



ROYAUME DU MAROC
UNIVERSITE MOHAMMED V DE RABAT
FACULTE DE MEDECINE
ET DE PHARMACIE
RABAT



Année: 2021

Thèse N°: 21

Les anomalies du cycle de Krebs

THESE

Présentée et soutenue publiquement le : / /2021

PAR

Madame Yasmina GAOUAL
Née le 05 Juillet 1996 à Casablanca

Pour l'Obtention du Diplôme de
Docteur en Pharmacie

Mots Clés : Cycle de Krebs; Anomalies; Succinate déshydrogénase;
 α Cétoglutarate déshydrogénase; Isocitrate déshydrogénase

Membres du Jury :

Monsieur Mimoun ZOUHDI

Professeur de Microbiologie

Madame Saida TELLAL

Professeur de Biochimie

Monsieur Ahmed GAOUZI

Professeur de Pédiatrie

Madame Fatima JABOUIRIK

Professeur de Pédiatrie

Président

Rapporteur

Juge

Juge

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

سبحانك لا علم لنا إلا ما علمتنا
إنك أنت العليم الحكيم

سورة البقرة: الآية: 31

بِسْمِ اللَّهِ
الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



UNIVERSITE MOHAMMED V
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE
RABAT

DOYENS HONORAIRES :

1962 – 1969: Professeur_Abdelmalek FARAJ
1969 – 1974: Professeur Abdellatif BERBICH
1974 – 1981: Professeur Bachir LAZRAK
1981 – 1989: Professeur Taieb CHKILI
1989 – 1997: Professeur Mohamed Tahar ALAOUI
1997 – 2003: Professeur Abdelmajid BELMAHI
2003 - 2013: Professeur Najia HAJJAJ – HASSOUNI

ADMINISTRATION :

<i>Doyen</i>	Professeur Mohamed ADNAOUI
<i>Vice-Doyen chargé des Affaires Académiques et Etudiantines</i>	Professeur Brahim LEKEHAL
<i>Vice-Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération</i>	Professeur Toufiq DAKKA
<i>Vice-Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie</i>	Professeur Younes RAHALI
<i>Secrétaire Général</i>	Mr. Mohamed KARRA

* ***Enseignants Militaires***

1 - ENSEIGNANTS-CHERCHEURS MEDECINS ET PHARMACIENS

PROFESSEURS DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR :

Décembre 1984

Pr. MAAOUNI Abdelaziz
Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi
Pr. SETTAF Abdellatif

Médecine Interne – Clinique Royale
Anesthésie -Réanimation
Pathologie Chirurgicale

Décembre 1989

Pr. ADNAOUI Mohamed
Pr. OUZZANI Taïbi Mohamed Réda

Médecine Interne – Doyen de la FMPR
Neurologie

Janvier et Novembre 1990

Pr. KHARBACH Aïcha
Pr. TAZI Saoud Anas

Gynécologie -Obstétrique
Anesthésie Réanimation

Février Avril Juillet et Décembre 1991

Pr. AZZOUZI Abderrahim
Pr. BAYAHIA Rabéa
Pr. BELKOUCHI Abdelkader
Pr. BENCHEKROUN Belabbes Abdellatif
Pr. BENSOUHA Yahia
Pr. BERRAHO Amina
Pr. BEZAD Rachid

Anesthésie Réanimation- Doyen de FMPO
Néphrologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Pharmacie galénique
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique Méd. Chef Maternité des Orangers

Pr. CHERRAH Yahia
Pr. CHOKAIRI Omar
Pr. KHATTAB Mohamed
Pr. SOULAYMANI Rachida
Pr. TAOUFIK Jamal

Pharmacologie
Histologie Embryologie
Pédiatrie
Pharmacologie- Dir. du Centre National PV Rabat
Chimie thérapeutique_____

Décembre 1992

Pr. AHALLAT Mohamed
Pr. BENSOUHA Adil
Pr. CHAHED OUZZANI Laaziza
Pr. CHRAIBI Chafiq
Pr. EL OUAHABI Abdessamad
Pr. FELLAT Rokaya
Pr. JIDDANE Mohamed
Pr. TAGHY Ahmed
Pr. ZOUHDI Mimoun

Chirurgie Générale Doyen de FMPT
Anesthésie Réanimation
Gastro-Entérologie
Gynécologie Obstétrique
Neurochirurgie
Cardiologie
Anatomie
Chirurgie Générale
Microbiologie

* Enseignants Militaires

Mars 1994

Pr. BENJAAFAR Noureddine
Pr. BEN RAIS Nozha
Pr. CAOUI Malika
Pr. CHRAIBI Abdelmjid

FMPA

Pr. EL AMRANI Sabah
Pr. ERROUGANI Abdelkader
Pr. ESSAKALI Malika
Pr. ETTAYEBI Fouad
Pr. IFRINE Lahssan
Pr. RHRAB Brahim
Pr. SENOUCI Karima

Radiothérapie
Biophysique
Biophysique
Endocrinologie et Maladies Métaboliques **Doyen de la**

Gynécologie Obstétrique
Chirurgie Générale – **Directeur du CHIS**
Immunologie
Chirurgie Pédiatrique
Chirurgie Générale
Gynécologie – Obstétrique
Dermatologie

Mars 1994

Pr. ABBAR Mohamed*
Pr. BENTAHILA Abdelali
Pr. BERRADA Mohamed Saleh
Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae
Pr. LAKHDAR Amina
Pr. MOUANE Nezha

Urologie **Inspecteur du SSM**
Pédiatrie
Traumatologie – Orthopédie
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie

Mars 1995

Pr. ABOUQUAL Redouane
Pr. AMRAOUI Mohamed
Pr. BAIDADA Abdelaziz
Pr. BARGACH Samir
Pr. EL MESNAOUI Abbes
Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila
Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed
Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia
Pr. SEFIANI Abdelaziz
Pr. ZEGGWAGH Amine Ali

Réanimation Médicale
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Gynécologie Obstétrique
Chirurgie Générale
Oto-Rhino-Laryngologie
Urologie
Ophtalmologie
Génétique
Réanimation Médicale

Décembre 1996

Pr. BELKACEM Rachid
Pr. BOULANOUAR Abdelkrim
Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan
Pr. GAOUZI Ahmed
Pr. OUZEDDOUN Naima
Pr. ZBIR EL Mehdi*

Chirurgie Pédiatrie
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Néphrologie
Cardiologie **Directeur HMI Mohammed V**

* Enseignants Militaires

Novembre 1997

Pr. ALAMI Mohamed Hassan
Pr. BIROUK Nazha
Pr. FELLAT Nadia
Pr. KADDOURI Nouredine
Pr. KOUTANI Abdellatif
Pr. LAHLOU Mohamed Khalid
Pr. MAHRAOUI CHAFIQ
Pr. TOUFIQ Jallal
Pr. YOUSFI MALKI Mounia

Gynécologie-Obstétrique
Neurologie
Cardiologie
Chirurgie Pédiatrique
Urologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Psychiatrie *Directeur Hôp. Ar-razi Salé*
Gynécologie Obstétrique

Novembre 1998

Pr. BENOMAR ALI
Pr. BOUGTAB
Pr. ER RIHANI Hassan
Pr. BENKIRANE Majid*

Neurologie *Doyen de la FMP Abulcassis*
Abdesslam Chirurgie Générale
Oncologie Médicale
Hématologie

Janvier 2000

Pr. ABID Ahmed*
Pr. AIT OUAMAR Hassan
Pr. BENJELLOUN Dakhama Badr.Sououd
Pr. BOURKADI Jamal-Eddine
Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI AI Montacer
Pr. ECHARRAB El Mahjoub
Pr. EL FTOUH Mustapha
Pr. EL MOSTARCHID Brahim*
Pr. TACHINANTE Rajae
Pr. TAZI MEZALEK Zoubida

Pneumo-phtisiologie
Pédiatrie
Pédiatrie
Pneumo-phtisiologie *Directeur Hôp. My Youssef*
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Pneumo-phtisiologie
Neurochirurgie
Anesthésie-Réanimation
Médecine Interne

Novembre 2000

Pr. AIDI Saadia
Pr. AJANA Fatima Zohra
Pr. BENAMR Said
Pr. CHERTI Mohammed
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma
Pr. EL HASSANI Amine
Pr. EL KHADER Khalid
Pr. GHARBI Mohamed El Hassan
Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae

Neurologie
Gastro-Entérologie
Chirurgie Générale
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Pédiatrie - *Directeur Hôp. Cheikh Zaid*
Urologie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Pédiatrie

* Enseignants Militaires

Décembre 2001

Pr. BALKHI Hicham*
Pr. BENABDELJLIL Maria
Pr. BENAMAR Loubna
Pr. BENAMOR Jouda
Pr. BENELBARHDADI Imane
Pr. BENNANI Rajae
Pr. BENOUACHANE Thami
Pr. BEZZA Ahmed*
Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi
Pr. BOUMDIN El Hassane*
Pr. CHAT Latifa
Pr. DAALI Mustapha*
Pr. EL HIJRI Ahmed
Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid
Pr. EL MADHI Tarik
Pr. EL OUNANI Mohamed
Pr. ETTAIR Said
Pr. GAZZAZ Miloudi*
Pr. HRORA Abdelmalek
Pr. KABIRI EL Hassane*
Pr. LAMRANI Moulay Omar
Pr. LEKEHAL Brahim
Pr. MEDARHRI Jalil
Pr. MIKDAME Mohammed*
Pr. MOHSINE Raouf
Pr. NOUINI Yassine
Pr. SABBAAH Farid
Pr. SEFIANI Yasser
Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia

Anesthésie-Réanimation
Neurologie
Néphrologie
Pneumo-phtisiologie
Gastro-Entérologie
Cardiologie
Pédiatrie
Rhumatologie
Anatomie
Radiologie
Radiologie
Chirurgie Générale
Anesthésie-Réanimation
Neuro-Chirurgie
Chirurgie-Pédiatrique
Chirurgie Générale
Pédiatrie - *Directeur Hôp. Univ. Cheikh Khalifa*
Neuro-Chirurgie
Chirurgie Générale *Directeur Hôpital Ibn Sina*
Chirurgie Thoracique
Traumatologie Orthopédie
Chirurgie Vasculaire Périphérique *V-D chargé Aff Acad. Est.*
Chirurgie Générale
Hématologie Clinique
Chirurgie Générale
Urologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Vasculaire Périphérique
Pédiatrie

Décembre 2002

Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane*
Pr. AMEUR Ahmed *
Pr. AMRI Rachida
Pr. AOURARH Aziz*
Pr. BAMOU Youssef *
Pr. BELMEJDOUB Ghizlene*
Pr. BENZEKRI Laila
Pr. BENZZOUBEIR Nadia
Pr. BERNOUSSI Zakiya

Anatomie Pathologique
Urologie
Cardiologie
Gastro-Entérologie *Dir.-Adj. HMI Mohammed V*
Biochimie-Chimie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Dermatologie
Gastro-Entérologie
Anatomie Pathologique

* Enseignants Militaires

Pr. CHOHO Abdelkrim *
Pr. CHKIRATE Bouchra
Pr. EL ALAMI EL Fellous Sidi Zouhair
Pr. EL HAOURI Mohamed *
Pr. FILALI ADIB Abdelhai
Pr. HAJJI Zakia
Pr. JAAFAR Abdeloihab*
Pr. KRIOUILE Yamina
Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss*
Pr. OUJILAL Abdelilah
Pr. RAISS Mohamed
Pr. SIAH Samir *
Pr. THIMOU Amal
Pr. ZENTAR Aziz*

Janvier 2004

Pr. ABDELLAH EI Hassan
Pr. AMRANI Mariam
Pr. BENBOUZID Mohammed Anas
Pr. BENKIRANE Ahmed*
Pr. BOULAADAS Malik
Pr. BOURAZZA Ahmed*
Pr. CHAGAR Belkacem*
Pr. CHERRADI Nadia
Pr. EL FENNI Jamal*
Pr. EL HANCHI ZAKI
Pr. EL KHORASSANI Mohamed
Pr. HACHI Hafid
Pr. JABOUIRIK Fatima
Pr. KHARMAZ Mohamed
Pr. MOUGHIL Said
Pr. OUBAAZ Abdelbarre *
Pr. TARIB Abdelilah*
Pr. TIJAMI Fouad
Pr. ZARZUR Jamila

Janvier 2005

Pr. ABBASSI Abdellah
Pr. ALLALI Fadoua
Pr. AMAZOUZI Abdellah
Pr. BAHIRI Rachid
Pr. BARKAT Amina

Chirurgie Générale
Pédiatrie
Chirurgie Pédiatrique
Dermatologie
Gynécologie Obstétrique
Ophtalmologie
Traumatologie Orthopédie
Pédiatrie
Gynécologie Obstétrique
Oto-Rhino-Laryngologie
Chirurgie Générale
Anesthésie Réanimation
Pédiatrie
Chirurgie Générale

Ophtalmologie
Anatomie Pathologique
Oto-Rhino-Laryngologie
Gastro-Entérologie
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
Neurologie
Traumatologie Orthopédie
Anatomie Pathologique
Radiologie
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Traumatologie Orthopédie
Chirurgie Cardio-Vasculaire
Ophtalmologie
Pharmacie Clinique
Chirurgie Générale
Cardiologie

Chirurgie Réparatrice et Plastique
Rhumatologie
Ophtalmologie
Rhumatologie
Pédiatrie

Directeur Hôp. Al Ayachi Salé

*** Enseignants Militaires**

Pr. BENYASS Aatif
Pr. DOUDOUH Abderrahim*
Pr. HAJJI Leila
Pr. HESSISSEN Leila
Pr. JIDAL Mohamed*
Pr. LAAROUSSI Mohamed
Pr. LYAGOUBI Mohammed
Pr. SBIHI Souad
Pr. ZERAIDI Najja

Cardiologie
Biophysique
Cardiologie (mise en disponibilité)
Pédiatrie
Radiologie
Chirurgie Cardio-vasculaire
Parasitologie
Histo-Embryologie Cytogénétique
Gynécologie Obstétrique

AVRIL 2006

Pr. ACHEMLAL Lahsen*
Pr. BELMEKKI Abdelkader*
Pr. BENCHEIKH Razika
Pr. BIYI Abdelhamid*
Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine
Pr. BOULAHYA Abdellatif*

Rhumatologie
Hématologie
O.R.L
Biophysique
Chirurgie - Pédiatrique
Chirurgie Cardio – Vasculaire. *Directeur Hôpital Ibn Sina*

Marr.

Pr. CHENGUETI ANSARI Anas
Pr. DOGHMI Nawal
Pr. FELLAT Ibtissam
Pr. FAROUDY Mamoun
Pr. HARMOUCHE Hicham
Pr. IDRIS LAHLOU Amine*
Pr. JROUNDI Laila
Pr. KARMOUNI Tariq
Pr. KILI Amina
Pr. KISRA Hassan
Pr. KISRA Mounir
Pr. LAATIRIS Abdelkader*
Pr. LMIMOUNI Badreddine*
Pr. MANSOURI Hamid*
Pr. OUANASS Abderrazzak
Pr. SAFI Soumaya*
Pr. SOUALHI Mouna
Pr. TELLAL Saida*
Pr. ZAHRAOUI Rachida

Gynécologie Obstétrique
Cardiologie
Cardiologie
Anesthésie Réanimation
Médecine Interne
Microbiologie
Radiologie
Urologie
Pédiatrie
Psychiatrie
Chirurgie – Pédiatrique
Pharmacie Galénique
Parasitologie
Radiothérapie
Psychiatrie
Endocrinologie
Pneumo – Phtisiologie
Biochimie
Pneumo – Phtisiologie

Octobre 2007

Pr. ABIDI Khalid
Pr. ACHACHI Leila
Pr. ACHOUR Abdessamad*

Réanimation médicale
Pneumo phtisiologie
Chirurgie générale

* Enseignants Militaires

Pr. AIT HOUSSA Mahdi *
Pr. AMHAJJI Larbi *
Pr. AOUI Sarra
Pr. BAITE Abdelouahed *
Pr. BALOUCH Lhousaine *
Pr. BENZIANE Hamid *
Pr. BOUTIMZINE Nouridine
Pr. CHERKAOUI Naoual *
Pr. EHIRCHIOU Abdelkader *
Pr. EL BEKKALI Youssef *
Pr. EL ABSI Mohamed
Pr. EL MOUSSAOUI Rachid
Pr. EL OMARI Fatima
Pr. GHARIB Noureddine
Pr. HADADI Khalid *
Pr. ICHOU Mohamed *
Pr. ISMAILI Nadia
Pr. KEBDANI Tayeb
Pr. LOUZI Lhoussain *
Pr. MADANI Naoufel
Pr. MAHI Mohamed *
Pr. MARC Karima
Pr. MASRAR Azlarab
Pr. MRANI Saad *
Pr. OUZZIF Ez zohra *
Pr. RABHI Monsef *
Pr. RADOUANE Bouchaib*
Pr. SEFFAR Myriame
Pr. SEKHSOKH Yessine *
Pr. SIFAT Hassan *
Pr. TABERKANET Mustafa *
Pr. TACHFOUTI Samira
Pr. TAJDINE Mohammed Tariq*
Pr. TANANE Mansour *
Pr. TLIGUI Houssain
Pr. TOUATI Zakia

Mars 2009

Pr. ABOUZAHIR Ali *
Pr. AGADR Aomar *
Pr. AIT ALI Abdelmounaim *
Pr. AKHADDAR Ali *

Chirurgie cardio vasculaire
Traumatologie orthopédie
Parasitologie
Anesthésie réanimation
Biochimie-chimie
Pharmacie clinique
Ophtalmologie
Pharmacie galénique
Chirurgie générale
Chirurgie cardio-vasculaire
Chirurgie générale
Anesthésie réanimation
Psychiatrie
Chirurgie plastique et réparatrice
Radiothérapie
Oncologie médicale
Dermatologie
Radiothérapie
Microbiologie
Réanimation médicale
Radiologie
Pneumo phtisiologie
Hématologie biologique
Virologie
Biochimie-chimie
Médecine interne
Radiologie
Microbiologie
Microbiologie
Radiothérapie
Chirurgie vasculaire périphérique
Ophtalmologie
Chirurgie générale
Traumatologie-orthopédie
Parasitologie
Cardiologie

Médecine interne
Pédiatrie
Chirurgie Générale
Neuro-chirurgie

* Enseignants Militaires

Pr. ALLALI Nazik
Pr. AMINE Bouchra
Pr. ARKHA Yassir
Pr. BELYAMANI Lahcen *
Pr. BJIJOU Younes
Pr. BOUHSAIN Sanae *
Pr. BOUI Mohammed *
Pr. BOUNAIM Ahmed *
Pr. BOUSSOUGA Mostapha *
Pr. CHTATA Hassan Toufik *
Pr. DOGHMI Kamal *
Pr. EL MALKI Hadj Omar
Pr. EL OUENNASS Mostapha*
Pr. ENNIBI Khalid *
Pr. FATHI Khalid
Pr. HASSIKOU Hasna *
Pr. KABBAJ Nawal
Pr. KABIRI Meryem
Pr. KARBOUBI Lamyia
Pr. LAMSAOURI Jamal *
Pr. MARMADÉ Lahcen
Pr. MESKINI Toufik
Pr. MESSAOUDI Nezha *
Pr. MSSROURI Rahal
Pr. NASSAR Ittimade
Pr. OUKERRAJ Latifa
Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani *

Octobre 2010

Pr. ALILOU Mustapha
Pr. AMEZIANE Taoufiq*
Pr. BELAGUID Abdelaziz
Pr. CHADLI Mariama*
Pr. CHEMSI Mohamed*
Pr. DAMI Abdellah*
Pr. DARBI Abdellatif*
Pr. DENDANE Mohammed Anouar
Pr. EL HAFIDI Naima
Pr. EL KHARRAS Abdennasser*
Pr. EL MAZOUZ Samir

Radiologie
Rhumatologie
Neuro-chirurgie *Directeur Hôp.des Spécialités*
Anesthésie Réanimation
Anatomie
Biochimie-chimie
Dermatologie
Chirurgie Générale
Traumatologie-orthopédie
Chirurgie Vasculaire Périphérique
Hématologie clinique
Chirurgie Générale
Microbiologie
Médecine interne
Gynécologie obstétrique
Rhumatologie
Gastro-entérologie
Pédiatrie
Pédiatrie
Chimie Thérapeutique
Chirurgie Cardio-vasculaire
Pédiatrie
Hématologie biologique
Chirurgie Générale
Radiologie
Cardiologie
Pneumo-Phtisiologie

Anesthésie réanimation
Médecine Interne *Directeur ERSSM*
Physiologie
Microbiologie
Médecine Aéronautique
Biochimie- Chimie
Radiologie
Chirurgie Pédiatrique
Pédiatrie
Radiologie
Chirurgie Plastique et Réparatrice

* Enseignants Militaires

Pr. EL SAYEGH Hachem
Pr. ERRABIH Ikram
Pr. LAMALMI Najat
Pr. MOSADIK Ahlam
Pr. MOUJAHID Mountassir*
Pr. NAZIH Mouna*
Pr. ZOUAIDIA Fouad

Urologie
Gastro-Entérologie
Anatomie Pathologique
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale
Hématologie
Anatomie Pathologique

Decembre 2010

Pr. ZNATI Kaoutar

Anatomie Pathologique

Mai 2012

Pr. AMRANI Abdelouahed
Pr. ABOUELALAA Khalil *
Pr. BENCHEBBA Driss *
Pr. DRISSI Mohamed *
Pr. EL ALAOUI MHAMDI Mouna
Pr. EL OUAZZANI Hanane *
Pr. ER-RAJI Mounir
Pr. JAHID Ahmed
Pr. RAISSOUNI Maha *

Chirurgie pédiatrique
Anesthésie Réanimation
Traumatologie-orthopédie
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale
Pneumophtisiologie
Chirurgie Pédiatrique
Anatomie Pathologique
Cardiologie

Février 2013

Pr. AHID Samir
Pr. AIT EL CADI Mina
Pr. AMRANI HANCHI Laila
Pr. AMOR Mourad
Pr. AWAB Almahdi
Pr. BELAYACHI Jihane
Pr. BELKHADIR Zakaria Houssain
Pr. BENCHEKROUN Laila
Pr. BENKIRANE Souad
Pr. BENNANA Ahmed*
Pr. BENSGHIR Mustapha *
Pr. BENYAHIA Mohammed *
Pr. BOUATIA Mustapha
Pr. BOUABID Ahmed Salim*
Pr. BOUTARBOUCH Mahjoub
Pr. CHAIB Ali *
Pr. DENDANE Tarek

Pharmacologie
Toxicologie
Gastro-Entérologie
Anesthésie Réanimation
Anesthésie Réanimation
Réanimation Médicale
Anesthésie Réanimation
Biochimie-Chimie
Hématologie
Informatique Pharmaceutique
Anesthésie Réanimation
Néphrologie
Chimie Analytique et Bromatologie
Traumatologie orthopédie
Anatomie
Cardiologie
Réanimation Médicale

*** Enseignants Militaires**

Pr. DINI Nouzha *	Pédiatrie
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Mohamed Ali	Anesthésie Réanimation
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Najwa	Radiologie
Pr. ELFATEMI Nizare	Neuro-chirurgie
Pr. EL GUERROUJ Hasnae	Médecine Nucléaire
Pr. EL HARTI Jaouad	Chimie Thérapeutique
Pr. EL JAOUDI Rachid *	Toxicologie
Pr. EL KABABRI Maria	Pédiatrie
Pr. EL KHANNOUSSI Basma	Anatomie Pathologique
Pr. EL KHLOUFI Samir	Anatomie
Pr. EL KORAICHI Alae	Anesthésie Réanimation
Pr. EN-NOUALI Hassane *	Radiologie
Pr. ERRGUIG Laila	Physiologie
Pr. FIKRI Meryem	Radiologie
Pr. GHFIR Imade	Médecine Nucléaire
Pr. IMANE Zineb	Pédiatrie
Pr. IRAQI Hind	Endocrinologie et maladies métaboliques
Pr. KABBAJ Hakima	Microbiologie
Pr. KADIRI Mohamed *	Psychiatrie
Pr. LATIB Rachida	Radiologie
Pr. MAAMAR Mouna Fatima Zahra	Médecine Interne
Pr. MEDDAH Bouchra	Pharmacologie
Pr. MELHAOUI Adyl	Neuro-chirurgie
Pr. MRABTI Hind	Oncologie Médicale
Pr. NEJJARI Rachid	Pharmacognosie
Pr. OUBEJJA Houda	Chirurgie Pédiatrique
Pr. OUKABLI Mohamed *	Anatomie Pathologique
Pr. RAHALI Younes	Pharmacie Galénique <i>Vice-Doyen à la Pharmacie</i>
Pr. RATBI Ilham	Génétique
Pr. RAHMANI Mounia	Neurologie
Pr. REDA Karim *	Ophtalmologie
Pr. REGRAGUI Wafa	Neurologie
Pr. RKAIN Hanan	Physiologie
Pr. ROSTOM Samira	Rhumatologie
Pr. ROUAS Lamiaa	Anatomie Pathologique
Pr. ROUIBAA Fedoua *	Gastro-Entérologie
Pr SALIHOUN Mouna	Gastro-Entérologie
Pr. SAYAH Rochde	Chirurgie Cardio-Vasculaire
Pr. SEDDIK Hassan *	Gastro-Entérologie
Pr. ZERHOUNI Hicham	Chirurgie Pédiatrique
Pr. ZINE Ali *	Traumatologie Orthopédie

* Enseignants Militaires

AVRIL 2013

Pr. EL KHATIB MOHAMED KARIM *

Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale

MARS 2014

Pr. ACHIR Abdellah
Pr. BENCHAKROUN Mohammed *
Pr. BOUCHIKH Mohammed
Pr. EL KABBAJ Driss *
Pr. EL MACHTANI IDRISSE Samira *
Pr. HARDIZI Houyam
Pr. HASSANI Amale *
Pr. HERRAK Laila
Pr. JANANE Abdellah *
Pr. JEAIDI Anass *
Pr. KOUACH Jaouad*
Pr. LEMNOUER Abdelhay*
Pr. MAKRAM Sanaa *
Pr. OULAHYANE Rachid*
Pr. RHISSASSI Mohamed Jaafar
Pr. SEKKACH Youssef*
Pr. TAZI MOUKHA Zakia

Chirurgie Thoracique
Traumatologie- Orthopédie
Chirurgie Thoracique
Néphrologie
Biochimie-Chimie
Histologie- Embryologie-Cytogénétique
Pédiatrie
Pneumologie
Urologie
Hématologie Biologique
Génycologie-Obstétrique
Microbiologie
Pharmacologie
Chirurgie Pédiatrique
CCV
Médecine Interne
Généologie-Obstétrique

DECEMBRE 2014

Pr. ABILKACEM Rachid*
Pr. AIT BOUGHIMA Fadila
Pr. BEKKALI Hicham *
Pr. BENZAOU Salma
Pr. BOUABDELLAH Mounya
Pr. BOUCHRIK Mourad*
Pr. DERRAJI Soufiane*
Pr. DOBLALI Taoufik
Pr. EL AYOUBI EL IDRISSE Ali
Pr. EL GHADBANE Abdedaim Hatim*
Pr. EL MARJANY Mohammed*
Pr. FEJJAL Nawfal
Pr. JAHIDI Mohamed*
Pr. LAKHAL Zouhair*
Pr. OUDGHIRI NEZHA
Pr. RAMI Mohamed
Pr. SABIR Maria
Pr. SBAI IDRISSE Karim*

Pédiatrie
Médecine Légale
Anesthésie-Réanimation
Chirurgie Maxillo-Faciale
Biochimie-Chimie
Parasitologie
Pharmacie Clinique
Microbiologie
Anatomie
Anesthésie-Réanimation
Radiothérapie
Chirurgie Réparatrice et Plastique
O.R.L
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Chirurgie Pédiatrique
Psychiatrie
Médecine préventive, santé publique et Hyg.

* Enseignants Militaires

AOUT 2015

Pr. MEZIANE Meryem
Pr. TAHIRI Latifa

Dermatologie
Rhumatologie

PROFESSEURS AGREGES :

JANVIER 2016

Pr. BENKABBOU Amine
Pr. EL ASRI Fouad*
Pr. ERRAMI Noureddine*
Pr. NITASSI Sophia

Chirurgie Générale
Ophtalmologie
O.R.L
O.R.L

JUIN 2017

Pr. ABBI Rachid*
Pr. ASFALOU Ilyasse*
Pr. BOUAYTI El Arbi*
Pr. BOUTAYEB Saber
Pr. EL GHISSASSI Ibrahim
Pr. HAFIDI Jawad
Pr. OURAINI Saloua*
Pr. RAZINE Rachid
Pr. ZRARA Abdelhamid*

Microbiologie
Cardiologie
Médecine préventive, santé publique et Hyg.
Oncologie Médicale
Oncologie Médicale
Anatomie
O.R.L
Médecine préventive, santé publique et Hyg.
Immunologie

NOVEMBRE 2018

Pr. AMELLAL Mina
Pr. SOULY Karim
Pr. TAHRI Rajae

Anatomie
Microbiologie
Histologie-Embryologie-Cytogénétique

NOVEMBRE 2019

Pr. AATIF Taoufiq *
Pr. ACHBOUK Abdelhafid *
Pr. ANDALOUSSI SAGHIR Khalid *
Pr. BABA HABIB Moulay Abdellah *
Pr. BASSIR RIDA ALLAH
Pr. BOUATTAR TARIK
Pr. BOUFETTAL MONSEF
Pr. BOUCHENTOUF Sidi Mohammed *
Pr. BOUZELMAT Hicham *
Pr. BOUKHRIS Jalal *

Néphrologie
Chirurgie Réparatrice et Plastique
Radiothérapie
Gynécologie-obstétrique
Anatomie
Néphrologie
Anatomie
Chirurgie Générale
Cardiologie
Traumatologie-orthopédie

* Enseignants Militaires

Pr. CHAFRY Bouchaib *	Traumatologie-orthopédie
Pr. CHAHDI Hafsa *	Anatomie Pathologique
Pr. CHERIF EL ASRI Abad *	Neurochirurgie
Pr. DAMIRI Amal *	Anatomie Pathologique
Pr. DOGHMI Nawfal *	Anesthésie-réanimation
Pr. ELALAOUI Sidi-Yassir	Pharmacie Galénique
Pr. EL ANNAZ Hicham *	Virologie
Pr. EL HASSANI Moulay EL Mehdi *	Gynécologie-obstétrique
Pr. EL HJOUJI Abderrahman *	Chirurgie Générale
Pr. EL KAOUI Hakim *	Chirurgie Générale
Pr. EL WALI Abderrahman *	Anesthésie-réanimation
Pr. EN-NAFAA Issam *	Radiologie
Pr. HAMAMA Jalal *	Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
Pr. HEMMAOUI Bouchaib *	O.R.L
Pr. HJIRA Naoufal *	Dermatologie
Pr. JIRA Mohamed *	Médecine Interne
Pr. JNIE NE Asmaa	Physiologie
Pr. LARAQUI Hicham *	Chirurgie Générale
Pr. MAHFOUD Tarik *	Oncologie Médicale
Pr. MEZIANE Mohammed *	Anesthésie-réanimation
Pr. MOUTAKI ALLAH Younes *	Chirurgie Cardio-vasculaire
Pr. MOUZARI Yassine *	Ophtalmologie
Pr. NAOUI Hafida *	Parasitologie-Mycologie
Pr. OBTEL Majdouline	Médecine préventive, santé publique et Hyg.
Pr. OURRAI Abdelhakim *	Pédiatrie
Pr. SAOUAB Rachida *	Radiologie
Pr. SBITTI Yassir *	Oncologie Médicale
Pr. ZADDOUG Omar *	Traumatologie Orthopédie
Pr. ZIDOUH Saad *	Anesthésie-réanimation

* Enseignants Militaires

2 - ENSEIGNANTS-CHERCHEURS SCIENTIFIQUES

PROFESSEURS/Prs. HABILITES

Pr. ABOUDRAR Saadia	Physiologie
Pr. ALAMI OUHABI Naima	Biochimie-chimie
Pr. ALAOUI KATIM	Pharmacologie
Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma	Histologie-Embryologie
Pr. ANSAR M'hammed	Chimie Organique et Pharmacie Chimique
Pr. BARKIYOU Malika	Histologie-Embryologie
Pr. BOUHOUCHE Ahmed	Génétique Humaine
Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz	Applications Pharmaceutiques
Pr. CHAHED OUAZZANI Lalla Chadia	Biochimie-chimie
Pr. DAKKA Taoufiq	Physiologie
Pr. FAOUZI Moulay El Abbes	Pharmacologie
Pr. IBRAHIMI Azeddine	Biologie moléculaire/Biotechnologie
Pr. KHANFRI Jamal Eddine	Biologie
Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSE Med	Chimie Organique
Pr. REDHA Ahlam	Chimie
Pr. TOUATI Driss	Pharmacognosie
Pr. YAGOUBI Maamar	Environnement, Eau et Hygiène
Pr. ZAHIDI Ahmed	Pharmacologie

Mise à jour le 11/06/2020

KHALED Abdellah

Chef du Service des Ressources Humaines

FMPR





A Mes très chers parents

GAOUAL ABDENBI et TADLAOUI RATIBA

*Aucune phrase, aucun mot ne saurait exprimer à sa juste valeur
le respect et l'amour que je vous porte.*

*Vous m'avez entouré d'une grande affection, et vous avez été toujours pour moi un
grand support dans mes moments les plus difficiles.*

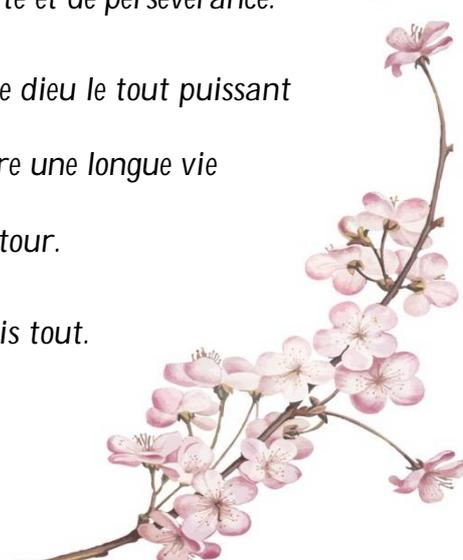
*Sans vos précieux conseils, vos prières, votre générosité et votre dévouement, je n'aurais
pu surmonter le stress de ces longues années d'étude.*

*Vous m'avez apporté toute la tendresse et l'affection dont j'ai eu besoin. Vous avez
veillé sur mon éducation avec le plus grand soin.*

Vous êtes pour moi l'exemple de droiture, de lucidité et de persévérance.

*A travers ce modeste travail, je vous remercie et prie dieu le tout puissant
qu'il vous garde en bonne santé et vous procure une longue vie
que je puisse vous combler à mon tour.*

Sans vous je ne suis rien. Je vous dois tout.





A Mon frère et ma sœur:

YASSINE et AYA

C'est dans le même nid que nous avons grandi.

Nous avons toujours été ensemble, partageons nos hauts et nos bas.

*En témoignage de toute l'affection et des profonds sentiments fraternels que je vous porte et de l'attachement qui nous unit. **Merci** de m'avoir supporté toute au long des périodes préparatoires et des examens.*

Je vous souhaite du bonheur et du succès dans toute votre vie.





A la memoire de ma TANTE HAKIMA

A ma deuxième maman, à celle qui a toujours pris soin de moi dans mes moments les plus difficiles.

J'aurais tant aimé que tu sois à mes côtés ce jour. Tu es dans mon cœur.

Que Dieu t'accueille en sa sainte miséricorde.

A la mémoire de mes grands- parents

HAJ ABDESSALAM, HAJ MOHAMMED, HAJA HECHOUMA

J'aurais bien voulu que vous soyez parmi nous en ce jour mémorable.

Que la clémence de dieu règne sur vous et que sa miséricorde apaise vos âmes.





A ma grand-mère

HAJA AICHA SEKAL

A celle qui m'a accompagnée par ses prières.

*Ces quelques lignes ne sauraient exprimer toute l'affection et tout l'amour que je te
dois.*

Que dieu te préserve et t'accorde santé et prospérité.

A LA FAMILLE GAOUAL ET TADLAOUI

En témoignage de ma grande affection et mes sincères sentiments.





A mes très chers AMIES

YOUSRA, MAROUA, KHADIJA, FARAH ET LA FAMILLE BAB JELDA

Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des frères et sœurs et des amis sur qui je peux compter.

C'est le hasard qui fait la famille, mais c'est le cœur qui fait les amis.

*En témoignage de l'amitié qui nous uni et des souvenirs de tous les moments que nous avons passé ensemble, je vous dédie **Ce travail** et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.*







A mon maître et président du jury :

Monsieur le Professeur MIMOUN ZOUHDI

Professeur de microbiologie

Je vous remercie pour m'avoir fait l'honneur de présider le Jury de ma thèse.

Je vous suis très reconnaissante de bien vouloir porter intérêt à ce travail.

*Votre gentillesse, votre accueil, votre modestie n'ont rien d'égal que votre
compétence.*

Veillez trouvez ici, professeur, l'expression de mes sincères remerciements.





A mon maître et rapporteur de thèse :

Madame le pharmacien colonel SAIDA TELLAL

Professeur de biochimie

Vous m'avez inspiré le sujet de thèse, vous m'avez guidé tout au long de son élaboration, avec bienveillance et compréhension, flexibilité et disponibilité ont été les qualités les plus marquantes au cours de cette collaboration. Votre accueil si simple, pour l'un de vos élèves, vos qualités humaines rares, vos qualités professionnelles ont été un enseignant complémentaire pour notre vie professionnelle et privée.

Veillez accepter ici, cher maître, l'expression de ma gratitude et l'expression de ma profonde reconnaissance.





A mon maître et membre du jury :

Monsieur le Professeur AHMED GAOUZI

Professeur de pédiatrie

Votre présence au sein de mon jury constitue pour moi un grand honneur.

*Par votre modestie, vous m'avez montré la signification morale de notre
profession.*

Je vous remercie de votre enseignement et gentillesse.

*Qu'il me soit permis de vous présenter à travers ce travail le témoignage de mon
grand respect*

Et l'expression de ma profonde reconnaissance.





A mon maître et membre du jury :

*Madame le professeur **FATIMA JABOUIRIK***

Professeur de pédiatrie

Je suis infiniment sensible à l'honneur que vous me faites

En acceptant de siéger parmi mon jury de thèse.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude pour votre bienveillance,

Et votre simplicité avec lesquelles vous m'avez accueillie.

Vous avez accepté aimablement de juger cette thèse.

*Veillez accepter, cher maître, dans ce travail l'assurance de mon estime et mon
profond respect.*





LISTE DES ABREVIATIONS



Abréviations

AA	: Acide aminé
ADN	: Acide désoxyribonucléique
ADP	: Adénosine diphosphate
AG	: Acide gras
ANGPT2	: Angiopoïétine 2
ARN	: Acide ribonucléique
ARNm	: Acide ribonucléique messenger
ATP	: Adénosine triphosphate
C I	: Complexe I
C II	: Complexe II
Ca²⁺	: Calcium
CoA	: Coenzyme A
CoQ10	: Ubiquinone
CoQ10H2	: Ubiquinol
CP4H	: Collagène prolyl 4-hydroxylase
E1	: Alpha cétooglutarate déshydrogénase
E2	: Dihydrolipoyl succinyltransférase
E3	: Dihydrolipoamide déshydrogénase
ERK	: Kinase régulée extracellulaire
ESC	: Cellules souches embryonnaires
ETC	: Chaîne de transport d'électrons
FAD	: Flavine adénine dinucléotide
FDH	: Fumarate déshydrogénase
GBM	: Glioblastome multiforme
G-CIMP	: Phénotype méthylateur du gliome des ilots CpG
GIST	: Tumeurs stromales gastro-intestinales

GPR91	: Récepteur 91 couplé à la protéine G
GTP	: Guanine triphosphate
HGG	: Gliome de haut grade
HIF	: Facteur inducteur d'hypoxie
HMG	: Hydroxyméthylglutaryl
HSP	: Protéine de choc thermique
IDH	: Isocitrate déshydrogénase
IFN γ	: Interféron gamma
IMM	: Membrane mitochondriale interne
IMS	: Espace intermembranaire
L2HG	: L 2-hydroxyglutarate
L2HGDH	: L 2-hydroxyglutarate déshydrogénase
LAL	: Leucémie aigue lymphoblastique
LAM	: Leucémie aigue myéloïde
LDHA	: Lactate déshydrogénase A
LGG	: Gliome de bas grade
MGMT	: Méthylguanine –ADN méthyltransférase
mTORC1	: Cible mammifère de la rapamycine 1
NAAG	: N-acétyl-aspartyl glutamate
NAD	: Nicotinamide adénine dinucléotide
OGDH	: Oxoglutarate déshydrogénase
OMS	: Organisation mondiale de la santé
OXPHOS	: Phosphorylation oxydative
PCC	: Phéochromocytomes
PD1	: Protéine de mort cellulaire programmée 1
PDGF	: Facteur de croissance dérivé des plaquettes
PDH	: Pyruvate déshydrogénase
PDL1/PDL2	: Ligand de mort programmée 1 et 2

PHD	: Prolyl hydroxylase
PHGDH	: Phosphoglycérate déshydrogénase
PLG	: Paragangliomes
PMIC	: Phénotype méthylé des ilots CpG
PTN	: Pléiotrophine
R2HG	: R 2-hydroxyglutarate
ROS	: Espèces réactives de l'oxygène
SDH	: Succinate déshydrogénase
SMD	: Syndrome myélodysplasique
SNC	: Système nerveux central
STAT3	: Transducteur de signal et activateur de transcription 3
TCA	: Cycle de l'acide tricarboxylique
TCGA	: Atlas du génome du cancer
TET	: Méthylcytosine dioxygénase
TGF	: Facteur de croissance transformant
TGFβ2	: Facteur de croissance transformé bêta 2
TIL	: Lymphocyte infiltrant la tumeur
TOR	: Cible de la rapamycine
TPP	: Thiamine pyrophosphate
TRAP1	: Récepteur associé à la protéine 1
TSS	: Site de début de transcription
VEGF	: Facteur de croissance endothélial cellulaire
α CG	: Alpha cétooglutarate
α KG	: Alpha cétooglutarate
α KGDC	: Complexe alpha cétooglutarate déshydrogénase
Δψ_m	: Potentiel membranaire
2-HG	: 2-hydroxyglutarate
3-NP	: Acide 3-nitropropionique

*LISTE DES
ILLUSTRATIONS*



Liste des figures

Figure 1: vue détaillée du cycle de l'acide citrique.....	6
Figure 2: rôle du cycle du citrate.....	7
Figure 3: formation du citrate.	11
Figure 4: isomérisation du citrate en isocitrate.	12
Figure 5: décarboxylation de l'isocitrate en α cétooglutarate.....	13
Figure 6: décarboxylation de l' α cétooglutarate en Succinyl CoA.	14
Figure 7: formation du Succinate.....	15
Figure 8: déshydrogénation du Succinate en Fumarate.....	16
Figure 9: hydratation du Fumarate en L-malate.....	17
Figure 10: régénération de l'oxaloacétate.....	18
Figure 11: biosynthèse des acides aminés.	21
Figure 12: vue générale sur la régulation du cycle de Krebs.....	23
Figure 13: structure de la Succinate déshydrogénase.....	30
Figure 14: l'expression de la protéine TRAP1 dans le processus tumoral.....	33
Figure 15: Facteurs possibles responsables de l'accumulation de Succinate dans la tumeur.	35
Figure 16: Facteur 1 alpha (HIF-1-alpha) inductible par l'hypoxie.....	37
Figure 17: Activité TRAP1 dans les mitochondries des cellules tumorales.....	40
Figure 18: Schéma de la modification chimique d'une base cytosine par ajout d'un groupement méthyle (CH ₃).	42
Figure 19: Représentation schématique de la classification non supervisée des PGL/PCC basée sur le transcriptome.....	46
Figure 20: Mécanismes moléculaires de tumorigenèse dans les phéochromocytomes du cluster 1.....	47

Figure 21: Mécanisme reliant les mutations des gènes SDHx et FH a l'hyperméthylation de l'ADN et des histones.	49
Figure 22: Arbre décisionnel pour le conseil génétique du PGL/PCC.....	51
Figure 23: Mécanisme réactionnel du complexe α -cétoglutarate déshydrogénase (R = CH ₂ -COO-).....	54
Figure 24: Mécanismes de régulation du complexe alpha-cétoglutarate déshydrogénase	63
Figure 25: Schéma des acteurs moléculaires entraînant la carboxylation réductrice de l'alpha cétoglutarate dans les mitochondries lors de l'hypoxie (a) et dans les cellules cancéreuses présentant des défauts d'ETC (b).....	65
Figure 26: Représentation schématique de l'influence des niveaux d' α -KG et de la compartimentation sur les PHDs et l'ATP synthase.....	71
Figure 27: Signaux mitochondriaux qui façonnent l'adaptation métabolique et hypoxique médiée par HIF1 dans les cellules cancéreuses.....	72
Figure 28: La carte du domaine et la structure active des enzymes IDH	79
Figure 29: Structure du site catalytique d'IDH1 et IDH2.....	80
Figure 30: Rôle des gènes IDH dans les gliomes et les LAM.	81
Figure 31: Méthylation puis hydroxylation de la cytosine par les enzymes DNMT et TET...	83
Figure 32: Transamination Glutamate/ α -CG	88
Figure 33. Résumé des altérations métaboliques et épigénétiques induites par les mutations IDH dans les cellules cancéreuses.....	92

Liste des tableaux

Tableau I: Vue générale des enzymes ainsi que les types de réactions entrant dans le cycle de Krebs	9
Tableau II: Bilan énergétique pour un tour du cycle de Krebs	20
Tableau III: Bilan énergétique de l'oxydation complète d'une molécule de glucose	20
Tableau IV: Les maladies associées aux mutations touchant les enzymes du cycle de Krebs	25
Tableau V: Fréquences des mutations d'IDH1 et IDH2 chez les patients adultes et enfants.	91
Tableau VI: Résumé des essais cliniques avec des inhibiteurs d'isocitrate déshydrogénase spécifiques aux isoformes	109



SOMMAIRE



I. Introduction	2
II. Métabolisme du cycle de Krebs	5
1. Généralités	5
2. Définition	5
3. Rôles du cycle de Krebs	7
4. Fonction catabolique du cycle	8
4.1. Les étapes	8
4.1.1. Les enzymes	8
4.1.2. Le déroulement des étapes	11
4.2. Bilan énergétique	19
5. Fonction anabolique du cycle	21
6. Régulation	22
7. Généralités sur les anomalies associées aux mutations des enzymes	24
III. Anomalies de la Succinate déshydrogénase	29
1. Généralités	29
1.1. Définition	29
1.2. Structure	30
1.3. Régulation	31
2. Succinate déshydrogénase et cancer	31
2.1. Rôle de la Succinate dans et hors métabolisme	31
2.2. Facteurs responsables de l'accumulation du Succinate	32
2.3. Les rôles possibles du Succinate dans la tumorigenèse	35

2.3.1. Dysrégulation et remodelage des fonctions mitochondriales	35
2.3.2. Pseudohypoxie et stabilisation HIF	36
2.3.3. Production des espèces réactives de l'oxygène (ROS)	38
2.3.4. Expression de TRAP1 et inhibition de la SDH	39
3. Succinate déshydrogénase et méthylation d'ADN	41
3.1. Méthylation d'ADN	41
3.2. Analyse du myélome PGL/PCC	43
3.3. Mutation de la Succinate déshydrogénase et PGL/PCC	44
3.4. Un lien inattendu entre le cycle de Krebs et la régulation épigénétique	48
3.5. Vers des traitements déméthylants pour les cancers liés aux dysfonctionnements du cycle de Krebs	50
IV. Le complexe alpha-cétoglutarate déshydrogénase dans la plasticité métabolique du cancer	53
1. Généralités	53
1.1. Définition	53
1.2. Mécanisme réactionnel	54
2. L'alpha-cétoglutarate et le métabolisme cellulaire	55
3. Comment le complexe alpha-cétoglutarate déshydrogénase contribue à adapter le métabolisme mitochondrial à la structure des besoins bioénergétiques	56
4. Médiateurs de régulation de l'alpha-cétoglutarate déshydrogénase	59
4.1. Le calcium	59
4.2. Le pH	60
5. Relation entre les espèces réactives de l'oxygène et l'activité de l'enzyme	61

6. Le complexe alpha-cétoglutarate déshydrogénase et la reprogrammation métabolique du cancer	64
7. Comprendre la dynamique de l'alpha-cétoglutarate et ses effets sur ses cibles	67
8. Impact de l'alpha-cétoglutarate sur l'épigénétique des cellules cancéreuses	73
V. Mutations des gènes de l'isocitrate déshydrogénase	77
1. Généralités	77
1.1. Définition et structure	77
2. Leucémies liées à l'isocitrate déshydrogénase.....	80
2.1. Isocitrate déshydrogénase et mutation : généralités.....	80
2.2. Fonctions néomorphique des IDH mutées	81
2.3. L'oncogenèse liée au D_2HG.....	82
2.3.1. L'enzyme TET.....	83
2.3.2. HIF et HIF-PDH	85
2.3.3. Les histones déméthylés.....	86
2.3.4. Collagène propyl 4-hydroxylase (C-P4H)	86
2.3.5. Impact sur le cycle de Krebs	86
2.3.6. Le glutamate	88
2.3.7. Glucose-sensing.....	89
2.3.8. Réponse cellulaire au stress oxydatif.....	89
2.4. Incidence des mutations d'IDH1 et IDH2 dans les leucémies aiguës myéloïdes.....	90
3. Mutations de l'isocitrate déshydrogénase et les gliomes	91
3.1. Physiopathologie des mutations de l'isocitrate déshydrogénase.....	91
3.2. La détection des mutations IDH et la classification des gliomes.....	94

3.3. Impact des mutations IDH sur le microenvironnement du gliome.....	99
3.4. Ciblage des gliomes mutants IDH1/IDH2	103
3.5. Développement de vaccins peptidiques ciblant IDH1-R132H	110
VI. Conclusion.....	113
Résumés.....	115
Références Bibliographiques et webographiques	119



Introduction



I. Introduction :

Le cycle de Krebs est une voie métabolique ayant lieu dans toutes les cellules, au niveau du cytoplasme pour les bactéries, ou de la mitochondrie chez les eucaryotes. Il est la plaque tournante de tous les catabolismes (glucides, lipides, protides) et donc de la production d'énergie. Le fait que le cycle de Krebs soit indispensable à de nombreuses voies métaboliques, tant anaboliques que cataboliques, suggère qu'il a probablement été l'un des premiers éléments fondateurs du métabolisme cellulaire à s'être mis en place au cours de l'évolution, peut-être par abiogenèse. Il est apparenté à des réactions se produisant chez les bactéries anaérobies et aurait évolué en plusieurs fois ; il existe théoriquement plusieurs alternatives au cycle de Krebs, mais ce dernier semble être le plus efficace: si plusieurs alternatives ont évolué indépendamment, elles ont dû toutes converger vers le cycle de Krebs.

