



TLEMCEM N° D'ORDRE



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE de TLEMCEM

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers

Département de Biologie

Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée et d'Immunologie

MEMOIRE

Présenté par

BENAISSI Mahmoud Idris

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En Immunologie

Thème

**Effet de metformine sur l'immuno-métabolisme des monocytes en co-culture avec
les cellules cancéreuses du sein**

Soutenu le 09 juillet 2017, devant le jury composé de :

Président	SMAHI Mohamed Chems eddine Ismat	Professeur
Encadreur	ARIBI Mourad	Professeur
Examinatrice	BRAHAMI Nabila	MCB
Examinatrice	HAMMOUDA Linda	MAA

09/07/2017



TLEMCEM N° D'ORDRE



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE de TLEMCEM

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers

Département de Biologie

Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée et d'Immunologie

MEMOIRE

Présenté par

BENAISSI Mahmoud Idris

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En Immunologie

Thème

**Effet de metformine sur l'immuno-métabolisme des monocytes en co-culture avec
les cellules cancéreuses du sein**

Soutenu le 09 juillet 2017, devant le jury composé de :

Président	SMAHI Mohamed Chems eddine Ismat	Professeur
Encadreur	ARIBI Mourad	Professeur
Examinatrice	BRAHAMI Nabila	MCB
Examinatrice	HAMMOUDA Linda	MAA

09/07/2017

Résumé

Introduction : Le cancer du sein est considéré comme une prolifération incontrôlée des cellules qui stimulent les éléments de système immunitaire y compris les monocytes qui peuvent jouer un double rôle soit dans l'élimination ou la progression des cellules cancéreuses, ainsi que plusieurs molécules peuvent avoir un effet immuno-modulateur sur cette pathologie y compris la metformine.

Objectif : Etudier l'effet de la Metformine sur les monocytes co-cultivés avec des cellules cancéreuses du sein par des dosages de certains paramètres biochimiques.

But: Montrer l'effet de la Metformine sur l'immunométabolisme des monocytes co-cultivés avec des cellules cancéreuses du sein.

Matériels et méthodes : les cellules cancéreuses récupérées à partir des biopsies d'une patiente atteinte de cancer du sein ont été mises en co-culture avec les monocytes autologues en présence et en absence de différentes concentrations de metformine, les surnageants et les lysats de culture ont été récupérés afin d'effectuer les dosages de glucose, de calcium et de cholestérol.

Résultats : la metformine a entraîné une augmentation significative de taux de glucose intracellulaire dans les monocytes, les cellules cancéreuses ainsi que dans la co-culture. Le calcium a été significativement augmenté chez les monocytes traité par la metformine, tandis que, le metformine a induit une diminution de calcium intracellulaire et par contre aucun effet n'a été observé dans la co-culture. Concernant le cholestérol, la metformine n'a entraîné aucun effet significatif dans les monocytes et la co-culture, tandis que dans les cellules cancéreuses, le cholestérol a été significativement augmenté à une dose de 5 mM.

Conclusion : notre étude *ex-vivo* a montré que la Metformine a un effet anti-tumoral sur les cellules cancéreuses du sein.

Mots clés : cancer du sein, metformine, monocytes, glucose, cholestérol, calcium.

Abstract

Introduction: Breast cancer is an uncontrolled proliferation of cells that stimulate immune system elements including monocytes that can play a dual role either in the elimination or progression of cancer cells, as well as several molecules can have an immunomodulatory effect on this pathology including metformin.

Objective: Study the effect of Metformin on monocytes co-cultured with breast cancer cells by measurement of biochemical parameters.

Aim: To show the metformin effect on immunometabolism monocytes co-cultured with breast cancer cells.

Materials and methods : The cancer cells recovered from the biopsies of a patient with breast cancer were co-cultured with autologous monocytes in the presence and absence of different concentrations of metformin, Supernatants and culture lysates were recovered for glucose, calcium and cholesterol assays.

Results: Metformin induce a significant increase in intracellular glucose levels in monocytes, cancer cells and in the co-culture. Calcium was significantly increased in monocytes treated with metformin, while metformin induced a decrease in intracellular calcium and, on the other hand, no effect was observed in the co-culture. In cholesterol, metformin produced no significant effect in monocytes and co-culture, while in cancer cells, cholesterol was significantly increased at a dose of 5 mM.

Conclusion: Our ex-vivo study showed that Metformin has an anti-tumor effect on breast cancer cells.

Key words: breast cancer, metformin, monocytes, glucose, cholesterol, calcium.

ملخص

مقدمة: السرطان هو عبارة عن نمو خلايا جسم الانسان وانتشارها بشكل لا يمكن التحكم فيه ،حيث يعتبر هو السبب الرئيسي للوفاة في العالم حاليا . ويعرف السرطان ايضا بأنه هو عبارة عن نمو غير طبيعي لنسيج من أنسجة الجسم مثل أنسجة الثدي لدى المرأة من ما يؤدي اضطرابات خلوية تساعد في انتشاره و هذا ما يؤدي الى ما يسمى بالمقاومة المناعية ضد السرطان .

الهدف : إثبات تأثير مادة الميتفورمين على عملية الايض المناعية للخلايا احادية النوى مع الخلايا السرطانية .

الغاية : دراسة تأثير الميتفورمين على الخلايا السرطانية في وجود الخلايا المناعية احادية النوى.

المواد والطرق: نقوم باستئصال الكتلة السرطانية الخاصة بالمصابة بسرطان الثدي بعد العملية الجراحية و بتقنيات الزرع الخلوي وطريقة الالتصاق الخلوي البلاستيكي قمنا بعزل الخلايا السرطانية في وسط حيوي من اجل الحفاظ على سلامة الخلايا و ابقائها حية وبعدها قمنا باستخراج الخلايا وحيدة النوى من الدم المحيطي لنفس المريضة حسب طريقة الالتصاق الخلوي ثم تم زرع الخلايا السرطانية والخلايا احادية النوى في وسط واحد و معالجتها بتركيزات مختلفة من مادة الميتفورمين.

النتائج : تشير النتائج التي تحصلنا عليها من خلال هذا البحث على انه خلال الاصابة بسرطان الثدي مادة الميتفورمين لها تأثير كبير على منع الخلايا السرطانية من استهلاك الغلوكوز والدم على حد سواء كما انها تساعد على التقليل من إستهلاك الكالسيوم من اجل المساعدة على القيام بظاهرة الموت الخلوي المبرمج وهذا ما يدل على ايجابية النتائج التي تشير على ان الميتفورمين هي مادة مضادة لسرطان الثدي .

الخلاصة : اثبت هذا البحث المخبري ان مادة الميتفورمين لها أثر علاجي جد كبير ، حيث انه ظهر تأثيرها في التحكم الايجابي على عمليات الأيض الخلوي وكذلك الحد من الخلايا السرطانية.

كلمات البحث : سرطان الثدي، ميتفورمين ، الخلايا أحادية النوى، الغلوكوز، الكالسيوم ،الدم

Avant-propos

Je remercie tous les membres du jury pour leur honorable présence.

- Professeur ARIBI Mourad directeur du laboratoire BIOMOLIM. UABT
- Professeur SMAHI Mohammed Chemeseddine. UABT
- Mm BRAHAMI Nabila Maître de conférences B. UABT
- Docteur HAMMOUDA Linda Maître assistante B. Université d'Oran

Je tiens à remercier aussi tous les membres de laboratoire BIOMOLIM en particulier Monsieur Z. DAHMANI. Phd et Madame S.BERRYAH pour leur soutien et leurs conseils

Ce travail a pour objectif d'étudier l'effet de la metformine sur les monocytes co-cultivés avec les cellules cancéreuses de cancer du sein, Il a été réalisé au niveau de laboratoire de Biologie Moléculaire Appliqué et Immunologie sous la direction du Professeur M.ARIBI.

Ce mémoire est structuré en six chapitres :

1. chapitre 1 : Revues de la littérature
2. chapitre 2 : Matériels et méthodes
3. chapitre 3 : Résultats et interprétation
4. chapitre 4 : Discussion
5. chapitre 5 : Conclusion
6. chapitre 6 : Bibliographie

Pour l'obtention du grade de Master en Immunologie.

Je dédie ce travail à mes chers parents qui m'ont aidé durant toute ma vie éducative, ainsi mes chers collègues en particuliers Mr A.BELAMRI, Mr Y.KECHEKOUICHE , Mr .Benhamou Melle K.kacimi ,Melle S.Zoudji , Melle C.Kais , Melle M.Bouazza , S.Bouterfas et toute la promotion d'immunologie ainsi que tous les membres du laboratoire BIOMOLIM.

A tous les personnes que j'estime.

Table des matières

Résumé	iii
Abstract	iv
Avant-propos	v
Table des matières	vi
Liste des tableaux	vii
Liste des figures	viii
Liste des abréviations	ix
Introduction	1
Chapitre 1 : Revue de littérature	2
1.1 Cancer du sein	2
1.1.1. Epidémiologie	2
1.1.2. Facteurs pronostiques	2
1.1.2.1. Facteurs cliniques	2
1.1.2.1.1. La classification TNM	2
1.1.2.1.2. L'âge	2
1.1.2.1.3. Le délai de prise en charge	3
1.1.2.2. Facteurs anatomopathologiques	3
1.1.2.2.1. Le type histologique	3
1.1.2.2.2. La taille tumorale	3
1.1.2.3. Facteurs biologiques	3
1.1.2.3.1. Facteurs hormonaux endogènes	3
1.1.2.3.2. Facteurs hormonaux exogènes	3
1.1.2.3.3. Facteurs génétiques	4
1.1.2.3.3.1. Risque familial	4
1.1.2.3.3.2. Risque génétique	4
1.1.2.3.3.3. Facteurs environnementaux	4
1.1.3. Le système immunitaire et cancer du sein	4
1.1.3.1. Phase d'élimination	5
1.1.3.2. Phase d'équilibre	6
1.1.3.3. La phase d'échappement	6
1.2 Monocyte et cancer du sein	7
1.2.1. Généralités	7
1.2.2. Origine de développement de monocytes	7
1.2.3. Classes des monocytes	8
1.2.4. Fonctions des monocytes	9

