthèse d'acides aminés lors de déficiences enzymatiques dans le cycle de krebs. En effet, il a été démontré dans un modèle de cellules cancéreuses de rein déficientes en succinate dehydrogenase (SDH : enzyme du cycle de krebs catalysant l'oxydation du succinate en fumarate) que ces cellules vont alors utiliser le pyruvate extracellulaire et le métaboliser au travers la PC afin de synthétiser de l'aspartate. L'aspartate étant un précurseur pour les acides nucléiques et pour d'autres acides aminés comme l'asparagine, va permettre la prolifération et la survie des cellules cancéreuses (Cardaci S et al., 2015). Des résultats similaires ont été retrouvés par l'équipe de Tennant, cette fois ci dans le paragangliome SDH-déficient (Lussey-Lepoutre C et al., 2015) (figure 15).



**Figure 15: La pyruvate carboxylase participe aux réactions anaplerotiques mitochondriales.**

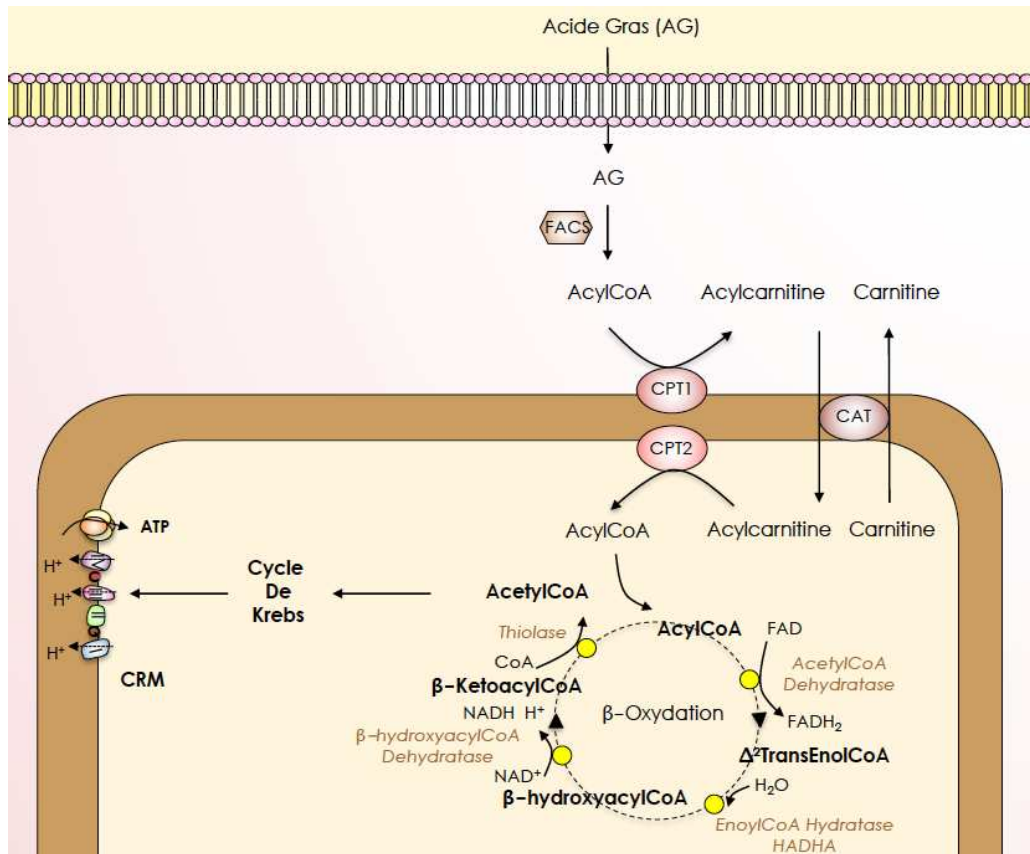
Les cellules cancéreuses peuvent métaboliser le pyruvate issu du glucose lorsque l'apport en glutamine est restreint. Le pyruvate est transformé en oxaloacétate (OAO) qui entre dans le cycle de Krebs pour permettre la synthèse de précurseurs de macromolécules comme les acides aminés (via l'OAA) et les acides gras (via le citrate).

### 2.2.3. La $\beta$ -Oxydation des acides gras par la mitochondrie

Les acides gras peuvent être utilisés par la mitochondrie pour alimenter le cycle de Krebs et faire fonctionner la CRM, fournissant ainsi l'énergie nécessaire aux cellules cancéreuses. Les acides gras entrent dans la cellule et sont pris en charge par la Fatty Acid Synthase (FAS) afin de fournir de l'AcylCoA qui entrera dans la mitochondrie via une navette carnitine. Ils sont dans ce cas convertis en Acylcarnitine sous l'action d'une carnitine Acetyl transferase (CPT1) présente sur la MEM. L'Acylcarnitine peut rejoindre la matrice mitochondriale en empruntant une carnitine acetylcarnitine transferase (CAT), qui fonctionne comme un antiport permettant d'échanger une molécule de carnitine contre une molécule d'Acylcarnitine. Dans la matrice, l'Acetylcarnitine est convertie à nouveau en AcylCoA sous l'action d'une carnitine Acetyl transferase (CPT2) et peut ainsi subir la  $\beta$ -oxydation.



La  $\beta$ -oxydation est la voie principale de dégradation des acides gras, elle se passe dans la mitochondrie et aboutit à la formation d'acetyl-CoA qui est oxydé dans le cycle de Krebs, ainsi qu'à la production des cofacteurs NADH et FADH<sub>2</sub> alimentant la CRM (Figure 16).



**Figure 16: La  $\beta$ -Oxydation des acides gras.**

Les acides gras entrent dans la cellule et sont pris en charge par la Fatty Acid Synthase (FAS) afin de fournir de l'AcylCoA qui entrera dans la mitochondrie via une navette carnitine. Ils sont ensuite convertis en Acylcarnitine sous l'action de la carnitine Acetyl transferase (CPT1) présente sur la MEM. L'Acylcarnitine peut rejoindre la matrice mitochondriale en empruntant la carnitine acetylcarnitine transferase (CAT). Dans la matrice, l'Acetylcarnitine est convertie à nouveau en AcylCoA sous l'action d'une carnitine Acetyl transferase (CPT2) et peut ainsi réaliser la  $\beta$ -oxydation. La  $\beta$ -oxydation permet la dégradation des acides gras et aboutit à la formation d'acetyl-CoA qui est oxydé dans le cycle de Krebs et des cofacteurs NADH et FADH<sub>2</sub> alimentant la CRM

Il a été démontré que les cellules cancéreuses peuvent surexprimer les enzymes de la  $\beta$ -oxydation comme l'Enoyl-CoA hydratase dans les cancers gastriques (Zhu XS et al., 2014) et le gliome mais également le transporteur CPT1 dans le but de survivre.

En effet, les cancers du foie (Rodriguez-Enriquez S et al., 2015), de la prostate (Schlaepfer IR et al., 2014), du sein (Park JH et al., 2016), du poumon (harris FT et al., 2014) ainsi que le gliome (Lin H et al., 2016) augmentent l'expression CPT1 mais

également l'expression des enzymes de la  $\beta$ -oxydation afin de produire de L'ATP au travers le cycle de Krebs, ce qui leur permet d'obtenir l'énergie nécessaire à leur survie. Dans ces différents modèles, l'utilisation d'étomoxir (inhibiteur spécifique de CPT1) se traduit par une chute de la consommation d'oxygène ainsi qu'une diminution de la production d'ATP ayant pour conséquence l'inhibition de la prolifération et de la migration des cellules tumorales.

Dans les cancers triple négatif du sein (TNBC), l'inhibition de CPT1 via des sh-RNA permet d'augmenter la survie mais diminue également les métastases pulmonaires et hépatiques dans des modèles murins TNBC (Park JH et al., 2016) montrant bien l'intérêt de l'utilisation de la  $\beta$ -oxydation pour les cellules tumorales.

### 2.3. Le métabolisme mitochondrial est influencé par des signaux internes et externes :

Le métabolisme énergétique est dicté par divers stimuli internes (influence oncogénique) et externes (environnement cellulaire) qui vont influencer le destin cellulaire. Ces stimuli vont être critiques pour la survie, la croissance, la migration, la différenciation ou encore la prolifération des cellules cancéreuses (Marchetti P et al., 2015).

#### 2.3.1. L'influence oncogénique :

Contrairement aux cellules saines, les cellules cancéreuses sont indépendantes des facteurs de croissance pour l'activation des voies de signalisation cellulaire. Cette caractéristique est notamment permise suite à l'acquisition de mutations sur ces voies leur permettant alors une croissance indéfinie. Récemment, il a été démontré que non seulement l'activation aberrante de ces voies de signalisation modifie le déroulement du cycle cellulaire pour favoriser la prolifération et la survie, mais également que ces voies permettent de réorienter le métabolisme tumoral pour favoriser la prolifération et la survie.



- **Les voies MAPK et PI3K/AKT**

*La voie MAPK*

Dans le mélanome métastatique est retrouvé la mutation de l'oncogène BRAF à 50% et plus particulièrement la mutation BRAF<sup>V600E</sup> (90% de mutation BRAF). Cette mutation permet une activation constitutive de la voie MAPK composée des protéines RAS-RAF-MEK et ERK.

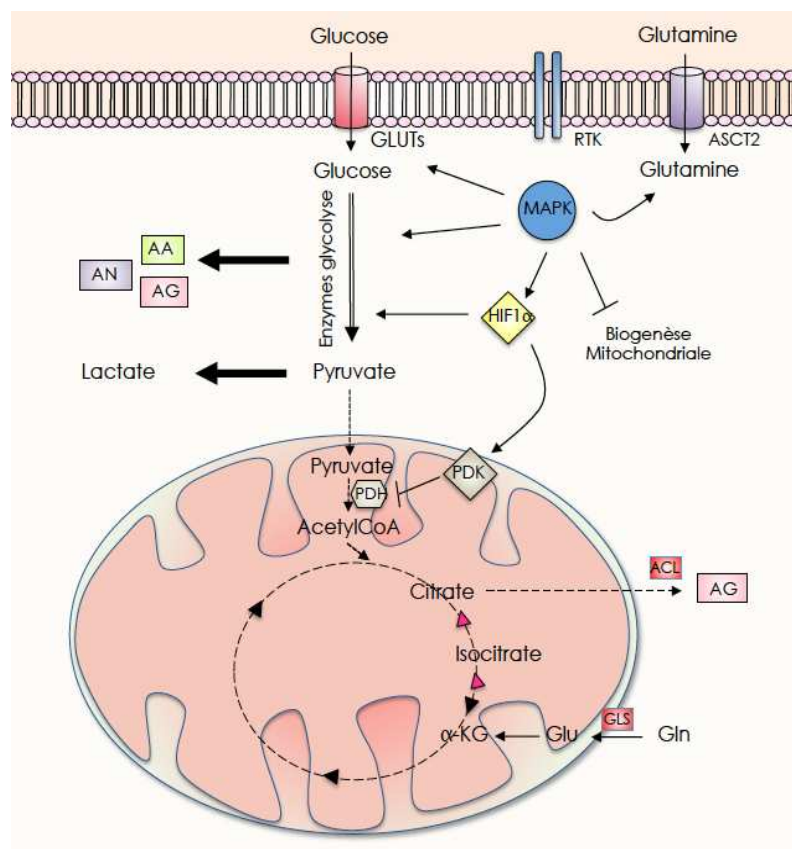
La mutation de BRAF<sup>V600E</sup> dans les mélanomes est associée à une augmentation de la glycolyse HIF-1 $\alpha$  dépendante. Les mélanomes BRAFV600E mutés présentent une augmentation de l'expression des enzymes de la glycolyse comme HK2 et la Lactate Déshydrogenase-A (LDH-A) mais également une captation de glucose exacerbée. Ceci est notamment dû à la stabilisation du facteur HIF-1 $\alpha$  même en présence d'O<sub>2</sub>, dans le mélanome. En effet, le kd-HIF-1 $\alpha$  dans les lignées de mélanome a pour conséquence d'augmenter la phosphorylation oxydative mitochondriale. Il a été démontré dans différents cancers comme le neuroblastome, le mélanome BRAF muté, le cancer colorectal KRAS muté que la surexpression de la PDK3 permet d'exercer un frein sur l'OxPHOS mitochondriale. En effet, la surexpression de la PDK3 permet dans le mélanome métastatique, d'inhiber l'OxPHOS et d'augmenter la glycolyse au travers l'expression du facteur HIF-1 $\alpha$  (Kluza J et al., 2012).

Des études menées par l'équipe Koch et collaborateurs ont démontré que la surexpression du transporteur GLUT1 augmente l'agressivité et les métastases dans le mélanome métastatique. L'expression de GLUT1 a par ailleurs été corrélée à un pronostic sombre. En effet, ils ont mis en évidence la surexpression du transporteur dans 78 mélanomes primaires par immunohistochimie. Le shRNA de GLUT1 dans des lignées de mélanome BRAF muté se traduit par une diminution de l'invasion, de la résistance à l'apoptose ainsi que de la migration. In vivo, cela se traduit par une diminution de l'apparition de métastases hépatiques (Koch A et al., 2015).

En plus d'augmenter la glycolyse, BRAF<sup>V600E</sup> inhibe le métabolisme mitochondrial via la répression de la voie MITF/PGC1 $\alpha$ . A l'origine, le facteur MITF (Microphthalmia - associated Transcription Factor) régule la prolifération cellulaire et la différenciation des mélanocytes. Toute fois, l'équipe de Vazquez a mis en évidence un rôle clé de MITF dans la biogenèse mitochondriale. En effet, MITF permet de réguler la biogenèse

mitochondriale et l'OxPHOS mitochondriale au travers l'expression de la protéine PGC1 $\alpha$ , protéine clé impliquée dans la biogenèse mitochondriale (Vazquez F et al., 2013). Il a été démontré que l'oncogène BRAF<sup>V600E</sup> est capable d'inhiber la protéine MITF impliquée dans la régulation de l'activité mitochondriale. Haq et collaborateurs ont démontré que la réactivation de MITF/PGC1 $\alpha$  induit via l'inhibition de BRAF permet une reprogrammation métabolique des mélanomes au profit de l'OxPHOS mitochondriale (Haq R et al., 2013).

Cependant, bien que la biogenèse mitochondriale soit réprimée, les mélanomes présentent une mitochondrie active notamment au travers l'utilisation de la glutamine. L'utilisation de la glutamine au travers la mitochondrie a par ailleurs été montrée comme favorisant les métastases dans ce cancer (Rodrigues MF et al., 2011) (Figure 17).



**Figure 17 : Rôle de la voie MAPK dans le métabolisme cellulaire.**

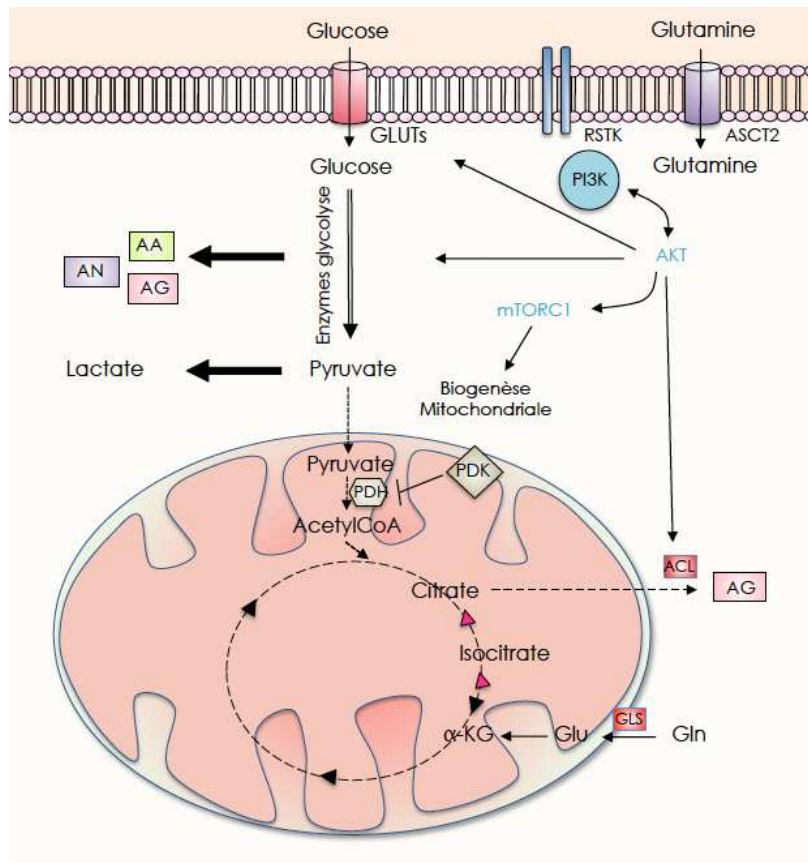
La voie MAPK permet d'augmenter la glycolyse à travers la surexpression des transporteurs de glucose (GLUTs), des enzymes de la glycolyse ainsi que la stabilisation du facteur HIF-1 $\alpha$ . De plus, bien qu'elle inhibe la biogenèse mitochondriale au travers la repression de la voie MITF-PGC1 $\alpha$ , elle favorise le métabolisme de la glutamine.

### *La voie PI3K/Akt/mTOR*

La voie PI3K/AKT/mTOR est fréquemment activée dans les cancers. Dans la LMC, il a été démontré que l'oncogène BCR-ABL permet l'activation constitutive de la voie PI3K/Akt. L'activation de cette voie est associée à une augmentation de la glycolyse (augmentation de la captation de glucose et la sécrétion de lactate). Ceci est notamment dû à la surexpression des transporteurs de glucose comme GLUT1, GLUT3 et GLUT6 ainsi qu'à la surexpression des enzymes de la glycolyse comme HK2, Aldolase, PDK3 ainsi que la LDH-A. (Kluza J et al., 2011) (Elestrom RL et al., 2004). En plus d'augmenter la glycolyse, cette voie permet également l'activation du métabolisme mitochondrial. Dans le cancer du colon, le développement de nouvelles molécules inhibant la kinase PI3K permet de réprimer le flux glycolytique et l'expression des enzymes de la glycolyse comme la PFK1 et la PKM2. Cette inhibition de la glycolyse au travers la voie PI3K permet de diminuer l'agressivité des cellules cancéreuses (capacité migratoire) et d'induire la mort cellulaire (Hussain A et al., 2016).

La surexpression de la PDK1 a été observée dans les LAM qui dépendent également de la voie PI3K pour leur survie. L'inhibition de la PDK1 par du DAP (Dichloroacetophenone) conduit à une inhibition de la croissance cellulaire in vitro, ainsi qu'à une diminution du volume tumorale dans des xénogreffes. Ceci est dû notamment à l'induction de la voie apoptotique mitochondriale (Quin L et al., 2016).

En plus d'augmenter la glycolyse, il a été démontré que cette voie permet également la biosynthèse mitochondriale. Par exemple, la protéine mTORC1 a été démontrée comme favorisant la biogenèse mitochondriale au travers l'expression du facteur PGC1 $\alpha$ . En effet, l'équipe de Puigserver a démontré dans les cellules musculaires que l'inhibition de mTORC1 par la rapamycine se traduit par une diminution de l'expression des gènes mitochondriaux et une diminution de la respiration mitochondriale. En effet, il semblerait que mTORC1 interfère avec PGC1 $\alpha$  ainsi qu'avec des facteurs de transcription comme YY1 (Ying-Yang 1) dans le but d'induire la biogenèse mitochondriale (Cunningham JT et al., 2007). Il a également été démontré que la protéine AKT permet également l'activation des voies de biosynthèse mitochondriale. En effet, l'expression de la protéine Akt1 dans les adipocytes primaires est associée à la transformation du citrate en Acetyl-coA via l'ATP citrate lyase (ACL) permettant la synthèse de lipides (Berwick DC et al., 2008). (Figure 18).



**Figure 18 : Rôle de la voie PI3K/Akt dans le métabolisme cellulaire.**

L'activation d'Akt dans les cellules tumorales permet la glycolyse au travers l'augmentation d'expression des GLUTs et des enzymes de la glycolyse. Akt permet également le fonctionnement de la mitochondrie en augmentant la biogenèse mitochondriale (via mTORC1) ainsi qu'en favorisant la synthèse d'acide gras.

### *La voie LKB1/AMPK*

La voie PI3K/ATK/mTOR est contrôlée par une autre voie régulant à son tour le métabolisme énergétique : la voie LKB1/AMPK.

L'AMPK est un complexe protéique qui joue un rôle essentiel dans la régulation du métabolisme énergétique cellulaire. En effet, l'AMPK a un rôle de senseur du statut énergétique cellulaire (changements dans le ratio cellulaire de l'AMP vers l'ATP) et est activée lors de conditions de stress métabolique comme l'hypoxie ou la privation en nutriments.

Lors de stress énergétique, l'AMPK est activée et permet l'inhibition de la prolifération cellulaire ainsi qu'un switch métabolique de la glycolyse vers le métabolisme oxydatif mitochondrial. Dans les LAL, il a été démontré que l'AMPK permet l'inhibition de mTORC1 conduisant à une diminution de la glycolyse. En contre partie, l'AMPK permet

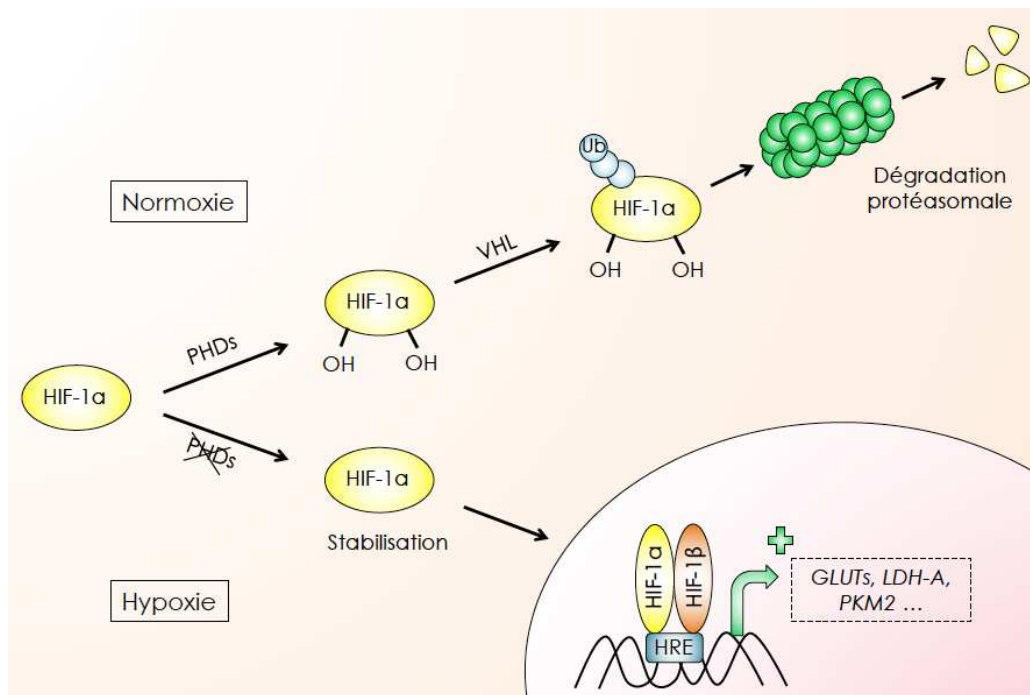
d'augmenter l'activité mitochondriale et notamment celle du complexe I. Cela se traduit par une plus forte production d'ATP et la survie et résistance des cellules au stress métabolique (Kirshton RJ et al., 2016) (Cairns RA et al., 2011) (Cantor JR et al., 2012). Chaube et collaborateurs ont démontré dans les cellules cancéreuses de poumon et de sein que l'AMPK est capable d'augmenter à la fois la biogenèse mitochondriale via l'axe p38/PGC1 $\alpha$  et la glycolyse via PFK2 dans le but de régénérer rapidement le pool d'ATP nécessaire à la survie des cellules. Dans le cancer de la prostate, l'activation de l'AMPK est corrélée à la progression des patients dans la maladie. L'équipe de Frigo a démontré que l'AMPK permet d'augmenter l'utilisation du glucose et des acides gras par la mitochondrie dans le but de générer de l'ATP. De plus, il semblerait que ces effets soient dépendants de l'activation de PGC1 $\alpha$  puisque le siAMPK ainsi que le siPGC1 $\alpha$  les abolissent (Tennakoon JB et al., 2014).

L'AMPK est contrôlée positivement par le suppresseur de tumeur LKB1. Dans le cancer du poumon, son expression est vue comme limitant la progression tumorale. En effet, l'inhibition de LKB1 permet d'augmenter la glycolyse ainsi que la formation de métastases alors que la réexpression de LKB1 permet au contraire l'inhibition de la glycolyse ainsi que la migration et l'invasion des cellules tumorales (Zeng Q et al., 2016). La mutation de LKB1 est souvent retrouvée dans le cancer du poumon. Sa mutation est associée à une hyperactivation de mTORC1 et à l'activation de HIF-1 $\alpha$ . En effet, dans les MEFs, la perte de LKB1 induit une augmentation de la captation de glucose et de glutamine pour favoriser la synthèse de macromolécules, soutenir la production d'ATP et permettre la survie des cellules tumorales. Ces changements métaboliques sont dépendant de HIF-1 $\alpha$  et de mTOR puisque HIF-1 $\alpha$  est accumulé en normoxie dans les MEFs déficients en LKB1 et l'inhibition de mTORC1 ou de HIF-1 $\alpha$  inhibent ces effets et induisent la mort cellulaire (Faubert B et al., 2013).

- **HIF-1 $\alpha$**

Le facteur de transcription induit par l'hypoxie HIF-1 (Hypoxia-inducible factor-1) est responsable de l'induction de nombreux gènes impliqués dans l'adaptation des cellules cancéreuses à l'hypoxie. HIF-1 est composé d'une sous unité dont l'expression varie en fonction de la concentration d'oxygène, HIF-1 $\alpha$  et d'une sous unité exprimée de façon constitutive, HIF1- $\beta$ . En condition normoxique, le facteur HIF-1 $\alpha$  est hydroxylé par des

prolylhydroxylases 1 et 2 (PHDs). L'hydroxylation permet son ubiquitinylation par la protéine VHL (Von Hippel-Lindau) conduisant à sa dégradation protéasomale. En condition hypoxique, l'activité de PHD diminue stabilisant HIF-1 $\alpha$  qui peut alors migrer dans le noyau pour se dimériser à HIF1- $\beta$  et ainsi augmenter la transcription de gènes cibles (Chiche A et al., 2013) (Figure 19).



**Figure 19 : Rôle de HIF-1 dans le métabolisme énergétique.**

HIF-1 est composé de deux sous-unités, HIF-1  $\alpha$  et HIF1- $\beta$ . En normoxie, HIF-1  $\alpha$  est hydroxylé par des prolylhydroxylases (PHDs) ce qui permet son hydroxylation puis son ubiquitinylation par la protéine VHL (Von Hippel-Lindau) conduisant à sa dégradation protéasomale. En hypoxie, l'activité de PHD diminue stabilisant HIF-1  $\alpha$  qui peut alors migrer dans le noyau pour se dimériser à HIF1- $\beta$  et transcrire ses gènes cibles portant une séquence HRE (Hypoxia Response Element) dont des gènes impliqués dans le métabolisme.

HIF-1  $\alpha$  a un rôle clé dans la reprogrammation du métabolisme énergétique. En effet, son activité induit une augmentation de l'expression des transporteurs du glucose comme GLUT1 et GLUT3 et la grande majorité des enzymes impliquées dans la glycolyse comme la LDH-A (Kappler M et al., 2012). En augmentant l'expression de la LDH-A et en favorisant l'expression de la pyruvate dehydrogenase kinase (PDK), enzyme responsable de l'inhibition de l'oxydation du pyruvate en Acetylco-A nécessaire à la mitochondrie, HIF-1 $\alpha$  exerce un frein sur le métabolisme mitochondrial (Lu CW et al., 2008). Des études ont mis en évidence que HIF-1 $\alpha$  peut être activé en condition normoxique par les voies de signalisation oncogéniques telles que la voie PI3K/Akt mais également par la

perte de la protéine suppresseur de tumeur VHL. Par ailleurs, d'autres événements tels que l'augmentation des ROS ainsi que la mutation des enzymes mitochondriales succinate déshydrogénase (SDH) et fumarate hydratase (FH) peuvent également augmenter l'expression de HIF1- $\alpha$  (Cairns RA et al., 2011).

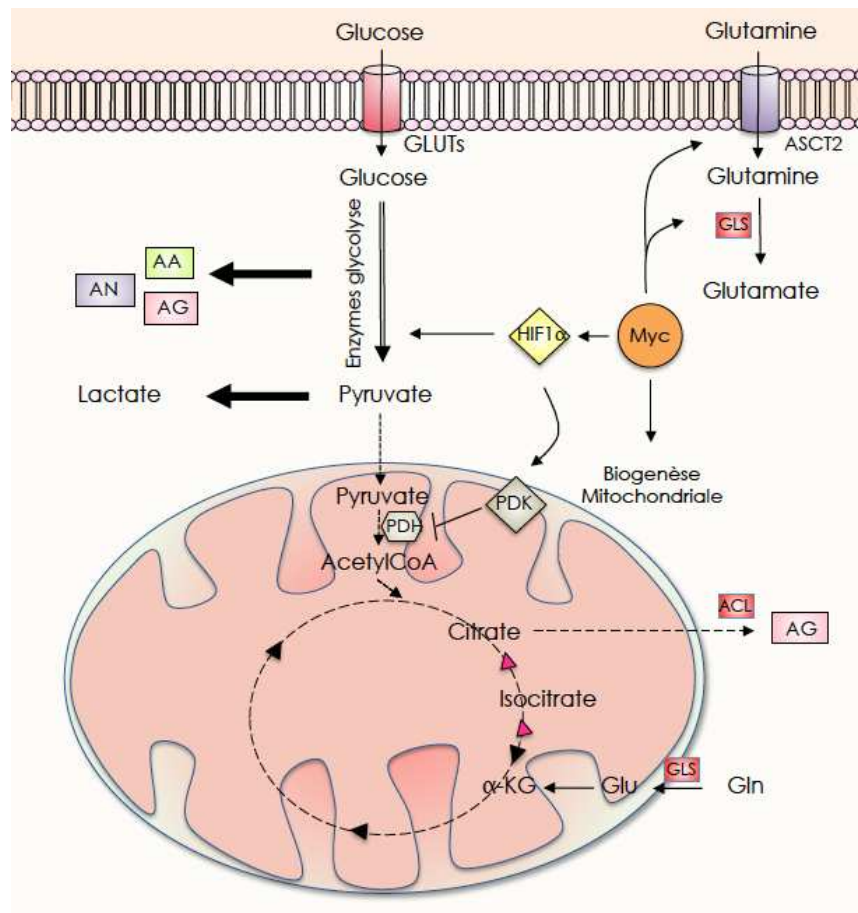
- **Myc**

L'oncogène Myc est connu pour jouer un rôle important dans le métabolisme des cancers. En effet, il a été démontré que Myc peut induire la glycolyse dans le glioblastome via la surexpression des enzymes glycolytiques HK2, PKM2 et LDH-A. L'expression de Myc génère une dépendance du GBM pour la glycolyse ce qui permet une meilleure efficacité des inhibiteurs glycolytiques comme le NAMPT. Son action cytotoxique et proapoptotique se traduit in vivo par l'augmentation de la survie des souris portant des xénogreffes de GBM avec l'amplification de Myc (Tatishi K et al., 2016). Myc est fréquemment surexprimée dans le cancer du colon. L'équipe de Hu a démontré que Myc permet l'accumulation de HIF-1 $\alpha$  ce qui permet d'augmenter la prolifération, la migration et l'angiogenèse in vivo. Il retrouve également une corrélation entre l'expression de Myc et HIF-1 $\alpha$  dans les échantillons de cancer colorectal (Chen C et al., 2013). De plus, il a été démontré que la collaboration entre Myc et HIF1- $\alpha$  induit une augmentation de l'expression des enzymes glycolytiques ainsi que la répression de l'entrée du pyruvate dans la mitochondrie via l'expression de la PDK (Cairns RA et al., 2011).

L'expression de Myc permet également d'augmenter la fonction mitochondriale. L'équipe de Dang a démontré que Myc permet d'augmenter la biogenèse mitochondriale. En effet, Les fibroblastes de rat Myc -/- présentent une diminution de la masse mitochondriale et une diminution du nombre de mitochondries. La réexpression de l'oncogène se traduit par une restauration partielle de la masse et de la fonction mitochondriale. Ceci peut s'expliquer par le fait que Myc est capable de lier le promoteur du gène de TFAM qui code pour un facteur de transcription qui va être transloqué dans la mitochondrie pour induire la réplication et la transcription de l'ADN mitochondrial (Li F et al., 2005).

De plus, Myc stimule également le métabolisme de la glutamine. Dans le glioblastome, Myc induit une augmentation de l'expression du transporteur de la glutamine ASCT2 (Slc7A25) ainsi que celle de la glutaminase GSL2 qui permet la conversion de la

glutamine en glutamate qui pourra être utilisé par la mitochondrie (Xiao D et al., 2015)(Figure 20).



**Figure 20 : Rôle de Myc dans le métabolisme cellulaire.**

Myc peut induire un métabolisme glycolytique dans les cellules cancéreuses notamment en interagissant avec HIF-1 $\alpha$ . De plus, il augmente le métabolisme de la glutamine au sein des cellules cancéreuses via la surexpression de ASCT2 et de la GLS.

- **p53 :**

Lors de la transformation maligne de nombreux stress sont perçus par la cellules cancéreuses conduisent à l'activation de p53. Le rôle de p53 dans la réponse au stress est relativement bien établi. Lors d'un stress basal ou de faible amplitude, p53 va aider les cellules a contrer ou va réparer les dommages cellulaires alors que lors d'un stress persistant comme un stress génotoxique ou l'activation oncogénique, p53 va plutôt orienter la cellule vers la senescence ou l'apoptose. En plus de décider si une cellule sera ou non orientée vers la mort, la protéine p53 a un rôle important dans la régulation du



métabolisme énergétique (Vousden KH et al., 2009) en étant capable à la fois d'agir sur l'OxPHOS mitochondriale et sur la glycolyse.

L'équipe de Karnieli, a démontré que la protéine p53 peut influencer sur la glycolyse notamment en inhibant l'expression de GLUT1 et GLUT4 dans des cellules d'ostéosarcomes et des rhabdomyosarcomes (Schwartzberg-Bar-Yoseph F et al., 2004). La mutation de p53 dans les cellules cancéreuses de poumon et de sein permet de stimuler l'effet Warburg. En effet, les cellules mutp53 présentent une augmentation de la consommation de glucose associée à la surexpression et la relocalisation membranaire de GLUT1 ainsi qu'un relargage important de lactate. Ces effets sont reversés par l'expression de la forme WTp53 (Zhang C et al., 2013). La protéine p53 permet également l'activation de la protéine TIGAR (TP53-Induced Glycolysis and Apoptosis Regulator) qui va altérer la concentration en fructose-2,6-bisphosphate (Fru-2,6-BP) dans les cellules ce qui a pour conséquence de diminuer l'activité de PFK1 et donc d'inhiber la glycolyse. Les dérivés du glucose produits vont se diriger vers la voie des PPP pour permettre entre autres la régulation du stress oxydant via la génération de NADPH. Dans le glioblastome, TIGAR permet de limiter la production de ROS grâce à la voie des PPP (Wanka C et al., 2012).

En outre, l'équipe Boyd a démontré que l'expression de p53 est importante pour le maintien de l'OxPHOS mitochondriale. En effet, les cellules squameuses de carcinome tête/cou exprimant p53 présentent une respiration mitochondriale robuste. La mutation de p53 dans ce carcinome aboutit à un switch du métabolisme oxydatif vers la glycolyse (Wilkie M et al., 2015). En 2006, l'équipe de Hwang a démontré que p53 permet d'augmenter la respiration mitochondriale via l'expression de SCO2 (cytochrome c oxydase 2). Auparavant en 1999, l'équipe de Nakamura avait démontré que p53 permet également l'expression de la sous unité I de la COX dans les cellules colorectales p53wt (Matoba S et al., 2006).

- **Mutation des enzymes mitochondriales :**

Certaines tumeurs sont caractérisées par une dysfonction mitochondriale. Cette dysfonction a pour origine la mutation d'enzymes du cycle de Krebs : L'isocitrate dehydrogenase (IDH), la succinate dehydrogenase (SH) et la fumarate hydratase (FH).

La mutation de ces enzymes aboutie à la formation d'un cycle de Krebs tronqué et à l'accumulation de métabolites supportant la transformation maligne.

*L'isocitrate dehydrogenase (IDH) :*

L'isocitrate dehydrogenase (IDH) est une enzyme qui catalyse la transformation d'isocitrate en  $\alpha$  - ketoglutarate ( $\alpha$ -KG) avec la réduction en parallèle de NAD(P) en NADP(H). Trois isoformes se distinguent en fonction de la localisation cellulaire ; l'IDH1 retrouvée dans le cytosol et au niveau des peroxysomes et les IDH2 et IDH3 localisées dans la mitochondrie. Alors que la transformation de l'isocitrate en  $\alpha$ -KG catalysée par l'IDH3 est irréversible, celle réalisée par les IDH1 et IDH2 est réversible. Dans certains types de cancer tels que les gliomes, les leucémies et les cholangiosarcomes, des mutations IDH1 et IDH2 sont fréquemment retrouvées. Ces mutations touchent le domaine catalytique de l'enzyme et sont majoritairement caractérisées par la substitution d'une arginine (IDH1<sup>R132</sup> et IDH2<sup>R140</sup> ou IDH2<sup>R172</sup>). Ces mutations ont pour conséquence un gain de fonction. En effet, bien que l'enzyme mutée soit incapable de lier l'isocitrate pour le transformer en  $\alpha$ -KG, elle réduit l'  $\alpha$ -KG en un nouveau métabolite, le 2 hydroxyglutarate (2-HG) (Laurenti G et al., 2016).

Le 2 hydroxyglutarate (2-HG) est caractérisé comme un oncométabolite du fait de sa contribution au phénotype tumoral. Le 2-HG partage des similarités moléculaires avec l' $\alpha$ -KG. Ces similarités vont d'ailleurs lui permettre d'inhiber l'activité des dioxygénases dépendantes de l' $\alpha$ -KG. Un des effets de cet oncométabolite est l'induction de modification épigénétique. En effet, le 2-HG peut inhiber les déméthylases comme la TET2 DNA déméthylase (Rôle dans la méthylation des îlots CpG de l'ADN) ou la JMJC histone déméthylase (Rôle dans la méthylation des histones) aboutissant à un profil transcriptionnel qui contribue à la tumorigenèse dans les cellules IDH<sup>mut</sup> (Van Lith SAM et al., 2016) (Figure 21).

En plus d'avoir des effets épigénétiques, le 2-HG peut directement influencer sur le métabolisme des cellules tumorales. En effet, les tumeurs mutées IDH1<sup>R132</sup> ont un phénotype moins glycolytique que les tumeurs IDH1<sup>WT</sup>. Dans les gliomes, il a été démontré que l'hyperméthylation du promoteur de la LDH-A induit une diminution de son expression. De plus, dans des échantillons de patients IDH1<sup>mut</sup>, la surexpression de FIH1/HIFAN (Régulateur négatif de HIF-1  $\alpha$ ) supprime l'expression de HIF-1 $\alpha$ .

Cependant, pour ce qui est de la modulation d'expression du facteur HIF-1 $\alpha$ , les avis divergent. En effet, le rôle de l'IDH<sup>mut</sup> et du 2-HG sur la stabilisation de HIF-1 $\alpha$  est dépendante du type cellulaire, tissulaire et de l'environnement tumoral.