Le cycle de Krebs occupe une place centrale dans le métabolisme cellulaire et est le point de jonction de nombreuses voies essentielles. Depuis le début des années 2000, un lien a été démontré entre l'apparition de certains cancers et des mutations affectant des gènes codant pour des enzymes du cycle de Krebs, la Succinate déshydrogénase, la fumarase ou les iso-enzymes 1 et 2 de l'isocitrate déshydrogénase, ainsi que le complexe alpha cétooglutarate déshydrogénase .

Ces troubles constituent un groupe de maladies humaines rares qui présentent une complexité étonnante compte tenu de nos connaissances actuelles sur la fonction du cycle de Krebs et la biogenèse. Agissant comme une plaque tournante du métabolisme cellulaire, il est distribué de manière omniprésente dans l'organisme et ses composants enzymatiques codés par des gènes domestiques supposés typiques.

Le cycle de Krebs semble également jouer un rôle central dans la réponse aux stimuli pro-inflammatoires, les intermédiaires du cycle de Krebs intervenant alors comme molécules de signalisation et comme immuno-modulateurs.

Les mutations dans les gènes codant des enzymes du cycle de Krebs ne sont évidemment pas les seuls acteurs dans la promotion du phénotype tumoral, et si les avancées en génétique des 30 dernières années ont permis la mise en évidence de mutations causales permettant d'expliquer la transformation cellulaire (comme par exemple la Succinate déshydrogénase dans certains cas de gliomes), elles ne peuvent à elles seules rendre compte des dérégulations métaboliques qui se mettent en place au cours de tous les processus tumoraux. En effet, des interactions complexes dans les multiples voies de signalisation contrôlant le métabolisme peuvent conduire à une reprogrammation métabolique propice à l'expansion de cellules tumorales, avec en retour un retentissement sur l'activité du cycle de Krebs.

Notre travail vise les objectifs suivants :

- Comprendre le mécanisme du cycle de Krebs.
- Assimiler l'importance de maintenir l'intégrité des enzymes impliqués dans le mécanisme du cycle de Krebs.
- Obtenir un aperçu sur les conséquences sanitaires des anomalies du cycle de Krebs. Nous nous intéresserons dans ce volet, aux enzymes suivants :
 - ✓ La Succinate déshydrogénase.
 - ✓ L' α cétoglutarate déshydrogénase.
 - ✓ L'isocitrate déshydrogénase.



***Métabolisme
du cycle de Krebs***



II. Métabolisme du cycle de Krebs :

1. Généralités :

Le cycle de Krebs est aussi appelé : Cycle des acides tricarboxyliques = cycle de l'acide citrique.

Il s'agit d'un carrefour du métabolisme intermédiaire à rôle amphibolique.

C'est la voie finale commune d'oxydation des molécules d'acétyl-CoA (glycolyse aérobie, oxydation des acides gras + intégration des acides aminés) en CO₂ et H₂O.

Il consiste en des réactions séquentielles au niveau des mitochondries formant une boucle. Ainsi, il aboutit à la production d'un seul **ATP** sous forme de **GTP**, **3 NADH**, **H⁺**, **1 FADH₂** [1].

2. Définition :

Le cycle de Krebs, aussi appelé cycle de l'acide citrique est un processus organique liés à la fonction respiratoire qui consiste à la métabolisation de glucides, de lipides et d'acides aminés pour produire des molécules énergétiques[2].(figure 1)

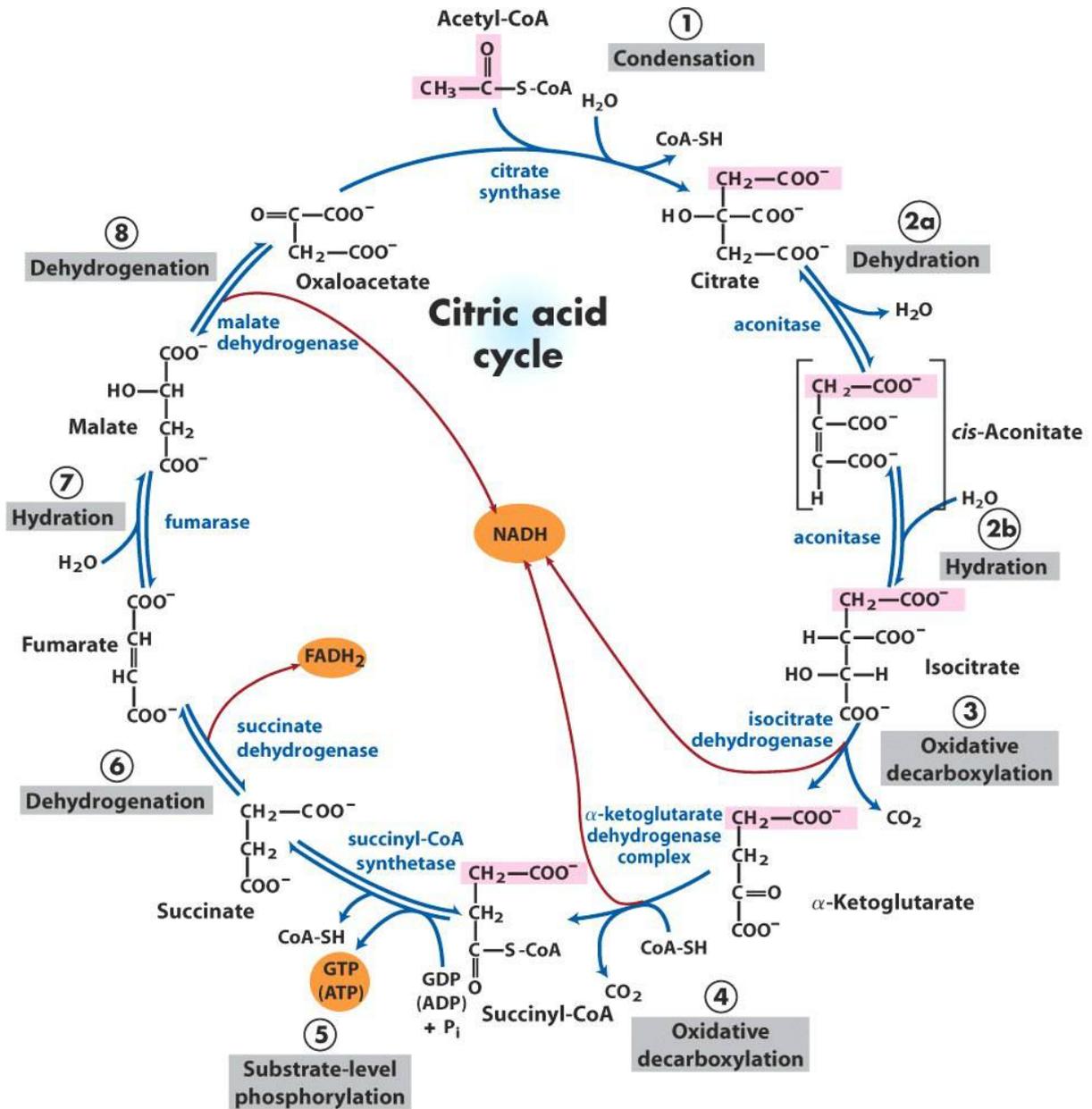


Figure 1: Vue détaillée du cycle de l'acide citrique [3].

3. Rôles du cycle de Krebs :

- Double rôle :

- Production d'énergie : plus de **90%** d'énergie produite dans les cellules aérobies provient du cycle de Krebs en relation avec la chaîne respiratoire mitochondriale.
- Source de précurseurs : le cycle fournit également des intermédiaires pour les biosynthèses.

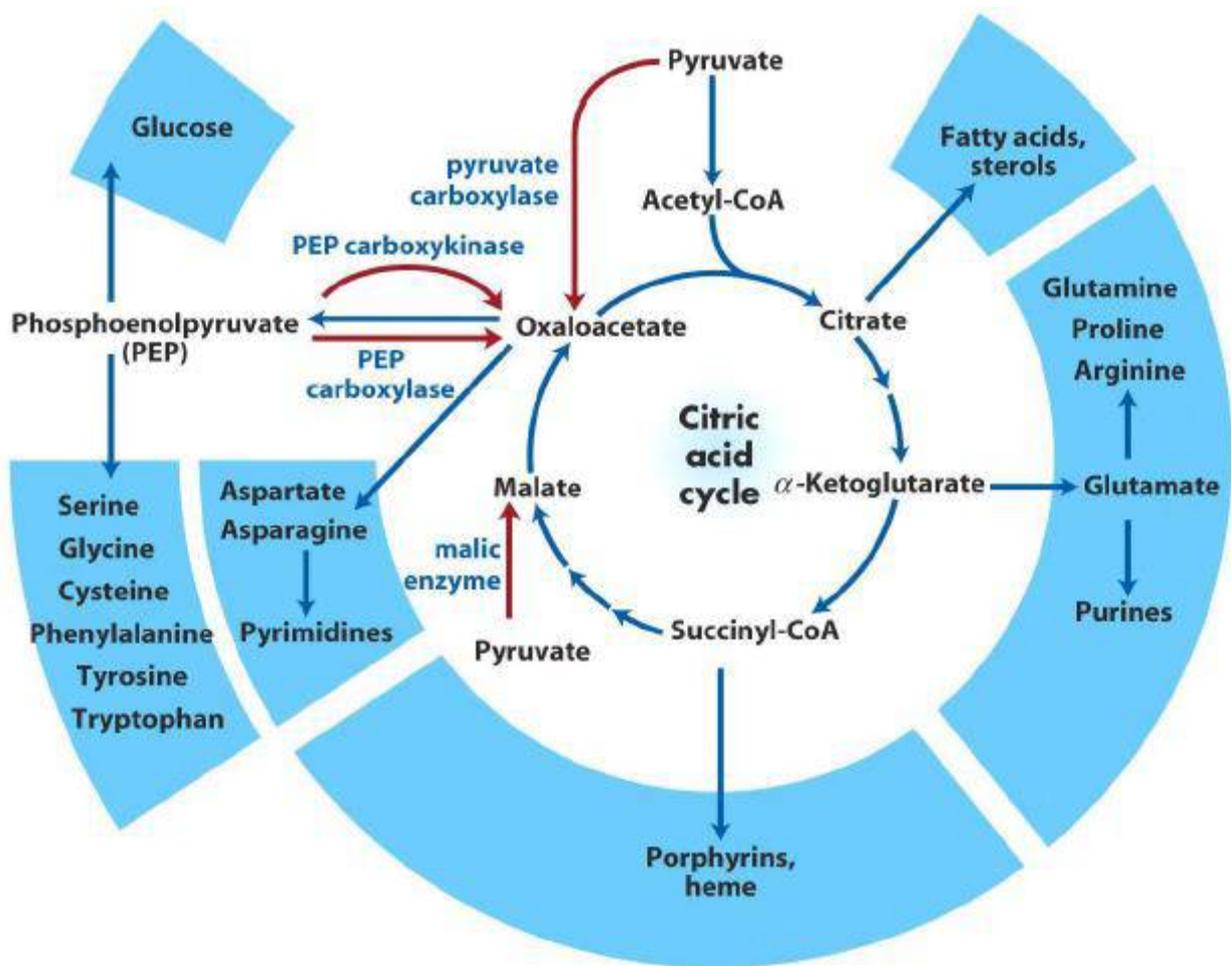


Figure 2: Rôle du cycle du citrate [3].

4. Fonction catabolique du cycle :

4.1. Les étapes :

4.1.1. Les enzymes :

- Les enzymes de cycle de Krebs sont des protéines de membrane trouvées dans la matrice des mitochondries à l'exception de la Succinate déshydrogénase qui est une protéine intégrale de la membrane mitochondriale interne.

- Le tableau ci-dessous résume les dix étapes du cycle de Krebs, catalysées par huit enzymes différentes. Ces étapes sont remarquablement conservées selon les espèces, mais les enzymes peuvent en revanche différer assez sensiblement d'un organisme à un autre. Les réactions et les enzymes présentées dans ce tableau sont celles qui prévalent chez les mammifères [4] :

Tableau I: Vue générale des enzymes ainsi que les types de réactions entrant dans le cycle de Krebs [4].

	Substrats	Produits	Enzyme	Type de réaction	Remarques
1	Oxaloacétate + Acétyl-CoA + H ₂ O	Citrate + CoA-SH	Citrate synthase	Crotonisation	Irréversible, allonge l'oxaloacétate (4C) en une molécule à six atomes de carbone
2	Citrate	<i>cis</i> -Aconitate + H ₂ O	Aconitase	Déshydratation	Isomérisation réversible
3	<i>cis</i> -Aconitate + H ₂ O	Isocitrate		Hydratation	
4	Isocitrate + NAD ⁺	Oxalosuccinate + NADH + H⁺	Isocitrate déshydrogénase	Oxydation	Produit du NADH (équivalent à 2,5 ATP)
5	Oxalosuccinate	α - Cétoglutarate + CO₂		Décarboxylation	Réaction limitante, étape irréversible, produisant une molécule à cinq atomes de carbone.
6	α - Cétoglutarate + NAD ⁺ + CoA-SH	Succinyl-CoA + NADH + H⁺ + CO₂	Complexe α - cétoglutarate déshydrogénase	Décarboxylation oxydative	Étape irréversible, produisant du NADH (équivalent à 2,5 ATP), conduisant à une molécule à quatre atomes de carbone (hors coenzyme A)

7	Succinyl-CoA + GDP + P _i	Succinate + CoA-SH + GTP	Succinyl-CoA synthétase	Phosphorylation	ou ADP → ATP à la place de GDP → GTP, produit une molécule d'ATP ou d'un équivalent La réaction de condensation du GDP avec le P _i et l'hydrolyse de la Succinyl- CoA implique la molécule d'H ₂ O requise pour l'équilibre de la réaction.
8	Succinate + CoQ ₁₀	Fumarate + CoQ₁₀H₂ (ubiquinol)	Succinate déshydrogénase	Oxydation	Utilise le FAD comme groupe prosthétique (FAD → FADH ₂ à la première étape de la réaction), équivalent à 1,5 ATP
9	Fumarate + H ₂ O	L-Malate	Fumarase	Hydratation	
10	L-Malate + NAD ⁺	Oxaloacétate + NADH + H⁺	Malate déshydrogénase	Oxydation	Réversible (en réalité, l'équilibre favorise la formation du L-malate), produit du NADH (équivalent à 2,5 ATP)

4.1.2. Le déroulement des étapes :

✚ Formation du citrate :

- La citrate synthase condense l'oxaloacétate et l'acétyl-CoA en citrate avec libération de la coenzyme A. Il se forme un intermédiaire transitoire, la citroyl-CoA. La liaison thioester de l'acétyl-CoA est une liaison à haut potentiel d'hydrolyse. Le couplage des activités hydrolase et synthase rend la réaction de synthèse thermodynamiquement possible. Cette réaction est une étape régulatrice du cycle, avec comme effecteur négatif sur la vitesse de réaction la Succinyl-CoA, le NADH, l'acétyl-CoA, le citrate et l'ATP [5].

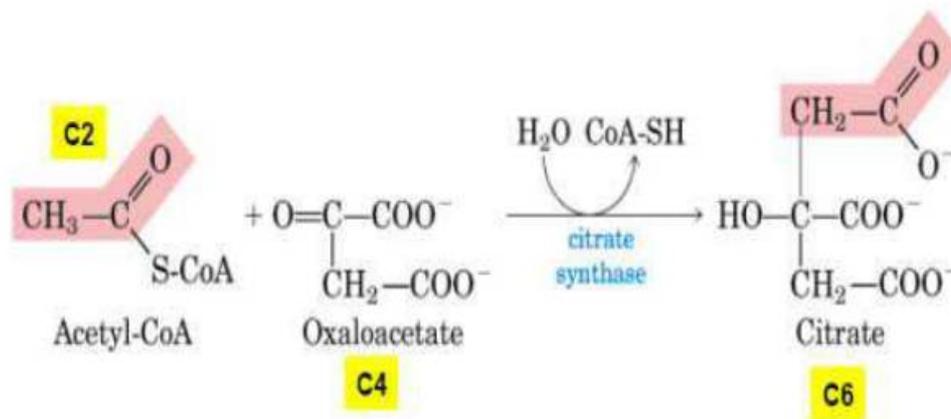


Figure 3: Formation du citrate [6].

✚ Isomérisation du citrate en isocitrate :

- L'aconitase, une lyase, catalyse la déshydratation du citrate en *cis*-aconitate. Bien que la molécule de citrate semble être symétrique, on a montré que le départ d'eau a lieu entre les atomes de carbone issus de l'oxaloacétate .

- L'aconitase catalyse également l'hydratation du *cis*-aconitate en isocitrate :

- Les deux étapes précédentes, catalysées par l'aconitase, aboutissent à l'isomérisation du citrate en isocitrate [5].

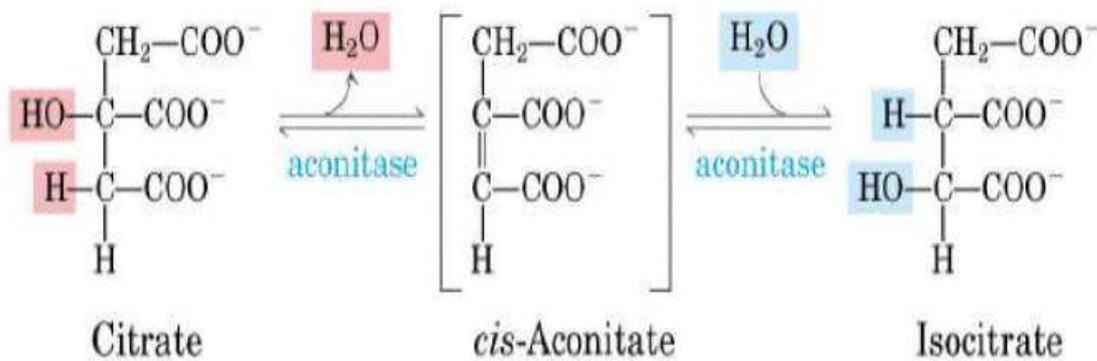


Figure 4: Isomérisation du citrate en isocitrate [6].

✚ Décarboxylation oxydative de l'isocitrate en α cétooglutarate :

- L'isocitrate déshydrogénase, une oxydoréductase, catalyse l'oxydation de l'isocitrate en Oxalosuccinate .

- L'isocitrate déshydrogénase catalyse également la décarboxylation de l'Oxalosuccinate, instable, en α -cétooglutarate avec dégagement de CO_2 , en une réaction irréversible .

- C'est également une étape régulatrice du cycle, avec comme effecteurs négatifs le NADH et l'ATP. La présence d'ADP favorise au contraire l'activité de l'isocitrate déshydrogénase, et ainsi la vitesse de cette réaction [5].

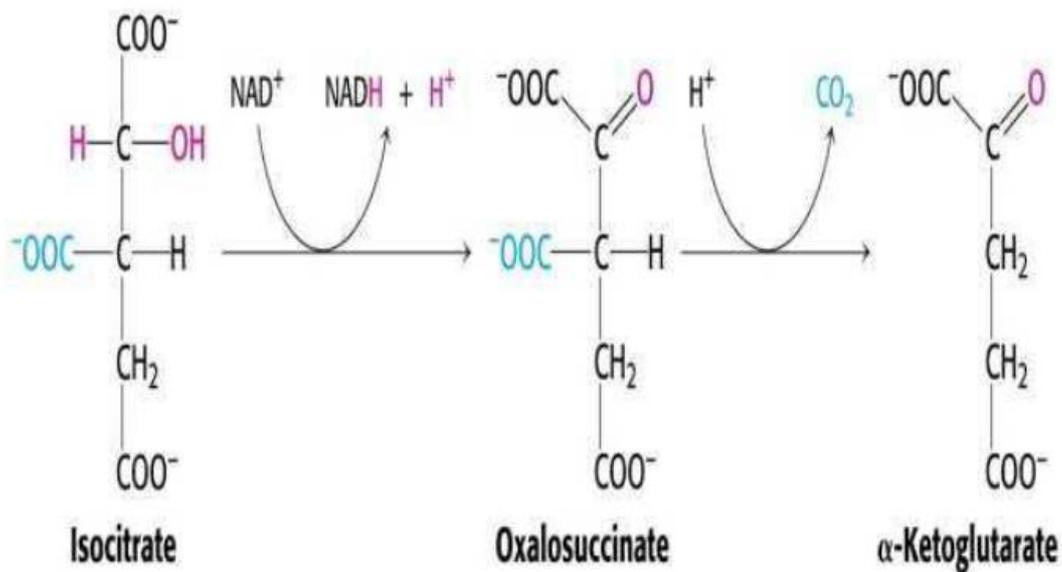


Figure 5: Décarboxylation de l'isocitrate en α cétooglutarate [6].

✚ Décarboxylation oxydative de l'α cétooglutarate en Succinyl CoA :

- Le complexe α-cétooglutarate déshydrogénase catalyse la décarboxylation oxydative de l'α-cétooglutarate en Succinyl-CoA avec production de NADH+H⁺ et dégagement de CO₂. C'est une réaction semblable à celle convertissant le pyruvate en acétyl-CoA, catalysée par le complexe pyruvate déshydrogénase. Ce complexe enzymatique fait intervenir successivement trois enzymes — l'α-cétooglutarate déshydrogénase, la dihydrolipoamide S-succinyltransférase et la dihydrolipoyl déshydrogénase et cinq cofacteurs : le TPP, le lipoamide, la coenzyme A, le FAD et le NAD⁺. Cette réaction est irréversible.

- Le NADH, le GTP et la Succinyl-CoA sont des effecteurs négatifs sur l'activité du complexe enzymatique [5].

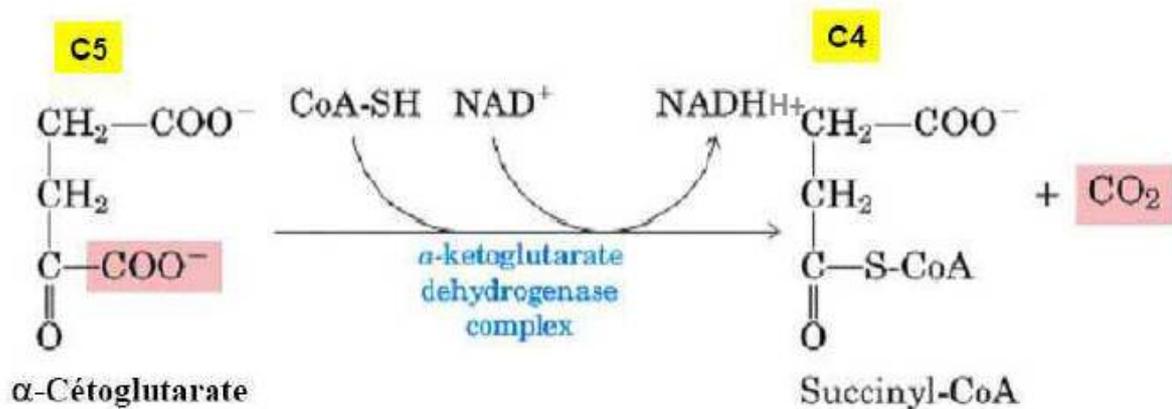


Figure 6: Décarboxylation de l'α cétooglutarate en Succinyl CoA [6].

✚ Formation du Succinate :

- La Succinyl-CoA synthétase, ou *Succinate thiokinase*, convertit la Succinyl CoA en Succinate et coenzyme A avec formation d'une molécule de GTP chez les animaux ou d'ATP chez les plantes et les bactéries. Cette réaction est réversible [5].

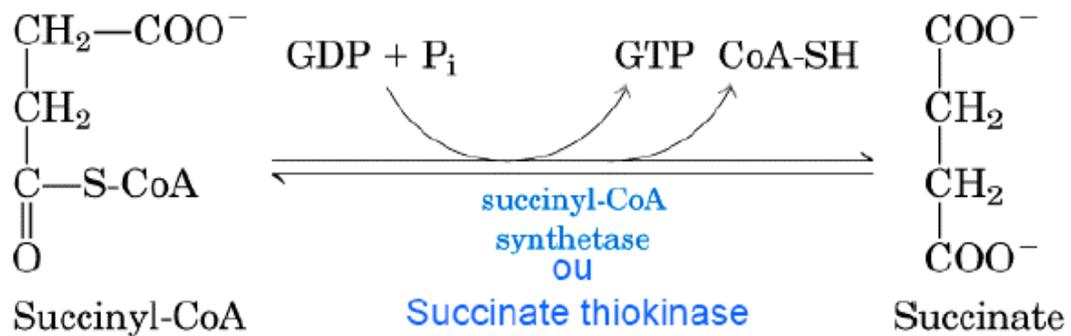


Figure 7: Formation du Succinate [6].

✚ Déshydrogénation du Succinate en Fumarate :

- La Succinate déshydrogénase, une oxydoréductase, catalyse l'oxydation du Succinate en fumarate avec réduction concomitante de l'ubiquinone (coenzyme Q₁₀) en ubiquinol (CoQ₁₀H₂). Cette enzyme flavoprotéique à FAD est le complexe II de la chaîne respiratoire. Elle est inhibée par le malonate. Le FAD étant un groupe prosthétique lié de manière covalente à l'enzyme, il ne fait que transmettre les électrons et protons au « vrai » substrat CoQ₁₀.

- Cette réaction est la dernière réaction régulatrice du cycle. Le malonate est ici l'inhibiteur compétitif [5].

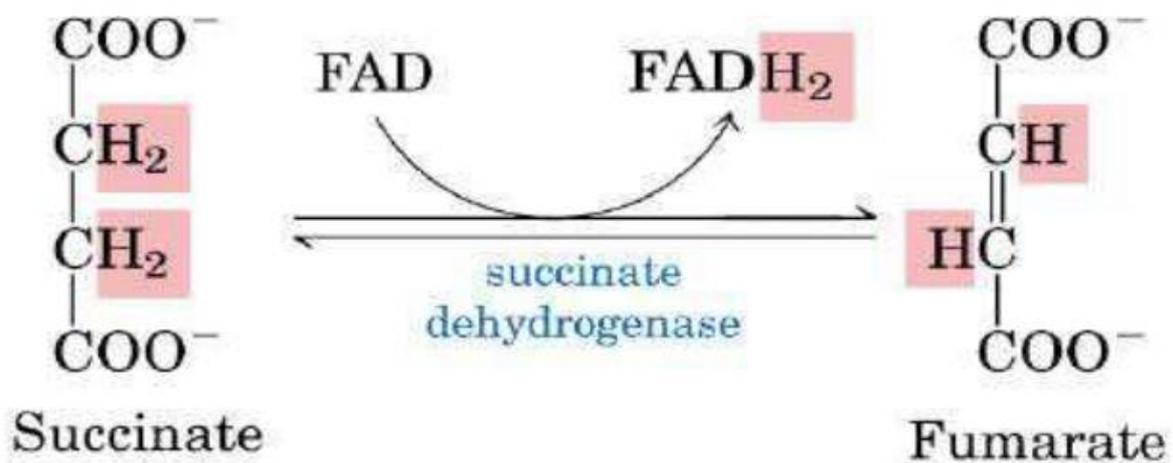


Figure 8: Déshydrogénation du Succinate en Fumarate [6].

✚ Hydratation du Fumarate en L-malate :

- La fumarase, une lyase, catalyse l'hydratation du fumarate en L-malate.
- La fumarase fixe une molécule d'eau sur le fumarate pour former la L-malate[5].

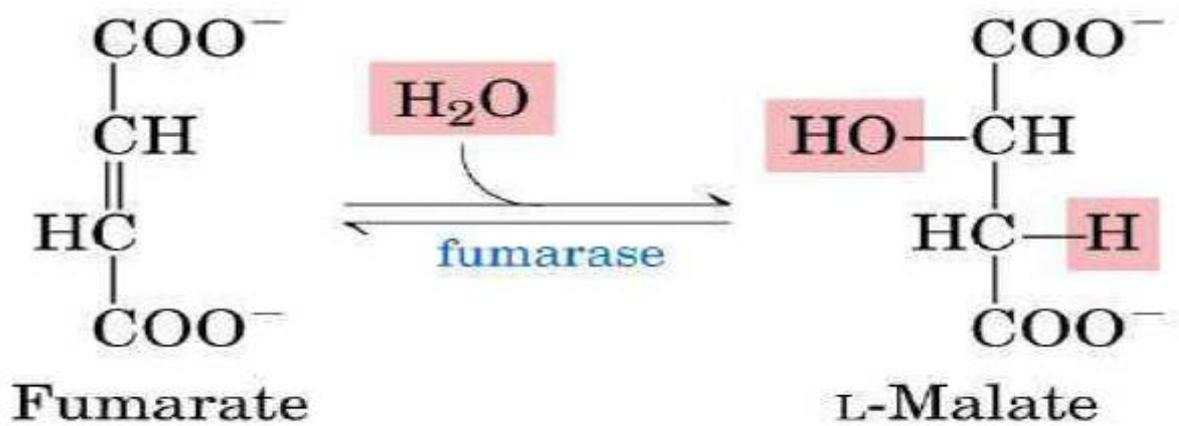


Figure 9: Hydratation du Fumarate en L-malate [6].

✚ Régénération de l'oxaloacétate :

- La malate déshydrogénase, une oxydoréductase, convertit le L-malate en oxaloacétate avec formation de $\text{NADH} + \text{H}^+$.

- Cette réaction est catalysée par une malate déshydrogénase NAD^+ dépendante chez les eucaryotes , et quinone-dépendante chez les procaryotes [5].

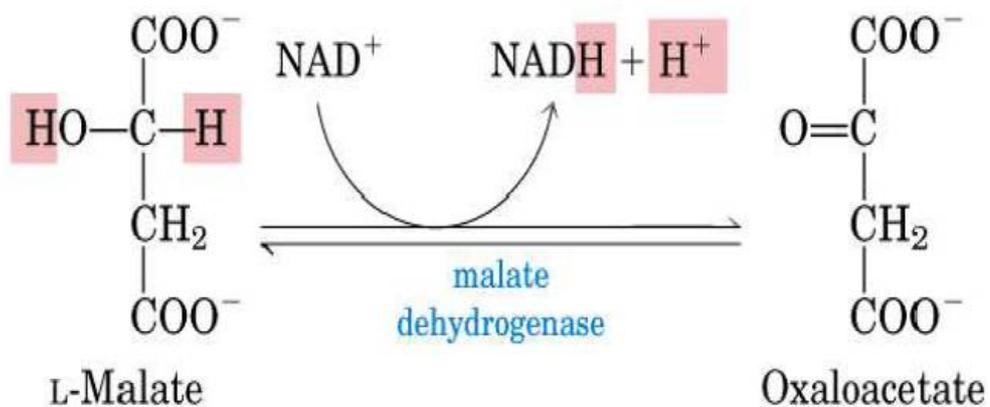
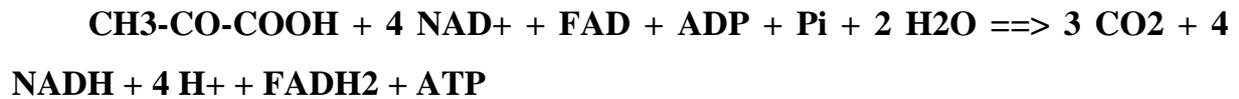


Figure 10: Régénération de l'oxaloacétate [6].

4.2. Bilan énergétique :

- Le bilan global du cycle est donc :



- Pour une molécule de glucose de départ, il faut multiplier ces valeurs par deux.

• Le cycle de Krebs produit donc 2 ATP, plus les deux de la glycolyse, cela fait 4 ATP. Les 4 NADH contiennent également de l'énergie qui sera transformée en 3 ATP chacun lors de l'étape suivante (soit 24 ATP) et le FADH₂ capable d'en produire 2 (4 au total). C'est donc un total de 32 ATP produit. Il ne faut pas oublier non plus les deux NADH produits lors de la glycolyse anaérobie et qui ne sont pas consommés ici (contrairement à ce qui se passe dans la fermentation). Chez les eucaryotes, ils sont produits dans le cytosol et leur entrée dans la mitochondrie consomme 1 ATP, ils n'en produisent que 4, soit un total final de 36 ATP, ce qui représente 37% de l'énergie stockée dans une molécule de glucose récupérée, ce qui est très nettement supérieur au rendement des fermentations (2%).

- Ce rendement est du même ordre de grandeur que les meilleurs appareils utilisant l'énergie chimique pour fonctionner tels les moteurs à explosion [7].

Tableau II: Bilan énergétique pour un tour du cycle de Krebs [6].

CYCLE DU CITRATE	BILAN ENERGETIQUE
1 GTP	1 ATP
3 NADH,H+	9 ATP
1 FADH ₂	2 ATP
TOTAL	12 ATP

Tableau III: Bilan énergétique de l'oxydation complète d'une molécule de glucose [6].

	VOIE DIRECTE	PHOSPHORYLATION OXYDATIVE
GLYCOLYSE	2 ATP	2 NADHH+ = 6 ATP
DECARBOXYLATION OXYDATIVE		2 NADHH+ = 6 ATP
CYCLE DE KREBS	2 GTP = 2 ATP	6 NADHH+ = 18 ATP 2 FADH ₂ = 4 ATP
	4 ATP	34 ATP
TOTAL = 38 ATP		

5. Fonction anabolique du cycle :

- Biosynthèse du glucose :
 - Si pouvoir réducteur intra-mitochondrial élevé : Oxaloacétate dévié vers la synthèse de glucose (Néoglucogenèse à partir d'AA glucoformateurs ou du lactate)
 - Sortie de l'Oxaloacétate des mitochondries par la navette du malate
 - **Tous les intermédiaires du cycle de Krebs sont potentiellement glucogéniques** (car conduisent à l'oxaloacétate).
- Biosynthèse des acides aminés :
 - A partir de l'oxaloacétate : α -cétooglutarate (acide α -cétoniques), aspartate, glutamate par réaction de transamination [1].

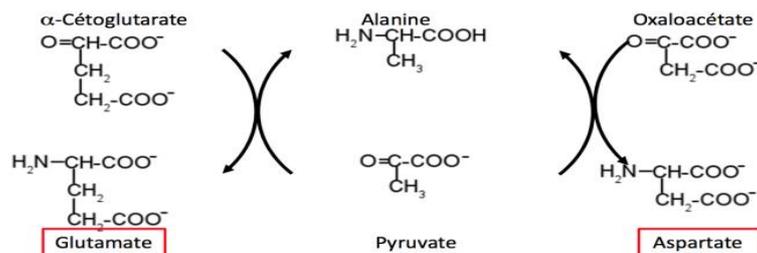


Figure 11: Biosynthèse des acides aminés [1].

- Biosynthèse d'intermédiaires du cycle (réactions anapérotyques) :
 - à partir d' α -cétooglutarate, Succinyl-CoA, fumarate à partir d'AA.
- Biosynthèse des acides gras et du cholestérol :
 - Biosynthèse dans le cytoplasme à partir de l'acétyl-CoA cytoplasmique : le citrate permet à ce dernier de sortir des mitochondries.
- Biosynthèse de l'hème :
 - A partir du Succinyl-CoA, synthèse du noyau porphyrine commun à l'hémoglobine, la myoglobine, les cytochromes [1].

6. Régulation :

- Les étapes irréversibles du cycle de Krebs peuvent être régulées : étape de la citrate synthase, de l'isocitrate déshydrogénase et du complexe α -cétoglutarate déshydrogénase :

la citrate synthase est activée par l'ADP mais inhibée par le NADH, l'ATP et le citrate. Elle est donc respectivement inhibée par le pouvoir réducteur, la charge énergétique et le produit de la réaction qu'elle catalyse.

l'isocitrate déshydrogénase est activée par le calcium et l'ADP, et est inhibée par le NADH et l'ATP.

le complexe α -cétoglutarate déshydrogénase est activé par le calcium et inhibé par le NADH, l'ATP et son produit de réaction, la Succinyl-CoA [8].

- La régulation du cycle de Krebs repose essentiellement sur la disponibilité du substrat et l'inhibition par les produits de réaction. Si ces réactions n'étaient pas régulées, le cycle de Krebs gaspillerait de grandes quantités d'énergie métabolique en produisant un excès d'ATP et de coenzymes réduites telles que le NADH [9].

Le NADH est produit par toutes les déshydrogénases du cycle hormis la Succinate déshydrogénase et a pour effet d'inhiber le complexe pyruvate déshydrogénase, l'isocitrate déshydrogénase, le complexe α -cétoglutarate déshydrogénase ainsi que la citrate synthase.

L'acétyl-CoA inhibe le complexe pyruvate déshydrogénase, tandis que la Succinyl-CoA inhibe le complexe α -cétoglutarate déshydrogénase et la citrate synthase. Les essais *in vitro* sur les enzymes du cycle de Krebs montrent que l'ATP inhibe la citrate synthase et le complexe α -cétoglutarate déshydrogénase ; cependant, le taux d'ATP *in vivo* ne varie pas de plus de 10 % entre les périodes de repos et d'activité soutenue, et aucun mécanisme allostérique connu ne permet de moduler significativement l'activité d'une enzyme avec une variation d'au plus 10 % de la concentration d'un effecteur allostérique [10].

Le cation de calcium Ca^{2+} intervient comme régulateur. Le taux de calcium dans la matrice mitochondriale peut atteindre quelques dizaines de micromoles par litre. Il active la pyruvate déshydrogénase phosphatase, laquelle active à son tour la composante pyruvate déshydrogénase (E1) du complexe pyruvate déshydrogénase. Il active également l'isocitrate déshydrogénase et le complexe α -cétoglutarate déshydrogénase. Ceci accroît la vitesse de réaction de plusieurs étapes du cycle, et accroît donc le flux de composés à travers cette voie métabolique [11].

Le citrate agit en inhibant la phosphofructokinase, laquelle intervient dans la glycolyse et donc contribue à la formation de pyruvate *via* le fructose-1,6-bisphosphate. Ceci constitue une boucle de rétroaction entre les deux voies métaboliques [12].

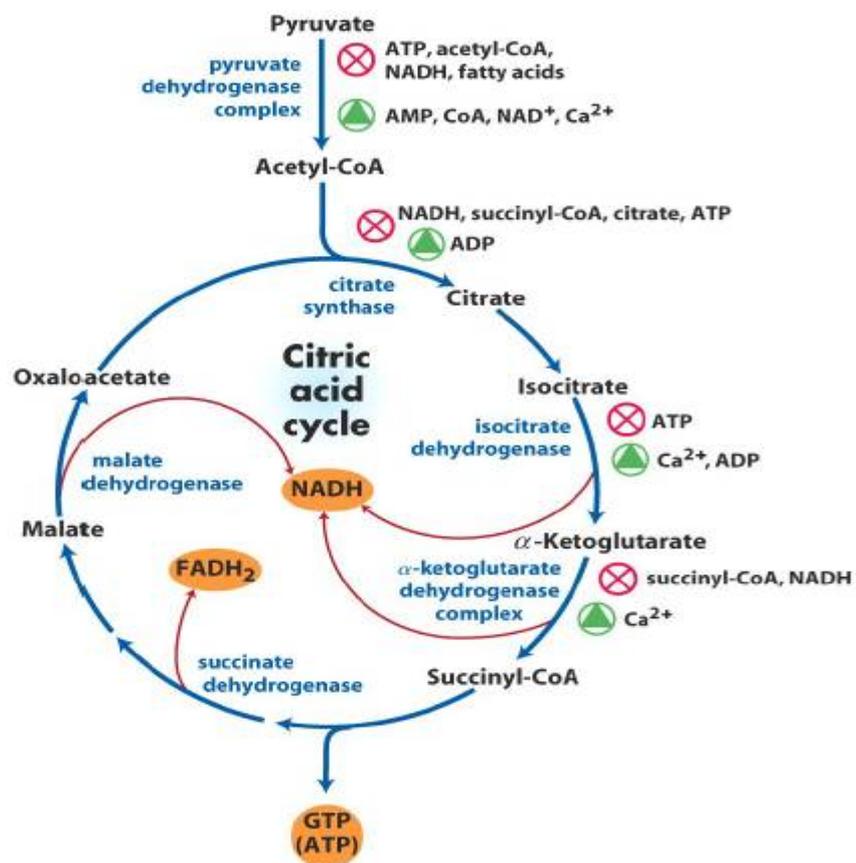


Figure 12: Vue générale sur la régulation du cycle de Krebs [3].

7. Généralités sur les anomalies associées aux mutations des enzymes :

- **Vue générale :**

Les anomalies du cycle de Krebs par le fait qu'elles perturbent les balances métaboliques dans les cellules sont susceptibles de moduler l'épigénétique cellulaire et ainsi d'entraîner la cellule vers des processus tumoraux [13] :

**Tableau IV: Les maladies associées aux mutations touchant les enzymes
du cycle de Krebs [13].**

Enzyme déficitaire	Gene	Phénotype tumoral	Maladies autres
Pyruvate-déshydrogénase	PDHA1		Depuis l'acidose lactique précoce fatale jusqu'à une maladie neurologique chronique
	DLAT (PDHA2)		Microcéphalie et retard mental
	PDHB		Acidose lactique, hypotonie
	PDHX		Acidose lactique congénitale
	PDK1		
	PDK2		
	PDK3		Maladie de Charcot-Marie-Tooth dominante, liée à l'X
	PDK4	Résistance aux antiestrogènes dans le cancer du sein	
	PDP1		
	PDP2		Acidose lactique, Hypotonie
	PDPR		
	LIPT1		Syndrome de Joubert
LIPT2		Acidose lactique précoce fatale, Maladie de Leigh Encéphalopathie néonatale	
Phosphoénol-pyruvate-carboxykinase	PCK1		Défaillance hépatique sévère Hypoglycémie précoce
	PCK2		Acidose lactique
Pyruvate-carboxylase	PC		Acidose lactique avec retard développemental ou mortalité
Citrate-synthase	CS	Possible dérégulation dans différents cancers : surexpression rapportée dans des adénocarcinomes ovariens, perte de fonction dans des carcinomes cervicaux	
Aconitase Synthèse Centre Fer-Soufre (déficit multiple)	ACO1		
	ACO2	Association possible dans certains cancers gastriques et dans des cancers de la prostate	Dégénérescence cérébelleuse-rétinale de l'enfant Neuropathie optique isolée ou syndromique
	FXN		Ataxie de Friedreich
	ISCU NFUI		Myopathie Encéphalopathie fatale de l'enfant et/ou hypertension pulmonaire

Isocitrate-déshydrogénase	IDH1	Glioblastome Leucémie myéloïde sévère Chondrosarcome, Cholangiocarcinome	Convulsions ajoutées au gliome
	IDH2	Glioblastome Chondrosarcome Cholangiocarcinome	Acidurie D-2-hydroxyglutarique
	IDH3A		Encéphalopathie sévère de l'enfant.
	IDH3B		Rétinite pigmentaire
	IDH3G		
α-cétoglutarate-déshydrogénase	OGDHE1	Cancer colorectal	
	OGDHL		
	DLST		.
	DLD		Encéphalopathie sévère
	LIPT1		Acidose lactique précoce fatale Maladie de Leigh
	LIPT2		Encéphalopathie néonatale

Succinyl-CoA-ligase	SUCLG1		Encéphalomyopathie
	SUCLG2		.
	SUCLA2		Encéphalomyopathie Dystonie et surdité
Succinate-déshydrogénase	SDHA	Adénome hypophysaire et paragangliome/ phéochromocytome Carcinome rénal	Syndrome de Leigh Atrophie optique et ataxie
	SDHB	Paragangliome, Phéochromocytome Carcinome du rein Tumeur gastro-intestinale Syndrome de Carney-Stratakis Syndrome de Cowden	Leukodystrophie
	SDHC	Cancer du rein à cellules claires Paragangliome, Phéochromocytome Syndrome de Carney-Stratakis	
	SDHD	Paragangliome, Phéochromocytome Syndrome de Carney-Stratakis Cancer du rein Syndrome de Cowden Paragangliome, Phéochromocytome	Encéphalomyopathie
	SDHAF1		Leukoencéphalopathie infantile
	SDHAF2		
	SDHAF3 SDHAF4		
Fumarase	FH	Syndrome HLRCC (fibrome utérin héréditaire et cancer à cellule rénales papillaires) Tumeurs rénales Paragangliome, Phéochromocytome	Encéphalopathie, convulsions, faiblesse musculaire

Malate -déshydrogénase	MDH1		
	MDH2	Paragangliome	Encéphalopathie infantile
Enzyme malique	ME1 NADP	Cancer colorectal	
	ME2 NAD	Cancer du pancréas	
	ME3 NADP	Mélanome cutané	
Glutamate- oxaloacétate- transaminase	GOT1		Macro-aspartate transaminase familiale
	GOT2	Favorise l'apparition de phéochromocytome	
Glutamate- pyruvate- transaminase	GPT 1		
	GPT2	Cancer du sein	Diabète insulino-dépendant, microcéphalie, paraplégie spastique
Glutamate- déshydrogénase	GLUD1		Syndrome spinocérébelleux
	GLUD2		Hyperinsulinémie, hypoglycémie



Anomalies de la Succinate déshydrogénase



III. Anomalies de la Succinate déshydrogénase

1. Généralités :

La Succinate déshydrogénase (SDH) a été classiquement considérée comme une enzyme mitochondriale ayant la propriété unique de participer à la fois au cycle de l'acide citrique et à la chaîne de transport d'électrons. Cependant, ces dernières années, plusieurs études ont mis en évidence le rôle du substrat de la SDH, à savoir le Succinate, dans des processus biologiques autres que le métabolisme, la tumorigenèse étant la plus remarquable.