1.2.5. Monocyte et cancer du sein	10
1.2.6. L'infiltration des monocytes vers la tumeur	11
1.3 La metformine	12
1.3.1 Définition de la metformine	12
1.3.2 Historique de la metformine	12
1.3.3 La durée de vie de la metformine dans l'organisme (la Pharmacocinétique)	12
1.3.4 L'effet de metformine	13
1.3.5 La metformine et les cellules cancéreuses du sein	13
1.3.6 La metformine et le system immunitaire	13
1.3.7 L'effet de metformine sur le cycle cellulaire	13
1.3.8 Mécanisme d'action de la metformine	14
Chapitre 2 : Matériel et méthode	14
2.1. Isolation des cellules épithéliales cancéreuses à partir d'une biopsie de cancer du sein	15
2.2. Culture des cellules cancéreuses	15
2.3. Préparation des PBMC	16
2.4. Culture et traitement des monocytes	16
2.5. Co-culture et traitement	16
2.6. Récupération des surnagent et des lysats cellulaires	17
2.7. Effet de la metformine sur le Glucose intra et extracellulaire	17
2.8. Effet de la metformine sur le calcium intra et extracellulaire	17
2.9. Effet de la metformine sur le cholestérol intracellulaire	17
Chapitre 3 : Résultat	18
3.1. Effet de la met sur le métabolisme de glucose	18
3.2 Effet de la met sur la signalisation calcique	
3.3. Effet de la met sur le métabolisme de cholestérol	19
Chapitre 4: Discussion	21
4.1. Effet de la metformine sur le glucose	21
4.2. Effet de la metformine sur le calcium	22
4.3. Effet de la metformine sur le cholestérol	23
Chapitre 5 : Conclusion	24
Chapitre 6 : Bibliographie	

Liste des tableaux

Tableau 1.1. Les sous-ensembles de monocytes dans le sang

9

Liste des figures

Figure 1.1. Les trois étapes de l'immunoediting	5
Figure 1.2. Un modèle proposé pour la phase d'élimination du processus de l'immunoediting	5
Figure 1.3. Un modèle proposé pour la phase d'équilibre du processus de l'immunoediting	6
Figure 1.4. Mécanismes d'échappement des cellules tumorales	7
Figure 1.5. Origine des monocytes et macrophages et leur développement	8
Figure 1.6. Les Différents mécanismes sous-tendent le recrutement de monocytes classiques et non classiques dans la région tumorale périvasculaire	11
Figure 1.7. Action directe et indirecte de la metformine sur le foie et la cellule cancéreuse	14
Figure 2.1. Etapes d'isolation des cellules épithéliales cancéreuses	15
Figure 2.2. Culture des cellules cancéreuses	16
Figure 2.3. Traitement des cellules cancéreuses	16
Figure 3.1 effet de la met sur le métabolisme de glucose extracellulaire au niveau des monocytes, cellules cancéreuses et Co-culture.	19
Figure 3.2 effet de la met sur le métabolisme de glucose intracellulaire au niveau des monocytes, cellules cancéreuses et Co-culture	19
Figure 3.3 effet de la met sur le métabolisme de calcium extracellulaire au niveau des monocytes, cellules cancéreuses et Co-culture.	20
Figure 3.4 Effet de la met sur le métabolisme de calcium intracellulaire au niveau des monocytes, cellules cancéreuses et Co-culture	21
Figure 3.5 Effet de la met sur le métabolisme de cholestérol au niveau des monocytes, cellules cancéreuses et Co-culture	21

Liste des abréviations

Ag: antigène

AMPK: 5'-AMP-activated protein kinase

Arg: Arginine

BRCA: Breast Cancer gene

CD: Cluster of differentiation

CLr: Clairance rénale

cMoP: Progéniteur monocyttaire commun

CSF: Cell stem factor

CSF1R: Cell stem factor 1 receptor

DC: Dendritic cell

Metformine : met

Elisa: enzyme-linked immunosorbent assay

GLUT : Glucose transporteur.

GM-CSF: Granyocyte monocyte cell stem factor

HBSS: Hanks' balanced salt solution

PBS : Phosphate buffer solution

BCL-XL : B-cell lymphoma-extra large

HLA-G: human leukocyte antigen

IDO : indolamine2 ,3d

IFN γ : Interféron

Il: Interleukine

LTreg: Lymphocyte T régulateur

M-CSF: monocyte cell stem factor

MDP : Progéniteurs de macrophages et cellules dendritiques

MHC: Complexe majeur d'histocompatibilité

NF- κ B: Nuclear factor κ B

NK: Natural killer

NKT: T natural killer

OMS: Organisation mondiale de la santé.

p53 : protéine 53

PDL : Programmed death-ligand

PGE : prostaglandine E

Ser : Serine (acide aminé)

STAT : signal transducer and activator of transcription

SVF : Sérum de vœu fœtal

TAM: Tumor associated macrophage

TGF- β : Tumoral growth factor beta

TNF: Tumor necrosis factor

Chol: cholesterol

TNM: tumor nodes metastasis

UICC: Union Internationale Contre le Cancer

VEGF : vascular endothelial growth factor

CCL2 : Chemokine ligand 2

IFN: Interferon

LPS: Lipopolysaccharide

M-CSF: Monocyte cell stem factor.

NF- κ B: Nuclear factor κ B

NO: Nitric oxide

TGF- β : Tumoral growth factor beta.

Th: Lymphocyte helper

TLR: Toll like receptor

Introduction

Le cancer est une maladie caractérisée par une prolifération cellulaire incontrôlée, et qui résulte suite à des altérations génétiques et épigénétiques des cellules normales ce qui lui confère une résistance au traitement médicale et une insensibilité aux signaux apoptotiques (Croce, 2008). Ces altérations touchent également une variété des fonctions cellulaires telles que le métabolisme de glucose (Annibaldi and Widmann, 2010) et la signalisation calcique (Stewart et al., 2015)

Parmi les types de cancer qui prévalent dans le temps présent, Il y a le cancer du sein qui touche une grande proportion des femmes dans le monde entier (Wu et al., 2017) Cette tumeur maligne non contagieuse est considérée comme le cancer le plus fréquent chez la femme avec plus de 800 000 nouveaux cas annuels dans le monde (Saglier, 2009) , en Algérie Son incidence ne cesse d'augmenter d'année en année , ce qui fait de lui un véritable problème de santé publique. (Henouda, 2015)

par ailleurs ,La reconnaissance des antigènes exprimés par les cellules tumorales conduit au déclenchement de divers réactions assurées par les cellules de système immunitaires tels que les monocytes. (Cavaillon 2011) (N.A Espinoza-Sánchez, et al ; 2017) qui sont des cellules myéloïdes présentes dans la circulation sanguine pendant l'état d'équilibre (K.J Brempelis et I.N Crispe, 2016) et qui sont capables d'infiltrer les tissus où elles vont assurer différents rôles (P.Italiani et D.Boraschi, 2014)

Récemment, plusieurs études ont montré que la metformine un médicament anti diabétique oral, (Queiroz et al. 2014) possède un effet antiprolifératif sur les cellules cancéreuses médié par des voies de signalisation dépendantes et indépendantes de l'AMPK (Daugan et al. 2016).

Ainsi le but de ce travail est d'étudier in vitro l'effet de la metformine sur le métabolisme de glucose, la signalisation calcique des cellules cancéreuses en co-culture avec les monocytes ainsi que son influence sur la sécrétion des cytokines par ces cellules immunitaires.

Chapitre 1. Revue de la littérature

1.1. Cancer du sein

1.1.1. Epidémiologie

Le cancer du sein est une tumeur maligne de la glande mammaire, c'est le cancer le plus fréquent chez la femme et touche près de 53000 femmes chaque année (OMS ; 2011). Une femme sur 12 en sera atteinte à un moment de sa vie et il représente la première cause de mortalité féminine dans la tranche d'âge de 35 à 55 ans (Moss, 1997). A l'échelle mondiale, l'incidence du cancer du sein semble plus forte dans les pays industrialisés (Ferly *et al.*, 2002), et les taux les plus élevés sont constatés en Europe de l'Ouest, aux États-Unis et au Canada. En Algérie, le cancer du sein est le cancer le plus fréquent avec 11000 nouveaux cas chaque année (Henouda, 2015).

1.1.2. Facteurs pronostiques

Les éléments de pronostic du cancer du sein sont de plusieurs ordres : cliniques, histologiques et biologiques.

1.1.2.1. Facteurs cliniques

1.1.2.1.1. La classification TNM

Plus la connaissance des tumeurs s'améliore, plus l'hétérogénéité s'accroît. Il est nécessaire de pouvoir regrouper les tumeurs en groupes homogènes sur un plan pronostique et thérapeutique. La classification TNM proposée par Pierre Denoix a le mérite de répondre à ces exigences. Elle a été retenue comme base de classification par le comité de nomenclature et de statistique de l'UICC (Union Internationale Contre le Cancer) (Broeders *et al.*, 2000). Elle est basée sur le principe de l'extension anatomique déterminé par la clinique et l'histopathologie. A la base du système T (tumor-tumeur), N (nodes-ganglions), M (metastasis-métastases) il y a l'idée de coder l'extension locale, régionale et générale. D'une façon générale, on associe à ces trois lettres des chiffres (dont la valeur augmente quand la gravité augmente) qui varie de 0 à 4 pour le T, de 0 à 3 pour le N, et sont soit 0 soit 1 pour le M. Cela conduit à un grand nombre de possibilités TNM.

1.1.2.1.2. L'âge

L'âge est le facteur de risque le plus important du cancer du sein, avec une courbe d'incidence monotone augmentant de 30 à 70 ans. Les cancers survenant avant 50 ans représentent 15 à 20% des cancers du sein. A taille égale, le cancer du sein est beaucoup plus agressif chez une femme jeune que chez une femme ménopausée.

1.1.2.1.3. Le délai de prise en charge

Le retard de prise en charge thérapeutique assombrit nettement le pronostic. Une méta-analyse de 87 études, a révélé que les patientes pour lesquelles ce délai était supérieur à 3 mois avaient un taux de survie de 12 % inférieur à celui des femmes prises en charge plus rapidement (Richards *et al.*, 1999). Il faut souligner la fréquence du diagnostic tardif dans notre pays, en effet une grande proportion des cancers diagnostiqués est des formes localement évoluées, avec une taille moyenne de 50 mm et une patiente sur cinq présente des métastases lors du diagnostic.

1.1.2.2. Facteurs anatomopathologiques

1.1.2.2.1. Le type histologique

En général, le type histologique n'est pas un critère utilisé en pratique, même si il est reconnu que certains types histologiques sont de meilleurs pronostics tels que : les carcinomes lobulaires, mucineux (colloïdes) et médullaires.