Le métabolisme de la glutamine semble être très important pour les tumeurs IDH<sup>mut</sup>. En effet, les gliomes IDH1<sup>mut</sup> surexpriment les glutamate dehydrogenases 1 et 2 et montrent une augmentation de la dépendance à la glutamine. Ceci a été notamment démontré par une plus forte sensibilité des cellules IDH1<sup>mut</sup> aux inhibiteurs de glutaminase en comparaison aux cellules IDH1<sup>WT</sup>.

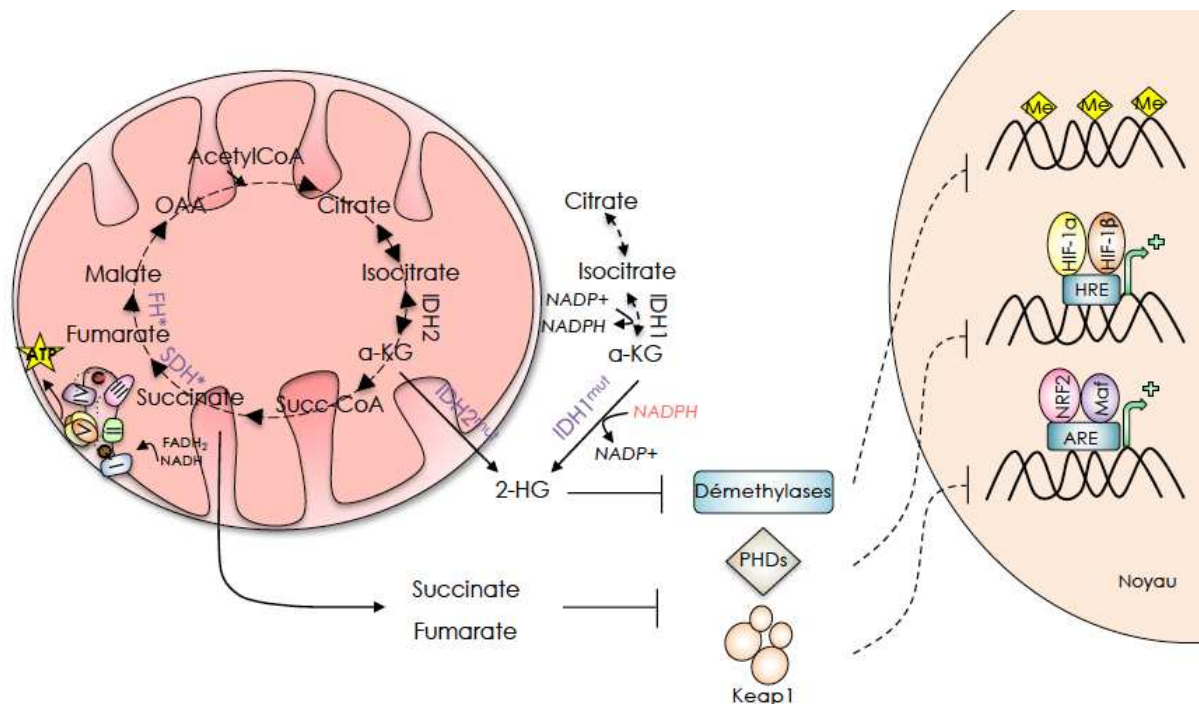
La mutation d'IDH empêche la carboxylation reductive et donc les réactions anapérotriques induites par la glutamine, ce qui pousse les cellules IDH<sup>mut</sup> à utiliser et à dépendre de la glutamine pour faire fonctionner le cycle de Krebs. Par ailleurs, il a été mis en évidence que cette dépendance à l'OxPHOS est d'autant plus forte en condition hypoxique ce qui les rend plus vulnérables aux inhibiteurs de la CRM (Grassian AR et al., 2014).

L'équipe de Ronen a mis en évidence que les gliomes IDH1<sup>R132H</sup> peuvent compenser ce manque de réactions anapérotriques via la surexpression de la Pyruvate carboxylase (PC) (Izquierdo-Garcia JL et al., 2014). De plus, des études ont démontré que les gliomes peuvent directement importer leur glutamate qui peut être transformé par la GDH en  $\alpha$ -KG (Van Lith SAM et al., 2016). Par ailleurs, chez des patients atteints d'oligodendrogliome muté IDH1<sup>R132H</sup> ont été découverts des taux normaux en  $\alpha$ -KG. Cette  $\alpha$ -KG peut alimenter les réactions anapérotriques.

Alors que l'IDH<sup>WT</sup> permet la production de NADPH, l'IDH<sup>mut</sup> consomme du NADPH pour produire le 2-HG ce qui a pour conséquence une diminution du pool de NADPH et une augmentation de la production de ROS. Il a été démontré que la production de ROS induite par la mutation de l'IDH2 permet d'augmenter les mutations mitochondriales et d'induire des dysfonctions mitochondriales (Parker SJ et al., 2016). Cette production de ROS rend ces cellules plus sensibles aux agents prooxydants.

En dépit de leurs effets épigénétiques, métaboliques et redox, l'expression des enzymes IDH mutées ne suffit pas pour induire la transformation cancéreuse. Par exemple, la mutation de l'IDH2 ne cause pas de transformation leucémique directe chez la souris. Cependant, il semblerait que d'autres mutations soient nécessaires pour induire la leucémogénèse comme par exemple, la coopération NRAS<sup>G12V</sup> + IDH2<sup>R140Q</sup> dans la

leucémie aigüe ou la coopération FLT3/ITD + IDH2<sup>R140Q</sup> dans les LAL et les LAM (Garrett Bakelman PE et al., 2016).



**Figure 21: Mutations des gènes encodant des enzymes du cycle de Krebs.** Certaines cellules cancéreuses possèdent un cycle de Krebs tronqué suite à la mutation de certaines enzymes du cycle de Krebs. Ces mutations donnent des oncométabolites comme le 2-hydroxygutarate (2-HG), suite aux mutations des IDH1 et IDH2 ainsi qu’une accumulation de succinate et fumarate due à l’inactivation de la SDH et FH, respectivement. Ces mutations induisent des changements épigénétiques, métaboliques et redox.

#### *La succinate dehydrogenase (SDH) et la fumarate hydratase (FH) :*

La succinate dehydrogenase (SDH) est une enzyme mitochondriale tétramérique possédant 4 sous unités (SDH-A, SDH-B, SDH-C et SDH- D) qui participe à la fois au fonctionnement du cycle de Krebs au travers l’oxydation du succinate en fumarate mais également à la CRM en utilisant les électrons générés par le FADH<sub>2</sub> pour réduire l’ubiquinone en ubiquinol. La mutation de la SDH a été tout d’abord découverte dans le paragangliome/pheochromocytome héréditaire (HPGL/PCC) puis retrouvée dans d’autres cancers tels que celui de la thyroïde, le neuroblastome et le cancer ovarien (Laurenti G et al., 2016). Cette mutation aboutie à une perte de fonction de l’enzyme conduisant à la fois à l’accumulation de succinate mais également à une diminution du fumarate et du malate produit.

La fumarate hydratase est une enzyme mitochondriale et cytosolique permettant l'hydratation du fumarate en malate. Des mutations dans le gène encodant son expression sont dues à une perte de fonction ayant pour conséquence l'accumulation de fumarate. Elles ont été découvertes dans les cancers rénaux agressifs et depuis retrouvées dans les cancers de la vessie, du sein ou du testicule.

Ces mutations ont à la fois des repercussions épigénétiques au travers l'inhibition des demethylases de l'ADN mais ont essentiellement des conséquences métaboliques.

La perte de l'activité SDH et FH est associée à un état de pseudohypoxie due à la stabilisation du facteur HIF-1 $\alpha$  en normoxie via l'accumulation de succinate et du fumarate. Par exemple, en ce qui concerne la déficience en SDH, deux hypothèses ont été émises pour expliquer cet effet. Tout d'abord, la déficience en SDH permet d'augmenter la production de ROS qui peuvent inhiber les PHDs. Cependant, des études ont démontré que HIF-1 $\alpha$  peut également être induit lors de l'exposition à un traitement antioxydant (Selak MA et al., 2006). D'où cette deuxième hypothèse qui consiste à dire que le succinate peut agir comme messager secondaire et inhiber les PDHs directement (MacKenzie ED et al., 2007). En plus d'induire cet état pseudohypoxique, les tumeurs déficientes en SDH et FH ont un remodelage métabolique. La déficience en SDH dans le cancer ovarien et la déficience en FH dans le carcinome rénal permettent d'augmenter l'utilisation des intermédiaires du glucose pour produire notamment des acides nucléiques au travers de la voie PPP.

Les cellules déficientes en SDH vont également compter sur les réactions anaplastiques pour survivre. En effet, les cellules de carcinome rénal déficientes en SDH-B augmentent leur dépendance pour la glutamine qui sera utilisée pour donner du citrate contribuant ainsi à la lipogénèse (Saxena N et al., 2016). Afin de préserver la production d'acides aminés comme l'aspartate, les cellules de paragangliome déficientes en SDH-B vont quant à elles augmenter leur dépendance à la pyruvate carboxylase (Lussey - Lepoutre C et al., 2015).

L'état redox peut également être impacté par lors de déficiences de SDH et FH. Les tumeurs déficientes en SDH et en FH présentent une augmentation de la production de ROS. De plus, il a été démontré que les tumeurs déficientes en FH présentent une altération du système de glutathion. En effet, l'accumulation du fumarate induit la production de succinic-glutathion (GSF) qui agit comme un substrat alternatif de la glutathion reductase. Ceci a pour conséquence de diminuer le pool de NADPH et de GSH

et d'augmenter les ROS (Sullivan LB et al., 2013). En plus d'agir sur le glutathion, il a été démontré que l'inactivation de la FH et de la SDH permet d'inhiber Keap1 et d'induire l'expression de NRF2 (Laurenti G et al., 2016), facteur important pour le maintien de l'homéostasie redox (Figure 21).

### 2.3.2. L'environnement cellulaire :

Les cellules cancéreuses vivent dans un environnement particulier caractérisé par une fluctuation du niveau d'oxygène et un apport variable en nutriments. Cette fluctuation est souvent induit par un défaut d'angiogenèse et va conditionner leur métabolisme.

- **Utilisation de substrats carbonés :**

Les cellules cancéreuses augmentent généralement leur captation en glucose qui sera métabolisé en pyruvate puis transformé en lactate. En plus du glucose, il a été démontré que les cellules cancéreuses peuvent métaboliser d'autres substrats. En effet, certains types de cancer du sein sont dépendants de la glutamine pour leur survie. De plus, certaines cellules leucémiques et tumeurs du poumon utilisent les acides gras comme source d'énergie additionnelle ou alternative. Alors que le glucose est métabolisé au travers la glycolyse, les acides gras et la glutamine sont métabolisés au travers la mitochondrie (Cantor JR et al., 2012).

Une des caractéristiques importantes du métabolisme énergétique est sa très grande flexibilité. En effet, dans des cellules Hela privées en glucose, les cellules vont adapter leur métabolisme en utilisant la glutamine au travers la mitochondrie afin de survivre (José C et al., 2011). L'inhibition de la glutaminase, dans des cellules de gliome dépendante de la glutamine se traduit par un mécanisme compensatoire. En effet, les cellules peuvent utiliser la carboxylation du pyruvate provenant du glucose pour générer de l'oxaloacétate (OAA) grâce à la pyruvate carboxylase et ainsi maintenir la fonction mitochondriale (Cheng T et al., 2011). Par ailleurs le lactate, produit de dégradation issu de la glycolyse peut également être un substrat pour la cellule tumorale. En effet, les cellules tumorales peuvent utiliser le lactate présent dans l'environnement péri-tumoral pour produire du pyruvate et faire fonctionner la mitochondrie (Nakajima EC et al., 2013).

En outre, dans les cellules de mélanome, la privation en glucose induit une très forte dépendance à l'acétate pour la croissance tumorale. L'acétate est un substrat carboné qui va être converti par les AcetylCoASynthetases (ASCC) présentes au niveau mitochondrial (ASCC1) et cytoplasmique/nucléaire (ASCC2) en AcetylCoA qui pourra alors entrer et faire fonctionner la mitochondrie. L'inhibition de ASCC1 et ASCC2 dans les cellules permet une diminution de la croissance tumorale de xénogreffe de mélanome (Lakhter AJ et al., 2016).

- **Hypoxie :**

L'environnement des cellules cancéreuses est souvent caractérisé comme étant hypoxique. Cette hypoxie induit des modifications métaboliques au sein des tumeurs leur permettant de s'adapter à cet environnement hostile et de proliférer. Cependant de nombreuses études démontrent qu'il existe une hétérogénéité au sein même d'une tumeur. En effet, les tumeurs du cerveau comme le gliome possèdent à la fois des zones hypoxiques et des zones oxygénées. Le profiling transcriptionnel a mis en évidence que ces zones distinctes possèdent également des types cellulaires phénotypiquement différents. En effet, les zones oxygénées sont caractérisées par la présence de cellules cancéreuses prolifératives possédant des caractéristiques invasives et migratoires ; alors que les zones hypoxiques sont caractérisées par la présence de cellules cancéreuses non prolifératives qui ont des caractéristiques similaires aux cellules souches (Endaya BB et al., 2016). Cet exemple illustre parfaitement l'hétérogénéité intra tumorale et l'impact de l'hypoxie sur les populations de cellules cancéreuses.

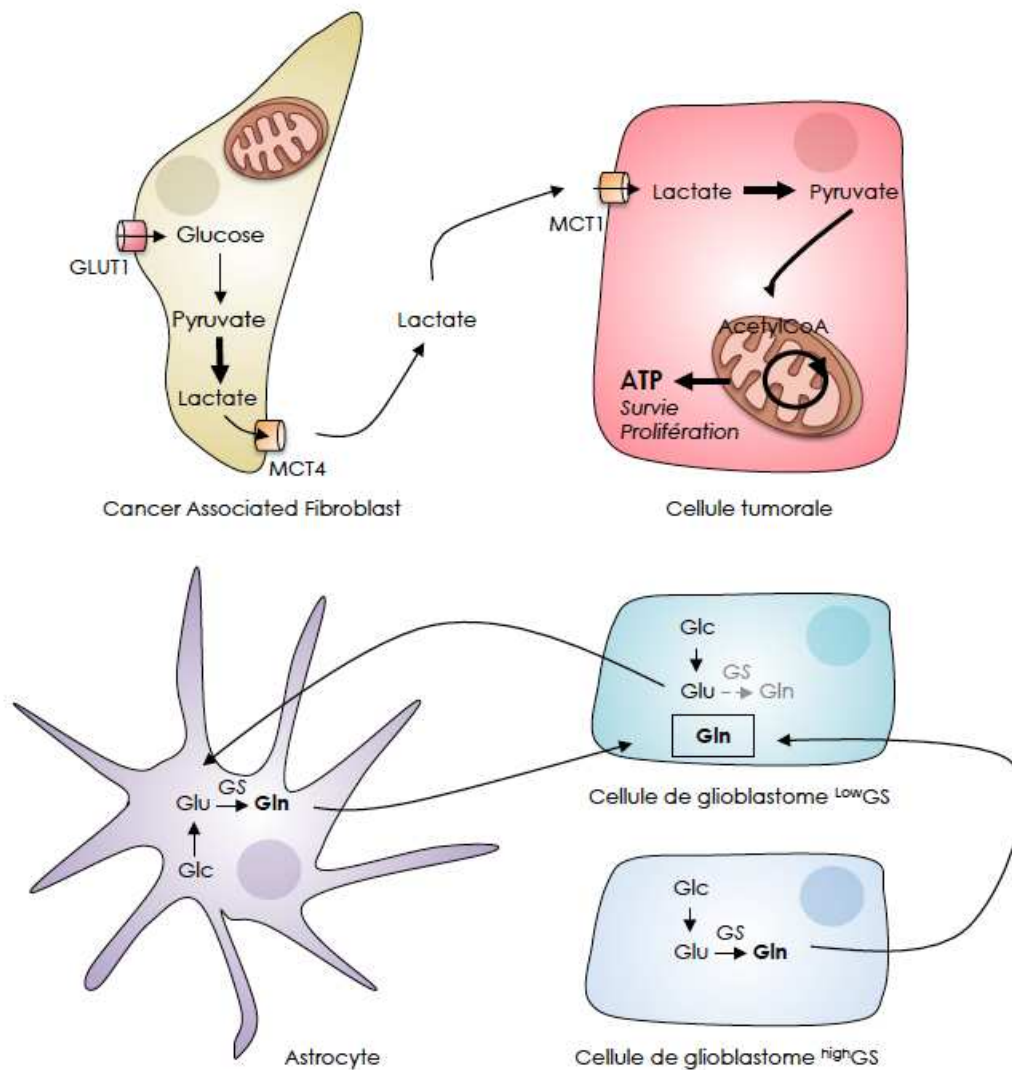
Il a été également démontré que cette hétérogénéité au sein même des tumeurs contribue au développement tumoral. En effet, les cellules tumorales des zones hypoxiques et des zones oxygénées peuvent coopérer afin de permettre la progression du cancer. Les zones hypoxiques sont caractérisées par un métabolisme glycolytique alors que les zones oxygénées sont caractérisées par un métabolisme mitochondrial. Il a été démontré que les cellules cancéreuses des zones hypoxiques peuvent sécréter du lactate qui sera utilisé par les cellules cancéreuses oxygénées au travers l'OxPHOS permettant ainsi la progression tumorale (Nakajima EC et al., 2013).

- **Coopération des cellules tumorales avec les cellules environnantes :**

Le stroma tumoral peut fournir des substrats carbonés aux cellules cancéreuses. En effet, les fibroblastes (CAF : Cancer Associated Fibroblasts) peuvent fournir du lactate aux cellules cancéreuses. Ce lactate est excrété par MCT4 présent sur le fibroblaste et capté par la cellule tumorale qui exprime MCT1. Le lactate va être converti en pyruvate puis utilisé par la mitochondrie (Nakajima EC et al., 2013).

Autre exemple, dans le glioblastome, cancer du cerveau caractérisé comme « addict » à la glutamine, les astrocytes environnants sont capables de fournir de la glutamine aux cellules de gliomes lors de condition de privation en glutamine. Pour cela, elles vont utiliser le glutamate sécrété par les cellules environnantes dans le but de néosynthétiser la glutamine, nécessaire à la survie des cellules de glioblastome dépourvues de glutamine synthase (Tardito S et al., 2015) (Figure 22).





**Figure 22 : Coopération des cellules cancéreuses avec leur environnement.**

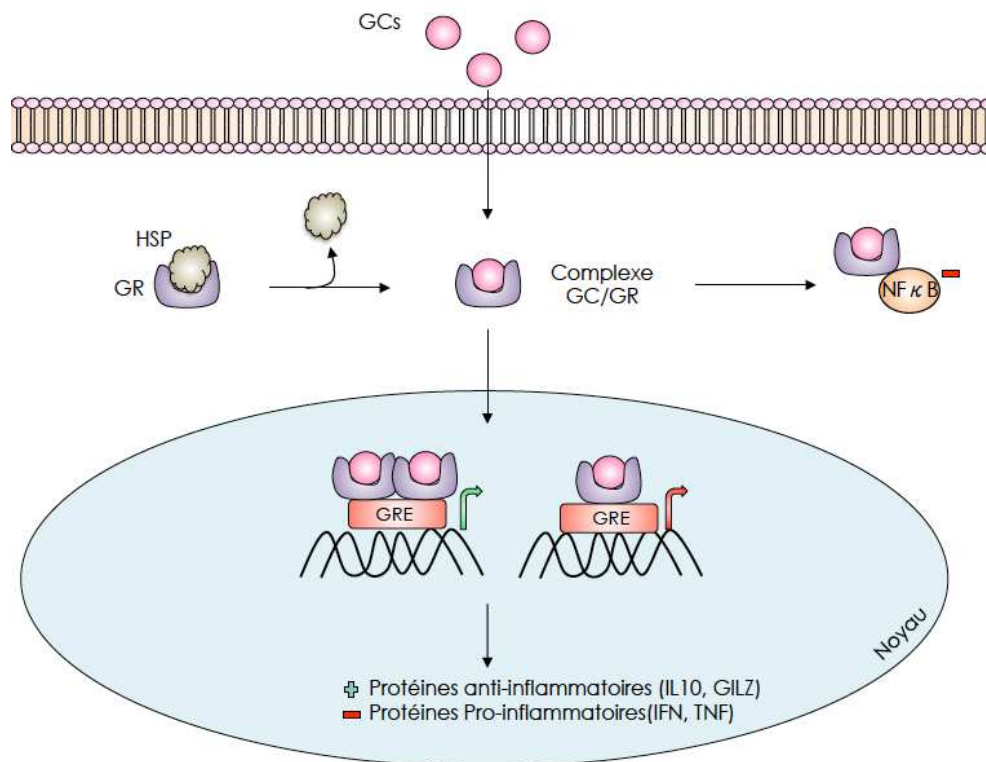
Les cellules du stroma comme les CAFs peuvent fournir des substrats carbonés comme le lactate, aux cellules cancéreuses. Cette coopération se fait via l'expression du MCT4 sur le fibroblaste, qui permet le relargage de lactate et l'expression du MCT1 sur la cellule tumorale qui permet sa captation. Dans la cellule tumorale, le lactate capté est transformé en pyruvate et utilisé au travers le cycle de krebs. Les astrocytes présents dans l'environnement péri-tumoral du GBM peuvent coopérer avec les cellules de GBM ayant une faible activité glutamine synthase (GBM<sup>LowGS</sup>) pour fournir de la glutamine nécessaire à leur survie.

- **Glucocorticoïdes :**

Les glucocorticoïdes (GCs) sont des stéroïdes naturels (Cortisone et hydrocortisone) connus pour être de puissants régulateurs endogènes du contrôle de l'immunité et de la réponse anti-inflammatoire. Leur action nécessite leur liaison à des récepteurs spécifiques (GR pour glucocorticoid receptor) de la famille des récepteurs nucléaires. Ils

résident dans le cytoplasme sous forme de complexe multiprotéique. Le mécanisme d'action des GC se fait au travers la fixation du ligand (GC) au GR. Suite à ça, le dimère GC-GR peut soit migrer dans le noyau pour transactiver ou réprimer de nombreux gènes au travers la fixation du dimère à une séquence GRE (Glucocorticoïde Response Element) située sur l'ADN ; ou interagir avec des protéines cytoplasmiques ou membranaires (Figure 23).

Les GC sont connus pour leurs effets pléiotropes et notamment pour leur effet sur le métabolisme. Il a notamment été démontré dans l'hépatocarcinome, que la dexaméthasone permet une augmentation de la fonction mitochondriale se traduisant par une augmentation de la consommation d'oxygène des cellules ainsi qu'une plus forte production d'ATP et de ROS. (Hernandez Alvarez M, 2013).

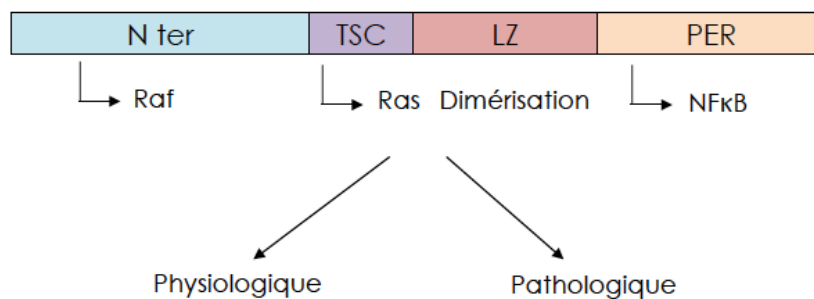


**Figure 23 : Mécanisme d'action des glucocorticoïdes.**

Le mécanisme d'action des GC se fait au travers leur fixation à un récepteur au GC (GR) dans le cytosol. Suite à ça, le dimère GC-GR peut soit interagir avec des protéines cytoplasmiques ou membranaires ou alors migrer dans le noyau pour transactiver ou réprimer de nombreux gènes au travers la fixation du dimère à une séquence GRE (Glucocorticoïde Response Element) située sur l'ADN.

Les glucocorticoïdes sont connus pour induire l'expression de gènes codant pour des protéines comme la protéine **GILZ (Glucocorticoid Induced Leucine Zipper)** qui

possède au sein de son promoteur 6 séquences GRE putatives permettant son expression. La protéine GILZ a été identifiée pour la 1<sup>ère</sup> fois dans le thymus et depuis localisée dans de nombreux tissus humains et murins. Elle se compose d'un domaine N terminal, d'une TSC-Box (Tuberous Sclerosis Complex), d'un domaine Leucine Zipper permettant l'homodimérisation ou l'hétérodimérisation de partenaires protéiques et d'un domaine PER (Proline- Glutamic acid rich Region). Cette structure lui permet d'interagir avec de nombreuses voies de signalisation dont les voies de signalisation impliquées dans le cancer (Beaulieu E et al, 2011) (Figure 24).



**Figure 24: Structure de GILZ.**

La protéine GILZ est composée d'un domaine N terminal, d'une TSC-Box (Tuberous Sclerosis Complex), d'un domaine Leucine Zipper permettant l'homodimérisation ou l'hétérodimérisation de partenaires protéiques et d'un domaine PER (Proline- Glutamic acid rich Region). Cette structure lui permet d'interagir avec de nombreuses voies de signalisation ayant un rôle à la fois physiologique et pathologique.

#### *Rôle de GILZ dans l'immunité :*

La protéine GILZ a un rôle essentiel dans l'immunomodulation (Ayroldi E et al, 2009). En effet, il a été démontré d'une part, que GILZ module l'immunité innée en diminuant le recrutement et l'activation des cellules immunitaires, en diminuant la sécrétion de molécules inflammatoires (TNF $\alpha$ , RANTES) dans les macrophages stimulés par LPS ; d'autre part que GILZ module l'immunité adaptative en diminuant la fonction présentatrice d'antigène des cellules dendritiques (diminution des molécules costimulatrices, diminution expression CMH-II) et en diminuant l'activation des cellules T (Répression de la voie MAPK au travers l'inhibition de Raf) (Ayroldi E et al. 2002).

En plus de réduire l'activation des acteurs des réponses immunitaires innées et adaptatives, il a été démontré que GILZ permet une diminution des sécrétions de cytokines et des molécules proinflammatoires. En effet, GILZ a la capacité de lier et

réprimer l'activité transcriptionnelle de nombreuses protéines comme NFκB dans les lymphocytes T, les macrophages et les cellules épithéliales ; ainsi que l'activité de AP1 dans des cellules Jurkat (Berrebi D et al, 2003) (Godot et al, 2006).

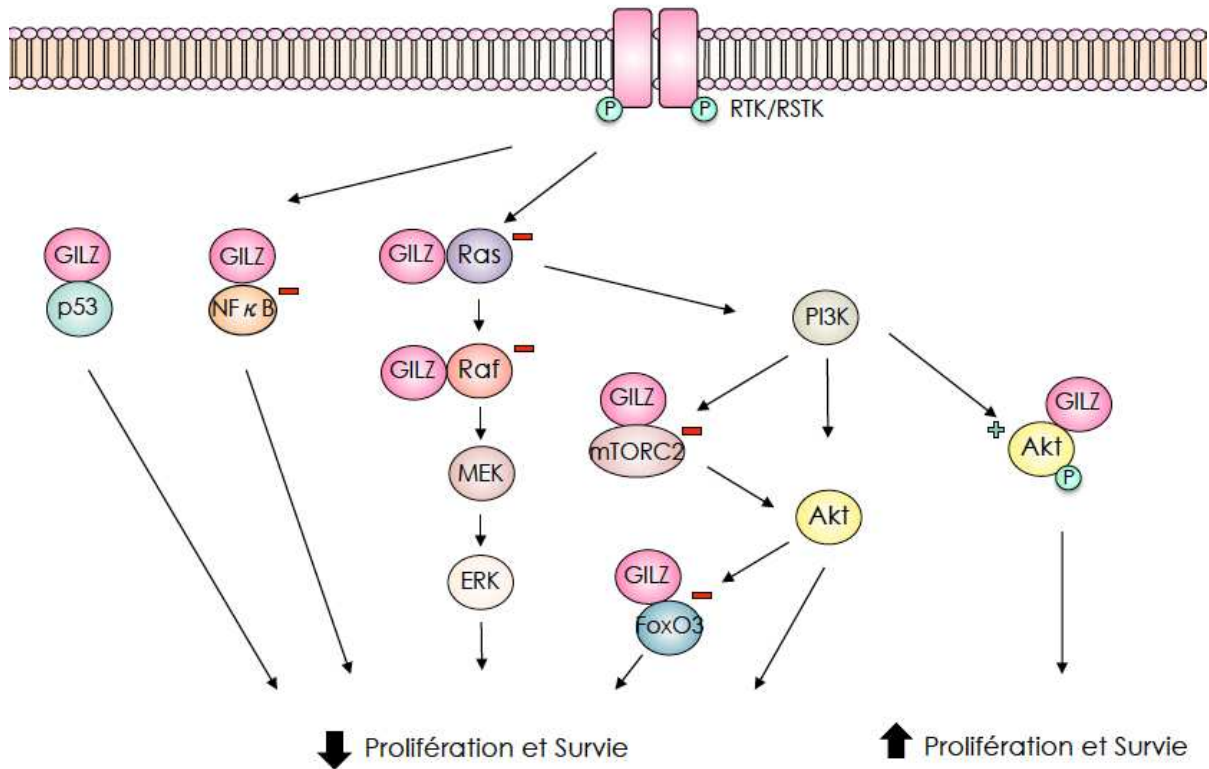
*Rôle de GILZ dans les voies de signalisation impliquées dans le cancer :*

Outre son rôle dans la réponse immunitaire, il a été démontré que GILZ pouvait interagir avec les voies de signalisation cellulaire impliquées dans la tumorigenèse (Figure 25).

GILZ peut interagir avec les protéines Ras et Raf de la voie MAPK de plusieurs façons. En effet, il a été observé la formation de dimère Ras/GILZ et Raf/GILZ ou encore la formation d'un complexe Ras/GILZ/Raf. Cette association avec Ras ou Raf va mener à des effets antiprolifératifs et antitumoraux dans les cellules T activées et dans les cellules de rate transformées par Ras (Ras - transformed cells) (Ayroldi E et al. 2014).

GILZ peut également moduler la voie PI3K/AKT. Il a été démontré que GILZ est capable d'inhiber la voie PI3K/AKT en liant FoxO3 dans les cellules leucémique HL-60, facteur influençant la prolifération cellulaire (Latré de Laté P, 2010). Dans la LMC, GILZ est capable de lier mTORC2 et d'inhiber la phosphorylation d'AKT permettant ainsi l'apoptose des cellules leucémiques (Joha S et al. 2012). En plus d'interagir avec les voies de signalisation responsables de la prolifération cellulaire ; il a été observé dans les cellules de carcinome colorectal qu'une forme longue de GILZ appelée L-GILZ est capable d'interagir avec p53 afin de supprimer la croissance tumorale (Ayroldi E et al. 2014).

De nombreuses études portent sur les effets antiprolifératifs de GILZ. Cependant, il semblerait que la liaison de GILZ aux effecteurs des voies de signalisation soit complexe. En effet, il a été démontré que l'inhibition de la voie MAPK par GILZ pouvait également induire des effets inverses dans d'autres pathologies que les cancers comme l'inhibition des mécanismes de réparation des cellules épithéliales chez les patients asthmatiques. De plus, dans le cancer de l'ovaire, il a été démontré que GILZ est capable d'augmenter l'expression et l'activité d'AKT pour favoriser la progression tumorale (Ayroldi E et al. 2014).



**Figure 25: Rôle de GILZ dans les voies de signalisation impliquées dans le cancer.**

De nombreuses études ont démontré que GILZ peut lier les effecteurs de voies de signalisation comme les protéines NFκB, Ras, Raf, mTORC2 et FoxO3 dans le but de limiter la prolifération et la survie des cellules cancéreuses. Cependant le rôle de GILZ est plus complexe, car il peut également permettre l'effet inverse en agissant sur les mêmes voies de signalisation.

# PARTIE 2 : CIBLAGE MITOCHONDRIAL DANS LE CANCER

## 1. Le métabolisme mitochondrial, une cible attractive

### 1.1. La mitochondrie : source de stress oxydant

#### 1.1.1. La production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et les systèmes de détoxifications

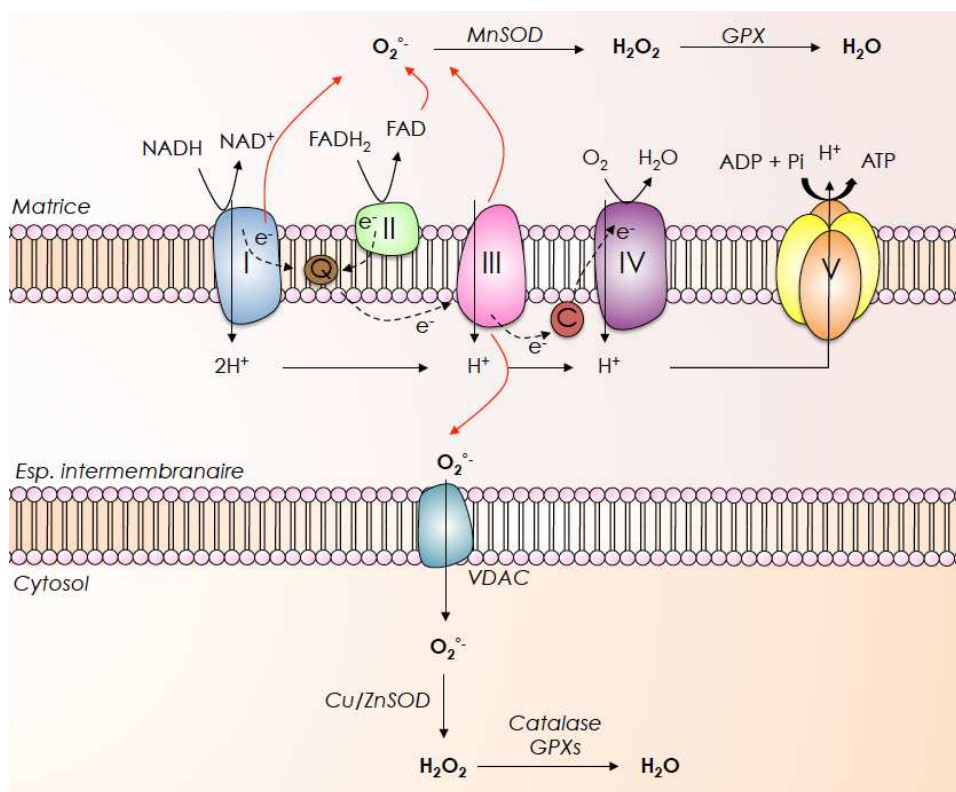
##### 1.1.1.1. Maintien de l'homéostasie redox en condition physiologique :

La régulation de l'homéostasie redox est fondamentale pour maintenir les fonctions cellulaires normales et permettre la survie cellulaire. Cette homéostasie dépend d'une balance entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et leur élimination. Les ROS sont définies comme des espèces chimiques contenant de l'oxygène et possédant des propriétés réactives. On distingue les espèces radicalaires comme l'anion superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ ) et le radical hydroxyl ( $OH^{\cdot}$ ), des espèces non radicalaires telles que le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) et l'acide hypochlorique. Il existe de nombreuses sources de production de ROS au niveau cytosolique telles que les NADPH Oxydases (NOX), les cyclooxygénases (COX) ou les lipoxygénases (LOX), mais la grande majorité des ROS est d'origine mitochondriale (Panieri E et al., 2016).

Plusieurs sources de production de ROS mitochondriaux existent, mais la source principale reste la CRM également appelée chaîne de transport des électrons (ETC) (Figure 26). L'activité respiratoire de la CRM génère un flux d'électrons pouvant s'échapper et réagir avec l'oxygène présent pour produire des ROS sous forme d'anion superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ ). On estime qu'environ 1 à 2% de l'oxygène consommé par la mitochondrie est incomplètement réduit, générant des ROS. Ces ROS peuvent être relargués dans la matrice mitochondriale, c'est notamment le cas pour l' $O_2^{\cdot-}$  généré par les complexes I, II et III de la CRM ; mais peuvent être également libérés dans l'EIMM, ceci concerne uniquement l' $O_2^{\cdot-}$  issu de l'activité du complexe III.

Dans les cancers du sein ou du colon, des études ont mis en évidence que l'inhibition physiologique de l'ATP synthase par l'IF1 (ATPase inhibitory factor-1) se traduit par une hyperpolarisation mitochondriale associée à la production de ROS. Cependant, ce phénomène reste peu décrit.

Dans les mitochondries des cellules du cerveau, les ROS sont majoritairement issues de l'activité de la Monoamine Oxidase (MAO). La MAO est une flavoprotéine localisée sur la MOM qui catalyse la déamination oxydative des neurotransmetteurs et des monoamines (Martinez-Reyes I et al., 2014). D'autres sources de production de ROS mitochondriaux ont également été identifiées. En effet, il semblerait que la PDH et la OGDH (2-oxoglutarate dehydrogenase), enzymes présentes dans la matrice mitochondriale produirait de  $O_2^{\circ-}$ ; ainsi que les enzymes GPDH (glycerol-3-phosphate dehydrogenase) et la FQR (flavoprotein ubiquinone oxidoreductase) présentent sur la MIM (Holmström KM et al., 2014).



**Figure 26: Production et détoxification des ROS produits au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale (CRM).**

Les ROS mitochondriaux sont majoritairement produits au niveau de la CRM. Ils peuvent être produits dans la matrice mitochondriale (CI, CII et CIII) et dans l'espace intermembranaire mitochondrial (CIII uniquement). Afin de conserver une homéostasie redox, des systèmes de détoxification cellulaire existent. L'anion superoxyde ( $O_2^{\circ-}$ ) produit peut-être détoxifié dans la matrice via la MnSOD (ou SOD2) en peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) qui peut soit diffuser à travers les membranes pour être détoxifié dans le cytosol, soit être pris en charge par une glutathion peroxydase (GPX) dans la matrice. L' $O_2^{\circ-}$  produit dans l'EIM peut rejoindre le cytosol via le VDAC et être pris en charge par la Cu/ZnSOD (ou SOD1) pour être converti en  $H_2O_2$  lui-même dégradé par divers système de détoxification (catalase, GPXs, ...) en  $H_2O$ .



Les ROS mitochondriaux peuvent orienter la cellule vers la survie cellulaire ou la mort cellulaire via l'apoptose en fonction de la quantité produite. Afin d'éviter des effets nocifs, les cellules ont par conséquent développé des systèmes de détoxification.

L'anion superoxyde produit dans la matrice mitochondriale va être transformé en  $H_2O_2$  par la Superoxyde dimutase 2 (MnSOD ou SOD2). L' $H_2O_2$  produit peut diffuser à travers les membranes pour être réduit en  $H_2O$  par les catalases ou les Glutathion-péroxydases (GPXs) cytosoliques, ou peut être directement pris en charge par les GPXs mitochondriales. L' $O^{2\ominus}$  généré dans l'EIMM peut quant à lui rejoindre le cytosol via le VDAC ou peut être transformé en  $H_2O_2$  par la SOD1 (CuZnSOD). L' $H_2O_2$  diffusera vers le cytosol où différents systèmes de détoxification comme la catalase, les thioredoxines (TRDX) ou les peroxyredoxines (PRDX) le transformeront en  $H_2O$  (Figure 26).

#### 1.1.1.2. Le stress oxydant des cellules tumorales

- **Les cellules cancéreuses ont une production de ROS exacerbée :**

Les cellules cancéreuses présentent une quantité élevée et persistante de ROS. Ces ROS sont produits en conséquence d'altérations génétiques, métaboliques et environnementales et contribuent à la tumorigenèse en induisant notamment une instabilité génique, en activant la réponse inflammatoire et en reprogrammant le métabolisme énergétique. Les sources de ROS dans les cellules cancéreuses sont identiques à celles rencontrées en condition physiologique. Cependant dans le but de proliférer rapidement, les cellules tumorales vont acquérir des modifications génétiques et épigénétiques qui vont leur permettre d'augmenter leur production de ROS.