1.1. Définition :

La **Succinate déshydrogénase (SDH)**, ou **complexe II** de la chaîne respiratoire, également appelée **Succinate-coenzyme Q réductase (SQR)**, est une oxydoréductase membranaire qui catalyse la réaction :



Cette enzyme est présente chez un très grand nombre d'êtres vivants. On la trouve ainsi dans la membrane plasmique des bactéries et dans la membrane mitochondriale interne des eucaryotes, notamment des mammifères. Elle présente la particularité d'intervenir à la fois dans le cycle de Krebs et dans la chaîne de transport d'électrons de la phosphorylation oxydative [14]. Elle constitue le deuxième point d'entrée des électrons à haut potentiel de transfert dans la respiration cellulaire et assure le transfert de électrons du Succinate de la matrice mitochondriale vers la coenzyme Q₁₀ dissoute dans la bicouche lipidique.

1.2. Structure :

La Succinate déshydrogénase est un enzyme conservée par l'évolution et possède deux sous-unités transmembranaires (SDHC et SDHD) et deux sous-unités matricielles (SDHA et SDHB). La SDHA est liée d'une manière covalente à un cofacteur FAD, elle porte le site de liaison du succinate. La SDHB connecte la SDHA à la fois à la SDHC et à la SDHD. Elle contient trois centres Fe-S qui interviennent dans le transfert d'électrons du succinate à l'ubiquinone. Il existe deux sites de liaison à l'ubiquinone sur le complexe SDH : Le site de haute affinité est formé par des résidus de SDHB, SDHC et SDHD, situés près de la matrice de la membrane mitochondriale interne. Le site de faible affinité est formé par la SDHC et la SDHD, situé plus près de l'espace intermembranaire de la membrane mitochondriale interne.

Enfin, un groupe hème est pris en sandwich entre la SDHC et la SDHD, probablement piégeant les électrons libres pour empêcher la formation d'espèces réactives de l'oxygène [15,16]. (Figure 13).

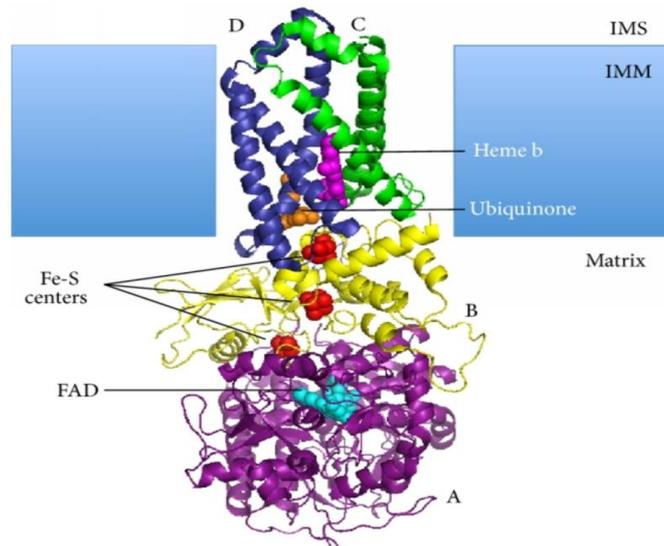


Figure 13: Structure de la Succinate déshydrogénase [17].

IMS (intermembrane space); IMM (inner mitochondrial membrane).

1.3. Régulation :

L'activité de la SDH peut être modulée par le biais de concurrents Succinate, d'inhibiteurs de l'ubiquinone, ou par modifications post-traductionnelles. Les concurrents comprennent le malonate, le malate et l'oxaloacétate [18,19].

Structurellement, ces composés sont similaires au Succinate, ce qui explique leur capacité à rivaliser pour la liaison SDH. Notamment, le malate et l'oxaloacétate sont tous les deux des métabolites du cycle de krebs [20, 21].

2. Succinate déshydrogénase et cancer

La Succinate déshydrogénase est constituée de quatre sous-unités codées par des gènes nucléaires ; deux sous-unités catalytiques (SDHA et SDHB) et deux sous-unités d'ancrage à la membrane (SDHC et SDHD).

Longtemps associées à des maladies neurodégénératives, les mutations des gènes *SDHx* ont été identifiées dans des formes familiales de phéochromocytomes (PCC) et paragangliomes (PGL) au début des années 2000 [22,23]. Ces gènes y jouent un rôle de suppresseurs de tumeurs et leurs mutations constitutionnelles sont alors associées à une perte d'hétérozygotie somatique, menant à l'inactivation complète de l'enzyme dans le tissu tumoral.

2.1. Rôle du Succinate dans et hors métabolisme :

Le Succinate est un métabolite mitochondrial intermédiaire catalysé en fumarate par la Succinate déshydrogénase (SDH) dans le cycle TCA, elle joue un rôle crucial dans le métabolisme, tel que :

La livraison d'électrons dans la chaîne respiratoire [24, 25], l'utilisation des corps cétoniques [26], le métabolisme de l'hème [27], le métabolisme de l'itaconate [28,29], et le «shunt GABA (acide γ -aminobutyrique)» [30].

Il a été étudié comme médiateur de la respiration mitochondriale, cependant, de plus en plus les chercheurs se concentrent maintenant sur les rôles les plus larges du Succinate dans le métabolisme extérieur [31]. Il peut aussi participer à d'autres processus physiopathologiques spéciaux au-delà du métabolisme, par exemple :

Il contribue aux complications de maladies métaboliques spécifiques [32], favorise les réactions d'activation inflammatoire [30], participe à l'oncogénèse et à la progression tumorale [33].

L'accumulation du Succinate est couramment observée dans un certain nombre de tumeurs malignes héréditaires et sporadiques, telles que les paragangliomes et les phéochromocytomes (PGL / PCC) [34], Le cancer de la thyroïde, le cancer de l'ovaire, les neuroblastomes [35], le cancer gastrique et le carcinome rénal [36].

L'accumulation du Succinate favorise l'angiogénèse par l'activation du STAT3 et de l'ERK médiée par le GPR91. Récemment, le Succinate a été défini comme une nouvelle «pirate d'épigénétique » pour inhiber l'ADN et les histones déméthylases [37,38], entraînant une altération épigénétique des carcinomes.

Des études au niveau biochimique et génétique ont confirmé le statut du Succinate dans la transformation cellulaire comme étant un conducteur dans la formation et la progression tumorale [39, 40].

2.2. Facteurs responsables de l'accumulation du Succinate :

La cible la plus importante c'est la protéine TRAP1 responsable de l'élévation du Succinate (figure 14), qui est un chaperon mitochondrial fortement exprimé en une série de cellules tumorales [41, 42] (figure 14). La TRAP1 inhibe les voies respiratoires du complexe II pour réguler la baisse de l'activité de la SDH, conduisant à des concentrations élevées du Succinate.

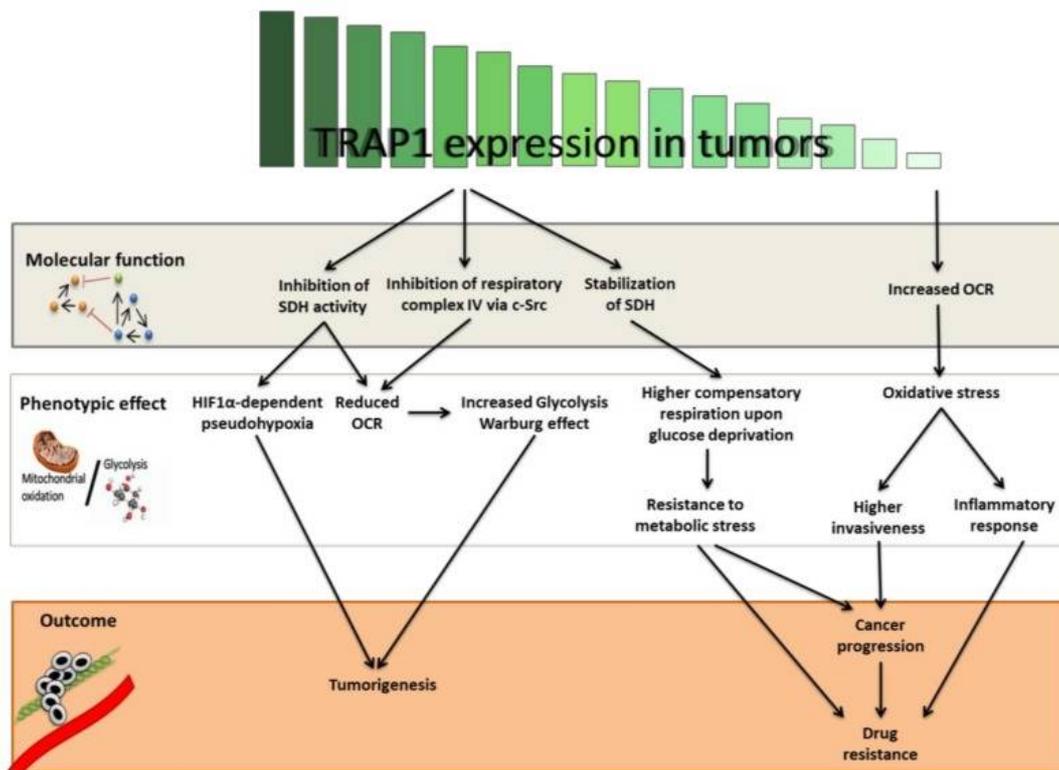


Figure 14: L'expression de la protéine TRAP1 dans le processus tumoral [350].

Effets hiérarchiques des niveaux d'expression de la protéine 1 associés au récepteur du facteur de nécrose tumorale (TRAP1) sur le développement et la progression de la tumeur en régulant le métabolisme énergétique. TRAP1 lie les complexes respiratoires de la matrice mitochondriale et régule leur activité, directement ou indirectement via c-Src (boîte grise). Cette régulation conduit alternativement à :

(1) une évolution vers un phénotype plus glycolytique (Warburg), (2) une capacité accrue à gérer le stress métabolique grâce à l'utilisation d'une capacité respiratoire alternative et (3) une augmentation du stress oxydatif (boîte blanche). En conséquence, les tumeurs avec un métabolisme glycolytique élevé ou limitant la disponibilité des nutriments peuvent bénéficier d'une expression élevée de TRAP1. À l'inverse, les tumeurs basées principalement sur le métabolisme oxydatif peuvent contre-sélectionner l'expression de la TRAP1 pour la progression et le développement de la résistance et des métastases (encadré orange).

OCR: taux de consommation d'oxygène; SDH: Succinate déshydrogénase; c-Src: proto-oncogène SRC; HIF1 α : sous-unité alpha du facteur 1 inductible par l'hypoxie.

Plusieurs autres éléments possibles prennent également en charge l'accumulation du Succinate dans les tissus néoplasiques.

Des études récentes ont mis en lumière la façon dont le Succinate s'accumule dans diverses cellules immunitaires au cours de la cascade inflammatoire. Ils ont suggéré que le cycle de glyoxylate qui convertit l'isocitrate en Succinate via l'enzyme l'isocitrate lyase (ICL) en est responsable [30].

Précédemment, la formation de tumeurs et la réponse inflammatoire ont été considérées comme des processus pathologiques distincts. Jusqu'à ces dernières années, l'inflammation favorisant la tumeur a longtemps été reconnue comme une caractéristique habilitante du cancer, et une inflammation associée à une tumeur a été démontrée dans le cancer.

Les cellules inflammatoires stationnées dans les tissus cancéreux peuvent libérer des produits chimiques, y compris le Succinate qui favorisent la progression néoplasique aux stades précoces. De manière similaire, la réponse inflammatoire associée à la tumeur peut également diminuer l'activité de la SDH.

Bien que dans cet état tumoral, le Succinate peut également être synthétisé par des voies physiologiques distinctes de ces processus pathologiques. Par exemple, il peut être dérivé de la glutamine.

En résumé, les Mutations de la SDH, le cycle de glyoxylate et la réponse inflammatoire aux tumeurs associées peuvent en effet contribuer à l'accumulation des concentrations du Succinate (figure 15).

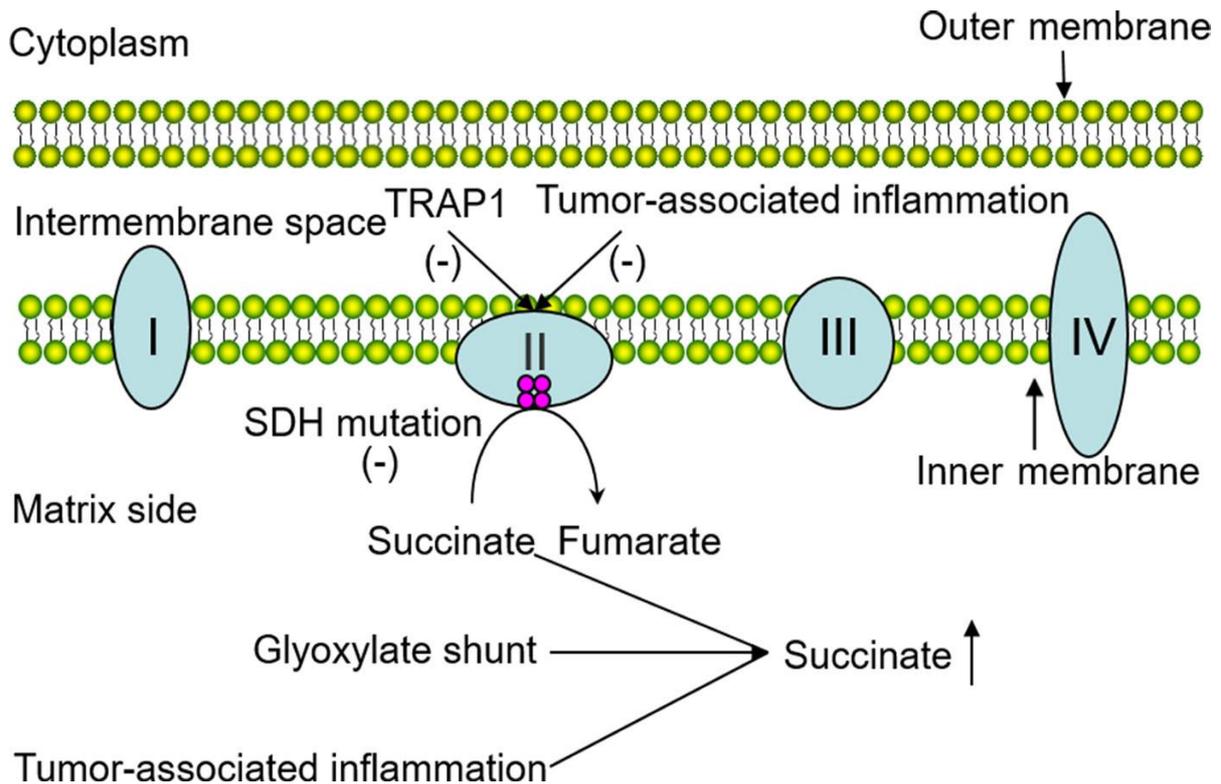


Figure 15: Facteurs possibles responsables de l'accumulation de Succinate dans la tumeur [43].

Le rôle pivot de SDH qui fonctionne dans la livraison d'électrons dans la chaîne respiratoire mitochondriale est illustré intuitivement ci-dessus, et l'implication des mutations SDH, glyoxylate, le shunt et la réponse inflammatoire associée à la tumeur conduisant à une accumulation de Succinate sont illustrés dans le diagramme.

2.3. Les rôles possibles du Succinate dans la tumorigenèse :

2.3.1. Dysrégulation et remodelage des fonctions mitochondriales :

Otto Warburg avait proposé dans le début des années 1920, que les cellules tumorales peuvent remodeler leur métabolisme de glucose, donc leur métabolisme énergétique. Même en présence de quantité suffisante d'oxygène, entraînant la production de l'énergie principalement par glycolyse [44 ,45].

Dans les cellules normales, la diminution des oncogènes est régulée en raison des indices extracellulaires et intracellulaires, pour augmenter la production de la glutamine et du lactate. Ainsi que l'augmentation de la glycolyse, de l'absorption et du métabolisme cellulaires [46-48].

Cependant, en cas d'hypoxie ou de tumeur, la consommation d'ATP augmentera de façon absolue ou relative selon les besoins des cellules [49]. Les oncogènes sont ensuite activés ou modifiés afin d'améliorer la glycolyse et de stimuler l'accumulation de la biomasse cellulaire [50].

En plus de l'activation des oncogènes et des mutations suppresseurs de tumeurs, le dysfonctionnement enzymatique du cycle de krebs contribue également au remodelage énergétique.

2.3.2. Pseudohypoxie et stabilisation HIF :

La Pseudohypoxie est une caractéristique courante dans la plupart des tumeurs avancées bien que la teneur en oxygène soit normale, et la plupart des adaptations sont modulées par un certain nombre de facteurs de transcription tels que le facteur inducible par l'hypoxie 1 (HIF-1) [33]. HIF-1 a été découvert pour la première fois par Semenza en 1992, et il a été élucidé pour pouvoir promouvoir l'érythropoïèse par liaison au gène activateur de l'érythropoïétine [51]. HIF-1 est un hétérodimère composé d'un domaine α labile à l'oxygène et un domaine β exprimé de façon constitutive [52].

Le domaine α est le régulateur et la sous-unité active de HIF-1 qui est induite par un signal d'hypoxie (figure 16). HIF-1 α sert de régulateur transcriptionnel avec un domaine de transactivation à son extrémité C-terminale et un signal nucléaire de localisation à l'extrémité N-terminale [53, 54].

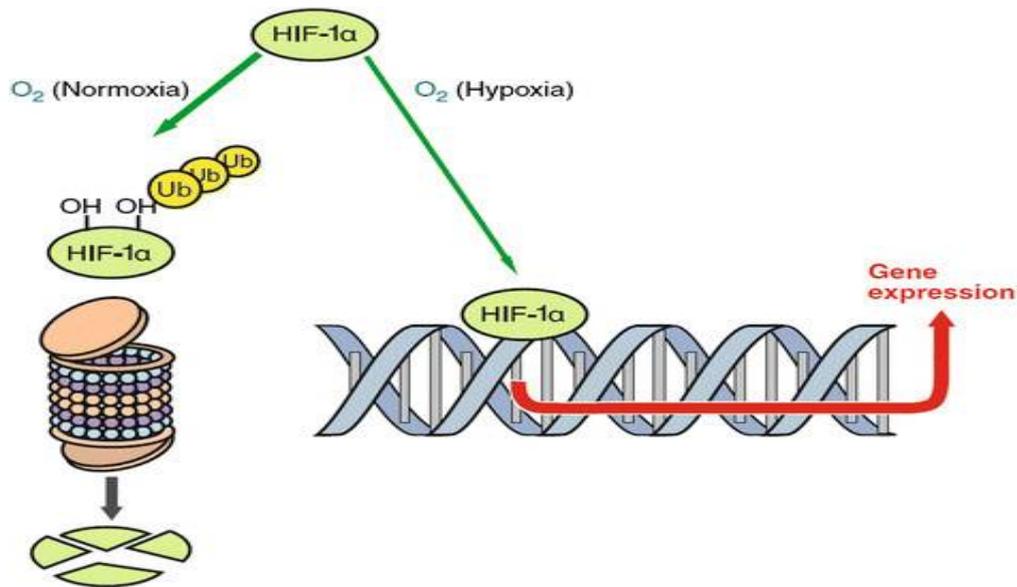


Figure 16: Facteur 1 alpha (HIF-1-alpha) inductible par l'hypoxie.

Si la concentration en oxygène dans une cellule est abaissée, moins de HIF-1 alpha est oxydé et dégradé. Ainsi, plus de HIF-1 alpha peut se déplacer dans le noyau, où il agit comme un facteur de transcription pour le facteur de croissance endothélial vasculaire, l'endothéline-1 et d'autres facteurs.

L'accumulation anormale du Succinate dans les mitochondries résulte des mutations héréditaires ou somatiques dans des sous-unités aléatoires de la SDH, ce dernier sera transporté librement vers le cytosol via le translocateur d'acide dicarboxylique dans la membrane mitochondriale interne, et selon la tension voltage-dépendante du canal anionique dans la membrane mitochondriale externe [33].

Les concentrations élevées de Succinate dans le cytosol inhibe le prolyl HIF-1 α hydroxylase (PHD) [33], qui hydroxyle les résidus prolyl hautement conservés sur HIF-1 α . Etant hydroxylé le Von Hippel-Lindau (pVHL), L'ubiquitine ligase E3 reconnaît le domaine HIF-1 α incitant ensuite à la dégradation des protéasomes (appelée aussi ubiquitination) [55].

Ce soi-disant catabolisme des HIF-1 α peut être inhibé lors de l'inactivation du PHD en raison de la présence de Succinate dans le cytosol et l'inactivation du PHD aboutit enfin à l'activation et à la stabilisation de HIF-1 α . HIF-1 α peut ensuite se lier aux éléments de réponse HIF dans les gènes cibles, entraînant une régulation positive de nombreux enzymes glycolytiques qui régulent le métabolisme énergétique, améliorant ainsi la réponse vasomotrice, favorisant la prolifération de la cellule et l'amélioration de l'angiogenèse qui sont indispensables dans la maturation et l'invasion tumorales [56].

2.3.3. Production des espèces réactives de l'oxygène (ROS) :

Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) sont un certain nombre d'Oxy-radicaux dérivés des mitochondries et impliqués dans le métabolisme de l'oxygène. Un exemple de ROS est l'anion super oxyde (O₂⁻), qui est de plus en plus associée à des dommages oxydatifs liés à de nombreuses pathologies et processus physiologiques, y compris la transduction du signal [57], apoptose cellulaire et mutagenèse génétique [58, 59].

Des études ultérieures ont montré que tout défaut dans les sous-unités B, C ou D de la Succinate déshydrogénase perturbera l'activité enzymatique du complexe II dans les mitochondries. Le Dysfonctionnement des mitochondries issues de l'inactivation des enzymes du cycle TCA, entraîne directement et indirectement une surproduction de ROS.

Une fois élevé dans le cytosol, le ROS peut oxyder les résidus d'acides aminés dans les acides gras et les protéines, et peut causer des dommages irréversibles à l'ADN et une instabilité génomique, conduisant à la cancérogenèse et à la tumorigenèse [60, 61]. En plus de la voie du stress oxydatif, la production de ROS résultant des défauts de la SDH peut également agir comme messenger de transduction du signal pour stabiliser HIF-1 α en oxydant Fe²⁺ en Fe³⁺, car Fe²⁺ est un élément critique, cofacteur de PHD [62].

Dans ces circonstances, l'activité de PHD est limitée, ce qui renforce indirectement l'activation et la stabilisation de HIF-1 α , déclenchant ainsi une surexpression des gènes cibles liés à la prolifération, la migration et l'invasion des cellules tumorales.

2.3.4. Expression de TRAP1 et inhibition de la SDH :

La TRAP1 a été identifiée pour la première fois en tant qu'interacteur, récepteur-1 du facteur 1 de nécrose tumorale [63] et plus tard comme protéine de choc thermique 75 (HSP75) [64]. C'est une molécule chaperon de la famille des protéines de choc thermique 90 (HSP90). La TRAP1, le HSP90 sont crucial pour la maturation, l'activation et la stabilisation d'un large ensemble de protéines, y compris les composants cellulaires du cycle [65,66].

L'expression de TRAP1 est plus élevée dans de nombreuses tumeurs que dans les tissus non malins environnants [67,68]. L'élévation des niveaux de protéines TRAP1 est en corrélation avec la progression maligne et les métastases dans plusieurs modèles néoplasiques, y compris le cancer de la prostate et du sein, le carcinome hépatocellulaire (CHC) et le carcinome colorectal [69,70], et avec la récurrence de la maladie dans le cancer du poumon sauf celui à des petites cellules [71].

Par conséquent, dans ces tumeurs malignes, TRAP1 est un biomarqueur pour la progression du cancer et pour le pronostic. Des études ouvrent la possibilité que l'activité de la TRAP1 pourrait en quelque sorte favoriser la croissance néoplasique, conformément aux observations selon lesquelles les niveaux de plusieurs chaperons augmentent dans un large éventail de types de cancers [72].

Comprendre si la TRAP1 a un rôle tumorigène pourrait aider à élucider comment les mitochondries peuvent contribuer au processus néoplasique et pourrait éventuellement ouvrir la voie à de nouvelles stratégies antitumorales.

La TRAP1 module l'activité enzymatique de la SDH. Celle-ci est en concurrence avec l'acide 3-nitropropionique (3-NP), un composé qui se lie au site catalytique de la sous-unité A de SDH et supprime l'oxydation du Succinate et la génération de ROS [73].

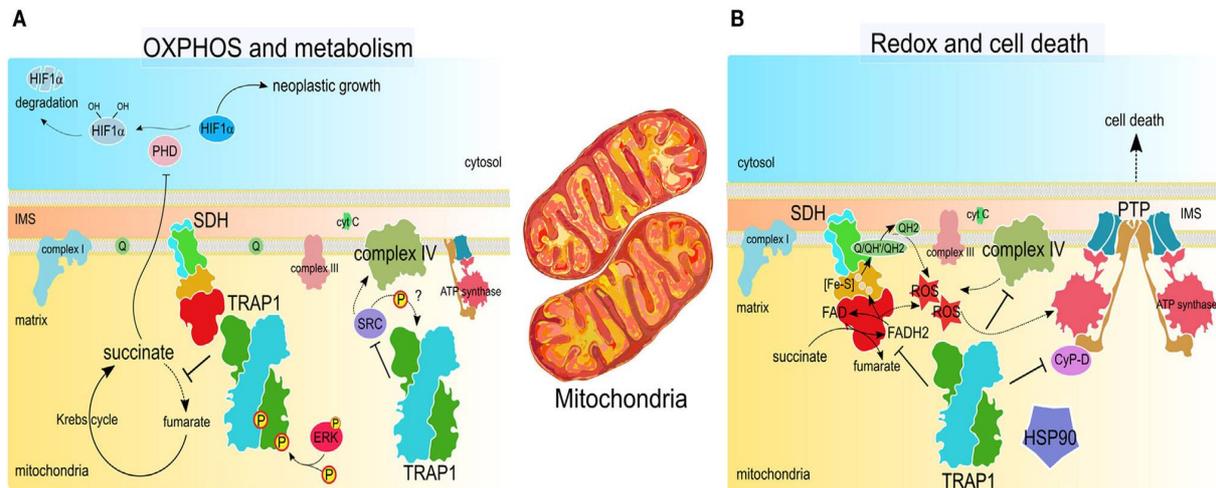


Figure 17: Activité TRAP1 dans les mitochondries des cellules tumorales [74-79].

(A) TRAP1 inhibe la phosphorylation oxydative (OXPHOS) en interagissant avec le Succinate déshydrogénase (SDH) et cytochrome oxydase, complexe II et complexe IV de la chaîne respiratoire, respectivement. L'inhibition de la SDH est renforcée par ERK1 / 2-phosphorylation dépendante de TRAP1 et conduit à une stabilisation dépendante du Succinate du facteur de transcription HIF1 α , qui maîtrise plusieurs programmes pro-néoplasiques [74,75]. La régulation négative de l'activité du cytochrome oxydase repose sur l'interaction inhibitrice entre TRAP1 et Src [76].

(B) TRAP1 inhibe la génération des ROS par SDH et cytochrome oxydase [76,77]. Ceci, ainsi que l'interaction avec d'autres chaperons, tels que la cyclophiline D (Cyp-D) et la protéine 90 (HSP90) du choc thermique, inhibe l'ouverture du pore de transition de perméabilité (PTP), ce qui nécessite des changements conformationnels de l'ATP synthase et conduit à la mort cellulaire [78,79]. Par conséquent, TRAP1 protège les cellules tumorales des stimuli de mort cellulaire.

3. Succinate déshydrogénase et méthylation d'ADN

3.1. Méthylation d'ADN :

La méthylation de l'ADN correspond à l'ajout d'un groupement méthyle en position 5 d'une cytosine la plupart du temps incluse dans un dinucléotide CpG (figure 18). De ce fait, la méthylation de l'ADN est une modification chimique de l'ADN qui ne modifie en rien la séquence d'acides nucléiques de l'ADN.

Bien que la méthylation de l'ADN chez les mammifères se produise majoritairement au niveau des dinucléotides CpG, il est à noter qu'elle peut également toucher les trinucleotides CpHpG et CpHpH (H = A, C ou T) au sein de cellules embryonnaire murines par exemple [80, 81]. Chez l'homme, les 5-méthylcytosines (5mC) représentent environ 1 % de toutes les bases composant le génome et elles occupent 70-80 % des dinucléotides CpG [82]. Cependant, certaines régions particulièrement riches en CpG, appelées îlots CpG, sont généralement dépourvues de 5mC.

La littérature décrit les îlots CpG (ou CGLs) comme étant des régions de plus de 500 Pb et dont la composition en dinucléotide CpG est supérieure à 55 % avec un ratio (CpG observé)/ (CpG attendu) supérieur à 0,65 [83,84]. De plus, les CGIs sont décrits comme étant majoritairement localisés au niveau des régions TSS (transcription start site) des gènes (50 %), mais sont aussi présents au niveau des régions intra- géniques (25 %) et inter-géniques (25 %) [85]. Même si certains CGI, comme ceux correspondant à TSS inactifs, peuvent être méthylés, les motifs 5mC se retrouvent principalement en dehors des îlots CpG [86].

La méthylation de l'ADN intervient ainsi dans les processus de régulation de l'expression des gènes, mais également dans différents processus biologiques comme la différenciation cellulaire, l'inactivation d'un des deux chromosomes X chez les femelles des mammifères, l'empreinte parentale, qui consiste en la répression d'une copie d'un gène selon qu'elle est d'origine paternelle ou maternelle ou encore dans la stabilité chromosomique [87].

Des variations dans les profils de méthylation de l'ADN sont également impliquées dans certaines pathologies parmi lesquelles certains cancers. En effet, dans les cancers, une hypométhylation globale est souvent associée, de manière contre-intuitive, à une augmentation aberrante de la méthylation dans certaines parties de l'ADN. Ainsi, on retrouve souvent une hyperméthylation des promoteurs de gènes suppresseurs de tumeurs qui va empêcher leur expression. L'un des premiers exemples d'une telle répression a été détecté dans le rétinoblastome [88]. La méthylation de l'ADN est ainsi un processus dynamique et réversible, et constitue un mécanisme épigénétique à part entière.

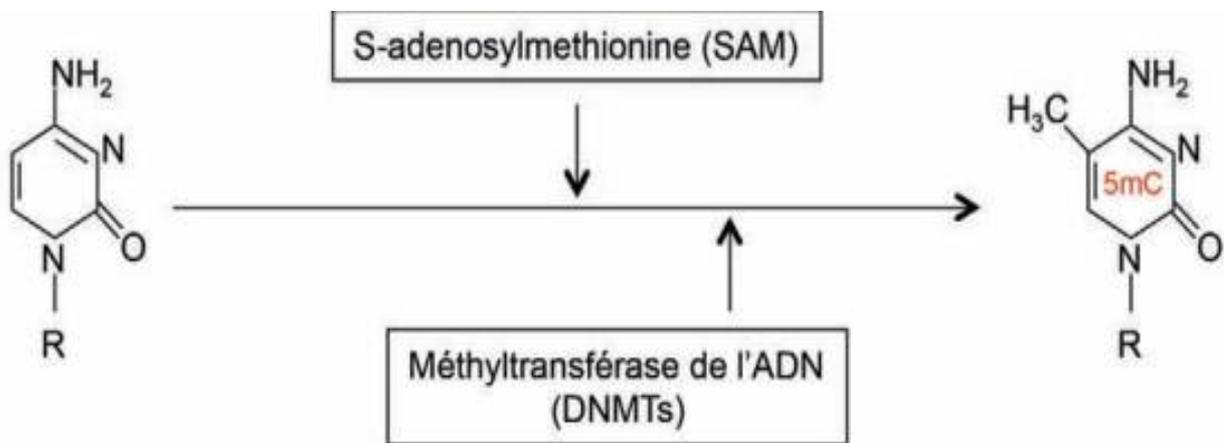


Figure 18: Schéma de la modification chimique d'une base cytosine par ajout d'un groupement méthyle (CH₃) [89].

Il y a un groupement donneur de méthyle (SAM) et une enzyme qui ajoute ce groupement méthyle à la Cytosine (DNMT).

3.2. Analyse du myélome PGL/PCC :

Les paragangliomes et les pheochromocytomes sont des tumeurs rares qui se développent aux dépens des ganglions sympathiques et parasympathiques, ainsi que de la médullosurrénale.

La génétique des pheochromocytomes et des paragangliomes a fait des progrès considérable au cours des dix dernières années. Dix gènes de prédisposition (*VHL*, *RET*, *NF1*, *SDHA*, *B*, *C* et *D*, *SDHAF2*, *TMEM127* et finalement *MAX*) ont été identifiés, expliquant plus d'un tiers des cas (avec une histoire familiale, mais aussi de présentation apparemment sporadique).

Les études transcriptomiques ont par ailleurs conduit à l'identification de mutations somatiques des gènes *RET* et *VHL* dans les tumeurs d'environ 15 % des patients atteints d'une forme sporadique de la maladie, apportant ainsi une explication moléculaire dans près de la moitié des cas.

Ces découvertes ont conduit à une meilleure compréhension des mécanismes moléculaires de tumorigenèse des pheochromocytomes et des paragangliomes [90].

Dans une étude [91], les chercheurs ont analysés la méthylation de l'ADN à l'échelle du génome entier (le méthylome) de 145 PGL/PCC du réseau COMETE, grâce à la technique des puces à ADN. Ils ont ainsi identifié trois groupes de tumeurs aux profils de méthylation similaires, fortement associés aux gènes de prédispositions connus. Notamment, les tumeurs associées aux mutations des gènes *SDHx*, et en particulier du gène *SDHB*, présentent un phénotype hyperméthylateur, c'est-à-dire une méthylation anormalement élevée d'un grand nombre de gènes.

Ces altérations du méthylome ont des conséquences importantes sur l'activité transcriptionnelle des cellules. Ainsi, le niveau d'expression d'environ 200 gènes hyperméthylés est fortement diminué. Parmi ces gènes, il a été identifié des gènes suppresseurs de tumeurs connus, des gènes impliqués dans la synthèse des

catécholamines (qui est la fonction principale des cellules chromaffines différenciées), ou encore des gènes associés à la transition épithelio-mésenchymateuse, processus qui permet aux cellules de quitter leur tissu d'origine pour migrer vers d'autres organes.

L'extinction de ces gènes, consécutive à l'hyperméthylation de leurs régions promotrices, permet d'expliquer la dédifférenciation des cellules chromaffines au sein des PGL/PCC [92] et le caractère invasif des tumeurs associées à une mutation du gène *SDHB* [93].

3.3. Mutation de la Succinate déshydrogénase et PGL/PCC :

La Succinate déshydrogénase (SDH) - ou complexe II mitochondrial est composée de deux sous-unités catalytiques, SDHA et SDHB et de deux sous-unités d'ancrage, SDHD et SDHC. Son rôle dans le PGL/PCC héréditaire a été découvert il y a plus de dix ans, lors de l'identification des premières mutations de *SDHD* par des analyses de liaison génétique menées dans des familles dont certains membres étaient atteints de paragangliomes héréditaires.

Les mutations de *SDHC* et *SDHB* ont ensuite été découvertes par des approches classiques de gène candidat. Le génotypage des trois gènes *SDHx* a été réalisé à partir de différentes cohortes de patients, et les mutations identifiées à ce jour ont été collectées dans la TCA (*Tricarboxylic acid or Krebs cycle*).

Les PGL/PCC associés à des mutations de *SDHD* sont généralement multiples, souvent localisés dans la tête et le cou, et rarement malins. Par ailleurs, le gène *SDHD* étant soumis à une empreinte maternelle, une histoire familiale de PGL/PCC dans la branche paternelle devrait orienter le diagnostic génétique vers la recherche d'une mutation dans ce gène. La pathologie associée à des mutations de *SDHB* se présente, quant à elle, le plus souvent sous la forme d'une tumeur unique. Il a été établi que l'identification d'une mutation *SDHB* est un facteur de risque de malignité et de mauvais pronostic.

Les PGL/PCC dépendants de *SDHC* sont, pour des raisons inconnues, plus rarement décrits. Mais la pénétrance de la maladie est importante chez les porteurs d'une mutation *SDHC*, qui développent une maladie similaire à celle des sujets *SDHD*.

Le diagnostic génétique des gènes *SDHx* peut être guidé par l'immunohistochimie de la protéine SDHB dans le tissu tumoral après son exérèse chirurgicale.

Ainsi, il a été démontré qu'un immuno-marquage négatif pour la protéine SDHB est associé à la présence d'une mutation dans l'un des gènes *SDHx* [94]. Le cluster 1 (figure 19), qui englobe les tumeurs impliquant le gène *SDH*, mais aussi *VHL*, est caractérisé par une activation anormale de la voie de la réponse à l'hypoxie (processus dit de Pseudohypoxie).

Pour les tumeurs SDH, il a été démontré que l'inactivation de la Succinate déshydrogénase conduit à l'accumulation de Succinate qui agit comme un inhibiteur compétitif des prolyl hydroxylases, enzymes dont l'activité conduit à la dégradation des *hypoxia-inductible factors* (HIF) en conditions normoxiques [95].

Ainsi, même en présence d'oxygène, les protéines HIF non hydroxylées ne peuvent être reconnues par la protéine pVHL qui induit normalement leur ubiquitinylation et leur dégradation subséquente dans le protéasomes (figure 20). Elles sont alors stabilisées et activées et induisent notamment l'angiogenèse [96]. Cette caractéristique justifie l'utilisation possible des thérapies antiangiogéniques dans la prise en charge des PGL/PCC malins, qui sont souvent liés à une mutation *SDHB* [97].

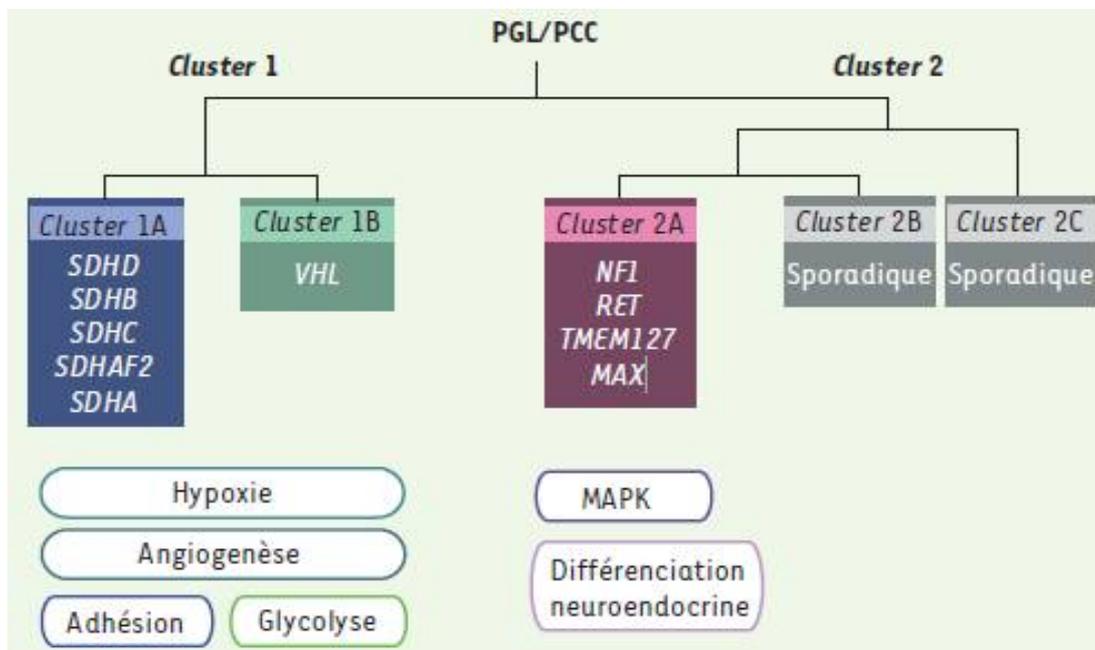


Figure 19: Représentation schématique de la classification non supervisée des PGL/PCC basée sur le transcriptome [98].

Le *cluster 1* contient toutes les tumeurs porteuses d'une mutation d'un gène *SDHx* d'une part (1A) et *VHL* d'autre part (1B). Ces tumeurs présentent une signature transcriptomique commune d'activation de la réponse hypoxique et de l'angiogenèse, mais aussi des particularités comme un profil d'adhésion pour les tumeurs ayant des mutations de *SDHx* et une augmentation de la glycolyse pour celles porteuses de mutations *VHL*. Les tumeurs porteuses de mutations *NF1*, *RET*, *TMEM127* et *MAX* forment dans le *cluster 2*, avec la majorité des tumeurs sporadiques, et sont notamment associées à l'activation de la voie des MAPkinases et à un profil de différenciation neuroendocrine [98].

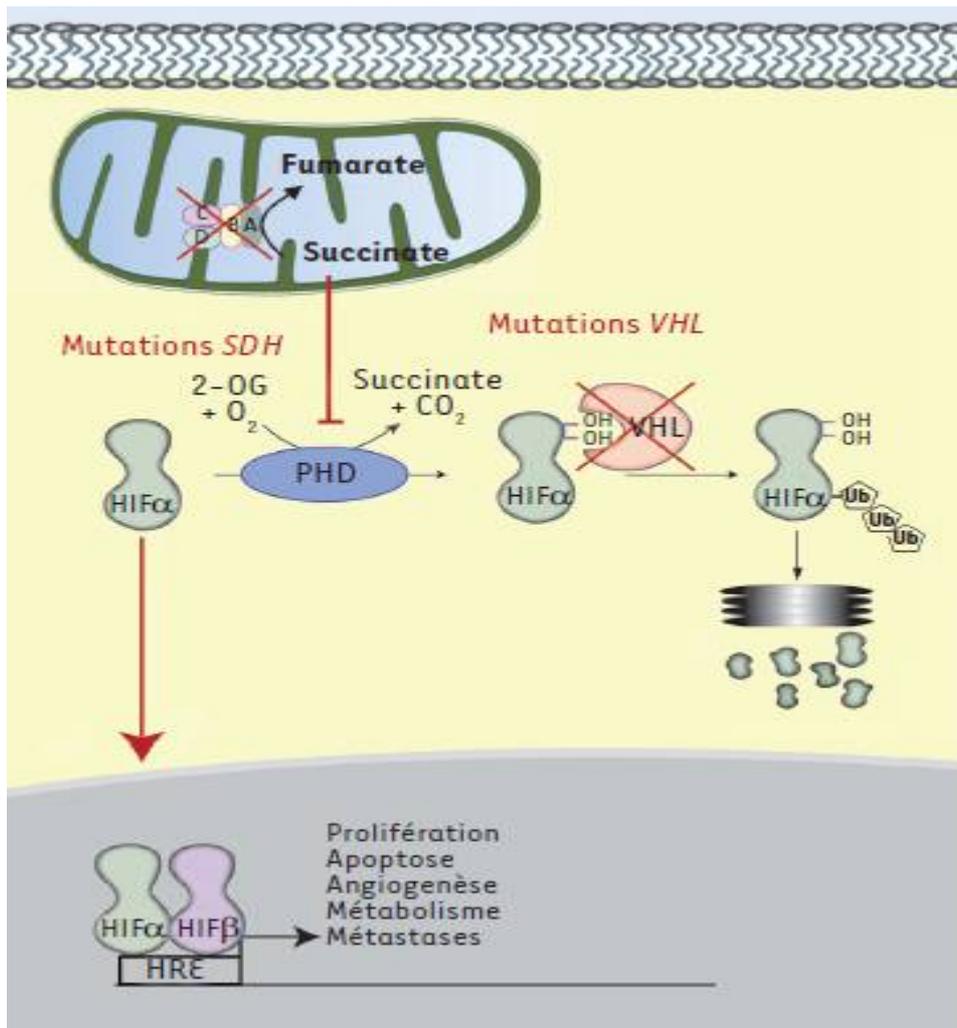


Figure 20: Mécanismes moléculaires de tumorigenèse dans les phéochromocytomes du cluster 1 [351].

Dans les tumeurs du cluster 1 (A) : l'accumulation de Succinate ou l'inactivation de VHL conduit à la stabilisation et à l'activation des HIF, même en présence d'oxygène.

Ub : ubiquitine ; AC : adénylate cyclase ; AMPc : AMP cyclique ; SHC : *Src homology 2 domain containing protein* ; GRB2 : *growth factor receptor bound protein 2* ; SOS : *son of sevenless protein* ; PTEN : *phosphatase and tensin homolog protein* ; CREB : *cAMP response element-binding* ; 2-OG : 2-oxoglutarate ; PHD : *prolyl hydroxylase* ; TOR : *target of rapamycin*.

3.4. Un lien inattendu entre le cycle de Krebs et la régulation épigénétique :

Pour comprendre le lien entre l'inactivation de la Succinate déshydrogénase et la méthylation de l'ADN, des chercheurs ont inactivé le gène *SdhB* dans des cellules chromaffines de souris.

Comme les cellules tumorales humaines, ces cellules développent un phénotype hyperméthylateur et acquièrent des capacités migratoires accrues. L'inactivation de l'enzyme SDH conduit à l'accumulation du Succinate, son substrat dans le cycle de Krebs.

Ce métabolite a une structure très proche de celle d'un autre intermédiaire du cycle de Krebs, l'alpha-cétoglutarate, qui est nécessaire à l'activité de plusieurs enzymes cellulaires. Parmi celles-ci, les enzymes TET, récemment identifiées, assurent la déméthylation active de l'ADN pour maintenir l'activité des gènes nécessaires au fonctionnement de la cellule [99].

Grace à ce modèle murin, ils ont montré que le Succinate agit comme un inhibiteur compétitif des déméthylases de la famille TET, conduisant à une accumulation progressive de méthylation (*figure 21*).

Ces résultats font écho à l'identification récente d'un phénotype hyperméthylateur dans les gliomes porteurs d'une mutation des gènes *IDH1* et *IDH2* [100], qui codent pour l'isocitrate déshydrogénase (IDH), une autre enzyme du cycle de Krebs.

Ces tumeurs accumulent du 2-hydroxyglutarate (2-HG) qui, comme le Succinate, agit comme un inhibiteur compétitif des enzymes TET [101].

Enfin, une tumeur de cette série, porteuse de mutations du gène codant pour la fumarate hydratase (FH), présente une accumulation de fumarate, qui conduit à une hyperméthylation par le même mécanisme [102].

Ces résultats montrent qu'une accumulation anormale de certains métabolites du cycle de Krebs (on parle d'oncométabolite) conduit à la dérégulation de processus cellulaires importants pouvant conduire au développement d'un cancer [103].