1.1.2.2.2. La taille tumorale

Elle est liée à l'envahissement ganglionnaire même si à statut ganglionnaire identique, l'augmentation de la taille tumorale est associée à un pronostic défavorable (Carter *et al.*, 1989). Une taille tumorale supérieure à 2 cm représente un facteur de mauvais pronostic.

1.1.2.3. Facteurs biologiques

Le cancer du sein touche majoritairement les femmes (seulement 1% des cancers du sein concerne les hommes). L'œstrogène est la principale hormone associée au développement du cancer du sein car les cellules de la glande mammaire y sont sensibles. Sécrétée par les ovaires et les adipocytes, elle stimule le développement du tissu mammaire et favorise ainsi la prolifération de cellules tumorales.

1.1.2.3.1. Facteurs hormonaux endogènes

Une ménarche précoce (avant 13 ans) et une ménopause tardive (après 55 ans) augmentent la durée d'exposition globale aux œstrogènes durant la période d'activité génitale. Elles sont associées à une augmentation du risque de développer un cancer du sein (Sancho-Garnier. 2007).

1.1.2.3.2. Facteurs hormonaux exogènes

La contraception hormonale est considérée comme un facteur de risque de cancer du sein (Nkondjock et Ghadirian ; 2005).

1.1.2.3.3. Facteurs génétiques

1.1.2.3.3.1. Risque familial

L'antécédent familial de cancer du sein est un facteur de risque majeur de cancer du sein (Saglier et *al.*, 2003).

1.1.2.3.3.2. Risque génétique

Une femme sur 500 serait porteuse d'une anomalie au niveau d'un ou plusieurs gènes de prédisposition familiale au cancer du sein. Les cancers d'origine génétiques liés aux mutations des gènes BRCA1 ou BRCA2 représentent environ 5% des cancers du sein (Saglier et *al.*, 2003). Ces gènes sont des gènes suppresseurs de tumeur et ont un rôle dans le contrôle du développement des cellules malignes (Sparano et *al.*, 2012).

La transmission de la mutation est autosomique dominante, elle doit être recherchée lorsque plusieurs cas de cancer du sein sont diagnostiqués dans une même famille.

1.1.2.3.3.4. Facteurs environnementaux

L'alcool

La consommation d'alcool augmente le risque de cancer du sein de façon linéaire avec la quantité absorbée (Sparano et *al.*, 2012). La prise d'alcool est associée à une augmentation du taux d'œstrogène et réduit la disponibilité de certains éléments nutritionnels essentiels connus qui ont un rôle protecteur dans la survenue de lésions cellulaires, tels que la vitamine A, B et C.

Le tabac

La fumée du tabac est une importante source de substances carcinogènes. Pourtant, la cigarette n'est pas considérée comme un facteur de risque établi du cancer du sein (Sparano et *al.*, 2012).

1.1.3. Le système immunitaire et cancer du sein

Le système immunitaire peut jouer un double rôle dans le cancer du sein soit en inhibant ou en favorisant la progression de cellules cancéreuses (Criscitiello et *al.*, 2014; Emens, 2012) suite à un processus appelé « cancer immunoediting », ce processus comporte trois phases : (1) l'élimination, où les cellules cancéreuses sont éliminées suite à une immunosurveillance; (2) l'équilibre, où les cellules transformées sont contrôlées mais ne sont pas complètement éliminées; Et (3) l'échappement, où les modifications des cellules tumorales forment la progression de la maladie (Dushyanthen et *al.*, 2015).

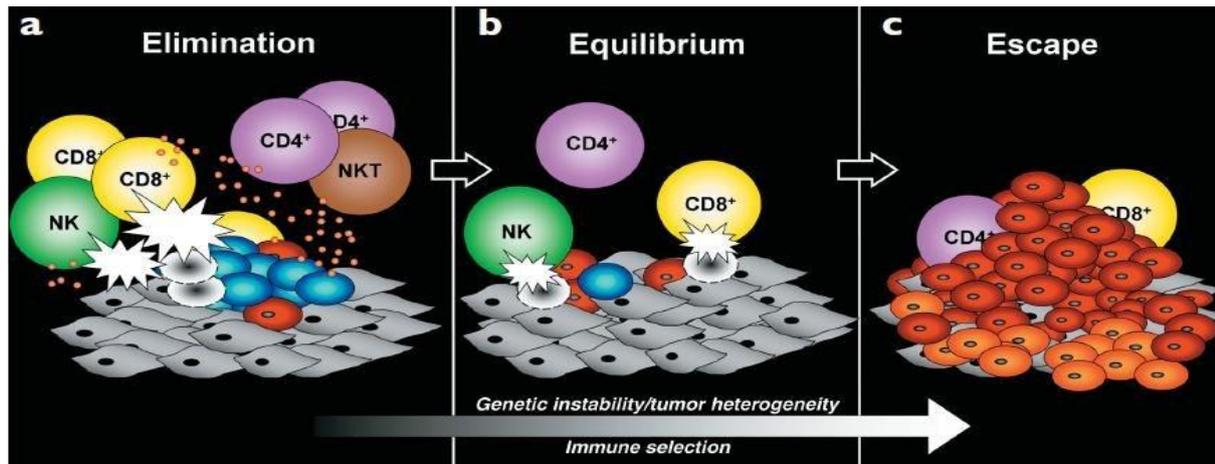


Figure 1.1. Les trois étapes de l'immunoediting (Dunn et al. 2002).

1.1.3.1. Phase d'élimination

Suite à l'intervention des cellules immunitaire innées et adaptative tel que les macrophages, NK, NKT, TCD8, TCD4 et à la présence des cytokines inflammatoire, le système immunitaire reconnu avec succès et tue les cellules tumorales, Ou bien il réduit les complications de la tumeur et empêcher le développement de la tumeur (Dunn, Old, and Schreiber., 2004).

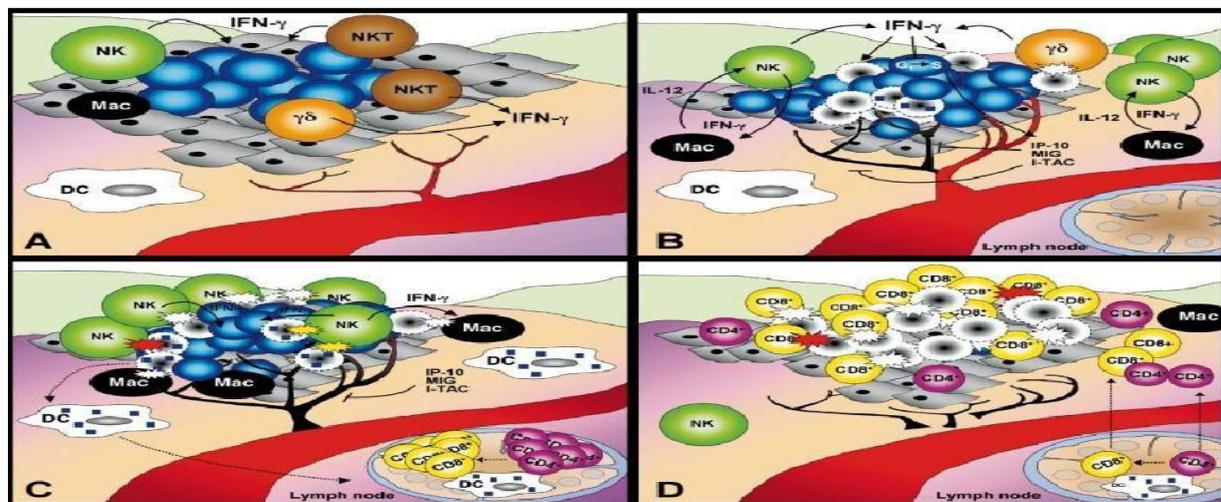


Figure 1.2. Un modèle proposé pour la phase d'élimination du processus de l'immunoediting (Dunn, Old, and Schreiber 2004). (A) l'initiation de la réponse, dans laquelle les cellules de l'immunité innée reconnaissent la tumeur naissante. (B) La quantité initiale d'IFN γ produit déclenche une cascade de réactions immunitaires innées qui entraînent une mort de cellules tumorales. (C) Les événements d'immunité innée imposent la réponse adaptative; et Les cellules tumorales tuées en raison de l'augmentation des activités cytotoxique des cellules NK et les DC migrent vers le ganglion lymphatique pour présenter l'antigène (Ag) aux cellules T CD4+ et CD8+ naïves, (D) L'intervention des TCD4+ et TCD8+ et l'élimination des cellules tumorale. Cellules tumorales (bleu), les cellules non transformées (gris), cellules cancéreuses mortes (blanc) (Dunn, Old, and Schreiber 2004).

1.1.3.2. Phase d'équilibre

Les cellules tumorales sont sous la dormance fonctionnelle par les cellules immunitaires. Au cours de cette phase, les cellules tumorales sont exposées à une pression immunosélective, ce qui conduit éventuellement à la sélection de variantes immunorésistantes. En outre, l'inflammation favorisant les tumeurs confère l'activité immunosupresseur au microenvironnement de la tumeur. En conséquence, les cellules tumorales évitent finalement le contrôle par le système immunitaire (Kyohei Nakamura et Mark J Smyth ; 2017).

Dans ce stade, le système immunitaire utilise sa pleine capacité afin d'identifier et d'éliminer les cellules cancéreuses par les cellules immunitaires telles que les TCD4, TCD8 et NK, mais certaines cellules cancéreuses peuvent avoir une immuno-résistance contre l'immunodétection, et dans ce cas le système immunitaire reste en état d'équilibre avec la tumeur (Bockel et al. 2017).

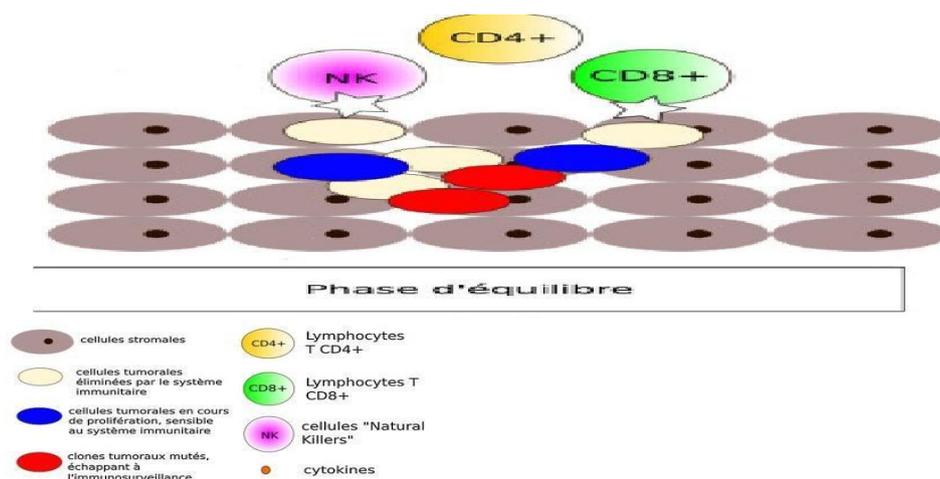


Figure 1.3. Un modèle proposé pour la phase d'équilibre du processus de l'immunoediting (Bockel et al. 2017).