Parmi ces stratégies, il a été démontré que la pression oncogénique contribue à la production de ROS. Dans un modèle de leucémie, l'expression inductible de Bcr-Abl induit une élévation du niveau de ROS intracellulaire via la surexpression de NOX4 (Naughton R et al., 2009). Ces ROS favorisent l'activation de la voie PI3K/Akt et la survie des cellules leucémiques. L'oncogène KRAS<sup>G12V</sup> augmente également la production de ROS dans les cellules cancéreuses pancréatiques au travers l'induction des voies de signalisation NFκB/MAPK. Ces voies induisent la transcription de miR 155 qui inhibe l'expression des enzymes antioxydantes SOD2 et catalase, provoquant ainsi l'accumulation de ROS et la survie de ces dernières (Wang O et al., 2015). Une autre étude a mis en évidence que l'oncogène Myc permet l'augmentation de la production de



ROS responsable de dommages à l'ADN simple brin. Cette instabilité génétique contribue à la progression tumorale (Vafa O et al., 2002).

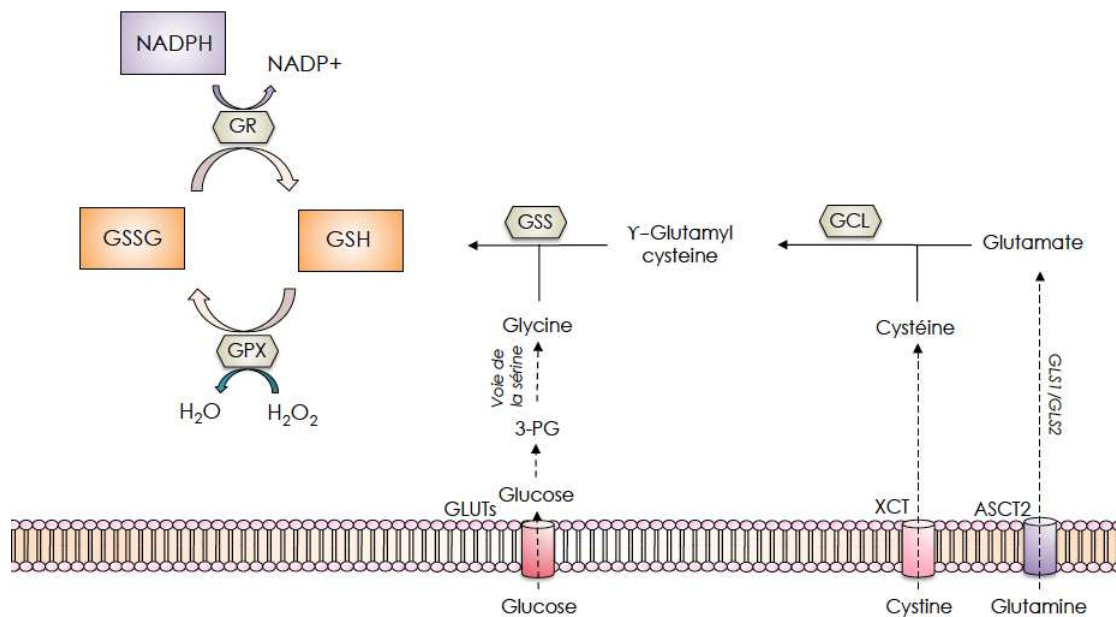
D'autres facteurs contribuent à l'augmentation de production des ROS dans les cellules cancéreuses. Par exemple, les altérations de l'ADN mitochondrial peuvent perturber la synthèse et la fonction des complexes de la CRM conduisant à la production de ROS. Dans le paragangliome et le phéochromocytome, il a été démontré que des mutations du complexe II (SDH) favorisent la production de ROS (Yang Y et al., 2016). Dans le cancer rénal, la production de ROS est exacerbée par la mutation germinale de la Fumarase hydratase (FH) qui, en bloquant le cycle de krebs, induit l'accumulation des intermédiaires métaboliques et donc favorise la production de ROS (Marston Linehan W et al., 2013). Cette augmentation de ROS induite par des mutations de l'ADN mitochondrial favorise le développement des cancers.

L'environnement tumoral contribue également à la production exacerbée de ROS. En effet, les cellules tumorales vivent dans des zones hypoxiques et surexpriment souvent le facteur de transcription HIF-1 $\alpha$ . Il a été démontré que l'hypoxie favorise la production de ROS notamment ceux produits au niveau du complexe III de la CRM. Ces ROS ont également été démontrés comme étant cruciaux pour la stabilisation de HIF-1 $\alpha$  (Hamanaka RB et al., 2009). Les cellules environnantes comme les CAFs et les CAMs (Cancer-associated macrophage) peuvent également produire des ROS qui vont contribuer à la colonisation des cellules cancéreuses métastatiques (Parri M et al., 2013).

- **Régulation du stress oxydant dans les cellules tumorales**

En plus de supporter la prolifération et la survie des cellules tumorales, la reprogrammation du métabolisme énergétique permet aux cellules cancéreuses d'augmenter leurs défenses antioxydantes, les protégeant ainsi d'un stress oxydatif létal. Par exemple, les cellules leucémiques et colorectales surexpriment différentes enzymes antioxydantes telles que les SODs et les GPXs (Brigelius-Flohé R et al., 2009). La catalase est retrouvée surexprimée dans les lignées cancéreuses de sein MDA-MB-231 (Hecht F et al., 2016). La surexpression de la PRDX6 induit quant à elle la progression tumorale dans les cancers du poumon (Yun YM et al., 2014).

Au travers la glycolyse, l'oxydation des acides gras et l'utilisation de la glutamine, les cellules cancéreuses vont également générer du glutathion, antioxydant principal de la cellule. Le glutathion est un tripeptide composé de glutamine, de glycine et de cystéine dont la synthèse est essentiellement cytosolique (90%). Il peut se présenter sous forme de monomère GSH (glutathion réduit) et de dimère GSSG (glutathion oxydé de part ses résidus cystéine). Le GSH est important pour le maintien de l'homéostasie redox. En effet, le glutathion sert de cofacteur à plusieurs enzymes antioxydantes telles que la glutathion peroxydase (GPX) et permet la détoxification des radicaux libres et du peroxyde qui s'accumulent conduisant à la formation de GSSG. L'intervention de la glutathion reductase (réduisant le GSSG en 2GSH) est nécessaire pour maintenir le pool GSH/GSSG qui contrôle le niveau de ROS intracellulaire et dépend fortement du NADPH (Gorrini C et al., 2013) (Figure 27). Il a été démontré que ce système de détoxification est sur-régulé dans différents types de tumeurs. En effet, les tissus tumoraux possèderaient 4 fois plus de GSH que les tissus normaux.



**Figure 27 : Biosynthèse du glutathion.**

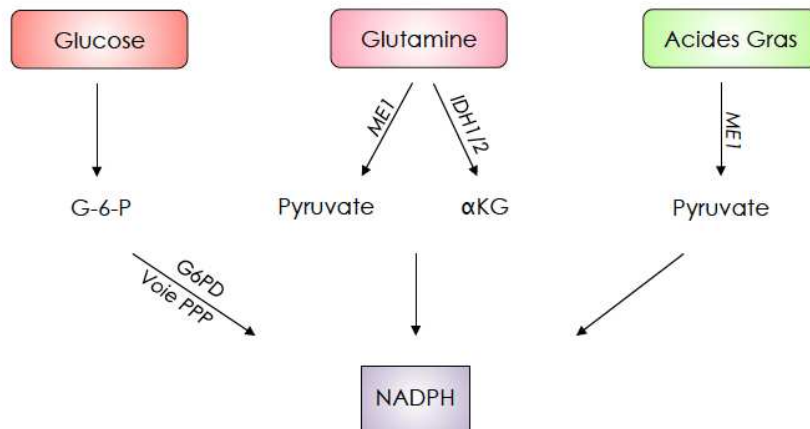
Le glutathion est un tripeptide composé de glutamate, cystéine et glycine. Le glutamate dérivé de la glutamine et la cystéine dérivée de la cystéine sont liés via la Glutamate-Cystéine Ligase (GCL) pour former la Y-Glutamyl cystéine. La glutathion synthase (GSS) incorpore ensuite la glycine dérivée du glucose (voie de la sérine partit du 3-PG) pour former le glutathion (GSH). Lors d'un stress oxydant, le glutathion va servir de cofacteur notamment pour la Glutathion Peroxydase (GPX) permettant la détoxification du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Ceci va induire la formation de glutathion oxydé (GSSG). Pour retourner à l'état réduit (GSH), le glutathion reductase (GSR) va se servir du NADPH comme cofacteur.

Le NADPH est un cofacteur essentiel pour la régénération du GSH. Ce cofacteur est produit par les cellules cancéreuses au travers des voies métaboliques.

Lors de la glycolyse, le glucose peut donner des intermédiaires tels que le G-6-P pouvant bifurquer vers la voie des pentoses phosphates grâce à la G6PD ou le 3-PG empruntant la voie de la sérine grâce à la PHGDH. Ces 2 intermédiaires vont donner respectivement du NADPH et de la glycine, permettant la génération du GSH (Parri M et al., 2013).

La mitochondrie participe également activement à la production de NADPH et de GSH, notamment au travers l'utilisation des acides gras et de la glutamine. En effet, la  $\beta$ -oxydation des acides gras fournit du malate qui sera converti en pyruvate par l'enzyme malique (ME1), produisant du NADPH.

La glutamine est un précurseur important de la synthèse de GSH. En effet, grâce à la glutaminase (GLS), la glutamine est convertie en glutamate qui va pouvoir être lié avec la cystéine via la Glutamate-cystéine ligase (GCL) donnant de la  $\gamma$ -glutamyl-cystéine puis la glutathion synthase (GSS) incorpore la glycine donnant ainsi du GSH. La glutamine permet également la production de NADPH. En effet, lors de la glutaminolyse, le malate produit peut-être exporté dans le cytosol pour donner du pyruvate mais également du NADPH (Panieri E et al., 2016). De plus, il a été démontré que l'isocitrate et les citrates réduits dans le cytosol peuvent entrer dans la mitochondrie pour être transformés en  $\alpha$ -kétoglutarate via l'IDH2 générant ainsi du NADPH (Jiang L et al., 2016) (Figure 28).



**Figure 28 : Régénération du NADPH par les intermédiaires métaboliques.**

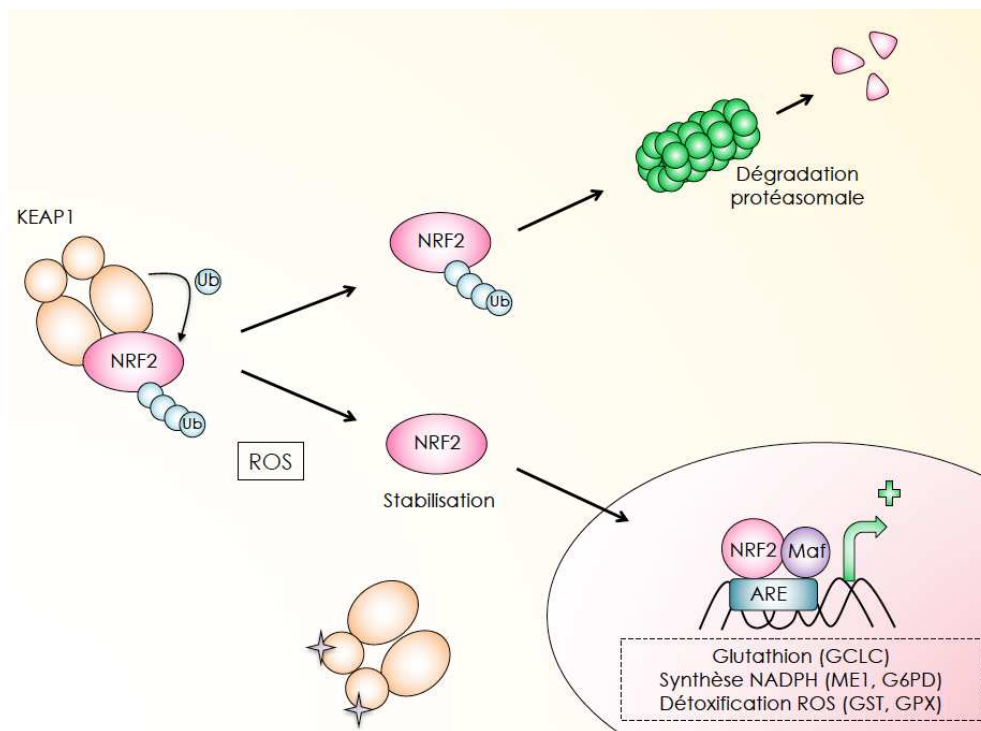
Le G-6-P dérivé du glucose peut emprunter la voie des pentoses phosphates (PPP) pour générer du glutathion. Au niveau de la mitochondrie, les acides gras peuvent subir la  $\beta$ -oxydation donnant de l'acétylCoA qui va entrer dans le cycle de krebs. Suite à ça, le malate produit peut sortir de la mitochondrie pour donner du pyruvate et du NADPH sous l'action de l'enzyme malique (ME1). Le glutamate issu de la glutamine peut être transformé en  $\alpha$ -KG puis intégrer le cycle TCA pour donner du malate qui sortira de la mitochondrie produisant du pyruvate et du NADPH. La formation d' $\alpha$ -KG à partir de l'isocitrate via les isocitrate dehydrogenases 1 et 2 (IDH1 cytosolique et IDH2 mitochondriale) peut également produire du NADPH.

En dehors de la reprogrammation du métabolisme, il a été démontré que les cellules péricytaires peuvent participer à la régulation du stress oxydant des cellules tumorales. Par exemple, il existe une coopérativité entre des cellules stromales dérivées de la moelle osseuse (BMSCs) et les cellules de leucémie lymphoïdes chroniques (CLLs). Dans un modèle de co-culture, les BMSCs fournissent de la cystéine aux CLLs, permettant à ces dernières d'accumuler du glutathion et de lutter contre les ROS (DeBerardinis RJ et al., 2012).

La voie Keap1-NRF2 (Kelch-like ECH-associated protein 1 - Nuclear factor erythroid derived 2 factor) a un rôle central dans la protection des cellules contre le stress oxydant. En condition physiologique, le facteur NRF2 est ubiquitinylé par la protéine cytosolique Keap1, induisant sa dégradation protéasomale. Lors d'un stress oxydatif, Keap1 est inactivée par l'oxydation de résidus cystéines, ce qui provoque la stabilisation de NRF2 et sa migration dans le noyau où il peut effectuer son rôle de facteur de transcription en liant notamment des séquences ARE (Antioxydant Response Element) permettant ainsi la transcription d'enzymes de détoxification (Figure 29). NRF2 peut également participer au maintien de l'homéostasie redox notamment au travers

l'activation de la GCL ou en activant le transporteur de cystéine SLC7A11 (xCT) ce qui a pour conséquence de générer du glutathion (Mitsuishi Y et al., 2012).

Certains cancers comme les cancers du poumon (Shibata T et al., 2008), du sein (Nioi P et al., 2007) ou encore tête/cou (Stacy DR et al., 2006) présentent une stabilisation du facteur NRF2. Cette stabilisation est de mauvais pronostic. En effet, en plus de la régulation de l'homéostasie redox, NRF2 joue un rôle anabolique dans les cellules cancéreuses notamment au travers l'activation de divers enzymes telles que la G6PD, la ME1 et l'IDH1 (Mitsuishi Y et al., 2012) ce qui permet en plus de produire du NADPH, de fournir des précurseurs de macromolécules essentiels à la prolifération des cellules cancéreuses.



**Figure 29 : NRF2 contribue au maintien redox cellulaire.**

NRF2 contribue au maintien de l'état redox en permettant la transcription de gènes impliqués dans la détoxification des ROS. En condition physiologique, le facteur NRF2 est ubiquitiné par la protéine Keap1, induisant sa dégradation protéasomale. Lors d'un stress oxydatif, Keap1 est inactivée par l'oxydation de résidus cystéines ce qui provoque la stabilisation de NRF2 et sa migration dans le noyau où il peut se lier à des séquences ARE (Antioxydant Response Element) permettant la transcription d'enzymes de détoxification.

### 1.1.2. Conséquences biologiques des ROS

La production de ROS est souvent considérée comme néfaste pour les cellules. Cependant, les ROS ont un rôle important dans la survie et dans la prolifération des cellules saines. Ce qui est néfaste n'est pas leur production en soi, mais le déséquilibre de l'homéostasie redox puisqu'une quantité excessive de ROS va induire des dommages qui s'avèrent être létaux pour la cellule.

Les cellules cancéreuses ont su d'adapter en exacerbant à la fois leur production de ROS favorisant ainsi la progression tumorale, mais également en contrebalançant cette production via l'augmentation des défenses antioxydantes (Figure 30).

- **Les ROS induisent des dommages oxydatifs sur les composants cellulaires**

De nombreuses études montrent que les ROS ont un rôle mutagène notamment via l'induction de dommages oxydatifs à l'ADN. En effet, les ROS peuvent causer des ruptures au niveau des brins d'ADN, mais surtout oxyder des bases azotées comme la guanine, formant ainsi, le dérivé 8-oxo-guanine. Les dommages à l'ADN peuvent concerner à la fois l'ADN nucléaire comme l'ADN mitochondrial. Le fait que les ROS induisent des dommages à l'ADN mitochondrial constitue un cercle vicieux où ces dommages vont renforcer la production de ROS par la mitochondrie.

Les ROS peuvent également endommager les protéines au travers des modifications d'acides aminés ou des clivages protéolytiques. Ces modifications protéiques peuvent conduire à l'altération de l'état redox au travers l'inhibition des GPXs et de la catalase mais peuvent aussi également altérer l'état des membranes cellulaires au travers la peroxydation des lipides. Cette peroxydation lipidique va diminuer la fluidité membranaire et peut induire la mort cellulaire lors de dommages excessifs au travers l'induction de la cascade apoptotique.

- **Les ROS contribuent à la survie et la prolifération cellulaire :**

En condition physiologique, les ROS et plus particulièrement l' $\text{H}_2\text{O}_2$  qui est plus stable que l' $\text{O}_2^{\cdot-}$  peuvent agir comme des messagers secondaires de la transduction du signal. En effet, un niveau de ROS faible et transitoire contribue à la prolifération et à la survie cellulaire. En effet, de faibles taux de ROS s'avèrent être très importants pour l'autorenouvellement des cellules souches hématopoïétiques (HSCs).

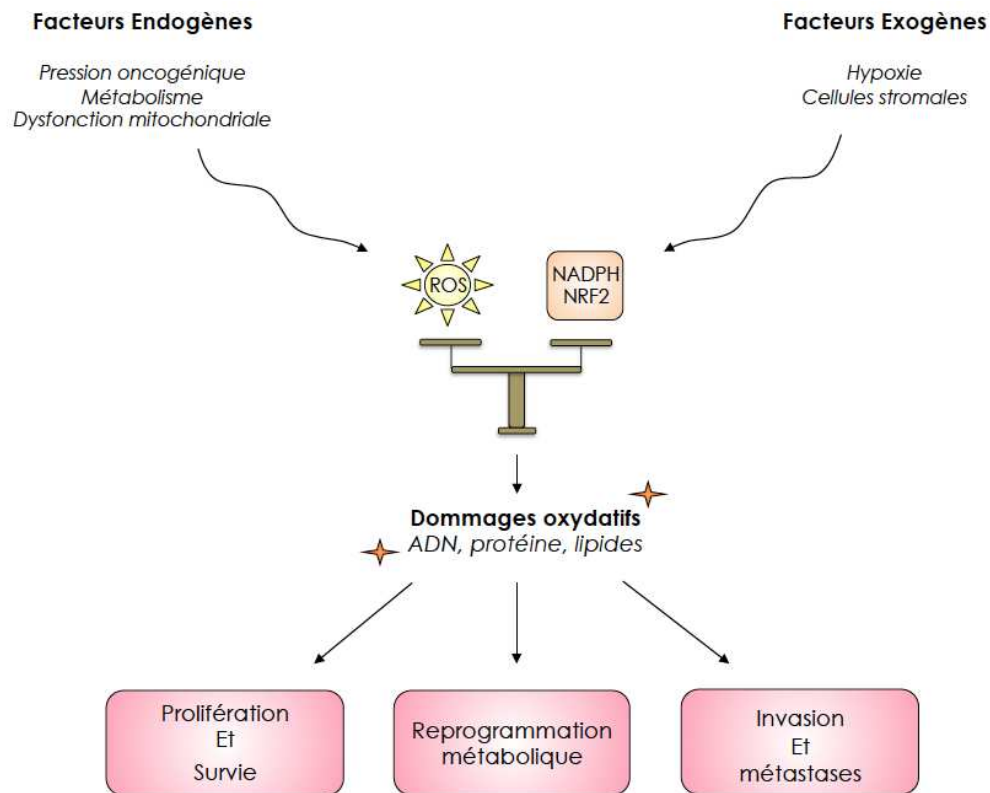
La régulation des voies de signalisation par les ROS s'effectue via l'oxydation réversible de résidus cystéines. C'est ainsi que les ROS peuvent activer des nombreuses voies de signalisation telles que les voies MAPK, PI3K/AKT et NFκB et peuvent également inhiber des phosphatases impliquées dans la répression de ces voies telles que la phosphatase PTEN, inhibitrice de la voie PI3K.

Dans les cellules cancéreuses, l'homéostasie redox est dérégulée et l'augmentation de la production de ROS contribue à la progression du cancer. Au travers, l'oxydation inhibitrice de PTEN ou p53, les ROS peuvent induire une prolifération cellulaire incontrôlée. Par ailleurs, il a également été démontré que les ROS ont un effet antiapoptotique via l'oxydation des caspases.

- **Les ROS participent à la reprogrammation métabolique et à la colonisation métastatique :**

Des études ont montré que les ROS peuvent favoriser l'adaptation des cellules tumorales à l'hypoxie. La production de ROS en hypoxie paraît étonnante, cependant l'équipe de Dang a démontré dans différentes lignées cellulaires, que le switch entre 2 sous-unités du complexe IV de la CRM permet une meilleure efficacité de la respiration mitochondriale aboutissant à la production de ROS provenant du complexe III de la CRM (Fukuda R et al., 2007). Les ROS produits favoriseraient la stabilisation du facteur HIF-1α. Les ROS peuvent également oxyder des enzymes clés de la glycolyse telles que la GAPDH ou la PKM2 bloquant la glycolyse et redirigeant le flux glycolytique vers la voie des PPP (Kuehne A et al., 2015), voie permettant à la fois la biosynthèse de macromolécules mais également la génération de NADPH.

La transition épithélial-mésenchymateuse est une caractéristique importante pour la formation des métastases. Il a été démontré que les ROS contribuent à l'EMT notamment en activant des métalloprotéinases matricielles (MMPs), enzymes nécessaires pour digérer la matrice extracellulaire (MEC). Par exemple, les cellules de mélanome présentent une augmentation de la production de ROS induite par la surexpression de NOX1. Ces ROS augmentent l'invasion des cellules cancéreuses via l'expression de MMP2 (Lui F et al., 2012). De même, dans le cancer du pancréas, les ROS produits par la surexpression de NOX4 permettent également l'EMT induite par le TGFβ.



**Figure 30 : Le stress oxydant tumoral promeut la tumorigénèse.**

Les cellules tumorales sont caractérisées par une forte production de ROS. Afin de conserver un état redox propice à leur survie, elles vont surexprimer leurs défenses antioxydantes permettant ainsi de proliférer, de survivre ainsi que de coloniser les tissus voisins. Cette balance est régulée par les facteurs endogènes comme la pression oncogénique (KRAS, BCR/ABL ou myc), les dysfonctions mitochondriales (mutations mtADN, mutations de la SDH, mutations de la FH) ou encore le métabolisme cellulaire (au travers les intermédiaires métaboliques fournis par le glucose, la glutamine et les acides gras), mais également par des facteurs exogènes comme l'hypoxie ou encore les cellules du stroma tumoral (CAFs, CAMs, BMSCs).

## 1.2. L'activité mitochondriale a un rôle essentiel dans la tumorigénèse :

### 1.2.1. Rôle de l'activité mitochondriale dans la prolifération et la survie des cellules tumorales :

De part son rôle anabolique, la mitochondrie soutient la prolifération et la survie des cellules tumorales. Par exemple, l'utilisation de la glutamine au travers la glutaminolyse ainsi qu'au travers la carboxylation réductive contribuent à la production d'ATP mais également à la biosynthèse des acides aminés, des acides nucléiques et des lipides dans différents cancers tels que le glioblastome (Zhang J et al., 2016), le mélanome (Rodrigues MF et al., 2016) et l'hépatocarcinome (Yuvena MO et al., 2012). L'utilisation de



glutamine s'avère être essentielle pour le métabolisme mitochondrial. Dans les tumeurs de poumon BRAF<sup>V600E</sup>, il a été démontré que la glutamine peut être fournie via l'autophagie. Cette glutamine s'avère être indispensable au métabolisme mitochondrial car l'inhibition de l'autophagie se traduit par une altération de la respiration mitochondriale qui par conséquent induit une diminution de la survie des cellules tumorales (Strohecker AM et al., 2013).

L'oxydation d'autres substrats comme les acides gras peuvent également permettre la prolifération et la survie des cellules cancéreuses. Par exemple, les tumeurs de poumons KRAS<sup>G12V</sup> se procurent des acides gras provenant de l'autophagie. L'oxydation mitochondriale de ces acides gras est essentielle à la prolifération des cellules tumorales car l'inhibition de l'autophagie via la délétion d'Atg7 se traduit par une altération de la fonction mitochondriale ainsi qu'une diminution de la survie des cellules tumorales (Guo JY et al., 2013). Dans l'hépatocarcinome, l'oxydation des AG par la mitochondrie est essentielle à la prolifération et à la survie. En effet, elle représente une source importante d'AcetylCoA nécessaire au fonctionnement de la CRM et à la production d'ATP (Rodriguez-Enriquez S et al., 2015).

La mitochondrie représente la source principale de production de ROS. Ces ROS peuvent au travers la modification post-traductionnelle des protéines ou au travers l'induction de dommages oxydatifs, toucher les constituants cellulaires (ADN et lipides) ce qui a pour conséquence l'induction de dommages favorisant la prolifération et la survie des cellules cancéreuses (Panieri E et al., 2016).

### 1.2.2. Rôle de l'activité mitochondriale dans l'invasion et la métastase :

La mitochondrie a un rôle important dans le phénotype métastatique. En effet, l'équipe de Berridge a démontré que l'injection de cellules cancéreuses de sein dépletées en ADN mitochondrial (mtDNA) (4T1- $\rho$ 0) chez la souris, retarde la formation de tumeur. Curieusement, certaines de ces cellules vont acquérir le mtDNA de l'hôte leur permettant de recouvrir une fonction mitochondriale nécessaire pour métastaser de nouveau (Tan AS et al., 2015).

De plus, la biogenèse mitochondriale est importante pour l'invasion et la métastase. En effet, les cellules cancéreuses de sein invasives utilisent le facteur de transcription PGC1 $\alpha$  afin d'augmenter l'OxPHOS, la biogenèse mitochondriale et la consommation d'oxygène. Des analyses cliniques de cancer du sein invasif humain ont démontré qu'il

existe une corrélation entre l'expression de PGC1 $\alpha$  dans les cellules invasives et la formation de métastases. Des expériences ont démontré que les cellules cancéreuses circulantes présentent une augmentation de l'expression de PGC1 $\alpha$ , associée à une OxPHOS plus importante que les cellules cancéreuses primaires. La biogenèse mitochondriale est essentielle pour les capacités invasives, migratoires et la dissémination métastatique puisque l'inhibition de PGC1 $\alpha$  les abolie (LeBleu VS et al., 2014).

L'utilisation de substrats carbonés par la mitochondrie peut contribuer également au phénotype métastatique. En effet, l'équipe de DeBerardinis a mis en évidence que la carboxylation reductive permet de supporter l'homéostasie redox en générant du NADPH, lors de la croissance cellulaire sans ancrage des cellules cancéreuses de poumon (Jiang L et al., 2016). De plus, l'équipe de Amoêdo a mis en évidence que les cellules métastatiques de mélanome présentent une OxPHOS augmentée en comparaison avec des cellules non métastatiques. L'augmentation de l'OxPHOS est associée à la production d'ATP et au métabolisme de la glutamine. Dans ce modèle, l'utilisation de la glutamine supporte le caractère invasif des cellules métastatiques puisque l'inhibition de la glutaminase inhibe ce trait (Rodriguez MF et al., 2016).

Par ailleurs, L'équipe de Park a démontré en utilisant des cybrides transmitochondriaux que les cellules métastatiques TNBC maintiennent un haut niveau d'ATP au travers la  $\beta$ -oxydation des AG (FAO). Cette FAO permet l'autophosphorylation-ATP dépendante de la kinase oncogénique Src soutenant l'invasion et la métastase. Cette phosphorylation est due à l'activité mitochondriale permise via la FAO. En effet, l'utilisation d'inhibiteur de la CRM tels que la rotenone (CI), l'antimycine A (CIII) et l'oligomycine A (ATP Synthase) se traduit par une diminution p-Src (Y419). De plus, l'inhibition de la FAO via l'utilisation d'étomoxir ou via le knock-down de CPT1 et 2 se traduit par l'altération de la respiration mitochondriale associée à une inhibition de p-Src (Y419). Ceci a pour conséquence, la régression et la diminution des métastases pulmonaires et hépatiques (Park JH et al., 2016). L'activité mitochondriale peut également participer au phénotype métastatique notamment au travers la production de ROS. L'équipe de Sonveaux a démontré dans le cancer du sein métastatique que l'inhibition partielle de la CRM via l'utilisation d'une faible concentration de roténone potentialise l'invasion et la prise métastatique chez la souris. Ces paramètres sont dus à l'activation de Src et Pyk2, kinases impliquées dans l'invasion et la métastase. Cette activation dépend de la production de ROS via

l'inhibition partielle de la CRM puisque les antioxydants mitoTEMPO et mitoQ la prévient. Bien que la CRM soit partiellement inhibée, les effets métastatiques nécessitent une mitochondrie fonctionnelle et active puisque l'inhibition totale de la CRM n'induit pas de traits métastatiques (Porporato PE et al., 2014).

### 1.2.3. Rôle de l'activité mitochondriale dans la résistance aux agents anticancéreux :

De nombreuses études tentent de comprendre les mécanismes permettant aux cellules cancéreuses de résister aux thérapies. Parmi celle-ci certaines études ont mis en évidence que les thérapies anticancéreuses peuvent avoir des effets sur le métabolisme en induisant une « addiction mitochondriale » retrouvée dans les cellules résistantes aux thérapies.

Par exemple, dans le cancer du colon, la surexpression des gènes impliqués dans l'OxPHOS et dans la biogenèse mitochondriale est observée dans les métastases exposées aux chimiothérapies. En effet, les cellules provenant de patients traités par chimiothérapie présentent une augmentation de l'expression des enzymes de la CRM, de la masse mitochondriale et de la consommation d'oxygène. Ce shift vers le métabolisme mitochondrial induit par les génotoxiques est permis par la deacetylase SIRT1 et son coactivateur PGC1 $\alpha$  (Vellinga TT et al., 2015). Dans le cancer du sein, la résistance aux génotoxiques est associée à une diminution de la production des ROS mitochondriaux permettant la survie des cellules cancéreuses. Cette production de ROS est liée à l'expression de la deacetylase mitochondriale SIRT3 puisque son inhibition par siRNA se traduit par une augmentation de ROS ainsi qu'une diminution des facteurs PGC1 $\alpha$  et TFAM impliqués dans la biogenèse mitochondriale. Ceci a pour conséquence une resensibilisation aux chimiothérapies (Torrens-Mas M et al., 2016).

La réactivation de la fonction mitochondriale est également retrouvée dans les cellules résistantes aux inhibiteurs de kinases oncogéniques. En effet, le traitement des cellules de mélanome BRAF mutées par le PLX4720 (inhibiteur de RAF) se traduit par une augmentation du nombre de mitochondries, de la consommation d'oxygène et de la production de ROS dépendante de PGC1 $\alpha$  (Haq R et al., 2013). Par ailleurs, il a été mis en évidence que ces mélanomes contiennent une sous population intrinsèque de cellules résistantes aux inhibiteurs de MEK via l'expression de PGC1 $\alpha$  (Vazquez F et al., 2013).

Les génotoxiques (cisplatine) et les inhibiteurs de kinases oncogéniques (vemurafenib) peuvent être responsables de l'enrichissement d'une sous population de cellules « slow cycling » persistante dans le mélanome. Ces cellules résistantes expriment la H3K4 demethylase (JARID1B) et permettent la maintenance du mélanome à long terme au travers l'augmentation de la fonction mitochondriale. Les cellules JARID1B<sup>high</sup> vont être d'ailleurs responsables de l'émergence de nouvelles tumeurs et présentent une addiction à la fonction mitochondriale puisque l'utilisation d'inhibiteur de la CRM se traduit par une diminution du volume tumoral. Dans les leucémies, la maintenance des cellules souches quiescentes est permise par l'expression de la protéine Bcl-2. Bien que Bcl-2 soit plus connue pour son rôle antiapoptotique, il a été démontré dans cette étude qu'elle est importante pour la fonction mitochondriale et pour le maintien d'un niveau bas de ROS. Par ailleurs, l'inhibition de Bcl-2 par l'ABT-231 se traduit par une inhibition de l'OxPHOS associée à une diminution de la production d'ATP. Ceci a pour conséquence de déséquilibrer l'état redox et le maintien énergétique cellulaire aboutissant à la mort cellulaire du compartiment de cellules souches quiescentes leucémiques (Lagadinou ED et al., 2013).

### 1.3. Rôle du métabolisme mitochondrial dans la survie en condition de stress : exemple du stress réticulaire.

#### 1.3.1. Stress réticulaire et cancer :

Le réticulum endoplasmique (RE) est un organite qui possède des fonctions multiples telles que la synthèse, la conformation et le transport des protéines ; la synthèse et la distribution des phospholipides et stéroïdes ainsi que le stockage du calcium et son relargage cytoplasmique. Ces fonctions sont essentielles à l'homéostasie cellulaire, au développement et à la réponse aux stress. En effet, la perturbation d'une de ces fonctions a pour conséquence un stress réticulaire et l'agrégation de protéines mal conformées.

De nombreuses perturbations cellulaires comme la privation en nutriments, l'hypoxie, l'altération de la glycolyse ou une perturbation du flux calcique vont entraîner une accumulation de protéines mal conformées dans le RE induisant un stress réticulaire. Cette accumulation de protéines mal conformées va déclencher une réponse appelée :

réponse UPR (Unfolded Protein Response). Cette réponse UPR a pour but de restaurer l'homéostasie en adoptant différentes stratégies. Tout d'abord, l'augmentation de la quantité de protéines chaperonnes afin de prévenir l'agrégation protéique et faciliter une conformation correcte des protéines, puis une diminution du trafic protéique via l'inhibition de la synthèse des protéines, ainsi que l'augmentation du volume de RE via la stimulation de la synthèse lipidique et enfin la dégradation des protéines mal conformées via le système ERAD (Endoplasmic reticulum - associated degradation) (Bravo R et al., 2013) (Gorman AM et al., 2012).

- **Stress réticulaire et voie UPR :**

La réponse au stress réticulaire est initiée par 3 protéines transmembranaires du RE qui vont agir comme « senseurs » : les protéines PERK (Protein Kinase-like ER Kinase), IRE1 $\alpha$  (Inositol-requiring Enzyme 1) et ATF6 (Activating Transcription Factor 6), qui vont chacune activer des cascades spécifiques (Figure 31).

En absence de stress, le domaine luminal des protéines « senseurs » est occupé par une chaperonne, la protéine GRP78 (Glucose Regulated Protein 78). Lors d'un stress réticulaire, l'accumulation de protéines mal conformées dans la lumière du RE va séparer la chaperonne GRP78 de chaque senseur ce qui va permettre leur activation (Bravo R et al., 2011) (Tay KH et al., 2014).

**PERK** est une kinase qui va être activée via son homodimérisation et sa transphosphorylation lors du départ de GRP78. Elle va phosphoryler le facteur de traduction eIF2 $\alpha$  ce qui induit l'arrêt de la traduction des protéines, qui aide la cellule à survivre en diminuant le chargement de nouvelles protéines dans le RE.

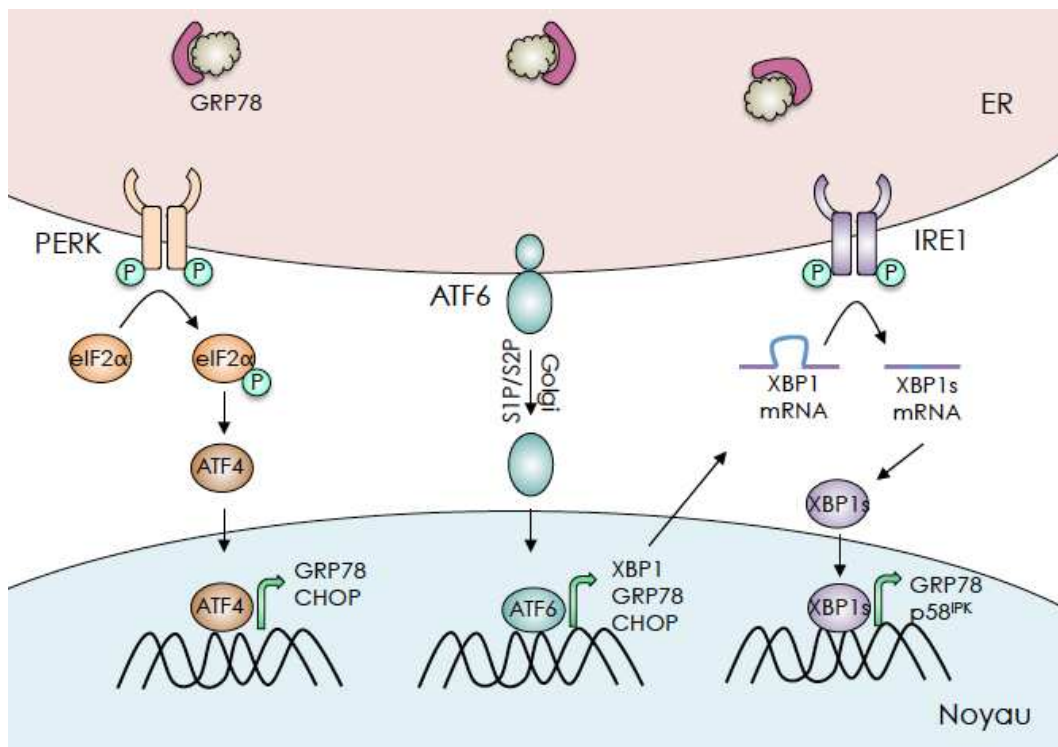
L'arrêt de la traduction protéique n'est pas totale puisque la phosphorylation de eIF2 $\alpha$  va induire l'expression du facteur de transcription ATF4 qui va alors migrer dans le noyau et induire la transcription de gènes cibles de la réponse UPR tels que GRP78 mais également des gènes impliqués dans le métabolisme et la survie cellulaire.

Une autre cible de PERK est le facteur de transcription NRF2 qui sous l'effet de la phosphorylation sera libéré de son inhibiteur KEAP1, permettant ainsi l'induction de gènes principalement impliqués dans le contrôle du stress oxydatif.

**ATF6** va quant à lui être relocalisé au Golgi où il sera clivé par les protéases S1P (Site 1 Protease) et S2P (Site 2 Protease) permettant ainsi son activation comme facteur de transcription. Il va ensuite rejoindre le noyau pour induire l'expression de gènes

possédant une étiquette ERSE (ER Stress response Element) dans leur promoteur. C'est ainsi qu'il va permettre la transcription de protéines chaperonnes comme GRP78 et GRP94, mais également la protéine XBP1 qui a un rôle important dans la signalisation IRE1 $\alpha$ .