Ce lien inattendu entre métabolisme cellulaire et régulation épigénétique ouvre la voie à de nouvelles options thérapeutiques.

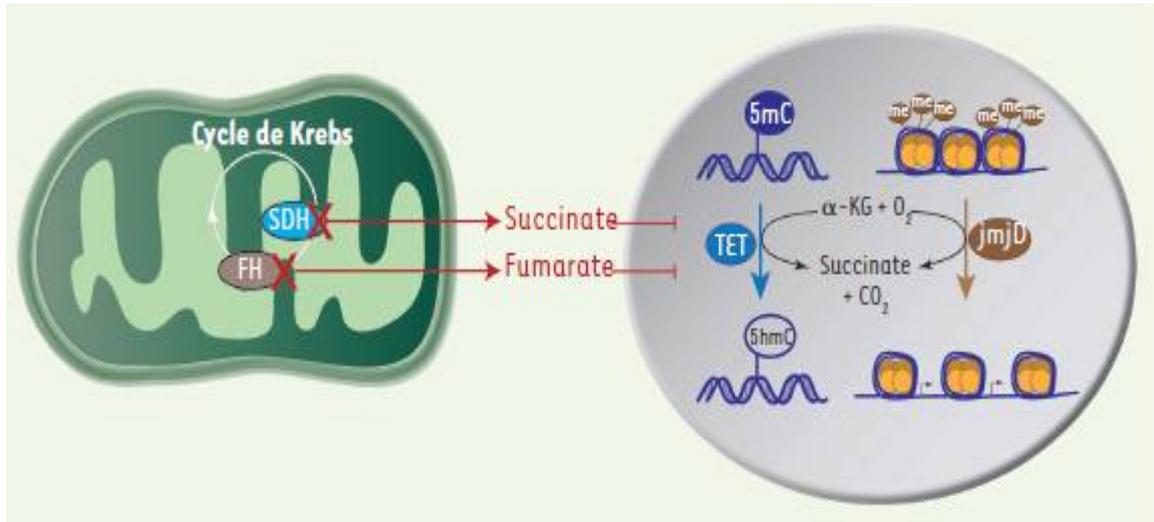


Figure 21: Mécanisme reliant les mutations des gènes SDHx et FH à l'hyperméthylation de l'ADN et des histones [352].

Le Succinate et le fumarate qui s'accumulent dans les tumeurs porteuses de mutations des gènes *SDHx* et *FH* inhibent les dioxygénases dépendantes de l' α -cétoglutarate (alpha-KG) telles que les enzymes TET et les histones déméthylases (JmJd).

Me: methyl; 5mC: 5 methylcytosine; 5hmC: 5 hydroxymethylcytosine.

3.5. Vers des traitements déméthylants pour les cancers liés aux dysfonctionnements du cycle de Krebs :

Les PGL/PCC malins sont des tumeurs pour lesquelles il n'existe à l'heure actuelle aucune chimiothérapie dont l'efficacité ait été démontrée. Le traitement de référence demeure la chirurgie, qui est souvent complexe du fait des importantes connexions vasculo-nerveuse, voire impossible dans certaines formes métastatiques, notamment les formes osseuses.

Les chercheurs ont émis l'hypothèse que l'utilisation d'agents déméthylants tels que la 5-azacytidine et la 5-aza-2'deoxyctidine (Decitabine), déjà utilisés dans le traitement de syndromes myélodysplasiques ou de leucémies aiguës myéloïdes, pourraient corriger certaines caractéristiques des tumeurs invasives porteuses de mutations *SDHB*.

Leurs résultats préliminaires ont montré que les capacités migratoires des cellules *SdhB* étaient inhibées par un traitement à la Decitabine et ce, même à très faible dose.

L'une des restrictions majeures à l'utilisation de ces traitements étant l'importante toxicité à forte dose, ces observations ouvrent donc la voie vers la mise en place de stratégies thérapeutiques alternatives qui pourraient utiliser de telles approches dans les paragangliomes (PGL), les phéochromocytomes (PCC) ou les tumeurs stromales gastro-intestinales (GIST) causés par les mutations *SDHx*, mais aussi dans d'autres tumeurs hyperméthylées telles que les glioblastomes porteurs de mutations des gènes *IDH1/2*.

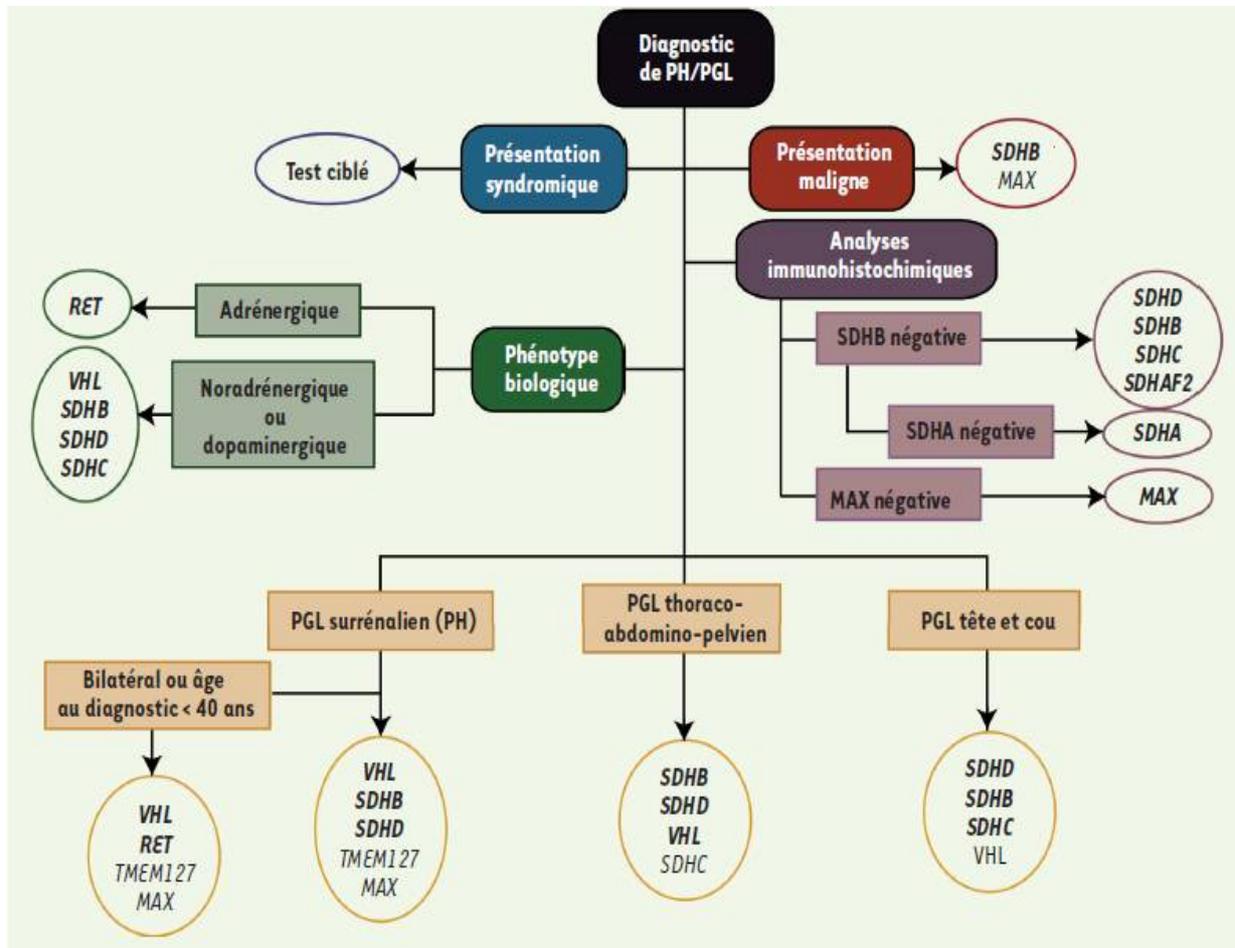


Figure 22: Arbre décisionnel pour le conseil génétique du PGL/PCC [351].

La présentation clinique, le phénotype biologique et les analyses immuno- histochimiques permettent de cibler le test génétique vers les gènes de prédisposition à analyser en première intention (adapte d'après les recommandations du réseau INCa des laboratoires d'oncogénétiques des tumeurs endocrines, GTE-RENATEN, novembre/décembre 2011). Les gènes à tester en priorité sont indiqués en gras et ordonnés selon une priorité descendante (de haut en bas).



*Le complexe
alpha-cétoglutarate
déshydrogénase dans
la plasticité métabolique
du cancer*



IV. Le complexe alpha-cétoglutarate déshydrogénase dans la plasticité métabolique du cancer

1. Généralités :

1.1. Définition :

Le complexe α -cétoglutarate-déshydrogénase (**α KGDC**) est un complexe comprenant plusieurs copies de trois protéines:

E1 (α -cétoglutarate déshydrogénase) c'est une décarboxylase.

E2 (dihydrolipoyl succinyltransférase) c'est une acétyltransférase.

E3 (dihydrolipoamide déshydrogénase) c'est une oxydoréductase.

E1 et E2 sont spécifiques au complexe α -cétoglutarate déshydrogénase, alors qu'E3 est commun à tous les complexes α -céto-acide-déshydrogénase.

Le complexe α -cétoglutarate-déshydrogénase est un complexe enzymatique mitochondrial clé.

D'une part, l' α -cétoglutarate est un métabolite de point de ramification, qui est généré dans le cycle de Krebs pendant l'oxydation d'acides gras par la glutamate déshydrogénase lors de la désamination oxydative du glutamate.

D'autre part, l' α -cétoglutarate est produit par transamination de glutamate dans le cadre de la navette malate-aspartate qui transfère les équivalents réducteurs du cytoplasme aux mitochondries [104].

1.2. Mécaisme réactionnel:

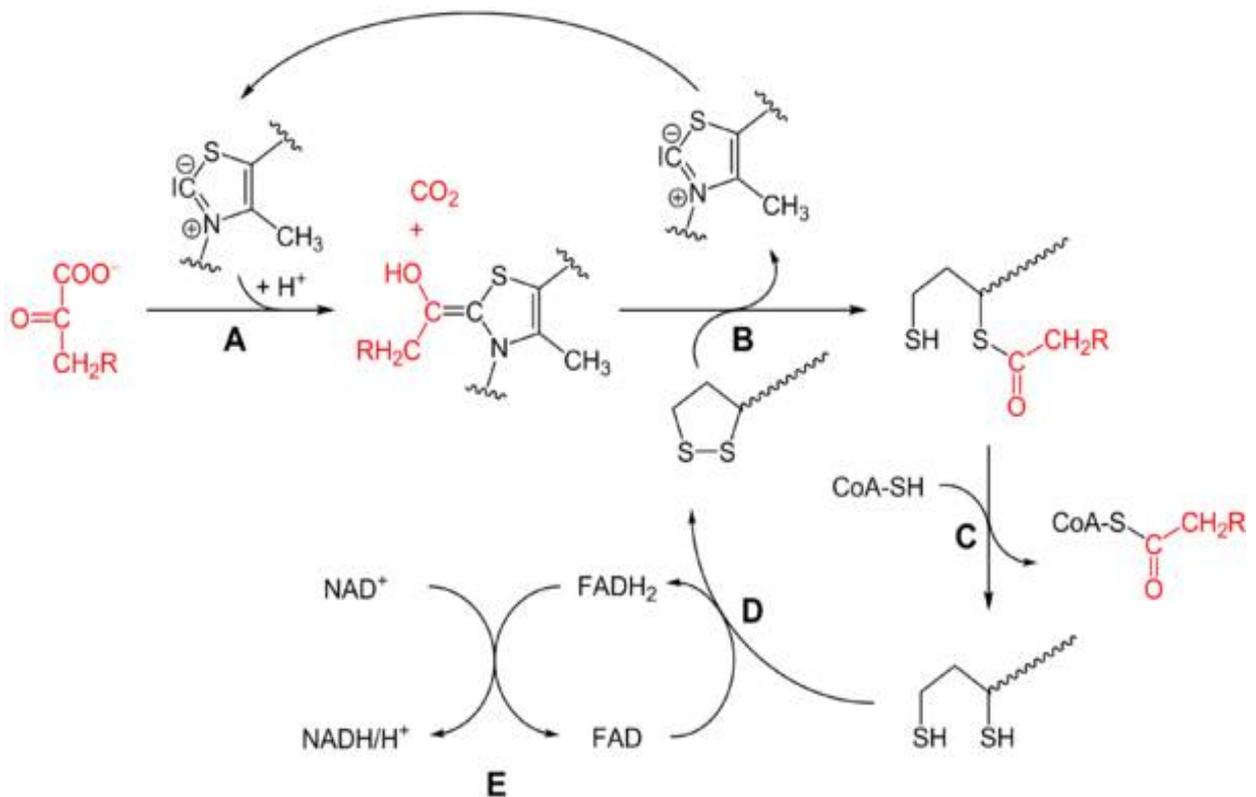


Figure 23: Mécanisme réactionnel du *complexe α -cétoglutarate déshydrogénase* ($\text{R} = \text{CH}_2\text{-COO}^-$) [105] :

- l' α -cétoglutarate déshydrogénase (E1) catalyse les étapes A et B avec la thiamine pyrophosphate (TPP).
- la dihydrolipoamide S-succinyltransférase (E2) catalyse l'étape C avec le lipoamide et la coenzyme A (CoA-SH).
- la dihydrolipoyl déshydrogénase (E3) catalyse les étapes D et E avec la FAD et la NAD^+ .

2. L'alpha-cétoglutarate et le métabolisme cellulaire :

Le cycle TCA est alimenté par des substrats entrant à différentes passerelles pour transporter la source de carbone à la fois pour la production d'énergie et la biosynthèse. Du point de vue canonique, l'acétyl CoA est fourni par l'oxydation des glucides, principalement du glucose et des acides gras, puis il est condensé avec de l'oxaloacétate pour former du citrate.

La série subséquente de réactions oxydatives conduit à la production des équivalents réducteurs NADH et FADH₂ qui alimentent respectivement le complexe respiratoire I (CI) et le complexe respiratoire II (CII), pour générer le potentiel membranaire mitochondrial requis pour la production d'ATP.

La glutamine, l'acide aminé le plus abondant dans le plasma, a été largement décrite comme une source clé supplémentaire de carbone et d'azote, en particulier pour les cellules à prolifération rapide [106].

La glutaminolyse entraîne la production d' α -KG, soit après la déshydrogénation du glutamate, soit par une réaction de transamination. A son tour, l' α -KG peut alimenter à la fois les voies énergétiques et anabolisantes: il peut être oxydé par l' α -KGDC à l'intérieur des mitochondries où il peut être réduit, poussant ainsi le cycle TCA vers le citrate[107-109]. Ce dernier peut être extrudé vers le cytosol, où il peut être reconverti en acétyl CoA, et ainsi utilisé pour la biosynthèse des lipides. Par conséquent, les multiples fonctions mitochondriales permettent aux cellules de s'appuyer sur différentes sources de nutriments à des fins énergétiques et anaboliques.

La façon dont les cellules équilibrent l'utilisation de ces nutriments dépend des enzymes métaboliques clés, dont les activités sont modulées en réponse à la génétique et aux pressions environnementales.

Dans cette optique, l' α -KGDC se situe au cœur même des voies métaboliques et son activité est finement régulée par les niveaux d'ATP, d'ADP, de phosphate inorganique (Pi) et par le rapport NADH / NAD⁺, qui dépendent étroitement de l'activité de la chaîne respiratoire et la vitesse du flux glycolytique.

Il a été démontré que le produit de la réaction α -KGDC, le Succinyl CoA (Succ-CoA) exerce un contrôle direct sur l'activité enzymatique avec le calcium (Ca²⁺) et les espèces réactives de l'oxygène (ROS) (Figure 24). De plus, des variations du pH mitochondrial et des niveaux d'oxygène semblent également être impliquées dans la régulation de l'enzyme. Par conséquent, la modulation multifactorielle de la fonction α -KGDC peut refléter son rôle clé dans l'orchestration des réponses aux besoins métaboliques en constante évolution d'une cellule cancéreuse.

3. Comment le complexe alpha-cétoglutarate déshydrogénase contribue à adapter le métabolisme mitochondrial à la structure des besoins bioénergétiques :

Dans le cycle TCA, l' α -KGDC catalyse la réaction entre l' α -KG et le CoA, en utilisant la thiamine pyrophosphate (TPP) comme cofacteur et en réduisant le nucléotide pyridine NAD⁺ en NADH, générant finalement du Succ-CoA et du CO₂.

L' α -KGDC est un complexe multienzymatique composé de trois sous-unités (Figure 24). La sous-unité E1, codée par le gène OGDH humain, est une déshydrogénase qui catalyse la décarboxylation de α -KG, la première étape requise pour produire Succ-CoA. La deuxième étape est la succinylation réductrice des groupes dihydrolipoyle, une réaction effectuée par la sous-unité E2, c'est-à-dire la dihydrolipoamide succinyltransférase, codée par le gène DLST humain.

La sous-unité E3, codée par le gène DLD humain, est la dihydrolipoamide déshydrogénase, qui catalyse la réoxydation des groupes dihydrolipoyle E2, réduisant éventuellement l'accepteur final NAD⁺ en NADH [110].

La régulation de l' α -KGDC met en évidence une interaction dynamique entre l'enzyme et la phosphorylation oxydative (OXPHOS) pour ajuster le métabolisme mitochondrial grâce à la détection de l'état énergétique des cellules. Les sous-unités E1 et E3 sont inhibées par le NADH [111], qui s'accumule suite à une diminution de la fonction CI [112]. En effet, ce dernier complexe est le premier et le plus important de la chaîne respiratoire et catalyse l'oxydation du NADH pour transférer des électrons en mononucléotide de flavine, qui sont utilisés pour réduire la coenzyme Q en ubiquinol (QH₂).

Ce dernier est ensuite utilisé par le complexe III pour réduire le cytochrome c dans l'espace intermembranaire mitochondrial (IMS), et le complexe IV utilise le cytochrome c pour réduire l'oxygène moléculaire, qui est le dernier accepteur d'électrons [113].

Par conséquent, CI participe activement à la génération du gradient électrochimique en alimentant l'ETC pour générer de l'ATP, ce qui fait du NADH un substrat essentiel pour le métabolisme oxydatif.

Fait intéressant, des preuves sont fournies pour l'existence d'une interaction directe entre CI et α -KGDC, qui non seulement fournirait un mécanisme d'oxydation NADH efficace via la canalisation du substrat par rapport à la diffusion libre [114, 115], mais implique également une sensibilité plus élevée de α -KGDC à NADH, plaçant l'enzyme en première ligne pour s'adapter aux variations d'efficacité de l'ETC.

De plus, un rapport ADP / ATP élevé et une concentration élevée de Pi augmentent indépendamment l'activité de l' α -KGDC, avec un rapport ADP / ATP faible ayant des effets opposés [116, 117]. Les niveaux de Pi et d'ADP sont des indicateurs d'une faible condition énergétique, et les deux molécules agissent comme des effecteurs positifs en augmentant l'affinité de l'enzyme pour son substrat.

A l'inverse, des niveaux d'ATP plus élevés augmentent la quantité de substrat nécessaire pour atteindre le taux semi-maximal de l'enzyme, réduisant ainsi son activité [116, 118].

La régulation de α -KGDC à la fois par l'état de phosphorylation des nucléotides d'adénine et le rapport NADH / NAD⁺ dépend étroitement du potentiel membranaire ($\Delta\psi_m$): d'un côté, le passage d'ATP des mitochondries vers le cytosol est contrôlée par le transporteur ADP / ATP qui est régulé par $\Delta\psi_m$ élevé et échange l'ATP avec l'ADP dans un rapport de 1: 1 [119]. D'un autre côté, dans les cas où l'ETC est endommagé, la production de NADH mitochondrial, entraînée par le pouvoir réducteur cytosolique, est diminuée [120].

Cela implique que le contrôle énergétique sur l' α -KGDC pourrait être exclusivement mitochondrial, et qu'une boucle de rétroaction reposant à la fois sur le substrat et la disponibilité d'énergie est déclenchée entre l'OXPPOS et l'enzyme, assurant ainsi une coopération optimale. Dans cette optique, il peut être envisagé qu'une diminution de la respiration mitochondriale, ou une accumulation significative d'ATP, puisse être associée à une diminution de l'activité α -KGDC.

Cependant, l'existence d'un seuil de capacité α -KGDC a été démontrée, qu'il peut être fortement inhibé avant d'affecter le taux de consommation mitochondriale maximale d'oxygène [121, 122]. Les niveaux de NADH peuvent donc varier largement avant de devenir un facteur limitant pour la respiration cellulaire, suggérant que toute réduction de l'activité α -KGDC pourrait représenter une première tentative d'adapter le métabolisme en modulant le flux de TCA, avant de nuire à la fonction ETC.

4. Médiateurs de régulation de l'alpha-cétoglutarate déshydrogénase :

4.1. Le calcium :

La relation entre α -KGDC et Ca^{2+} c'est qu'il accentue davantage le rôle pivot de l'enzyme dans la régulation des cellules dans le métabolisme. Les mitochondries ont longtemps été considérées comme un puits de Ca^{2+} , avec pour principal objectif de réguler cette homéostasie cationique dans les cellules.

Il a été démontré que le Ca^{2+} cytosolique favorise l'oxydation du NADH par la glycérol déshydrogénase pour finalement produire et importer du FADH₂ dans les mitochondries comme substrat pour le CII [123]. De plus, le Ca^{2+} stimule la production de NADH par les réactions des enzymes TCA pyruvate déshydrogénase (PDH), isocitrate déshydrogénase (IDH) et α -KGDC [111, 124] Parmi ces trois enzymes, α -KGDC s'est avéré être le plus sensible au Ca^{2+} [116, 119, 123, 125].

En fait, la sensibilité de α -KGDC à Ca^{2+} dépend de la concentration de NADH, et sur le rapport ATP / ADP, soulignant à nouveau un rôle régulateur de l'ETC sur l'activité enzymatique. En effet, une augmentation des deux cofacteurs abaisse la stimulation de l' α -KGDC par Ca^{2+} [118]. De plus, le calcium pénètre dans les mitochondries par un monoporteur, un processus entraîné par le potentiel négatif à travers l'IMM [126]. À cet égard, les cellules cancéreuses se sont révélées être particulièrement sensibles à un arrêt du métabolisme mitochondrial par transfert de Ca^{2+} dans les mitochondries.

Bien que les cellules normales ralentissent la prolifération lorsque l'importation de Ca^{2+} est inhibée, les cellules cancéreuses passent par la mitose et finissent par la nécrose, une voie qui peut être sauvée par une supplémentation en diméthyl- α -KG [127].

Cette découverte indique que les cellules cancéreuses devraient s'appuyer sur un cycle TCA fonctionnel pour soutenir une prolifération réussie, et que l' α -KG peut aider à surmonter la pénurie de calcium et maintenir une activité OXPHOS minimale, ou peut conduire des réponses adaptatives à une altération du métabolisme oxydatif.

4.2. Le pH :

Un lien étroit entre α -KGDC et OXPHOS est davantage illustré lorsque l'on considère le rôle du pH dans la régulation de α -KGDC. Il a été largement démontré que l'élévation du Ca^{2+} cytosolique entraîne une acidification mitochondriale rapide, stimulant le métabolisme oxydatif.

Il a été démontré qu'une gamme de pH entre 6.6 et 7.4 augmente l'activité de l' α -KGDC [116]. Néanmoins, le pH cytosolique est $\sim 7,6$ alors que dans la matrice mitochondriale il se situe entre 7,5 et 8.2 [128, 129]. L'activité α -KGDC serait ainsi pro-motivée par l'acidification de l'environnement.

En accord avec cela, la concentration en α -KG dans les reins acidotiques des rats diminue de manière significative en raison d'une augmentation de l'activité en α -KGDC [130], ce qui soulève la question de savoir si les changements de pH affectent la fonction mitochondriale dans les cancers, car ils dépendent principalement de la glycolyse aérobie et subissent une acidose importante [131]. Cependant, les cellules cancéreuses sécrètent lactate/ H^+ pour maintenir le pH intracellulaire au niveau physiologique, conduisant à l'acidification du microenvironnement extracellulaire [132].

De façon notable, le pH dans les mitochondries est intrinsèquement lié à l'activité de l'ETC qui est entraînée par la force motrice des protons et $\Delta\psi_m$ [113]. Ainsi, le pH de la matrice mitochondriale refléterait plutôt l'équilibre entre l'extrusion de protons et l'entrée dans la matrice, principalement piloté par l'activité OXPHOS [133].

On peut facilement affirmer qu'une faible activité OXPHOS est associée à une diminution du pH dans la matrice mitochondriale due à l'accumulation de protons, au moins autour de la membrane interne. A cet égard, l'induction subséquente de l'activité α -KGDC et de la génération subséquente de NADH pourrait aider à maintenir un gradient chimique approprié en favorisant le pompage de protons depuis le complexe I (CI) vers l'espace intermembranaire (IMS).

Par conséquent, à côté de l'état de phosphorylation du nucléotide d'adénine, le rapport NADH / NAD + et le niveau de calcium, l'OXPHOS pourrait exercer un contrôle supplémentaire sur l' α -KGDC par la modulation du pH dans la matrice des mitochondries.

5. Relation entre les espèces réactives de l'oxygène et l'activité de l'enzyme :

Les ROS sont des sous-produits du métabolisme oxydatif mitochondrial et leurs niveaux sont un indicateur fiable des dommages de l'ETC [134]. Il convient de noter que l' α -KGDC peut à la fois détecter et générer des ROS (Figure 24).

Une augmentation des niveaux de ROS peut diminuer ou inhiber complètement la fonction de l' α -KGDC.

Alors qu'une modification post-traductionnelle peut conduire à une inhibition partielle et réversible de l'enzyme, la génération d'un radical thiyle sur le cofacteur précède son inactivation complète [135, 136].

En revanche, en réponse à l'accumulation de NADH, stimulée par l'augmentation des niveaux d' α -KG, la sous-unité E3 peut générer du H₂O₂ [137, 138] (Figure 24) à des niveaux beaucoup plus élevés que le complexe I [139].

Bien que des quantités physiologiques de ROS soient essentielles pour la survie des cellules, leur excès favorise l'initiation et la progression du cancer par l'induction de l'instabilité génomique, les modifications de l'expression des gènes et l'activation des voies de signalisation [140, 141].

L'aconitase est l'enzyme du cycle TCA la plus sensible aux ROS [142], et son inhibition dans les cellules peut donc limiter la production de NADH en interrompant le cycle du pyruvate à l' α -KG, et donc le flux d'électrons à travers la chaîne respiratoire, réduisant finalement les ROS en une boucle négative. À l'inverse, la forte dépendance des cellules cancéreuses à l'égard du métabolisme de la glutamine peut permettre à l' α -KGDC de soutenir pleinement la respiration liée à la NADH [143], même en cas de forte réduction de l'activité de l'aconitase.

Cependant, contrairement à ce dernier, des niveaux élevés de ROS sont nécessaires pour inhiber l' α -KGDC [136]. Dans cette optique, le seuil élevé pourrait jouer un rôle prépondérant dans la progression des tumeurs présentant des défauts ETC.

De même, des perturbations métaboliques prolongées telles que l'accumulation de NADH et α -KG peuvent conduire à un stress oxydatif dépendant de α -KGDC, qui à son tour peut profondément affecter l'état d'oxydoréduction des cellules cancéreuses et le métabolisme par une auto-inactivation de l'enzyme médiée par ROS [144-146].

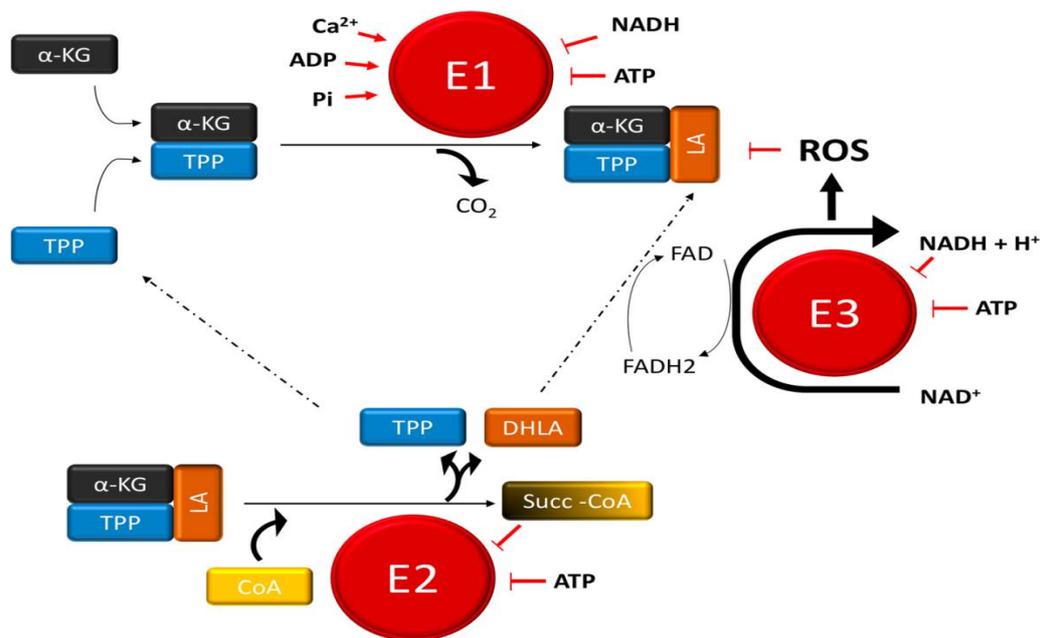


Figure 24: Mécanismes de régulation du complexe alpha-cétoglutarate déshydrogénase [353].

L' α -KGDC est un complexe composé de plusieurs copies de trois enzymes: l' α -cétoglutarate déshydrogénase (E1), la dihydrolipoamide succinyltransférase (E2) et la dihydrolipoamide déshydrogénase (E3). α -KG réagit avec le TPP qui se lie à E1, et est ainsi un composé hydroxyéthylique générateur de décarboxylation. E1 catalyse également le transfert de deux électrons et du groupe acétyle du TPP sur l'acide lipoïque (LA), qui est lié à la sous-unité E2. La réaction effectuée par E2 est une transestérification dans laquelle le groupe thiol de la coenzyme A (CoA) remplace le groupe thiol d'E2, produisant Succ-CoA et la forme réduite du groupe lipoïque, l'acide dihydrolipoïque (DHLA). La sous-unité E3 catalyse le transfert de deux atomes d'hydrogène du DHLA vers son groupe prothétique FAD, restaurant LA oxydée. Le FADH₂ réduit du transfert de l'enzyme E3 H⁺ vers NAD⁺ pour former NADH.

6. Le complexe alpha-cétoglutarate déshydrogénase et la reprogrammation métabolique du cancer :

Dans les cellules néoplasiques sous hypoxie ou en présence de défauts d'ETC, le citrate est généré à partir de la carboxylation réductrice de l' α -KG dérivée de la glutamine, par les IDH1 et 2 dépendantes du NADPH cytosolique et mitochondrial [108, 147]. La conversion de l' α -KG en isocitrate implique une activité α -KGDC plus faible et le déséquilibre du rapport α -KG / citrate, conduisant à un cycle TCA fonctionnant en mode inverse, soutenant finalement la synthèse de novo des acides gras et favorisant la croissance tumorale [147- 149] (Figure 25).

HIF1, le maître régulateur de la réponse hypoxique dans les cellules cancéreuses malignes [150], pourrait également contribuer à augmenter le rapport α -KG / citrate en inhibant l'activité de la PDH et donc la génération de citrate [151, 152] (Figure 25). Ces résultats mettent en évidence un rôle important pour HIF1 dans la modulation des niveaux de métabolites de TCA et dans le recâblage du devenir de l' α -KG du métabolisme oxydatif au métabolisme réducteur. Dans cette optique, il a été démontré qu'en normoxie, l'activation constitutive de HIF1 seule est capable de favoriser la carboxylation réductrice de l' α -KG [108, 149].

Néanmoins, HIF1 n'est pas essentiel dans la réduction de l' α -KG, car toute condition conduisant à un rapport élevé α -KG sur citrate pourrait le favoriser, par une action de masse sur le flux du cycle TCA [109]. Par exemple, dans l'hypoxie et dans les cellules cancéreuses présentant des défauts d'ETC, la diminution de l'oxydation de l' α -KG peut être provoquée par des changements dans les niveaux de réduction des équivalents.

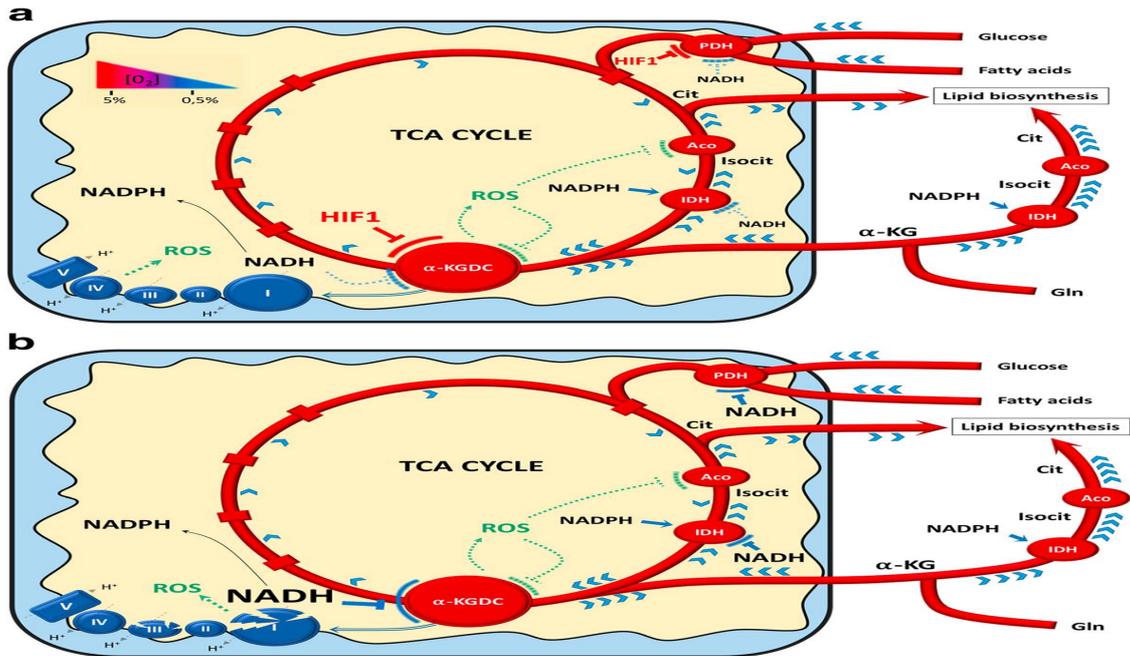


Figure 25: Schéma des acteurs moléculaires entraînant la carboxylation réductrice de l'alpha cétooglutarate dans les mitochondries lors de l'hypoxie (a) et dans les cellules cancéreuses présentant des défauts d'ETC (b) [353].

Le flux métabolique du TCA est représenté par des flèches bleues (➤), et (■) indiquent l'enzyme spécifique pour chaque étape du cycle du TCA.

Ac-CoA (acétyl-coenzyme A; Aco (aconitase); Cit (citrate); Isocit (Isocitrate); Gln (Glutamine); α-KG (α-cétooglutarate).

La carboxylation réductrice nécessite l'élévation du rapport α-KG / citrate et réduit l'α-KG en isocitrate qui est ensuite converti en citrate. Ce dernier est transféré au cytosol où il est utilisé pour la biosynthèse des lipides.

Il convient de noter que dans les deux cas (a-b), la production de ROS par l'ETC et l'α-KGDC peut induire l'inhibition de l'aconitase et de l'α-KGDC, empêchant ainsi l'oxydation du citrate et de l'α-KG, respectivement.

(a) Sur hypoxie (Tension de 5 à 0,5% O₂), HIF1 peut participer à l'augmentation du rapport α-KG / citrate, en empêchant à la fois l'activité PDH et α-KGDC, à son tour limitant respectivement la production de citrate et l'oxydation α-KG.

(b) Dans les cellules cancéreuses présentant des défauts ETC, l'accumulation de NADH peut conduire à une inhibition des NADH-déshydrogénases mitochondriales (PDH, IDH et α-KGDC), diminuant ainsi la production / oxydation de citrate et l'oxydation α-KG.

De plus, l'augmentation du NADH peut également favoriser l'activité IDH1 / 2 dépendante du NADPH. Enfin, il est important de noter que l'accumulation de NADH pourrait également favoriser la carboxylation réductrice sous faible tension d'oxygène.

De plus, l'accumulation de α -KG réprime la stabilisation de HIF1 α et sa voie en aval en favorisant l'activité des prolyl hydroxylases (PHD) du capteur métabolique. Cela peut représenter un contrôle de rétroaction pour maintenir l'enzyme sous la réglementation stricte requise pour l'adaptation métabolique à l'hypoxie.

Dans la même mesure, la régulation médiée par NADH et ROS de l'activité α -KGDC représente des mécanismes de rétroaction supplémentaires qui empêchent l'inactivation complète des enzymes. Etant donné que les modes avant et arrière du cycle TCA ne sont pas exclusifs, un réglage fin de l'activité α -KGDC est nécessaire pour équilibrer le destin de l' α -KG dans les voies énergétiques et anaboliques, en fonction des niveaux d'oxygène et du statut ETC [153-156].

Ainsi, la pertinence de ce mécanisme n'a pas encore été prouvée dans les cellules cancéreuses, où les besoins en nutriments et les réseaux métaboliques sont connus pour être radicalement différents des cellules non malignes.

Dans les cellules cancéreuses, la glutaminolyse dépasse les besoins cellulaires en glutamine dans la production d'acides aminés, de nucléotides et d'énergie [157]. Duràn et ses collègues ont montré que les niveaux d' α -KG sont un signe crucial du statut de disponibilité des acides aminés. Dans ce scénario, des niveaux cytosoliques élevés d' α -KG peuvent favoriser la cible mammifère de la signalisation de la rapamycine 1 (mTORC1), qui à son tour bloque l'autophagie, le mécanisme d'entretien pour survivre au stress de la privation de nutriments, et augmente l'anabolisme dans les cellules néoplasiques.

D'un autre côté, de faibles niveaux d' α -KG ont des effets opposés et sont en corrélation avec une diminution de la respiration mitochondriale et des niveaux d'ATP [158, 159]. Dans cette optique, on pourrait émettre l'hypothèse que la production élevée d' α -KG due au métabolisme accru de la glutamine pourrait être bénéfique pour les cellules cancéreuses en favorisant la prolifération tout en inhibant l'autophagie [160].

Cependant, l'interaction complexe entre le métabolisme de la glutamine et la régulation des processus mTOR et autophagiques dans les cellules cancéreuses rend incertain si l' α -KG joue un rôle pivot à cet égard [161]. De plus, en cas de privation de glucose, un traitement avec des dérivés α -KG et sa forme réduite 2-hydroxyglutarate (2- HG) a révélé la capacité d'inhiber l'ATP synthase, entraînant une réduction de la signalisation de mTOR et un blocage autophagie dans les cellules cancéreuses [162].

Dans l'ensemble, ces résultats suggèrent que la variation des niveaux d' α -KG peut affecter différemment la régulation de l'autophagie en fonction de la disponibilité des nutriments et de la compartimentation du métabolite (cytosolique et mitochondrial), dont la régulation mérite toujours d'être étudiée.

7. Comprendre la dynamique de l'alpha-cétoglutarate et ses effets sur ses cibles :

L'accumulation de α -KG peut avoir un effet opposé et conduire plutôt à une déstabilisation constante de HIF1 α . En conséquence, Gottlieb et son groupe ont montré que l'augmentation de l' α -KG seule est suffisante pour s'opposer à l'accumulation du Succinate, du fumarate et de l'hypoxie de HIF1 α . Cela a entraîné une inversion accrue de la glycolyse et la mort cellulaire [163, 164]. Par conséquent, les niveaux d' α -CG, même en cas d'hypoxie, peuvent être suffisants pour favoriser l'activité PHD et empêcher la réponse hypoxique.

Il a été démontré que les cellules cancéreuses présentant une altération sévère du complexe I mitochondrial affichent une augmentation du rapport α -KG / Succinate, probablement en raison d'une inhibition de l' α -KGDC résultant à partir d'un rapport NADH / NAD + accru. Cette accumulation est associée à une déstabilisation constitutive de HIF1 α même dans un environnement hypoxique (c'est-à-dire une pseudonormoxie), ainsi qu'à une réduction du potentiel tumorigène in vivo [154, 165, 166].

Il est important de noter que l'atteinte mitochondriale et l'hypoxie peuvent entraîner une surproduction de la L2-hydroxyglutarate (L-2-HG), qui est principalement générée par la conversion de l' α -KG dérivé de la glutamine et est en concurrence avec ce dernier [108, 153, 167-171].

Dans ce contexte, il est plausible d'envisager que l' α -KG puisse accepter alternativement des électrons et devenir réduit en (L) -2- HG, se comportant comme un substitut de facto de l'ETC pour soutenir la croissance du cancer. De manière cohérente, la supplémentation en α -KG ou l'inhibition de α -KGDC dans la normoxie provoque une légère augmentation des niveaux de (L) -2-HG, alors qu'en hypoxie l'augmentation est beaucoup plus élevée [167].

En présence de troubles respiratoires, en revanche, l'accumulation ultérieure de α -KG peut avoir des effets différents en fonction de son taux de conversion en (L) -2-HG, car l'énantiomère peut inactiver les PHD au-dessus d'un certain seuil. Il semble peu probable que la réduction de l'OXPPOS à elle seule soit suffisante pour stimuler la réponse HIF1 médiée par le (L)-2-HG, car, une grave altération de l'IC empêche plutôt la stabilisation de HIF1 α . Des facteurs supplémentaires seraient donc nécessaires (Figure 27). Outre une faible activité PHD due à la pénurie d'oxygène, des mécanismes supplémentaires peuvent être envisagés.

Par exemple, dans des situations physiologiques, la (L) -2-HG déshydrogénase (L2HGDH) reconvertit (L) -2-HG en α -KG [172], tandis qu'en hypoxie, l'expression de L2HGDH est diminuée de 50% et il est donc important de maintenir un rapport (L) -2-HG / α -KG élevé (Figure 27). De plus, une faible activité L2HGDH favoriserait la production de ROS [167] avec pour conséquence la stabilisation de HIF1 α [173] (Figure 27). Il est remarquable que la régulation de l'expression de L2HGDH soit indépendante de HIF1, suggérant ainsi un potentiel en amont qui a un rôle dans l'initiation de la réponse hypoxique.

Cependant, de manière frappante, une étude récente réalisée par Burr et ses collègues a montré que la perturbation de l'OGDH entraîne une accumulation de HIF1 α dans la normoxie via un mécanisme médié par PHD2 indépendant de ROS qui repose sur la production de (L)-2-HG à travers les deux, MDH1 / 2 et LDHA [174]. Par conséquent, alors que la réponse cellulaire à l'hypoxie est médiée par plusieurs signaux, y compris O₂, équivalents réducteurs, α -KG, (L)-2-HG et ROS, la modulation de l'activité α -KGDC seule peut avoir un grand impact sur la stabilisation de HIF1 α .

Pour soutenir cela, il a été montré que la diminution de l'activité PHD ne favorise pas inévitablement la voie de signalisation HIF1, même en cas d'hypoxie. Cela semble dépendre d'une diminution de la traduction de HIF1 α , en raison d'une diminution de la signalisation mTOR qui suit la privation d'O₂ et d'acides aminés et, par conséquent, de faibles niveaux d' α -KG cytosolique, car les PHD renforcent l'activité mTOR (Figure 26) [159].

Des niveaux faibles et élevés d' α -KG peuvent donc entraver la réponse hypoxique, suggérant que le maintien d'une certaine quantité d' α -KG est essentiel pour l'activation de HIF1. Dans cette optique, il est possible de supposer que le maintien de l'activité α -KGDC dans une plage appropriée permettrait non seulement aux cellules de répondre aux besoins métaboliques en hypoxie, mais contrôlerait également avec précision les niveaux d' α -KG et du (L)-2-HG afin de fournir aux cellules un signal personnalisé pour l'activation de HIF1. Outre qu'mTOR, l'autophagie est également modulée par HIF1 [175], ce qui rend les PHD et donc les niveaux d' α -KG pivotaux dans le catabolisme des organites.

L'accumulation d' α -KG peut également favoriser la fonction mTOR via l'inhibition de l'ATP synthase dans la mitochondrie, sans impliquer les PHD [176] (Figure 26). Par conséquent, alors que l'accumulation cytosolique de α -KG pourrait empêcher l'autophagie en activant les PHD, l'élévation de ses niveaux dans les mitochondries la favoriserait plutôt, via l'inhibition de l'ATP synthase. Néanmoins, les dioxygénases cytosoliques dépendantes de Fe (II) / α -KG répondent au rapport entre l' α -KG et ses différents concurrents, tandis que l' α -KG intervient de manière non compétitive dans l'inhibition de l'ATP synthase [176].

La réponse aux fluctuations des niveaux d' α -KG dans les cellules est multifactorielle et reste un domaine de recherche ouvert. La signalisation d' α -KG est susceptible d'être définie par l'abondance des métabolites, de son état d'oxydation et de la dynamique, qui sont déterminés par le statut d'ETC et les niveaux d'oxygène, peut-être parmi d'autres mécanismes encore inconnus. Sur la base de ces considérations, il est plausible de soutenir que les fluctuations des niveaux d' α -KG peuvent être intrinsèques caractéristique de la progression tumorale, utile pour déclencher les changements bioénergétiques en réponse à des pressions sélectives.

Dans cette optique, le rôle de l' α -KG reste double car il peut favoriser à la fois les fonctions oncogènes et suppressives de tumeurs, parallèlement à la fonction oncogène des gènes mitochondriaux, comme cela a été proposé précédemment [177].

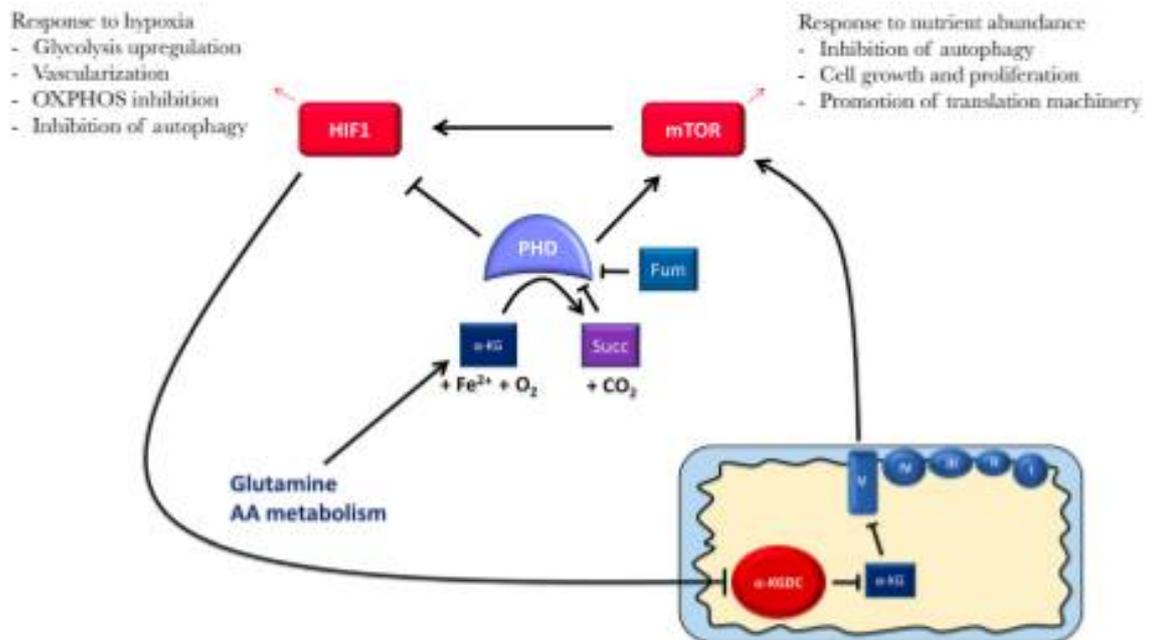


Figure 26: Représentation schématique de l'influence des niveaux d' α -KG et de la compartimentation sur les PHDs et l'ATP synthase [353].