1.1.3.3. La phase d'échappement

La phase d'échappement représente l'échec de système immunitaire à éliminer les cellules tumorales qui développent certains mécanismes pour échapper au contrôle immunitaire (Vesely et al., 2011), parmi ces mécanismes : la régulation négative du complexe majeur d'histocompatibilité (MHC) ou l'incapacité à produire un antigène tumoral (Monjazeb et al., 2013), l'expression d'inhibiteurs d'apoptose (Bcl-XL et FLIP), ou PDL-1, FasL et HLA-G qui induisent l'apoptose des lymphocytes T. En plus, les cellules tumorales peuvent sécréter des facteurs inhibant les fonctions effectrices des cellules immunitaires comme (TGF- β , IL-10, VEGF, LXR-L, IDO, gangliosides, or soluble MICA) ou le recrutement

des cellules régulatrices qui génèrent un environnement immuno-suppressif (IL-4, IL-13, GM-CSF, IL-1 β , VEGF, or PGE₂) (Vesely et al., 2011).

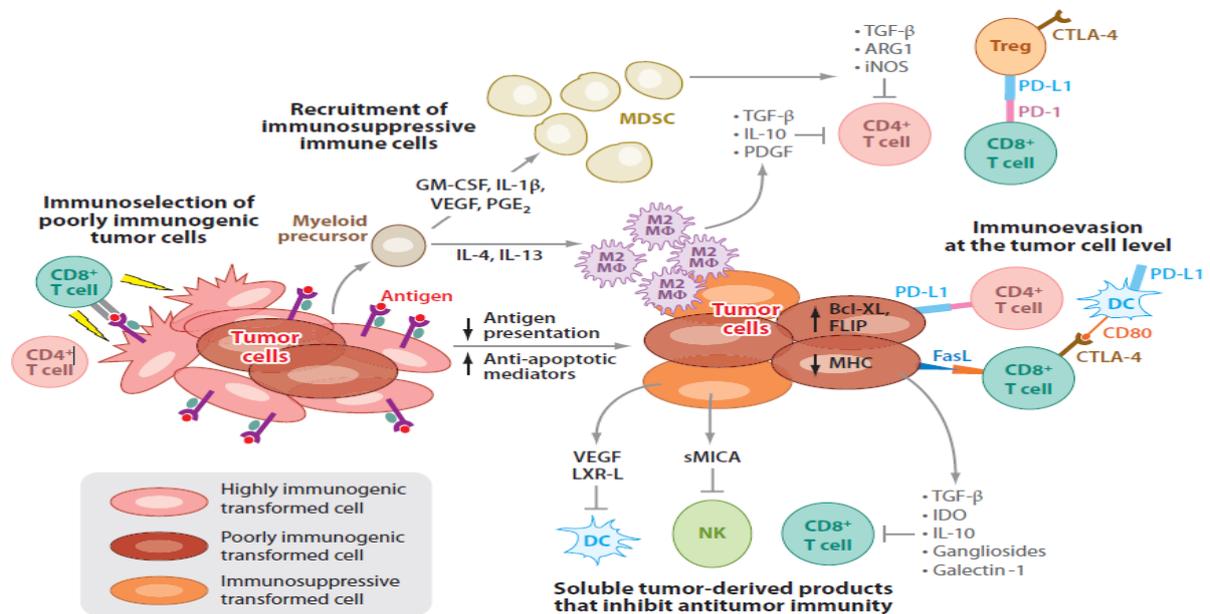


Figure 1.4. Mécanismes d'échappement des cellules tumorales (Vesely et al., 2011).

1.2. Monocyte et cancer du sein

1.2.1. Généralités

Les monocytes sont des cellules myéloïdes dérivées de la moelle osseuse qui circulent dans le sang pendant l'état d'équilibre (K.J Brempelis et I.N Crispe, 2016). Les monocytes circulants donnent lieu à une variété de macrophages résidants les tissus dans tout le corps, ainsi que des cellules spécialisées telles que des DC et ostéoclastes (S Gordon et P.R. Taylor, 2005).

La morphologie des monocytes matures dans la circulation périphérique est hétérogène, ces cellules constituent ~5-10% de leucocytes de sang périphérique chez l'homme, ils varient en taille et ont différents degrés de granularité et de morphologie nucléaire variée, qui aux extrêmes de variation peuvent entraîner une confusion avec les granulocytes, les lymphocytes, les cellules tueuses naturelles et les cellules dendritiques. (S.Gordon et P.R. Taylor, 2005)

1.2.2. Origine de développement de monocytes

L'origine des monocytes est la moelle osseuse, ils sont produits à partir d'un progéniteur myéloïde commun qui est partagé avec les neutrophiles et ils sont ensuite sortis dans le sang périphérique où ils circulent pendant plusieurs jours avant d'être recrutés dans

les tissus et de reconstituer les populations de macrophages tissulaires. (S Gordon et P.R. Taylor, 2005).

Les progéniteurs des macrophages et des précurseurs des cellules dendritiques (MDP) sont définis comme lignage négatif (Lin-), CD117+ (également connu en tant que KIT), CD135+ (également appelé FLT3) et CSF1R+. Ils donnent naissance à des monocytes, des macrophages et des cellules dendritiques. Un précurseur de monocyte supplémentaire potentiel, appelé le progéniteur monocyttaire commun (cMoP), a été identifié (M.S Rahman, et al ; 2017).

Le développement et la survie des monocytes dépendent de la stimulation des colonies Facteur 1 (CSF1, également connu sous le nom de M-CSF) et son récepteur CSF1R (également appelé CD115). L'hématopoïèse embryonnaire et adulte à l'état stationnaire entraîne un développement des monocytes à partir de précurseur myéloïdes trouvées dans les organes lymphoïdes primaires, y compris foie fœtal et moelle osseuse. (M.S Rahman, et al;2017).

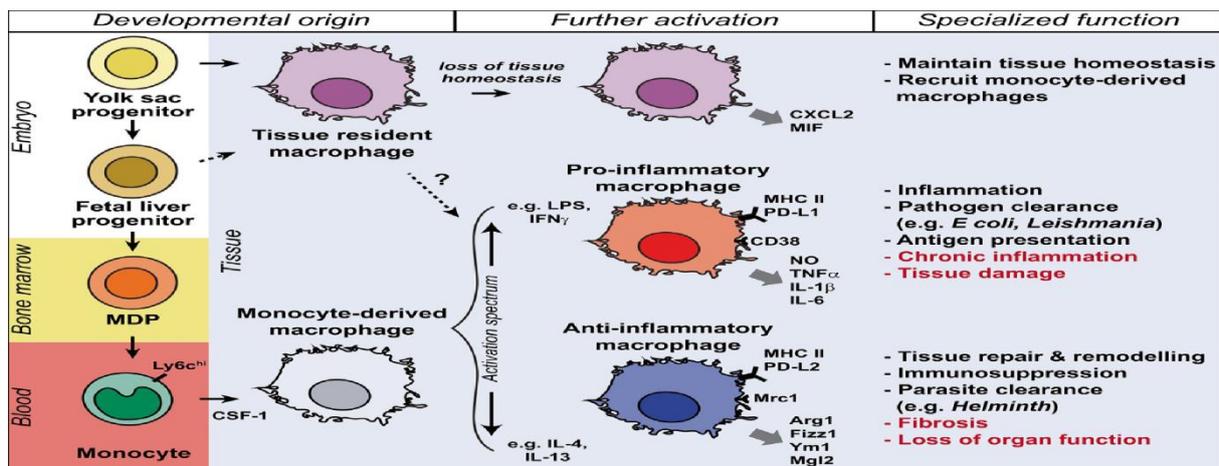


Figure 1.5. Origine des monocytes et macrophages et leur développement (Wright and Binger 2017).

1.2.3. Classes des monocytes

Au départ, les monocytes humains ont été classés en deux sous-ensembles, mais ils ont été séparés en trois sous-ensembles en fonction des critères fonctionnels et transcriptionnels avec l'identification d'un sous-ensemble intermédiaire. L'expression de surface de CD14 et CD16 est utilisée pour délimiter les trois Sous-ensembles de monocytes humains: classique (CD14 ++ CD16- ou CD14 + CD16-), intermédiaire (CD14 ++ CD16 + ou CD14 + CD16 +) et non classique (CD14 + (dim) CD16 ++ ou CD14dimCD16 +) (K.J Brepelis et I.N Crispe, 2016).

Les monocytes étaient initialement identifiés par leur forte expression de CD14 (qui fait partie du récepteur du lipopolysaccharide). Toutefois, l'identification ultérieure de l'expression différentielle des marqueurs antigéniques a montré que les monocytes dans le sang périphérique humain sont hétérogènes, et cela a fourni les premiers indices aux activités physiologiques différentielles des sous-ensembles de monocyte. (S.Gordon et P.R. Taylor, 2005).

Tableau 1.1. Les sous-ensembles de monocytes dans le sang (M.S Rahman, et al ; 2017).

Monocytes	Les marqueurs de surface communs utilisés pour différencier les sous-ensembles				
Classiques	CD14 ^{high}	CD16 ^{low}	CD43 ^{low}	CD62L ⁺	HLA-DR ^{low}
Non classique	CD14 ^{low}	CD16 ^{high}	CD43 ^{high}	CD62L ⁻	HLA-DR ^{high}
Intermédiaire	CD14 ^{high}	CD16 ^{high}	CD43 ^{int}	CD62L ^{int}	HLA-DR ^{int}

CD: Cluster of differentiation; HLA: human leukocyte antigen; int: intermediate.