**IRE1 $\alpha$**  est à la fois une kinase et une endonucléase qui va également subir l'oligomérisation et l'activation par transphosphorylation lors du départ de GRP78. IRE1 $\alpha$  est impliquée dans l'épissage cytoplasmique des ARNm et pour la traduction de l'isoforme active du facteur de transcription XBP1s (X-Box-binding Protein 1 spliced). XBP1s va permettre la traduction de gènes associés à la réponse UPR comme GRP78 mais également la protéine p58<sup>IPK</sup>. La protéine p58<sup>IPK</sup> est un inhibiteur de PERK qui peut exercer un feedback négatif sur le stress réticulaire.



**Figure 31 : Les acteurs de la voie UPR.**

La réponse au stress réticulaire est initiée par 3 protéines transmembranaires du RE qui vont agir comme « senseurs » : les protéines PERK, IRE1 $\alpha$  et ATF6 qui vont chacune activer des cascades spécifiques. Lors de l'accumulation de protéines mal conformées, la protéine GRP78 va se dissocier des senseurs protéiques ce qui va conduire à leur activation. La phosphorylation et activation de PERK va induire la phosphorylation du facteur eIF2a qui permet l'expression de ATF4. ATF6 va être activé par clivage au niveau du Golgi par des protéases spécifiques (Sp1 et Sp2). ATF6 clivé va ensuite migrer vers le noyau pour induire l'expression de gènes dont XBP1. La kinase IRE1 $\alpha$  est activée par phosphorylation et va permettre l'épissage l'ARNm XBP1 codant pour le facteur XBP1s. Les facteurs ATF4, ATF6 et XBP1s vont moduler l'expression de gènes codant des protéines impliquées dans la régulation du stress réticulaire (GRP78, CHOP) (\*Schéma adapté de Mc Gorman A et al., 2012).

- **Implication du stress réticulaire dans le cancer :**

*Les cellules cancéreuses surexpriment les acteurs des voies de la réponse UPR :*

Les cellules cancéreuses ont un taux de prolifération très élevé dans le but de synthétiser rapidement des protéines et des membranes afin de permettre le développement tumoral. De plus, elles résident souvent dans des environnements hypoxiques et où la quantité de nutriment est limitée. Ces conditions représentent un stress pour les cellules cancéreuses pour lequel elles vont s'adapter notamment en activant la réponse UPR. De nombreuses données de la littérature montrent que la réponse UPR est un mécanisme permettant le développement tumoral.

En effet, des études ont montré qu'il existe une corrélation entre l'expression de la chaperonne GRP78 (également appelée BiP/GRP78) et la progression du cancer et notamment du carcinome gastrique, du carcinome hépatocellulaire et du cancer du sein (Bravo R et al., 2013). La surexpression de BiP/GRP78 mais également de PERK a été démontrée par immunohistochimie dans 133 échantillons tumoraux de patients ayant un mélanome malin. La surexpression de ces protéines est associée à une diminution de la survie globale chez ces patients (Shimizu A et al., 2015). L'expression de BiP/GRP78 semble être également importante pour le développement du glioblastome de haut grade (Dadey DYA et al., 2016) (Kang BR et al., 2016) mais également celui du cancer du poumon NSCLC (Dadey DYA et al., 2016) puisque l'utilisation d'anticorps ciblés contre GRP78 se traduit par une diminution de la prolifération, une diminution de la formation de colonie et la mort cellulaire par apoptose. Le knock-down de GRP78 a montré les mêmes effets dans le carcinome colorectal démontrant bien l'importance de GRP78 dans le cancer (Zhou X et al., 2016).

Dans le cancer de la prostate, l'activation de la signalisation UPR est associée à la progression maligne et au pronostic sombre du cancer. Des immunohistochimies réalisées sur 160 échantillons de cancer de la prostate (PCa) et sur 30 hyperplasies bénignes de la prostate (BPH) ont révélé que les PCa surexpriment PERK, ATF6 et IRE1 $\alpha$  en comparaison aux BPH. (Liu J et al., 2016). L'expression de PERK, ATF4 et ATF6 représente également un avantage considérable pour le cancer gastrique lors de condition sévère d'hypoxie en permettant notamment la transition épithélio-mésenchymateuse (EMT). L'activation de ces protéines va favoriser le relargage du

TGF $\beta$  induit par l'hypoxie et permet l'activation de SMAD2/3 et de la signalisation PI3K/Akt (Shen X et al., 2015).

*Voie UPR et résistance aux thérapies anticancéreuses :*

L'activation de la voie UPR est également associée à la résistance des cellules cancéreuses aux traitements. En effet, les cellules cancéreuses colorectales résistantes au 5-fluorouracil (5-FU) surexpriment les acteurs clés des voies PERK, ATF6 et IRE1. L'inhibition de ces voies conduit à une resensibilisation à ce composé via l'augmentation du chargement calcique mitochondrial (Kim JK et al., 2016). Dans une autre étude, menée également dans le cancer colorectal, l'inhibition de la protéine GRP78 augmente l'efficacité de l'apoptose induite par le 5-FU (Zhou X et al., 2016). Dans le mélanome BRAFV600E, la résistance aux inhibiteurs de BRAF (comme le PLX4720 également appelé vémurafenib) peut être induit par une augmentation de l'autophagie. Le stress réticulaire peut contribuer à la résistance induite par l'autophagie. En effet, Il a été démontré que le PLX4720 induit un stress réticulaire via l'activation de PERK. L'inhibition de PERK se traduit par une inhibition de l'autophagie et une augmentation de la mort cellulaire (Ma XH et al., 2014). Dans la LMC, La voie PERK induit également des signaux pro-survie et confère une résistance à l'imatinib dans ce modèle (Kusio-kobialka M et al., 2012). La dormance tumorale représente également un mécanisme de résistance dans les cancers. Il a été démontré que PERK participe à la survie des cellules dormantes tumorales retrouvées dans des petites tumeurs asymptomatiques et chimiorésistantes. Cela se fait via l'activation de la protéine p38 qui en réponse à divers stress comme l'hypoxie va induire les acteurs des voies UPR et notamment PERK. L'induction du stress réticulaire dans ce modèle va conduire à un arrêt des cellules en G0/G1 et la survie des cellules. L'induction de BiP/GRP78 et de PERK est important pour la résistance de ces cellules dormantes aux chimiothérapies puisque leur inhibition conduit à une resensibilisation pour ces dernières (Ranganathan AC et al., 2006).

- **Voie UPR et mort cellulaire :**

Bien que la réponse au stress réticulaire soit une réponse adaptative dans le but de favoriser la survie des cellules en restaurant l'homéostasie du RE, lors d'un stress réticulaire trop intense et/ou prolongé, la cellule va choisir la mort cellulaire et induire l'apoptose.



Les facteurs de transcription ATF4, XBP1s et ATF6 convergent tous sur le promoteur du gène encodant pour le facteur de transcription CHOP. CHOP peut être transcrit et traduit lors de l'activation prolongée de la réponse UPR. Son expression est associée à la mort cellulaire apoptotique. En effet, il a été démontré que la protéine CHOP permet l'expression des protéines proapoptotiques Bak/Bad et inhibe l'expression de Bcl2. Elle permet également d'augmenter la production de ROS qui va induire le relargage du cytochrome c et l'apoptose (Bravo et al., 2013).

Dans le myélome multiple (MM), le traitement au CSTMP (composé anticancéreux, analogue du tetramethylpyrazine) induit l'apoptose mitochondriale comme le montre l'activation des caspases et le relargage du cytochrome c. De plus, ce composé permet l'induction d'un stress réticulaire. En effet, les cellules de MM traitées au CSTMP montrent une surexpression des protéines CHOP et GRP78 mais également des acteurs des voies UPR PERK, IRE1 $\alpha$  et ATF6. La mort apoptotique induite par ce composé est dépendante de l'expression de CHOP puisqu'un siRNA contre CHOP abolit les effets (Sun X et al., 2016).

Dans les cellules cancéreuses de poumon NSCLC, le traitement au CSTMP induit des effets antiprolifératifs et apoptotiques dépendant de l'induction du stress réticulaire. Cela se traduit par l'augmentation de l'expression de GRP78, de CHOP et d'IRE1 $\alpha$ . Ces effets sont dépendants de IRE1 $\alpha$  puisque son inhibition par siRNA reverse l'apoptose mitochondriale. L'induction d'apoptose mitochondriale se fait via la formation d'un complexe IRE1 $\alpha$  /TRAF2/ASK1 (Zhang J et al., 2016). Ceci va permettre à la kinase JNK d'être activée et de phosphoryler la protéine Bim qui à son tour va libérer le complexe Bax/Bak, des protéines antiapoptotiques Bcl-2 et permettre ainsi l'apoptose mitochondriale (Gorman AM et al., 2012).

Le traitement au vémurafénib des cellules de mélanomes induit également l'apoptose mitochondriale dans les cellules de mélanome et le stress réticulaire y participe. En effet, le traitement au vémurafénib induit une augmentation de la concentration de calcium cytosolique, diminue l'expression de la chaperonne GRP78 et augmente l'expression de XBP1s. L'activation de la voie PERK est aussi constatée par l'augmentation de la phosphorylation de eIF2 $\alpha$ . Ce stress réticulaire est impliqué dans l'apoptose puisque le kd de ATF4 se traduit par une diminution de l'apoptose induite par le stress réticulaire. Dans le même contexte, l'induction d'un stress réticulaire par la thapsigargine (induit un stress réticulaire calcique) permet de diminuer la croissance tumorale. Dans cette étude,

il démontre que l'utilisation de thapsigargine peut surpasser la résistance acquise au vémurafenib dans les lignées de mélanome (Beck D et al., 2013).

Le calcium peut être impliqué dans la mort induite lors du stress réticulaire. Le RE est la source principale de stockage du calcium intracellulaire ( $RE \approx 1$  à  $2mM$ ) (cytosol  $\approx 0,1\mu M$ ). Ce calcium peut être libéré dans le cytosol mais également être recapté par la mitochondrie. Lors de relargage de celui-ci dans le cytosol, il peut activer des protéases dépendantes du calcium appelées calpaines qui vont cliver la protéine Bid qui va ensuite pouvoir aller activer Bax et induire l'apoptose. Les calpaines peuvent également cliver directement des caspases comme la caspase 12 ou la caspase 9 pour induire l'apoptose. Le calcium libéré par le RE peut également être capté par la mitochondrie ce qui va induire des dysfonctions mitochondriales et déclencher l'apoptose. Ces effets ont été aperçus lors du traitement des cellules cancéreuses HeLa avec du cisplatine et sont associés à l'induction du stress du RE puisque l'utilisation de chélateur de calcium comme le BAPTA inhibe l'apoptose induite par le cisplatine via la sous régulation des calpaines, des caspases 3 et 4 et de CHOP (Shen L et al., 2016).

### 1.3.2. Rôle du métabolisme mitochondrial dans la réponse au stress réticulaire

- **Contacts RE - Mitochondrie ou MAMs (Mitochondrial Associated Membranes)**

Le réticulum endoplasmique peut communiquer avec les mitochondries via des contacts appelés MAM (Mitochondrial Associated Membranes). Ces contacts sont importants car ils permettent l'échange de métabolites lipidiques mais également du  $Ca^{2+}$ , messenger secondaire important (Figure 32).

L'architecture des MAM est complexe et implique un grand nombre de protéines avec des fonctions variées qui permettent de relier le RE à la mitochondrie. Parmi ces protéines, on retrouve sur le RE, le canal calcique  $IP_3R$  (ER-resident inositol triphosphate receptor) qui permet l'export de  $Ca^{2+}$  qui sera capté par le VDAC présent sur la mitochondrie. D'autres protéines comme la chaperonne GRP75 et les protéines MFN1/MFN2 permettent de relier le RE à la mitochondrie (Doghman-Bouguerra M et al., 2016).

Des études dans le phénomène d'insulinorésistance hépatique ont montré que la cyclophiline D (CYPD) a un rôle important dans la formation du complexe IP<sub>3</sub>R-GRP75-VDAC puisque son inhibition pharmacologique ou génétique (siRNA et KO chez la souris) se traduit par une altération du transfert de Ca<sup>2+</sup> entre les 2 organites. Des expériences PLA (Proximity Ligation Assay) permettant de mettre en évidence des compartiments cellulaires très proches ont mis en évidence que l'inhibition de la CYPD induit une diminution des interactions RE-mitochondries ce qui induit un stress réticulaire au niveau du RE et des dysfonctions mitochondriales (Rieusset J et al., 2015).

- **Le stress réticulaire et la régulation du métabolisme énergétique :**

Le Ca<sup>2+</sup> est un messager important dans la communication entre le RE et la mitochondrie. Les canaux IP<sub>3</sub>R permettent l'efflux du Ca<sup>2+</sup> du RE qui sera capturé par le VDAC présent sur la mitochondrie. Il a été suggéré que les canaux mitochondriaux ont une faible affinité pour le Ca<sup>2+</sup> c'est pour cela qu'il doit exister des régions de proximité entre le RE et la mitochondrie pour permettre une meilleure entrée du Ca<sup>2+</sup> dans la mitochondrie. Sur la MIM, il existe également un uniport calcique appelé MCU qui permet le transport du Ca<sup>2+</sup> dans la matrice mitochondriale (Doghman-Bouguerra M et al., 2016).

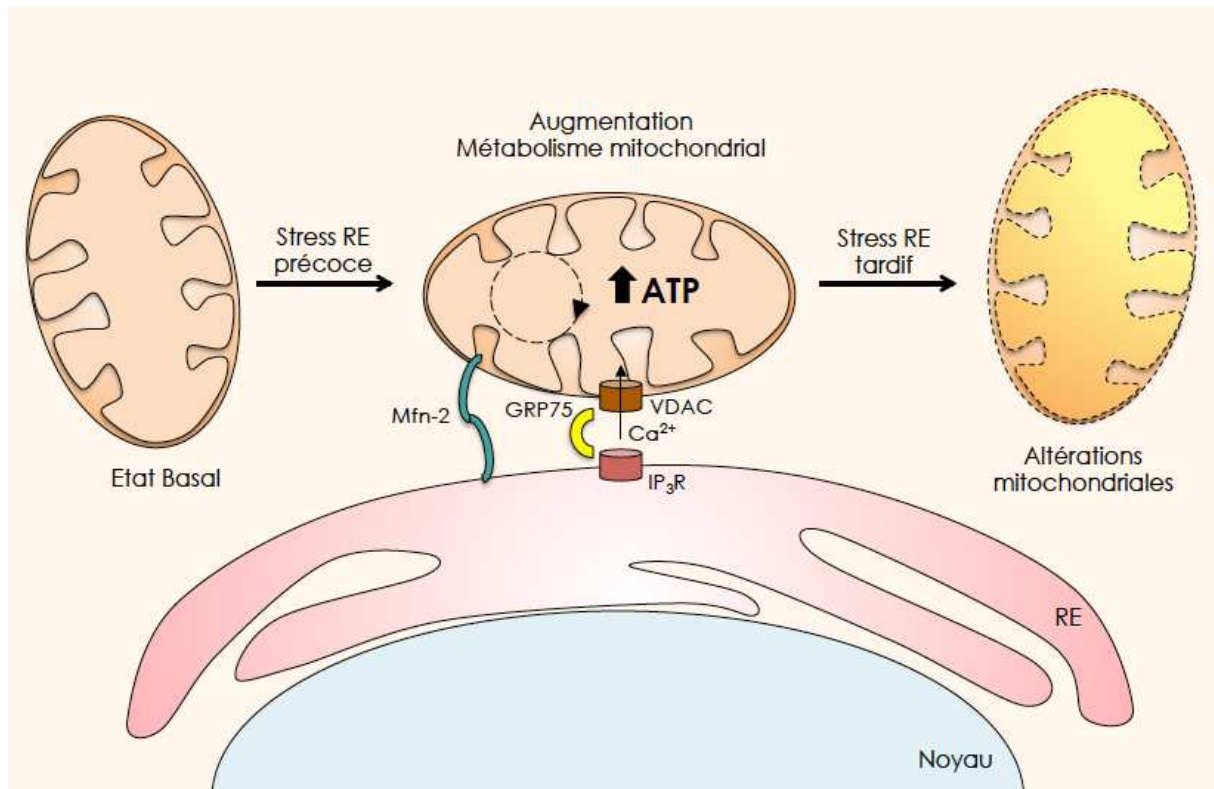
Il a été démontré que le relargage du RE vers la mitochondrie permet de moduler le métabolisme énergétique mitochondrial. En effet, le calcium relargué par IP<sub>3</sub>R permet de stimuler la respiration mitochondriale et la production d'ATP. De plus, certaines enzymes du cycle de Krebs comme l'IDH et la OGDH sont directement stimulées par le Ca<sup>2+</sup> (Decuypere JP et al., 2011). Bien que le calcium ait des effets en augmentant le métabolisme mitochondrial, un excès de calcium s'avère délétère pour la cellule cancéreuse.

En influant sur le métabolisme énergétique des cellules cancéreuses, la proximité du RE et de la mitochondrie pourrait favoriser également la survie au stress réticulaire précoce des cellules cancéreuses. En effet, l'équipe de Lavandro a émis l'hypothèse que la cellule cancéreuse peut ajuster son métabolisme mitochondrial pour survivre au stade précoce du stress réticulaire, leur conférant ainsi un avantage en termes de survie (Bravo R et al., 2012).

L'induction d'un stress réticulaire précoce par utilisation de tunicamycine (altère la N-glycosylation des protéines) et de thapsigargine pendant 4h se traduit par un rapprochement des mitochondries vers le RE de façon périnucléaire, observé en microscopie confocale. La mesure du coefficient de Mander's (mesure une fraction de structure en contact avec une autre) a permis de montrer que la tunicamycine induit une augmentation des interactions entre le RE et la mitochondrie. Ces interactions permettent une augmentation de la fonction mitochondriale puisque le traitement avec les inducteurs de stress de RE induit une augmentation de la consommation d'O<sub>2</sub> mitochondriale, du potentiel de membrane mitochondrial et de la production d'ATP.

Ces effets sont observés lors d'un stress réticulaire précoce (4h) et n'induisent pas de mort cellulaire contrairement aux mêmes traitements à des temps plus longs comme 24 ou 48h (Stress réticulaire tardif). Ceci démontre que les réponses métaboliques se produisent avant la diminution de la viabilité cellulaire lors des temps tardifs. Cette augmentation de la fonction mitochondriale lors du stress réticulaire précoce est due à un boost métabolique induit par l'augmentation du Ca<sup>2+</sup> mitochondrial.

Cette étude démontre que le couplage RE-mitochondrie et par conséquence l'augmentation du Ca<sup>2+</sup> mitochondrial peut à la fois potentialiser le métabolisme mitochondrial qui est une réponse adaptative au stress du RE et également induire une dysfonction mitochondriale lors de stress du RE excessif conduisant à la mort cellulaire (Bravo R et al., 2011).



**Figure 32 : Modulation du métabolisme mitochondrial lors du stress réticulaire.** L'induction d'un stress réticulaire permet le remodelage du réseau mitochondrial autour du RE. Ceci permet au RE et à la mitochondrie d'établir des zones d'échanges appelées MAMs. Les MAMs permettent le relargage de  $\text{Ca}^{2+}$  via le canal  $\text{IP}_3\text{R}$  qui sera recapté par la mitochondrie via le VDAC. Cela va permettre de moduler le métabolisme mitochondrial en augmentant la respiration cellulaire ainsi que la production d'ATP. Ce qui confère lors d'un stress réticulaire précoce, un avantage de survie. Lors d'un stress persistant (tardif), la surcharge calcique va induire l'apoptose. (\* Schéma adapté de Bravo R et al., 2012)

## 2. Les cibles mitochondriales dans le traitement des cancers

De nombreux travaux démontrent l'implication de la mitochondrie dans le développement tumoral ce qui a conduit au développement d'un grand nombre d'agents ciblant la mitochondrie dans le but de tuer les cellules tumorales (Figure 33).

### 2.1. La chaîne respiratoire mitochondriale :

Depuis de nombreuses années, la CRM représente une cible mitochondriale privilégiée dans le traitement des cancers. En effet, de nombreux agents ont été développés dans le but d'inhiber les complexes permettant d'induire la mort cellulaire. C'est ainsi que l'inhibition irréversible du complexe I par la roténone permet d'induire l'apoptose des

cellules cancéreuses de sein (Deng Y et al., 2010). L'apoptose de ces cellules est permise par la production de ROS induit par l'inhibition du complexe I, permettant l'activation des voies JNK et p38MAPK régulant positivement Bcl-2 et négativement la protéine Bax. Les biguanides tels que la metformine et la phenformine, initialement utilisés dans le traitement du diabète de type II ont démontré une activité anti-néoplasique. Au travers l'inhibition réversible du complexe I, ces agents réduisent la tumorigenèse dans le cancer du colon (Wheaton WW et al., 2014) et permettent la mort cellulaire dans un modèle de leucémie (Scotland S et al., 2013). Contrairement à la roténone, les biguanides n'induisent pas de ROS au travers l'inhibition du complexe I.

Des nombreuses études ont révélé plusieurs failles dans l'utilisation des inhibiteurs du complexe I de la CRM en traitement seul pour éradiquer les cellules cancéreuses. L'utilisation de la metformine dans des essais cliniques a démontré des effets secondaires importants et notamment l'induction d'acidose lactique. Ceci a conduit à repenser les doses utilisées.

L'utilisation d'analogues de la vitamine E comme l' $\alpha$ -TOS ( $\alpha$ -Tocopheryl Succinate) permet d'inhiber l'activité de la succinate quinone reductase du complexe II de la CRM (Yan B et al., 2016). L'inhibition du Complexe II se traduit par une production importante de ROS et l'induction d'apoptose mitochondriale dans les lymphomes (Prochazka L et al., 2010).

Dans le cancer de la prostate (Xiao D et al., 2010) et le cancer ovarien (Hong YH et al., 2015), l'inhibition du complexe III par le PEITC permet d'induire l'apoptose des cellules cancéreuses au travers la production de ROS. Le PEITC est actuellement en phase III d'essai clinique dans la leucémie et le cancer oral.

Le ciblage de la FO-F1 ATP synthase souvent considéré comme le cinquième complexe de la CRM est permis par l'oligomycine et se traduit également par une apoptose des cellules cancéreuses du pancréas (Viale A et al., 2014).

Actuellement, un des agents les plus prometteurs ciblant la CRM est l'elesclomol. Cet agent lie le cuivre extracellulaire et le transporte dans la mitochondrie des cellules tumorales afin d'inhiber l'ETC. Ceci a pour conséquence de bloquer la production d'ATP et d'induire la production létale de ROS (Kirshner JR et al., 2008). Cet inhibiteur est très puissant puisqu'il est capable d'inhiber la croissance des cellules tumorales à des

concentrations de l'ordre du nanomolaire, ce qui conforte le fait qu'il représente un traitement de choix pour tuer les cellules cancéreuses. Actuellement, de nombreux essais cliniques de phase I dans la LAM (Hedley D et al., 2016) et de phase II/III dans le mélanome métastatique (O'Day SJ et al., 2009) (O'Day SJ et al., 2013) ont été ou sont toujours en cours de réalisation. Dans un essai de phase III, la combinaison elesclomol-paclitaxel donne des résultats assez hétérogènes en termes de survie en comparaison aux patients recevant uniquement le paclitaxel. Cette étude a tenu compte du statut LDH des patients discriminant les patients avec activité LDH normale de ceux ayant une activité LDH élevée. Cette étude a permis de démontrer que la LDH représente un facteur prédictif de la réponse au traitement puisque les patients ayant une activité LDH normale répondent mieux à la combinaison elesclomol + paclitaxel que les patients ayant une activité LDH élevée. Ces résultats confortent le fait que l'elesclomol ne cible que les mitochondries métaboliquement actives et ne être utilisé que dans des cellules cancéreuses ayant une OxPHOS fonctionnelle (Yadav AA et al., 2013).

## 2.2. L'import du pyruvate via l'inhibition de la PDK :

Une façon d'impacter le développement tumoral est de reverser l'effet warburg en réactivant la mitochondrie. Pour cela, il est nécessaire de réactiver la PDH qui permet l'oxydation du pyruvate et son utilisation au travers le cycle de Krebs. Dans ce contexte, l'utilisation du dichloroacétate (DCA), inhibiteur de la PDK semble être intéressante. Le DCA est un booster de l'activité mitochondriale initialement utilisé dans le traitement des maladies mitochondriales chez le jeune enfant. Au vu de l'absence d'effets secondaires majeurs, il paraît être une bonne alternative pour le traitement du cancer.

Des études in vitro sur des cellules cancéreuses de poumon, de glioblastome et de sein ont démontré qu'il permet de reverser l'effet warburg en augmentant l'utilisation du pyruvate et en diminuant ainsi la production de lactate. La réactivation de la fonction mitochondriale se traduit par une augmentation de la consommation d'oxygène et par conséquent la production de ROS entraînant une chute de la prolifération cellulaire puis la mort cellulaire par apoptose. In vivo, il permet de diminuer la formation de tumeur dans un modèle de cancer du poumon chez le rat (Kankotia S et al., 2016).

Cependant, en dépit de ces résultats encourageants, l'utilisation en essai clinique de phase I pour des tumeurs malignes du cerveau ou dans différents cancers solides ont démontré une neurotoxicité importante du DCA. De plus, la clairance plasmatique du DCA est relativement élevée (la demi-vie est d'environ 1 heure) ce qui nécessite un traitement avec des doses élevées (impossible du fait des effets secondaires) et/ou un traitement relativement long pour constater une accumulation plasmatique du DCA (Michelakis ED et al., 2010) (Chu QSC et al., 2015) (Dunbar EM et al., 2014).

En parallèle, des études in-vitro et in-vivo ont clairement démontré que l'utilisation de faible concentration de DCA se solde par un effet inverse. En effet, de faible concentration de DCA permet la progression tumorale dans les tumeurs de neuroblastome chez la souris (Feuerecker B et al., 2015). Ces effets ont été associés à une réactivation de la mitochondrie et une production de ROS n'affectant pas la survie des cellules cancéreuses (Niewisch MR et al., 2012).

### 2.3. Les voies métaboliques mitochondriales :

- **Glutaminase :**

De nombreux cancers tels que les cancers du sein, du poumon, du foie, le glioblastome ou encore la leucémie sont caractérisés par une dépendance au métabolisme de la glutamine pour leur développement. Dans ce contexte, cibler le métabolisme semble être une cible intéressante pour le traitement des cancers.

Une cible potentielle et prometteuse est la glutaminase (GLS). La GLS est une enzyme qui convertie la glutamine en glutamate existant sous 2 isoformes : la GLS1 (Kidney glutaminase) exprimée préférentiellement dans les cellules prolifératives et surexprimée dans les cancers et la GLS2 (Liver glutaminase) exprimée dans les tissus normaux et retrouvée préférentiellement dans les cellules quiescentes.

Des études ont démontré dans l'hépatocarcinome qu'il existe un switch métabolique de GLS2 vers GLS1. En effet, en utilisant différents stades pathologiques conduisant à l'hépatocarcinome, on constate une diminution de l'expression de GLS2 au profit de celle de GLS1. Par ailleurs, l'expression de GLS1 représente un marqueur de diagnostic et de mauvais pronostic dans le carcinome hépatocellulaire.

L'implication de GLS1 dans le développement tumoral a été observée dans différentes lignées de cellules cancéreuses au travers son inhibition. En effet, l'inhibition de la GLS1



par sh-RNA se traduit par une diminution de la formation des colonies des cellules KRAS mutées et par une inhibition de la croissance sans ancrage induite par KRAS. De plus, l'inhibition de GLS1 diminue également la croissance oncogénique induite par la RhoGTPase dans les fibroblastes. Par ailleurs, dans le cancer du sein, le lymphome ou le glioblastome muté IDH, son inhibition a pour conséquence de diminuer la croissance des cellules cancéreuses.

Plusieurs inhibiteurs ont vu le jour dans le but de contrer le métabolisme de la glutamine. Parmi eux, le DON (5-oxo-norleucine) permet de diminuer de 20 fois la croissance tumorale dans un modèle murin de glioblastome multiforme comparé aux souris non traitées ainsi que de diminuer les métastases hépatiques, pulmonaires et rénales (Shelton LM et al., 2010). Cependant, son utilisation reste limitée car elle s'avère toxique.

Le BPTES est un inhibiteur de la GLS1 (variant KGA et GAC). Il permet d'induire l'apoptose des cellules de cancer du sein triple négatif (TNBC) et inhibe la croissance de xénogreffes murines initiées avec des cellules transformées c-myc de lymphome. Les changements oncogéniques régulent le métabolisme de la glutamine et par ailleurs la réponse au BPTES. En effet, les oncogènes c-myc et KRAS régulent l'ensemble des enzymes du métabolisme de la glutamine et semblent être essentiels. Dans le cancer du sein TNBC et le cancer ovarien, l'oncogène c-myc est indispensable aux effets du BPTES puisque les cellules c-myc négatives sont insensibles à ses effets apoptotiques (Chen L et al., 2016). Ces résultats ont également été confirmés dans le cancer ovarien où l'inhibition de c-myc via le composé 10058-F4 se traduit par une diminution de l'expression de la GLS ce qui explique en partie l'absence de réponse au BPTES (Hudson CD et al., 2016). Dans le mélanome résistant au vémurafénib, l'acquisition de la mutation NRAS est essentielle au métabolisme de la glutamine et donc au fonctionnement du BPTES puisque le kdNRAS se traduit par une diminution de la sensibilité des mélanomes au BPTES.

D'autres inhibiteurs comme le composé 968, inhibiteur de la glutaminase (variant d'épissage GAC) permet d'inhiber la prolifération, la migration, et l'invasion des cellules cancéreuses pulmonaires NSCLC. Bien qu'efficace en tant qu'agent seul, des études tendent à le combiner à des inhibiteurs de tyrosine kinase pour surpasser la résistance

de certains cancers. C'est notamment le cas dans le cancer du poumon NSCLC, où le composé 968 est combiné à l'erlotinib (inhibiteur EGFR). Cette combinaison surpasse la résistance acquise des cellules à l'erlonib mais uniquement dans le cas de résistance due à l'amplification de l'oncogène Met ou due à la mutation T790M sur le domaine kinase de l'EGFR et non pas la résistance acquise suite à la mutation de PTEN (Xie C et al., 2015).

A l'heure actuelle, un inhibiteur de glutaminase (variant KGA et GAC de la GLS1), le CB-839 est en essai clinique de phase I dans les tumeurs solides (TNBC, NSCLC, carcinome colorectal) et dans les malignités hématologiques comme les leucémies et les myélomes multiples. Cet inhibiteur a montré des résultats précliniques encourageants. En effet, il permet d'induire des effets antiprolifératifs dans le cancer du sein TNBC. Ces effets sont marqués par une diminution du métabolisme de la glutamine associée à une diminution de la consommation d'oxygène et de la production d'intermédiaires du cycle de Krebs. Ce sous-type de cancer du sein est relativement sensible au CB-839 puisqu'il possède une très forte expression du variant GAC de la GLS1 et une activité glutaminase élevée. Dans des modèles de xénogreffe dérivée de patient, il permet de diminuer la croissance tumorale (Gross MI et al., 2014). Son utilisation clinique semble être intéressante car il possède une IC50 de l'ordre du nanomolaire. Cependant des résultats préliminaires ont mis en évidence des effets du CB-839 sur les enzymes hépatiques.

- **CPT1 :**

L'oxydation des acides gras (FAO) est nécessaire au développement tumoral. Cette oxydation est permise notamment par l'expression de CPT1, enzyme limitante dans le transport des AG à longue chaîne pour la  $\beta$ -oxydation. De nombreux cancers comme celui du sein, de la prostate ou le glioblastome surexpriment cette enzyme pour augmenter la survie cellulaire notamment au travers la consommation d'O<sub>2</sub>. CPT1 est considéré dans ces cancers comme une cible thérapeutique pour lequel un inhibiteur, l'etomoxir, est utilisé. Dans le glioblastome, l'etomoxir permet d'inhiber la production d'ATP et altère la génération de NADPH ce qui a pour conséquence l'accumulation des ROS et la mort cellulaire (Pike LS et al., 2011). Dans le cancer de la prostate, l'etomoxir permet d'augmenter la survie de modèles murins xénogreffés (Schlaepfer IR et al., 2014). Dans certaines leucémies comme la LAM, l'etomoxir montre des effets négligables sur la mort cellulaire dus en partie au switch des cellules cancéreuses vers

d'autres voies métaboliques. C'est pourquoi certaines études le combinent à d'autres agents anticancéreux comme le cisplatine, l'arsenic trioxyde ou l'etoposide afin d'augmenter les effets de ces thérapies sur la mort cellulaire (Estan MC et al., 2014). Dans l'adénome pulmonaire, la combinaison etomoxir – paclitaxel a permis de surpasser la résistance de ces cellules à cette chimiothérapie (Li J et al., 2013).

#### 2.4. L'isocitrate dehydrogenase 2 (IDH2) :

La mutation de l'isocitrate dehydrogenase 2 conduit à la formation du 2-hydroxyglutrate, oncométabolite impliqué dans le phénotype tumoral. Il existe plusieurs inhibiteurs de l'IDH2<sup>mut</sup> tels que l'AGI-6780 ou son dérivé l'AGI-221. Des études précliniques ont démontré l'efficacité de l'AGI-6780 sur des cellules leucémiques IDH2<sup>R140Q</sup> ou il est capable de reverser l'hyperméthylation de l'ADN et des histones ainsi que d'induire la différenciation cellulaire (Kernytsky A et al., 2016) (Wang F et al., 2013). L'AGI-221 est actuellement en essai clinique de phase I/II dans les gliomes et de phase II dans la LAM. Le traitement des patients atteints de LAM dans un essai clinique de phase I a démontré une chute du 2-HG plasmatique de 98% chez les patients IDH2<sup>R140Q</sup> et de 88% chez les patients IDH2<sup>R172K</sup> ainsi que des résultats encourageants en termes de survie globale (Stein EM et al., 2015).

#### 2.5. L'Adenosine Nucleotide Translocase (ANT) :

L'ANT est une cible mitochondriale intéressante du fait de son rôle à la fois dans la transition de perméabilité mitochondriale mais également dans le métabolisme au travers l'échange d'ATP de la matrice mitochondriale vers le cytosol permettant la conversion du glucose en G-6-P par l'hexokinase II (mitochondriale). Dans le but d'inactiver l'ANT, deux inhibiteurs ont été mis au point, le GSAO (4-(N-(S-glutathionylacetyl)amino) phenylarsonous acid) et le PENA0 (4-(N-(S-penicillaminylacetyl)amino) phenylarsonous acid). Ces agents sont des composés arseniques qui inhibent l'ANT via un cross-linking des cystéines 57 et 257. Dans le glioblastome, l'utilisation de PENA0 permet un arrêt de la prolifération associé à des modifications métaboliques comme une diminution de la respiration mitochondriale, une production de ROS et la dépolarisation mitochondriale aboutissant à l'apoptose

mitochondriale (Shen H et al., 2015). Bien que le GSAO ait fait l'objet d'un essai clinique de phase I pour les tumeurs solides de stade avancé (Horsley et al., 2013) ; le PENAO semble aujourd'hui être privilégié. En effet, le PENAO a une meilleure pharmacocinétique (il s'accumule beaucoup plus rapidement), une meilleure activité antiproliférative (44 fois supérieure) et de meilleurs effets antitumoraux (20 fois supérieure) que le GSAO chez la souris (Park D et al., 2012). Actuellement, le PENAO est en essai clinique de phase I/II dans les tumeurs solides réfractaires aux thérapies standards.

## 2.6. Protéines de la famille Bcl-2 :

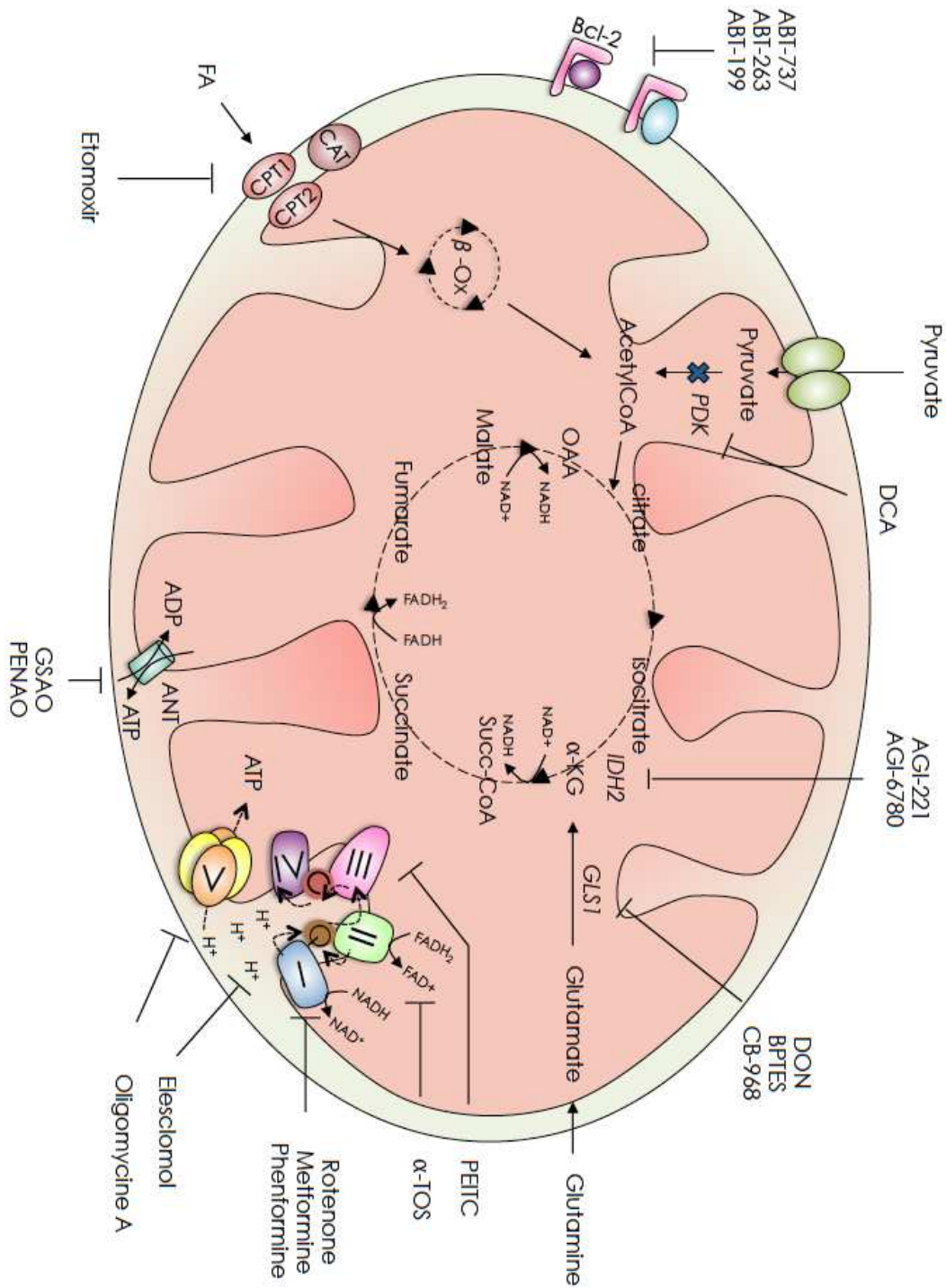
La surexpression des membres de la famille Bcl-2 (Bcl-2, Bcl-xL et Mcl-1) est associée à la maintenance, la progression et la chimiorésistance. Les protéines Bcl-2 et Bcl-xL sont localisées sur la mitochondrie et séquestrent les protéines proapoptotiques BH3-only comme Bim empêchant l'apoptose mitochondriale. Dans le cadre du traitement des cancers a été développé des peptides BH3-only mimétiques qui vont venir bloquer l'interaction des protéines antiapoptotiques (via l'interaction avec le domaine BH3) avec les protéines BH3-only, permettant ainsi l'induction d'apoptose. Différents inhibiteurs ont émergé comme l'ABT-737, l'ABT-263 (navitoclax) et l'ABT-199 (venetoclax) qui inhibent préférentiellement Bcl-2 (Tse C et al., 2008).