Les PHD ont un double rôle dans le contexte de la réponse cellulaire à la disponibilité des ressources. Les PHD contrôlent à la fois les adaptations aux niveaux d'oxygène réduits, par la déstabilisation de HIF1 α , et la disponibilité des nutriments via la promotion de mTOR. L'accumulation cytosolique de α -KG peut favoriser à la fois les PHD et la voie mTOR et peut inhiber la signalisation HIF1. À l'inverse, l'accumulation mitochondriale de α -KG peut empêcher l'activation de mTOR par l'inhibition de l'ATP synthase.

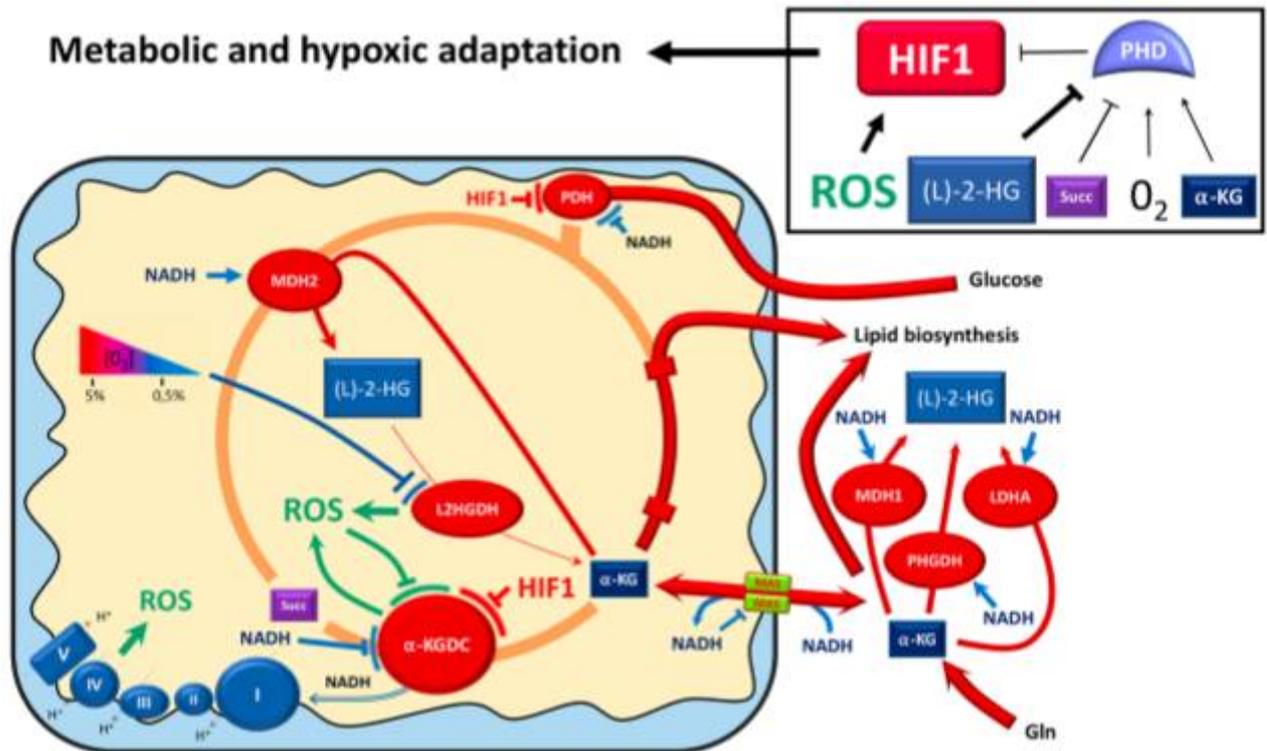


Figure 27: Signaux mitochondriaux qui façonnent l'adaptation métabolique et hypoxique médiée par HIF1 dans les cellules cancéreuses [353].

La réponse hypoxique peut provenir à la fois de la stabilisation de HIF1 α , via la diminution des niveaux d'oxygène et l'augmentation du rapport (L) -2-HG / α -KG qui abaissent l'activité des PHD, et de l'activation de HIF1, en raison de niveaux de ROS élevés. Dans le premier cas, des niveaux d'oxygène réduits peuvent inhiber l'activité de L2HGDH, diminuant ainsi la conversion de (L) -2-HG en α -KG, tout en favorisant la production de ROS. De plus, l'élévation des niveaux de NADH dans les mitochondries qui découle d'une diminution de la respiration inhibe la navette malate-aspartate (MAS) et donc la production de NADH mitochondrial à partir du pouvoir réducteur cytosolique. L'accumulation mitochondriale et cytosolique de NADH favorise l'activité des enzymes dépendantes de NADH MDH1 / 2, PHGDH et LDHA qui convertissent α -KG en (L) -2-HG. En outre, la production potentielle de ROS par l'ETC et l' α -KGDC pourrait favoriser davantage l'activation de HIF1. Enfin, NADH et HIF1 peuvent inhiber α -KGDC et PDH, favorisant davantage l'accumulation d' α -KG, à leur tour convertis en (L) -2-HG ou utilisés pour la biosynthèse des lipides.

8. Impact de l'alpha-cétoglutarate sur l'épigénétique des cellules cancéreuses :

Les altérations épigénétiques aux niveaux de l'ADN et des histones sont de plus en plus reconnues comme des modificateurs de la tumorigenèse [178]. Les îlots CpG sont largement hyperméthylés dans de nombreux types de cancer par rapport au tissu normal correspondant, tandis que le reste du génome est plutôt sujet à la déméthylation.

L'hyperméthylation des îlots CpG a été utilisée comme critère pour distinguer différents types de tumeurs des tissus non malins [179], et les tumeurs caractérisées par des niveaux élevés de méthylation de l'ADN ont été classées comme ayant un phénotype de méthylateur d'îlot CpG et sont principalement associées au pire pronostic, potentiellement dû à un silence des gènes suppresseurs de tumeurs.

Dans de nombreux cas, ce phénotype est originaire dans les premières phases de la tumorigenèse de nombreux types de tumeurs tels que les glioblastomes, les leucémies myéloïdes aiguës, le cancer gastrique et les épendymomes [180, 181], où les médicaments ciblant le mécanisme de méthylation de l'ADN sont une stratégie prometteuse.

La grande famille des dioxygénases dépendantes des α -KG comprend deux classes d'enzymes impliquées dans les réactions de déméthylation et d'hydroxylation de l'ADN et des histones. Les méthylcytosines dioxygénases (TET 1 à 3) catalysent la déméthylation de l'ADN, tandis que le domaine Jumonji C contenant des lysines déméthylases (KDM 2 à 7) est la plus grande famille d'histones déméthylases [182, 183]. Le (L)-2-HG et le (R)-2-HG sont des inhibiteurs compétitifs des TET et des KDM, et sont donc des modificateurs importants du paysage épigénétique des cellules cancéreuses [184-187]. Par conséquent, l'accumulation de (L)-2-HG et de (R)-2-HG a été associée à plusieurs types de cancers [169, 188, 189].

De même, des études récentes ont révélé qu'avec le 2HG, le Succinate et le fumarate peuvent également induire des altérations de la méthylation de l'ADN et des histones, améliorant ainsi la formation d'un cancer [190–192]. Ces résultats suggèrent que différentes concentrations cytosoliques d' α -KG affectent l'état de méthylation des histones et de l'ADN et déclenchent ainsi des changements épigénétiques.

En conséquence, le groupe de Thompson a démontré comment le maintien d'un rapport α -KG / Succinate approprié est fondamental pour déterminer l'identité et le sort des cellules souches embryonnaires (ESC) [193]. En particulier, un rapport α -KG / Succinate élevé favorise l'activité de l'ADN et des histones déméthylases, et la modification de ce rapport est suffisante pour réguler de multiples modifications de la chromatine.

En effet, le traitement par α -KG favorise l'auto-renouvellement de l'ESC, connu pour présenter une structure chromatinienne «ouverte» inhabituelle, associée à l'hypertranscription [194]. Dans cette optique, des niveaux cytosoliques élevés d' α -KG favoriseraient des processus à forte consommation d'énergie, une hypothèse qui est appuyée par l'existence de l'activation mTOR pilotée par PHD médiée par α -KG, qui favorise les processus anaboliques.

Inversement, dans les cellules cancéreuses confrontées à l'hypoxie, il est plausible que la conversion de α -KG en (L)-2-HG aide très probablement à réduire la demande énergétique tout en favorisant la stabilisation de HIF1 α pour l'adaptation hypoxique. Conformément à cela, l'hypoxie induit une augmentation globale de la triméthylation de l'histone H3 à la lysine 9 (H3K9me3), connue pour réprimer l'expression des gènes, par l'accumulation de (L)-2-HG qui inhibe l'activité de la déméthylase KDM4C [195].

En outre, il a récemment été démontré que la pénurie d'oxygène provoque directement une hyperméthylation de l'ADN en réduisant l'activité TET dans les cellules cancéreuses, principalement au niveau des promoteurs génétiques [196]. Malgré cela, les TET et les KDM peuvent stimuler la transcription de gènes spécifiques ciblés par HIF1, tout en étant eux-mêmes des cibles transcriptionnelles de HIF1 [192,196, 197], un mécanisme qui compense très probablement leur activité enzymatique plus faible.

Par conséquent, alors que les oncométabolites et la faible disponibilité en oxygène peuvent favoriser un état fermé de la chromatine et une baisse de l'expression génique globale grâce à l'activité des dioxygénases dépendantes des α -KG, il est plausible que le maintien d'une activité minimale de ces enzymes induise une réponse génétique spécifique dans les cellules pour restreindre la machinerie de transcription aux gènes ciblés par HIF1.

De même, étant donné le rôle de l' α -KG en tant qu'indicateur de la disponibilité des acides aminés, il est plausible de spéculer sur l'occurrence d'un remodelage épigénétique lors de la privation de glutamine, qui peut être confronté à des cancers solides.

En conséquence, une étude récente a démontré que la carence en glutamine est associée à de faibles niveaux d' α -KG, qui peuvent à leur tour déterminer l'inhibition des KDM dans les régions centrales de la tumeur. Dans ce contexte, l'augmentation de la méthylation des histones induit une dédifférenciation des cellules cancéreuses et peut entraîner une résistance thérapeutique [198].

La conséquence des modifications épigénétiques est la transduction de stimuli externes en réponse transcriptionnelle, ajustant ainsi le phénotype des cellules sans affecter leur génotype [199]. Il est très probable que la bioénergétique cellulaire, les changements entraînés par des pressions sélectives externes et internes, favorisent un remodelage épigénétique complexe grâce à la signalisation de l' α -KG.



*Mutations des gènes
de l'isocitrate
déshydrogénase*



V. Mutations des gènes de l'isocitrate déshydrogénase

1. Généralités

1.1. Définition et structure :

La famille des isocitrates déshydrogénases (IDH) comprend trois isoformes : IDH1, IDH2 et IDH3. Ces enzymes catalysent la décarboxylation oxydative de l'isocitrate pour former de l' α -cétoglutarate (α KG), en utilisant le NADP⁺ comme cofacteur pour générer du NADPH pendant la catalyse.

Les protéines IDH1 et IDH2 partagent un degré élevé de similitude de séquence (70% chez l'homme) et sont codées par des gènes distincts (IDH1, 2q33; IDH2, 15q26). Bien qu'IDH1 et IDH2 soient très similaires et catalysent des réactions réversibles identiques, IDH1 se localise dans le cytosol et les peroxysomes, tandis qu'IDH2 se localise dans les mitochondries. Une troisième enzyme IDH3, catalyse la décarboxylation directe de l'isocitrate pour générer un α KG pour le cycle de l'acide tricarboxylique (TCA). IDH3 est un complexe multi-sous-unités évolutivement distinct composée de 3 protéines codées par des gènes distincts.

Les sous-unités IDH individuelles sont composées d'un grand domaine, d'un petit domaine et d'un domaine de fermoir, et IDH2 contient une séquence de ciblage mitochondriale supplémentaire (figure 28A). Chaque site actif contient des sites de liaison pour le NADP (H), l'isocitrate et un cation divalent [200] (figure 28B).

La catalyse se déroule en liant le cofacteur NADP⁺ dans une conformation ouverte inactive. Cette configuration inactive est caractérisée par un segment de boucle régulatrice qui empêche la liaison de l'isocitrate au site actif en interagissant avec Ser94 du grand domaine IDH1. La liaison de l'isocitrate se déplace sur la boucle régulatrice et induite par les résidus des deux sous-unités dimères, y compris Ser94 et les résidus d'arginine conservés multiples dans le site actif (figure 28C).

Il est proposé que la liaison compétitive de l'isocitrate à la fente catalytique déplace la boucle de régulation et induit un changement de conformation vers un état fermé, catalytiquement actif qui favorise la décarboxylation de l'isocitrate en α KG.

IDH1 et IDH2 jouent un rôle important dans un certain nombre de fonctions cellulaires, notamment la détection du glucose, le métabolisme de la glutamine, la lipogénèse et la régulation du statut redox cellulaire. Bien qu'IDH1 et IDH2 catalysent des réactions identiques, on pense que ces enzymes ont des fonctions distinctes basées principalement sur leurs localisations différentielles et un flux catalytique modifié entre les réactions directes et inverses.

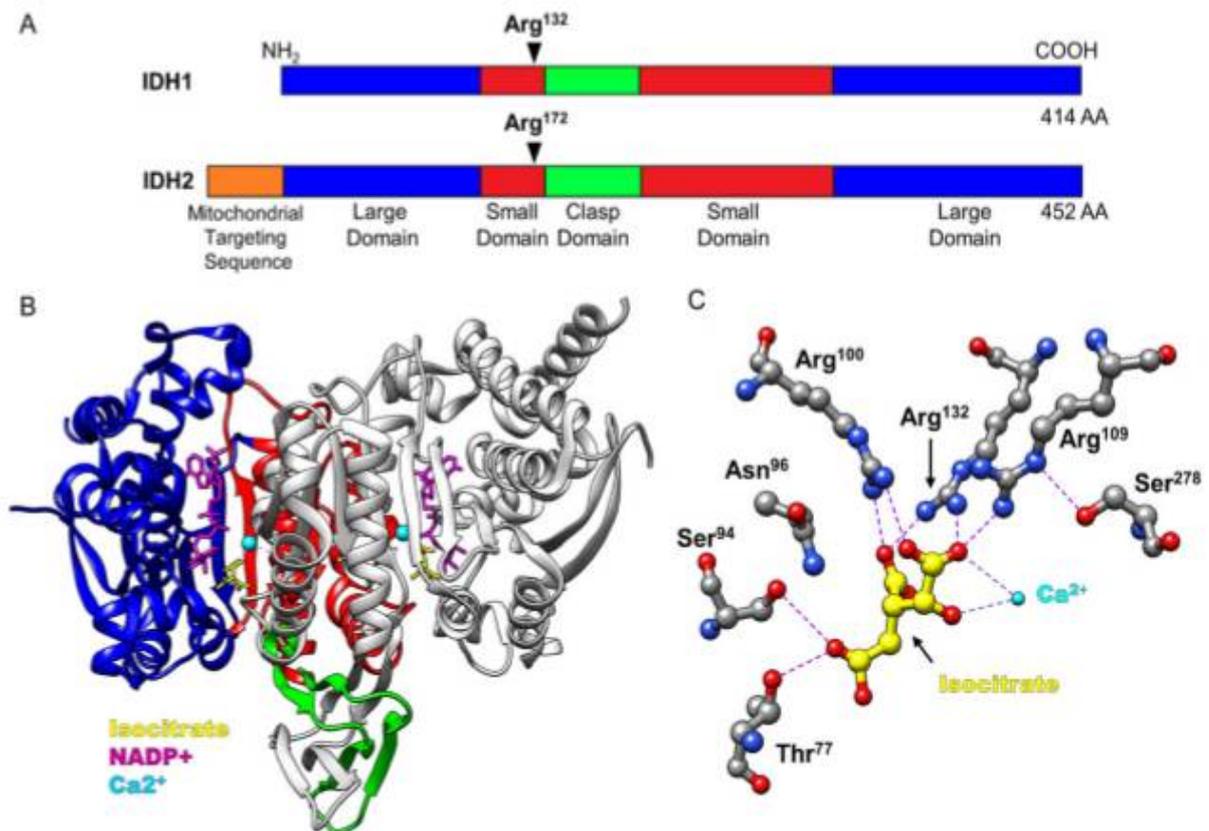


Figure 28: La carte du domaine et la structure active des enzymes IDH [354].

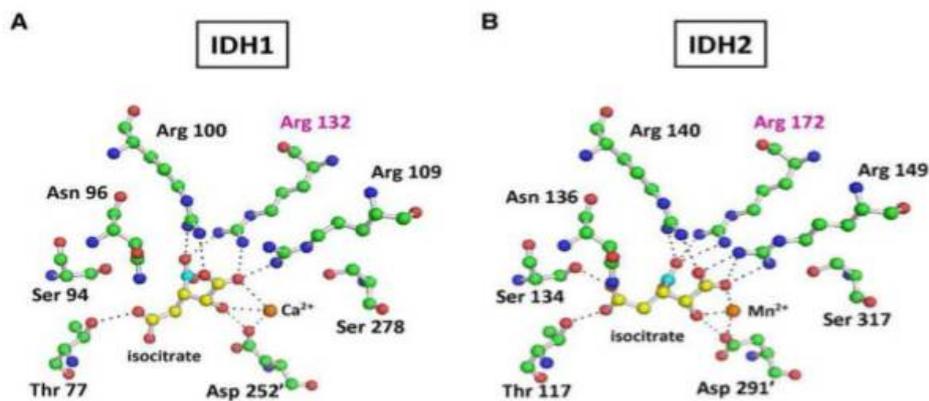
(A) IDH1 et IDH2 sont composées de 3 domaines distincts: domaine élargi, petit domaine et domaine de fermoir. IDH2 contient une séquence de ciblage mitochondriale de 39 acides aminés à son extrémité NH₂. Les résidus d'arginine conservés à Arg132 (IDH1) et Arg172 (IDH2) sont essentiels pour la catalyse. (B) Structure cristalline de l'homodimère IDH1, comme indiqué dans Xu et al1 (PDBID: 1T0L). Les domaines sont codés par couleur comme dans (A), avec une seule sous-unité colorée pour la clarté. La poche de liaison du substrat contient des sites de liaison pour l'isocitrate (jaune), l'ion calcium (cyan) et le NADP + (violet). (C) Structure des résidus critiques dans le site actif IDH1. Les liaisons hydrogène et les interactions hydrophiles sont représentées par des lignes en pointillés violets et formées entre plusieurs résidus d'arginine, dont Arg132, et des groupes carboxylates d'isocitrate. IDH2 Arg172 est analogue à IDH1 Arg132 dans sa structure de site actif et ses interactions avec l'isocitrate.

2. Leucémies liées à l'isocitrate déshydrogénase

2.1. Isocitrate déshydrogénase et mutation : généralités

Historiquement les mutations d'IDH1 étaient identifiées en premier, par séquençage d'exome sur des patients atteints de cancer colorectal en 2006 [201]. Par la suite et assez rapidement ont été mises au jour des mutations récurrentes d'IDH1 et 2 dans des cas de gliomes, la plupart du temps de bas grade [202], puis dans les leucémies aigues myéloïdes [203–204], enfin dans l'acidurie D-2-hydroxyglutarique de type II, une pathologie constitutive cette fois [205].

La quasi-totalité des mutations d'IDH1 décrites consiste en une substitution de l'arginine en position 132 (site catalytique), principalement par une histidine (R132H). L'IDH2 voit muter son arginine en position 172, qui est l'homologue structural de l'IDH1-R132 ou bien son arginine en position 140. Cette dernière occupe également la zone du site catalytique et se trouve dans l'espace très près de la 172.



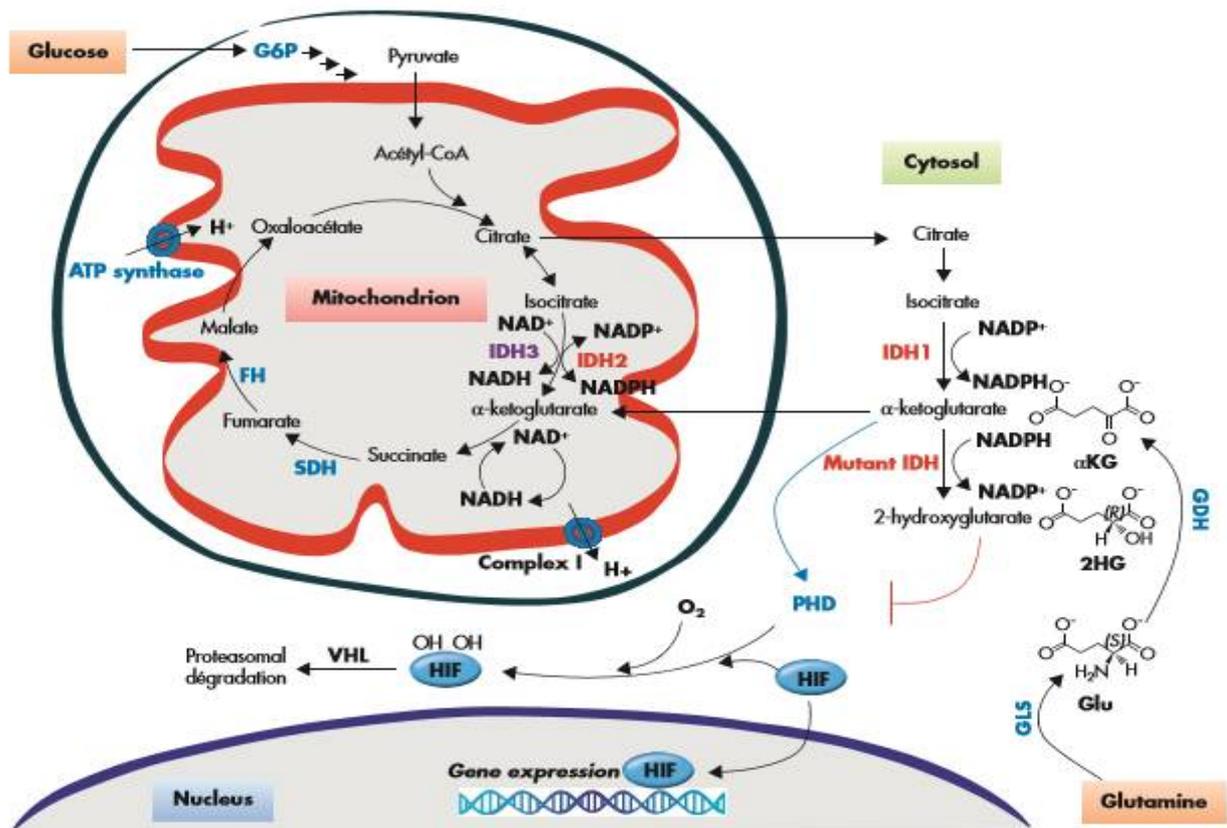


Figure 30: Rôle des gènes IDH dans les gliomes et les LAM [207].

2.2. Fonctions néomorphique des IDH mutées :

Il a certes été constaté que la capacité de la protéine mutante à exercer sa fonction initiale était nettement atténuée, ce par des mesures de production d' α -CG ou de NADPH [208, 209]. Ces mutations possèdent les caractéristiques des mutations gain de fonction: elles sont somatiques, hétérozygotes et occupent des positions hautement conservées. En effet les mutations perte de fonction doivent être homozygotes pour avoir un retentissement phénotypique (sauf haplo- insuffisance), ce qui explique le fait qu'elles soient moins fréquentes, et des mutations à des positions variées doivent dans ce cas pouvoir causer la même conséquence simple qui est la synthèse d'une protéine incapable de fonctionner.

Le voile va se lever progressivement sur ce mystère après 2009 lorsque Dang et al, découvrent une fonction néomorphique des protéines IDH1 mutantes [210], en réalité commune à toutes les IDH mutantes: la réduction NADPH-dépendante de l' α -CG en D-2-hydroxyglutarate. Cette nouvelle activité résulte d'une affinité accrue pour le NADPH et réduite pour l'isocitrate [206, 210, 211].

En effet il a été montré qu'en son sein, les deux sous-unités produisent du D-2HG, à partir d'isocitrate ou d' α -CG respectivement, associant donc production de l'oncométabolite et diminution de synthèse et consommation de l' α -CG [212].

En outre, la perte de fonction wt induite génétiquement sur des lignées cellulaires mutées IDH1 entraîne une diminution de production de D-2HG, phénomène retrouvé également in vivo dans des cas de gliome à cellules mutées ayant perdu l'allèle IDH1 sauvage, montrant ainsi l'importance de la persistance de cette sous unité wt dans l'accomplissement de la fonction néomorphique [213].

2.3. L'oncogénèse liée au D_2HG

Le rôle cellulaire du D-2HG est méconnu. Il pourrait constituer un intermédiaire dans la production de 5-aminolevulinate et des porphyrines au cours de la synthèse de l'hème [214, 215].

Son oncogénicité résulte, au moins en partie, de son analogie structurale avec l' α -CG, qui en fait un inhibiteur compétitif des enzymes à activité α -CG-dépendante [216]. Or ces enzymes sont nombreuses et ont des rôles variés, il en existe plus de 60 différentes dans les cellules des mammifères [217], et parmi elles la famille TET notamment, mais aussi HIF-PHD (Hypoxia Inducible Factor-Prolyl Hydroxylase Domain), les histones déméthylases et C-P4H (Collagen Prolyl 4Hydroxylase), pouvant être impliquées dans la tumorigénèse respectivement par méthylation aberrante de l'ADN, stimulation de l'angiogénèse, modification des histones et maturation anormale du collagène [218].

2.3.1. L'enzyme TET

La famille d'enzymes TET est constituée de 3 membres : TET1, TET2 et TET3, acteurs de la régulation épigénétique.

Les TET catalysent la conversion des 5-méthylcytosine (5-MC) en 5-hydroxyméthylcytosines (5-HMC) (Figure 31) [219].

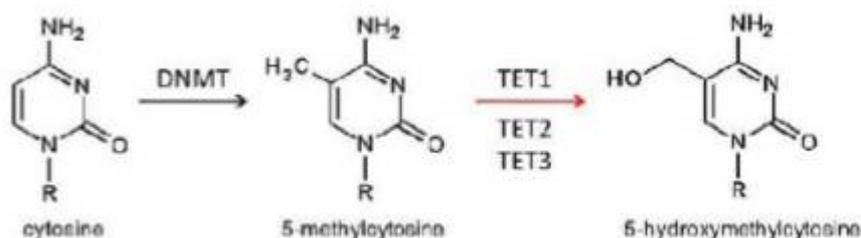


Figure 31: Méthylation puis hydroxylation de la cytosine par les enzymes DNMT et TET [355].

Ces dernières peuvent initier la déméthylation de l'ADN, soit passivement en excluant les DNA méthyltransférases (DNMT) des îlots cytosine-guanine (CpG), soit activement via les mécanismes de réparation par excision de base (BER). Les 5-HMCs empêchent la liaison de protéines au niveau des CpG méthylés, assurant par ce biais une régulation transcriptionnelle [220].

Le lien est maintenant établi entre TET, contrôle de la différenciation cellulaire et maintien des cellules souches embryonnaires [221]. De nombreuses études laissent à penser que la ou les voies oncogéniques dépendantes d'IDH passent par les TET :

- L'expression d'IDH1 et IDH2 mutantes de même que l'exposition à du D-2HG exogène inhibent TET in vivo comme in vitro, diminuant la production de 5-HMC, lequel processus est réversible à l'addition d' α -CG exogène [216].

- De même lorsqu'on compare les gliomes affichant une mutation d'IDH1 à ceux qui en sont dépourvus, on y retrouve des concentrations significativement supérieures

en 5-HC et inférieures en 5-HMC [216]. Il faut cependant concéder que la déplétion en 5-HMC est le lot de nombreux cancers indépendamment du statut mutationnel d'IDH [222].

- Une forte corrélation a été mise en lumière entre mutations d'IDH1 et 2 et phénotype méthylé des îlots CpG (PMIC) dans un sous-groupe de gliomes [223].

- Deux études consécutives ont ensuite mis en évidence un profil d'hyperméthylation particulier homogène dans des gliomes mutés IDH, similaire au PMIC [224, 225].

De façon intéressante ce profil restait stable quel que soit le grade du gliome, suggérant que ces modifications épigénétiques surviennent tôt dans la gliomagenèse [224], or les mutations d'IDH sont également précoces [226].

-L'utilisation de vecteurs lentiviraux a permis d'induire des hyperméthylations dans des astrocytes humains après introduction de la mutation IDH1 R132H [227, 228]. A l'inverse lorsqu'était induite une surexpression d'IDH1 sauvage une hypométhylation était obtenue, ce qui laisse à penser que les concentrations en α -CG pourraient aussi altérer le méthylome [228].

-Les leucémies aiguës myéloïdes (LAM) ont fait l'objet d'investigations du même ordre et les résultats concordent :

-Des cellules de LAM mutées IDH présentaient un profil d'hyperméthylation globale et spécifique de gène similaire à celui des cellules de LAM mutées TET [229].

-Une comparaison des niveaux de 2-HG et de 5HMC médullaires (respectivement plasmatique et cellulaire) et de leur évolution au cours de la maladie chez des patients a montré que lorsque les quantités de 2-HC diminuent en réponse au traitement celles de 5HMC augmentent et inversement à la rechute [230].

Ainsi il existerait un lien étroit entre IDH, TET, méthylation de l'ADN et tumorigénèse, dont une meilleure compréhension passera par l'amélioration de la connaissance du méthylome et de ses conséquences sur les profils d'expression génique [231].

2.3.2. HIF et HIF-PDH

HIF (Hypoxia Inducible Factor) est un facteur de transcription qui est associé, lorsqu'il est surexprimé, à la progression maligne et à un mauvais pronostic dans plusieurs cancers [232]. Il a pour cible un large éventail de gènes impliqués dans l'adaptation cellulaire à l'hypoxie: modulant l'angiogénèse, la glycolyse, la signalisation par les facteurs de croissance, l'apoptose et les métastases [233].

En conditions de normoxie, l'enzyme HIF-PHD hydroxyle l'HIF sur deux résidus proline, ce qui provoque indirectement sa dégradation par le protéasome [234].

Historiquement certaines études ont montré que l'HIF-PHD était inhibée par le D-2HG [216] ou sous basse concentration en α -CG [209], permettant une stabilisation de l'HIF en dehors de l'hypoxie associée à une expression inappropriée de ses cibles.

La piste prometteuse est remise en question depuis la parution consécutive d'études affichant des résultats en contradiction: le D-2HG n'inhiberait que très faiblement l'HIF-PHD [235] voire l'activerait [236, 237], il n'y aurait peut-être pas de corrélation entre le statut mutationnel d'IDH et l'expression d'HIF1 α , en tout cas dans les gliomes [232, 238].

Dans certaines lignées cellulaires l'expression d'IDH1 mutée R132H réduit les concentrations retrouvées d'HIF, et dans une lignée d'érythroleucémie l'inhibition de l'HIF-PHD a même permis d'inhiber la transformation leucémique induite par une IDH mutante [236, 237]. Est-ce à dire que dans certaines circonstances l'HIF serait un suppresseur de tumeur ?

La question du rôle d'HIF dans l'oncogénèse reste donc ouverte à l'heure actuelle.

2.3.3. Les histones déméthylés

Les histones déméthylases déméthylent les lysines méthylées. Elles régulent l'expression des gènes en modulant la structure de la chromatine et la liaison des facteurs de transcription. Leur inhibition par le D-2HG pourrait entre autre bloquer la différenciation cellulaire [227]. Le D-2HG exogène et la perte de la fonction IDH1 sauvage inhibent in vitro et in vivo un certain nombre d'histones déméthylases.

De même dans des gliomes humains IDH1 mutés et des lignées mutées IDH1 ou 2, on retrouve des marqueurs de méthylation des histones [216, 227, 235]. Enfin chez des souris modifiées n'exprimant la mutation IDH1 qu'au niveau des cellules de l'hématopoïèse, ont été observées une prolifération des progéniteurs hématopoïétiques et la présence d'histones hyperméthylés [231].

2.3.4. Collagène propyl 4-hydroxylase (C-P4H) :

La C-P4H hydroxyle les résidus proline du collagène et catalyse la production d'endostatine [216], protéine possédant des propriétés d'inhibition de l'angiogénèse et de la croissance tumorale [239].

Premièrement l'activité de la C-P4H semble effectivement réduite en présence d'IDH mutée : une étude faisant une nouvelle fois appel à la mutagenèse dirigée sur IDH1 montrait chez les souris mutées une diminution de l'hydroxylation du collagène [240]. Ensuite l'expression de l'endostatine est effectivement réduite en présence d'IDH1 mutée, tant dans des lignées cellulaires que dans des gliomes [216].

2.3.5. Impact sur le cycle de Krebs

L'effet Warburg est un phénomène paradoxal, décrit pour la première fois en 1924 par le physiologiste allemand éponyme. Il s'agit de la tendance des cellules cancéreuses à se détourner de la production d'énergie par phosphorylation oxydative au profit de la fermentation lactique après la glycolyse, en conditions pourtant aérobies. Les rendements énergétiques des deux voies étant très différents, la consommation en glucose se trouve démultipliée au cœur du tissu tumoral.

Cette caractéristique est considérée comme une signature métabolique des cellules cancéreuses, d'ailleurs exploitée en imagerie par tomographie par émission de positons (TEP) avec le fluorodesoxyglucose marqué au fluor 18 [241]. O. H. Warburg voyait dans cette dysrégulation du métabolisme énergétique une cause d'oncogenèse plutôt qu'une conséquence.

Plusieurs mécanismes ont été proposés, pouvant coexister :

-Certains auteurs pensent que le cycle de Krebs est peu altéré et que les effets oncogéniques secondaires à la perte d'activité de FDH ou SDH dépendent simplement de phénomènes similaires à ceux déjà décrits pour IDH. En effet leurs substrats, le fumarate et le Succinate, alors accumulés, possèderaient des propriétés inhibitrices des enzymes à activité α -CG-dépendante au même titre que le D-2HG. Le panel d'enzymes atteintes serait fonction de l'inhibiteur, expliquant des prédispositions à des tumeurs très différentes d'un gène muté à l'autre [242-244].

-D'autres soutiennent que des conséquences directes sur le métabolisme énergétique existent et peuvent expliquer une partie de la tumorigénèse.

Ils s'appuient sur les travaux de Reitman et al notamment, qui démontrent la survenue d'une déplétion en acides tricarboxyliques (citrate, cis-aconitate, α -CG, malate, fumarate) et une accumulation de leurs précurseurs de biosynthèse dans des lignées cellulaires porteuses des mutations d'IDH1 R132H ou d'IDH2 R172K, suggérant une régulation négative du cycle de Krebs [245].

Autre fait remarquable dans cette même étude, le D-2HG semble une fois de plus jouer le premier rôle. Les cellules mutées et les cellules traitées par l'oncométabolite affichent de nombreuses modifications métaboliques communes, ce qui n'est pas le cas de cellules KO pour IDH1 sauvage [245].

Le D-2HG pourrait en outre avoir la capacité de découpler la chaîne respiratoire en inhibant le cytochrome C oxydase et l'ATP synthase [246, 247]. Le ralentissement du cycle de Krebs peut altérer le ratio cellulaire NADPH/NADP⁺ avec des conséquences multiples [210].

La concentration cytosolique en acétyl-coenzyme A (Acétyl-CoA) s'en trouve aussi affectée, or elle régule l'acétylation de nombreuses protéines potentiellement oncogènes, dont les histones [245, 248].

2.3.6. Le glutamate

Le glutamate est un neurotransmetteur excitateur majeur du système nerveux central. La voie glutamatergique est associée au développement tumoral, à la prolifération, la survie et les métastases dans les gliomes et d'autres tumeurs [249, 250]. Les cellules gliomateuses sécrètent du glutamate en excès, sur-activant les récepteurs glutamatergiques. S'ensuit une mort cellulaire massive et la promotion de la migration et de l'invasion cellulaire [251]. Or α -CG, glutamate et glutamine sont étroitement liés au niveau cellulaire : le passage de l'une à l'autre de ces molécules s'effectue par simple transamination (Figure 32).

L'inhibition de la glutaminase qui convertit la glutamine en glutamate ralentit la prolifération des cellules gliomateuses IDH1 mutées [252]. Enfin l'équipe de Reitman retrouve une déplétion en glutamate dans les cellules IDH mutées [245]. Si des liens semblent exister, leur teneur exacte reste à décrire.

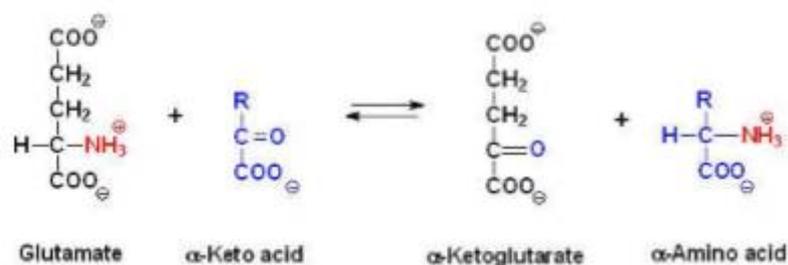


Figure 32: Transamination Glutamate/ α -CG

2.3.7. Glucose-sensing

Un contrôle anormal des entrées cellulaires en glucose est associé au développement de cancers du côlon, du sein, de la prostate, du foie et de la vessie [253]. IDH1 contrôle la sécrétion glucose dépendante d'insuline par les cellules bêta du pancréas [254], d'où la présomption d'une relation. L'état des connaissances ne permet pas d'en affirmer plus mais d'aucuns suggèrent qu'IDH pourrait communiquer un signal de haute concentration en glucose aux effecteurs du glucose-sensing en aval via la production importante d' NADPH . Cette voie pourrait ne pas être réservée aux seules cellules pancréatiques. Dans les cellules tumorales mutées persisterait ainsi un signal de glucose bas entraînant une utilisation excessive de glucose et par là un avantage prolifératif [255].

2.3.8. Réponse cellulaire au stress oxydatif

L'activité d'IDH1 et IDH2 est protectrice vis à vis des radicaux libres et augmente lors d'une exposition aux espèces réactives de l'oxygène (ROS) [255]. Cette défense passe par le NADPH produit, qui est un agent réducteur par action directe et interaction avec les systèmes du glutathion et de la thioredoxine [232].

Si l' α -CG présente aussi des propriétés antioxydantes, le D-2HG est capable d'induire un stress oxydatif dans des modèles animaux [256]. Cependant la production de ROS n'était pas significativement altérée dans des lignées cellulaires IDH1 mutées [236], elle était même réduite dans le cerveau de souris IDH1 R132H Knock in, bien que paradoxalement le ratio $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$ ait augmenté et le glutathion disponible diminué dans cette même expérience [240]. Ici encore les données contradictoires ne permettent pas de tirer une conclusion solide.

2.4. Incidence des mutations d'IDH1 et IDH2 dans les leucémies aiguës myéloïdes

Les mutations d'IDH1 et d'IDH2 sont mutuellement exclusives [256] Elles ne sont pas spécifiques des LAM puisqu'elles ont été retrouvées à des fréquences variables dans d'autres tumeurs, comme les gliomes [258], les syndromes myélodysplasiques (SMD) [259], les syndromes myéloprolifératifs (SMP) et les leucémies aiguës lymphoblastiques (LAL) [260].

Les mutations d'IDH1 sont retrouvées dans 6 à 8% de l'ensemble des LAM [261, 262] et dans 10 à 12% des LAM à caryotype normal (LAM-CN) [263, 264]. Elles sont rares dans les LAM de l'enfant [265].

Au sein des LAM-CN, elles sont étroitement associées aux mutations du gène NPM1 (nucléophosmin 1) [261, 262, 266] et des associations avec duplications partielles en tandem (PTD) de KMT2A (K-specific Methyltransferase A, anciennement MLL pour Mixed-Lineage Leukemia) ont été rapportées [263].

Quant aux mutations d'IDH2, elles sont retrouvées dans 9 à 11% des LAM tout venant [261, 262] et plus fréquemment dans les LAM-CN. Les mutations d'IDH2 R140 sont souvent associées aux mutations de NPM1 [267]. Les mutations d'IDH2 R172 sont décrites comme mutuellement exclusives des mutations KMT2A, NPM1, FLT3 et CEBPA (CCAAT/Enhancer Binding Protein Alpha) [268, 261]. A la différence des mutations d'IDH2 R172 retrouvées dans les gliomes et les LAM, les mutations d'IDH2 R140 apparaissent restreintes aux LAM (Tableau V).

Tableau V: Fréquences des mutations d'IDH1 et IDH2 chez les patients adultes et enfants [267].

Studies	AML, no.	<i>IDH1</i> ^{mut}	<i>IDH2</i> ^{mut}
Summary of adult cases	U-AML, 6877	7.3%	9.7% (R172 19%)
	CN-AML, 1805	11%	16% (R172 14%)
	AC-AML, 1503	3.5%	3.8%
Summary of pediatric cases	U-AML, 852	1.6%	2.2%

AC-AML, cytogenetically abnormal AML; U-AML, unselected AML.

3. Mutations de l'isocitrate déshydrogénase et les gliomes :

3.1. Physiopathologie des mutations de l'isocitrate déshydrogénase

Des puces d'oligonucléotides à haute densité et le séquençage de nouvelle génération d'échantillons de gliomes de grades II et III (selon la classification de l'Organisation mondiale de la santé, OMS) ont révélé un spectre inattendu de mutations, parmi lesquelles des mutations somatiques récurrentes du gène *IDH1* ont été trouvées dans 12% des échantillons de gliomes [269].

Les mutations *IDH* surviennent tôt dans la pathogenèse des gliomes et persistent tout au long de la progression d'un gliome à partir d'une tige neurale ou d'une cellule progénitrice. Toutes les mutations *IDH* connues sont invariablement monoalléliques.

Le composé 2-HG possède les propriétés d'un oncométabolite et son accumulation dans la cellule contribue à la cancérogenèse [270-272]. Un oncométabolite est généralement une petite molécule (ou énantiomère), qui participe au métabolisme normal, mais dont l'accumulation provoque une dérégulation

métabolique et, par conséquent, prédispose les cellules à une future progression vers le cancer. Ce terme est attribué au R (-) - 2hydroxyglutarate ((R) -2HG). Le composé 2-HG adopte une localisation presque identique à α -KG aux sites catalytiques des ADN hydroxylases et des enzymes contenant le domaine Jumonji.

Le 2-HG est le plus puissant contre les histéthyl déméthylases contenant JMJD (JMJD2A, JMJD2C et FBXL11) avec des valeurs IC50 d'environ 100 μ M, suggérant que les histéthyl déméthylases contenant JMJD, qui comprend près de 30 enzymes distinctes dans les cellules de mammifères, sont probablement la cible principale d'Inhibition du 2-HG.

L'accumulation de 2-HG dans les cellules cancéreuses entraîne l'inhibition complète des histéthyl déméthylases de classe Jumonji [273, 274]. Les changements dans les profils de méthylation des histones (en particulier la méthylation H3K9) sont associés à des mutations IDH et entraînent une inhibition de la différenciation cellulaire [275]. De plus, le 2-HG est un inhibiteur compétitif de la famille de translocation à dix-onze (TET) des 5-méthylcytosine hydroxylases responsables de la déméthylation de l'ADN [276, 277] (figure 33).

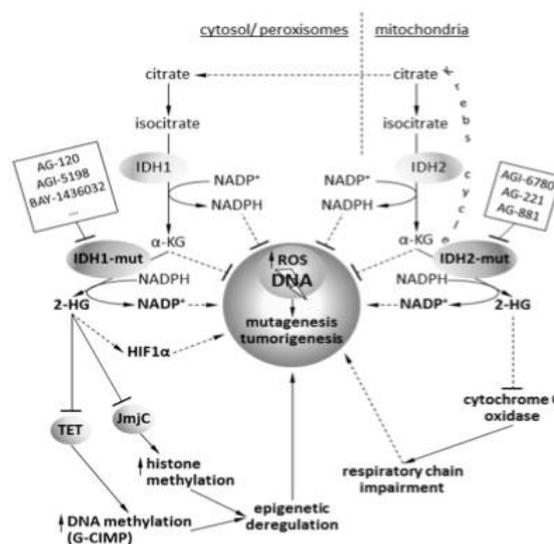


Figure 33. Résumé des altérations métaboliques et épigénétiques induites par les mutations IDH dans les cellules cancéreuses [356].

Une concentration élevée de 2-HG favorise également l'angiogenèse via l'inhibition des prolyl-hydroxylases et la stabilisation du facteur induit par l'hypoxie (HIF1 α) [270]. Une expression élevée de HIF1 α a été retrouvée dans 15% des tumeurs mutantes IDH (IDH-mut) par rapport à 7,7% des tumeurs IDH [278]. Des études plus détaillées ont révélé que le statut de mutation IDH est associé à une signature distincte du transcriptome de l'angiogenèse, à une diminution de l'expression des cibles HIF1 α et à une altération des fonctions biologiques en aval telles que l'angiogenèse et la vasculogenèse qui sont essentielles à la croissance tumorale [279].

Les mutations IDH provoquent des changements profonds dans le métabolisme cellulaire global. Les premières études sur l'effet des mutations IDH sur la fonction du cycle de l'acide tricarboxylique (TCA) n'ont pas permis de mettre en évidence des altérations significatives des métabolites du cycle du TCA [272]. Cependant, une étude plus détaillée de Reitman et al. [280], qui ont produit plus de 200 métabolites dans les cellules d'oligodendrogliome IDH1 ou IDH2-mut, ont détecté des changements dans les niveaux d'acides aminés, des métabolites du glutathion, des dérivés de la choline et des intermédiaires du cycle de l'acide tricarboxylique. Ces changements imitaient ceux identifiés après le traitement des cellules avec du 2-HG.

Le N-acétyl-aspartyl-glutamate (NAAG), un dipeptide commun dans le cerveau, a été réduit de 50 fois dans les cellules exprimant IDH1-mut et 8,3 fois réduit dans les cellules exprimant IDH2-mut. Une réduction similaire de NAAG a été détectée dans les tissus des gliomes IDH-mut [280]. L'acétyl coenzyme A (CoA), qui est générée à partir de citrate dans le cytoplasme, s'est avérée réguler l'acétylation des protéines cytoplasmiques.

Les tumeurs IDH-mut présentent un métabolisme de l'acétyl-CoA perturbé et des concentrations cytosoliques d'acétyl-CoA réduites, ce qui peut entraîner une altération de l'acétylation et de l'activité de nombreuses protéines d'origine tumoral [281].

Les mutations métaboliques multiples à mutation IDH1 avec des cellules traitées au 2-HG suggèrent que la production d'oncométabolite est responsable des effets métaboliques observés [272].

L'activité IDH1 est également un facteur important dans l'adaptation métabolique, qui soutient une croissance agressive des glioblastomes primaires (GBM) maintenue malgré des conditions métaboliques difficiles. Les GBM primaires développent des résistances et des contraintes les plus cancéreuses.