La population intermédiaire représente probablement un développement progressif du monocyte classique aux monocytes non classiques, délimitant ainsi une population par les niveaux d'expression pour ces marqueurs. Cependant, certains auteurs considèrent que les monocytes intermédiaires et les monocytes non classiques forment une seule population, bien que les différences phénotypique et expression génique entre ces populations ont été rapportées. (S.Gordon et P.R. Taylor, 2005).

1.2.4. Fonctions des monocytes

Le rôle physiologique des sous-ensembles de monocytes in vivo n'est pas entièrement défini, ils pourraient avoir différents rôles au cours l'homéostasie, la défense immunitaire/inflammation et la réparation des tissus, en termes de capacité à devenir activés et sécréter des cytokines inflammatoires en réponse à différents stimuli, traitement et présentation de l'antigène, proangiogénique et le comportement de patrouille (P.Italiani et D.Boraschi, 2014).

Les stimulants pro-inflammatoires, métaboliques et immunitaires suscitent un recrutement accru de monocytes en périphériques, où leurs différenciation en macrophages et en cellules dendritiques, contribuant à la défense de l'hôte et au remodelage des tissus. (S.Gordon et P.R. Taylor, 2005).

En termes généraux, les monocytes classique et intermédiaire ont des propriétés inflammatoires qui rappellent les monocytes de Ly6C murins (également appelés "inflammatoires"), alors que les monocytes non classiques présentent des propriétés de

patrouille semblables à celles des monocytes Ly6C murin (également appelés monocytes "alternatifs") (P.Italiani et D.Boraschi, 2014).

Le sous-ensemble de monocytes CD14+ CD16+ pourraient être des précurseurs des cellules dendritiques, qui peuvent traverser les tissus et migrer aux ganglions lymphatiques à travers les vaisseaux lymphatiques afférent (S.Gordon et P.R. Taylor, 2005).

Les monocytes inflammatoires expriment des niveaux élevés de récepteur de chimiokines CCR2 et de faibles niveaux de récepteur de chimiokine CX3CR1, tandis que les monocytes de patrouille présentent un modèle inverse. En conséquence, les monocytes inflammatoires répondent au chimiokine CCL2 qui sert de médiation au recrutement de monocytes Ly6C / CD14 à des sites inflammatoires, alors que les monocytes de patrouille répondent au chimiokine CX3C Ligand 1 [CX3CL1], une chimiokine présente à la fois comme protéine soluble et comme membranaire forme de chimiokine qui est exprimé sur les cellules endothéliales et dans les tissus. (P.Italiani et D.Boraschi, 2014).

1.2.5. Monocyte et cancer du sein

L'inflammation chronique affecte profondément l'initiation et la progression du cancer. Les monocytes circulants sont continuellement attirés vers les sites inflammatoires dans lesquels ils se différencient en macrophages qui aident à maintenir le processus inflammatoire, créant ainsi une boucle positive. (N.A Espinoza-Sánchez, et al ; 2017).

Les cellules immunitaires impliquées dans l'inflammation de la tumeur comprennent les macrophages associées aux tumeurs (TAM) une sorte de macrophage M2, de neutrophiles, les lymphocytes, les cellules dendritiques et les mastocytes. Le macrophage est l'une des principales populations de cellules impliquées dans réponse inflammatoire. (S.Deng, et al; 2012).

Les macrophages associés aux tumeurs TAM sont différenciés à partir monocytes sous l'induction des cytokines M-CSF, IL-4, IL-13 et IL-10. En outre, les cellules tumorales secrètent aussi des cytokines et chimiokines telles que IL-10, CSF-1, CXCL1 et CCL2 qui peuvent activer les voies de signalisation NF- κ B et STAT3 et permettre aux monocytes de se différencier en macrophages associés aux tumeurs TAM, qui expriment fortement l'IL-10, Arg-1 et faiblement l'IL-12 définissant le phénotype M2 des macrophages. (S.Deng, et al ; 2012). Ces dernières jouent un rôle important dans la progression des cancers et des métastases (Ding L., et al ; 2015).

1.2.6. L'infiltration des monocytes vers la tumeur

Les monocytes s'infiltrent dans le tissu tumoral et se différencient en macrophages, qui sont des acteurs clés de la réglementation des métastases, car elles apportent leur soutien à l'extravasation, la survie et la croissance des cellules cancéreuses métastatiques. (L.Cassetta, J.W Pollard, 2015). Les monocytes inflammatoires classiques et leurs macrophages dérivés favorisent la métastase tumorale, alors que les cellules T CD8+ et les NK inhibent la croissance tumorale (L.Cassetta, J.W Pollard, 2015). Dans les modèles de cancer du sein, les monocytes inflammatoires sont également recrutés via le CCL2-CCR2 vers des sites métastatiques où ils favorisent l'extravasation de cellules cancéreuses et la survie. (L.Cassetta, J.W Pollard, 2015). Les monocytes patrouilles dans des conditions stables sont localisés dans la microvasculature de différents organes via le CX3CL1-CX3CR1, où ils patrouillent les capillaires et éliminer les débris et les particules cellulaires (L.Cassetta, J.W Pollard, 2015).

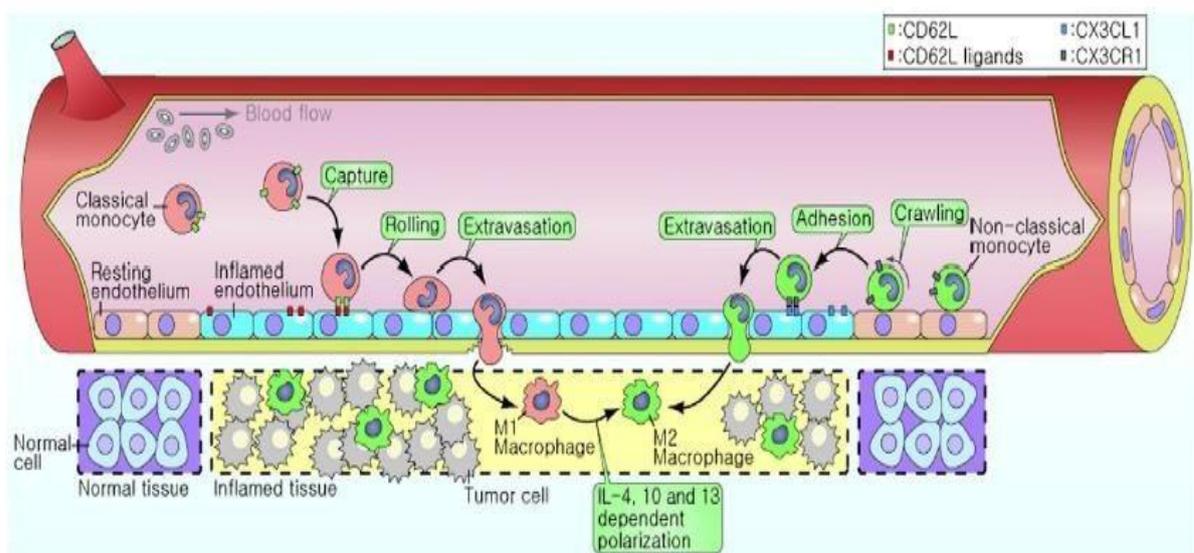


Figure 1.6. Les Différents mécanismes sous-tendent le recrutement de monocytes classiques et non classiques dans la région tumorale périvasculaire (Lee et al. 2013).

La capture et l'enroulement initial des monocytes classiques est médiée principalement par l'interaction transitoire de CD62L, qui est présente sur les monocytes classiques ainsi que sur les cellules endothéliales enflammées. Après infiltration, les monocytes classiques se différencient généralement en macrophages M1. Cependant, dans le microenvironnement tumoral, ils sont polarisés et se différencient en macrophages M2 par l'IL-4, IL-10 et IL-13. En revanche, en conditions de repos, les monocytes non classiques patrouillent des tissus sains par un raid à longue distance sur l'endothélium en repos. Lorsque les monocytes non classiques atteignent l'endothélium enflammé,

l'interaction CX3CR1/CX3CL1 favorise l'adhérence rapide et forte de ces cellules à l'endothélium enflammé et déclenche l'extravasation des monocytes non classiques dans la région périvasculaire de la tumeur (Lee et al. 2013).

1.3. La metformine

1.3.1. Définition de la metformine

C'est un médicament anti-diabétique oral (Queiroz et al. 2014) , La metformine, ou bien le 1,1-diméthylbiguanide, provient de l'alkaloïde galegine ou de l'isoamylène guanidine, elle appartient à la famille des biguanides (Witters 2001) et il est le plus utilisé pour contrôler l'hyperglycémie au cours de diabète de type 2, et il a été mise en marché pour la première fois en 1979 en France sous le nom de glucophage. Il a également reçu un grand succès depuis plus de 40 ans dans le traitement du diabète de type 2 d'après ce que le rend considérée comme le traitement de première intention chez la plupart des diabétiques de type 2, en particulier chez les patients en surpoids ou obèses, pour son efficacité et pour sa faible capacité à provoquer des hypoglycémies (Foretz and Viollet 2009, 2).

1.3.2. Historique de la metformine

La première découverte de la metformine était sous la forme d'une plante appelée *Galega officinalis* en 1920, elle a été utilisée dans le traitement du diabète en général, mais après le développement de la science, elle est devenu utilisée sous le nom de glycopage en Europe et les Etats-Unis depuis 1957, pour le traitement le diabète de type 2 sous la structure chimique suivante : Deux groupes méthyle sur une chaîne latérale de guanide (diméthylbiguanide). $C_4H_{11}N_5$ (Pernicova and Korbonits 2014).

1.3.3. La durée de vie de la metformine dans l'organisme (la Pharmacocinétique)

La metformine n'est pas métabolisée, elle est excrétée et inchangée dans l'urine, avec une demi-vie de 5 h, la moyenne de la clairance rénale (CLr) est de 510 ± 120 ml/min. La sécrétion tubulaire active dans le rein est la principale voie d'élimination de la metformine. Ce médicament est largement distribué dans les tissus du corps, y compris l'intestin, le foie et les reins par des transporteurs de cations organiques. Il existe une grande variabilité interindividuelle dans la pharmacocinétique de la metformine mesurée par des différences des concentrations plasmatiques de la metformine à l'état stable allant de 54 à 4133 ng/ml. (Gong et al. 2012).

1.3.4. L'effet de metformine

La metformine a un effet pléiotropie, y compris la réduction de la proportion de l'absorption dans les intestins et stimule également la consommation de glucose au niveau des muscles, elle contribue également à l'augmentation des récepteurs membranaires propre à l'insuline (Sokolovska et al. 2010).