L'ABT-737 démontre une bonne activité antitumorale en tant qu'agent seul dans les modèles du cancer du poumon à petites cellules (SCLC) ainsi que dans les malignités lymphoïdes. Cependant, le fait qu'il ne soit pas disponible en traitement oral limite son utilisation et a conduit au développement de l'ABT-263 (navitoclax). Cet inhibiteur permet la régression tumorale complète dans le cancer du poumon SCLC et dans la leucémie lymphoïde aigüe (LLA). Cependant, l'utilisation de cet agent semble n'avoir aucun effet dans les myélomes multiples ainsi que dans les lymphomes B. Ceci peut s'expliquer par la surexpression de protéines antiapoptotiques comme Mcl-1, non inhibé par ce composé. Afin de pallier à cet inconvénient, le navitoclax peut être combiné à d'autres thérapies comme notamment le bortezomib (diminue l'expression de Mcl-1) dans le cancer du poumon SCLC ce qui permet de potentialiser l'effet du bortezomib (Shoemaker AR et al., 2008). Un autre inconvénient majeur du Navitoclax est son absence de spécificité. En effet, en plus d'inhiber Bcl-2, il inhibe également la protéine

Bcl-xL ce qui induit des thrombocytopénies réversibles. Cela nécessite un contrôle assidu lors des essais cliniques mis en place puisque l'effet thrombocytopénique peut limiter son utilisation. L'inhibition de Bcl-2 sans toucher à Bcl-xL et donc éviter la thrombocytopénie représente un challenge du fait du fort degré d'homologie entre ces deux protéines.

L'ABT-199 (venetoclax) est un inhibiteur de Bcl-2 avec une très faible affinité pour Bcl-xL. Il inhibe la croissance tumorale dépendante de Bcl-2 dans des modèles de leucémie lymphoïde chronique (CLL) et dans le lymphome non Hodgkinien (NHL) et a peu d'effet sur les plaquettes circulantes (Souers AJ et al., 2013).

A l'heure actuelle, de nombreux essais cliniques sont en cours pour le navitoclax et le venetoclax que ce soit en agent seul ou en combinaison avec d'autres thérapies.



**Figure 33 : Figure récapitulative des agents ciblant la mitochondrie.**

Le ciblage mitochondrial peut être multiple. Parmi celles-ci, le ciblage des différents complexes de la CRM ou encore le ciblage des substrats mitochondriaux comme le pyruvate, de glutamine ou d'acides gras. D'autres cibles comme l'ANT ou encore les membres de la famille des protéines impliquées dans l'apoptose Bcl-2 existent. \* Schéma inspiré de Marchetti P et al., 2015



# PROBLEMATIQUE

Les travaux d'Otto Warburg ont démontré que les cellules cancéreuses possèdent un métabolisme particulier privilégiant l'utilisation de la glycolyse pour métaboliser le glucose au détriment de la phosphorylation oxydative mitochondriale. L'hypothèse de la défaillance mitochondriale a permis pendant de nombreuses années d'expliquer ce shift métabolique. Si la mitochondrie fut longtemps délaissée pour l'étude du métabolisme des cellules tumorales, elle apparaît aujourd'hui avoir un rôle essentiel dans la tumorigenèse. En effet, étant la source principale de synthèse d'ATP mais est également le lieu de réactions anaboliques et cataboliques, la mitochondrie supporte le développement tumoral. Outre son activité sur le métabolisme, la mitochondrie est également impliquée dans la réponse aux stress cellulaires, comme par exemple le stress réticulaire en régulant notamment l'autophagie ou la mort des cellules cancéreuses.

Des études et notamment celles de Lavandro ont démontré qu'il existe un lien entre le métabolisme mitochondrial et la réponse au stress réticulaire. En effet, lors de stress réticulaire, la mitochondrie peut communiquer avec le réticulum endoplasmique via les MAMs afin de permettre l'échange de calcium. Le calcium est un messager cellulaire pouvant induire une augmentation de la fonction mitochondriale mais également la mort cellulaire, en fonction de l'intensité du stress ressenti. Les auteurs ont mis en évidence que lors des phases précoces du stress réticulaire, la mitochondrie établit des contacts avec le RE dans le but de créer un « boost » de la fonction mitochondriale. Ce « boost » mitochondrial est induit par le calcium et a pour but de favoriser l'adaptation et la survie des cellules cancéreuses. Cependant, lors d'un stress réticulaire tardif, l'influx calcique au sein de la mitochondrie déclenche la mort par apoptose. L'objectif de mon travail a été d'étudier le lien entre le métabolisme mitochondrial et la réponse au stress réticulaire dans des modèles cellulaires exprimant la protéine GILZ ou dans le mélanome BRAF<sup>V600E</sup> en réponse aux inhibiteurs de kinases oncogéniques.

Les effets des glucocorticoïdes sur la réponse au stress réticulaire ont déjà été étudiés. En effet, l'équipe de McGuckin a démontré dans un modèle de d'inflammation intestinale que la dexaméthasone permet de réprimer les voies impliquées dans la réponse au



stress réticulaire. Ceci a pour conséquence la résistance des cellules à la mort induite par ces stress (Das I et al., 2013). Dans notre étude, nous nous sommes demandés si l'expression de GILZ permet également la survie lors de stress réticulaire ? Si, c'est le cas, est-ce que son expression module la signalisation UPR induite lors du stress réticulaire ? Des études ont soulevé l'importance de la fonction mitochondriale dans la survie au stress réticulaire. Dans notre étude, la fonction mitochondriale est-elle importante pour les effets de GILZ lors d'un stress réticulaire ?

Plusieurs arguments nous laissent supposer que GILZ pourrait être impliquée dans le métabolisme des cellules cancéreuses. En effet, dans les cellules d'hépatocarcinome, GILZ permet la répression d'un facteur clé impliqué dans le métabolisme glycolytique, le facteur HIF-1 $\alpha$  (Lim W et al., 2014). Dans ce même modèle, l'utilisation de DEX permet également une augmentation de la fonction mitochondriale qui se caractérise par l'augmentation de la respiration mitochondriale, ainsi qu'une plus forte production d'ATP et de ROS. (Hernandez Alvarez M, 2013). Dans notre étude, nous nous sommes demandés si GILZ a des effets sur le métabolisme mitochondrial. Si c'est le cas, comment ? Est-ce que GILZ influe sur la biogenèse mitochondriale ou plutôt sur l'utilisation des nutriments par la cellule ?

L'augmentation du métabolisme mitochondrial peut être une opportunité thérapeutique en vue d'éliminer les cellules cancéreuses notamment via l'utilisation de prooxydants. Est ce que les modifications métaboliques induites par GILZ peuvent être exploitées en vue d'éradiquer les cellules cancéreuses leucémiques ?

Dans un autre contexte tumoral, je me suis intéressée à la régulation pharmacologique du métabolisme mitochondrial et son effet sur la mort cellulaire induite par le stress réticulaire dans un modèle de mélanome métastatique BRAF<sup>V600E</sup>.

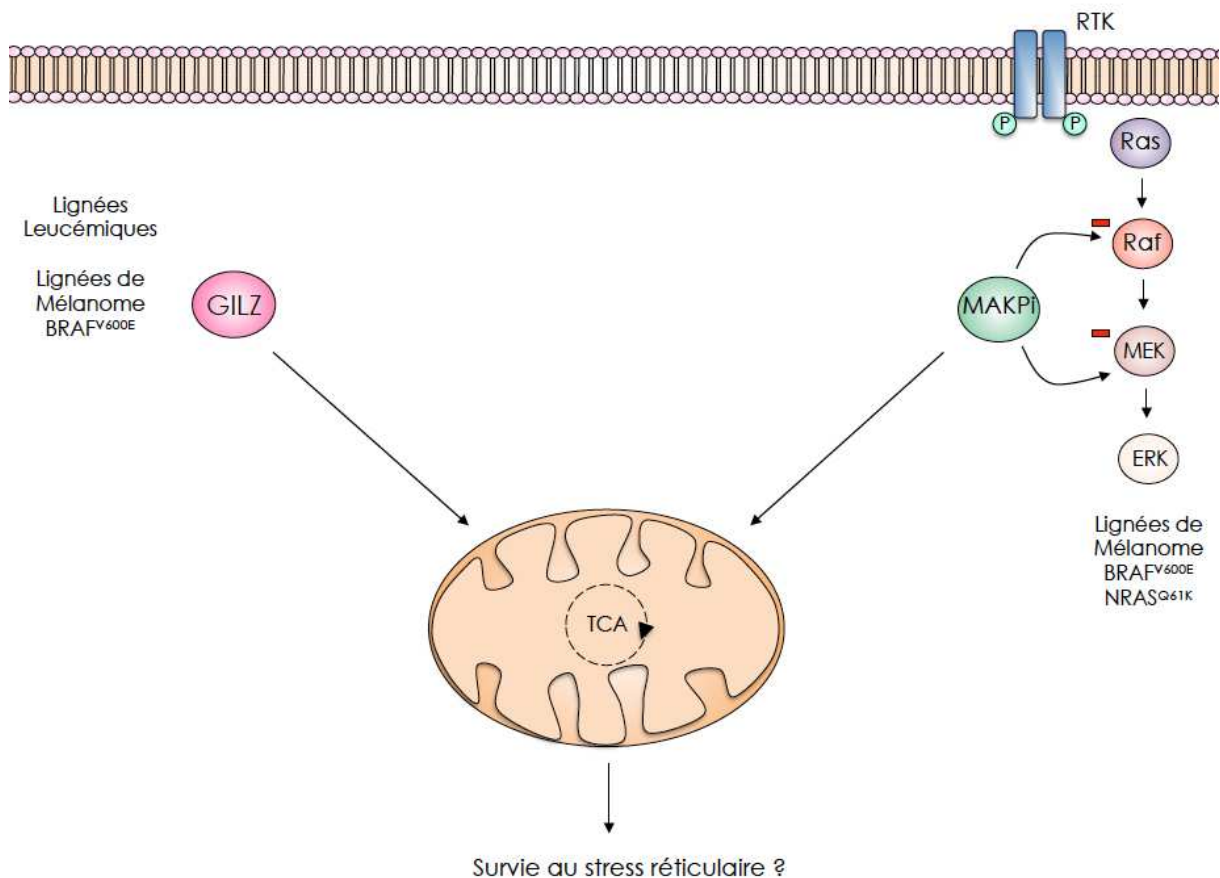
Les MAPKi sont connus pour reprogrammer le métabolisme mitochondrial dans le mélanome. En effet, nous avons démontré que l'inhibition de BRAF<sup>V600E</sup> par le vémurafénib se traduit par une inhibition de la glycolyse et une augmentation de la fonction mitochondriale (Annexe Article N°4).

En plus des effets métaboliques, il a été démontré que les MAPKi induisent un stress réticulaire. En effet, dans le mélanome, les BRAFi comme le PLX4270 induisent un stress réticulaire dépendant de l'activation de la voie PERK. Ceci permet à une sous population

de cellules devenues résistantes de survivre à ce stress. Dans notre étude, nous nous sommes demandés quel est le lien entre le métabolisme mitochondrial modulé par les BRAFi et la réponse au stress réticulaire ?

Tout d'abord, quels sont les changements mitochondriaux induits par l'exposition aux BRAFi ? Est-ce que la modulation du métabolisme mitochondrial par les BRAFi permet d'induire la réponse UPR ? Permet-il la survie des cellules de mélanome lors d'un stress réticulaire ? Si c'est le cas, comment ? Cela implique-t-il les MAMs et la signalisation calcique ?

Ces études pourraient nous apporter de nouvelles connaissances sur le lien entre le métabolisme mitochondrial et la réponse au stress cellulaire dans les cellules cancéreuses, ce qui pourrait représenter une cible thérapeutique intéressante.



**Figure 34: La réponse mitochondriale face aux stress cellulaires est influencée par l'expression de GILZ et par les inhibiteurs de kinases oncogéniques.**

Les glucocorticoïdes et les thérapies ciblées ont des effets sur le métabolisme mitochondrial. Dans notre étude, nous avons étudié l'intégration de ces signaux par la mitochondrie en réponse à un stress réticulaire.



# **RESULTATS**

---

## **ARTICLE 1**



## RÉSUMÉ ARTICLE 1 – ANNEXE 1

De nombreuses études démontrent que la stimulation oncogénique permet l'induction d'un stress réticulaire basal dans les cellules cancéreuses. En effet, les cellules cancéreuses ont un taux de prolifération très élevé dans le but de synthétiser rapidement des protéines et des membranes permettant le développement tumoral. De plus, elles résident dans des environnements hostiles, souvent hypoxique et avec un apport en nutriments limité. De nombreuses études ont montré que les cellules cancéreuses présentent une activation de la réponse UPR, voie impliquée dans la réponse au stress réticulaire dans le but de survivre à ces conditions.

Il existe des zones de communications entre le réticulum endoplasmique et la mitochondrie qui favorisent les échanges de calcium. Ces échanges calciques auraient des répercussions sur le métabolisme des cellules cancéreuses en augmentant notamment l'OxPHOS et pourraient également contrôler la vie et la mort des cellules tumorales.

Dans cette étude, nous avons démontré que GILZ permet d'atténuer la mort induite par le stress réticulaire dans des lignées cancéreuses leucémiques et dans des mélanomes BRAF<sup>V600E</sup> au travers l'activation de la phosphorylation oxydative mitochondriale.

Afin d'étudier le rôle de GILZ dans la réponse au stress réticulaire, la protéine GILZ a été surexprimée dans un modèle de leucémie DA1. Puis, nous avons induit un stress réticulaire par le traitement des cellules à la tunicamycine ou la thapsigargine. Nous avons observé que l'expression de GILZ dans la lignée DA1 atténue l'apoptose mitochondriale induite par la thapsigargine et la tunicamycine. Ces résultats ont été confirmés dans d'autres modèles cellulaires comme les leucémies BCR/ABL+ et la lignée de mélanome BRAF<sup>V600E</sup> SKMEL28. Le rôle endogène de GILZ dans la réponse au stress réticulaire a également été étudié en induisant son expression via le traitement des cellules leucémiques à la dexaméthasone (DEX). Pendant que la DEX protège de la mort induite par la tunicamycine, l'inhibition de l'expression de GILZ via un siRNA dans des cellules traitées à la DEX altère la capacité de celle-ci à protéger de l'apoptose induite par la tunicamycine. Nous avons ensuite regardé si l'expression de GILZ permet de moduler les voies impliquées dans la réponse au stress cellulaire. Nous avons constaté que la surexpression de GILZ module la voie UPR en inhibant notamment l'expression de

CHOP, ATF4 et XBP1s. De plus, elle augmente légèrement l'expression de GRP78 et P-Eif2a en réponse à la tunicamycine. Ces résultats suggèrent que les cellules surexprimant GILZ sont mieux armées pour faire face au stress réticulaire.

Des études ont démontré que l'activité mitochondriale peut protéger de la mort cellulaire induite par le stress du RE. Nous avons donc regardé les effets de GILZ sur la mitochondrie, lors de traitements à la tunicamycine et à la thapsigargine. Alors que les cellules DA1 ont un réseau mitochondrial fragmenté lors du stress réticulaire, les cellules surexprimant GILZ maintiennent l'intégrité de leur réseau mitochondrial. Cette protection contre le remodelage mitochondrial s'effectue via une augmentation de la fonction mitochondriale comme le démontre l'augmentation de la consommation d'O<sub>2</sub> et de la production d'ATP. L'intégrité mitochondriale s'avère être importante pour l'effet protecteur de GILZ puisque l'induction d'un stress réticulaire dans des cellules suexprimant GILZ mais également déplétées de leur fonction mitochondriale (rho0) ne protège pas de la mort par apoptose.

Ces études révèlent un nouveau rôle de la protéine GILZ, comme agent cytoprotecteur contre le stress réticulaire au travers une voie impliquant le métabolisme mitochondrial.

Publication:

**André, F.**, Corazao-Rozas, P., Idziorek, T., Quesnel, B., Kluza, J. & Marchetti, P. GILZ overexpression attenuates endoplasmic reticulum stress-mediated cell death via the activation of mitochondrial oxidative phosphorylation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 478, 513–520 (2016).





## **RESULTATS**

### **ARTICLE 2**



## RÉSUMÉ ARTICLE 2 – ANNEXE 2

Le métabolisme mitochondrial est influencé par les oncogènes mais également par les facteurs environnants et notamment les glucocorticoïdes. Dans notre étude, nous nous sommes intéressés à la protéine GILZ et ses effets sur le métabolisme mitochondrial. Cette étude s'appuie sur des travaux réalisés par plusieurs équipes qui nous laissent supposer que GILZ pourrait être impliquée dans le métabolisme des cellules leucémiques. Tout d'abord, il a récemment été démontré que GILZ permet l'inhibition d'expression du facteur HIF-1 $\alpha$  dans des cellules d'hépatocarcinome (Lim W et al. 2014). De plus, il a été démontré qu'en plus d'être une voie de signalisation permettant la prolifération et la survie des cellules cancéreuses, la voie mTORC2 a un rôle important dans la régulation du métabolisme énergétique. En effet, il a été démontré dans le glioblastome multiforme que mTORC2 permet une reprogrammation métabolique en faveur de la glycolyse. Ceci se traduit par une augmentation de la phosphorylation d'Akt sur la serine 473 permettant l'expression de c-myc. Ce qui a pour conséquence d'induire l'augmentation de l'expression des transporteurs de glucose et une surexpression des enzymes de la glycolyse telles que l'Hexokinase 2 (HK2), le Phosphofructokinase - 1 (PFK1), la Lactate dehydrogenase A (LDH-A) ainsi que la Pyruvate déhydrogenase kinase 1 (PDK1) (Masui K et al, 2013). Nous pouvons supposer qu'au travers l'inhibition de mTORC2, GILZ influencerait le métabolisme énergétique. Enfin, l'utilisation de dexaméthasone dans des hépatocarcinomes permet une augmentation de la fonction mitochondriale. Ceci se traduit par une augmentation de la consommation d'oxygène ainsi qu'une plus forte production d'ATP et de ROS. (Hernandez Alvarez M, 2013).

Afin d'étudier le rôle de GILZ dans la modulation du métabolisme mitochondrial, la protéine GILZ a été surexprimée dans des modèles de leucémie, les DA1 (BCR/ABL WT) et les DA1-3bM1 (BCR/ABL<sup>E255K</sup>) et dans un modèle de mélanome BRAF<sup>V600E</sup>, la lignée A375. Nous avons observé que l'expression de GILZ dans ces différents modèles permet d'augmenter l'OxPHOS mitochondrial. Ceci se traduit par une augmentation de respiration basale et de la capacité maximale respiratoire dans les différentes lignées. Cette augmentation de consommation d'O<sub>2</sub> induite par GILZ permet également une production d'ATP plus importante. Nous avons démontré que GILZ augmente la consommation d'O<sub>2</sub> de façon dose-dépendante grâce à la transfection de quantité

croissante de protéine GILZ. Ces effets sont réversibles puisque que l'augmentation de consommation d'O<sub>2</sub> induite par GILZ à 24h est abolie à 48h, lors de la perte d'expression de GILZ.

Le rôle endogène de GILZ dans le métabolisme mitochondrial a également été étudié en induisant son expression via le traitement des cellules leucémiques à la dexaméthasone (DEX). Pendant que la DEX permet une augmentation de consommation d'O<sub>2</sub> (Basale, capacité maximale respiratoire et respiration couplée à la synthèse d'ATP), l'inhibition de GILZ via un siRNA dans les cellules traitées à la DEX abolie ces effets. Ceci démontrant bien l'implication de GILZ dans l'augmentation du métabolisme mitochondrial.

Nous avons ensuite essayé de comprendre comment GILZ permet d'augmenter le métabolisme mitochondrial. Nous n'avons pas observé de plus forte biogenèse mitochondriale dans les cellules surexprimant GILZ. En effet, ni la masse mitochondriale (observée via l'utilisation de MitoTracker Green), ni l'expression de protéines impliquées dans la formation des complexes mitochondriaux, ni l'expression des facteurs impliqués dans la biogenèse mitochondriale PGC1 $\alpha$  et  $\beta$  n'est augmentée. Nous avons également démontré sur des mitochondries isolées, qu'il n'y a pas de plus forte participation d'un des complexes de la CRM à la consommation d'O<sub>2</sub> induite par GILZ.

Nous avons ensuite regardé si la surexpression de GILZ permet une meilleure utilisation des nutriments par la mitochondrie expliquant ainsi nos effets métaboliques. Nous avons observé que les lignées surexprimant GILZ ont une consommation plus importante de glucose et un relargage plus important de lactate. Cette meilleure utilisation du glucose est permise via une plus forte relocalisation membranaire des transporteurs de glucose Slc2A1 et Slc2A3 dans les lignées surexprimant GILZ. En plus, d'utiliser le glucose pour augmenter le métabolisme mitochondrial, les cellules surexprimant GILZ présentent également une meilleure utilisation des acides gras et de la glutamine.

Nous nous sommes demandés quel pourrait être l'avantage de cette augmentation du métabolisme mitochondrial induit par GILZ et nous avons observé que l'expression de GILZ permet, tout d'abord d'augmenter la prolifération des cellules leucémiques et de mélanome BRAF<sup>V600E</sup> à l'état basal mais également en réponse à différents stress comme la privation en glucose et en glutamine. Cette augmentation de prolifération est permise par l'augmentation du métabolisme mitochondrial puisqu'elle est abolie lors de

l'utilisation de lignées de mélanome A375 dépourvues de fonction mitochondriale (rho0).

Nous avons démontré que l'augmentation du métabolisme mitochondrial induit par GILZ peut être utilisée pour resensibiliser les cellules leucémiques à la mort cellulaire dépendante de la production de ROS, notamment par l'utilisation d'agents prooxydants comme l'esclomol et la ménadione, ce qui pourrait représenter un intérêt thérapeutique.

Article soumis pour publication le 1<sup>er</sup> décembre 2016



## **RESULTATS**

---

### **ARTICLE 3**





## RÉSUMÉ ARTICLE 3 –ANNEXE 3

Depuis quelques années, de nouvelles thérapies pour le traitement des cancers ont émergé. Ces thérapies ciblent des kinases oncogéniques impliquées dans la tumorigenèse comme BRAF<sup>V600E</sup> dans le mélanome, ciblée par le vémurafénib. Les MAPKi sont connus pour induire un stress réticulaire souvent létal pour les cellules cancéreuses. Cependant une sous-population de cellules cancéreuses va persister et pouvoir être à l'origine de résistance aux thérapies anticancéreuses. De nombreuses études ont démontré qu'il existe un lien entre la réponse aux thérapies ciblées et le métabolisme énergétique notamment en inhibant la captation de glucose dans les cellules cancéreuses, bien avant leur mort.

Nos études ont également mis en évidence la modulation du métabolisme mitochondrial dans les cellules BRAF<sup>V600E</sup> en réponse au vémurafénib. En effet, nous avons démontré que le vémurafénib augmente la respiration mitochondriale ainsi que la production de ROS dans les lignées cellulaires BRAF<sup>V600E</sup>. De plus, il semblerait que les cellules devenues résistantes aux BRAFi gardent cette caractéristique métabolique ce qui les rend vulnérables aux agents prooxydants (**Annexe Article 4**).

Dans cette étude, nous avons également démontré que les cellules de mélanome augmentent leur métabolisme mitochondrial dans le but de survivre au stress induit par les BRAFi.

Nous avons tout d'abord mis en évidence que les cellules de mélanome BRAF<sup>V600E</sup> présentent une augmentation de l'OxPHOS mitochondriale dans le but de survivre au vémurafénib (BRAFi). Le métabolisme mitochondrial est essentiel pour la survie comme le montre la mort cellulaire induite par le vémurafénib dans des lignées de mélanomes dépourvues de fonction mitochondriale (Rho0). Nous avons ensuite démontré que l'OxPHOS mitochondriale a un rôle protecteur dans le stress réticulaire induit par le vémurafénib puisque son inhibition par l'utilisation d'oligomycine A se traduit par l'augmentation de la signalisation UPR (surexpression de p8, GRP78 et CHOP) et l'apoptose.

Les études réalisées par Bravo ont démontré que le couplage entre le RE et la mitochondrie permet l'échange de calcium pouvant réguler la vie et la mort des cellules

cancéreuses. Dans notre étude, nous avons démontré par microscopie confocale que le traitement au vémurafenib permet le remodelage du réseau mitochondrial autour du réticulum endoplasmique facilitant la recapture du calcium et permettant ainsi de protéger de la mort cellulaire. Les interactions entre le RE et la mitochondrie sont nécessaires pour la survie au stress réticulaire induite par les BRAFi. En effet, nous avons observé que l'altération du couplage RE - mitochondrie via l'inhibition de la protéine MFN-2 permet d'augmenter le stress réticulaire comme le montre la surexpression de CHOP et de p8 ainsi que l'apoptose (démontrée par le clivage de la PARP) induite par le stress réticulaire, dans les cellules A375 exposées au vémurafénib. La protection de la mort vis à vis du vémurafénib induite par MFN-2 a également été observée in vivo dans des xénogreffes murines. En effet, le shMFN-2 permet in vivo de réduire la taille des tumeurs chez les souris traitées au vémurafenib.

Ce contrôle mitochondrial de la mort cellulaire induite par le stress réticulaire n'est pas spécifique aux BRAFi comme le vémurafenib puisque nous observons des résultats similaires dans lors du traitement des cellules A375 au Cobimetinib, inhibiteur de MEK ; à savoir la protection contre la mort induite par les MEKi via l'augmentation du métabolisme mitochondrial. En effet, les cellules A375 rho0 et les cellules A375 Mfn2-Kd exposées à l'oligomycine A sont plus sensibles à la mort induite par le cobimetinib que les cellules A375 traitées à l'oligomycine A. Nous avons aussi démontré par l'utilisation de lignées de mélanomes portant des mutations NRAS<sup>Q61K</sup>, que cet effet n'est pas spécifique de l'activation de BRAF, puisque l'inhibition de l'OxPHOS mitochondriale des cellules NRAS mutées par l'oligomycine A potentialise, la mort cellulaire induite par le cobimetinib.

Ces résultats renforcent le fait qu'il est nécessaire de coupler les thérapies ciblées avec des agents inhibant la fonction mitochondriale.

Publication:

**Corzaao-rozas, P.,** Guerreschi, P., André, F., Gabert, P.E., Lancel, S., Dekioux, S., Fontaine, D., Tardivel, M., Savina, A., Quesnel, B., Mortier, L., Marchetti, P. & Kluza, J. Mitochondrial oxidative phosphorylation controls cancer cell 's life and death decisions upon exposure to MAPK inhibitors. *Oncotarget* 7, 39473–39485 (2016).



## **DISCUSSION**



## DISCUSSION PARTIE 1

La mitochondrie est un organite crucial à la fois dans la survie et la mort des cellules tumorales. De nombreuses études ont démontré son importance dans la mort cellulaire notamment au travers l'induction de l'apoptose intrinsèque ou apoptose mitochondriale, mais également en participant à d'autres types de mort cellulaire comme la nécroptose et la ferroptose.

Par ailleurs, la mitochondrie joue un rôle essentiel dans la survie des cellules cancéreuses. Notamment via son rôle énergétique en permettant la production d'ATP via le fonctionnement du cycle de Krebs ; mais également au travers de son impressionnant réseau de voies anaboliques et cataboliques permettant la génération de macromolécules comme les acides nucléiques, les lipides et les acides aminés à partir de la glutamine, des acides gras ou encore du pyruvate.

La mitochondrie est également impliquée dans la survie en réponse aux stress métaboliques comme par exemple dans la réponse autophagique (mitophagie) permettant la survie des cellules tumorales en éliminant notamment les mitochondries défectueuses ainsi qu'en activant la réponse UPR lors d'un stress réticulaire.

De nombreuses études ont démontré que les cellules cancéreuses suractivent la voie UPR en réponse au stress réticulaire dans le but de survivre à la fois aux conditions hostiles de l'environnement péri-tumoral (hypoxie, quantité limitée en nutriments) mais également pour soutenir leur besoin prolifératif important nécessaire à la synthèse rapide de protéines et de lipides. De plus, il a été largement démontré que cette réponse permet aux cellules cancéreuses d'échapper aux thérapies anticancéreuses renforçant ainsi le phénomène de résistance.

Plusieurs études ont démontré que la mitochondrie est capable de communiquer avec d'autres organites comme le réticulum endoplasmique via des jonctions appelées MAMs. Ces jonctions vont faciliter l'échange de messagers cellulaires comme le calcium afin de favoriser la vie ou la mort des cellules cancéreuses, et ce dépendamment de l'intensité du stimulus.

L'induction de la vie ou de la mort cellulaire par la mitochondrie va donc être dépendante des signaux intrinsèques et extrinsèques mais également de leur intensité.

Dans notre étude, nous avons évalué le lien entre la mitochondrie et la réponse au stress réticulaire induite par l'expression de la protéine GILZ.

(1) Nous avons observé que la surexpression de GILZ dans différentes lignées cancéreuses leucémiques et de mélanomes permet d'atténuer l'apoptose induite par un stress réticulaire (Article 1, Figure 1).

Les effets protecteurs de GILZ sur l'inhibition de la mort cellulaire ont déjà été observés par l'équipe de Chen dans des cardiomyocytes en réponse à la doxorubicine. En effet, la surexpression de GILZ inhibe l'apoptose mitochondriale comme le montre l'inhibition du relargage du cytochrome c et le clivage de la caspase 3. Ces effets sont dépendants de GILZ puisque son inhibition reverse la cytoprotection vis à vis de la doxorubicine. Comme dans notre étude, les auteurs démontrent que la surexpression de GILZ permet l'induction de la protéine antiapoptotique Bcl-XL qui représente un acteur clé dans cytoprotection induite par GILZ puisque le siBcl-XL reverse la cytoprotection dans leur étude (Aguilar D et al., 2014).

La protection des glucocorticoïdes face au stress réticulaire a déjà été abordée par l'équipe de McGuckin qui a mis en évidence que la DEX, connue pour induire GILZ, permet de supprimer le stress réticulaire induit lors du traitement à la tunicamycine. Ce qui permet aux cellules intestinales de survivre (Das I et al., 2013).

(2) Nous avons ensuite observé que l'effet cytoprotecteur de GILZ est associé à la modulation de la voie UPR en réponse aux inducteurs de stress réticulaire (Article 1, Figure 2). En effet, nous avons démontré que la surexpression de GILZ inhibe l'expression des facteurs impliqués dans la réponse UPR CHOP, ATF4 et XBP1s en réponse à la thaspigargine et à la tunicamycine. Il a également été démontré dans le modèle d'inflammation intestinale, que l'expression des acteurs de la voie UPR, GRP78, XBP1s, ATF4, ATF6 et CHOP sont également inhibés lors du traitement à la DEX. Des études menées par l'équipe de Lavandro ont démontré que CHOP est un facteur proapoptotique induit à la fois par les facteurs ATF4, XBP1s et ATF6. Son expression est associée à l'apoptose notamment via la surexpression des protéines proapoptotiques Bax/Bad et via l'inhibition de Bcl-2 (Bravo R et al., 2013). Ceci renforce le fait que l'inhibition de la réponse UPR contribue à l'effet cytoprotecteur de GILZ en réponse au stress réticulaire.

(3) L'induction de stress réticulaire dans les cellules surexprimant GILZ se caractérise par un maintien de la morphologie mitochondriale mais également une augmentation de l'OxPHOS dans les cellules leucémiques (Article 1, Figure 3). Nos résultats ont mis en évidence que les cellules surexprimant GILZ maintiennent leur intégrité mitochondriale mais présente également une augmentation de la fonction mitochondriale se traduisant par l'augmentation de la consommation d'O<sub>2</sub> et l'augmentation de production d'ATP lors du stress réticulaire. Ce résultat est très intéressant puisque l'équipe de Lavandro a démontré que face à un stress réticulaire, les mitochondries peuvent communiquer avec le réticulum endoplasmique dans le but de favoriser les échanges calciques, responsables notamment d'une augmentation de la fonction mitochondriale (Bravo R et al., 2013).

(4) L'intégrité mitochondriale s'avère être importante pour l'effet protecteur de GILZ en réponse au stress réticulaire (Article 1, Figure 4). Nous avons utilisé des lignées cellulaires de mélanome surexprimant GILZ et dépourvues d'activité mitochondriale (rho0) que nous avons soumise à la tunicamycine ou la thapsigargine. Nous avons observé que ces lignées ne sont plus capables de résister à la mort induite par le stress réticulaire. L'étude de Bravo a démontré que cette protection vis à vis de la mort est due à une augmentation du couplage entre le RE et la mitochondrie qui favorise le relargage de calcium du RE vers la mitochondrie. Le calcium est un messager cellulaire important qui module le métabolisme mitochondrial en augmentant la respiration mitochondriale et la production d'ATP mais également en activant l'isocitrate dehydrogenase et l' $\alpha$ -ketoglutarate dehydrogenase (Bravo R et al., 2012) (Decuypere JP et al., 2011). Lors du stress réticulaire précoce, le calcium peut ainsi permettre la survie des cellules cancéreuses en étant recapté par la mitochondrie, ce qui évite son accumulation cytosolique.

D'autres mécanismes ont été démontrés comme étant induits lors d'un stress réticulaire et favorisant la survie des cellules cancéreuses. C'est notamment le cas de l'autophagie. En effet, L'équipe de Ran a démontré dans le cancer du poumon NSCLC que l'inhibition de l'autophagie augmente l'apoptose induite par un stress thermique au travers la voie du stress réticulaire (Xie W.Y et al., 2016). En effet, l'induction d'un stress thermique dans les cellules cancéreuses pulmonaires se traduit par la formation



d'autophagosomes, caractéristiques de l'autophagie. L'autophagie est induite lors du stress thermique et implique l'augmentation d'expression des acteurs des voies UPR, PERK (p-PERK, p-eIF2  $\alpha$ ) et IRE1 $\alpha$  (XBP1s). Ils ont démontré que l'inhibition de l'autophagie par l'utilisation de 3 methylAdenine (3-MA) ou d'un siBeclin1 augmente l'apoptose en réponse au stress thermique dans les cellules NSCLC. In vivo, l'utilisation de chloroquine (inhibe la fusion autophagosome – lysosome) combinée à un stress thermique se traduit par une diminution de la prolifération cellulaire (diminution du marqueur de prolifération Ki-67), l'induction d'apoptose (marquage TUNEL) et la régression tumorale (Xie W-Y et al., 2016). L'induction de l'autophagie en réponse à la tunicamycine permet également de protéger contre l'hypoxie chimique (via utilisation d'antimycine A) ainsi que lors de dommages oxydatifs (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ce qui améliore l'ischémie/reperfusion dans le rein. L'inhibition de l'autophagie par utilisation de siBeclin-1, de siATG5 ou de chloroquine conduit les cellules à la mort cellulaire apoptotique comme le montre l'activation de la caspase 3. Ceci a pour conséquence d'annuler cette protection contre les dommages rénaux (Chandrika BB et al., 2015).

Notre étude a démontré pour la première fois, que la protéine GILZ a un effet cytoprotecteur en inhibant l'induction de l'apoptose mitochondriale ce qui contribue à la survie des cellules cancéreuses lors d'un stress réticulaire.

## DISCUSSION PARTIE 2

Les cellules cancéreuses possèdent un métabolisme particulier, caractérisé par une glycolyse exacerbée au détriment de la phosphorylation oxydative mitochondriale. Cependant, contrairement à ce qui fut initialement proposé par Warburg, la mitochondrie n'est pas défaillante et participe activement à la tumorigenèse. Malgré qu'elle ne puisse pas utiliser la grande majorité du pyruvate provenant du glucose (suite à l'inactivation de la PDH par la surexpression des PDKs), la mitochondrie peut assimiler d'autres substrats carbonés. En effet, elle peut utiliser la glutamine au travers la glutaminolyse pour faire fonctionner la CRM ou au travers la carboxylation réductive permettant la synthèse de macromolécules ; les acides gras au travers la  $\beta$ -oxydation ou encore le pyruvate provenant du lactate au travers sa carboxylation en oxaloacétate.

Le métabolisme des cellules cancéreuses et notamment le métabolisme mitochondrial sont influencés par des signaux cellulaires internes comme l'influence oncogénique (Expression oncogénique mais également par la perte des suppresseurs de tumeurs) et des signaux externes propres à l'environnement tumoral comme l'hypoxie, la privation en nutriments ainsi que la communication avec les cellules stromales.

Dans ce contexte, nous avons étudié l'influence d'une protéine pouvant être induite par les glucocorticoïdes, la protéine GILZ, sur le métabolisme mitochondrial.

(1) Nous avons démontré que la protéine GILZ permet d'augmenter le métabolisme mitochondrial dans les lignées leucémiques dans un modèle de mélanome BRAF<sup>V600E</sup> (Article 2, Figure 1). Ceci se traduit par une augmentation de la respiration basale et de la capacité maximale respiratoire mais également par une plus forte production d'ATP. Nous avons démontré que cette augmentation de consommation d'O<sub>2</sub> induite par GILZ est dose-dépendante et réversible.

Les glucocorticoïdes jouent un rôle dans le métabolisme mitochondrial, en effet, des études dans les cellules cancéreuses hépatiques HepG2 ont démontré que la DEX permet d'augmenter la production d'ATP (Psarra AMG et al., 2011). Une autre étude de Hernandez Alvarez, dans des hépatocarcinomes, a déjà démontré une augmentation de la fonction mitochondriale se traduisant par une augmentation de la consommation

d'oxygène des cellules ainsi qu'une plus forte production d'ATP et de ROS. (Hernandez Alvarez M, 2013).

(2) Nous avons ensuite déterminé que l'augmentation de la fonction mitochondriale dans les cellules surexprimant GILZ n'est pas due à une augmentation de la biogenèse mitochondriale mais à une meilleure utilisation des nutriments (Article 2, Figure 2 et 3).

La majorité des études sur les glucocorticoïdes et l'augmentation du métabolisme mitochondrial porte sur la biogenèse mitochondriale. En effet, il a été démontré que la DEX permet de diminuer les dommages hépatiques notamment en augmentant l'expression de PGC1 $\alpha$  et TFAM, acteurs clés de la biogenèse mitochondriale. Ceci a pour conséquence de permettre la survie et de diminuer l'apoptose (Tiao MM et al., 2011). Une autre étude, dans les cellules d'hépatocarcinome, a démontré que les GCs peuvent se lier sur des GR présents au niveau de l'ADN mitochondrial permettant ainsi la surexpression des gènes codants pour les complexes de la CRM comme la COX1, ainsi qu'une meilleure production d'ATP (Psarra AMG et al., 2011). Dans les cellules musculaires squelettiques C2C12 et dans les tissus musculaires de rats, les glucocorticoïdes induisent une augmentation de la transcription de l'ADN mitochondrial ainsi qu'une augmentation de l'activité de la COX1 (Weber K et al., 2012). Dans notre étude, nous n'avons pas vu d'effet de GILZ sur la biogenèse mitochondriale.

Cependant, la mitochondrie peut fonctionner grâce à l'utilisation des nutriments comme la glutamine qui va être convertie en glutamate puis en  $\alpha$ -KG permettant ainsi le fonctionnement du cycle de Krebs et la production des cofacteurs nécessaires au fonctionnement de la CRM. Les lipides peuvent emprunter la  $\beta$ -oxydation dans le but de fournir de l'acetylCoA nécessaire au fonctionnement du cycle de Krebs.

Dans le cancer du sein, l'utilisation de la glutamine via la glutaminolyse permet d'augmenter la consommation d'O<sub>2</sub> et la production d'ATP que ce soit en condition normoxique comme en hypoxie (Fan J et al., 2013). Dans les cellules de mélanome, l'utilisation de la glutamine permet d'augmenter la fonction mitochondriale ainsi que la production d'ATP favorisant la migration des cellules cancéreuses. L'utilisation de BPTES permet de reverser ces effets (Rodrigues MF et al., 2016). Dans le gliome, il a été démontré que l'utilisation des AG par la FAO permet d'augmenter la respiration mitochondriale et la prolifération. Par ailleurs, son inhibition via l'utilisation d'étomoxir se traduit par une chute de la consommation d'O<sub>2</sub> et de la production d'ATP (Lin H et al.,

2013). Dans le cancer du sein TNBC, l'utilisation de la FAO permet l'augmentation du métabolisme mitochondrial qui est associée à la progression tumorale (Park JH et al., 2016).