Un ARNm d>IDH1 de type sauvage (ARN messenger) et protéinique communément surexprimé dans les GBM primaires et une activité d>IDH1-w augmentée a été trouvé dans 65% de ces tumeurs. L'inactivation génétique et pharmacologique de IDH1 a diminué la croissance des cellules GBM, favorisé un phénotype plus différencié, augmenté l'apoptose en réponse aux thérapies ciblées et prolongé la survie des animaux avec des xénogreffes dérivées de patients.

Cette inactivation / inhibition forcée de l>IDH s'est accompagnée d'une réduction des niveaux d' α -KG et de NADPH, d'une augmentation de la production de ROS, d'une méthylation accrue des histones et d'une expression accrue des marqueurs de différenciation [282]. Cela suggère que la régulation positive IDH1 représente une adaptation métabolique de la GBM pour soutenir les demandes croissantes de synthèse macromoléculaire dans les cellules tumorales.

3.2. La détection des mutations IDH et la classification des gliomes

Les gliomes sont des tumeurs primaires du système nerveux central (SNC) qui sont issues de cellules gliales souches ou progénitrices transformées, et ils ont été divisés par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) en gliomes de bas grade (LGG, grades I et II de l'OMS) et en gliomes de haut grade (HGG, grades III de l'OMS et IV).

Les LGG sont des tumeurs bien différenciées à croissance lente, tandis que les HGG sont moins différenciées ou anaplasiques et diffusives, qui filtrent fortement le parenchyme cérébral et rendent la résection chirurgicale difficile.

La classification histologique est actuellement assistée par des études de génétique moléculaire qui fournissent des valeurs diagnostiques, pronostiques et prédictives, et un génotype IDH a récemment été ajouté comme l'un des principaux facteurs moléculaires de la classification des gliomes.

Le nouveau schéma de classification de l'OMS de 2016 divise les gliomes diffus en LGG et en glioblastomes (GBM) sur la base de l'histologie. Les LGG sont en outre divisés en type sauvage ou mutant IDH, qui est ensuite classé soit en un oligodendrogliome qui héberge une co-suppression 1p / 19q ou un astrocytome diffus qui a un locus intact 1p / 19q, mais est enrichi pour les mutations ATRX et TP53 [283].

Selon une classification récente de l'OMS, les glioblastomes sont divisés en un GBM IDH-wt, qui correspond à un GBM primaire ou de novo, et un GBM IDH-mut, qui se réfère à un GBM secondaire ou progressif. Une mutation dans IDH1 est suffisante pour induire des changements à l'échelle du génome dans les schémas de méthylation de l'ADN, y compris le phénotype de méthylateur d'îlot de gliome cytosine phosphate guanine (CpG) (G-CIMP) trouvé dans un sous-ensemble de gliomes, qui est associé à divers changements transcriptionnelles [275, 284].

Le G-CIMP est caractérisé par une hyperméthylation des îles CpG. Parmi les astrocytomes IDH-mut, le regroupement des profils de méthylation peut encore subdiviser ces tumeurs en G-CIMP – faible et G-CIMP – élevé, reflétant une méthylation d'ADN faible ou élevée avec une différence de survie significative.

Les études de méthylation de l'ADN ont fourni la preuve que les tumeurs à G-CIMP élevé peuvent en fait évoluer vers celles qui sont à G-CIMP faible [285]. Les profils de méthylation de l'ADN dans les GBM IDH-mut sont distincts des astrocytomes de bas grade [286].

L'identification de sous-ensembles cliniquement pertinents de tumeurs G-CIMP (G-CIMP – élevé et G-CIMP – bas) a fourni un raffinement supplémentaire dans la classification du gliome qui est indépendant du grade et de l'histologie.

De nombreuses études ont montré que les patients atteints de gliomes IDH-mut ont une meilleure survie par rapport à leurs homologues IDH-wt indépendamment de l'histologie et du grade, faisant de la mutation IDH le facteur pronostique le plus important pour la survie, suivi par l'âge, le grade tumoral et l'ADN O6-méthylguanine statut du gène de la méthyltransférase (MGMT) [287].

Les statistiques cliniques montrent que la survie globale médiane (OS) est de 31 mois pour les patients GBM secondaires avec des mutations IDH contre 15 mois pour ceux sans mutations. Les patients atteints d'astrocytome anaplasique IDH-mut ont 65 mois de SG médiane par rapport à 20 mois chez leurs homologues IDH-wt [288].

La présence de mutations IDH1 chez les patients présentant un oligodendrogliome anaplasique est un facteur pronostique très fort pour la survie global, mais n'a pas de signification prédictive pour l'issue de la chimiothérapie PCV (adjuvant pro-carbazine, 1- (2-chloroéthyl) -3-cyclohexyl-1-nitrosourée, et vincristine) [289]. Toutes les raisons pour lesquelles les patients atteints de gliome présentant des mutations IDH1 présentent de meilleures réponses thérapeutiques et une survie plus longue restent incertaines.

Près de 100% des tumeurs d'origine oligoastrocytaire et oligodendrocytaire hébergent des mutations IDH1 / 2; jusqu'à présent, il n'y a aucune preuve de mutation de l'IDH3 dans les tumeurs gliales. Des mutations IDH1 / 2 ont été trouvées dans la majorité des GBM secondaires (dérivées de tumeurs de bas grade) [288], mais seulement 2-3% étaient trouvés dans les GBM primaires [290] ou les gliomes pédiatriques [291]. Les mutations IDH sont considérées comme l'événement déclencheur primaire dans les gliomes de grade II / III de l'OMS et les GBM secondaires [292].

Plusieurs concepts ont été conçus pour expliquer comment les mutations IDH influencent les résultats des patients. On pense qu'une diminution de l'expression du MGMT, causée par la méthylation du promoteur du gène MGMT, a une influence majeure sur la réactivité des GBM à la thérapie par agents alkylants (c'est-à-dire le témozolomide, TMZ) [293].

Les mutations IDH surviennent plus fréquemment chez les jeunes patients (âge de diagnostic plus jeune) atteints de gliomes de grade II / III de l'OMS, qui ont généralement un meilleur pronostic [288, 294]. Cependant, la mutation IDH1 n'est pas directement ou toujours en corrélation avec la survie des patients. Parmi les patients GBM adultes qui ont survécu au moins 36 mois, moins d'un quart d'entre eux étaient associés au statut IDH1-mut [295]. Cependant, la présence de la mutation IDH1 était un facteur pronostique faible chez les patients GBM avec une survie à long terme [295].

De plus, dans le cas de tumeurs oligodendrogiales de bas grade, la mutation dans IDH1 n'était pas un facteur pronostique. Alors que 91% des oligodendrogliomes comportaient la mutation IDH1, les temps de survie des patients atteints de mutations IDH1 ne sont pas différents des patients comparés avec des tumeurs IDH1. Les patients atteints d'astrocytomes diffus IDH1-mut ont vécu beaucoup plus longtemps.

Cela suggère que les mutations IDH pourraient être un facteur pronostique pour l'astrocytome diffus, mais pas pour l'oligodendrogliome [297].

Plusieurs rapports ont indiqué que le pronostic pour les patients gliomapides avec la mutation IDH1 est associé à des schémas de méthylation de l'ADN. Il existe un sous-type de gliome caractérisé par la présence de la mutation IDH et un faible niveau de méthylation de l'ADN (G-CIMP – faible) qui a été associé à un mauvais résultat [285].

De plus, l'impact des mutations IDH1 sur la survie des patients peut dépendre d'autres facteurs, tels que des altérations du statut de méthylation 1p / 19q, ATRX, PTEN ou MGMT [298, 299].

L'expression de Ki-67 en combinaison avec IDH-mut peut également influencer la survie des patients. Les patients avec IDH1 / 2-mut et un faible niveau d'expression de Ki-67 avaient un pronostic relativement bon, tandis que les patients avec IDH1 / 2-mut et un niveau élevé d'expression de Ki-67 exprimaient significativement un pire pronostic et une petite durée de survie [300].

Les résultats des patients atteints de mutation IDH étaient également associés à la survenue d'altérations du nombre de copies (CNA). Les patients caractérisés par la présence de l'un des ANC, + 7q, + 8q, -9p ou -11p, étaient associés à un pronostic et une survie globale moins bons que les autres patients porteurs de la mutation IDH [301]. De plus, le pronostic et la durée de survie des patients atteints de la mutation IDH peuvent être dépendants du sexe; la présence de la mutation IDH1 était associée à une durée de survie plus longue chez l'homme, mais pas chez la femme [302].

Alors que la présence de mutations IDH est généralement associée à une amélioration des résultats des patients atteints de gliomes, certaines études ont montré le lien entre la présence d'une mutation IDH et le risque de convulsions chez les patients atteints de gliome. Une majorité de patients atteints d'astrocytome de grade II de l'OMS (mais pas de GBM) ont subi des crises préopératoires liées à la présence d'une mutation IDH [303]. Une méta-analyse récente a confirmé que la présence d'une mutation IDH1 est corrélée avec le nombre plus élevé de crises préopératoires chez LGG [304].

3.3. Impact des mutations IDH sur le microenvironnement du gliome

Le microenvironnement des gliomes est hétérogène, et il existe de nombreux cancers et cellules stromales non cancéreuses qui interagissent dynamiquement avec eux-mêmes et avec une matrice extracellulaire. Dans le glioblastome, ce microenvironnement comprend les réactocytes, les cellules endothéliales et de nombreux types d'immunocellules réactifs, parmi les composants de la chaîne cellulaire (jusqu'à 30% de la masse tumorale) sont des microglies et des macrophages associés au gliome. Cette population est composée de microglies cérébrales, d'infiltration, de macrophages dérivés du sang et de cellules suppressives dérivées de myéloïdes. Les molécules dérivées de tumeurs attirent et reprogramment la filtration des microglies et des macrophages et les convertissent en cellules qui supportent l'invasion et produisent une immunosuppression locale et systémique [305, 306].

Des études récentes ont permis de mieux comprendre comment les mutations IDH affectent le microenvironnement du gliome. Les lymphocytes T cytotoxiques (CD8 +, grappe de différenciation positive 8) sont des composants cruciaux de l'immunité adaptative spécifique à la tumeur.

L'infiltration lymphocytaire se produit dans une certaine mesure dans le gliome, et la présence de lymphocytes infiltrant la tumeur (TIL) est prédictive des résultats cliniques [307, 308]. Le nombre de CD8 + TIL était inversement corrélé avec le grade de la tumeur, tandis que le nombre de CD4 + TIL était positivement corrélé avec la tumeur. Réglementation FoxP3 + (fork Head box P3) les lymphocytes ont été observés uniquement dans les GBM [309].

L'étendue des cellules T locales CD8 + associées au gliome dans le filtre de la présentation initiale correspond à la survie à long terme des patients GBM [310]. Le point de contrôle immunitaire des molécules CTLA-4 (cytotoxic T cell antigen4), PD-1 (Programmed cell death protein 1), PD-L1 / 2 (Programmed death-ligand 1/2) et d'autres fournissent des signaux inhibiteurs aux cellules T [311].

Chez les patients atteints de gliome, l'accumulation de cellules T CD4 + / CD8 + et de cellules régulatrices T (Tregs) qui expriment des niveaux élevés de CTLA-4 et PD-1, ou la forte expression de PD-L1 dans les cellules gliomes est en corrélation avec les valeurs élevées et courtes de l'OMS survie [312, 313].

L'impact des mutations IDH sur le microenvironnement immunitaire est en débat. Les analyses des échantillons cliniques et des données d'expression génique de l'Atlas du génome du cancer (TCGA) ont démontré une expression réduite des gènes associés aux lymphocytes T cytotoxiques et des chimiokines inductibles par l'interféron (IFN) - γ (c.-à-d. CXCL10) dans les tumeurs mutantes IDH par rapport à l'IDH-tumeurs tumorales. Introduction d'un mutant IDH1 ou traitement avec du 2-HG réduit les niveaux d'une chimiokine CXCL (motif C-X-C) 10, qui était associée à une diminution de l'expression d'un facteur de transcription STAT1 (transducteur de signal et activateur de la transcription1), inducteur de l'inflammation.

L'expression forcée du mutant IDH1 a également supprimé l'accumulation de cellules T au niveau des sites tumoraux. Ces événements ont été inversés par IDH-C35, un inhibiteur spécifique d'un mutant IDH1 [314]. Une seule étude a montré que la mutation IDH1 n'était pas associée à une augmentation de l'expression intratumorale de PD-1 + TIL ou PD-L1 dans les GBM [315].

Cependant, une étude récente a démontré que l'IDH-wt est associé à une infiltration TIL significativement plus élevée et à une expression PD-L1 parmi tous les gliomes de grade II – IV et au sein de la cohorte de GBM [316]. Dans les LGG et les GBM des cohortes TCGA, une expression du gène PD-L1 significativement plus élevée a été trouvée dans IDH-wt par rapport aux tumeurs IDH-mut. Une expression plus faible du gène PD-L1 était associée à une méthylation accrue du promoteur dans la cohorte LGG de TCGA.

Les gliomes IDH-mut avaient des niveaux de méthylation du promoteur du gène PD-L1 plus élevés que les gliomes IDH-wt [316]. L'expression de PD-L1 était significativement associée à un pire résultat clinique dans les GBM primaires et récurrents à poids IDH [317]. Étant donné que les gliomes IDH1-wt présentent une expression accrue de PD-L1 et une plus grande infiltration de TIL, ces tumeurs sont considérées comme étant plus immunologiquement actives et plus sensibles à un traitement immunomodulateur contre PD-1 / PD-1L que les gliomes IDH-mut.

Ces observations sous-tendent l'importance d'évaluer le statut IDH1 / 2 dans les thérapies immunomodulatrices. Une analyse par cytométrie de flux de la composition immunitaire des gliomes humains avec un statut IDH1 différent a démontré que les gliomes humains mutants IDH1 ont une infiltration significativement plus faible des cellules immunitaires CD45 +, y compris la microglie, les macrophages, les cellules dendritiques, les cellules B et les cellules T, par rapport à IDH1- wt gliomes.

Les gènes régulés à la baisse dans les gliomes IDH1-mut étaient associés aux processus du système immunitaire, et les principaux termes de l'ontologie génique étaient liés à la chimiotaxie et à la migration des cellules immunitaires [318]. L'introduction d'IDH1-mut dans des gliomes transgéniques de souris ayant des antécédents génétiques différents, exprimant le facteur de croissance dérivé des plaquettes alpha (PDGF α), shp53 ou Ink4a / Arf + / + et Ink4a / Arf +/-, a démontré une survie significativement plus courte par rapport aux souris avec IDH1- wt tumeurs. Semblable aux gliomes humains IDH1-mut, des réductions des cellules CD45 +, y compris la microglie, les macrophages, les monocytes et les leucocytes polymorphonucléaires, ont été signalées dans les tumeurs murines IDH1-mut [319, 320].

Des études ex vivo ont démontré que le 2-HG inhibe l'activation du complément, diminue l'opsonisation cellulaire en C3b (iC3b) et la phagocytose médiée par le complément, et inhibe la migration, la prolifération et la sécrétion de cytokines des lymphocytes T. Ceci est compatible avec une réduction des réponses immunitaires de l'hôte dans les gliomes IDH-mut [321]. Un lien direct entre une mutation IDH et les fonctions des cellules T a été récemment démontré. Il a été démontré que le (R) -2-HG dérivé des cellules tumorales est absorbé par les cellules T, où il induit une perturbation du NFAT (facteur nucléaire des cellules T activées) activité transcriptionnelle et biosynthèse des polyamines, ce qui entraîne la suppression de la prolifération et de l'activité des cellules T.

Les gliomes IDH1-mut ont montré une réduction du nombre de lymphocytes T et une signalisation calcique altérée. De manière cohérente, l'immunité antitumorale aux gliomes syngéniques expérimentaux IDH1-mut induits par un vaccin spécifique IDH1 ou une inhibition des points de contrôle a été significativement améliorée par l'inhibition de la fonction enzymatique du mutant IDH1 [318]. Les vaisseaux sanguins du glioblastome sont anormaux et présentent une signature d'expression génétique distincte par rapport aux vaisseaux du cerveau normal [322, 323]. Ces anomalies vasculaires sont liées à une expression élevée de facteurs angiogéniques, notamment le facteur de croissance endothélial vasculaire (VEGF), le facteur de croissance transformant (TGF) β 2 et la pléiotrophine (PTN) [324].

Dans IDH-mut gliomes, (R)-2HG agit comme un facteur de EGL Nprolyl4-hydroxylases, conduisant à une diminution des niveaux de HIF1 α et à une expression réduite des gènes impliqués dans l'hypoxie, et à une signalisation liée à la vascularisation et à l'angiogenèse, telle que: VEGFA, PDGF (facteur de croissance dérivé des plaquettes) ou ANGPT2 (angiopoïétine-2) [324].

Les études transcriptomiques ont montré que l'IDH-wt LGG représentait une signature d'expression génique spécifique, y compris une régulation à la hausse d'ANGPT2 et SERPINH1 (famille SERPIN H), liée à une migration accrue des cellules endothéliales et à un remodelage de la matrice, ce qui suggère que ces tumeurs sont plus angiogéniques que les LGG mutants IDH-mut. L'analyse du facteur de transcription a indiqué une augmentation de la signalisation du TGF β et de l'hypoxie dans les LGG IDH-wt.

En conséquence, les vaisseaux LGH IDH-wt sont moléculairement distincts du système vasculaire des LGG IDH-mut [325]. Toutes les données rapportées ont indiqué des différences importantes dans la composition et la fonctionnalité des différentes cellules créant le microenvironnement des gliomes IDH-wt et IDH-mut.

3.4. Ciblage des gliomes mutants IDH1/IDH2

De nombreuses données précliniques et cliniques ont validé IDH1 / 2 comme une cible importante pour le développement de médicaments antitumoraux. Un nombre croissant d'études utilisant des modèles cellulaires et animaux indiquent que l'inhibition pharmacologique de l'IDH1 / 2 muté offre des avantages thérapeutiques et il existe une justification pour le développement d'inhibiteurs spécifiques aux isoformes (figure 33). En principe, les petites molécules sont conçues pour se lier au sein du site catalytique actif d'un mutant IDH1 / 2 et bloquer le changement de conformation requis pour que l'enzyme convertisse α -KG en 2-HG [326].

Par conséquent, l'inhibition ciblée de IDH1 / 2 muté entraîne une diminution des niveaux intracellulaires et sériques de 2-HG [327, 328], suivie d'une réversion des altérations globales dans un épigénome. Les inhibiteurs ciblés actuels de IDH1 (AG120, IDH305), IDH2 (AG221) et pan-IDH1 / 2 (AG881) inhibent sélectivement l'activité IDH mutante et induisent une différenciation cellulaire dans les modèles in vitro et in vivo.

Les résultats préliminaires des essais cliniques de phase I avec des inhibiteurs de l'IDH chez les patients présentant des malignités hématologiques avancées ont démontré un retard d'objectif de 31% à 40% avec des réponses durables (> 1 an) [329].

L'AG-120 est le premier inhibiteur de petite molécule administré par voie orale, réversible et hautement sélectif du mutant IDH1 / R132H avec une concentration inhibitrice à moitié maximale (CI50) = 40–50 nM. L'AG-120 a réduit les niveaux intracellulaires de 2-HG, inhibé la prolifération cellulaire et libéré un bloc de différenciation induite par l'érythropoïétine dans les cellules TF-1 érythroleucémie humaine hébergeant IDH1 / R132H in vitro et dans les cellules blastiques humaines primaires cultivées ex vivo [327]. L'AG-120 est actuellement évalué dans plusieurs essais cliniques pour le traitement de patients atteints de LAM en rechute ou réfractaire, du syndrome myélodysplasique et de tumeurs solides avancées, notamment le gliome, le chondrosarcome et le cholangiocarcinome avec un mutant IDH1 / R132H (tableau VI).

Les premiers résultats obtenus chez des patients atteints de LAM en rechute ou réfractaire indiquent que la monothérapie est bien tolérée à des doses allant de 100 à 1200 mg et qu'aucune dose maximale tolérée n'a été atteinte. Un taux de réponse global de 36% et un taux de réponse complet de 29,5% ont été induits [330]. De plus, les essais cliniques avec augmentation de la dose ont indiqué un taux de réponse global de 50% [331]. Le taux plasmatique de 2-HG chez les patients atteints de LAM mutante IDH1 a été réduit presque complètement après le traitement par AG-120. Les données préliminaires d'une étude de phase I de patients atteints de gliomes IDH1-mut ont démontré que le traitement par AG-120 n'avait pas dose limitante toxique ni d'effets indésirables graves [332].

AGI-5198 est un inhibiteur IDH1 / R132H hautement sélectif de petite molécule avec une concentration inhibitrice à moitié maximale $IC_{50} = 70 \text{ nM}$ et $IC_{50} > 100 \mu\text{M}$ pour les isoformes IDH1 et IDH2 de type sauvage. Son inhibition de la production de cellules oligodendrogliomes anaplasiques à croissance dépendante de la 2-HG avec une dose dépendante des cellules de gliome hétérozygotes IDH1 / R132H sans influence sur les cellules de gliome IDH1-wt dérivées de patients. AGI-5198 a également réduit la croissance des xénogreffes de gliome IDH1 / R132H humain chez la souris et n'a pas altéré le gliome exprimant IDH1 de type sauvage, sans toxicité significative. Le traitement par AGI-5198 de souris greffées avec un gliome mutant IDH1 a éliminé les marques répressives via une réduction significative de la triméthylation de H3K9 et H3K27 au niveau des promoteurs des gènes associés à la différenciation gliogénique (astrocytaire et oligodendrocytaire), augmentant l'expression de ces gènes [333].

AGI-5198 a également réduit les niveaux de 2-HG dans les cellules de chondrosarcome humain qui hébergent des mutations IDH1 / R132G et IDH1 / R132C de manière dose-dépendante. De plus, AGI-5198 a inhibé de manière significative la formation de colonies et la migration de cellules de chondrosarcome, sans influence sur les chondrocytes normaux humains IDH1-wt, et a induit une mort cellulaire apoptotique et un arrêt du cycle cellulaire G2 / M dans des cellules de chondrosarcome humain *in vitro* [334]. AGI-5198 doit encore entrer dans les essais cliniques.

BAY-1436032 est un inhibiteur oral à petites molécules du pan-mutant IDH1 avec $IC_{50} = 3\text{--}16 \text{ nM}$. Il bloque la production de 2-HG et induit une différenciation myéloïde se manifestant par des changements morphologiques et une expression régulée à la hausse des marqueurs CD14 et CD15 dans des cellules LAM IDH1-mut dérivées de patients cultivées *ex vivo*. Chez les souris avec des xénogreffes LAM implantées, BAY-1436032 a diminué le niveau de 2-HG dans le sérum presque au niveau trouvé dans les tissus normaux et a favorisé la différenciation des cellules blastiques leucémiques qui était en corrélation avec la survie prolongée. L'inhibiteur

pan-mutant IDH1 a affecté la capacité des cellules souches leucémiques à s'auto-renouveler avec une régulation négative des gènes associés à la souche et une régulation positive de celles associées à la différenciation myéloïde. De même pour les autres inhibiteurs de mutants IDH, BAY-1436032 a affecté les niveaux globaux d'histone et de méthylation de l'ADN [335]. L'inhibiteur est entré dans l'évaluation clinique pour le traitement des patients atteints de tumeurs solides avancées, y compris le gliome anaplasique, le GBM et le cholangiocarcinome intrahépatique.

Le FT-2102 est un inhibiteur allostérique oral de petite molécule de mutant IDH1 (IC50 = 10 nM) actuellement soumis à une étude clinique pour le traitement de patients atteints de mutation IDH1-mutAM à risque plus élevé de syndrome myélodysplasique, plus long-terme ou plus réfractaire à la thérapie par voie thérapeutique ou aux traitements homologués. Il est utilisé en dose de 150 mg / jour en monothérapie et en association avec de la azacitidine [326].

HMS-101 est un inhibiteur de petite molécule de mutant IDH1 qui a réduit le niveau de 2-HG, a affecté la prolifération et la voie de signalisation ERK (extracellular signal-regulated kinase) et a inhibé la formation de colonies de cellules murines IDH1-mut et de cellules AML primaires cultivées ex vivo sans affecter les cellules normales de la moelle osseuse [336]. Dans un modèle murin de leucémie, le HMS-101 a bloqué la production de 2-HG et inhibé la prolifération des cellules IDH1-mut. Il induit une différenciation cellulaire, qui est corrélée à la survie prolongée des souris avec les cellules AML IDH1-mut [337]. HMS-101 n'a pas encore été étudié chez les patients.

IDH305 est un inhibiteur allostérique oral, hautement sélectif, de petite molécule du mutant IDH1 / R132H. IDH305 a inhibé la production de 2-HG et la prolifération des cellules tumorales avec une IC50 = 24 nM, et a montré une activité anticancéreuse dans les cellules IDH1 / 132H – mut dans des études précliniques [338]. IDH305 est en cours d'évaluation clinique en tant qu'agent unique ou en combinaison avec des traitements standard pour la thérapie des patients atteints de gliomes progressifs II ou III, de gliomes de bas grade avec des niveaux mesurables de 2-HG, de LAM et d'autres tumeurs malignes avancées abritant des mutations IDH1 / R132H (tableau VI).

Les premiers résultats d'études cliniques ont démontré un potentiel anticancéreux encourageant de l'IDH305 et un profil de sécurité favorable chez les patients atteints de LAM hébergeant un mutant IDH1 / 132H [338].

AGI-6780 est un inhibiteur allostérique à petites molécules conçu pour cibler l'IDH2 / R140Q avec $IC_{50} = 170$ nM et $IC_{50} > 100$ μ M pour IDH1 / 132H. Il a diminué le niveau de 2-HG intracellulaire et extracellulaire d'une manière dépendante de la dose et du temps et a induit une différenciation des cellules d'érythroleucémie humaine IDH2-mut TF-1 in vitro et des cellules LAM humaines primaires cultivées ex vivo [339]. L'AGI-6780 a inversé l'hyperméthylation de l'ADN en plusieurs semaines, tandis que l'hyperméthylation d'histones a été supprimée en quelques jours [340]. AGI-6780 doit encore entrer dans les essais cliniques.

AG-221 (enasidenib, CC-90007) est un inhibiteur oralement réversible et hautement sélectif du mutant IDH2 / R140Q avec $IC_{50} = 12$ nM. L'AG-221 a réduit les taux sériques de 2-HG et induit une différenciation myéloïde des cellules blastiques leucémiques LAM greffées à des souris immunodéficientes. L'AG-221 est actuellement évalué dans plusieurs essais cliniques pour son utilisation dans les tumeurs hématologiques avancées positives pour un IDH2 muté [328]. L'AG-221 a diminué le taux de 2-HG dans la moelle, le plasma et l'urine des souris xénotransplantées et a favorisé des avantages de survie significatifs en fonction de la dose [341]. À l'heure actuelle, AG-221 est à l'étude dans des essais cliniques pour le traitement de patients atteints de malignités IDH2-mut hématologiques avancées. Les données cliniques préliminaires indiquent que la monothérapie avec l'AG-221 a entraîné une diminution jusqu'à 98% du taux plasmatique de 2-HG, et le médicament a été bien toléré [342].

Les niveaux de 2-HG chez les patients atteints de LAM IDH2-mut ont été abaissés au niveau des volontaires sains [343]. Le traitement AG-221 a favorisé la différenciation des cellules leucémiques en cellules myéloïdes matures [331], et induit un taux de réponse global objectif de 41% et une réponse complète chez 28% des patients atteints de LAM [331].

Un taux de réponse global chez les patients atteints d'autres tumeurs malignes hématologiques était de 56% [331]. De plus, l'AG-221 a été développé cliniquement pour le traitement en combinaison avec la chimiothérapie standard et les agents hypométhylants chez les patients atteints de LAM nouvellement diagnostiqués [329].

Récemment, l'inhibiteur est entré dans des essais cliniques pour le traitement de patients atteints de tumeurs solides avancées, notamment le gliome, le chondrosarcome et le cholangiocarcinome avec un IDH2 muté (tableau VI).

AG-881 est une petite molécule, inhibiteur du mutant IDH1 / 2 administré par voie orale. Des études précliniques ont indiqué que les blocs AG-881 bloquaient les protéines IDH1 et IDH2 avec $IC_{50} = 0,04\text{--}22\text{nM}$, diminuaient le niveau de 2-HG et traversaient la barrière hémato-encéphalique. L'AG-881 a été montré comme un pénétrant cérébral complet et, par conséquent, peut éventuellement représenter un agent plus efficace pour la thérapie des patients atteints de gliomes IDH1 / 2-mut [326]. Un inhibiteur pan-IDH1 / 2 serait un médicament de deuxième génération dans les cancers IDH-mut [329]. L'AG-881 est actuellement à l'étude dans des essais cliniques pour des patients atteints de tumeurs solides, y compris des gliomes et des tumeurs hématologiques avancées hébergeant des mutations IDH1 et / ou IDH2 qui ont progressé avant le traitement avec l'utilisation d'inhibiteurs mutants de l'IDH [326,329]. Comme l'AG-881 a récemment fait l'objet d'une évaluation clinique chez les patients, aucun rapport de données n'est encore disponible (tableau VI).

Tableau VI: Résumé des essais cliniques avec des inhibiteurs d'isocitrate déshydrogénase spécifiques aux isoformes [326, 329-335, 337-341, 344].

Inhibitor	Target	Cancer	Current Status of Clinical Trials	Identifier at ClinicalTrials.Gov	Company
AG-120	Mutant IDH1	Cholangiocarcinoma, chondrosarcoma, glioma and advanced solid tumors	Phase I	NCT02073994	Agios Pharmaceuticals Inc./Celgene Corporation
		Advanced hematologic malignancies: relapsed or refractory AML, untreated AML, other hematologic malignancies	Phase I	NCT02074839	Agios Pharmaceuticals Inc./Celgene Corporation
		Newly diagnosed AML, untreated AML, AML arising from MDS, AML arising from antecedent hematologic disorder, AML arising after exposure to genotoxic injury	Phase I	NCT02632708	Agios Pharmaceuticals Inc./Celgene Corporation
		Newly diagnosed AML	Phase Ib/II	NCT02677922	Agios Pharmaceuticals Inc./Celgene Corporation
Inhibitor	Target	Cancer	Current Status of Clinical Trials	Identifier at ClinicalTrials.Gov	Company
AG-221 (Enasidenib)	Mutant IDH2	Advanced hematologic malignancies	Phase I/II	NCT01915498	Agios Pharmaceuticals Inc./Celgene Corporation
		Advanced solid tumors including glioma, angioimmunoblastic T-cell lymphoma, intrahepatic cholangiocarcinoma chondrosarcoma	Phase I/II	NCT02273739	Agios Pharmaceuticals Inc./Celgene Corporation
		Late-stage AML	Phase III	NCT02577406	Agios Pharmaceuticals Inc./Celgene Corporation
		Newly diagnosed AML, untreated AML, AML arising from MDS, AML arising from AHD, AML arising after exposure to genotoxic injury	Phase I	NCT02632708	Agios Pharmaceuticals Inc./Celgene Corporation
		Newly diagnosed AML	Phase Ib/II	NCT02677922	Agios Pharmaceuticals Inc./Celgene Corporation
AG-881	Mutant IDH1 and IDH2	Advanced hematologic malignancies: AML, MDS	Phase I	NCT02492737	Agios Pharmaceuticals Inc./Celgene Corporation
		Advanced solid tumors: cholangiocarcinoma chondrosarcoma, gliomas	Phase I	NCT02481154	Agios Pharmaceuticals Inc./Celgene Corporation
AGI-6780	Mutant IDH2	AML	-	-	Agios Pharmaceuticals Inc.
AGI-5198	Mutant IDH1	Chondrosarcoma, low-grade WHO glioma	-	-	Xcess Biosciences Inc.
BAY-1436032	Mutant IDH1	Advanced solid tumors, including anaplastic glioma, glioblastoma, intrahepatic cholangiocarcinoma	Phase I	NCT02746081	Bayer
FI-2102	Mutant IDH1	AML, high-risk MDS	Phase I/Ib	NCT02719574	Forma Therapeutics Inc.
HMS-101	Mutant IDH1	AML	-	-	Ascension GmnH
IDH305	Mutant IDH1	II or III WHO glioma	Phase II	NCT02977689	Novartis AG Pharmaceuticals
		Low-grade glioma	Phase II	NCT02987010	
		AML and advanced solid tumors including cholangiocarcinoma and glioma	Phase I	NCT02381886	
		AML	Phase I	NCT02826642	

3.5. Développement de vaccins peptidiques ciblant IDH1-R132H

Il a été démontré qu'une protéine IDH1-R132H contient un épitope immunogène approprié pour le développement d'un vaccin spécifique aux protéines mutantes. Une fraction des patients atteints de gliome IDH1-mut ont des anticorps spécifiques aux isoformes et ont montré une réponse des cellules T IFN- γ contre une protéine mutante IDH1 (mutIDH1).

Des peptides englobant la région modifiée ont été présentés sur des complexes majeurs d'histocompatibilité (CMH) de classe II et ont induit des réponses spécifiques CD4 + T-helper-1 (TH1) contre une IDH1 modifiée. Le criblage des bibliothèques de peptides autour de la région modifiée de l'IDH1-R132H a été effectué pour identifier les peptides qui induiraient une réponse d'interféron- γ (IFN- γ) dans les cellules T.

Un vaccin peptidique consistant en un peptide 20-mères a été dérivé de l'IDH1-R132H. La vaccination peptidique de souris humanisées (transgéniques pour les molécules MHC I et II humaines) avec des tumeurs IDH1-R132H a entraîné l'induction de réponses immunitaires antitumorales spécifiques et la restriction de la croissance de tumeurs syngéniques exprimant IDH1-R132H. L'appauvrissement en lymphocytes T a abrogé la réduction de la croissance tumorale IDH1-mut après la vaccination peptidique IDH1 [345].

Une bonne efficacité similaire du vaccin mutIDH1 a été démontrée dans un modèle murin GL261, dans lequel une immunisation de souris portant des gliomes mutIDH1 / R132H GL261 a été réalisée. Les souris avec des gliomes IDH1-GL261, mais non-parentaux GL261, ont survécu à des contrôles plus longs que les contrôles avec des peptides mutIDH1; 25% d'entre eux ont été guéris. La vaccination avec des peptides a entraîné un nombre plus élevé de cellules T CD8 + périphériques, des niveaux plus élevés d'IFN- γ et la présence d'anticorps anti-mIDH1. Une régulation à la hausse intratumorale de l'IFN- γ , du Granzyme-B et de la Perforine-1, ainsi qu'une régulation à la baisse du TGF β 2 et de l'IL (interleukine) -10 suggèrent une augmentation de l'immunité antitumorale [346].

Il a été suivi d'un essai clinique (NOA-16) du vaccin peptidique IDH1 ciblant l'IDH1-R132H pour évaluer l'innocuité et la tolérabilité, ainsi que les réponses immunitaires au vaccin chez des patients atteints de gliomes malins IDH1-R132H [347].

Les premiers résultats ont montré que NOA-16 démontrait l'innocuité et l'immunogénicité d'un vaccin peptidique mutant IDH1-R132H chez des patients atteints d'astrocytomes malins IDH1-R132H nouvellement diagnostiqués [348]. Ces résultats encourageants ont fourni une preuve solide qu'un vaccin IDH1-R132H spécifique d'une mutation peut représenter une nouvelle stratégie thérapeutique fiable pour les tumeurs mutantes IDH1-R132H [349].



Conclusion



VI. Conclusion

Le cycle de Krebs, également connu sous le nom de cycle d'acide citrique, est une suite de réactions enzymatiques qui relâche l'énergie des hydrates de carbone, des graisses, et des protéines. Il produit également les précurseurs d'acides aminés et le dinucléotide de l'adénine nicotinamide réduit (NADH). C'est la voie métabolique primaire pour tous les procédés aérobie en tissu animal. Chez les eucaryotes, le cycle de Krebs a lieu dans la mitochondrie alors que chez les procaryotes, il se produit dans le cytosol.

Plusieurs raisons justifient le renouveau d'intérêt que connaît le métabolisme du cycle de Krebs. D'une part le cycle de Krebs participe à la fois au catabolisme et à l'anabolisme, c'est une véritable plaque tournante du métabolisme. Il est dit amphibolique. D'autre part, les anomalies liées aux mutations des enzymes du cycle de Krebs sont peu connues mais leurs conséquences sont parfois létales.

Parmi les enzymes clés du cycle de Krebs, on trouve la Succinate déshydrogénase qui catalyse l'oxydation du Succinate en Fumarate. Elle a un rôle important dans le métabolisme cellulaire et la méthylation d'ADN. Cette enzyme est connue maintenant comme suppresseur de tumeur alors que ses mutations ont été identifiées dans des anomalies neurodégénératives notamment dans les formes familiales des phéochromocytomes et des paragangliomes.

Le complexe α -cétoglutarate déshydrogénase qui catalyse la décarboxylation oxydative de l' α -cétoglutarate en Succinyl-CoA avec production de NADH+H⁺ et dégagement de CO₂, participe à l'adaptation du métabolisme mitochondrial et à la structure des besoins bioénergétiques. En plus, il contribue à la reprogrammation métabolique et épigénétique des cellules cancéreuses.

L'isocitrate déshydrogénase catalyse l'oxydation de l'isocitrate en Oxalosuccinate, elle catalyse également la décarboxylation de l'Oxalosuccinate, instable, en α -cétoglutarate avec dégagement de CO_2 . Elle comporte trois gènes IDH1, IDH2, IDH3 mais seules les gènes IDH1/2 ont été étudiés pour leurs relations avec des cancers spécifiquement les leucémies aiguës et les gliomes.

Ces différentes anomalies des enzymes citées rompent la continuité et l'équilibre du cycle de Krebs, ce qui perturbe la balance du métabolisme cellulaire interne. Cela altère l'état général des patients ce qui rend primordial une surveillance continue en cas de suspicion surtout pour les anomalies familiales à prédisposition génétique.

Avec la description des différents phénotypes associés aux mutations dans les gènes des enzymes du cycle de Krebs, il est rapidement apparu que les fonctions et les caractéristiques de ce cycle, ainsi que le rôle des intermédiaires métaboliques qu'il inter-convertisse, étaient loin d'être réductibles au schéma traditionnellement admis.



Résumés



Résumé

Titre : les anomalies du cycle de Krebs.

Auteur : Yasmina Gaoual.

Rapporteur : Pr Saida TELLAL.

Mots clés : Cycle de Krebs – anomalies- Succinate déshydrogénase- α cétooglutarate déshydrogénase – isocitrate déshydrogénase.

Le cycle de Krebs est une plaque tournante qui permet la production de l'énergie, il est le point de jonction des différentes voies métaboliques. Son équilibre et sa continuité nécessite l'intégrité des enzymes intervenant à chaque étape du cycle. Les enzymes médiateurs participant à ce métabolisme jouent un rôle de carburant qui initie et stabilise le déroulement du cycle.

Les dysfonctionnements du cycle de Krebs liés aux mutations de certaines enzymes qui possèdent un rôle clé au sein du cycle ainsi que dans sa régulation donnent des anomalies et des phénotypes métaboliques qui peuvent aboutir dans la majorité des cas à des cancers. Prenant le cas des enzymes les plus pertinentes du cycle qui sont :

La Succinate déshydrogénase qui participe à la méthylation de l'ADN, son accumulation assume une majeure partie de la responsabilité liée aux développements de cancers. Le complexe α cétooglutarate déshydrogénase qui contribue à adapter le métabolisme mitochondrial aux besoins bioénergétiques. En plus, les mutations des gènes IDH1/IDH2 de l'isocitrate déshydrogénase sont associées à un mauvais pronostic vital. Ces pathologies altèrent la balance générale de l'organisme en perturbant le métabolisme cellulaire.

Le taux des recherches concernant les mutations des enzymes du cycle de Krebs est augmenté avec le nombre croissant des anomalies associées à ces mutations et leur relation avec plusieurs types de cancers notamment les leucémies aigues, les paragangliomes, les gliomes et surtout les formes familiales du phéochromocytome. Il est ainsi indispensable de maintenir l'intégrité et l'équilibre de ces enzymes pour garder à la fois le bon métabolisme cellulaire et prévenir les anomalies liés à leurs dysfonctionnements.

Abstract

Title : Krebs cycle abnormalities

Author : Yasmina Gaoual

Rapporteur : Pr Saida TELLAL

Keywords : Krebs cycle - anomalies - Succinate dehydrogenase - α ketoglutarate dehydrogenase - isocitrate dehydrogenase.

The Krebs cycle is a platform for energy production and the junction point of different metabolic pathways. Its balance and continuity requires the integrity of the enzymes involved at each stage of the cycle. The mediating enzymes participating in this metabolism plays a fuel role which initiates and stabilizes the course of the cycle.

The dysfunctions of the Krebs cycle linked to mutations of certain enzymes which play a key role within the cycle as well as in its regulation give rise to abnormalities and metabolic phenotypes which can lead in the majority of cases to cancers. Taking the case of the most relevant enzymes of the cycle which are :

Succinate dehydrogenase which participates in the methylation of DNA, its accumulation assumes a major part of the responsibility related to the development of cancers. The complex α ketoglutarate dehydrogenase which helps to adapt the mitochondrial metabolism to bioenergetic needs. In addition, mutations in the IDH1 / IDH2 genes of isocitrate dehydrogenase are associated with a bad vital prognosis. These pathologies alter the general balance of the organism by disrupting cellular metabolism.

The rate of research concerning mutations in the enzymes of the Krebs cycle is increased with the growing number of anomalies associated with these mutations and their relationship with several types of cancer, in particular acute leukemias, paragangliomas, gliomas and especially familial forms of pheochromocytoma. It is also essential to maintain the integrity and balance of these enzymes in order to both maintain a good cellular metabolism and prevent abnormalities linked to their dysfunctions.

ملخص

العنوان: تشوهات دورة كريبس.

من طرف: ياسمينة كوال.

المشرف: الاستاذة سعيدة طلال.

الكلمات الأساسية: دورة كريبس – تشوهات-ألفا كيتوغلوتارات نازعة الهيدروجين -إيزوسيترات نازعة الهيدروجين -سكسينات نازعة الهيدروجين.

دورة كريبس هي محور لإنتاج الطاقة ونقطة تقاطع مسارات التمثيل الغذائي المختلفة. يتطلب توازنها واستمراريتها سلامة الإنزيمات المشاركة في كل مرحلة من مراحل الدورة. تلعب الإنزيمات الوسيطة المشاركة في عملية التمثيل الغذائي دوراً للوقود الذي يبدأ الدورة وتثبت مسارها.

إن اختلالات دورة كريبس المرتبطة بطفرات بعض الإنزيمات التي تلعب دوراً رئيسياً في الدورة وكذلك في تنظيمها تؤدي إلى حدوث تشوهات وأنماط استقلابية يمكن أن تؤدي في معظم الحالات إلى حالات السرطان. إذا أخذنا حالة الأنزيمات الأكثر صلة بالدورة والتي تتمثل في:

سكسينات نازعة هيدروجيناز التي تشارك في عمليات ميثيل الحمض النووي، فإن تراكمها يتحمل جزءاً كبيراً من المسؤولية المتعلقة بتطور السرطانات. إنزيم ألفا الكيتوغلوتارات المعقد الذي يساعد على تكييف عملية الميثيل الغذائي للميتوكوندريا مع احتياجات الطاقة الحيوية. بالإضافة إلى ذلك، ترتبط الطفرات في جينا IDH1 / IDH2 لأنزيم إيزوسيترات نازعة الهيدروجين بتدهور الحالة الصحية، هذه الأمراض قد تغير التوازن العام للكائن الحي عن طريق تعطيل عملية الأيض الخلوي.

يزداد معدل البحث المتعلق بطفرات الأنزيمات في دورة كريبس مع زيادة عدد الحالات الشاذة المرتبطة بهذه الطفرات وعلاقتها بعدة أنواع من السرطان، وخاصة سرطان الدم الحاد، الأورام الظهارية الدبقية، ورم الدبقي، وخاصة الأشكال العائلية من ورم القواتم. ومع ذلك، من الضروري الحفاظ على سلامة وتوازن هذه الإنزيمات من أجل الحفاظ على استقلاب جيد للخلية ومنع حدوث خلل في وظائفها.



Références Bibliographiques

Et Webographiques



- [1] **Tutorat saint Lyon sud.** Métabolisme/ cycle de Krebs/ cours du professeur C.RODRIGEZ.
- [2] **Dictionnaire français ;** www.linternaute.fr. Consulté en février 2020.
- [3] **lehninger principles of biochemistry fourth edition.** Copyright 2004 by W.H.FREEMAN and company.
- [4] **Gest.H;** « Evolutionary roots of the citric acid cycle in prokaryotes », Biochemical Society Symposium, vol. 54, 1987, p. 3-16.
- [5] **Enrique Meléndez.H, Thomas.G, Waddell et Marta.C ;** « The puzzle of the Krebs citric acid cycle: Assembling the pieces of chemically feasible reactions, and opportunism in the design of metabolic pathways during evolution », Journal of Molecular Evolution, vol. 43, n° 1, September 1996, p. 293-303.
- [6] **Dr DJEDDI.M ;** Faculté de médecine Annaba : cours du cycle de Krebs. Consulté en février 2020.
- [7] **Cours 108 / cycle_de_Krebs / résumé ;** www.ebiologie.fr, consulté en février 2020.
- [8] **Corthésy-Theulaz.E, Gabriela.E. Bergonzelli, Henry.H, Daniel.B, Daniel.F, Schorderet, André.L, Blum ET Nicholas Ornston.L;** « Cloning and Characterization of Helicobacter pylori Succinyl CoA: Acetoacetate CoA-transferase, a Novel Prokaryotic Member of the CoA-transferase Family ». Journal of Biological Chemistry, vol. 272, n° 41, 10 October 1997, p. 25659-25667.
- [9] **Anthony.D. B, Scott.J.G, Catherine.V ET William.R. Jacobs.Jr;** « An Anaerobic-Type α -Ketoglutarate Ferredoxin Oxidoreductase Completes the Oxidative Tricarboxylic Acid Cycle of Mycobacterium tuberculosis » PLoS Pathogens, vol. 5, n° 11, November 2009.
- [10] **Shuyi Zhang ET Donald A. Bryant;** « The Tricarboxylic Acid Cycle in Cyanobacteria », Science, vol. 334, n° 6062, 16 décembre 2011, p. 1551-1553.

- [11] **Maxim.V. I ET Gregory.T. M;** « Mitochondrial Free Ca²⁺ Levels and Their Effects on Energy Metabolism in Drosophila Motor Nerve Terminals » *Biophysical Journal*, vol. 104, n° 11, 4 juin 2013, p. 2353-2361.
- [12] **Richard.M.D, Philip.J.R, Barbara.J.B, Ronald.H.C, Alan.L.K, Helen.T.P, David.L.S, David.S ET Susan.W;** « Regulation of mammalian pyruvate dehydrogenase ». *Molecular and Cellular Biochemistry*, vol. 9, n° 1, October 1975, p. 27-53.
- [13] **Revue francophone des laboratoires ;** n° 501 Avril 2018.
- [14] **Kayode.S.O et Bernard.D.L ;** « The quaternary structure of the *Saccharomyces cerevisiae* Succinate dehydrogenase. Homology modeling, cofactor docking, and molecular dynamics simulation studies » *Journal of Biological Chemistry*, vol. 279, no 10, 5 mars 2004, p. 9424-9431.
- [15] **Oyedotun.K.S, C.S.Sit, and Lemire.B.D;** “The *Saccharomyces cerevisiae* Succinate dehydrogenase does not require heme for ubiquinone reduction” *Biochimica et Biophysica Acta: Bioenergetics*, vol. 1767, no. 12, pp. 1436–1445, 2007.
- [16] **Silkin.Y, Oyedotun.K.S, and Lemire.B.D;** “The role of Sdh4p Tyr-89 in ubiquinone reduction by the *Saccharomyces cerevisiae* Succinate dehydrogenase” *Biochimica et Biophysica Acta—Bioenergetics*, vol. 1767, no. 2, pp. 143–150, 2007.
- [17] **Sun.F, Huo.X, Zhai.Y et al ;** “Crystal structure of mitochondrial respiratory membrane protein complex II ” *Cell*, vol. 121, no. 7, pp. 1043–1057, 2005.
- [18] **Alston.T.A, Mela.L, and Bright.H.J;** “3-Nitropropionate, the toxic substance of *Indigofera*, is a suicide inactivator of Succinate dehydrogenase,” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 74, no. 9, pp. 3767–3771, 1977.