1.3.5. La metformine et les cellules cancéreuses du sein

La metformine peut moduler le métabolisme du glucose et les acides gras, qui sont essentiels à la formation du précurseur de phospholipides de diacylglycérol. Des chercheurs ont examiné l'effet de la metformine sur le taux d'accumulation de PtdCho dans les cellules cancéreuses du sein, ils ont constaté que le traitement des cellules cancéreuses du sein avec de la metformine induit des changements profonds dans métabolisme des phospholipides (Smith and Phyu 2016).

1.3.6. La metformine et le system immunitaire

Dans l'activation de l'AMPK, la metformine peut inhiber les voies pro-inflammatoires, qui peuvent jouer un rôle important dans l'initiation et la promotion de la carcinogénèse, Dans le microenvironnement de la tumeur, la metformine inhibe la synthèse de nombreuses cytokines pro-inflammatoires telles que le TNF, l'interleukine-6, l'interleukine-8 (Takemura et al. 2007). Ainsi, la metformine peut aussi stimuler les cellules immunitaires et plus particulièrement les lymphocytes T, qui sont responsables d'une réponse cytotoxique contre les cellules cancéreuses (Eikawa et al. 2015), diminuer le nombre de LTreg immunosuppresseurs (Memmott et al. 2010), elle est aussi capable de bloquer la polarisation des macrophages de type M2 via la voie AMPK , Cette immuno-modulation des réponses immunitaires innées et adaptatives confère une protection contre la croissance tumorale ("Metformin Prevents Cancer Metastasis by Inhibiting M2-like Polarization of Tumor Associated Macrophages" 2015).

1.3.7. L'effet de metformine sur le cycle cellulaire

La metformine conduisant à la répression de la prolifération cellulaire par arrêt du cycle cellulaire par l'activation de p53 ou réduction des cyclines G1, en particulier de la cycline D1 (Fujihara et al. 2015), En fait, l'activation de l'AMPK par la metformine conduit à la régulation positive de p53 et sa phosphorylation à Ser15. En conséquence, la metformine induit une autophagie dépendant de p53 et une sénescence cellulaire, permettant aux cellules cancéreuses de survivre au stress énergétique (Vazquez-Martin et al. 2009), Il a été également constaté que le traitement par la metformine entraîne une

diminution de l'expression de la protéine Cyclin D1, conduisant à une inhibition dose-dépendante de la prolifération sans induire l'apoptose. Cet effet cytostatique de la metformine est lié à un blocage de la transition G0 à G1 dans la cellule suite au déclin de la cycline D1 (Sahra et al. 2008).

1.3.8. Mécanisme d'action de la metformine

A) Chez les diabétiques

Il est généralement connu que la metformine a un effet hypoglycémiant et renforce l'action de l'insuline sur les cellules, ainsi elle stimule l'utilisation du glucose par le muscle. Elle est capable d'améliorer la stéatose hépatique en inhibant la synthèse lipidique et en augmentant l'oxydation des acides gras. Des études récentes suggèrent que la metformine exerce ses effets bénéfiques sur le métabolisme en diminuant la charge énergétique intracellulaire (Foretz and Viollet 2009, 2).

B) Chez les cancéreux :

En 2016, plusieurs résultats confirment la notion d'action directe et indirecte de la metformine sur les cellules cancéreuses. Dans ce contexte, des mécanismes indépendants de l'AMPK et indépendants de l'AMPK ont été décrits, susceptibles de coexister et d'interagir (fig 01) (Daugan et al. 2016) ;

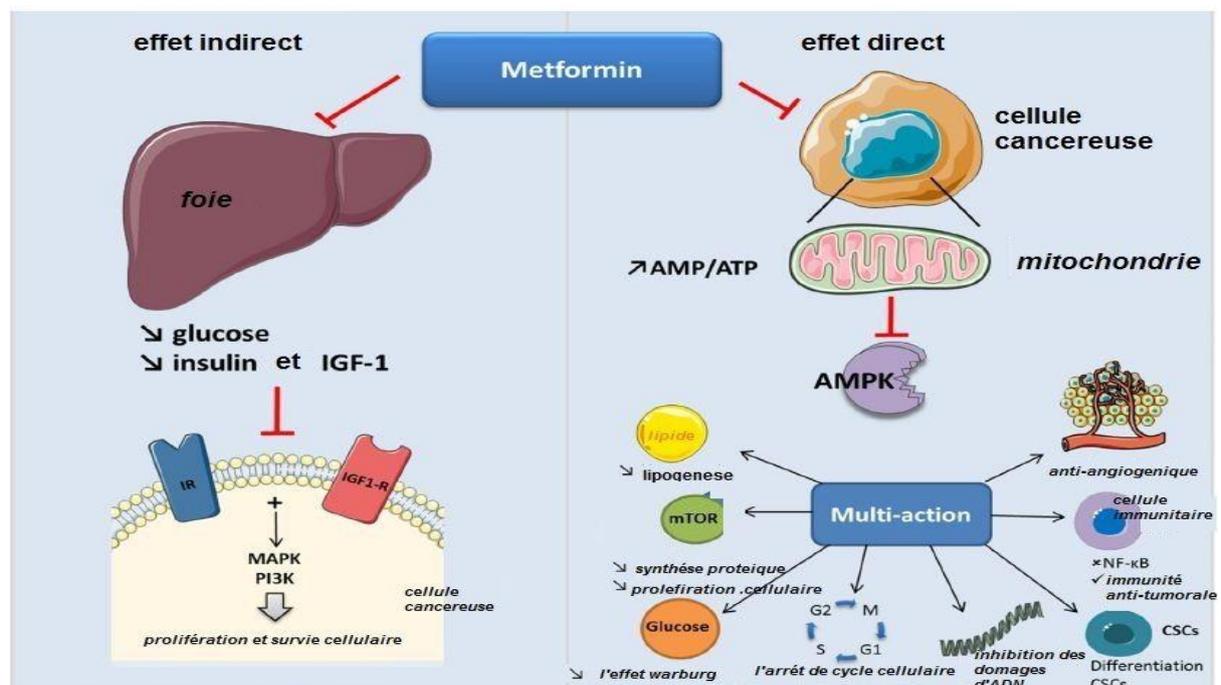


Figure 1.7. Action directe et indirecte de la metformine sur le foie et la cellule cancéreuse (Daugan et al. 2016).

Ainsi, des études pharmaco-épidémiologiques rétrospectives sur des patients diabétiques suggèrent que la metformine prolonge la survie de certains types de cancer du sein, alors qu'elle n'a pas d'effet substantiel sur le cancer du sein triplement négatif. La metformine améliore l'homéostasie systémique du glucose, ce qui réduit le taux d'insuline. Cependant, elle peut également cibler les cellules cancéreuses directement en se liant au complexe I dans la chaîne respiratoire mitochondriale, en supprimant ainsi la phosphorylation oxydative. En outre, la metformine induit une carboxylation réductrice du carbone dérivé de la glutamine dans les cellules cancéreuses ce qui atténue le métabolisme mitochondrial des éléments nutritifs et augmente leur dépendance à l'égard de la glycolyse. (M.Bizjak, 2017).

La metformine a montré une augmentation de la phosphorylation d'AMPK, conduisant à une inactivation en aval du facteur transcritteur TORC2 avec une diminution de la néoglucogénèse hépatique découlée. L'activation de l'AMPK induite par la metformine conduit à un effet inhibiteur sur mTOR, fournissant un potentiel anti tumoral direct. (P.J.Goodwin, 2008).

Dans notre étude, Les résultats indiquent que la metformine a un effet anti-tumoral sur les cellules cancéreuses en co-culture avec les monocytes autologues.

4.2. Effet de la metformine sur le calcium

La voie de signalisation du calcium est essentielle pour le fonctionnement des cellules du système immunitaire dont les monocytes et particulièrement dans le cycle cellulaire et la sécrétion des interleukines (Mahé et al., 1991), le calcium joue un rôle important dans la phase de croissance des cellules cancéreuses, Ceci est en aidant les cellules dans la carcinogénèse, comme la transformation de cellules normales en cellules cancéreuses, l'invasion et la métastase, Les cellules cancéreuses ont besoin de calcium, en particulier dans le cycle cellulaire aux transition G1/S et G2/ M pour continuer sa prolifération (Parkash and Asotra 2010) (Prevarskaya et al. 2014).

Dans notre étude, la metformine a induit une augmentation de concentration de calcium intracellulaire des monocytes, ce qui explique son effet activateur sur les monocytes. Dans les cellules cancéreuses le taux de calcium intracellulaire a été diminué par rapport au contrôle. Ce résultat s'accorde avec l'étude de J Yang et al (Yang et al. 2015), qui montrent que la metformine induit une diminution de calcium intracellulaire qui favorise par la suite l'apoptose.

4.3. Effet de la metformine sur le cholestérol

Le cholestérol est un lipide non soluble de la famille des stérols, il est un constituant membranaire essentiel qui entoure la cellule, Il est également responsable du maintien de la rigidité de la membrane cellulaire et la diffusion latérale des lipides et des protéines, c'est pour ça il possède la capacité d'assurer le recrutement des monocytes sur la surface endothéliale enflammée (Saha et al. 2017), (Durstine 2006)

Beaucoup d'études ont montré qu'il existe une relation proportionnelle positive entre le taux de cholestérol et la progression tumorale (Pommier et al. 2010), et les résultats de ces études suggèrent que le cholestérol accélère et améliore la formation de la tumeur et aussi facilite la formation de l'angiogenèse (Llaverias et al. 2011).

Dans notre étude, Les résultats indiquent qu'il n'y a pas une différence significative en présence de Met par rapport au contrôle, en revanche, le niveau du cholestérol des cellules cancéreuses a été augmenté à une concentration de 5 mM de Met ce qui pourrait avoir un effet pro-tumoral et par contre, en co-culture, la metformine a entraîné une diminution de taux de cholestérol, ce qui explique l'effet anti-tumoral établie par monocytes sur les cellules cancéreuses.

Conclusion

Plusieurs études épidémiologiques récentes suggèrent fortement un effet favorable de la met dans la réduction du risque de survenue des cancers, ainsi des recherches cliniques sont en cours chez des femmes, avant ou après la ménopause, en particulier dans le cancer du sein, et pourraient conduire à des nouvelles indications de la met.