(3) L'expression de GILZ représente un avantage pour les cellules cancéreuses car elle permet d'augmenter la prolifération cellulaire à la fois à l'état basal mais également lors de stress métabolique comme la privation en glucose ou en glutamine (Article 2, Figure 4). Cet avantage prolifératif est permis par l'activité mitochondriale puisqu'il est aboli lors de l'utilisation de lignées de mélanome A375 dépourvues de fonction mitochondriale (rho0). L'augmentation du métabolisme mitochondrial représente un atout majeur dans la prolifération, la survie ou en encore la métastase. En effet, de part son rôle dans l'anabolisme, la mitochondrie permet la prolifération et la survie des cellules cancéreuses. L'utilisation du pyruvate via sa carboxylation en OAA ainsi que l'utilisation de la glutamine via la carboxylation reductive permet de fournir des acides aminés, des acides nucléiques ainsi que des lipides essentiels à la progression des cellules cancéreuses.

Dans le cancer du poumon NSCLC, l'inhibition de la pyruvate carboxylase permet de diminuer la synthèse de nucléotides et de lipides, essentielle à la prolifération des cellules tumorales (Sellers K et al., 2015). Dans le cancer colorectal KRAS muté, est souvent observé la surexpression du transporteur de glutamate mitochondrial Scl25A22. Il va permettre l'obtention d'aspartate à partir du glutamate mitochondrial dans le but de favoriser la progression tumorale (Wong CC et al., 2016).

(4) Nous avons démontré que l'augmentation du métabolisme mitochondrial induit par GILZ peut être utilisée pour resensibiliser les cellules leucémiques à la mort cellulaire en utilisant des agents prooxydants (Article 2, Figure 5). Les cellules cancéreuses sont caractérisées par un stress oxydant chronique. Elles produisent de forte quantité de ROS dans le but d'induire des dommages oxydatifs sur les composants cellulaires permettant d'accroître leur capacité proliférative, en autre. Ce niveau exarcerbé de ROS est contrebalancé par la surexpression des systèmes de detoxification. Cet équilibre est précaire et peut être altéré par l'ajout de molécules prooxydantes qui vont conduire la cellule cancéreuse à produire une quantité extrême de ROS. Les ROS produits lors de l'ajout de molécules prooxydantes ne peuvent pas être pris en charge par les

antioxydants cellulaires qui sont déjà surexprimés de base, ce qui conduit à la mort des cellules cancéreuses.

Certaines molécules, comme l'elesclomol, ont démontré des effets prometteurs dans le cancer.

L'elesclomol est une molécule qui est capable de se complexer au cuivre extracellulaire pour le transporter au sein de la mitochondrie dans le but d'inhiber le transport des électrons de la CRM. Ceci a pour conséquence d'induire une production létale de ROS. Dans les cellules de mélanome, les lymphomes de Burkitt ainsi que dans les cellules leucémiques, l'exposition à l'elesclomol induit l'apoptose par la voie mitochondriale (Chute du potentiel de membrane mitochondrial, relargage du cytochrome c et clivage de la caspase 3) dépendante des ROS (Kirshner JR et al., 2008). A l'heure actuelle, cette molécule fait l'objet d'études cliniques de phase I dans la LAM (Hedley D et al., 2016) et de phase II/III dans le mélanome métastatique (O'Day SJ et al., 2013).

## DISCUSSION PARTIE 3

Depuis quelques années, de nouvelles thérapies pour le traitement des cancers ont émergé. Ces thérapies ciblent des kinases oncogéniques impliquées dans la tumorigenèse comme BRAF<sup>V600E</sup> dans le mélanome (vémurafenib), BCR-ABL (imatinib) dans la LMC ou encore l'EGFR (erlotinib) dans le cancer du poumon et sont appelées thérapies ciblées.

Il existe un lien entre la réponse aux thérapies ciblées et le métabolisme mitochondrial. En effet, ces thérapies peuvent induire de profonds effets métaboliques qui conditionnent la réponse aux traitements (Figure 35). Un modèle particulièrement bien décrit en termes de réponse aux thérapies ciblées est celui du mélanome BRAF<sup>V600E</sup> exposé aux inhibiteurs de kinases oncogéniques. Il a été démontré que l'inhibition de BRAF<sup>V600E</sup> et de MEK induit la répression de la glycolyse. Ceci se traduit par une diminution d'expression des transporteurs de glucose GLUT1 et GLUT3 ainsi que des enzymes glycolytiques comme HK2 et LDH-A à la fois dans des lignées cellulaires de mélanomes, dans des xénogreffes murines, comme dans des biopsies de patients (Parmenter TJ et al., 2014) (Baudy AR et al., 2012).

Les BRAFi induisent la mort des cellules de mélanome, cependant celle-ci s'avère tardive et modérée. En effet, une sous-population cellulaire peut persister grâce à un switch de la glycolyse vers l'OxPHOS mitochondriale.

(1) Dans notre étude nous avons démontré que les cellules de mélanome BRAFV600E présentent une augmentation de l'OxPHOS mitochondriale qui leur permet de survivre au BRAFi (vémurafenib) (Article 3, Figure 1). En effet, les cellules de mélanome exposées au vémurafenib augmentent leur fonction mitochondriale comme le montrent l'augmentation de la respiration mitochondriale, l'augmentation de la biogenèse mitochondriale ainsi que la diminution d'expression de HIF1 $\alpha$ /PDK, acteurs clés de la glycolyse. Le traitement au vémurafenib module également le réseau mitochondrial comme le montrent sa relocalisation perinucléaire ainsi que la présence de mitochondries hyper-fusionnées. L'activité mitochondriale est essentielle pour la survie au BRAFi puisque l'utilisation de lignées rhoO re-sensibilise les cellules à la mort cellulaire.

D'autres études ont mis en évidence la modulation du métabolisme mitochondrial par les MAPKi. Parmi celles-ci, Haq et collaborateurs ont mis en évidence que le PLX4032 (vemurafenib) et le PD0325901 (MEKi) augmentent l'OxPHOS mitochondriale au travers la biogenèse mitochondriale (Haq R et al., 2013). En parallèle, Serasinghe et al. ont démontré que la perte de DRP1 induite par les inhibiteurs de tyrosine kinases incluant le PLX4032 ou l'erlotinib permet une hyperfusion mitochondriale (Serasinghe MN et al., 2015). De plus dans la LMC, l'imatinib permet d'augmenter l'activité mitochondriale et la synthèse de la glutamate (Gottschalk S et al., 2004).

Plusieurs mécanismes ont été proposés pour expliquer ce switch métabolique induit par les TKi. L'expression de BRAF<sup>V600E</sup> permet la répression du facteur MITF qui lui même inhibe l'expression du facteur PGC1 $\alpha$ , impliqué dans la biogenèse mitochondriale ce qui a pour conséquence de reprimer l'OxPHOS et de favoriser la glycolyse. Dans le cadre de l'inhibition de BRAF<sup>V600E</sup>, les BRAFi lèvent la répression de l'axe MITF/PGC1 $\alpha$  et permettent le métabolisme mitochondrial (Haq R et al., 2013). De plus la diminution d'expression d'HK2 et l'inhibition de l'axe HIF1/PDK permettent quant à elles de diminuer la glycolyse et d'augmenter le métabolisme mitochondrial (Kluza J et al., 2012) (Wolf A et al., 2011).

Les travaux de Vasquez dans le mélanome ont démontré que l'expression de PGC1 $\alpha$  est associée à un pronostic sombre chez le patient. En effet, son expression est retrouvée dans les tumeurs de mélanome résistantes aux BRAFi. En plus d'augmenter la respiration cellulaire, son expression permet de diminuer l'induction de gènes codant pour des protéines antioxydantes et d'augmenter la production de ROS (Vazquez F et al., 2013). La production de ROS peut permettre d'induire des mutations additionnelles ainsi que de réactiver la voie des MAPK renforçant ainsi l'échappement aux traitements (Figure 35). Les cellules cancéreuses et notamment les cellules de mélanome résistantes aux TKI sont soumises à un stress oxydant basal qui peut être exploité pour éradiquer ces cellules. En effet, dans notre étude, le traitement des cellules résistantes au TKI par l'elesclomol permet de resensibiliser in vitro et in vivo les cellules et tumeurs à la mort cellulaire par apoptose via l'induction de ROS ([Annexe – Article 4](#)). Cette nouvelle alternative thérapeutique fait actuellement l'objet d'essai clinique dans le mélanome.

D'autre part, il a également été démontré que les TKI comme le vémurafénib permet de sélectionner une sous population cellulaire « slow-cycling » JARID1B persistante et résistante dans le mélanome. Ces cellules persistent grâce à l'augmentation de leur fonction mitochondriale (Roesch A et al., 2013).

(2) Nous avons démontré que l'augmentation du métabolisme mitochondrial a un rôle protecteur face au stress réticulaire induit par les BRAFi. Cet effet passe par une augmentation des contacts RE/mitochondries qui permettent l'uptake de  $Ca^{2+}$  par la mitochondrie (Article 3, Figure 2 et 3).

Lors de traitement au vémurafénib, nous avons observé un remodelage du réseau mitochondrial autour du réticulum endoplasmique permettant la recapture du calcium et la protection contre la mort cellulaire. Des études dans le mélanome montrent que l'exposition des cellules de mélanome au vémurafénib conduit à un stress réticulaire et à la mort cellulaire par apoptose. Dans cette étude, l'augmentation de la concentration de calcium cytosolique ainsi que l'inhibition de la réponse UPR favorisent la mort puisque le kd de ATF4 se traduit par une diminution de l'apoptose (Beck D et al., 2013). L'importance du calcium dans les relations RE-mitochondrie a également été soulevée par les travaux de Rieusset dans l'insulinorésistance hépatique.

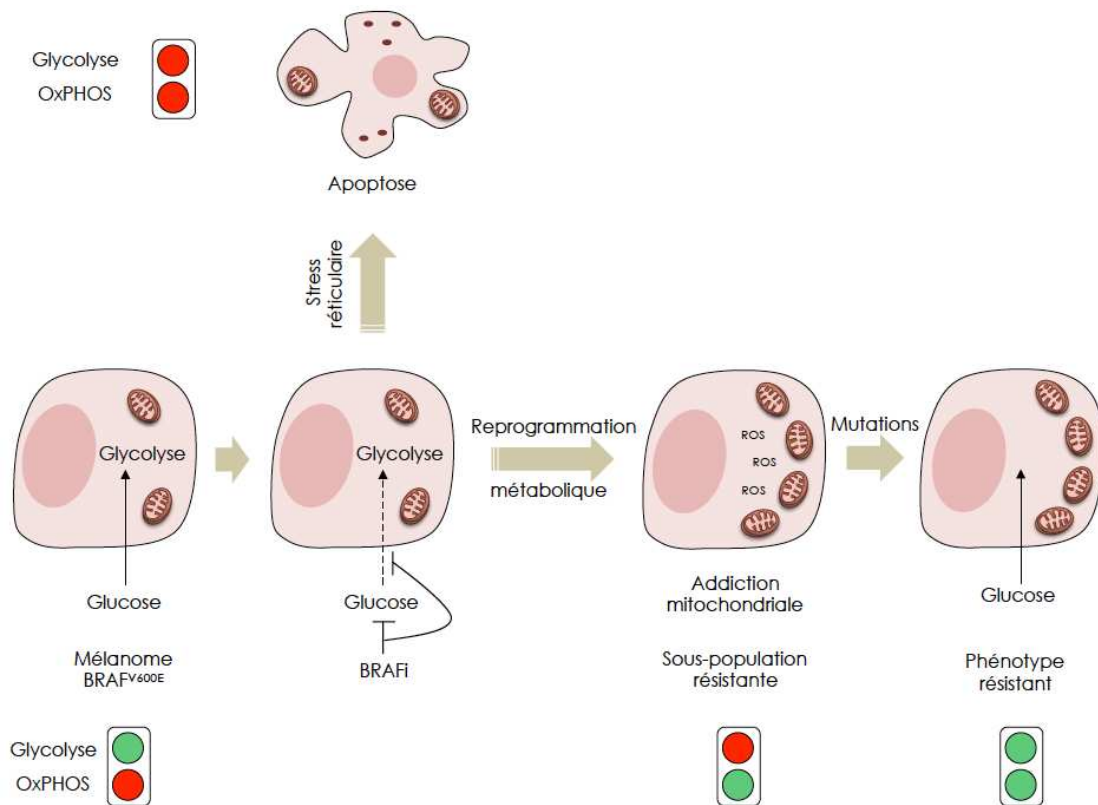
Ils ont démontré que le calcium permet une augmentation de la fonction mitochondriale et maintient l'intégrité des MAMs puisque l'altération du complexe IP3R-GRP75-VDAC permettant son transfert du RE vers la mitochondrie se traduit par une diminution des interactions RE - mitochondries ce qui induit un stress réticulaire et des dysfonctions mitochondriales (Rieusset J et al., 2015).

(3) Ces interactions entre le RE et la mitochondrie sont nécessaires pour la survie au stress réticulaire induit par les BRAFi (Article 3, Figure 4). Les zones d'interaction entre le RE et la mitochondrie sont influencées par l'expression de protéines comme GRP75 et MFN-2 qui permettent la proximité des 2 organites. Nous avons observé que la protéine MFN-2 est impliquée dans la protection mitochondriale contre le stress réticulaire. En effet, l'altération du couplage RE-mitochondrie via l'inhibition de la protéine MFN-2 permet d'augmenter le stress réticulaire ainsi que l'apoptose induite par le stress réticulaire dans les cellules exposées au BRAFi, à la fois in vitro et in vivo.



Des études réalisées par l'équipe de Walsh confortent le fait que MFN-2 est importante dans la résistance à la mort cellulaire induite par le stress réticulaire. En effet, ils ont observé dans des MEFs que l'induction d'un stress réticulaire par la tunicamycine ou la thapsigargine permet de surexprimer la protéine MFN-2. Cette protéine est importante pour la survie face à ce stress car l'ablation de MFN-2 via l'utilisation d'un système Cre/Lox dans les MEFs se traduit par une altération de la morphologie du RE et des mitochondries, une réponse UPR augmentée avec l'induction notamment de CHOP ce qui sensibilise à la mort cellulaire (Ngoh GA et al., 2012).

Nous avons retrouvé des résultats similaires dans les lignées cellulaires mutées NRAS exposées au MEKi démontrant bien que le contrôle mitochondrial de la mort cellulaire induit par le stress réticulaire n'est pas spécifique aux BRAFi. Nos résultats démontrent clairement que la mitochondrie a un rôle essentiel dans la résistance aux MAPKi.



**Figure 35 : Reprogrammation du métabolisme énergétique des cellules de mélanome BRAF<sup>V600E</sup> en réponse aux thérapies ciblées.**

Les inhibiteurs de BRAF vont induire une inhibition du métabolisme glycolytique au sein des cellules de mélanome BRAF<sup>V600E</sup> ayant pour conséquence la mort des cellules par apoptose induite par le stress réticulaire. Cependant, cette mort n'est pas massive et va induire un shift vers l'OxPHOS mitochondriale permettant à une sous population de survivre. L'activation de la mitochondrie va générer la production de ROS permettant entre autres l'acquisition de mutations additionnelles et la réactivation de la voie MAPK contribuant au phénotype résistant des cellules de mélanome. \*Schéma inspiré de Marchetti P et al., 2015



## DISCUSSION GENERALE

Nous avons démontré que le métabolisme mitochondrial représente une cible pertinente dans le traitement des cancers. Cependant, certaines limites comme l'hétérogénéité tumorale et la non spécificité des composés mitochondriaux poussent à développer de nouvelles stratégies thérapeutiques.

### Les limites du ciblage mitochondrial

- **Hétérogénéité et plasticité du métabolisme mitochondrial dans le cancer :**

Il existe une forte hétérogénéité génétique dans les cancers. En effet, l'altération de certains oncogènes, suppresseurs de tumeurs ou encore les mutations d'enzymes mitochondriales influencent et caractérisent le métabolisme des cancers.

Par exemple, le suppresseur de tumeur p53 permet l'augmentation du métabolisme mitochondrial et est retrouvé muté dans près de la moitié des cancers solides. De même, la mutation d'enzymes mitochondriales peut être une caractéristique de certains cancers. La mutation de l'IDH2 est fréquemment associée aux gliomes et aux leucémies, celle de la SDH est rattachée au paragangliome et au pheochromocytome héréditaire (HPGL/PCC) ; La mutation de la FH est associée aux léiomyomes héréditaires et aux carcinomes rénaux. Ces enzymes mutées permettent un remodelage du métabolisme mitochondrial caractérisé par un cycle de krebs tronqué mais viable.

Les mutations oncogéniques vont également influencer sur le métabolisme comme notamment l'oncogène BRAF<sup>V600E</sup>, mutée dans 50% des mélanomes ou encore BCR/Abl dans la LMC qui permettent le shift du métabolisme mitochondrial vers la glycolyse.

L'équipe de Yuneva a montré que l'activation d'un même oncogène peut induire des modifications métaboliques différentes selon le type de cancer.

Cette équipe a mis au point des modèles murins de tumeurs inductibles par l'oncogène Myc dans des cellules de foie et dans des cellules de poumon. Bien que ces 2 types de cellules portent le même oncogène, les effets sur le métabolisme sont différents. En effet, bien que la glycolyse soit augmentée dans les 2 types cellulaires en présence de Myc, ils

ont démontré que dans les cellules de poumon, Myc permet une augmentation de la biogenèse mitochondriale et une augmentation du métabolisme de la glutamine contrairement aux cellules du foie. Ceci reflète l'hétérogénéité du métabolisme énergétique non seulement en fonction des oncogènes mais également du contexte cellulaire (Yuneva MO et al., 2012).

Un autre exemple, les modifications métaboliques induites par la protéine MONDOA. MONDOA est un facteur de transcription qui appartient à la famille MONDO. Son activité transcriptionnelle dépend de la formation d'un hétérodimère avec MLX, un membre de la famille MYC/MAX/MAD. MONDOA est localisée sur la membrane externe de la mitochondrie et va « senser » l'état énergétique cellulaire. Lors d'un excès de glucose et notamment de Glucose-6-Phosphate, la protéine MONDOA va s'accumuler dans le noyau et va permettre la transcription de TXNIP (Thioredoxin-Interacting Protein) qui régule négativement la captation de glucose (dégradation de HIF-1 $\alpha$  et diminution d'expression des transporteurs de glucose) (Wilde BR et al., 2015). Il a été démontré que MONDOA peut interagir en collaboration avec c-myc mais également en opposition avec c-myc en fonction des cancers. Dans le mélanome, il a été démontré que MONDOA inhibe c-myc pour induire l'expression de TXNIP en réponse au vémurafénib permettant ainsi l'inhibition de la glycolyse (Parmenter TJ et al., 2014). Au contraire, dans le neuroblastome, c-myc et MONDOA coopèrent pour permettre d'augmenter le métabolisme de la glutamine (Wilde BR et al., 2015).

L'environnement tumoral est également important et influe sur le métabolisme des cellules cancéreuses. En effet, en fonction de la teneur en oxygène, des nutriments disponibles, les cellules vont adapter leur métabolisme. C'est ainsi, que pour pallier au manque de glucose, les cellules cancéreuses vont pouvoir utiliser les acides gras ou la glutamine au travers la mitochondrie. Dans le glioblastome, le manque de glutamine va conduire la cellule à utiliser la carboxylation du pyruvate pour faire fonctionner ses mitochondries (Cheng T et al., 2011). De plus, les cellules tumorales peuvent coopérer avec les cellules environnantes comme les fibroblastes pour obtenir du lactate qui sera assimilé puis métabolisé par la mitochondrie des cellules cancéreuses (Nakajima EC et al., 2013). Dans un autre modèle, les astrocytes peuvent fournir de la glutamine aux glioblastomes incapables d'en synthétiser afin de permettre leur survie (Tardito S et al., 2015). En plus de coopérer avec les cellules stromales, les cellules cancéreuses peuvent

également coopérer entre elles, ce qui est notamment le cas dans des conditions où la distribution d'oxygène au sein de la tumeur est très hétérogène. Les cellules hypoxiques sont très glycolytiques et peuvent fournir du lactate qui sera métabolisé par les cellules normoxiques ayant un phénotype OxPHOS (Nakajima EC et al., 2013).

Une caractéristique importante qui va conditionner l'hétérogénéité tumorale est surtout le devenir de cette cellule. En effet, une cellule qui a pour but de coloniser et d'induire des métastases ne va pas avoir le même métabolisme qu'une cellule résidant au sein de la tumeur primaire. Il a démontré que la biogenèse mitochondriale induite par le facteur PGC1- $\alpha$  est importante pour l'invasion et la colonisation des cellules cancéreuses de sein (LeBleu VS et al., 2014). En effet, contrairement aux cellules primaires, les cellules circulantes du sein expriment fortement PGC1- $\alpha$  et l'inhibition de ce facteur abolie les capacités invasives et migratoires de ces cellules. Dans d'autres modèles comme le cancer du poumon (Jiang L et al., 2016), du foie (Park JH et al., 2016) ou le mélanome métastatique (Rodrigues MF et al., 2016) ont été démontrés que le métabolisme mitochondrial contribue activement (au travers la glutamine et les acides gras) à l'invasion et la métastase.

Cette hétérogénéité et cette flexibilité rendent le ciblage de la mitochondrie complexe. En effet, des adaptations sont notamment observées lors de traitements ciblant la mitochondrie, ce qui représente un véritable frein.

- **Absence de spécificité et toxicité des agents ciblant la mitochondrie :**

Un problème récurrent dans les traitements des cancers est la toxicité des agents employés. En effet, la grande majorité des thérapies citées précédemment se révèle toxique en clinique. Cette toxicité est due notamment à l'absence de spécificité de ces composés. Par exemple, la thrombocytopenie induite par les BH3-mimétiques anti - Bcl-2 (navitoclax et venetoclax) est due à l'interaction du composé avec la protéine Bcl-XL. L'utilisation du composé CB-839 dans le cadre de l'inhibition de la glutaminase, lui montre des effets hépatiques néfastes. Les essais cliniques utilisant de la metformine ont mis en évidence l'apparition d'acidose lactique chez les patients. De même, le DCA utilisé pour inhiber la PDK dans les cancers solides montrent des effets neurotoxiques. En plus de la toxicité, certains agents peuvent être difficile à administrer chez le patient comme

l'ABT-737 qui démontre de bons effets dans des études précliniques mais qui ne peut pas être distribué oralement. D'autres agents comme le DCA ont une demi-vie relativement courte ce qui pousse à utiliser des doses plus fortes et à allonger le temps de traitement.

## Vers de nouvelles perspectives thérapeutiques

- La coopérativité antimétabolique comme stratégie antitumorale :

L'inhibition des cibles mitochondriales peut engendrer une compensation par d'autres voies métaboliques dans le but de maintenir la croissance et la survie tumorale. Une des nouvelles pistes thérapeutiques est de combiner les inhibiteurs mitochondriaux avec des agents ciblant les voies métaboliques compensatoires.

L'inhibition du complexe I se traduit par un switch métabolique des cellules cancéreuses vers la glycolyse permettant ainsi leur survie. C'est ainsi, qu'il a été démontré une augmentation de la croissance tumorale dans un modèle murin de mélanome traité à la metformine. L'inhibition du complexe I dans ce modèle se traduit par une augmentation de l'activité LDH ainsi qu'une captation de glucose et une sécrétion de lactate exacerbée (Chaube B et al., 2015). Cet effet a conduit à combiner la metformine et la roténone avec des inhibiteurs du métabolisme glycolytique comme l'oxamate ou le 2-DG. Ces combinaisons donnent des résultats encourageants in vitro dans différentes lignées de cellules cancéreuses de prostate (Ben Sahra I et al., 2011) ou gastrique (Cheong JH et al., 2011) ainsi que in vivo dans un modèle murin de cancer colorectal (Miskimins WK et al., 2014). Le traitement des myélomes multiples avec du ritonavir (inhibiteur GLUT4) permet l'émergence d'une population résistante au travers l'activation de l'OxPHOS mitochondriale. La combinaison du ritonavir avec la metformine induit l'apoptose in vitro dans des lignées cellulaires de myélome multiple, dans des échantillons de patients mais également in vivo, dans des modèles de xénogreffes murins (Dalva-Aydemir S et al., 2014). Les voies de compensation sont multiples, en effet, dans le modèle du mélanome, la suppression du facteur PGC1  $\alpha$  se traduit par une compensation au travers la stabilisation du facteur HIF-1 $\alpha$ . L'inhibition du facteur PGC1 $\alpha$  et l'inhibition de HIF-1 $\alpha$  permet à une population cellulaire de survivre en utilisant la glutamine (Lim JH et al., 2014).

Du fait de cette grande flexibilité métabolique et du nombre de voies d'adaptation possible, il est nécessaire de développer des outils afin de pouvoir identifier des combinaisons métaboliques solides.

- **Concept de létalité synthétique :**

L'inconvénient d'utiliser les inhibiteurs de kinases oncogéniques est le fait qu'ils n'induisent pas la mort cellulaire de façon massive comme le fait les agents génotoxiques. Afin de renforcer l'action de ces inhibiteurs, une nouvelle stratégie tente de les combiner avec des agents ciblant la mitochondrie. Ce concept porte le nom de létalité synthétique et consiste en deux effets : l'inhibition de la kinase oncogénique affecte le métabolisme de la cellule cancéreuse, la rendant plus dépendante de l'OxPHOS mitochondriale ; puis cibler l'addiction mitochondriale avec des inhibiteurs du métabolisme mitochondrial. Cette stratégie possède plusieurs avantages d'un point de vue théorique. En effet, suite à l'inhibition de la kinase oncogénique, les cellules tumorales sont contraintes d'utiliser leurs mitochondries dans le but de survivre. Cette modification métabolique constitue une faille pour les cellules cancéreuses qui sont donc plus sensibles aux agents ciblant la mitochondrie.

Ceci a également un intérêt directement applicable aux patients puisqu'il permet de diminuer les doses d'inhibiteurs mitochondriaux ce qui rend le traitement moins toxique (Marchetti P et al., 2015). Ceci est notamment le cas pour l'utilisation du DCA qui s'avère toxique en clinique. En effet, dans le cancer du poumon non à petites cellules, la combinaison d'inhibiteurs de l'EGFR comme le gefitinib ou l'erlotinib avec le DCA permet d'induire la mort cellulaire par apoptose (Yang Z et al., 2016). La combinaison du sorafenib (inhibiteur de BRAF) au DCA permet également de resensibiliser les cancéreuses d'hépatocarcinome devenues résistantes au sorafénib (Shen YC et al., 2013). L'association d'inhibiteurs de MAPK et d'agents ciblant la mitochondrie a de bons effets antitumoraux.

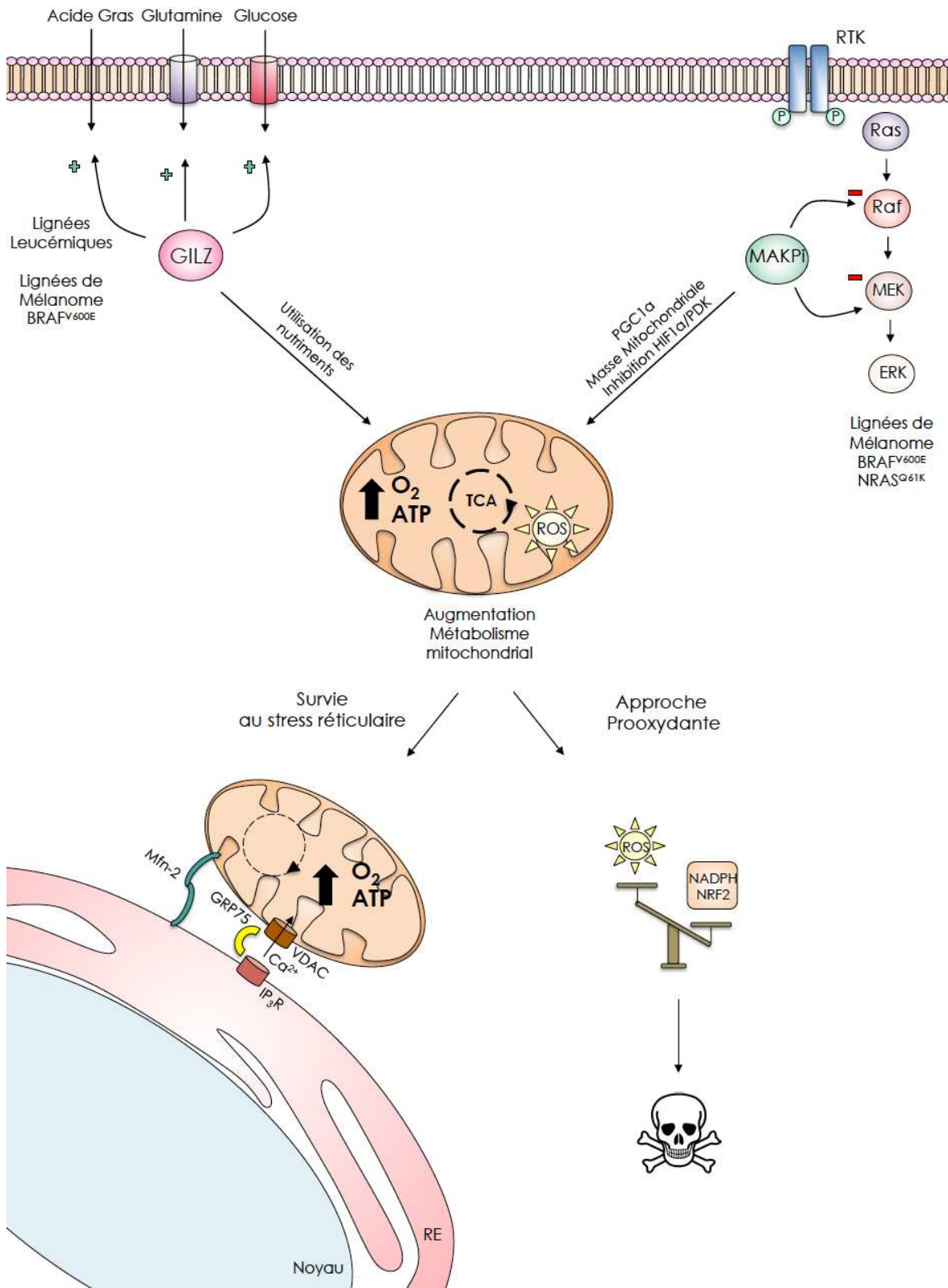
Dans le mélanome, l'association du PLX4032 ou de l'inhibiteur de MEK (PD0325901) avec le PEITC (inhibiteur complexe III) permet la régression tumorale (Haq et al., 2014). Dans les fibroblastes RAS<sup>G12V</sup>, la combinaison d'inhibiteurs de BRAF et de MEK avec l'antimycine A (inhibiteur complexe III) augmente également la mort cellulaire. L'inhibition de la voie PI3K/Akt par le BEZ235 et la FO-F1 ATP synthase par



l'oligomycine se traduit également par une apoptose massive des cellules cancéreuses du pancréas (Viale A et al., 2014). L'oligomycine A permet également de sensibiliser les cellules leucémiques BCR-ABL à l'apoptose induite par l'imatinib (Alvarez-Calderon F, 2015).

Bien qu'elles s'avèrent prometteuses, ces combinaisons révèlent principalement d'études précliniques et nécessitent donc de passer en études cliniques.

# CONCLUSION ET PERSPECTIVES



**Figure 36: Influence de GILZ et des BRAFi sur le métabolisme mitochondrial et la réponse au stress réticulaire.**

L'expression de GILZ dans les leucémies et le traitement par BRAFi dans le mélanome augmentent le métabolisme mitochondrial des cellules cancéreuses, ce qui permet l'adaptation au stress réticulaire. Cette résistance à la mort lors du stress réticulaire est permise via des interactions entre le RE et les mitochondries.

L'augmentation du métabolisme mitochondrial représente également une cible thérapeutique pouvant être exploitée par l'utilisation de molécules prooxydantes qui vont induire une production létale de ROS.

Nos travaux viennent compléter de nombreuses études qui démontrent le rôle essentiel des mitochondries dans la tumorigenèse. Nous avons démontré son rôle dans la survie au stress réticulaire induit par la protéine GILZ dans des lignées de cellules leucémiques et dans un modèle de mélanome BRAF<sup>V600E</sup>.

Nous avons également démontré que la mitochondrie permet d'induire la survie en réponse à un stress réticulaire induit par les inhibiteurs de kinases oncogéniques dans le mélanome BRAF<sup>V600E</sup>. Dans ces 2 études, la survie au stress réticulaire se traduit par une augmentation de la fonction mitochondriale.

Nous avons également observé dans les cellules leucémiques que l'augmentation de la fonction mitochondriale par GILZ peut être utilisée pour resensibiliser les cellules cancéreuses à la mort cellulaire, notamment grâce aux agents prooxydants comme l'elescomol.

Dans le cadre de notre étude, plusieurs interrogations demeurent :

(1) Tout d'abord, nous nous interrogeons sur la façon dont la protéine GILZ permet la protection contre le stress réticulaire. Est-ce que cela passe par la signalisation calcique ? Nous avons observé une augmentation de la fonction mitochondriale ainsi qu'un réseau mitochondrial réticulé lors du stress réticulaire. Il serait intéressant de regarder si la survie au stress réticulaire implique des échanges calciques entre la mitochondrie et le réticulum endoplasmique.

Qu'en est-il de l'autophagie qui est également une réponse permettant la survie des cellules cancéreuses lors du stress réticulaire ? GILZ peut-il induire l'autophagie pour survivre au stress réticulaire ? Des études menées par Troncoso et collaborateurs ont démontré que le traitement à la dexaméthasone dans des cellules myoblastiques se traduit l'augmentation de la fonction mitochondriale (consommation d'O<sub>2</sub> et production

d'ATP) associée à un remodelage du réseau mitochondrial, dépendant de la protéine de fusion DRP-1. Ceci conduit à une dysfonction mitochondriale permettant l'induction d'autophagie/mitophagie afin d'éliminer les mitochondries dysfonctionnelles. Cela a pour but, de permettre la survie des cellules musculaires et d'éviter l'atrophie des muscles (Troncoso R et al., 2014).

(2) Nous souhaitons également continuer à déterminer la place de l'adaptation mitochondriale dans la résistance aux agents anticancéreux. Qu'en est-t'il si on bloque cette adaptation ? Empêche-t-on les phénomènes de résistance ? Ceci est notamment intéressant dans le cadre des cellules souches/dormantes cancéreuses. En effet, il a été démontré que les TKI comme le vémurafénib mais également les génotoxiques comme le cisplatine favorisent la sélection d'une sous population de cellules cancéreuses souches exprimant le facteur JARID1B. Ces cellules présentent un métabolisme O<sub>x</sub>PHOS qui leur permet de survivre aux agents ciblant principalement la glycolyse. Cette adaptation mitochondriale pourrait être responsable de la résistance du compartiment souche cancéreux. Une alternative serait d'essayer des combinaisons TKI - inhibiteurs du métabolisme mitochondrial dans le but d'éradiquer ce compartiment qui peut favoriser la réémergence des cancers.

Ainsi, à l'heure actuelle, la mitochondrie semble être une cible de choix pour le développement de nouveaux composés. Cependant, il semble nécessaire de caractériser au mieux le profil métabolique des tumeurs qui est extrêmement hétérogène et qui pourrait limiter l'efficacité de ces nouvelles thérapies.



## BIBLIOGRAPHIE

---



- Aguilar, D.**, Strom, J. & Chen, Q. M. Glucocorticoid Induced Leucine Zipper inhibits apoptosis of cardiomyocytes by doxorubicin. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 276, 55–62 (2014).
- Alvarez-Calderon, F.**, Gregory, M.A., Pham-Danis, C., Deryckere, D., Stevens, B.M., Zaberezhnyy, V., Hill, A.A., Gemta, L., Kumar, A., Kumar, V., Wempe, M.F., Pollyea, D.A., Jordan, C.T., Serkova, N.J., Graham, D.K. & DeGregori, J. Tyrosine Kinase Inhibition in Leukemia Induces an Altered Metabolic State Sensitive to Mitochondrial Perturbations. *Clin. Cancer Res.* 21, 1360–1372 (2015).
- André, F.**, Corazao-Rozas, P., Idziorek, T., Quesnel, B., Kluza, J. & Marchetti, P. GILZ overexpression attenuates endoplasmic reticulum stress-mediated cell death via the activation of mitochondrial oxidative phosphorylation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 478, 513–520 (2016).
- Ayroldi, E.**, Zollo, O., Macchiarulo, A. Di Marco, B., Marchetti, C & Riccardi, C. Glucocorticoid-Induced Leucine Zipper Inhibits the Raf – Extracellular Signal-Regulated Kinase Pathway by Binding to Raf-1. *Mol. Cell. Biol.* 22, 7929–7941 (2002).
- Ayroldi, E.**, & Riccardi, C. Glucocorticoid-induced leucine zipper (GILZ) : a new important mediator of glucocorticoid action. *FASEB J.* 23, 3649–3658 (2009).
- Ayroldi, E.**, Petrillo, M.G., Bastianelli, A., Marchetti, C., Nocentini, G., Ricciotti, L., Cannarile, L & Riccardi, C. L-GILZ binds p53 and MDM2 and suppresses tumor growth through p53 activation in human cancer cells. *Cell Death Differ.* 1–13 (2014).
- Ayroldi, E.**, Macchiarulo, A. & Riccardi, C. Targeting glucocorticoid side effects: selective glucocorticoid receptor modulator or glucocorticoid-induced leucine zipper? A perspective. *FASEB J.* 28, 1–16 (2014).
- Baines, C. P.**, Kaiser, R.A., Purcell, N.H., Blair, N.S., Osinska, H., Hambleton, M.A., Brunskill, E.W., Sayen, M .R., Gottlieb, R.A., Dorn II, G.W., Robbins, J. & Molkentin, J.F. Loss of cyclophilin D reveals a critical role for mitochondrial permeability transition in cell death. *Nature.* 434, 626–629 (2005).
- Baudy, A. R.**, Dogan, T., Flores-Mercado, J.E., Hoeflich, K.P., Su, F., Van Bruggen, N. & Williams, S-P. FDG-PET is a good biomarker of both early response and acquired resistance in BRAFV600 mutant melanomas treated with vemurafenib and the MEK inhibitor GDC-0973. *EJNMMI Res.* 2, 22 (2012).
- Beaulieu, E.**, & Morand, E. F. Role of GILZ in immune regulation, glucocorticoid actions and rheumatoid arthritis. *Nat. Publ. Gr.* 7, 340–348 (2011).
- Beck, D.**, Niessner, H., Smalley, K. S. M., Flaherty, K., Paraiso, K. H. T., Busch, C., Sinnberg, T., Vasseur, S., Iovanna, J. L., Driessen, S., Stork, B., Wesselborg, S., Schaller, M., Biedermann, T., Bauer, J., Lasithiotakis, K., Weide, B., Eberle, J., Schitteck, B., Schadendorf, D., Garbe, C., Kulms, D & Meier, F. Vemurafenib Potently Induces Endoplasmic Reticulum Stress-Mediated Apoptosis in BRAFV600E Melanoma Cells. *Sci. Signal.* 6, ra7 (2013).
- Ben Sahra, I.**, Laurent, K., Giuliano, S., Larbret, F., Ponzio, G., Gounon, P., Le Marchand-Brustel, Y., Giorgetti-Peraldi, S., Cormont, M., Bertelotto, C., Deckert, M., Auberger, P., Tanti, J.F & Bost, F. Targeting Cancer Cell Metabolism : The Combination of Metformin and 2-Deoxyglucose Induces p53-Dependent Apoptosis in Prostate Cancer Cells. *Cancer Res.* 70, 2465–2475 (2010).
- Berrebi, D.**, Bruscoli, S., Cohen, N., Foussat, A., Migliorati, G., Bouchet-Delbos, L., Maillot, M.C., Portier, A., Couderc, J., Galanaud, P., Peuchmaur, M., Riccardi, C & Emilie, D. Synthesis of glucocorticoid-induced leucine zipper (GILZ) by macrophages: an anti-inflammatory and immunosuppressive mechanism shared by glucocorticoids and IL-10. *Blood* 101, 729–38 (2003).
- Berwick, D. C.**, Hers, I., Heesom, K. J., Moule, S. K. & Tavaré, J. M. The Identification of ATP-citrate Lyase as a Protein Kinase B ( Akt ) Substrate in Primary Adipocytes . *J. Biol. Chem.* 277, 33895–33900 (2002).