- [19] **Gutman.M and Silman.N;** “The steady state activity of Succinate dehydrogenase in the presence of opposing effectors .II. Reductive activation of Succinate dehydrogenase in presence of oxaloacetate,” *Molecular and Cellular Biochemistry*, vol. 7, no.3, pp. 177–185, 1975.
- [20] **Gunasekaran.P and Tauro.P;** “Mechanism of action of carboxin and the development of resistance in yeast” *Journal of Biosciences*, vol. 4, no. 2, pp. 219–225, 1982.
- [21] **Chauveau.M and Roussaux.J;** “EPR studies on 6-benzoylaminopurine and thenoyltrifluoroacetone inhibition sites of Succinate dehydrogenase in plant mitochondria” *Plant and Cell Physiology*, vol. 37, no. 7, pp. 914–921, 1996.
- [22] **Baysal.BE, Ferrell.RE, Willett-Brozick .JE, et al;** Mutations in SDHD, a mitochondrial complex II gene, in hereditary paraganglioma. *Science* 2000; 287: 848-51.
- [23] **Favier.J, Gimenez-Roqueplo.AP;** La genétique des paragangliomes et des pheochromocytomes. *Med Sci (Paris)* 2012 ; 28 : 625-32.
- [24] **Sun.F, Huo.X, Zhai.YJ, Wang.AJ, Xu.JX, Su.D, Bartlam.M, Rao.ZH;** Crystal structure of mitochondrial respiratory membrane protein complex II. *Cell*. 2005; 121:1043–1057.
- [25] **Johnson.JD, Mehus.JG, Tews.K, Milavetz.BI, Lambeth.DO;** Genetic evidence for the expression of ATP- and GTP-53825, specific succinyl-CoA synthetases in multicellular eucaryotes. *J Biol Chem*. 1998; 273:27580–27586.
- [26] **Xu.K, Sun.X, Eroku.BO, Tsipis.CP, Puchowicz.MA, LaManna.JC;** Diet-induced ketosis improves cognitive performance in aged rats. *Adv Exp Med Biol*. 2010; 662:71–75.

- [27] **Frezza.C, Zheng.L, Folger.O, Rajagopalan.KN, MacKenzie.ED, Jerby.L, Micaroni.M, Chaneton.B, Adam.J, Hedley.A, Kalna.G, Tomlinson.IPM, Pollard.PJ, et al;** Haem oxygenase is synthetically lethal with the tumour suppressor fumarate hydratase. *Nature*. 2011; 477:225–228.
- [28] **Adler.J, Wang.SF, Lardy.HA;** The metabolism of itaconic acid by liver mitochondria. *J Biol Chem*. 1957; 229:865–879.
- [29] **Wang.SF, Adler.J, Lardy.HA;** The pathway of itaconate metabolism by liver mitochondria. *J Biol Chem*. 1961; 236:26–30.
- [30] **Mills.E, O’Neill.LA;** Succinate: a metabolic signal in inflammation. *Trends Cell Biol*. 2014; 24:313–320.
- [31] **Desideri.E, Vegliante.R, Ciriolo.MR.** Mitochondrial dysfunctions in cancer: genetic defects and oncogenic signaling impinging on TCA cycle activity. *Cancer Lett*. 2015; 356:217–223.
- [32] **Tretter.L, Patocs.A, Chinopoulos.C;** Succinate: An intermediate in metabolism, signal transduction, ROS, hypoxia, and tumorigenesis. *Biochim Biophys Acta*. 2016; 1857:1086–1101.
- [33] **Selak.MA, Armour.SM, MacKenzie.ED, Boulahbel.H, Watson.DG, Mansfield.KD, Pan.Y, Simon.MC, Thompson.CB, Gottlieb.E;** Succinate links TCA cycle dysfunction to oncogenesis by inhibiting HIF-alpha prolyl hydroxylase. *Cancer Cell*. 2005; 7:77–85.
- [34] **Baysal.BE, Ferrell.RE, Willett-Brozick.JE, Lawrence.EC, Myssiorek.D, Bosc.A, van der Mey.A, Taschner.PE, Rubinstein.WS, Myers.EN, Richard.CW 3rd, Cornelisse.CJ, Devilee.P, Devlin.B;** Mutations in SDHD, a mitochondrial complex II gene, in hereditary paraganglioma. *Science*. 2000; 287:848–851.
- [35] **Bardella.C, Pollard.PJ, Tomlinson.I;** SDH mutations in cancer. *Biochim Biophys Acta*. 2011; 1807:1432–1443.

- [36] **Ricketts.C, Woodward.ER, Killick.P, Morris.MR, Astuti.D, Latif.F, Maher.ER;** Germline SDHB mutations and familial renal cell carcinoma. *J Natl Cancer Inst.* 2008; 100:1260–1262.
- [37] **Cervera.AM, Bayley.JP, Devilee.P, McCreath.KJ;** Inhibition of Succinate dehydrogenase dysregulates histone modification in mammalian cells. *Molecular Cancer.* 2009; 8.
- [38] **Xiao.MT, Yang.H, Xu.W, Ma.SH, Lin.HP, Zhu.HG, Liu.LX, Liu.Y, Yang.C, Xu.YH, Zhao.SM, Ye.D, Xiong.Y, et al;** Inhibition of alpha-KG-dependent histone and DNA demethylases by fumarate and Succinate that are accumulated in mutations of FH and SDH tumor suppressors. *Genes & Development.* 2012; 26:1326–1338.
- [39] **Zecchini.V, Madhu.B, Russell.R, Pertega-Gomes.N, Warren.A, Gaude.E, Borlido.J, Stark.R, Ireland-Zecchini.H, Rao.R, Scott.H, Boren.J, Massie.C, et al;** Nuclear ARRB1 induces pseudohypoxia and cellular metabolism reprogramming in prostate cancer. *EMBO J.* 2014; 33:1365–1382.
- [40] **Lisanti.S, Garlick.DS, Bryant.KG, Tavecchio.M, Mills.GB, Lu.Y, Kossenkov.AV, Showe.LC, Languino.LR, Altieri.DC;** Transgenic Expression of the Mitochondrial Chaperone TNFR-associated Protein 1 (TRAP1) Accelerates Prostate Cancer Development. *J Biol Chem.* 2016; 291:25247–25254.
- [41] **Van Vranken.JG, Na.U, Winge.DR, Rutter.J;** Protein-mediated assembly of succinate dehydrogenase and its cofactors. *Crit Rev Biochem Mol Biol.* 2015; 50:168–180.
- [42] **Rasola.A, Neckers.L, Picard.D;** Mitochondrial oxidative phosphorylation TRAP (1) ped in tumor cells. *Trends Cell Biol.* 2014; 24:455–463.
- [43] **www.impactjournals.com/oncotarget ;** consulté en février 2020.
- [44] **Vander Heiden.MG, Cantley.LC, Thompson.CB;** Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation. *Science.* 2009; 324:1029–1033.

- [45] **Warburg.O**; On the origin of cancer cells. *Science*. 1956; 123:309–314.
- [46] **Ward.PS, Thompson.CB**. Metabolic reprogramming: a cancer hallmark even Warburg did not anticipate. *Cancer Cell*. 2012; 21:297–308.
- [47] **Tohme.S, Yazdani.HO, Liu.Y, Loughran.P, van der Windt.DJ, Huang.H, Simmons.RL, Shiva.S, Tai.S, Tsung.A**; Hypoxia mediates mitochondrial biogenesis in hepatocellular carcinoma to promote tumor growth via HMGB1 and TLR9 interaction. *Hepatology*. 2017; 66:182–197.
- [48] **De Berardinis.RJ, Lum.JJ, Hatzivassiliou.G, Thompson.CB**; The biology of cancer: metabolic reprogramming fuels cell growth and proliferation. *Cell Metab*. 2008; 7:11–20.
- [49] **LeBleu.VS, O’Connell .JT, Gonzalez Herrera.KN, Wikman.H, Pantel.K, Haigis MC, de Carvalho.FM, Damascena.A, Domingos Chinen .LT, Rocha.RM, Asara. JM, Kalluri.R**. PGC-1alpha mediates mitochondrial biogenesis and oxidative phosphorylation in cancer cells to promote metastasis. *Nat Cell Biol*. 2014; 16:992–1003, 1001–1015.
- [50] **Stine.ZE, Walton.ZE, Altman.BJ, Hsieh.AL, Dang.CV**; MYC, Metabolism, and Cancer. *Cancer Discov*. 2015; 5:1024–1039.
- [51] **Semenza.GL, Wang.GL**; A nuclear factor induced by hypoxia viade novo protein synthesis binds to the human erythropoietin gene enhancer at a site required for transcriptional activation. *Molecular and Cell Biology*. 2006; 12:5447–5454.
- [52] **Wang.GL, Semenza.GL**; Purification and characterization of hypoxia-inducible factor 1. *J Biol Chem*. 1995; 270:1230– 1237.
- [53] **Ke.QD, Costa.M**; Hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1). *Molecular Pharmacology*. 2006; 70:1469–1480.

- [54] **Hu.CJ, Sataur.A, Wang.L, Chen.H, Simon.MC**; The N-terminal transactivation domain confers target gene specificity of hypoxia-inducible factors HIF-1alpha and HIF-2alpha. *Mol Biol Cell*. 2007; 18:4528–4542.
- [55] **Bruick.RK, McKnight.SL**; A conserved family of prolyl-4- hydroxylases that modify HIF. *Science*. 2001; 294:1337–1340.
- [56] **Brahimi-Horn.C, Pouyssegur.J** ; The role of the hypoxia-inducible factor in tumor metabolism growth and invasion. *Bull Cancer*. 2006; 93:73–80.
- [57] **Russell.EG, Cotter.TG**; New Insight into the Role of Reactive Oxygen Species (ROS) in Cellular Signal-Transduction Processes. *Int Rev Cell Mol Biol*. 2015; 319:221–254.
- [58] **Pang.Y, Qin.G, Wu.L, Wang.X, Chen.T**; Artesunate induces ROS-dependent apoptosis via a Bax-mediated intrinsic pathway in Huh-7 and Hep3B cells. *Exp Cell Res*. 2016; 347:251–260.
- [59] **Sabharwal.SS, Schumacker.PT**; Mitochondrial ROS in cancer: initiators, amplifiers or an Achilles' heel? *Nat Rev Cancer*. 2014; 14:709–721.
- [60] **Ishii.T, Yasuda.K, Akatsuka.A, Hino.O, Hartman.PS, Ishii.N**; A mutation in the SDHC gene of complex II increases oxidative stress, resulting in apoptosis and tumorigenesis. *Cancer Res*. 2005; 65:203–209.
- [61] **Wojtovich.AP, Foster.TH**; Optogenetic control of ROS production. *Redox Biol*. 2014; 2:368–376.
- [62] **Guzy.RD, Sharma.B, Bell.E, Chandel.NS, Schumacker.PT**; Loss of the SdhB, but Not the SdhA, subunit of complex II triggers reactive oxygen species-dependent hypoxia-inducible factor activation and tumorigenesis. *Mol Cell Biol*. 2008; 28:718–731.
- [63] **Song.HY, Dunbar.JD, Zhang.YX, Guo.D, Donner.DB**; Identification of a protein with homology to hsp90 that binds the type 1 tumor necrosis factor receptor. *J Biol Chem* (1995) 270(8):3574–81. doi:10.1074/jbc.270.8.3574.

- [64] **Chen.CF, Chen.Y, Dai.K, Chen.PL, Riley.DJ, Lee.WH;** A new member of the hsp90 family of molecular chaperones interacts with the retinoblastoma pro-teín during mitosis and after heat shock. *Mol Cell Biol* (1996) 16(9):4691–9. doi:10.1128/MCB.16.9.4691
- [65] **Picard.D;** Preface to Hsp90. *Biochim Biophys Acta* (2012) 1823(3):605–6. doi:10.1016/j.bbamcr.2012.02.004
- [66] **Rohl.A, Rohrberg.J, Buchner.J;** The chaperone Hsp90: changing partners for demanding clients. *Trends Biochem Sci* (2013) 38(5):253–62. Doi: 10.1016/j.tibs.2013.02.003.
- [67] **Vyas.S, Zaganjor.E, Haigis.MC;** Mitochondria and cancer. *Cell* (2016) 166(3):555–66. doi:10.1016/j.cell.2016.07.002.
- [68] **Rasola.A, Neckers.L, Picard.D;** Mitochondrial oxidative phosphorylation TRAP (1) ped in tumor cells. *Trends Cell Biol* (2014) 24(8):455–63. doi:10.1016/j.tcb.2014.03.005.
- [69] **Kowalik.MA, Guzzo.G, Morandi.A, Perra.A, Menegon.S, Masgras.I, et al;** Metabolic reprogramming identifies the most aggressive lesions at early phases of hepatic carcinogenesis. *Oncotarget* (2016) 7 (22): 32375–93. doi:10.18632/oncotarget.8632.
- [70] **Zhang.B, Wang.J, Huang.Z, Wei.P, Liu.Y, Hao.J, et al;** Aberrantly upregulated TRAP1 is required for tumorigenesis of breast cancer. *Oncotarget* (2015) 6(42):44495–508. doi:10.18632/oncotarget.6252.
- [71] **Agorreta.J, Hu.J, Liu.D, Delia.D, Turley.H, Ferguson.DJ, et al;** TRAP1 regulates proliferation, mitochondrial function, and has prognostic significance in NSCLC. *Mol Cancer Res* (2014) 12(5):660–9. Doi: 10.1158/1541-7786.MCR-13-0481.

- [72] **Calderwood.SK, Gong.J;** Heat shock proteins promote cancer: it's a protection racket. *Trends Biochem Sci* (2016) 41(4):311–23. Doi: 10.1016/j.tibs.2016.01.003.
- [73] **Huang.LS, Sun.G, Cobessi.D, Wang.AC, Shen.JT, Tung.EY, Anderson.VE and Berry.EA;** 3-nitropropionic acid is a suicide inhibitor of mitochondrial respiration that, upon oxidation by complex II, forms a covalent adduct with a catalytic base arginine in the active site of the enzyme. *J Biol Chem.* 2006; 281(9):5965–5972.
- [74] **Sciacovelli.M, Guzzo.G, Morello.V, Frezza.C, Zheng.L, Nannini.N, et al;** The mitochondrial chaperone TRAP1 promotes neoplastic growth by inhibiting succinate dehydrogenase. *Cell Metab* (2013) 17(6):988–99. Doi: 10.1016/j.cmet.2013.04.019.
- [75] **Masgras.I, Ciscato.F, Brunati.AM, Tibaldi.E, Indraccolo.S, Curtarello.M, et al;** Absence of neurofibromin induces an oncogenic metabolic switch via mitochondrial ERK-mediated phosphorylation of the chaperone TRAP1. *Cell Rep* (2017) 18(3):659–72. doi:10.1016/j.celrep.2016.12.056.
- [76] **Yoshida.S, Tsutsumi.S, Muhlebach.G, Sourbier.C, Lee.MJ, Lee.S, et al;** Molecular chaperone TRAP1 regulates a metabolic switch between mitochondrial respiration and aerobic glycolysis. *Proc Natl Acad Sci U S A* (2013) 110(17):E1604–12. doi:10.1073/pnas.1220659110.
- [77] **Guzzo.G, Sciacovelli.M, Bernardi.P, Rasola.A;** Inhibition of succinate dehydrogenase by the mitochondrial chaperone TRAP1 has anti-oxidant and anti-apoptotic effects on tumor cells. *Oncotarget* (2014) 5(23):11897–908. doi:10.18632/oncotarget.2472.
- [78] **Rasola.A, Bernardi.P;** The mitochondrial permeability transition pore and its involvement in cell death and in disease pathogenesis. *Apoptosis* (2007) 12(5):815–33. Doi:10.1007/s10495-007-0723-y.

- [79] **Bernardi.P, Rasola.A, Forte.M, Lippe.G** ; The mitochondrial permeability transition pore: channel formation by F-ATP synthase, integration in signal transduction, and role in pathophysiology. *Physiol Rev* (2015) 95(4):1111–55. doi:10.1152/physrev.00001.2015.
- [80] **Lister.R, Pelizzola.M, Downen.R, et al**; Human DNA methylomes at base resolution show widespread epigenomic differences. *Nature* 2009; 462(7271):315-22.
- [81] **Meissner.A, Mikkelsen.T, Gu.H, et al**; Genome-scale DNA methylation maps of pluripotent and differentiated cells. *Nature* 2008; 454(7205):76-0.
- [82] **Blackledge.N, Klose.R**; CpG island chromatin: a platform for gene regulation. *Epigenetics* 2011; 6(2):147-52.
- [83] **Takai.D, Jones.P**; Comprehensive analysis of CpG islands in human chromosomes 21 and 22. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99 (6):3740-5.
- [84] **Gardiner-Garden.M, Frommer.M**; CpG islands in vertebrate genomes. *J Mol Biol* 1987; 196 (2):261-82.
- [85] **Deaton.A, Bird.A** CpG islands and the regulation of transcription. *Genes Dev* 2011; 25(10):1010-22.
- [86] **Rollins.R, Haghghi.F, Edwards.J, et al**; Large-scale structure of genomic methylation patterns. *Genome Res* 2006; 16(2):157-63.
- [87] **Bird.A**; DNA methylation patterns and epigenetic memory. *Genes Dev.* 16, 6–21 (2002).
- [88] **Greger.V, Passarge.E, Hopping.W, Messmer.E, ET Horsthemke.B**; Epigenetic changes may contribute to the formation and spontaneous regression of retinoblastoma. *Hum. Genet.* 83, 155–158 (1989).
- [89] **REVUE FRANCOPHONE DES LABORATOIRES ; JUIN 2015 - N°473// 39.**

- [90] **Judith.F, Anne-Paule.G-R** ; médecine/sciences 2012 ; 28 : 625-32.
- [91] **Letouze.E, Martinelli.C, Lorient.C, et al** ; SDH Mutations establish a hypermethylator phenotype in paraganglioma. *Cancer Cell* 2013; 23: 739-52.
- [92] **Eisenhofer.G, Pacak.K, Huynh.TT, et al** ; Catecholamine metabolomic and secretory phenotypes in pheochromocytoma. *Endocr Relat Cancer* 2011; 18: 97-111.
- [93] **Lorient.C, Burnichon.N, Gadessaud.N, et al** ; Epithelial to mesenchymal transition is activated in metastatic pheochromocytomas and paragangliomas caused by SDHB gene mutations. *J Clin Endocrinol Metab* 2012; 97: E954-62.
- [94] **Van Nederveen.FH, Gaal.J, Favier.J, et al** ; An immunohistochemical procedure to detect patients with paraganglioma and pheochromocytoma with germline SDHB, SDHC, or SDHD gene mutations: a retrospective and prospective analysis. *Lancet Oncol* 2009 ; 10 : 764-71.
- [95] **Pouyssegur.J, Gothie.E** ; HIF-1 : régulateur central de l'hypoxie. *Med Sci (Paris)* 2002 ; 18 : 70-8.
- [96] **Favier.J, Gimenez-Roqueplo AP** ; Pheochromocytomas: the (pseudo)-hypoxic hypothesis. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2010; 24: 957-68.
- [97] **Favier.J, Igaz.P, Burnichon.N, et al** ; Rationale for anti-angiogenic therapy in pheochromocytoma and paraganglioma. *Endocr Pathol* 2011; 23: 34-42.
- [98] **Comino-Mendez.I, Gracia-Aznarez.FJ, Schiavi.F, et al** ; Exome sequencing identifies MAX mutations as a cause of hereditary pheochromocytoma. *Nat Genet* 2011; 43: 663-7.
- [99] **Pastor WA, Aravind.L, Rao.A** ; TETonic shift: biological roles of TET proteins in DNA demethylation and transcription. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2013; 14: 341-56.

- [100] **Turcan.S, Rohle.D, Goenka.A, et al**; IDH1 mutation is sufficient to establish the glioma hypermethylator phenotype. *Nature* 2012; 483: 479-83.
- [101] **Xu.W, Yang.H, Liu.Y, et al**; Oncometabolite 2-hydroxyglutarate is a competitive inhibitor of alpha-ketoglutarate-dependent dioxygenases. *Cancer Cell* 2011 ; 19 : 17-30.
- [102] **Favier.J, Gimenez-Roqueplo.AP** ; La genetique des paragangliomes et des pheochromocytomes. *Med Sci (Paris)* 2012; 28: 625-32.
- [103] **Yang.M, Soga.T, Pollard.PJ**; Oncometabolites: linking altered metabolism with cancer. *J Clin Invest* 2013; 123: 3652-8.
- [104] **Gary.E, Gibson, John.P.Blass, Flint.M.B, and Victoria.B**; The α -Ketoglutarate–Dehydrogenase Complex A Mediator Between Mitochondria and Oxidative Stress in Neurodegeneration. *Molecular Neurobiology*, Volume 31, 2005; p46_47.
- [105] **René.A.W.F, Amanda.J.P, Fred.D. N, Richard.N.P et Ben.F.L**; « Crystal Structure of the E1 Component of the Escherichia coli 2-Oxoglutarate Dehydrogenase Multienzyme Complex », *Journal of Molecular Biology*, vol. 368, n° 3, 4 mai 2007, p. 639-651 .
- [106] **Hosios.AM, Hecht.VC, Danai.LV, Johnson.MO, Rathmell.JC, Steinhauser.ML, et al**; Amino acids rather than glucose account for the majority of cell mass in proliferating mammalian cells. *Dev Cell*. 2016; 36:540–9.
- [107] **DeBerardinis.RJ, Mancuso.A, Daikhin.E, Nissim.I, Yudkoff.M, Wehrli.S, et al**; 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*. 2007; 104: 19345–50.
- [108] **Wise.DR, Ward.PS, Shay.JES, Cross.JR, Gruber.JJ, Sachdeva.UM, et al**; Hypoxia promotes isocitrate dehydrogenase-dependent carboxylation of α -ketoglutarate to citrate to support cell growth and viability. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011; 108: 19611–6.

- [109] **Fendt.S-M, Bell.EL, Keibler.MA, Olenchock.BA, Mayers.JR, Wasylenko.TM, et al;** Reductive glutamine metabolism is a function of the α -ketoglutarate to citrate ratio in cells. *Nat Commun.* 2013; 4: 2236.
- [110] **Reed.LJ, Hackert.ML;** Structure-function relationships in dihydrolipoamide acyltransferases. *J Biol Chem.* 1990; 265: 8971–4.
- [111] **Strumilo.S;** Short-term regulation of the alpha-ketoglutarate dehydrogenase complex by energy-linked and some other effectors. *Biochem Biokhimiia.* 2005; 70: 726–9.
- [112] **Robinson.BH;** Use of fibroblast and lymphoblast cultures for detection of respiratory chain defects. *Methods Enzymol.* 1996; 264: 454–64.
- [113] **Nelson.UDL, Cox.UMM;** *Lehninger Principles of Biochemistry.* New York: 7th edition. W. H. Freeman; 2017.
- [114] **Porpaczy.Z, Sumegi.B, Alkonyi.I;** Interaction between NAD-dependent isocitrate dehydrogenase, alpha-ketoglutarate dehydrogenase complex, and NADH: ubiquinone oxidoreductase. *J Biol Chem.* 1987;262:9509–14.
- [115] **Maas.E, Bisswanger.H;** Localization of the alpha-oxoacid dehydrogenase multienzyme complexes within the mitochondrion. *FEBS Lett.* 1990; 277: 189–90.
- [116] **McCormack.JG, Denton.RM;** The effects of calcium ions and adenine nucleotides on the activity of pig heart 2-oxoglutarate dehydrogenase complex. *Biochem J.* 1979; 180: 533–44.
- [117] **Lawlis.VB, Roche.TE;** Inhibition of bovine kidney alpha-ketoglutarate dehydrogenase complex by reduced nicotinamide adenine dinucleotide in the presence or absence of calcium ion and effect of adenosine 5'- diphosphate on reduced nicotinamide adenine dinucleotide inhibition. *Biochemistry (Mosc).* 1981; 20: 2519–24.

- [118] **Armstrong.CT, Anderson.JLR, Denton.RM**; Studies on the regulation of the human E1 subunit of the 2-oxoglutarate dehydrogenase complex, including the identification of a novel calcium-binding site. *Biochem J.* 2014; 459: 369–81.
- [119] **Klingenberg.M**; The ADP, and ATP transport in mitochondria and its carrier. *Biochim Biophys Acta.* 2008;1778:1978–2021.
- [120] **Birsoy.K, Wang.T, Chen.WW, Freinkman.E, Abu-Remaileh.M, Sabatini.DM**; An essential role of the mitochondrial electron transport chain in cell proliferation is to enable aspartate synthesis. *Cell.* 2015;162:540–51.
- [121] **Banerjee.K, Munshi.S, Xu.H, Frank.DE, Chen.H-L, Chu.CT, et al**; Mild mitochondrial metabolic deficits by α -ketoglutarate dehydrogenase inhibition cause prominent changes in intracellular autophagic signaling: potential role in the pathobiology of Alzheimer's disease. *Neurochem Int.* 2016; 96: 32–45.
- [122] **Kumar.MJ, Nicholls.DG, Andersen.JK**; Oxidative α -ketoglutarate dehydrogenase inhibition via subtle elevations in monoamine oxidase B levels results in loss of spare respiratory capacity: implications for Parkinson's disease. *J Biol Chem.* 2003; 278: 46432–9.
- [123] **Denton.RM**; Regulation of mitochondrial dehydrogenases by calcium ions. *Biochim Biophys Acta.* 2009;1787:1309–16.
- [124] **Tarasov.AI, Griffiths.EJ, Rutter.GA**; Regulation of ATP production by mitochondrial $\text{Ca}(2+)$. *Cell Calcium.* 2012;52:28–35.
- [125] **McCormack.JG, Halestrap.AP, Denton.RM**; Role of calcium ions in regulation of mammalian intramitochondrial metabolism. *Physiol Rev.* 1990;70:391–425.
- [126] **Santo-Domingo.J, Demaurex.N**; Calcium uptake mechanisms of mitochondria. *Biochim Biophys Acta.* 2010;1797:907–12.
- [127] **Cárdenas.C, Müller.M, McNeal.A, Lovy.A, Jaña.F, Bustos.G, et al**; Selective vulnerability of cancer cells by inhibition of $\text{Ca}(2+)$ transfer from endoplasmic reticulum to mitochondria. *Cell Rep.* 2016;15:219–20.

- [128] **Rottenberg.H, Lee.CP**; Energy dependent hydrogen ion accumulation in submitochondrial particles. *Biochemistry (Mosc)*. 1975;14:2675–80.
- [129] **Porcelli.AM, Ghelli.A, Zanna.C, Pinton.P, Rizzuto.R, Rugolo.M**; pH difference across the outer mitochondrial membrane measured with a green fluorescent protein mutant. *Biochem Biophys Res Commun*. 2005;326:799–804.
- [130] **Lowry.M, Ross.BD**; Activation of oxoglutarate dehydrogenase in the kidney in response to acute acidosis. *Biochem J*. 1980;190:771–80.
- [131] **Warburg.O, Wind.F, Negelein.E**; The metabolism of tumors in the body. *J Gen Physiol*. 1927;8:519–30.
- [132] **Damaghi.M, Wojtkowiak.JW, Gillies.RJ**; pH sensing and regulation in cancer. *Front Physiol*. 2013;4:370.
- [133] **Santo-Domingo.J, Demaurex.N**; Perspectives on: SGP symposium on mitochondrial physiology and medicine: the renaissance of mitochondrial pH. *J Gen Physiol*. 2012;139:415–23.
- [134] **Murphy.MP**; How mitochondria produce reactive oxygen species. *Biochem J*. 2009;417:1–13.
- [135] **Nulton-Persson.AC, Starke.DW, Mieyal.JJ, Szweda.LI**; Reversible inactivation of alpha-ketoglutarate dehydrogenase in response to alterations in the mitochondrial glutathione status. *Biochemistry (Mosc)*. 2003;42:4235–42.
- [136] **McLain.AL, Szweda.PA, Szweda.LI**; α -Ketoglutarate dehydrogenase: a mitochondrial redox sensor. *Free Radic Res*. 2011;45:29–36.
- [137] **Starkov.AA, Fiskum.G, Chinopoulos.C, Lorenzo.BJ, Browne.SE, Patel.MS, et al**; Mitochondrial alpha-ketoglutarate dehydrogenase complex generates reactive oxygen species. *J Neurosci Off J Soc Neurosci*. 2004;24:7779–88.

- [138] **Tretter.L, Adam-Vizi.V;** Generation of reactive oxygen species in the reaction catalyzed by alpha-ketoglutarate dehydrogenase. *J Neurosci Off J Soc Neurosci.* 2004;24:7771–8.
- [139] **Quinlan.CL, Goncalves.RLS, Hey-Mogensen.M, Yadava.N, Bunik.VI, Brand.MD.** The 2-oxoacid dehydrogenase complexes in mitochondria can produce superoxide/hydrogen peroxide at much higher rates than complex I. *J Biol Chem.* 2014;289:8312–25.
- [140] **Szatrowski.TP, Nathan.CF;** Production of large amounts of hydrogen peroxide by human tumor cells. *Cancer Res.* 1991;51:794–8.
- [141] **Ray.PD, Huang.B-W, Tsuji.Y;** Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. *Cell Signal.* 2012;24:981–90.
- [142] **Nulton-Persson.AC, Szweda.LI;** Modulation of mitochondrial function by hydrogen peroxide. *J Biol Chem.* 2001;276:23357–61.
- [143] **Coloff.JL, Murphy.JP, Braun.CR, Harris.IS, Shelton.LM, Kami.K, et al;** Differential glutamate metabolism in proliferating and quiescent mammary epithelial cells. *Cell Metab.* 2016;23:867–80.
- [144] **Bunik.VI;** 2-Oxo acid dehydrogenase complexes in redox regulation. *Eur J Biochem.* 2003;270:1036–42.
- [145] **Stuart.SD, Schauble.A, Gupta.S, Kennedy.AD, Keppler.BR, Bingham.PM, et al;** A strategically designed small molecule attacks alpha-ketoglutarate dehydrogenase in tumor cells through a redox process. *Cancer Metab.* 2014;2:4.
- [146] **Zachar.Z, Marecek.J, Maturo.C, Gupta.S, Stuart.SD, Howell.K, et al;** Non-redox-active lipoate derivatives disrupt cancer cell mitochondrial metabolism and are potent anticancer agents in vivo. *J Mol Med Berl Ger.* 2011;89:1137–48.

- [147] **Mullen.AR, Wheaton.WW, Jin.ES, Chen.P-H, Sullivan.LB, Cheng.T, et al**; Reductive carboxylation supports growth in tumour cells with defective mitochondria. *Nature*. 2011;481:385–8.
- [148] **Sun.RC, Denko.NC**; Hypoxic regulation of glutamine metabolism through HIF1 and SIAH2 supports lipid synthesis that is necessary for tumor growth. *Cell Metab*. 2014;19:285–92.
- [149] **Metallo.CM, Gameiro.PA, Bell.EL, Mattaini.KR, Yang.J, Hiller.K, et al**; Reductive glutamine metabolism by IDH1 mediates lipogenesis under hypoxia. *Nature*. 2011;481:380–4.
- [150] **Semenza.GL**; Hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1) pathway. *Sci STKE Signal Transduct Knowl Environ*. 2007;2007:cm8.
- [151] **Kim.J, Tchernyshyov.I, Semenza.GL, Dang.CV**; HIF-1-mediated expression of pyruvate dehydrogenase kinase: a metabolic switch required for cellular adaptation to hypoxia. *Cell Metab*. 2006;3:177–85.
- [152] **Gameiro.PA, Yang.J, Metelo.AM, Pérez-Carro.R, Baker.R, Wang.Z, et al**; In vivo HIF-mediated reductive carboxylation is regulated by citrate levels and sensitizes VHL-deficient cells to glutamine deprivation. *Cell Metab* 2013;17:372–85.
- [153] **Mullen.AR, Hu.Z, Shi.X, Jiang.L, Boroughs.LK, Kovacs.Z, et al**; Oxidation of alpha-ketoglutarate is required for reductive carboxylation in cancer cells with mitochondrial defects. *Cell Rep*. 2014;7:1679–90.
- [154] **Calabrese.C, Iommarini.L, Kurelac.I, Calvaruso.MA, Capristo.M, Lollini.P-L, et al**; Respiratory complex I is essential to induce a Warburg profile in mitochondria-defective tumor cells. *Cancer Metab*. 2013;1:11.
- [155] **Sullivan.LB, Chandel.NS**; Mitochondrial reactive oxygen species and cancer. *Cancer Metab*. 2014;2:17. Doi:10.1186/2049-3002-2-17.

- [156] **Armstrong.JS, Whiteman.M, Yang.H, Jones.DP;** The redox regulation of intermediary metabolism by a superoxide-aconitase rheostat. *BioEssays News Rev Mol Cell Dev Biol.* 2004;26:894–900.
- [157] **Zu.XL, Guppy.M;** Cancer metabolism: facts, fantasy, and fiction. *Biochem Biophys Res Commun.* 2004;313:459–65.
- [158] **Durán.RV, Oppliger.W, Robitaille.AM, Heiserich.L, Skendaj.R, Gottlieb.E, et al;** Glutaminolysis activates Rag-mTORC1 signaling. *Mol Cell.* 2012;47:349–58.
- [159] **Durán.RV, MacKenzie.ED, Boulahbel.H, Frezza.C, Heiserich.L, Tardito.S, et al;** HIF-independent role of prolyl hydroxylases in the cellular response to amino acids. *Oncogene.* 2013;32:4549–56.
- [160] **Durán.RV, Hall.MN;** Glutaminolysis feeds mTORC1. *Cell Cycle (Georgetown, Texas).* 2012;11:4107–8.
- [161] **Altman.BJ, Stine.ZE, Dang.CV;** From Krebs to clinic: glutamine metabolism to cancer therapy. *Nat Rev Cancer.* 2016;16:619–34.
- [162] **Fu.X, Chin.RM, Vergnes.L, Hwang.H, Deng.G, Xing.Y, et al;** 2-Hydroxyglutarate inhibits ATP synthase and mTOR signaling. *Cell Metab.* 2015;22:508–15.
- [163] **Tennant.DA, Frezza.C, MacKenzie.ED, Nguyen.QD, Zheng.L, Selak.MA, et al;** Reactivating HIF prolyl hydroxylases under hypoxia results in metabolic catastrophe and cell death. *Oncogene.* 2009; 28: 4009–21.
- [164] **MacKenzie.ED, Selak.MA, Tennant.DA, Payne.LJ, Crosby.S, Frederiksen.CM, et al;** Cell-permeating alpha-ketoglutarate derivatives alleviate pseudohypoxia in succinate dehydrogenase-deficient cells. *Mol Cell Biol.* 2007; 27: 3282–9.
- [165] **Porcelli.AM, Ghelli.A, Ceccarelli.C, Lang.M, Cenacchi.G, Capristo.M, et al;** The genetic and metabolic signature of oncogenic transformation implicates HIF1alpha destabilization. *Hum Mol Genet.* 2010; 19:1019–32.

- [166] **Iommarini.L, Kurelac.I, Capristo.M, Calvaruso.MA, Giorgio.V, Bergamini.C, et al**; Different mtDNA mutations modify tumor progression in dependence of the degree of respiratory complex I impairment. *Hum Mol Genet.* 2014; 23:1453–66.
- [167] **Oldham.WM, Clish.CB, Yang.Y, Loscalzo.J**; Hypoxia-mediated increases in L2-hydroxyglutarate coordinate the metabolic response to reductive stress. *Cell Metab.* 2015; 22: 291–303.
- [168] **Worth.AJ, Gillespie.KP, Mesaros.C, Guo.L, Basu.SS, Snyder.NW, et al**; Rotenone stereospecifically increases (S)-2-hydroxyglutarate in SH-SY5Y neuronal cells. *Chem Res Toxicol.* 2015; 28: 948–54.
- [169] **Koivunen.P, Lee.S, Duncan.CG, Lopez.G, Lu.G, Ramkissoon.S, et al**; Transformation by the (R)-enantiomer of 2-hydroxyglutarate linked to EGLN activation. *Nature.* 2012; 483: 484–8.
- [170] **Fan.J, Teng.X, Liu.L, Mattaini.KR, Looper.RE, Vander Heiden.MG, et al**; Human phosphoglycerate dehydrogenase produces the oncometabolite D-2-hydroxyglutarate. *ACS Chem Biol.* 2015; 10:510–6.
- [171] **Sullivan.LB, Gui.DY, Hosios.AM, Bush.LN, Freinkman.E, Vander Heiden.MG**; Supporting aspartate biosynthesis is an essential function of respiration in proliferating cells. *Cell.* 2015; 162: 552–63.
- [172] **Linster.CL, Van Schaftingen.E, Hanson.AD**; Metabolite damage and its repair or pre-emption. *Nat Chem Biol.* 2013; 9: 72–80.
- [173] **Chandel.NS, McClintock.DS, Feliciano.CE, Wood.TM, Melendez.JA, Rodriguez.AM, et al**; Reactive oxygen species generated at mitochondrial complex III stabilize hypoxia-inducible factor-1alpha during hypoxia: a mechanism of O₂ sensing. *J Biol Chem.* 2000; 275: 25130–8.

- [174] **Burr.SP, Costa.ASH, Grice.GL, Timms.RT, Lobb.IT, Freisinger.P, et al;** Mitochondrial protein lipoylation and the 2-oxoglutarate dehydrogenase complex controls HIF1 α stability in aerobic conditions. *Cell Metab.* 2016; 24:740-52. doi:10.1016/j.cmet.2016.09.015.
- [175] **Mazure.NM, Pouyssegur.J;** Atypical BH3-domains of BNIP3 and BNIP3L lead to autophagy in hypoxia. *Autophagy.* 2009; 5: 868–9.
- [176] **Chin.RM, Fu.X, Pai.MY, Vergnes.L, Hwang.H, Deng.G, et al;** the metabolite α -ketoglutarate extends lifespan by inhibiting ATP synthase and TOR. *Nature.* 2014; 510: 397–401.
- [177] **Gasparre.G, Kurelac.I, Capristo.M, Iommarini.L, Ghelli.A, Ceccarelli.C, et al;**
A mutation threshold distinguishes the antitumorigenic effects of the mitochondrial gene MTND1, an oncojanus function. *Cancer Res.* 2011; 71: 6220–9.
- [178] **Feinberg.AP, Koldobskiy.MA, Göndör.A;** Epigenetic modulators, modifiers and mediators in cancer aetiology and progression. *Nat Rev Genet.* 2016; 17: 284–99.
- [179] **Christensen.BC, Marsit.CJ, Houseman.EA, Godleski.JJ, Longacker.JL, Zheng.S, et al;** Differentiation of lung adenocarcinoma, pleural mesothelioma, and nonmalignant pulmonary tissues using DNA methylation profiles. *Cancer Res.* 2009; 69: 6315–21.
- [180] **Toyota.M, Ahuja.N, Ohe-Toyota.M, Herman.JG, Baylin.SB, Issa.JP;** CpG island methylator phenotype in colorectal cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999; 96: 8681–6.
- [181] **Mack.SC, Witt.H, Piro.RM, Gu.L, Zuyderduyn.S, Stütz.AM, et al;** Epigenomic alterations define lethal CIMP-positive ependymomas of infancy. *Nature.* 2014; 506: 445–50.

- [182] **Adam.J, Yang.M, Soga.T, Pollard.PJ**; Rare insights into cancer biology. *Oncogene*. 2014; 33: 2547–56.
- [183] **Kaelin.WG, McKnight.SL**; Influence of metabolism on epigenetics and disease. *Cell*. 2013; 153: 56–69.
- [184] **Xu.W, Yang.H, Liu.Y, Yang.Y, Wang.P, Kim.S-H, et al**; Oncometabolite 2-hydroxyglutarate is a competitive inhibitor of α -ketoglutarate-dependent dioxygenases. *Cancer Cell*. 2011; 19: 17–30.
- [185] **Intlekofer.AM, Dematteo.RG, Venneti.S, Finley.LWS, Lu.C, Judkins.AR, et al**; Hypoxia induces production of L-2-hydroxyglutarate. *Cell Metab*. 2015; 22: 304–11.
- [186] **Chowdhury.R, Yeoh.KK, Tian.Y-M, Hillringhaus.L, Bagg.EA, Rose.NR, et al**; The oncometabolite 2-hydroxyglutarate inhibits histone lysine demethylases. *EMBO Rep*. 2011; 12: 463–9.
- [187] **Lu.C, Ward.PS, Kapoor.GS, Rohle.D, Turcan.S, Abdel-Wahab.O, et al**; IDH mutation impairs histone demethylation and results in a block to cell differentiation. *Nature*. 2012; 483: 474–8.
- [188] **Losman.J-A, Kaelin.WG**; what a difference a hydroxyl makes: mutant IDH, (R)-2-hydroxyglutarate, and cancer. *Genes Dev*. 2013; 27: 836–52.
- [189] **Shim.E-H, Livi.CB, Rakheja.D, Tan.J, Benson.D, Parekh.V, et al**; L-2-Hydroxyglutarate: an epigenetic modifier and putative oncometabolite in renal cancer. *Cancer Discov*. 2014; 4: 1290–8.
- [190] **Xu.W, Yang.H, Liu.Y, Yang.Y, Wang.P, Kim.S-H, et al**; Oncometabolite 2-hydroxyglutarate is a competitive inhibitor of α -ketoglutarate-dependent dioxygenases. *Cancer Cell*. 2011; 19:17–30.

- [191] **Cervera.AM, Bayley.J-P, Devilee.P, McCreath.KJ**; Inhibition of succinate dehydrogenase dysregulates histone modification in mammalian cells. *Mol Cancer*. 2009; 8: 89.
- [192] **Laukka.T, Mariani.CJ, Ihantola.T, Cao.JZ, Hokkanen.J, Kaelin.WG, et al**; Fumarate and succinate regulate expression of hypoxia-inducible genes via TET enzymes. *J Biol Chem*. 2016; 291: 4256–65.
- [193] **Carey.BW, Finley.LWS, Cross.JR, Allis.CD, Thompson.CB**; Intracellular α ketoglutarate maintains the pluripotency of embryonic stem cells. *Nature*. 2015; 518: 413–6.
- [194] **Turner.BM**; Open chromatin and hypertranscription in embryonic stem cells. *Cell Stem Cell*. 2008; 2: 408–10.
- [195] **Intlekofer.AM, Dematteo.RG, Venneti.S, Finley.LWS, Lu.C, Judkins.AR, et al**; Hypoxia induces production of L-2-hydroxyglutarate. *Cell Metab*. 2015; 22: 304–11.
- [196] **Thienpont.B, Steinbacher.J, Zhao.H, D’Anna.F, Kuchnio.A, Ploumakis.A, et al**; Tumour hypoxia causes DNA hypermethylation by reducing TET activity. *Nature*. 2016; 537: 63–8.
- [197] **Mariani.CJ, Vasanthakumar.A, Madzo.J, Yesilkanal.A, Bhagat.T, Yu.Y, et al**; TET1-mediated hydroxymethylation facilitates hypoxic gene induction in neuroblastoma. *Cell Rep*. 2014; 7: 1343–52.
- [198] **Pan.M, Reid.MA, Lowman.XH, Kulkarni.RP, Tran.TQ, Liu.X, et al**; Regional glutamine deficiency in tumours promotes dedifferentiation through inhibition of histone demethylation. *Nat Cell Biol*. 2016; 18: 1090–101.
- [199] **Xu.W, Wang.F, Yu.Z, Xin.F**; Epigenetics and cellular metabolism. *Genet Epigenet*. 2016; 8:43–51.

- [200] **Xu.X, Zhao.J, Xu.Z, et al;** Structures of human cytosolic NADP-dependent isocitrate dehydrogenase reveal a novel self-regulatory mechanism of activity. *J Biol Chem.* 2004; 279(32):33946–33957.
- [201] **Sjöblom.T, Jones.S, Wood.LD, Parsons.DW, Lin.J, Barber.TD, et al;** The consensus coding sequences of human breast and colorectal cancers. *Science.* 2006 Oct 13; 314(5797):268–74.
- [202] **Parsons.DW, Jones.S, Zhang.X, Lin.JC-H, Leary.RJ, Angenendt.P, et al;** An integrated genomic analysis of human glioblastoma multiforme. *Science.* 2008 Sep 26; 321(5897):1807–12
- [203] **Mardis.ER, Ding.L, Dooling.DJ, Larson.DE, McLellan.MD, Chen.K, et al;** Recurring Mutations Found by Sequencing an Acute Myeloid Leukemia Genome. *N Engl J Med.* 2009 Sep 10; 361(11):1058–66.
- [204] **Ward.PS, Cross.JR, Lu.C, Weigert.O, Abel-Wahab.O, Levine.RL, et al;** Identification of additional IDH mutations associated with oncometabolite R(-)-2-hydroxyglutarate production. *Oncogene.* 2012 May 10; 31(19):2491–8.
- [205] **Kranendijk.M, Struys.EA, van Schaftingen.E, Gibson.KM, Kanhai.WA, van der Knaap.MS, et al;** IDH2 Mutations in Patients with D-2-Hydroxyglutaric Aciduria. *Science.* 2010 Oct 15; 330(6002):336–336.
- [206] **Ward.PS, Patel.J, Wise.DR, Abdel-Wahab.O, Bennett.BD, Coller.HA, et al;** The Common Feature of Leukemia-Associated IDH1 and IDH2 Mutations Is a Neomorphic Enzyme Activity Converting α -Ketoglutarate to 2-Hydroxyglutarate. *Cancer Cell.* 2010 Mar; 17(3):225–34.
- [207] **Dang.L, Jin.S, Su.SM;** IDH mutations in glioma and acute myeloid leukemia. *Trends Mol Med.* 2010 Sep; 16(9):387–97.
- [208] **Yan.H, Parsons.DW, Jin.G, McLendon.R, Rasheed.BA, Yuan.W, et al;** IDH1 and IDH2 mutations in gliomas. *N Engl J Med.* 2009 Feb 19; 360(8):765–73.