Un autre aspect intéressant, il a été suggéré récemment que la metformine pourrait être employée comme adjuvant en complément d'une chimiothérapie dans le cancer du sein, Il y a plusieurs chercheurs, y compris S. Jiralerspong et ses collaborateurs qui montrent que le traitement par metformine améliore le taux des réponses immunitaire contre le cancer.

D'après les résultats que nous avons obtenus grâce à cette recherche établie au niveau du laboratoire BIOMOLIM de l'université de Tlemcen, nous avons conclu que la metformine a un effet anti-tumoral en modulant le métabolisme cellulaire pour éliminer la cellule tumorale.

En termes de perspective diverses expériences seront entreprises dans le but d'étudier d'une façon approfondie le devenir du glucose et calcium et cholestérol au niveau intracellulaire.

A

- ❖ Annibaldi, A., and Widmann, C. (2010). Glucose metabolism in cancer cells: Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care 13, 466–470.

B

- ❖ Brempeliset K.J. Crispe. I.N. Infiltrating monocytes in liver injury and repair. Clinical et Translational Immunology, 2016 (5)

C

- ❖ Camps J, Hernandez-Aguilera A, Garcia-Heredia A, Cabre N, Luciano-Mateo F, Arenas M, Joven J. Relationships Between Metformin, Paraoxonase-1 and the Chemokine (C-C Motif) Ligand 2. CurrClinPharmacol. 2016;11(4):250-258.
- ❖ Croce, Carlo M. 2008. "Oncogenes and Cancer." *New England Journal of Medicine* 358 (5): 502–11. doi:10.1056/NEJMra072367.
- ❖ Cavaillon, J. -M. 2011. "La r?ponse immunitaire ? l?agression: le B.A.-BA ? Syst?me immunitaire inn?" *R?animation* 20 (S2): 393–405. doi:10.1007/s13546-010-0127-9.
- ❖ Chi-Fu Chiang, Ting-Ting Chao, Yu-Fu Su, Chia-Chen Hsu, Chu-Yen Chien, Kuo-Chou Chiu, Shine-Gwo Shiah, Chien-Hsing Lee, Shyun-Yeu Liu, Yi-Shing Shieh. Metformin-treated cancer cells modulate macrophage polarization through AMPK-NF- κ B signaling. *Oncotarget*, 2017, Vol. 8, (No. 13), pp: 20706-20718

D

- ❖ Daugan, Marie, Amélie DufayWojcicki, Benoit d'Hayer, and Vincent Boudy. 2016. "Metformin: An Anti-Diabetic Drug to Fight Cancer." *PharmacologicalResearch* 113 (November): 675–85. doi:10.1016/j.phrs.2016.10.006.

E

- ❖ Eikawa, Shingo, MikakoNishida, ShusakuMizukami, ChihiroYamazaki, EiichiNakayama, and HeiichiroUdono. 2015. "Immune-MediatedAntitumorEffect by Type 2 Diabetes Drug, Metformin." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 112 (6): 1809–14. doi:10.1073/pnas.1417636112.
- ❖ Espinoza-Sánchez N.A, Gloria Karina Chimal-Ramírez, A Mantilla, E.M Fuentes-Pananá. IL-1 β , IL-8, and Matrix Metalloproteinases-1, -2, and -10 Are Enriched upon

Monocyte–Breast Cancer Cell Cocultivation in a Matrigel-Based Three-Dimensional System. *Front Immunol.* 2017; 8: 205.



- ❖ FeiLuo, Yuan Guo, GuiyunRuan, and Xiangping Li. Metformin promotes cholesterol efflux in macrophages by up-regulating FGF21 expression: a novel anti-atherosclerotic mechanism. *Lipids Health Dis.* 2016; 15: 109.
- ❖ Ferlay J, Bray F, Pisani P, Parkin D.M, GLOBOCAN 2002 .Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide IARC CancerBase No. 5, version 2.0 IARC Press, Lyon, 2004.
- ❖ Foretz, M., and B. Viollet. 2009. “Mécanisme d’action hépatique de la metformine dans le diabète de type 2.” *Médecine des Maladies Métaboliques* 3 (1): 48–54. doi:10.1016/S1957-2557(09)70104-X.
- ❖ Fujihara, Shintaro, KiyohitoKato, AsahiroMorishita, Hisakazulwama, TomokoNishioka, Taiga Chiyo, NorikoNishiyama, et al. 2015. “Antidiabetic Drug MetforminInhibitsEsophagealAdenocarcinomaCellProliferation in Vitro and in Vivo.” *International Journal of Oncology*, February. doi:10.3892/ijo.2015.2903.



- ❖ Gong, Li, SrijibGoswami, Kathleen M. Giacomini, Russ B. Altman, and Teri E. Klein. 2012. “MetforminPathways: Pharmacokinetics and Pharmacodynamics.” *Pharmacogenetics and Genomics* 22 (11): 820–27. doi:10.1097/FPC.0b013e3283559b22.
- ❖ Gross ET1, Han S1, Vemu P1, Peinado CD1, Marsala M2, Ellies LG1, Bui JD1. Immunosurveillance and immunoediting in MMTV-PyMT-induced mammary oncogenesis.*Oncoimmunology.* 2016 Dec 14;6(2)



- ❖ Hirokazu Matsushita, Matthew D. Vesely, et al. Cancer exome analysis reveals a T-cell-dependent mechanism of cancer immunoediting. *Nature* 482, 400–404 (16 February 2012)
- ❖ Henouda, Sarra. 2015. “Breast Carcinoma in Younger Algerian Eastern Women: Epidemiological Profile in Series of 135 Cases.” *Science Research* 3 (4): 198. doi:10.11648/j.sr.20150304.17.

K

- ❖ Kyohei Nakamura et Mark J Smyth. Targeting cancer-related inflammation in the era of immunotherapy. *Immunology and Cell Biology* (2017) 95, 325–33

M

- ❖ Maruša Bizjak, Petra Malavašič, Klemen Dolinar, Jelka Pohar, Sergej Pirkmajer Mojca Pavlin. Combined treatment with Metformin and 2-deoxy glucose induces detachment of viable MDA-MB-231 breast cancer cells in vitro. *Scientific Reports*, 2017. (7: 1761)
- ❖ Maruša Bizjak, Petra Malavašič, Klemen Dolinar, Jelka Pohar, Sergej Pirkmajer Mojca Pavlin. Combined treatment with Metformin and 2-deoxy glucose induces detachment of viable MDA-MB-231 breast cancer cells in vitro. *Scientific Reports*, 2017. (7: 1761)
- ❖ Memmott, R. M., J. R. Mercado, C. R. Maier, S. Kawabata, S. D. Fox, and P. A. Dennis. 2010. "Metformin Prevents Tobacco Carcinogen-Induced Lung Tumorigenesis." *Cancer Prevention Research* 3 (9): 1066–76. doi:10.1158/1940-6207.CAPR-10-0055.
- ❖ "Metformin Prevents Cancer Metastasis by Inhibiting M2-like Polarization of Tumor Associated Macrophages." 2015. *Oncotarget*, November. doi:10.18632/oncotarget.5541.
- ❖ Moss SM. Breast carcinoma mortality rates and screening. *Cancer* 1997;79:1-2.
- ❖ NKONDJOCK André, GHADIRIAN Parviz. Facteurs de risque du cancer du sein, *Medecine/Science*, 2005, n°21, p 175-180
- ❖ Maruša Bizjak, Petra Malavašič, Klemen Dolinar, Jelka Pohar, Sergej Pirkmajer Mojca Pavlin. Combined treatment with Metformin and 2-deoxy glucose induces detachment of viable MDA-MB-231 breast cancer cells in vitro. *Scientific Reports*, 2017. (7: 1761).

P

- ❖ Pamela J. Goodwin, Kathleen I. Pritchard, Marguerite Ennis, Mark Clemons, Margaret Graham, George Fantus. Insulin-Lowering Effects of Metformin in Women with Early Breast Cancer. *Clinical Breast Cancer*, 2008, Vol. 8, No. 6. (501-505,)
- ❖ Pamela J. Goodwin, Kathleen I. Pritchard, Marguerite Ennis, Mark Clemons, Margaret Graham, George Fantus. Insulin-Lowering Effects of Metformin in Women with Early Breast Cancer. *Clinical Breast Cancer*, 2008, Vol. 8, No. 6. (501-505,)

- ❖ Paola Italianiet Diana Boraschi. From Monocytes to M1/M2 Macrophages: Phenotypical vs. Functional Differentiation. *Front Immunol.* 2014;5: 514.
- ❖ Pernicova, Ida, and MártaKorbonits. 2014. "Metformin—mode of Action and Clinical Implications for Diabetes and Cancer." *Nature ReviewsEndocrinology* 10 (3): 143–56. doi:10.1038/nrendo.2013.256.
- ❖ Pruneri G1, Vingiani A2, Denkert C3. Tumor infiltrating lymphocytes in early breast cancer.*Breast.* 2017 Mar 28.

Q

- ❖ Queiroz, Eveline A. I. F., StephaniePuukila, Rosangela Eichler, Sandra C. Sampaio, Heidi L. Forsyth, Simon J. Lees, Aneli M. Barbosa, Robert F. H. Dekker, Zuleica B. Fortes, and NeelamKhaper. 2014. "MetforminInducesApoptosis and Cell Cycle ArrestMediated by Oxidative Stress, AMPK and FOXO3a in MCF-7 Breast Cancer Cells." Edited by Masaru Katoh. *PLoS ONE* 9 (5): e98207. doi:10.1371/journal.pone.0098207.

R

- ❖ Rahman M.S. Murphy A.J. Woollard K.J. Effect of dyslipidaemia on monocyte production and function in cardiovascular disease.*Nature ReviewsCardiology*, 2017
- ❖ Raven, Ronald William. 1990. *The Theory and Practice of Oncology: Historical Evolution and Present Principles*. Carnforth, Lancs, UK ; Park Ridge, N.J., USA: Parthenon Pub.