**Bhola, P. D.,** & Letai, A. Mitochondria — Judges and Executioners of Cell Death Sentences. *Mol. Cell* 61, 695–704 (2016).

**Bravo, R.,** Vicencio, J.M., Parra, V., Troncoso, R., Munoz, J.P., Bui, M., Quiroga, C., Rodriguez, A.E., Verdejo, H.E., Ferreira, J., Iglewski, M., Chiong, M., Simmen, T., Zorzano, A., Hill, J.A., Rothermel, B.A., Szabadkai, G. & Lavandero, S. Increased ER – mitochondrial coupling promotes mitochondrial respiration and bioenergetics during early phases of ER stress. *Journal Cell Sci.* 124 (13), 2143–2152 (2011).

**Bravo, R.,** Gutierrez, T., Paredes, F., Gatica, D., Rodriguez, A.E., Pedrozo, Z., Chiong, M., Parra, V., Quest, A.F.G., Rothermel, B.A & Lavandero, S. ER stress regulates mitochondrial bioenergetics. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 44, 16–20 (2012).

**Bravo, R.,** Parra, V., Gatica, D., Rodriguez, A.E., Torrealba, N., Paredes, F., Wang, Z.V., Zorzano, A., Hill, J.A., Jaimovich, E., Quest, A.F.G. & Lavandero, S. Endoplasmic Reticulum and the Unfolded Protein Response : Dynamics and Metabolic Integration. 301, (2013).

**Breitschopf, K.,** Haendeler, J., Malchow, P., Zeiher, A. M. & Dimmeler, S. Posttranslational Modification of Bcl-2 Facilitates Its Proteasome-Dependent Degradation : Molecular Characterization of the Involved Signaling Pathway. *Mol. Cell. Biol.* 20, 1886–1896 (2000).

**Brigelius-Flohé, R.,** & Kipp, A. Glutathione peroxidases in different stages of carcinogenesis. *Biochim. Biophys. Acta - Gen. Subj.* 1790, 1555–1568 (2009).

**Cairns, R.A.,** Harris, I. S. & Mak, T. W. Regulation of cancer cell metabolism. *Nat. Rev. Cancer* 11, 85–95 (2011).

**Cantor, J. R.** & Sabatini, D. M. Cancer cell metabolism: one hallmark, many faces. *Cancer Discov.* 2, 881–898 (2012).

**Cao, J.** & Dixon, S. Mechanisms of ferroptosis. *Cell. Mol. Life Sci.* 73, 2195–2209 (2016).

**Cardaci, S.,** Zheng, L., MacKay, G., Van den Broek, N.J.F., MacKenzie, E.D., Nixon, C., Stevenson, D., Tumanov, S., Bulusu, V., Kamphorst, J.J., Vazquez, A., Fleming, S., Schiavi, F., Kalna, G., Blyth, K., Strathdee, D & Gottlieb, E. Pyruvate carboxylation enables growth of SDH-deficient cells by supporting aspartate biosynthesis. *Nat. Cell Biol.* 17, 1–6 (2015).

**Cavalli, L. R.,** Varella-Garcia, M. & Liang, B. C. Diminished tumorigenic phenotype after depletion of mitochondrial DNA. *Cell Growth Differ.* 8, 1189–1198 (1997).

**Chandrika, B. B.,** Yang, C., Ou, Y., Feng, X., Muhoza, D., Holmes, A.F., Theus, S., Deshmukh, S., Haun, R.S. & Kaushal, G.P. Endoplasmic Reticulum Stress-Induced Autophagy Provides Cytoprotection from Chemical Hypoxia and Oxidant Injury and Ameliorates Renal Ischemia-Reperfusion Injury. *PLoS One* 10, 1–23 (2015).

**Chaubé, B.,** Malvi, P., Singh, S.V., Mohammad, N., Meena, A.S. & Bhat, M.K. Targeting metabolic flexibility by simultaneously inhibiting respiratory complex I and lactate generation retards melanoma progression. *Oncotarget* 6, 37281–37299 (2015).

**Chen, C.,** Cai, S., Wang, G., Cao, X., Yang, X., Luo, X., Feng, Y. & Hu, J. c-Myc enhances colon cancer cell-mediated angiogenesis through the regulation of HIF-1a. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 430, 505–511 (2013).

**Chen, L.,** Cui, H., Fang, J., Deng, H. & Kuang, P. Glutamine deprivation plus BPTES alters etoposide- and cisplatin-induced apoptosis in triple negative breast cancer cells. *Oncotarget* 7, 54691–54701 (2016).

- Cheng, T.**, Sudderth, J., Yang, C., Mullen, A.R., Jin, E.S., Matés, J.M & DeBerardinis, R.J. Pyruvate carboxylase is required for glutamine-independent growth of tumor cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 108, 8674–9 (2011).
- Cheong, J-H.**, Park, E.S., Liang, J., Dennison, J.B., Tsavachidou, D., Nguyen-Charles, C., Cheng, K.W., Hall, H., Zhang, D., Lu, Y., Ravoori, M., Kundra, V., Ajani, J., Lee, J-S., Hong, W.K. & Mills, G.B. Dual inhibition of Tumor Energy Pathway by 2-deoxy glucose and metformin Is Effective Against a Broad Spectrum of Preclinical Cancer Models. *Mol Cancer Ther* 10, 2350–2362 (2011).
- Chiche, J.**, Ricci, J. & Pouysségur, J. Tumor hypoxia and metabolism – Towards novel anticancer approaches. *Ann. Endocrinol. (Paris)*. 74, 111–114 (2013).
- Chourasia, A. H.**, Boland, M. L. & Macleod, K. F. Mitophagy and cancer. *Cancer Metab.* 3, 4 (2015).
- Chourasia, A. H.** & Macleod, K. F. Tumor suppressor functions of BNIP3 and mitophagy. *Autophagy* 11, 1937–1938 (2015).
- Chu, Q. S.**, Sangha, R., Spratlin, J., Vos, L.J., Mackey, J.R., Mcewan, A.J.B., Venner, P & Michelakis, E.D. A phase I open-labeled , single-arm , dose-escalation , study of dichloroacetate ( DCA ) in patients with advanced solid tumors. *Invest New Drugs* 1, 603–610 (2015).
- Cimmino, A.**, Calin, G.A., Fabbri, M., Iorio, M.V., Ferracin, M., Shimizu, M., Wojcik, S.E., Aqeilan, R.I., Zupo, S., Dono, M., Rassenti, L., Alder, H., Volinia, S., Liu, C-G., Kipps, T.J., Negrini, M. & Croce, C.M. miR-15 and miR-16 induce apoptosis by targeting BCL2. *PNAS* **102**, 13944–13949 (2005).
- Corazao-rozas, P.**, Guerreschi, P., André, F., Gabert, P.E., Lancel, S., Dekiok, S., Fontaine, D., Tardivel, M., Savina, A., Quesnel, B., Mortier, L., Marchetti, P. & Kluza, J. Mitochondrial oxidative phosphorylation controls cancer cell ' s life and death decisions upon exposure to MAPK inhibitors. *Oncotarget* 7, 39473–39485 (2016).
- Cunningham, J. T.**, Rodgers, J. T., Arlow, D. H., Vazquez, F., Mootha, V. K. & Puigserver P. mTOR controls mitochondrial oxidative function through a YY1 – PGC-1 a transcriptional complex. *Nature* 450, 736–740 (2007).
- Dächert, J.**, Schoeneberger, H., Rohde, K. & Fulda, S. RSL3 and Erastin differentially regulate redox signaling to promote Smac mimetic-induced cell death. *Oncotarget* 7, 63779–63792 (2016).
- Dadey, D. Y. A.**, Kapoor, V., Hoyer, K., Khudanyan, A., Collins, A. Thotala, D & Hallahan, D.E. Antibody targeting GRP78 enhances the efficacy of radiation therapy in human glioblastoma and non-small-cell lung cancer cell lines and tumor models. *Clin. Cancer Res.* (2016).
- Dalva-Aydemir, S.**, Bajpai, R., Martinez, M., Adekola, K.U.A., Kandela, I., Wei, C., Singhal, S., Koblinski, J.E., Raje, N.S., Rosen, S.T. & Shanmugam, M. Targeting the Metabolic Plasticity of Multiple Myeloma with FDA-Approved Ritonavir and Metformin. *Clin. Cancer Res.* 21, 1161–1171 (2014).
- Dang, C. V.**, Le, A. & Gao, P. MYC-induced cancer cell energy metabolism and therapeutic opportunities. *Clin. Cancer Res.* 15, 6479–83 (2009).
- Das, I.**, Png, C.W., Oancea, I., Hasnain, S.Z., Lourie, R., Proctor, M., Eri, R.D., Sheng, Y., Crane, D.I., Florin, T.H. & McGuckin, M.A. Glucocorticoids alleviate intestinal ER stress by enhancing protein folding and degradation of misfolded proteins. *J. Exp. Med.* 210, 1201–16 (2013).
- Day, S. J. O.**, Gonzalez, R., Lawson, D., Weber, R., Hutchins, L., Anderson, C., Haddad, J., Kong, S., Williams, A & Jacob, E. Phase II, Randomized, Controlled, Double-Blinded Trial of Weekly Elesclomol Plus Paclitaxel Versus Paclitaxel Alone for Stage IV Metastatic Melanoma. *J. Clin. Oncol.* 27, 5452–5458 (2009).

**Day, S. J. O.**, Eggermont, A.M.M., Chiarion-sileni, V., Kefford, R., Grob, J.J., Mortier, L., Robert, C., Schachter, J., Testori, A., Mackiewicz, J., Friedlander, P., Garbe, C., Ugurel, S., Collichio, F., Guo, Wei., Lufkin, J., Bahcall, S., Vukovic, V & Hauschild, A. Final Results of Phase III SYMMETRY Study : Randomized, Double-Blind Trial of Elesclomol Plus Paclitaxel Versus Paclitaxel Alone As Treatment for Chemotherapy-Naive Patients With Advanced Melanoma. *J. Clin. Oncol.* 31, 1211–1218 (2013).

**DeBerardinis, R. J.** Mancuso, A., Daikhin, E., Nissim, I., Yudkoff, M., Wehrli, S & Thompson, C.B. Beyond aerobic glycolysis: transformed cells can engage in glutamine metabolism that exceeds the requirement for protein and nucleotide synthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 104, 19345–50 (2007).

**DeBerardinis, R. J.** Good neighbours in the tumour stroma reduce oxidative stress. *Nat. Cell Biol.* 14, 235–6 (2012).

**Decuyper, J.**, Bultynck, G., Missiaen, L., Smedt, H. De & Parys, J. B. Biochimica et Biophysica Acta The IP 3 receptor – mitochondria connection in apoptosis and autophagy. *BBA - Mol. Cell Res.* 1813, 1003–1013 (2011).

**Deng, X.**, Ruvolo, P., Carr, B. & May, W. S. staurosporine-resistant Bcl2 kinases. *PNAS* 1999, 1–6 (2000).

**Deng, Y.**, Huang, H. & Lin, J. Rotenone Induces Apoptosis in MCF-7 Human Breast Cancer Cell-Mediated ROS Through JNK and p38 Signaling. *Mol. Carcinog.* 151, 141–151 (2010).

**Doghman-bouguerra, M.** & Lalli, E. Molecular and Cellular Endocrinology The ER-mitochondria couple :In life and death from steroidogenesis to tumorigenesis. *Mol. Cell. Endocrinol.* 1–9 (2016).

**Dunbar, E. M.**, Coats, B.S., Shroads, A.L., Langae, T., Lew, A., Forder, J.R, Shuster, J.J., Wagner, D.A & Stacpoole, P.W. Phase 1 trial of dichloroacetate (DCA) in adults with recurrent malignant brain tumors E. *Invest New Drugs* 32, 452–464 (2015).

**Elstrom, R. L.**, Bauer, D.E., Buzzai, M., Karnauskas, R., Harris, M.H., Plas, D.R., Zhuang, H., Cinalli, R.M., Alavi, A., Rudin, C.M & Thompson, C.B. Akt Stimulates Aerobic Glycolysis in Cancer Cells. *Cancer Res.* 64, 3892–3899 (2004).

**Endaya, B. B.**, Lam, P. Y. P., Meedeniya, A. C. B. & Neuzil, J. Transcriptional profiling of dividing tumor cells detects intratumor heterogeneity linked to cell proliferation in a brain tumor model. *Mol. Oncol.* 10, 126–137 (2016).

**Estan, M.**, Calvino, E., Calvo, S., Guillen-Guio, B., Boyano-Aldanez, M.D.C., De Blas, E., Rial, E & Aller, P. Apoptotic Efficacy of Etomoxir in Human Acute Myeloid Leukemia Cells. Cooperation with Arsenic Trioxide and Glycolytic Inhibitors , and Regulation by Oxidative Stress and Protein Kinase Activities. 1–26 (2014). doi:10.1371/journal.pone.0115250

**Fan, J.**, Kang, H.B., Shan, C., Elf, S., Lin, R., Xie, J., Gu, T.L., Aguiar, M., Lonning, S., Chung, T.W., Arellano, M., Khoury, H.J., Shin, D.M., Khuri, F.R., Boggon, T.J., Kang, S & Chen, J. Tyr-301 phosphorylation inhibits pyruvate dehydrogenase by blocking substrate binding and promotes the warburg effect. *J. Biol. Chem.* 289, 26533–26541 (2014).

**Fan, J.**, Kang, H.B., Shan, C., Elf, S., Xie, J., Tucker, M., Gu, T.L., Aguiar, M., Lonning, S., Chen, H., Mohammadi, M., Britton, L.M.P., Garcia, B.A., Aleckovic M., Kang, Y., Kaluz, S., Devi, N., VanMeir, E.G., Hitosugi, T., Seo, J., Lonial, S., Gaddh, M., Arellano, M., Khoury, H.J., Khuri, F.R., Boggon, T.J., Kang, S & Chen, J. Tyr Phosphorylation of PDP1 Toggles Recruitment between ACAT1 and SIRT3 to Regulate the Pyruvate Dehydrogenase Complex. *Mol. Cell* 53, 534–548 (2014).

**Faubert, B.**, Vincent, E.E., Griss, T., Samborska, B., Izreig, S & Svensson, R.U. Loss of the tumor suppressor LKB1 promotes metabolic reprogramming of cancer cells via HIF-1  $\alpha$ . *PNAS* 111, 2554–2559 (2013).

**Feuerecker, B.**, Seidl, C., Pirsig, S., Bruchelt, G. & Senekowitsch-schmidtke, R. DCA promotes progression of neuroblastoma tumors in nude mice. *Am J Cancer Res* 5, 812–820 (2015).

**Filipp FV.**, Scott, D. A., Ronai, Z. A., Osterman, A. L. & Smith, J. W. Reverse TCA cycle flux through isocitrate dehydrogenase 1 and 2 is required for lipogenesis in hypoxic melanoma cells. *Pigment Cell Melanoma Res.* 25, 375–383 (2012).

**Fox, J. L.**, & Storey, A. BMX Negatively Regulates BAK Function, Thereby Increasing Apoptotic Resistance to Chemotherapeutic Drugs. *Cancer Res.* 75, 1345–1355 (2015).

**Fukuda, R.**, Zhang, H., Kim, J-W., Shimoda, L., Dang, C.V & Semenza, G.L. HIF-1 regulates cytochrome oxidase subunits to optimize efficiency of respiration in hypoxic cells. *Cell* 129, 111–22 (2007).

**Galluzzi, L.**, Kepp, O., Trojel-Hansen, C. & Kroemer, G. Mitochondrial control of cellular life, stress, and death. *Circ. Res.* 111, 1198–1207 (2012).

**Gao, M.**, Monian, P., Quadri, N., Ramasamy, R. & Jiang, X. Article Glutaminolysis and Transferrin Regulate Ferroptosis. *Mol. Cell* 59, 298–308 (2015).

**Garrett-bakelman, F. E.**, & Melnick, A. M. Mutant IDH : a targetable driver of leukemic phenotypes linking metabolism , epigenetics and transcriptional regulation. *Epigenetics* 8, 945–957 (2016).

**Giampazolias, E.**, & Tait, S. W. G. Mitochondria and the hallmarks of cancer. *FEBS J.* 283, 803–814 (2016).

**Godot, V.**, Garcia, G., Capel, F., Arock, M., Durant-Gasselien, I., Asselin-Labat, M.L., Emilie, D & Humbert, M. Dexamethasone and IL-10 stimulate glucocorticoid-induced leucine zipper synthesis by human mast cells. *Allergy* 61, 886–90 (2006).

**Gorman, A. M.**, Healy, S. J. M., Jäger, R. & Samali, A. Stress management at the ER: regulators of ER stress-induced apoptosis. *Pharmacol. Ther.* 134, 306–16 (2012).

**Gorrini, C.**, Harris, I. S. & Mak, T. W. Modulation of oxidative stress as an anticancer strategy. *Nat. Rev.* 12, 931–947 (2013).

**Goto, M.**, Miwa, H., Shikami, M., Tsunekawa, I.N., Suganuma, K., Mizuno, S., Takahashi, M., Mizutani, M., Hanamura, I & Nitta, M. Importance of Glutamine Metabolism in Leukemia Cells by Energy Production Through TCA Cycle and by Redox Homeostasis. *Cancer Invest.* 7907, 1–7 (2014).

**Gottschalk, S.**, Anderson, N., Hainz, C., Eckhardt, S. G. & Serkova, N. J. Imatinib (STI571) -Mediated Changes in Glucose Metabolism in Human Leukemia BCR-ABL – Positive Cells. *Clin. Cancer Res.* 10, 6661–6668 (2004).

**Guo, J. Y.**, & White, E. Autophagy is required for mitochondrial function,. *Autophagy* 8627, 5–8 (2013).

**Green, D. R.**, & Llambi, F. Cell Death Signaling. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 7, a006080 (2015).

**Gross, M. I.**, Demo, S.D., Dennison, J.B., Chen, L., Chernov-Rogan, T., Goyal, B., Janes, J.R., Laidig, G.J., Lewis, E.R., Li, J., Mackinnon, A.L., Parlati, F., Rodriguez, M.L.M., Shwonek, P.J., Sjogren, E.B., Stanton, T.F., Wang, T., Yang, J., Zhao, F., Bennett, M.K. Antitumor Activity of the Glutaminase Inhibitor CB-839 in Triple-Negative Breast Cancer. *Mol Cancer Ther* 13, 890–901 (2014).

**Hagenbuchner, J.**, Kiechl-kohlendorfer, U., Obexer, P. & Michael, J. A novel Mcl1 variant inhibits apoptosis via increased Bim sequestration ABSTRACT : *Oncotarget* 4, 1241–1252 (2013).

**Hamacher-Brady, A.**, & Brady, N. R. Mitophagy programs: Mechanisms and physiological implications of mitochondrial targeting by autophagy. *Cell. Mol. Life Sci.* 73, 775–795 (2016).

**Hamanaka, R.B.**, & Chandel, N.S. Mitochondrial reactive oxygen species regulate hypoxic signaling. *Curr Opin Cell Biol* 21, 894–899 (2009).

- Hanahan, D.,** & Weinberg, R. A. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 144, 646–674 (2011).
- Haq, R.,** Shoag, J., Andreu-Perez, P., Yokoyama, S., Edelman, H., Rowe, G.C., Frederick, D.T., Hurley, A.D., Nellore, A., Kung, A.L., Wargo, J.A., Song, J.S., Fisher, D.E., Arany, Z & Widlund, H.R. Oncogenic BRAF Regulates Oxidative Metabolism via PGC1 $\alpha$  and MITF. *Cancer Cell* 23, 302–315 (2013).
- Hata, A. N.,** Engelman, J. A. & Faber, A. C. The BCL2 Family: Key Mediators of the Apoptotic Response to Targeted Anticancer Therapeutics. *Cancer Discov.* 5, 475–87 (2015).
- Harris, F. T.,** Rahman, S. M. J., Hassanein, M., Qian, J., Hoeksema, M. D., Chen, H., Eisenberg, R., Chaurand, P., Caprioli, R. M., Shiota, M & Massion, P. P. Acyl-Coenzyme A-Binding Protein Regulates Beta-Oxidation Required for Growth and Survival of Non-Small Cell Lung Cancer. *Cancer Prev. Res.* 7, 748–757 (2014).
- He, S.,** Wang, L., Miao, L., Wang, T., Du, F., Zhao, L., & Wang, X.. Receptor Interacting Protein Kinase-3 Determines Cellular Necrotic Response to TNF- $\alpha$ . *Cell* 137, 1100–1111 (2009).
- Hecht, F.,** Cazarin, J.M., Eduardo, C., Faria, C.C., Augusto, A., Ferreira, A.C.F., Carvalho, D.P & Fortunato, R.S. Redox homeostasis of breast cancer lineages contributes to differential cell death response to exogenous hydrogen peroxide. *Life Sci.* 158, 7–13 (2016).
- Hedley, D.,** Shamas-din, A., Chow, S., Sanfelice, D., Andre, C., Brandwein, J.M., Seftel, M.D., Gupta, V., Karen, W.L. & Schimmer, A.D. A phase I study of elesclomol sodium in patients with acute myeloid leukemia A phase I study of elesclomol sodium in patients with acute myeloid leukemia. *Leuk. Lymphoma* 8194, 2437–2440 (2016).
- Hernández-Alvarez, M. I.,** Paz, J.C., Sebastián, D., Muñoz, J.P., Liesa, M., Segalés, J., Palacín, M & Zorzano, Antonio. Glucocorticoid modulation of mitochondrial function in hepatoma cells requires the mitochondrial fission protein Drp1. *Antioxid. Redox Signal.* 19, 366–78 (2013).
- Holmström, K. M.,** & Finkel, T. Cellular mechanisms and physiological consequences of redox-dependent signalling. *Nat. Publ. Gr.* 15, 411–421 (2014).
- Hong, Y.-H.,** Uddin, M.H., Jo, U., Kim, B., Song, J., Suh, D.H., Kim, H.S & Song, Y.S. ROS accumulation by PEITC selectively kills ovarian cancer cells via UPR-mediated apoptosis. 5, 1–9 (2015).
- Horsley, L.,** Cummings, J., Middleton, M., Ward, T., Backen, A., Clamp, A., Dawson, M., G.J.M., Potter, P., Saunders, M., Roberts, C., Shaw, D., Smith, N., Smythe, J., Taylor, A., Turner, H., Watson, Y., Dive, C & Jayson, G.C. A phase 1 trial of intravenous 4-(N-(S-glutathionylacetyl) amino) phenylarsenoxide (GSAO) in patients with advanced solid tumours. *Cancer Chemother Pharmacol* 72, 1343–1352 (2013).
- Hubner, A.,** Barrett, T., Flavell, R. A. & Davis, R. J. Multisite Phosphorylation Regulates Bim Stability and Apoptotic Activity. *Mol. Cell* 1, 415–425 (2008).
- Hudson, C. D.,** Savadelis, A., Nagaraj, A.B., Joseph, P., Avril, S., Difeo, A. & Avril, N. Altered glutamine metabolism in platinum resistant ovarian cancer. *Oncotarget* 7, 41637–41649 (2016).
- Hussain, A.,** Khurshid, A., Mupparapu, N., Kumar, S., Kumar, A., Raj, P., Kumar, S., Singh, P., Jamal, M., Bharate, S.B., Afzal, M., Naveed, Q., Bhushan, S., Vishwakarma, R.A & Hamid, A. Modulation of glycolysis and lipogenesis by novel PI3K selective molecule represses tumor angiogenesis and decreases colorectal cancer growth. *Cancer Lett.* 374, 250–260 (2016).
- Izquierdo-garcia, J. L.,** Cai, L.M., Chaumeil, M.M., Eriksson, P., Robinson, A.E., Pieper, R.O., Phillips, J.J & Ronen, S.M. Glioma Cells with the IDH1 Mutation Modulate Metabolic Fractional Flux through Pyruvate Carboxylase. *PloS One* 9, 1–10 (2014).
- Izquierdo-garcia, J. L.,** Viswanath, P., Eriksson, P., Cai, L.M., Radoul, M., Chaumeil, M.M., Blough, M., Luchman, H.A., Weiss, S., Cairncross, J.G., Phillips, J.J., Pieper, R.O & Ronen, S.M. IDH1 Mutation Induces Reprogramming of Pyruvate Metabolism. *Cancer Res.* 75, 2999–3009 (2015).

**Joha, S.**, Nugues, A-L., Héтуin, D., Berthon, C., Dezitter, X., Dauphin, V., Mahon, F-X., Roche-Lestienne, C., Preudhomme, C., Quesnel, B & Idziorek, T. GILZ inhibits the mTORC2/AKT pathway in BCR-ABL(+) cells. *Oncogene* 31, 1419–30 (2012).

**Jose, C.**, Bellance, N. & Rossignol, R. Choosing between glycolysis and oxidative phosphorylation : a tumor's dilemma ? *Biochim. Biophys. Acta* 1807, 552–61 (2011).

**Jost, P. J.**, Grabow G, Gray D, McKenzie MD, Nachbur U, Huang D.C.S, Bouillet P, Thomas H.E, Borner C, Silke J, Strasser A & Kaufmann T. XIAP discriminates between type I and type II FAS-induced apoptosis. *Nature* 460, 1035–9 (2009).

**Jiang, L.**, Jiang, L., Shestov, A.A., Swain, P., Yang, C., Parker, S.J., Wang, Q.A., Terada, L.S., Adams, N., McCabe, M.T., Pietrak, B., Schmidt, S., Metallo, C.M., Dranka, B.P., Schwartz, B & DeBerardinis, R.J. Reductive carboxylation supports redox homeostasis during anchorage-independent growth. *Nature* 532, 255–258 (2016).

**Kang, B. R.**, Yang, S., Chung, B., Kim, W. & Kim, Y. Cell surface GRP78 as a biomarker and target for suppressing glioma cells. *Sci. Rep.* 6, 1–7 (2016).

**Kappler, M.**, Taubert, H., Schubert, J., Vordermark, D. & Eckert, A. W. The real face of HIF1  $\alpha$  in the tumor process. *Cell Cycle*. 11, 3932–3936 (2012).

**Kankotia, S.**, & Stacpoole, P. W. Dichloroacetate and cancer : New home for an orphan drug ? *BBA - Rev. Cancer* 1846, 617–629 (2014).

**Kernytzky, A.**, Wang, F., Hansen, E., Schalm, S., Straley, K., Gliser, C., Yang, H., Travins, J., Murray, S., Dorsch, M., Agresta, S., Schenkein, D.P., Biller, S.A., Su, S.M., Liu, W & Yen, K.E. IDH2 mutation-induced histone and DNA hypermethylation is progressively reversed by small-molecule inhibition. *Blood* 125, 296–304 (2016).

**Kim, J.K.**, Kang, K.A., Piao, M.J., Ryu, Y.S., Han, X., Fernando, P.M.D.J., Oh, M.C., Park, J.E., Shilnikova, K., Boo, S.J., Na, S-Y., Jeong, Y.J., Jeong, S.U & Hyun, J.W. Endoplasmic reticulum stress induces 5-fluorouracil resistance in human colon cancer cells. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 44, 128–133 (2016).

**Kirshner, J. R.**, He, Suqin., Balasubramanyam, V., Kepros, J., Yang, C-Y., Zhang, M., Du, Z., Barsoum, J. & Bertin, John. Elesclomol induces cancer cell apoptosis through oxidative stress. *Mol. Cancer Ther.* 7, 2319–27 (2008).

**Kishton, R. J.**, Barnes, C.E., Nichols, A.G., Cohen, S., Gerriets, V.A., Siska, P.J., Macintyre, A.N., Goraksha., Hicks, P., De Cubas, A.A., Liu, T., Warming, M.O., Dale Abel, E. ., Yeoh, A.E.J., Gershon, T.R., Rathmell, W.K., Richards, K.L., Locasale, J.W. & Rathmell, J.C. AMPK Is Essential to Balance Glycolysis and Mitochondrial Metabolism to Control T-ALL Cell Stress and Survival Article AMPK Is Essential to Balance Glycolysis and Mitochondrial Metabolism to Control T-ALL Cell Stress and Survival. *Cell Metab.* 23, 649–662 (2016).

**Kluza, J.**, Jendoubi, M., Ballot, C., Dammak, A., Jonneaux, A., Idziorek, T., Joha, S., Dauphin, V., Malet-Martino, M., Balaýssac, S., Maboudou, P., Briand, G., Formstecher, P., Quesnel, B & Marchetti, P. Exploiting mitochondrial dysfunction for effective elimination of imatinib-resistant leukemic cells. *PLoS One* 6, e21924 (2011).

**Kluza, J.**, Corazao Rozas, P., Touil, Y., Jendoubi, M., Maire, C., Guerreschi, P., Jonneaux, A., Ballot, C., Balaýssac, S., Valable, S., Corroyer-Dulmont, A., Bernaudin, M., Malet-Martino, M., Martin de Lassalle, E., Maboudou, P., Formstecher, P., Polakowska, R., Mortier, L & Marchetti, P. Inactivation of the Hif-1A/Pdk3 Signaling Axis Drives Melanoma Toward Mitochondrial Oxidative Metabolism and Potentiates the Therapeutic Activity of Pro-Oxidants. *Cancer Res.* 79, 5035–5047 (2012).

- Ko, T. K.**, Chin, H. S., Chuah, C. T. H., Huang, J. W. J. & Ng, K. The BIM deletion polymorphism : A paradigm of a permissive interaction between germline and acquired TKI resistance factors in chronic myeloid leukemia. *Oncotarget* 7, 2721–2733 (2015).
- Koch, A.**, Lang, S.A., Wild, P.J., Gantner, S., Spanier, G., Berneburg, M., Müller, M., Bosserhoff, A.K & Hellerbrand, C. Glucose transporter isoform 1 expression enhances metastasis of malignant melanoma cells. *Oncotarget* 6, 32748–32760 (2015).
- Koo M. J.**, Rooney K.T., Choi M. E., Ryter S.W., Choi A. M. K. & Moon J. S. Impaired oxidative phosphorylation regulates necroptosis in human lung epithelial cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 464, 875–880 (2015).
- Koumenis, C.**, & Amaravadi, R.L. Targeting ER stress - induced autophagy overcomes BRAF inhibitor resistance in melanoma. *J. Clin. Invest.* 124, 1406–1417 (2014).
- Krainz, T.**, Gaschler, MM., Lim, C., Sacher, JR., Stockwell, BR. & Wipf, P. A Mitochondrial-Targeted Nitroxide Is a Potent Inhibitor of Ferroptosis. *ACS Cent. Sci.* 2, 653–659 (2016).
- Kuehne, A.**, Emmert, H., Soehle, J., Winnefeld, M., Fischer, F., Wenck, H., Gallinat, S., Terstegen, L., Lucius, R., Hidebrand, J. & Zamboni, N. Acute Activation of Oxidative Pentose Phosphate Pathway as First-Line Response to Oxidative Stress in Human Skin Cells Article Acute Activation of Oxidative Pentose Phosphate Pathway as First-Line Response to Oxidative Stress in Human Skin Cells. *Mol. Cell* 59, 359–371 (2015).
- Kurchazac, J.**, Simmons, M.J., Fan, Y. & Gélinas, C. To be, or not to be : NF- $\kappa$ B is the answer - role of Rel / NF- $\kappa$ B in the regulation of apoptosis. *Oncogene* 22, 8961–8982 (2003).
- Kusio-kobialka, M.**, Podrzywalow-Bartnicka, P., Peidis, P., Glodkowska-Mrowka, E., Wolanin, K., Leszak, G., Seferynska, I., Stoklosa, T., Koromilas, A.E & Piwocka, K. The PERK-eIF2  $\alpha$  phosphorylation arm is a pro-survival pathway of BCR-ABL signaling and confers resistance to imatinib treatment in chronic myeloid leukemia cells. *Cell Cycle* 11, 4069–4078 (2012).
- Lagadinou, E. D.**, Sach, A., Callahan, K., Rossi, R.M., Neering, S.J., Minhajuddin, M., Ashton, J.M., Pei, S., Grose, V., O'Dwyer, K.M., Liesveld, J.L., Brookes, P.S., Becker, M.W & Jordan, C.T. BCL-2 inhibition targets oxidative phosphorylation and selectively eradicates quiescent human leukemia stem cells. *Cell Stem Cell* 12, 329–41 (2013).
- Lakhter, A. J.**, Hamilton, J., Konger, R. L., Brustovetsky, N. & Hal, E. Acetate dependency in melanoma. *J. Biol. Chem.* 291, 21869–21879 (2016).
- Latré de Laté, P.**, Pépin, A., Assaf-Vandecasteele, H., Espinasse, C., Nicolas, V., Asselin-Labat, M.L., Bertoglio, J., Pallardy, M & Biola-Vidamment, A. Glucocorticoid-induced Leucine Zipper (GILZ) Promotes the Nuclear Exclusion of FOXO3 in a Crm1-dependent Manner □. *J. Biol. Chem.* 285, 5594–5605 (2010).
- Laurenti, G.**, & Tennant, D. A. Isocitrate dehydrogenase (IDH), succinate dehydrogenase (SDH), fumarate hydratase (FH): three players for one phenotype in cancer ? *Biochem. Soc. Trans.* 44, 1111–1116 (2016).
- Lebleu, V. S.**, Connell, J.T.O., Herrera, K.N.G., Wikman, H., Pantel, K., Haigis, M.C., Carvalho, F.M.D., Damascena, A., Thome, L., Chinen, D., Rocha, R.M., Asara, J.M & Kalluri R. PGC-1  $\alpha$  mediates mitochondrial biogenesis and oxidative phosphorylation in cancer cells to promote metastasis. *Nat. Cell Biol.* 16, 992–1003 (2014).
- Lee, J.**, Ham, S. & Lee, M. H. Dysregulation of Parkin-mediated mitophagy in thyroid Hürthle cell tumors. *Carcinogenesis* 36, 1407–1418 (2015).
- Li, F.**, Wang, Y., Zeller, K.I., Potter, J.J., Wonsey, D.R., Donnell, K.A.O., Kim, J-W., Yustein, J.T., Lee, L.A & Dang, C.V. Myc Stimulates Nuclearily Encoded Mitochondrial Genes and Mitochondrial Biogenesis †. *Mol. Cell. Biol.* 25, 6225–6234 (2005).

**Li, J.,** Zhao, S., Zhou, X., Zhang, T., Zhao, L., Miao, P., Song, S., Sun, X., Liu, J., Zhao, X & Huang, G. Inhibition of Lipolysis by Mercaptoacetate and Etomoxir Specifically Sensitize Drug-Resistant Lung Adenocarcinoma Cell to Paclitaxel. *PLoS One* 8, 1–10 (2013).

**Lim, J-H.,** Luo, C., Vazquez, F. & Puigserver, P. Targeting Mitochondrial Oxidative Metabolism in Melanoma Causes Metabolic Compensation through Glucose and Glutamine Utilization. *Cancer Res.* 74, 3535–3545 (2014).

**Lim, W.,** Park, C., Shim, M.K., Lee, Y., Lee, Y. & Lee, Youngjoo. Glucocorticoid Represses Hypoxia-induced Cyclooxygenase-2 and Hypoxia Inducible Factor-1 $\alpha$  Expression through Induction of the Glucocorticoid-induced Leucine Zipper. *Br. J. Pharmacol.* 171, 735–45 (2014).

**Lin, H.,** Patel, S., Affleck, V.S., Wilson, I., Turnbull, D.M., Joshi, A.R., Maxwell, R & Stoll, E.A. Fatty acid oxidation is required for the respiration and proliferation of malignant glioma cells. *Neuro. Oncol.* 0, 1–12 (2016).

**Liu, F.,** Garcia, A. M. G. & Meyskens, F. L. NADPH Oxidase 1 Overexpression Enhances Invasion via Matrix Metalloproteinase-2 and Epithelial – Mesenchymal Transition in Melanoma Cells. *J. Invest. Dermatol.* 132, 2033–2041 (2012).

**Liu, J.,** Xiao, M., Li, J., Wang, D., He, Y., He, J., Gao, F., Mai, L., Li, Y., Liang, Y., Liu, Y & Zhong, X Activation of UPR Signaling Pathway is Associated With the Malignant Progression and Poor Prognosis in Prostate Cancer. *Prostate* 1–7 (2016). doi:10.1002/pros.23264

**Locatelli, S. L.,** Careddu G., Stirparo G.G., Castagna L., Santoro A. & Carlo-Stella C. Dual PI3K / ERK inhibition induces necroptotic cell death of Hodgkin Lymphoma cells through IER3 downregulation. *Sci. Rep.* 6, 1–14 (2016).

**Lopez, J.,** & Tait, S. W. G. Mitochondrial apoptosis: killing cancer using the enemy within. *Br. J. Cancer* 112, 957–62 (2015).

**Lu, C.,** Lin, S., Chen, K., Lai, Y. & Tsai, S. Induction of Pyruvate Dehydrogenase Kinase-3 by Hypoxia-inducible Factor-1 Promotes Metabolic Switch and Drug Resistance. *J. Biol. Chem.* 283, 28106–28114 (2008).

**Lunt, S. Y.,** & Vander Heiden, M. G. Aerobic Glycolysis: Meeting the Metabolic Requirements of Cell Proliferation. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 27, 441–464 (2011).

**Lussey-Lepoutre, C.,** Hollinshead, K.E.R., Ludwig, C., Menara, M., Morin, A., Castro-Vega, L.J., Parker, S.J., Janin, M., Martinelli, C., Ottolenghi, C., Metallo, C., Gimenez-Roqueplo, A.P., Favier, J & Tennant, D.A. Loss of succinate dehydrogenase activity results in dependency on pyruvate carboxylation for cellular anabolism. *Nat. Commun.* 6, 8784 (2015).

**Ma, X. H.,** Piao, S-F., Dey, S., Mcafee, Q., Karakousis, G., Villanueva, J., Hart, L.S., Levi, S., Hu, J., Zhang, G., Lazova, R., Klump, V., Pawelek, J.M., Xu, X., Xu, W., Schuchter, L.M., Davies, M.A., Herlyn, M., Winkler, J., Kieran, D., Woods, I., Villunger, A., Strasser, A. & Prehn, J. H. M. Deletion of the BH3-only protein puma protects motoneurons from ER stress-induced apoptosis and delays motoneuron loss in ALS mice. *PNAS* 104, 20606–20611 (2007).

**Mackenzie, E. D.,** Selak, M.A., Tennant, D.A., Payne, L.J., Crosby, S., Frederiksen, C.M., Watson, D.G & Gottlieb, E. Cell-Permeating  $\alpha$ -Ketoglutarate Derivatives Alleviate Pseudohypoxia in Succinate Dehydrogenase-Deficient Cells. *Mol. Cell. Biol.* 27, 3282–3289 (2007).

**Matoba, S.,** Kang, J.G., Patino, W.D., Wragg, A., Boehm, M., Gabilova, O., Hurley, P.J., Bunz, F & Hwang, P.M. p53 Regulates Mitochondrial Respiration. *Science.* 312, 1650–1653 (2006).