- [209] **Zhao.S, Lin.Y, Xu.W, Jiang.W, Zha.Z, Wang.P, et al;** Glioma-Derived Mutations in IDH1 Dominantly Inhibit IDH1 Catalytic Activity and Induce HIF-1. *Science*. 2009 Apr 10; 324(5924):261–5.
- [210] **Dang.L, White.DW, Gross.S, Bennett.BD, Bittinger.MA, Driggers.EM, et al;** Cancer-associated IDH1 mutations produce 2-hydroxyglutarate. *Nature*. 2009 Dec 10; 462(7274):739–44.
- [211] **Gross.S, Cairns.RA, Minden.MD, Driggers.EM, Bittinger.MA, Jang.HG, et al;**
Cancer-associated metabolite 2-hydroxyglutarate accumulates in acute myelogenous leukemia with isocitrate dehydrogenase 1 and 2 mutations. *J Exp Med*. 2010 Feb 15; 207(2):339–44.
- [212] **Pietrak.B, Zhao.H, Qi.H, Quinn.C, Gao.E, Boyer.JG, et al;** A tale of two subunits: how the neomorphic R132H IDH1 mutation enhances production of α HG. *Biochemistry (Mosc)*. 2011 May 31; 50(21):4804–12.
- [213] **Jin.G, Reitman.ZJ, Duncan.CG, Spasojevic.I, Gooden.DM, Rasheed.BA, et al;**
Disruption of wild-type IDH1 suppresses D-2-hydroxyglutarate production in IDH1-mutated gliomas. *Cancer Res*. 2013 Jan 15; 73(2):496–501.
- [214] **Lindahl.G, Lindstedt.G, Lindstedt.S;** Metabolism of 2-amino-5-hydroxyadipic acid in the rat. *Arch Biochem Biophys*. 1967 Mar; 119(1):347–52.
- [215] **Chalmers.RA, Lawson.AM, Watts.RW, Tavill.AS, Kamerling.JP, Hey.E, et al;**
D-2-hydroxyglutaric aciduria: case report and biochemical studies. *J Inherit Metab Dis*. 1980; 3(1):11–5.
- [216] **Xu.W, Yang.H, Liu.Y, Yang.Y, Wang.P, Kim.S-H, et al;** Oncometabolite 2-hydroxyglutarate is a competitive inhibitor of α -ketoglutarate-dependent dioxygenases. *Cancer Cell*. 2011 Jan 18; 19(1):17–30.

- [217] **Loenarz.C, Schofield.CJ;** Expanding chemical biology of 2-oxoglutarate oxygenases. *Nat Chem Biol.* 2008 Mar; 4(3):152–6.
- [218] **Krell.D, Mulholland.P, Frampton.AE, Krell.J, Stebbing.J, Bardella.C;** IDH mutations in tumorigenesis and their potential role as novel therapeutic targets. *Future Oncol Lond Engl.* 2013 Dec; 9(12):1923–35.
- [219] **Tahiliani.M, Koh.KP, Shen.Y, Pastor.WA, Bandukwala.H, Brudno.Y, et al;** Conversion of 5methylcytosine to 5-hydroxymethylcytosine in mammalian DNA by MLL partner TET1. *Science.* 2009 May 15; 324(5929):930–5.
- [220] **Guo.JU, Su.Y, Zhong.C, Ming.G, Song.H;** Emerging roles of TET proteins and 5-hydroxymethylcytosines in active DNA demethylation and beyond. *Cell Cycle Georget Tex.* 2011 Aug 15; 10(16):2662–8.
- [221] **Ito.S, D’Alessio.AC, Taranova.OV, Hong.K, Sowers.LC, Zhang.Y;** Role of Tet proteins in 5mC to 5hmC conversion, ES-cell self-renewal and inner cell mass specification. *Nature.* 2010 Aug 26; 466(7310):1129–33.
- [222] **Jin.S-G, Jiang.Y, Qiu.R, Rauch.TA, Wang.Y, Schackert.G, et al;** 5-Hydroxymethylcytosine is strongly depleted in human cancers but its levels do not correlate with IDH1 mutations. *Cancer Res.* 2011 Dec 15; 71(24):7360–5.
- [223] **Noushmehr.H, Weisenberger.DJ, Diefes.K, Phillips.HS, Pujara.K, Berman.BP, et al;** Identification of a CpG island methylator phenotype that defines a distinct subgroup of glioma. *Cancer Cell.* 2010 May 18; 17(5):510–22.
- [224] **Laffaire.J, Everhard.S, Idbaih.A, Crinière.E, Marie.Y, de Reyniès.A, et al;** Methylation profiling identifies 2 groups of gliomas according to their tumorigenesis. *Neuro-Oncol.* 2011 Jan; 13(1):84–98
- [225] **Christensen.BC, Smith.AA, Zheng.S, Koestler.DC, Houseman.EA, Marsit.CJ, et al;** DNA methylation, isocitrate dehydrogenase mutation, and survival in glioma. *J Natl Cancer Inst.* 2011 Jan 19; 103(2):143–53.

- [226] **Watanabe.T, Nobusawa.S, Kleihues.P, Ohgaki.H;** IDH1 mutations are early events in the development of astrocytomas and oligodendrogliomas. *Am J Pathol.* 2009 Apr; 174(4):1149–53.
- [227] **Lu.C, Ward.PS, Kapoor.GS, Rohle.D, Turcan.S, Abdel-Wahab.O, et al;** IDH mutation impairs histone demethylation and results in a block to cell differentiation. *Nature.* 2012 Mar 22; 483(7390):474–8.
- [228] **Turcan.S, Rohle.D, Goenka.A, Walsh.LA, Fang.F, Yilmaz.E, et al;** IDH1 mutation is sufficient to establish the glioma hypermethylator phenotype. *Nature.* 2012 Mar 22; 483(7390):479–83.
- [229] **Figuerola.ME, Abdel-Wahab.O, Lu.C, Ward.PS, Patel.J, Shih.A, et al;** Leukemic IDH1 and IDH2 mutations result in a hypermethylation phenotype, disrupt TET2 function, and impair hematopoietic differentiation. *Cancer Cell.* 2010 Dec 14; 18(6):553–67.
- [230] **Pollyea.DA, Kohrt.HE, Zhang.B, Zehnder.J, Schenkein.D, Fantin.V, et al;**
2-Hydroxyglutarate in IDH mutant acute myeloid leukemia: predicting patient responses, minimal residual disease and correlations with methylcytosine and hydroxymethylcytosine levels. *Leuk Lymphoma.* 2013 Feb; 54(2):408–10.
- [231] **Sasaki.M, Knobbe.CB, Munger.JC, Lind.EF, Brenner.D, Brüstle.A, et al;** IDH1 (R132H) mutation increases murine haematopoietic progenitors and alters epigenetics. *Nature.* 2012 Aug 30; 488(7413):656–9.
- [232] **Metellus.P, Colin.C, Taieb.D, Guedj.E, Nanni-Metellus.I, de Paula.AM, et al;**
IDH mutation status impact on in vivo hypoxia biomarkers expression: new insights from a clinical, nuclear imaging and immunohistochemical study in 33 glioma patients. *J Neurooncol.* 2011 Dec; 105(3):591–600.

- [233] **Weljie.AM, Bondareva.A, Zang.P, Jirik.FR;** (1)H NMR metabolomics identification of markers of hypoxia-induced metabolic shifts in a breast cancer model system. *J Biomol NMR*. 2011 Apr; 49 (3-4):185–93.
- [234] **Majmundar.AJ, Wong.WJ, Simon.MC;** Hypoxia-inducible factors and the response to hypoxic stress. *Mol Cell*. 2010 Oct 22; 40(2):294–309.
- [235] **Chowdhury.R, Yeoh.KK, Tian.Y-M, Hillringhaus.L, Bagg.EA, Rose.NR, et al;**
The oncometabolite 2-hydroxyglutarate inhibits histone lysine demethylases. *EMBO Rep*. 2011 May; 12(5):463–9
- [236] **Koivunen.P, Lee.S, Duncan.CG, Lopez.G, Lu.G, Ramkissoon.S, et al;**
Transformation by the (R) enantiomer of 2-hydroxyglutarate linked to EGLN activation. *Nature*. 2012 Mar 22; 483(7390):484-8.
- [237] **Losman.J-A, Looper.RE, Koivunen.P, Lee.S, Schneider.RK, McMahon.C, et al;**
(R)-2-hydroxyglutarate is sufficient to promote leukemogenesis and its effects are reversible. *Science*. 2013 Mar 29; 339(6127):1621–5.
- [238] **Williams.SC, Karajannis.MA, Chiriboga.L, Golfinos.JG, von Deimling.A, Zagzag.D;** R132H-mutation of isocitrate dehydrogenase-1 is not sufficient for HIF-1 α upregulation in adult glioma. *Acta Neuropathol (Berl)*. 2011 Feb; 121(2):279–81.
- [239] **O'Reilly.MS, Boehm.T, Shing.Y, Fukai.N, Vasios.G, Lane.WS, et al;** Endostatin: an endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth. *Cell*. 1997 Jan 24; 88(2):277–85.
- [240] **Sasaki.M, Knobbe.CB, Itsumi.M, Elia.AJ, Harris.IS, Chio.IIC, et al;** D-2-hydroxyglutarate produced by mutant IDH1 perturbs collagen maturation and basement membrane function. *Genes Dev*. 2012 Sep 15; 26(18):2038–49.
- [241] **Hanahan.D, Weinberg.RA;** Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 2011 Mar 4; 144(5):646–74.

- [242] **Bardella.C, Pollard.PJ, Tomlinson.I**; SDH mutations in cancer. *Biochim Biophys Acta*. 2011 Nov; 1807(11):1432–43.
- [243] **Pollard.P, Wortham.N, Barclay.E, Alam.A, Elia.G, Manek.S, et al**; Evidence of increased microvessel density and activation of the hypoxia pathway in tumours from the hereditary leiomyomatosis and renal cell cancer syndrome. *J Pathol*. 2005 Jan; 205(1):41–9.
- [244] **Smith.EH, Janknecht.R, Maher.LJ**; Succinate inhibition of alpha-ketoglutarate-dependent enzymes in a yeast model of paraganglioma. *Hum Mol Genet*. 2007 Dec 15; 16(24):3136–48.
- [245] **Reitman.ZJ, Jin.G, Karoly.ED, Spasojevic.I, Yang.J, Kinzler.KW, et al**; Profiling the effects of isocitrate dehydrogenase 1 and 2 mutations on the cellular metabolome. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011 Feb 22; 108(8):3270–5.
- [246] **Latini.A, da Silva.CG, Ferreira.GC, Schuck.PF, Scussiato.K, Sarkis.JJ, et al**; Mitochondrial energy metabolism is markedly impaired by D-2-hydroxyglutaric acid in rat tissues. *Mol Genet Metab*. 2005 Oct; 86(12):188–99.
- [247] **Kölker.S, Pawlak.V, Ahlemeyer.B, Okun.JG, Hörster.F, Mayatepek.E, et al**; NMDA receptor activation and respiratory chain complex V inhibition contribute to neurodegeneration in d-2-hydroxyglutaric aciduria. *Eur J Neurosci*. 2002 Jul; 16(1):21–8.
- [248] **Wellen.KE, Hatzivassiliou.G, Sachdeva.UM, Bui.TV, Cross.JR, Thompson.CB**;
ATP-citrate lyase links cellular metabolism to histone acetylation. *Science*. 2009 May 22; 324 (5930):1076–80.
- [249] **Luksch.H, Uckermann.O, Stepulak.A, Hendruschk.S, Marzahn.J, Bastian.S, et al**; Silencing of selected glutamate receptor subunits modulates cancer growth. *Anticancer Res*. 2011 Oct; 31(10):3181–92.

- [250] **Piao.Y, Lu.L, de Groot.J;** AMPA receptors promote perivascular glioma invasion via beta1 integrin-dependent adhesion to the extracellular matrix. *Neuro-Oncol.* 2009 Jun; 11(3):260–73.
- [251] **Lyons.SA, Chung.WJ, Weaver.AK, Ogunrinu.T, Sontheimer.H;** Autocrine glutamate signaling promotes glioma cell invasion. *Cancer Res.* 2007 Oct 1; 67(19):9463–71.
- [252] **Seltzer.MJ, Bennett.BD, Joshi.AD, Gao.P, Thomas.AG, Ferraris.DV, et al;** Inhibition of glutaminase preferentially slows growth of glioma cells with mutant IDH1. *Cancer Res.* 2010 Nov 15; 70(22):8981–7.
- [253] **McFarland.MS, Cripps.R;** Diabetes mellitus and increased risk of cancer: focus on metformin and the insulin analogs. *Pharmacotherapy.* 2010 Nov; 30 (11):1159–78.
- [254] **Ronnebaum.SM, Ilkayeva.O, Burgess.SC, Joseph.JW, Lu.D, Stevens.RD, et al;**
A pyruvate cycling pathway involving cytosolic NADP-dependent isocitrate dehydrogenase regulates glucose-stimulated insulin secretion. *J Biol Chem.* 2006 Oct 13; 281(41):30593–602.
- [255] **Reitman.ZJ, Yan.H;** Isocitrate Dehydrogenase 1 and 2 Mutations in Cancer: Alterations at a Crossroads of Cellular Metabolism. *JNCI J Natl Cancer Inst.* 2010 Jul 7; 102(13):932–41.
- [256] **Latini.A, Scussiato.K, Rosa.RB, Llesuy.S, Belló-Klein.A, Dutra-Filho.CS, et al;**
D-2-hydroxyglutaric acid induces oxidative stress in cerebral cortex of young rats. *Eur J Neurosci.* 2003 May; 17 (10):2017–22.
- [257] **Rakheja.D, Konoplev.S, Medeiros.LJ, Chen.W;** IDH mutations in acute myeloid leukemia. *Hum Pathol.* 2012 Oct; 43(10):1541–51.
- [258] **Yan.H, Parsons.DW, Jin.G, McLendon.R, Rasheed.BA, Yuan.W, et al;** IDH1 and IDH2 Mutations in Gliomas. *N Engl J Med.* 2009; 360(8):765–73.

- [259] **Patnaik.MM, Hanson.CA, Hodnefield.JM, Lasho.TL, Finke.CM, Knudson.RA, et al;** Differential prognostic effect of IDH1 versus IDH2 mutations in myelodysplastic syndromes: a Mayo Clinic Study of 277 patients. *Leukemia*. 2012 Jan; 26 (1):101–5.
- [260] **Zhang.Y, Wei.H, Tang.K, Lin.D, Zhang.C, Mi.Y, et al;** Mutation Analysis of Isocitrate Dehydrogenase in Acute Lymphoblastic Leukemia. *Genet Test Mol Biomark*. 2012 Aug; 16(8):991–5.
- [261] **Paschka P, Schlenk RF, Gaidzik VI, Habdank M, Krönke J, Bullinger L, et al.**
IDH1 and IDH2 Mutations Are Frequent Genetic Alterations in Acute Myeloid Leukemia and Confer Adverse Prognosis in Cytogenetically Normal Acute Myeloid Leukemia with NPM1 Mutation without FLT3 Internal Tandem Duplication. *J Clin Oncol*. 2010 Jan 8; 28(22):3636–43.
- [262] **Abbas.S, Lugthart.S, Kavelaars.FG, Schelen.A, Koenders.JE, Zeilemaker.A, et al;** Acquired mutations in the genes encoding IDH1 and IDH2 both are recurrent aberrations in acute myeloid leukemia: prevalence and prognostic value. *Blood*. 2010 Sep 23; 116(12):2122–6.
- [263] **Schnittger.S, Haferlach.C, Ulke.M, Alpermann.T, Kern.W, Haferlach.T;** IDH1 mutations are detected in 6.6% of 1414 AML patients and are associated with intermediate risk karyotype and unfavorable prognosis in adults younger than 60 years and unmutated NPM1 status. *Blood*. 2010 Dec 16; 116(25):5486–96.
- [264] **Patel.KP, Ravandi.F, Ma.D, Paladugu.A, Barkoh.BA, Medeiros.LJ, et al;** Acute Myeloid Leukemia with IDH1 or IDH2 Mutation Frequency and Clinicopathologic Features. *Am J Clin Pathol*. 2011 Jan 1; 135(1):35–45.
- [265] **Damm.F, Thol.F, Hollink.I, Zimmermann.M, Reinhardt.K, van den Heuvel-Eibrink.MM, et al;** Prevalence and prognostic value of IDH1 and IDH2 mutations in childhood AML: a study of the AML–BFM and DCOG study groups. *Leukemia*. 2011 Nov; 25(11):1704–10.

- [266] **Green.CL, Evans.CM, Hills.RK, Burnett.AK, Linch.DC, Gale.RE;** the prognostic significance of IDH1 mutations in younger adult patients with acute myeloid leukemia is dependent on FLT3/ITD status. *Blood*. 2010 Oct 14; 116(15):2779–82.
- [267] **Rakheja.D, Konoplev.S, Medeiros.LJ, Chen.W;** IDH mutations in acute myeloid leukemia. *Hum Pathol*. 2012 Oct; 43(10):1541–51.
- [268] **Marcucci.G, Maharry.K, Wu.Y-Z, Radmacher.MD, Mrózek.K, Margeson.D, et al;** IDH1 and IDH2 gene mutations identify novel molecular subsets within de novo cytogenetically normal acute myeloid leukemia: a Cancer and Leukemia Group B study. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2010 May 10; 28(14):2348–55.
- [269] **Parsons.D.W, Jones.S, Zhang.X, Lin.J.C, Leary.R.J, Angenendt.P, Mankoo.P, Carter.H, Siu.I.M, Gallia.G.L et al;** An integrated genomic analysis of human glioblastoma multiforme. *Science* 2008, 321, 1807–1812.
- [270] **Zhao.S, Lin.Y, Xu.W, Jiang.W, Zha.Z, Wang.P, Yu.W, Li.Z, Gong.L, Peng.Y et al;** Glioma-derived mutations in IDH1 dominantly inhibit IDH1 catalytic activity and induce HIF-1alpha. *Science* 2009, 324, 261–265.
- [271] **Ward.P.S, Patel.J, Wise.D.R, Abdel-Wahab.O, Bennett.B.D, Coller.H.A, Cross.J.R, Fantin.V.R, Hedvat.C.V, Perl.A.E et al;** The common feature of leukemia-associated IDH1 and IDH2 mutations is a neomorphic enzyme activity converting alpha-ketoglutarate to 2-hydroxyglutarate. *Cancer Cell* 2010, 17, 225–234.
- [272] **Dang.L, White.D.W, Gross.S, Bennett.B.D, Bittinger.M.A, Driggers.E.M, Fantin.V.R, Jang.H.G, Jin.S, Keenan.M.C et al;** Cancer-associated IDH1 mutations produce 2-hydroxyglutarate. *Nature* 2009, 462, 739–744.
- [273] **Chowdhury.R, Yeoh.K.K, Tian.Y.M, Hillringhaus.L, Bagg.E.A, Rose.N.R, Leung.I.K, Li.X.S, Woon.E.C, Yang.M et al;** the oncometabolite 2-hydroxyglutarate inhibits histone lysine demethylases. *EMBO Rep*. 2011, 12, 463–469.

- [274] **Hou.H, Yu.H**; Structural insights into histone lysine demethylation. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 2010, 20, 739–748.
- [275] **Turcan.S, Rohle.D, Goenka.A, Walsh.L.A, Fang.F, Yilmaz.E, Campos.C, Fabius.A.W, Lu.C, Ward.P.S et al**; IDH1 mutation is sufficient to establish the glioma hypermethylator phenotype. *Nature* 2012, 483, 479–483.
- [276] **Xu.W, Yang.H, Liu.Y, Yang.Y, Wang.P, Kim.S.H, Ito.S, Yang.C, Wang.P, Xiao.M.T et Al**; Oncometabolite 2-hydroxyglutarate is a competitive inhibitor of alpha-ketoglutarate -dependent dioxygenases. *CancerCell* 2011, 19, 17–30.
- [277] **Liu.Y, Jiang.W, Liu.J, Zhao.S, Xiong.J, Mao.Y, Wang.Y**; IDH1 mutations inhibit multiple alpha-ketoglutarate-dependent dioxygenase activities in astroglioma. *J. Neurooncol.* 2012, 109, 253–260.
- [278] **Metellus.P, Colin.C, Taieb.D, Guedj.E, Nanni-Metellus.I, de Paula.A.M, Colavolpe.C, Fuentes.S, Dufour.H, Barrie.M et al**; IDH mutation status impact on in vivo hypoxia biomarkers expression: New insights from a clinical, nuclear imaging and immunohistochemical study in 33 glioma patients. *J.Neurooncol.* 2011, 105, 591–600.
- [279] **Kickingereder.P, Sahm.F, Radbruch.A, Wick.W, Heiland.S, Deimling.A, Bendszus.M, Wiestler.B**; IDH mutation status is associated with a distinct hypoxia/angiogenesis transcriptome signature which is non-invasively predictable with rCBV imaging in human glioma. *Sci. Rep.* 2015, 5, 16238.
- [280] **Reitman.Z.J, Jin.G, Karoly.E.D, Spasojevic.I, Yang.J, Kinzler.K.W, He.Y, Bigner.D.D, Vogelstein.B, Yan.H**; Profiling the effects of isocitrate dehydrogenase 1 and 2 mutations on the cellular metabolome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2011, 108, 3270–3275.
- [281] **Ye.D, Guan.K.L, Xiong.Y**; Metabolism, Activity, and Targeting of D- and L-2-Hydroxyglutarates. *Trends Cancer* 2018, 4, 151–165.

- [282] **Calvert.A.E, Chalastanis.A, Wu.Y, Hurley.L.A, Kouri.F.M, Bi.Y, Kachman.M, May.J.L, Bartom.E, Hua.Y et al;** Cancer-Associated IDH1 Promotes Growth and Resistance to Targeted Therapies in the Absence of Mutation. *Cell Rep.* 2017, 19, 1858–1873.
- [283] **Louis.D.N, Perry.A, Reifenberger.G, von Deimling.A, Figarella-Branger.D, Cavenee.W.K, Ohgaki.H, Wiestler.O.D, Kleihues.P, Ellison.D.W;** the 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: A summary. *Acta Neuropathol.* 2016, 131, 803–820.
- [284] **Noushmehr.H, Weisenberger.D.J, Diefes.K, Phillips.H.S, Pujara.K, Berman.B.P, Pan.F, Pelloski.C.E, Sulman.E.P, Bhat.K.P et al;** Identification of a CpG island methylator phenotype that defines a distinct subgroup of glioma. *Cancer Cell* 2010, 17, 510–522.
- [285] **Ceccarelli.M, Barthel.F.P, Malta.T.M, Sabedot.T.S, Salama.S.R, Murray.B.A, Morozova.O, Newton.Y, Radenbaugh.A, Pagnotta.S.M et al;** Molecular Profiling Reveals Biologically Discrete Subsets and Pathways of Progression in Diffuse Glioma. *Cell* 2016, 164, 550–563.
- [286] **Korshunov.A, Casalini.B, Chavez.L, Hielscher.T, Sill.M, Ryzhova.M, Sharma.T, Schrimpf.D, Stichel.D, Capper.D et al;** Integrated molecular characterization of IDH-mutant glioblastomas. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 2018.
- [287] **Madala.H.R, Punganuru.S.R, Arutla.V, Misra.S, Thomas.T.J, and Srivenugopal.K.S;** Beyond Brooding on Oncometabolic Havoc in IDH-Mutant Gliomas and AML: Current and Future Therapeutic Strategies. *Cancers* 2018, 10, 49.
- [288] **Yan.H, Parsons.D.W, Jin.G, McLendon.R, Rasheed.B.A, Yuan.W, Kos.I, Batinic-Haberle.I, Jones.S, Riggins.G.J et al;** IDH1 and IDH2 mutations in gliomas. *N. Engl. J. Med.* 2009, 360, 765–773.

- [289] **Van den Bent.M.J, Dubbink.H.J, Marie.Y, Brandes.A.A, Taphoorn.M.J, Wesseling.P, Frenay.M, Tijssen.C.C, Lacombe.D, Idbaih.A, et al;** IDH1 and IDH2 mutations are prognostic but not predictive for outcome in anaplastic oligodendroglial tumors: A report of the European Organization for Research and Treatment of Cancer Brain Tumor Group. *Clin. Cancer Res.* 2010, 16, 1597–1604.
- [290] **Ichimura.K, Pearson.D.M, Kocialkowski.S, Backlund.L.M, Chan.R, Jones.D.T, Collins.V.P;** IDH1 mutations are present in the majority of common adult gliomas but rare in primary glioblastomas. *Neuro-Oncology* 2009, 11, 341–347.
- [291] **Sturm.D, Pfister.S.M, Jone.D.T.W;** Pediatric Gliomas: Current Concepts on Diagnosis, Biology, and Clinical Management. *J. Clin. Oncol.* 2017, 35, 2370–2377.
- [292] **Waitkus.M.S, Diplas.B.H, Yan.H;** Isocitrate dehydrogenase mutations in gliomas. *Neuro-Oncology* 2016, 18, 16–26.
- [293] **Esteller.M, Garcia-Foncillas.J, Andion.E, Goodman.S.N, Hidalgo.O.F, Vanaclocha.V, Baylin.S.B, Herman.J.G;** Inactivation of the DNA-repair gene MGMT and the clinical response of gliomas to alkylating agents. *N. Engl. J. Med.* 2000, 343, 1350–1354.
- [294] **Balss.J, Meyer.J, Mueller.W, Korshunov.A, Hartmann.C, von Deimling.A;** Analysis of the IDH1 codon 132 mutation in brain tumors. *Acta Neuropathol.* 2008, 116, 597–602.
- [295] **Sarmiento.J.M, Mukherjee.D, Black.K.L, Fan.X, Hu.J.L, Nuno.M.A, Patil.C.G;** Do Long-Term Survivor Primary Glioblastoma Patients Harbor IDH1 Mutations? *J. Neurol. Surg. A Cent. Eur. Neurosurg.* 2016, 77, 195–200.
- [296] **Amelot.A, De Cremoux.P, Quillien.V, Polivka.M, Adle-Biassette.H, Lehmann-Che.J, Françoise.L, Carpentier.A.F, George.B, Mandonnet.E et al;** IDH-Mutation Is a Weak Predictor of Long-Term Survival in Glioblastoma Patients. *PLoS ONE* 2015, 10, e0130596.

- [297] **Iwadate.Y, Matsutani.T, Hirono.S, Ikegami.S, Shinozaki.N, Saeki.N;** IDH1 mutation is prognostic for diffuse astrocytoma but not low-grade oligodendrogliomas in patients not treated with early radiotherapy. *J. Neurooncol.* 2015, 124, 493–500.
- [298] **Mellai.M, Annovazzi.L, Senetta.R, Dell’Aglia.C, Mazzucco.M, Cassoni.P, Schiffer.D;** Diagnostic revision of 206 adult gliomas (including 40 oligoastrocytomas) based on ATRX, IDH1/2 and 1p/19q status. *J. Neurooncol.* 2017, 131, 213–222.
- [299] **Li.H, Li.J, Cheng.G, Zhang.J, Li.X;** IDH mutation and MGMT promoter methylation are associated with the pseudoprogression and improved prognosis of glioblastoma multiforme patients who have undergone concurrent and adjuvant temozolomide-based chemoradiotherapy. *Clin. Neurol. Neurosurg.* 2016, 151, 31–36.
- [300] **Chen.N, Yu.T, Gong.J, Nie.L, Chen.X, Zhang.M, Xu.M, Tan.J, Su.Z, Zhong.J et al;** IDH1/2 gene hotspot mutations in central nervous system tumours: Analysis of 922 Chinese patients. *Pathology* 2016, 48, 675–683.
- [301] **Nakae.S, Sasaki.H, Hayashi.S, Hattori.N, Kumon.M, Nishiyama.Y, Adachi.K, Nagahisa.S, Hayashi.T, Inamasu.J et al;** PCR-Based Simple Subgrouping Is Validated for Classification of Gliomas and Defines Negative Prognostic Copy Number Aberrations in IDH Mutant Gliomas. *PLoS ONE* 2015, 10, e0142750.
- [302] **Schiffgens.S, Wilkens.L, Brandes.A.A, Meier.T, Franceschi.E, Ermani.M, Hartmann.C, Sandalcioglu.I.E, Dumitru.C.A;** Sex-specific clinicopathological significance of novel (Frizzled-7) and established (MGMT, IDH1) biomarkers in glioblastoma. *Oncotarget* 2016, 7, 55169–55180.
- [303] **Yang.Y, Mao.Q, Wang.X, Liu.Y, Mao.Y, Zhou.Q, Luo.J;** An analysis of 170 glioma patients and systematic review to investigate the association between IDH-1 mutations and preoperative glioma-related epilepsy. *J. Clin. Neurosci.* 2016, 31, 56–62.

- [304] **Li.Y, Shan.X, Wu.Z, Wang.Y, Ling.M, and Fan.X;** IDH1 mutation is associated with a higher preoperative seizure incidence in low-grade glioma: A systematic review and meta-analysis. *Seizure* 2018, 55, 76–82.
- [305] **Giering.A, Pszczolkowska.D, Walentynowicz.K.A, Rajan.W.D, Kaminska.B;** Immune microenvironment of gliomas. *Lab. Investig.* 2017, 97, 498–518.
- [306] **Hambardzumyan.D, Gutmann.D.H, Kettenmann.H;** The role of microglia and macrophages in glioma maintenance and progression. *Nat. Neurosci.* 2016, 19, 20–27.
- [307] **Kim.Y.H, Jung.T.Y, Jung.S, Jang.W.Y, Moon.K.S, Kim.I.Y, Lee.M.C, Lee.J.J;** Tumour-infiltrating T-cell subpopulations in glioblastomas. *Br. J. Neurosurg.* 2012, 26, 21–27.
- [308] **Lohr.J, Ratliff.T, Huppertz.A, Ge.Y, Dictus.C, Ahmadi.R, Grau.S, Hiraoka.N, Eckstein.V, Ecker.R.C et al;** Effector T-cell infiltration positively impacts survival of glioblastoma patients and is impaired by tumor-derived TGF-beta. *Clin. Cancer Res.* 2011, 17, 4296–4308.
- [309] **Han.S, Zhang.C, Li.Q, Dong.J, Liu.Y, Huang.Y, Jiang.T, Wu.A;** Tumour-infiltrating CD4(+) and CD8(+)lymphocytes as predictors of clinical outcome in glioma. *Br. J.Cancer*2014, 110, 2560–2568.
- [310] **Mu.L, Yang.C, Gao.Q; Long.Y, Ge.H, DeLeon.G, Jin.L, Chang.Y.E, Sayour.E.J, Ji.J et al;** CD4+ and Perivascular Foxp3+ T Cells in Glioma Correlate with Angiogenesis and Tumor Progression. *Front. Immunol.* 2017, 8, 1451.
- [311] **Preusser.M, Lim.M, Hafler.D.A, Reardon.D.A, Sampson.J.H;** Prospects of immune checkpoint modulators in the treatment of glioblastoma. *Nat. Rev. Neurol.* 2015, 11, 504–514.

- [312] **Fong.B, Jin.R, Wang.X, Safae.M, Lisiero.D.N, Yang.I, Li.G, Liau.L.M, Prins.R.M;** Monitoring of regulatory T cell frequencies and expression of CTLA-4 on T cells, before and after DC vaccination, can predict survival in GBM patients. *PLoS ONE* 2012, 7, e32614.
- [313] **Nduom.E.K, Wei.J, Yaghi.N.K, Huang.N, Kong.L.Y, Gabrusiewicz.K, Ling.X, Zhou.S, Ivan.C, Chen.J.Q et al;** PD-L1 expression and prognostic impact in glioblastoma. *Neuro-Oncology* 2016, 18, 195–205.
- [314] **Kohanbash.G, Carrera.D.A, Shrivastav.S, Ahn.B.J, Jahan.N, Mazor.T, Chheda.Z.S, Downey.K.M, Watchmaker.P.B, Beppler.C et al;** Isocitrate dehydrogenase mutations suppress STAT1 and CD8+ T cell accumulation in gliomas. *J. Clin. Investig.* 2017, 127, 1425–1437.
- [315] **Garber.S.T, Hashimoto.Y, Weathers.S.P, Xiu.J, Gatalica.Z, Verhaak.R.G, Zhou.S, Fuller.G.N, Khasraw.M, de Groot.J et al;** Immune checkpoint blockade as a potential therapeutic target: Surveying CNS malignancies. *Neuro-Oncology* 2016, 18, 1357–1366.
- [316] **Berghoff.A.S, Kiesel.B, Widhalm.G, Wilhelm.D, Rajky.O, Kurscheid.S, Kresl.P, Wohrer.A, Marosi.C, Hegi.M.E et al;** Correlation of immune phenotype with IDH mutation in diffuse glioma. *Neuro-Oncology* 2017, 19, 1460–1468.
- [317] **Pratt.D, Dominah.G, Lobel.G, Obungu.A, Lynes.J, Sanchez.V, Adamstein.N, Wang.X, Edwards.N.A, Wu.T et al;** Programmed Death Ligand 1 Is a Negative Prognostic Marker in Recurrent Isocitrate Dehydrogenase-Wild type Glioblastoma. *Neurosurgery* 2018.
- [318] **Bunse.L, Pusch.S, Bunse.T, Sahm.F, Sanghvi.K, Friedrich.M, Alansary.D, Sonner.J.K, Green.E, Deumelandt.K et al;** Suppression of antitumor T cell immunity by the oncometabolite (R)-2-hydroxyglutarate. *Nat. Med.* 2018, 24, 1192–1203.

- [319] **Amankulor.N.M, Kim.Y, Arora.S, Kargl.J, Szulzewsky.F, Hanke.M, Margineantu.D.H, Rao.A, Bolouri.H, Delrow.J et al;** Mutant IDH1 regulates the tumor-associated immune system in gliomas. *Genes Dev.* 2017, 31, 774–786.
- [320] **Luoto.S, Hermelo.I, Vuorinen.E.M, Hannus.P, Kesseli.J, Nykter.M, Granberg.K.J;** Computational Characterization of Suppressive Immune Microenvironments in Glioblastoma. *Cancer Res.* 2018, 78, 5574–5585.
- [321] **Zhang.L, Sorensen.M.D, Kristensen.B.W, Reifenberger.G, McIntyre.T.M, Lin.F;** D-2-Hydroxyglutarate Is an Intercellular Mediator in IDH-Mutant Gliomas Inhibiting Complement and T Cells. *Clin. Cancer Res.* 2018, 24, 5381–5391.
- [322] **Dieterich.L.C, Mellberg.S, Langenkamp.E, Zhang.L, Zieba.A, Salomaki.H, Teichert.M, Huang.H, Edqvist.P.H, Kraus.T et al;** Transcriptional profiling of human glioblastoma vessels indicates a key role of VEGF-A and TGFbeta2 in vascular abnormalization. *J. Pathol.* 2012, 228, 378–390.
- [323] **Pen.A, Moreno.M.J, Martin.J, Stanimirovic.D.B;** Molecular markers of extracellular matrix remodeling in glioblastoma vessels: Microarray study of laser-captured glioblastoma vessels. *Glia* 2007, 55, 559–572.
- [324] **Koivunen.P, Lee.S, Duncan.C.G, Lopez.G, Lu.G, Ramkissoon.S, Losman.J.A, Joensuu.P, Bergmann.U, Gross.S et al;** Transformation by the (R)-enantiomer of 2-hydroxyglutarate linked to EGLN activation. *Nature* 2012, 483, 484–488.
- [325] **Zhang.L, He.L, Lugano.R, Roodakker.K, Bergqvist.M, Smits.A, Dimberg.A;** IDH mutation status is associated with distinct vascular gene expression signatures in lower-grade gliomas. *Neuro-Oncology* 2018, 20, 1505–1516.
- [326] **Medeiros.B.C, Fathi.A.T, DiNardo.C.D, Pollyea.D.A, Chan.S.M, Swords.R;** Isocitrate dehydrogenase mutations in myeloid malignancies. *Leukemia* 2017, 31, 272–281.

- [327] **Hansen.E, Quivoron.C, Straley.K, Lemieux.R.M, Popovici-Muller.J, Sadrzadeh.H, Fathi.A.T, Gliser.C, David.M, Saada.V et al;** AG-120, an Oral, Selective, First-in-Class, Potent Inhibitor of Mutant IDH1, Reduces Intracellular 2HG and Induces Cellular Differentiation in TF-1 R132H Cells and Primary Human IDH1 Mutant AML Patient Samples Treated Ex Vivo. *Blood* 2014, 124, 3734.
- [328] **Quivoron.C, David.M, Straley.K, Travins.J, Kim.H, Chen.Y, Zhu.D, Saada.V, Bawa.O, Opolon.P et al;** AG-221, an Oral, Selective, First-in-Class, Potent IDH2-R140Q Mutant Inhibitor, Induces Differentiation in a Xenotransplant Model. *Blood* 2014, 124, 3735.
- [329] **Fujii.T, Khawaja.M.R, DiNardo.C.D, Atkins.J.T, Janku.F;** Targeting isocitrate dehydrogenase (IDH) in cancer. *Discov. Med.* 2016, 21, 373–380.
- [330] **DiNardo.C, de Botton.S, Pollyea.D.A, Stein.E.M, Fathi.A.T, Roboz.G.J, Collins, R, Swords.R.T, Flinn.I.W, Altman.J.K et al;** Molecular Profiling and Relationship with Clinical Response in Patients with IDH1 Mutation-Positive Hematologic Malignancies Receiving AG-120, a First-in-Class Potent Inhibitor of Mutant IDH1, in Addition to Data from the Completed Dose Escalation Portion of the Phase 1 Study. *Blood* 2015, 126, 1306.
- [331] **Stein.E.M, DiNardo.C, Altman.J.K, Collins.R, DeAngelo.D.J, Kantarjian.H.M, Sekeres.M.A, Fathi.A.T, Flinn.I.W, Frankel.A.E et al;** Safety and Efficacy of AG-221, a Potent Inhibitor of Mutant IDH2 That Promotes Differentiation of Myeloid Cells in Patients with Advanced Hematologic Malignancies: Results of a Phase 1/2 Trial. *Blood* 2015, 126, 323.
- [332] **Burris.H, Mellinohoff.I, Maher.E, Wen.P, Beeram.M, Touat.M, Faris.J, Azad.N, Cloughesy.T, Gore.L et al;** The first reported results of AG-120, a first-in-class, potent inhibitor of the IDH1 mutant protein, in a Phase I study of patients with advanced IDH1-mutant solid tumors, including gliomas. In Proceedings of the AACR-NCI-EORTC International Conference: Molecular Targets and Cancer Therapeutics, Boston, MA, USA, 5–9 November 2015; *Mol Cancer Ther*: Philadelphia, PA, USA, 2015; Abstract PL04-05.

- [333] **Rohle.D, Popovici Muller.J, Palaskas.N, Turcan.S, Grommes.C, Campos.C, Tsoi.J, Clark.O, Oldrini.B, Komisopoulou.E et al;** An inhibitor of mutant IDH1 delays growth and promotes differentiation of glioma cells. *Science* 2013, 340, 626–630.
- [334] **Li.L, Paz.A.C, Wilky.B.A, Johnson.B, Galoian.K, Rosenberg.A, Hu.G, Tinoco.G, Bodamer.O, Trent.J.C;** Treatment with a Small Molecule Mutant IDH1 Inhibitor Suppresses Tumorigenic Activity and Decreases Production of the Oncometabolite 2-Hydroxyglutarate in Human Chondrosarcoma Cells. *PLoS ONE* 2015, 10, e0133813.
- [335] **Heuser.M, Herbst.L, Pusch.S, Klett.L, Goparaju.R, Stichel.D, Kaulfuss.S, Panknin.O, Zimmermann.K, Toschi.L et al;** Pan-Mutant-IDH1 Inhibitor Bay-1436032 Is Highly Effective Against Human IDH1 Mutant Acute Myeloid Leukemia In Vivo. *Blood* 2016, 128, 745.
- [336] **Chaturvedi.A, Araujo Cruz.M.M, Jyotsana.N, Sharma.A, Yun.H, Görlich.K, Wichmann.M, Schwarzer.A, Preller.M, Thol.F et al;** Mutant IDH1 promotes leukemogenesis in vivo and can be specifically targeted in human AML. *Blood* 2013, 122, 2877–2887.
- [337] **Chaturvedi.A, Araujo Cruz.M.M, Goparaju.R, Jyotsana.N, Baehre.H, Goerlich.K, Schottmann.R, Preller.M, Struys.E.A, Kloos.A et al;** A Novel Inhibitor of Mutant IDH1 Induces Differentiation in Vivo and Prolongs Survival in a Mouse Model of Leukemia. *Blood* 2014, 124, 3598.
- [338] **DiNardo.C.D, Schimmer.A.D, Yee.K.W.L, Hochhaus.A, Kraemer.A, Carvajal.R.D, Janku.F, Bedard.P, Carpio.C, Wick.A et al;** A Phase I Study of IDH305 in Patients with Advanced Malignancies Including Relapsed/Refractory AML and MDS That Harbor IDH1R132 Mutations. *Blood* 2016, 128, 1073.
- [339] **Wang.F, Travins.J, DeLaBarre.B, Penard-Lacronique.V, Schalm.S, Hansen.E, Straley.K, Kernytsky.A, Liu.W, Gliser.C et al;** Targeted inhibition of mutant IDH2 in leukemia cells induces cellular differentiation. *Science* 2013, 340, 622–626.

- [340] **Kernytsky.A, Wang.F, Hansen.E, Schalm.S, Straley.K, Gliser.C, Yang.H, Travins.J, Murray.S, Dorsch.M et al**; IDH2 mutation-induced histone and DNA hypermethylation is progressively reversed by small-molecule inhibition. *Blood* 2015, 125, 296–303.
- [341] **Wang.F, Travins.J, Chen.Y, Yang.H, Straley.K, Choe.S, Dorsch.M, Schenkein.D.P, Agresta.S, Biller.S et al**; AG-221 Offers a Survival Advantage in a Primary Human IDH2 Mutant AML Xenograft Model. *Blood* 2013, 122, 240.
- [342] **Stein.E, Altman.J.K, Collins.R, DeAngelo.D, Fathi.A, Flinn.I, Frankel.A, Levine.R, Medeiros.B et al**; AG-221, an oral, selective, first-in-class, potent inhibitor of the IDH2 mutant enzyme, induced durable responses in a phase 1 study of IDH2 mutation-positive advanced hematologic malignancies. *Blood* 2014, 124, 115.
- [343] **Fan.B, Chen.Y, Wang.F, Yen.K, Utley.L, Almon.C, Straley.K, Attar.E, Bowden.C, Biller.S et al**; Pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) evaluation of AG-221, a potent mutant IDH2 inhibitor, from a phase 1 trial of patients with IDH2-mutation positive hematologic malignancies. *Haematologica* 2015, 100 (Suppl. 1), E948.
- [344] **de Botton.S**; Targeting isocitrate dehydrogenase-1 (IDH1) and IDH2 mutations. Clinical results in advanced hematologic malignancies. *Ann. Oncol.* 2015, 26, Abstract ii15.
- [345] **Schumacher.T, Bunse.L, Pusch.S, Sahn.F, Wiestler.B, Quandt.J, Menn.O, Osswald.M, Oezen.I, Ott.M et al**; A vaccine targeting mutant IDH1 induces antitumour immunity. *Nature* 2014, 512, 324–327.
- [346] **Pellegatta.S, Valletta.L, Corbetta.C, Patane.M, Zucca.I, RiccardiSirtori.F, Bruzzone.M.G, Fogliatto.G, Isacchi.A, Pollo.B et al**; Effective immuno-targeting of the IDH1 mutation R132H in a murine model of intracranial glioma. *Acta Neuropathol. Commun.* 2015, 3, 4.

- [347] (<https://essaiscliniques.gov/ct2/show/NCT02454634>). Consulté en février 2020.
- [348] **Platten.M, Schilling.D, Bunse.L, Wick.A, Bunse.T, Riehl.D, Green.E, Sanghvi.K, Karapanagiotou-Schenkel.I, Harting.I et al;** ATIM-33. NOA-16: A first-in-man multicenter phase I clinical trial of the german neurooncology working group evaluating a mutation-specific peptide vaccine targeting IDH1R132H in patients with newly diagnosed malignant astrocytomas. *Neuro-Oncology* 2018, 20, vi8–vi9.
- [349] **Friedrich.M, Bunse.L, Wick.W, Platten.M;** Perspectives of immunotherapy in isocitrate dehydrogenase mutant gliomas. *Curr. Opin. Oncol.* 2018, 30, 368–374.
- [350] **Danilo.S.M; Ilenia. A ; Rosario .A ; Matteo.L ; Franca.E ;** TRAP1 Regulation of Cancer Metabolism: Dual Role As Oncogene or Tumor Suppressor. Consulté le 28/12/2020.
- [351] **Judith Favier, Anne-Paule.G.R;** La génétique des paragangliomes et des phéochromocytomes. juin-juillet 2012.
- [352] **Judith. F, Eric.L ;** Mutations de la succinate déshydrogénase et méthylation de L'ADN, Un nouveau lien entre métabolisme cellulaire, épigénétique et cancer. N°12, vol. 29, décembre 2013.
- [353] **Renaud.V, Giulia.L, Monica De L, Giulia.G, Michele.V, Giuseppe and Anna Maria.P.** The α -ketoglutarate dehydrogenase complex in cancer metabolic plasticity *Vatrinet et Al.Cancer & Metabolism* (2017).
- [354] **Matthew.S, Waitkus, Bill H.D, and Hai.Y;** *Neuro-Oncology: Isocitrate Deshydrogenase mutations in gliomas* Access date 16 July 2015.
- [355] **Hill P.W et al;** *Genomics*, 2014, 104(5):324-33.
- [356] **Bozena.K, Bartosz.C, Rafal.G, Sylwia.K.K and Bartlomiej.G;** Consequences Of IDH1/2 Mutations in Gliomas and an Assessment of Inhibitors Targeting Mutated IDH Proteins. *Molecules* 2019, 24, 968.



Serment de Galien



Je jure en présence des maîtres de cette faculté :

- *D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.*
 - *D'exercer ma profession avec conscience, dans l'intérêt de la santé publique, sans jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.*
 - *D'être fidèle dans l'exercice de la pharmacie à la législation en vigueur, aux règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.*
 - *De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession, de ne jamais consentir à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.*
 - *Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses, que je sois méprisée de mes confrères si je manquais à mes engagements.*
- 



جامعة محمد الخامس
كلية الطب والصيدلة
- الرباط -

قسم الصيدلي

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

وَأَحْسِنِ بِاللَّهِ الْعَظِيمِ



◀ أن أراقب الله في مهنتي

◀ أن أبجل أساتذتي الذين تعلمت على أيديهم مبادئ مهنتي وأعترف لهم بالجميل وأبقى دوما وفيا لتعاليمهم.

◀ أن أزاول مهنتي بوازع من ضميري لما فيه صالح الصحة العمومية، وأن لا أقصر أبدا في مسؤوليتي وواجباتي تجاه المريض وكرامته الإنسانية.

◀ أن ألتزم أثناء ممارستي للصيدلة بالقوانين المعمول بها وبأدب السلوك والشرف، وكذا بالاستقامة والترفع.

◀ أن لا أفشي الأسرار التي قد تعهد إلى أو التي قد أطلع عليها أثناء القيام بمهامي، وأن لا أوافق على استعمال معلوماتي لإفساد الأخلاق أو تشجيع الأعمال الإجرامية.

◀ لأحظى بتقدير الناس إن أنا تقيدت بعهودي، أو أحتقر من طرف زملائي إن أنا لم أف بالالتزاماتي.

"والله على ما أقول شهيد"





المملكة المغربية
جامعة محمد الخامس بالرباط
كلية الطب والصيدلة
الرباط



جامعة محمد الخامس بالرباط
Université Mohammed V de Rabat

أطروحة رقم: 21

سنة: 2021

تشوهات دورة كريبس

أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم: / / 2021

من طرف

السيدة ياسمينه كوال

المزودة في 05 يوليوز 1996 بالدار البيضاء

لنيل شهادة

دكتور في الصيدلة

الكلمات الأساسية: دورة كريبس؛ تشوهات؛ ألفا كيتو غلوتارات ديهيدروجينيز؛
إيزوسيترات هيدروجينيز؛ سكسينات نازعة الهيدروجين

أعضاء لجنة التحكيم:

رئيس

السيد ميمون زوهدي

مشرف

أستاذ في علم الأحياء الدقيقة

السيدة سعيدة طلال

عضو

أستاذة في الكيمياء الحيوية

السيد أحمد كاوي

عضو

أستاذ في طب الأطفال

السيدة فاطمة جابويريك

أستاذة في طب الأطفال