S

- ❖ Sahra, I Ben, K Laurent, A Loubat, S Giorgetti-Peraldi, P Colosetti, P Auberger, J F Tanti, Y Le Marchand-Brustel, and F Bost. 2008. "The Antidiabetic Drug MetforminExerts an AntitumoralEffect in Vitro and in Vivo through a Decrease of Cyclin D1 Level." *Oncogene* 27 (25): 3576–86. doi:10.1038/sj.onc.1211024.
- ❖ SAGLIER J, BEUZEBOC P, POMMEYROL A, TOLEDANO A. Diagnostic. *Cancer du sein*. Paris, France : Elsevier Masson, 2003, 194p
- ❖ SANCHO-GARNIER H. Epidémiologie et facteurs de risque des cancers du sein. Ln : ROUËSSE Jacques, MARTIN Pierre-Marie, CONTESSO Geneviève, *Le praticien face au cancer du sein*. Arnette, 2007, 340p.
- ❖ Siamon Gordon et Philip R. Taylor. Monocyte and macrophage heterogeneity. *Nature Reviews Immuno*, VOLUME 5 | DECEMBER 2005 | 953: 964

- ❖ Smith, Tim A. D., and Su M. Phyu. 2016. "Metformin Decouples Phospholipid Metabolism in Breast Cancer Cells." Edited by Viji Shridhar. PLOS ONE 11 (3): e0151179. doi:10.1371/journal.pone.0151179.
- ❖ Sokolovska, Jelizaveta, Sergejs Sajevs, Olga Sugoka, Jelena Sharipova, Lasma Lauberte, Darja Svirina, Evita Rostoka, Tatjana Sjakste, Ivars Kalvinsh, and Nikolajs Sjakste. 2010. "Influence of Metformin on GLUT1 Gene and Protein Expression in Rat Streptozotocin Diabetes Mellitus Model." Archives of Physiology and Biochemistry 116 (3): 137–45. doi:10.3109/13813455.2010.494672.
- ❖ SPARANO Joseph A et al. Obesity at diagnosis is associated with inferior outcomes hormone receptor-positive operable breast cancer. Cancer, 2012, n°118, p 5937-5946
- ❖ Stewart, T.A., Yapa, K.T.D.S., and Monteith, G.R. (2015). Altered calcium signaling in cancer cells. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes 1848, 2502–2511.
- ❖ Saglier, Jacques. 2009. *Cancer du sein: questions et réponses au quotidien*. Paris: Elsevier Masson. <http://site.ebrary.com/id/10540211>.

T

- ❖ Takemura, Yuri, Yutaka Osuga, Osamu Yoshino, Akiko Hasegawa, Tetsuya Hirata, Yasushi Hirota, Emi Nose, et al. 2007. "Metformin Suppresses Interleukin (IL)-1 β -Induced IL-8 Production, Aromatase Activation, and Proliferation of Endometriotic Stromal Cells." The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 92 (8): 3213–18. doi:10.1210/jc.2006-2486.

V

- ❖ Vazquez-Martin, Alejandro, Cristina Oliveras-Ferraro, Eugeni López-Bonet, and Javier A. Menendez. 2009. "AMPK: Evidence for an Energy-Sensing Cytokinetic Tumor Suppressor." Cell Cycle 8 (22): 3679–83. doi:10.4161/cc.8.22.9905.

W

- ❖ Witters, Lee A. 2001. "The Blooming of the French Lilac." Journal of Clinical Investigation 108 (8): 1105–7. doi:10.1172/JCI14178.

- ❖ Wu, San-Gang, Wen-Wen Zhang, Xu-Lin Liao, Jia-Yuan Sun, Feng-Yan Li, Jing-Jun Su, and Zhen-Yu He. 2017. "Men and Women Show Similar Survival Outcome in Stage IV Breast Cancer." *The Breast* 34 (August): 115–21. doi:10.1016/j.breast.2017.05.012.



- ❖ Yagyuu T1, Hatakeyama K2, Imada M3, Kurihara M3, Matsusue Y3, Yamamoto K3, Obayashi C2, Kirita T. Programmed death ligand 1 (PD-L1) expression and tumor microenvironment: Implications for patients with oral precancerous lesions. *oraloncology.2017.03.006*. Epub 2017 Mar 18.
- ❖ Yang, J, J Wei, Y Wu, Z Wang, Y Guo, P Lee, and X Li. 2015. "MetforminInduces ER Stress-DependentApoptosisthrough miR-708-5p/NNAT Pathway in Prostate Cancer." *Oncogenesis* 4 (6): e158. doi:10.1038/oncsis.2015.18.
- ❖ Yolanda Corripio-Miyarl, Jayne Hope1, et al. Phenotypic and functional analysis of monocyte populations in cattle peripheral blood identifies a subset with high endocytic and allogeneic T-cell stimulatory capacity. *Veterinary Research* (2015) 46:112
- ❖ Yosuke Tabei, Sakiko Sugino, Kenichiro Eguchi, Masahiko Tajika, Hiroko Abe, Yoshihiro Nakajima, Masanori Horie. Effect of calcium carbonate particle shape on phagocytosis and pro-inflammatory response in differentiated THP-1 macrophages. *Biochemical and Biophysical Research Communications* (2017) 1-7.
- ❖ Yosuke Tabei, Sakiko Sugino, Kenichiro Eguchi, Masahiko Tajika, Hiroko Abe, Yoshihiro Nakajima, Masanori Horie. Effect of calcium carbonate particle shape on phagocytosis and pro-inflammatory response in differentiated THP-1 macrophages. *Biochemical and Biophysical Research Communications* (2017) 1-7.

Résumé

Introduction : Le cancer du sein est considéré comme une prolifération incontrôlée des cellules qui stimulent les éléments de système immunitaire y compris les monocytes qui peuvent jouer un double rôle soit dans l'élimination ou la progression des cellules cancéreuses, ainsi que plusieurs molécules peuvent avoir un effet immuno-modulateur sur cette pathologie y compris la metformine.

Objectif : Etudier l'effet de la Metformine sur les monocytes co-cultivés avec des cellules cancéreuses du sein par des dosages de certains paramètres biochimiques.

But: Montrer l'effet de la Metformine sur l'immunométabolisme des monocytes co-cultivés avec des cellules cancéreuses du sein.

Matériels et méthodes : les cellules cancéreuses récupérées à partir des biopsies d'une patiente atteinte de cancer du sein ont été mises en co-culture avec les monocytes autologues en présence et en absence de différentes concentrations de metformine, les surnageants et les lysats de culture ont été récupérés afin d'effectuer les dosages de glucose, de calcium et de cholestérol.

Résultats : la metformine a entraîné une augmentation significative de taux de glucose intracellulaire dans les monocytes, les cellules cancéreuses ainsi que dans la co-culture. Le calcium a été significativement augmenté chez les monocytes traité par la metformine, tandis que, le metformine a induit une diminution de calcium intracellulaire et par contre aucun effet n'a été observé dans la co-culture. Concernant le cholestérol, la metformine n'a entraîné aucun effet significatif dans les monocytes et la co-culture, tandis que dans les cellules cancéreuses, le cholestérol a été significativement augmenté à une dose de 5 mM.

Conclusion : notre étude *ex-vivo* a montré que la Metformine a un effet anti-tumoral sur les cellules cancéreuses du sein.

Mots clés : cancer du sein, metformine, monocytes, glucose, cholestérol, calcium.

Abstract

Introduction: Breast cancer is an uncontrolled proliferation of cells that stimulate immune system elements including monocytes that can play a dual role either in the elimination or progression of cancer cells, as well as several molecules can have an immunomodulatory effect on this pathology including metformin.

Objective: Study the effect of Metformin on monocytes co-cultured with breast cancer cells by measurement of biochemical parameters.

Aim: To show the metformin effect on immunometabolism monocytes co-cultured with breast cancer cells.

Materials and methods : The cancer cells recovered from the biopsies of a patient with breast cancer were co-cultured with autologous monocytes in the presence and absence of different concentrations of metformin, Supernatants and culture lysates were recovered for glucose, calcium and cholesterol assays.

Results: Metformin induce a significant increase in intracellular glucose levels in monocytes, cancer cells and in the co-culture. Calcium was significantly increased in monocytes treated with metformin, while metformin induced a decrease in intracellular calcium and, on the other hand, no effect was observed in the co-culture. In cholesterol, metformin produced no significant effect in monocytes and co-culture, while in cancer cells, cholesterol was significantly increased at a dose of 5 mM.

Conclusion: Our *ex-vivo* study showed that Metformin has an anti-tumor effect on breast cancer cells.

Key words: breast cancer, metformin, monocytes, glucose, cholesterol, calcium.

ملخص

مقدمة: السرطان هو عبارة عن نمو خلايا جسم الإنسان وانتشارها بشكل لا يمكن التحكم فيه، حيث يعتبر هو السبب الرئيسي للوفاة في العالم حالياً. ويعرف السرطان أيضاً بأنه هو عبارة عن نمو غير طبيعي لنسيج من أنسجة الجسم مثل أنسجة الثدي لدى المرأة من ما يؤدي اضطرابات خلوية تساعد في انتشاره و هذا ما يؤدي الى ما يسمى بالمقاومة المناعية ضد السرطان .

الهدف : إثبات تأثير مادة الميتفورمين على عملية الايض المناعية للخلايا احادية النوى مع الخلايا السرطانية .

الغاية : دراسة تأثير الميتفورمين على الخلايا السرطانية في وجود الخلايا المناعية احادية النوى.

المواد والطرق : نقوم باستئصال الكتلة السرطانية الخاصة بالمصابة بسرطان الثدي بعد العملية الجراحية و بتقنيات الزرع الخلوي وطريقة الالتصاق الخلوي البلاستيكي قمنا بعزل الخلايا السرطانية في وسط حيوي من اجل الحفاظ على سلامة الخلايا و ابقائها حية . وبعدها قمنا باستخراج الخلايا وحيدة النوى من الدم المحيطي لنفس المريضة حسب طريقة الالتصاق الخلوي ثم تم زرع الخلايا السرطانية والخلايا احادية النوى في وسط واحد و معالجتها بتركيزات مختلفة من مادة الميتفورمين .

النتائج : تشير النتائج التي تحصلنا عليها من خلال هذا البحث على انه خلال الإصابة بسرطان الثدي مادة الميتفورمين لها تأثير كبير على منع الخلايا السرطانية من استهلاك الجلوكوز والدهم على حد سواء كما انها تساعد على التقليل من استهلاك الكالسيوم من اجل المساعدة على القيام بظاهرة الموت الخلوي المبرمج وهذا ما يدل على ايجابية النتائج التي تشير على ان الميتفورمين هي مادة مضادة لسرطان الثدي .

الخلاصة : اثبت هذا البحث المخبري ان مادة الميتفورمين لها أثر علاجي جد كبير ، حيث انه ظهر تأثيرها في التحكم الايجابي على عمليات الايض الخلوي وكذلك الحد من الخلايا السرطانية.