**Marchenko, N. D.,** & Moll, U. M. Mitochondrial death functions of p53. *Mol. Cell. Oncol.* 1, e955995-1-e955995-8 (2014).

**Marchetti, P.,** Guerreschi, P., Mortier, L. & Kluza, J. Integration of Mitochondrial Targeting for Molecular Cancer Therapeutics. 2015, (2015).

**Marston Linehan, W. M.,** & Rouault, T. A. Molecular Pathways : Fumarate Hydratase - Deficient Kidney Cancer — Targeting the Warburg Effect in Cancer. *Clin. Cancer Res.* 19, 3345–3352 (2013).

**Martínez-reyes, I.,** & Cuezva, J. M. The H<sup>+</sup>-ATP synthase: A gate to ROS-mediated cell death or cell survival. *BBA - Bioenerg.* 1837, 1099–1112 (2014).

**Masui, K.,** Tanaka, K., Akhavan, D., Babic, I., Gini, B., Matsutani, T., Iwanami, A., Liu, F., Villa, G.R., Gu, Y., Campos, C., Zhu, S., Yang, H., Yong, W.H., Cloughesy, T.F., Mellingerhoff, I.K., Cavenee, W.K., Shaw, R.J. & Mischel, P.S. mTOR Complex 2 Controls Glycolytic Metabolism in Glioblastoma through FoxO Acetylation and Upregulation of c-Myc. *Cell Metab.* 18, 726–739 (2013).

**McFate, T.,** Mohyeldin, A., Lu, H., Thakar, J., Henriques, J., Halim, N.D., Wu, H., Schell, M.J., Tsz, M.T., Teahan, O., Zhou, S., Califano, J.A., Nam, H.J., Harris, R.A & Verma, A. Pyruvate dehydrogenase complex activity controls metabolic and malignant phenotype in cancer cells. *J. Biol. Chem.* 283, 22700–22708 (2008).

**Ngoh, G. A.,** Papanicolaou, K. N. & Walsh, K. Loss of Mitofusin 2 Promotes Endoplasmic Reticulum Stress. *J. Biol. Chem.* 287, 20321–20332 (2012).

**Michelakis, E. D.,** Sutendra, G., Dromparis, P., Webster, L., Haromy, A., Niven, E., Maguire, C., Gammer, T., Mackey, J R., Fulton, D., Abdulkarim, B., Mcmurtry, M.S & Ketruk, K.C. Metabolic Modulation of Glioblastoma with Dichloroacetate. *Sci. Transl. Med.* 2, 31ra34 (2010).

**Miskimins, W. K.,** Ahn, H.J., Kim, J.Y., Ryu, S., Jung, Y-S. & Choi, J.Y. Synergistic Anti-Cancer Effect of Phenformin and Oxamate. *PLoS One* 9, e85576 (2014).

**Mitsuishi, Y.,** Motohashi, H. & Yamamoto, M. The Keap1-Nrf2 system in cancers: stress response and anabolic metabolism. *Front. Oncol.* 2, 1–13 (2012).

**Mobarra, N.,** Shafiee, A., Rad, S.Y.A.H., Tasharrofi, N., Soufi-Zomorod, M., Hafizi, M., Movahed, M., Kouhkan, F & Soleimani, M. Overexpression of microRNA-16 declines cellular growth, proliferation and induces apoptosis in human breast cancer cells. *Vitr. Cell. Dev. Biol - Anim.* 51, 604–611 (2015).

**Mullen, A. R.,** Wheaton, W.W., Jin, E.S., Chen, P.H., Sullivan, L.B., Cheng, T., Yang, Y.Y., Linehan, W.M., Chandel, N.S & DeBerardinis, R.J. Reductive carboxylation supports growth in tumour cells with defective mitochondria. *Nature* 481, 385–8 (2012).

**Miyashita, T.,** Harigai, M., Hanada, M. & Reed, J.C. Identification of a p53-dependent Negative Response Element in the bcl-2 Gene'. *Cancer Res.* 54, 3131–3135 (1994).

**Nakagawa, T.,** Shimizu, S. & Watanabe, T. Cyclophilin D-dependent mitochondrial permeability transition regulates some necrotic but not apoptotic cell death. *Nature* 434, 652–657 (2005).

**Nakajima, E. C.,** & Van Houten, B. Metabolic symbiosis in cancer: Refocusing the Warburg lens. *Mol. Carcinog.* 52, 329–337 (2013).

**Nakano, K.,** & Vousden, K. H. PUMA, a Novel Proapoptotic Gene, Is Induced by p53 National Cancer Institute at Frederick. *Mol. Cell* 7, 683–694 (2001).

**Naughton, R.,** Quiney, C., Turner, S. D. & Cotter, T. G. Bcr-Abl-mediated redox regulation of the PI3K / AKT pathway. *Leukemia* 23, 1432–1440 (2009).

**Niewisch, M. R.,** Kuçi, Z., Wolburg, H., Sautter, M., Krampen, L., Deubzer, B., Handgretinger, R & Bruchelt, G. Cellular Physiology and Biochemistry Influence of Dichloroacetate (DCA) on Lactate Production and Oxygen Consumption in Neuroblastoma Cells : Is DCA a Suitable Drug for Neuroblastoma Therapy ? *Cell. Physiol. Biochem.* 1, 373–380 (2012).

**Nioi, P.** & Nguyen, T. A mutation of Keap1 found in breast cancer impairs its ability to repress Nrf2 activity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 362, 816–821 (2007).

**Oda, E.,** Ohki, R., Murasawa, H., Nemoto, J., Shibue, T., Yamashita, T., Tokino, T., Taniguchi, T & Tanaka, N. Noxa, a BH3-Only Member of the Bcl-2 Family and Candidate Mediator of p53-Induced Apoptosis. *Science.* 288, 1053–1058 (2000).

**Panieri, E.,** & Santoro, M. M. ROS homeostasis and metabolism : a dangerous liason in cancer cells. *Cell Death Dis.* 7, e2253-12 (2016).

**Parri, M.,** & Chiarugi, P. Redox Molecular Machines Involved in Tumor Progression. *Antioxid. Redox Signal.* 0, 1–18 (2013).

**Park, D.,** Chiu, J., Perrone, G. G., Dilda, P. J. & Hogg, P. J. The tumour metabolism inhibitors GSAO and PENAO react with cysteines 57 and 257 of mitochondrial adenine nucleotide translocase. *Cancer Cell Int.* 12, 11 (2012).

**Park, J. H.,** Vithayathil, S., Kumar, S., Sung, P.L., Dobrolecki, L.E., Putluri, V., Bhat, V.B., Bhowmik, S.K., Gupta, V., Arora, K., Wu, D., Tsouko, E., Zhang, Y., Maity, S., Donti, T.R., Graham, B.H., Frigo, D.E., Coarfa, C., Sreekumar, A., Lewis, M.T., Creighton, C.J., Wong, L.J.C & Kaiparettu, B.A. Fatty Acid Oxidation-Driven Src Links Mitochondrial Energy Reprogramming and Oncogenic Properties in Triple-Negative Breast Cancer. *Cell Rep.* 14, 2154–2165 (2016).

**Parker, S. J.,** & Metallo, C. M. Pharmacology & Therapeutics Metabolic consequences of oncogenic IDH mutations. *Pharmacol. Ther.* 152, 54–62 (2015).

**Parmenter, T. J.,** Kleinschmidt, M., Kinross, K.M., Bond, S.T., Li, J., Kaadige, M.R., Rao, A., Sheppard, K.E., Hugo, W., Pupo, G.M., Pearson, R.B., McGee, S.L., Long, G.V., Scoloyer, R.A., Rizos, H., Lo, R.S., Cullinane, C., Ayer, D.E., Ribas, A., Johnstone, R.W., Hicks, R.J & McArthur, G.A. Response of BRAF -Mutant Melanoma to BRAF Inhibition Is Mediated by a Network of Transcriptional Regulators of Glycolysis. *Cancer Discov.* 4, 423–433 (2014).

**Phannasil, P.,** Thuwajit, C., Warnnissorn, M., Wallace, J.C., MacDonald, M.J & Jitrapakdee, S. Pyruvate carboxylase is up-regulated in breast cancer and essential to support growth and invasion of MDA-MB-231 cells. *PLoS One* 10, 1–20 (2015).

**Pike, L. S.,** Smift, A. L., Croteau, N. J., Ferrick, D. A. & Wu, M. Inhibition of fatty acid oxidation by etomoxir impairs NADPH production and increases reactive oxygen species resulting in ATP depletion and cell death in human glioblastoma cells. *BBA - Bioenerg.* 1807, 726–734 (2011).

**Polet, F.,** Corbet, C., Pinto, A., Rubio, L.I., Martherus, R., Bol, V., Drozak, X., Grégoire, V., Riant, O., & Feron, O et al. Reducing the serine availability complements the inhibition of the glutamine metabolism to block leukemia cell growth. *Oncotarget* 7, 1765–1776 (2015).

**Porporeto, P.E.,** Payen, V.L., Pérez-Escuredo, J., De Saedeleer, C.J., Danhier, P., Copetti, T., Dhup, S., Tardy, M., Vazeille, T., Bouzin, C., Feron, O., Michiels, C., Gallez, B & Sonveaux, P. A Mitochondrial Switch Promotes Tumor Metastasis. *Cell Rep.* 8, 754–766 (2014).

**Prochazka, L.,** Dong, L-F., Valis, K., Freeman, R., Ralph, S.J., Turanek, J & Neuzil, J. a -Tocopheryl succinate causes mitochondrial permeabilization by preferential formation of Bak channels. *Apoptosis* 15, 782–794 (2010).

**Psarra, A. G.** & Sekeris, C. E. Glucocorticoids induce mitochondrial gene transcription in HepG2 cells Role of the mitochondrial glucocorticoid receptor. *BBA - Mol. Cell Res.* 1813, 1814–1821 (2011).

**Qin, L.,** Tian, Y Yun, Z., Shi, D., Wang, J., Zhang, C., Peng, R., Chen, Z., Liu, C., Chen, Y., Huang, W & Deng, W. Targeting PDK1 with dichloroacetophenone to inhibit acute myeloid leukemia ( AML ) cell growth. *Oncotarget* 7, 1395–1407 (2015).

**Ranganathan, A.C.,** Adam, A. P., Zhang, L. & Aguirre-ghiso, J. A. Tumor Cell Dormancy Induced by p38SAPK and ER-Stress Signaling: An Adaptive Advantage for Metastatic Cells? *Cancer Biol. Ther.* 5, 729–735 (2008).

**Ratnikov, B.I.,** Scott, D. A., Osterman, A. L., Smith, J. W. & Ronai, Z. A. Metabolic rewiring in melanoma. *Oncogene* 1, 1–11 (2016).

**Rodríguez-Enríquez, S.,** Hernández-Esquivel, L., Marín-Hernández, A., El Hafidi, M., Gallardo-pérez, J., Hernández-reséndiz, I., Rodríguez-Zavala, J.S., Pacheco-Velázquez, S.C., Moreno-Sánchez, R. The International Journal of Biochemistry Mitochondrial free fatty acid-oxidation supports oxidative phosphorylation and proliferation in cancer cells. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 65, 209–221 (2015).

**Rodrigues, M. F.,** Obre, E., Melo, F.H., Santos-Jr, G.C., Galina, A., Jasiulionis, M.G., Rossignol, R., Rumjanek, F.D & Amoedo, N.D. Enhanced OXPHOS, glutaminolysis and beta-oxidation constitute the metastatic phenotype of melanoma cells. *Biochem. J.* 473, 703–715 (2016).

**Roesch, A.,** Vultur, A., Bogeski, I., Wang, H., Zimmermann, K.M., Speicher, D., Körbel, C., Laschke, M.W., Gimotty, P.A., Philipp, S.E., Krause, E., Pätzold, S., Villanueva, J., Krepler, C., Fukunaga-Kalabis, M., Hoth, M., Bastian, B.C., Vogt, T. & Herlyn, M. Overcoming Intrinsic Multidrug Resistance in Melanoma by Blocking the Mitochondrial Respiratory Chain of Slow-Cycling JARID1Bhigh Cells. *Cancer Cell* 23, 811–825 (2013).

**Rieusset, J.,** Fauconnier, J., Paillard, M., Belaidi, E., Tubbs, E., Chauvin, M.A., Durand, A., Bravard, A., Teixeira, G., Bartosch, B., Michelet, M., Theurey, P., Vial, G., Demion, M., Blond, E., Zoulim, F., Gomez, L., Vidal, H & Lacampagne, A., Ovize, M. Disruption of calcium transfer from ER to mitochondria links alterations of mitochondria-associated ER membrane integrity to hepatic insulin resistance. *Diabetologia* 59, 614–623 (2016).

**Saunier, E.,** Benelli, C. & Bortoli, S. The pyruvate dehydrogenase complex in cancer: An old metabolic gatekeeper regulated by new pathways and pharmacological agents. *Int. J. Cancer* 138, 809–817 (2016).

**Saxena, N.,** Maio, N., Crooks, D.R., Ricketts, C.J., Yang, Y., Wei, M.H., Fan, T.W.M., Lane, A.N., Sourbier, C., Singh, A., Killian, J.K., Meltzer, P.S., Vocke, C.D., Rouault, T.A & Linehan, W.M. SDHB-Deficient Cancers : The Role of Mutations That Impair Iron Sulfur Cluster Delivery. *JNCI J Natl Cancer Inst* 108, 1–11 (2016).

**Schlaepfer, I. R.,** Rider, L., Rodrigues, L.U., Gijón, M.A., Colton, T., Romero, L., Camic, A., Sirintrapun, S.J., Glodé, L.M., Robert, H & Cramer, S.D. Lipid catabolism via CPT1 as a therapeutic target for prostate cancer. *Mol. Cancer Ther.* 13, 2361–2371 (2015).

**Schell, J. C.,** Olson, K., Jiang, L., Hawkins, A.J., Vranken, J.G.V., Xie, J., Egnatchik, R.A., Earl, E.G., Deberardinis, R & Rutter, J. et al. A Role for the Mitochondrial Pyruvate Carrier as a Repressor of the Warburg Effect and Colon Cancer Cell Growth. *Mol. Cell* 56, 400–413 (2014).

**Scotland, S.,** Saland, E., Skuli, N., De Toni, F., Boutzen, H., Micklow, E., Senegas, I., Peyraud, R., Peyriga, L., Théodoro, F., Dumon, E., Martineau, Y., Danet-Desnoyers, G., Bono, F., Rocher, C., Levade, T., Manenti, S., Junot, C., Portais, J.-C., Alet, N., Réchet, C., Selak, M.A., Carroll, M & Sarry, J.-E. Mitochondrial energetic and AKT status mediate metabolic effects and apoptosis of metformin in human leukemic cells. *Leukemia* 27, 2129–2138 (2013).

**Selak, M. A.,** Durán, V. & Gottlieb, E. Redox stress is not essential for the pseudo-hypoxic phenotype of succinate dehydrogenase deficient cells. *Biochem. Biophys. Acta* 1757, 567–572 (2006).

**Sellers, K.**, Fox, M.P., Ii, M.B., Slone, S.P., Higashi, R.M., Miller, D.M., Wang, Y., Yan, J., Yuneva, M.O., Deshpande, R., Lane, A.N & Fan, T.W. Pyruvate carboxylase is critical for non – small-cell lung cancer proliferation. *J. Clin. Invest.* 125, 687–698 (2015).

**Schlaepfer, I. R.**, Rider, L., Rodrigues, L.U., Gijón, M.A., Colton, T., Romero, L., Cimic, A., Sirintrapun, S.J., Glodé, L.M., Robert, H & Cramer, S.D. Lipid catabolism via CPT1 as a therapeutic target for prostate cancer. *Mol Cancer Ther.* 13, 2361–2371 (2014).

**Schwartzberg-Bar-Yoseph, F.**, Armoni, M. & Karnieli, E. The Tumor Suppressor p53 Down-Regulates Glucose Transporters GLUT1 and GLUT4 Gene Expression. *Cancer Res.* 2, 2627–2633 (2004).

**Serasinghe, M. N.**, Wieder, S.Y., Renault, T.T., Elkholi, R., Ascioia, J.J., Yao, J.L., Jabado, O., Hoehn, K., Kageyama, Y., Sesaki, H & Chipuk, J.E. Mitochondrial Division Is Requisite to RAS-Induced Transformation and Targeted by Oncogenic MAPK Pathway Inhibitors Article Mitochondrial Division Is Requisite to RAS-Induced Transformation and Targeted by Oncogenic MAPK Pathway Inhibitors. *Mol. Cell* 57, 521–536 (2015).

**Shan, C.**, Kang, H.B., Elf, S., Xie, J., Gu, T.L., Aguiar, M., Lonning, S., Hitosugi, T., Chung, T.W., Arellano, M., Khuri H.J., Shin, D.M., Khuri, F.R., Boggon, T.J & Fan, J. Tyr-94 phosphorylation inhibits pyruvate dehydrogenase phosphatase 1 and promotes tumor growth. *J. Biol. Chem.* 289, 21413–21422 (2014).

**Shao, L.**, Sun, Y., Zhang, Z., Feng, W., Gao, Y., Cai, Z., Wang, Z.Z., Look, A.T. & Wu, W-S. Deletion of proapoptotic Puma selectively protects hematopoietic stem and progenitor cells against high-dose radiation. *Hematop. Stem Cells* 115, 4707–4715 (2016).

**Shelton, L. M.**, Huysentruyt, L.C & Seyfried, T.N. Glutamine targeting inhibits systemic metastasis in the VM-M3 murine tumor model. *Int. J. Cancer* 127, 2478–2485 (2011).

**Shen, H.**, Decollogne, S., Dilda, P.J., Hau, E., Chung, S.A., Luk, P.P., Hogg, P.J. & McDonald, K.L. Dual-targeting of aberrant glucose metabolism in glioblastoma. *J. Exp. Clin. cancer Res.* 1–11 (2015).

**Shen, L.**, Wen, N., Xia, M., Zhang, Y.U., Liu, W., Xu, Y.E. & Sun, Li. Calcium efflux from the endoplasmic reticulum regulates cisplatin-induced apoptosis in human cervical cancer HeLa cells. *Oncol. Lett.* 11, 2411–2419 (2016).

**Shen, X.**, Xue, Y. & Si, Y. The unfolded protein response potentiates epithelial- to-mesenchymal transition (EMT) of gastric cancer cells under severe hypoxic conditions. *Med Oncol* 1–7 (2015).

**Shen, Y.C.**, Ou, D-L., Hsu, C., Lin, K-L., Chang, C-Y., Lin, C-Y., Liu, S-H. & Cheng, A-L. Activating oxidative phosphorylation by a pyruvate dehydrogenase kinase inhibitor overcomes sorafenib resistance of hepatocellular carcinoma. *Br. J. Cancer* 108, 72–81 (2013).

**Shibata, T.**, Ohta, T., Tong, K.I., Odogawa, R., Tsuta, K., Asamura, H., Yamamoto, M & Hirohashi, S. Cancer related mutations in impair its recognition by Keap1-Cul3 E3 ligase NRF2 and promote malignancy. *PNAS* 106, 13568–13573 (2008).

**Shida, M.**, Kitajima, Y., Nakamura, J., Yanagihara, K., Baba, K., Wakiyama, K., & Noshiro, H. Impaired mitophagy activates mtROS/HIF-1 $\alpha$  interplay and increases cancer aggressiveness in gastric cancer cells under hypoxia. *Int. J. Oncol.* 48, 1379–1390 (2016).

**Shimizu, A.**, Kaira, K., Yasuda, M. & Asao, T. Clinical and Pathological Significance of ER Stress Marker (BiP / GRP78 and PERK) Expression in Malignant Melanoma. *Pathol. Oncol. Res.* (2016).

**Shoemaker, A. R.**, Mitten, M.J., Adickes, J., Ackler, S., Refici, M., Ferguson, D., Oleksijew, A., O'Connor, J.M., Wang, B., Frost, D.J., Bauch, J., Marsh, K., Tahir, S., Yang, X., Tse, C., Fesik, S.W., Rosenberg, S.H. & Elmore, S.W. Activity of the Bcl-2 family inhibitor ABT-263 in a panel of small cell lung cancer xenograft models. *Clin. Cancer Res.* 14, 3268–3277 (2008).

**Shulga, N.,** & Pastorino, J. G. GRIM-19-mediated translocation of STAT3 to mitochondria is necessary for TNF-induced necroptosis. *J. Cell Sci.* 12, 2995–3003 (2012).

**Siddiqui, W. A.,** Ahad, A. & Ahsan, H. The mystery of BCL2 family: Bcl-2 proteins and apoptosis: an update. *Arch. Toxicol.* 89, 289–317 (2015).

**Souers, A. J.,** Levenson, J.D., Boghaert, E.R., Ackler, S.L., Catron, N.D., Chen, J., Dayton, B.D., Ding, H., Enschede, S.H., Fairbrother, W.J., Huang, D.C.S., Hymowitz, S.G., Jin, S., Khaw, S.L., Kovar, P.J., Lam, L.T., Lee, J., Maecker, H.L., Marsh, K.C., Mason, K.D., Mitten, M.J., Nimmer, P.M., Oleksijew, A., Park, C.H., Park, C-M., Phillips, D.C., Roberts, A.W., Sampath, D., Seymour, J.F., Smith, M.L., Sullivan, G.M., Tahir, S.K., Tse, C., Wendt, M.D., Xiao, Y., Xue, J.C., Zhang, H., Humerickhouse, R.A., Rosenberg, S.H. & Elmore, S.W. ABT-199, a potent and selective BCL-2 inhibitor, achieves antitumor activity while sparing platelets. *Nat. Med.* 19, 202–8 (2013).

**Stacy, D. R.,** Ely, K., Massion, P.P., Yarbrough, W.G., Hallahan, D.E., Sekhar, K.R & Freeman, M.L. INCREASED EXPRESSION OF NUCLEAR FACTOR E2 p45-RELATED FACTOR 2 (NRF2) IN HEAD AND NECK SQUAMOUS CELL CARCINOMAS. *Head Neck* 2, 813–818 (2006).

**Stein, E. M.,** IDH2 inhibition in AML: Finally progress? *Best Pract. Res. Clin. Haematol.* 28, 112–115 (2015).

**Strohecker, A. M.,** Guo, J.Y., Karsli-Uzunbas, G., Price, S.M., Chen, G.J., Mathew, R., McMahon, M & White, E. Autophagy Sustains Mitochondrial Glutamine Metabolism and Growth of Braf V600E – Driven Lung Tumors. *Cancer Discov.* 3, 1273–1285 (2013).

**Su, Z.,** Yang, Z., Xu, Y., Chen, Y. & Yu, Q. Apoptosis, autophagy, necroptosis, and cancer metastasis. *Mol. Cancer* 14, 1–14 (2015).

**Sullivan, L. B.,** Martinez-garcia, E., Nguyen, H., Mullen, A.R., Dufour, E., Sudarshan, S., Licht, J.D., Deberardinis, R.J & Chandel, N.S. The Proto-oncometabolite Fumarate Binds Glutathione to Amplify ROS-Dependent Signaling. *Mol. Cell* 51, 236–248 (2013).

**Sun, R. C.,** & Denko, N. C. Hypoxic regulation of glutamine metabolism through HIF1 and SIAH2 supports lipid synthesis that is necessary for tumor growth. *Cell Metab.* 19, 285–292 (2014).

**Sun, X.,** Liao, Wang J., Wang, P., Gao, H., Wang, M., Xu, C., Zhong, Y & Ding, Y. CSTMP induces apoptosis and mitochondrial dysfunction in human myeloma RPMI8226 cells via CHOP-dependent endoplasmic reticulum stress. *Biomed. Pharmacother.* 83, 776–784 (2016).

**Tan, A. S.,** Baty, J.W., Dong, L-F., Bezawork-geleta, A., Endaya, B., Goodwin, J., Bajzikova, M., Kovarova, J., Peterka, M., Yan, B., Pesdar, E.A., Sobol, M., Filimonenko, A., Stuart, S., Vondrusova, M., Sachaphibulkij, K., Rohlena, J., Hozak, P., Truksa, J., Eccles, D., Haupt, L.M., Griffiths, L.R., Neuzil, J & Berridge, M.V. Mitochondrial Genome Acquisition Restores Respiratory Function and Tumorigenic Potential of Cancer Cells without Mitochondrial DNA. *Cell Metab.* 21, 81–94 (2015).

**Tardito, S.,** Oudin, A., Ahmed, S.U., Fack, F., Keunen, O., Zheng, L., Miletic, H., Sakariassen, P.O., Weinstock, A., Wagner, A., Lindsay, S.L., Hock, A.K., Barnett, S.C., Ruppin, E., Morkve, S.H., Lund-Johansen, M., Chalmers, A.J., Bjerkvig, R., Niclou, S.P & Gottlieb, E. Glutamine synthetase activity fuels nucleotide biosynthesis and supports growth of glutamine-restricted glioblastoma. *Nat. Cell Biol.* 17, 1556–68 (2015).

**Tateishi, K.,** Iafate, A.J., Ho, Q., Curry, W.T., Batchelor, T.T., Flaherty, K.T., Onozato, M.L., Lelic, N., Sundaram, S., Cahill, D.P., Chi, A.S. & Wakimoto, Hiroaki. Myc-Driven Glycolysis Is a Therapeutic Target in Glioblastoma. *Clin. Cancer Res.* 22, 4452–4465 (2016).

**Tay, K. H.,** Luan, Q., Croft, A., Jiang, C.C., Zhang, X.D & Tseng, H-Y. Sustained IRE1 and ATF6 signaling is important for survival of melanoma cells undergoing ER stress. *Cell. Signal.* 26, 287–294 (2014).

**Tennakoon, J. B.**, Shi, Y., Han, J.J., Tsouko, E., White, M.A., Burns, A.R., Zhang, A., Xia, X., Ilkayeva, O.R., Xin, L., Ittmann, M.M., Rick, F.G., Schally, A.V. & Frigo, D.E. Androgens regulate prostate cancer cell growth via an AMPK-PGC-1 $\alpha$ -mediated metabolic switch. *Oncogene* 33, 5251–5261 (2014).

**Tiao, M.M.**, Lin, T-K., Chen, J-B., Liou, C-W., Wang, P-W., Huang, C-C., Chou, Y-M., Huang, Y-H. & Chuang, J-H. Dexamethasone decreases cholestatic liver injury via inhibition of intrinsic pathway with simultaneous enhancement of mitochondrial biogenesis. *Steroids* 76, 660–666 (2011).

**Tse, C.**, Shoemaker, A.R., Adickes, J., Anderson, M.G., Chen, J., Jin, S., Johnson, E.F., Marsh, K.C., Mitten, M.J., Nimmer, P., Roberts, L., Tahir, S.K., Xiao, Y., Yang, X., Zhang, H., Fesik, S., Rosenberg, S.H. & Elmore, S.W. ABT-263: A potent and orally bioavailable Bcl-2 family inhibitor. *Cancer Res.* 68, 3421–3428 (2008).

**Torrems-mas, M.**, Pons, D. G., Sastre-serra, J., Oliver, J. & Roca, P. SIRT3 Silencing Sensitizes Breast Cancer Cells to Cytotoxic Treatments Through an Increment in ROS Production. *J. Biol. Chem.* 10, 1–10 (2016).

**Tsujimoto, Y.**, & Shimizu, S. Role of the mitochondrial membrane permeability transition in cell death. *Apoptosis* 12, 835–840 (2007).

**Vanden Berghe, T.**, Vanden, L.A., Jouan-lanhouet, S., Henning, W. & Peter, V. Regulated necrosis: the expanding network of non-apoptotic cell death pathways. *Nat. Cell Biol.* 15, 135–147 (2014).

**Vander Heiden, M. G.**, Cantley, L. C. & Thompson, C. B. Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation. *Science* 324, 1029–33 (2009).

**Vander Heiden, M. G.**, Targeting cancer metabolism : a therapeutic window opens. *Nat. Rev.* 10, 671–684 (2011).

**Van Lith, S. A. M.**, Navis, A.C., Lenting, K., Verrijp, K., Schepens, J.T.G., Hendriks, W.J.A.J., Schubert, N.A., Venselaar, H., Wevers, R.A., Van Rooij, A., Wessling, P., Molenaar, R.J., Van Noorden, C.F.F., Pusch, S., Tops, B & Leenders, W.P.J. Identification of a novel inactivating mutation in Isocitrate in a high grade astrocytoma. *Sci. Rep.* 6, 30486 (2016).

**Vasudevan, D.** & Ryoo, H. D. Regulation of Cell Death by IAPs and Their Antagonists. *Apoptosis and Development* 114, (Elsevier Inc., 2015).

**Vazquez, F.**, Lim, J-H., Chim, H., Bhalla, K., Girnun, G., Pierce, K., Clish, C.B., Granter, S.R., Widlund, H.R., Spiegelman, B.M & Puigserver, P. PGC1 $\alpha$  Expression Defines a Subset of Human Melanoma Tumors with Increased Mitochondrial Capacity and Resistance to Oxidative Stress. *Cancer Cell* 32, 1–15 (2013).

**Vellinga, T. T.**, Borovski, T., De Boer, V.C.J., Fatrai, S., Van Schelven, S., Trumpi, K., Verheem, A., Snoeren, N., Emmink, B.L., Koster, J., Borel Rinkes, I.H.M. & Kranenburg, O. SIRT1 / PGC1 $\alpha$  -Dependent Increase in Oxidative Phosphorylation Supports Chemotherapy Resistance of Colon Cancer. *Clin. Cancer Res.* 21, 2870–2879 (2015).

**Viale, A.**, Pettazoni, P., Lyssiotis, C.A., Ying, H. Sanchez, N., Marchesini, M., Carugo, A., Green, T., Seth, S., Giuliani, V., Kost-Alimova, M., Muller, F., Colla, S., Nezi, L., Genovese, G., Deem, A.K., Kappor, A., Yao, W., Brunetto, E., Kang, Y., Yuan, M., Asara, J.M., Wang, Y.A., Heffernan, T.P., Kimmelman, A.C., Fleming, J.B., Cantley, L.C., DePinho, R.A & Draetta, G.F. Oncogene ablation-resistant pancreatic cancer cells depend on mitochondrial function. *Nature* 514, 628–632 (2014).

**Yun, H.-M.**, Park, K-R., Lee, H.P., Lee, D.H., Miran, J., Shin, D.H., Yoon, D-Y., Han, S.B & Hong, J.T. Free Radical Biology and Medicine PRDX6 promotes lung tumor progression via its GPx and iPLA2 activities. *Free Radic. Biol. Med.* 69, 367–376 (2014).

**Vafa, O.**, Omid W., Mark Kern, S., Beeche, M., Pandita, T.K., Hampton, G.M. & Wahl, G.M. c-Myc Can Induce DNA Damage, Increase Reactive Oxygen Species, and Mitigate p53 Function : A Mechanism for Oncogene-Induced Genetic Instability The Salk Institute for Biological Studies. *Mol. Cell* 9, 1031–1044 (2002).

**Vousden, K. H.**, & Ryan, K. M. P53 and Metabolism. *Nat. Rev. Cancer* 9, 691–700 (2009).

**Wang, F.**, Travins, J., DeLaBarre, B., Penard-Lacronique, V., Schalm, S., Hansen, E., Straley, K., Kernytsky, A., Liu, W., Gliser, C., Yang, H., Gross, S., Artin, E., Saada, V., Mylonas, E., Quivoron, C., Popovici-Muller, J., Saunders, J.O., Salituro, F.G., Yan, S., Murray, S., Wei, W., Gao, Y., Dang, L., Dorsch, M., Agresta, S., Schenkein, D.P., Biller, S.A., Su, S.M., De Botton, S. & Yen, K.E. Targeted Inhibition of Mutant. *Science*. 340, 622–626 (2013).

**Wang, L.**, Xu, M., Qin, J., Lin, S.C., Lee, H.J., Tsai, S.Y & Tsai, M.J.et al. MPC1, a key gene in cancer metabolism, is regulated by COUP- TFII in human prostate cancer. *Oncotarget* 7, 14673–14683 (2016).

**Wang, P.**, Zhu, C., Ma, M., Chen, G. & Song, M. Micro-RNA-155 is induced by K-Ras oncogenic signal and promotes ROS stress in pancreatic cancer. *Oncotarget* 6, 21148–21258 (2015).

**Wanka, C.**, Steinbach, J. P. & Rieger, J. Tp53-induced Glycolysis and Apoptosis Regulator ( TIGAR ) Protects Glioma Cells from Starvation-induced Cell Death by Up-regulating Respiration and Improving Cellular Redox. *J. Biol. Chem.* 287, 33436–33446 (2012).

**Warburg, O.**, Wind, F. & Negelein, E. Killing-Off of Tumor Cells in Vitro. *J. Gen. Physiol.* 519–530 (1926).

**Warburg, O.**, Injuring of Respiration the Origin of Cancer Cells. *Science*. 123, 309–14 (1956).

**Ward, P. S.**, & Thompson, C. B. Metabolic Reprogramming: A Cancer Hallmark Even Warburg Did Not Anticipate. *Cancer Cell* 21, 297–308 (2012).

**Weber, K.**, Brück, P., Mikes, A., Küpper, J-H., Klingenspor, M. & Weisner, R.J. Glucocorticoid Hormone Stimulates Mitochondrial Biogenesis Specifically in Skeletal Muscle. *Endocrinology* 143, 177–184 (2016).

**Weinhouse, S.**, On Respiratory Impairment in Cancer Cells. *Science*. 124, 267–268 (1956).

**Wheaton, W. W.**, Weinberg, S.E., Hamanaka, R.B., Soberanes, S., Sullivan, L.B., Anso, E., Glasauer, A., Dufour, E., Mutlu, G.M., Budigner, G.R.S & Chandel, N.S. Metformin inhibits mitochondrial complex I of cancer cells to reduce tumorigenesis. *Elife* 3, 1–18 (2014).

**Wilde, B. R.**, & Ayer, D. E. Interactions between Myc and MondoA transcription factors in metabolism and tumourigenesis. *Br. J. Cancer* 113, 1529–1533 (2015).

**Wilkie, M.**, Lau, A., Vlatkovic, N., Jones, T. & Boyd, M. Tumour metabolism in squamous cell carcinoma of the head and neck : an in-vitro study of the consequences of TP53. *Lancet* 385, S101 (2015).

**Wolf, D. A.**, Is Reliance on Mitochondrial Respiration a “ Chink in the Armor ” of Therapy-Resistant Cancer ? *Cancer Cell* 26, 788–795 (2014).

**Wong, C. C.**, Qian, Y., Li, X., Xu, J., Kang, W., Tong, J.H., To, K-F., Jin, Y., Li, W., Chen, H., Go, M.Y.Y., Wu, J-L., Cheng, K.W., Ng, S.S.M., Sung, J.J.Y., Cai, Z. & Yu, J. SLC25A22 Promotes Proliferation and Survival of Colorectal Cancer Cells With KRAS Mutations and Xenograft Tumor Progression in Mice via Intracellular Synthesis of Aspartate Chi. *Gastroenterology* 151, 945–960 (2016).

**Wu, S.-G.**, Liu, Y.-N., Yu, C.-J., Yang, P.-C. & Shih, J.-Y. Association of BIM Deletion Polymorphism With Intrinsic Resistance to EGFR Tyrosine Kinase Inhibitors in Patients With Lung Adenocarcinoma Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors. *JAMA Oncol.* 2, 2015–2017 (2016).

**Xiao, D.**, Powolny, A.A., Moura, M.B., Kelley, E.E., Bommareddy, A., Kim, S-H., Hahm, E.R., Normolle, D., Van Houten, B & Singh, S.V. Phenethyl Isothiocyanate Inhibits Oxidative Phosphorylation to Trigger Reactive Oxygen Species-mediated Death of Human Prostate Cancer Cells. *J. Biol. Chem.* 285, 26558–26569 (2010).

- Xie, C.**, Jin, J., Bao, X., Zhan, W-H., Han, T-Y., Gan, M., Zhang, C & Wang, J. Inhibition of mitochondrial glutaminase activity reverses acquired erlotinib resistance in non-small cell lung cancer. *Oncotarget* 7, 610–621 (2015).
- Xie, W.**, Zhou, X., Yang, J., Chen, L. & Ran, D. Inhibition of autophagy enhances heat-induced apoptosis in human non-small cell lung cancer cells through ER stress pathways. *Arch. Biochem. Biophys.* 607, 55–66 (2016).
- Xie, Y.**, Hou W., Song X., Yu Y., Huang J, Sun X., Kang R & Tang T. Ferroptosis : process and function. *Cell Death Differ.* 23, 369–379 (2016).
- Xin, M.**, & Deng, X. Nicotine Inactivation of the Proapoptotic Function of Bax through Phosphorylation of AKT expression by RNA interference can block both. *J. Biol. Chem.* 280, 10781–10789 (2005).
- Yadav, A.A.**, Patel, D., Wu, X. & Hasinoff, B. B. Molecular mechanisms of the biological activity of the anticancer drug elesclomol and its complexes with Cu(II), Ni(II) and Pt(II). *J. Inorg. Biochem.* 126, 1–6 (2013).
- Yan, B.**, Dong, L. & Neuzil, J. Mitochondria : An intriguing target for killing tumour-initiating cells. *Mitochondrion* 26, 86–93 (2016).
- Yang, Y.**, Karakhanova, S., Hartwig, W., Haese, J.A.N.G.D., Philippov, P.P., Werner & J., Bazhin, A.V. Mitochondria and Mitochondrial ROS in Cancer : Novel Targets for Anticancer Therapy. *J. Cell. Physiol.* 2570–2581 (2016).
- Yang, Z.**, & Tam, K. Y. Anti-cancer synergy of dichloroacetate and EGFR tyrosine kinase inhibitors in NSCLC cell lines. *Eur. J. Pharmacol.* 789, 458–467 (2016).
- Yuan, H.**, Li, X., Zhang, X., Kang, R. & Tang, D. CISD1 inhibits ferroptosis by protection against mitochondrial lipid peroxidation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 478, 838–844 (2016).
- Yuneva, M. O.**, Fan, T.W.M., Allen, T.D., Higashi, R.M., Ferraris, D.V., Tsukamoto, T., Alonso, F.J., Wang, C., Seo, Y., Chen, X & Bishop, J.M. The Metabolic Profile of Tumors Depends on Both the Responsible Genetic Lesion and Tissue Type. *Cell Metab.* 15, 157–170 (2012).
- Zeng, Q.**, Chen, J., Li, Y., Werle, K.D., Zhao, R-X., Quan, C-S., Wang, Y-S., Zhai, Y-X., Wang, J-W., Youssef, M., Cui, R., Liang, J., Genovese, N., Chow, L.T., Li, Y-L & Xu, Z-X. LKB1 inhibits HPV-associated cancer progression by targeting cellular metabolism. *Oncogene* 1–11 (2016). doi:10.1038/onc.2016.290
- Zhang, C.**, Liu, J., Liang, Y., Wu, R., Zhao, Y., Hong, Xuehui., Lin, M., Yu, H., Liu, L., Levine, A.J., Hu, W & Feng, Z. Tumor-Associated Mutant p53 Drives the Warburg Effect. *Nat. Commun.* 4, 2935 (2014).
- Zhang, J.**, Wang, G., Mao, Q., Li, S. & Xiong, W. Glutamate dehydrogenase (GDH) regulates bioenergetics and redox homeostasis in human glioma. *Oncotarget* 1–12 (2016).
- Zhang, J.**, Liang, Y., Lin, Y., Liu, Y. & Yin, W. IRE1 a -TRAF2-ASK1 pathway is involved in CSTMP-induced apoptosis and ER stress in human non-small cell lung cancer A549 cells. *Biomed. Pharmacother.* 82, 281–289 (2016).
- Zhu, X.S.**, Gao, P., Dai, Y.C., Xie, J.P., Zeng, W & Lian, Q.N. Attenuation of enoyl coenzyme A hydratase short chain 1 expression in gastric cancer cells inhibits cell proliferation and migration in vitro. *Cell. Mol. Biol. Lett.* 19, 576–589 (2014).





## ANNEXES

---