

# Le Méthylglyoxal comme nouveau biomarqueur métabolique de la prolifération des cellules tumorales dans les cancers

Dominique Belpomme <sup>1,2,\*</sup>, Stéphanie Lacomme <sup>3</sup>, Clément Poletti <sup>4</sup>, Laurent Bonesso <sup>5</sup>, Charlotte Hinault-Boyer <sup>5,6</sup>, Sylvie Barbier <sup>4</sup> and Philippe Irigaray <sup>2,7</sup>

<sup>1</sup> Department of Cancer Clinical Research, Paris V University Hospital, 75005 Paris, France

<sup>2</sup> European Cancer and Environment Research Institute (ECERI), 1000 Bruxelles, Belgique;

philippe.i.artac@gmail.com

<sup>3</sup> Centre de Ressources Biologiques, BB-0033-00035, CHRU, 54500 Nancy, France; s.lacomme@chru-nancy.fr

<sup>4</sup> Laboratoire Bioavenir, 57000 Metz, France; clem.poletti@gmail.com (C.P.);

sbarbierkittler@icloud.com (S.B.)

<sup>5</sup> Clinical Chemistry Laboratory, Pasteur University Hospital, 06000 Nice, France; bonesso.l@chu-nice.fr (L.B.);

hinault-boyer.c@chu-nice.fr (C.H.-B.)

<sup>6</sup> Université Côte d'Azur, INSERM U1065, C3M, 06000 Nice, France

<sup>7</sup> Association for Research on Treatment Against Cancer (ARTAC), 75015 Paris, France

\* Correspondance: contact.belpomme@gmail.com; Tel.: +33-(0)145785353

**Résumé simplifié:** Ce manuscrit décrit un biomarqueur innovant pour le cancer. Les cellules cancéreuses présentent souvent un métabolisme altéré, connu sous le nom d'effet Warburg, qui les conduit à privilégier la glycolyse anaérobie même en présence d'oxygène. Cela mène à une augmentation de la production de méthylglyoxal, un sous-produit de la glycolyse. Nous démontrons ici, pour la première fois, que les cellules tumorales humaines peuvent produire et libérer du méthylglyoxal à des taux élevés, contrairement aux cellules normales. Par conséquent, il apparaît que, malgré certaines limitations, le méthylglyoxal dosé à l'état libre dans le sang des malades atteints de cancer puisse être utilisé comme un nouveau biomarqueur métabolique cliniquement utile dans les cancers, y compris dans les cas où il n'y a toujours pas de biomarqueur disponible. Nos résultats ouvrent la voie à un développement bio-clinique.

## Résumé:

**Contexte:** Une propriété fondamentale des cellules cancéreuses est leur reprogrammation métabolique, leur permettant d'augmenter l'incorporation du glucose et la glycolyse. En utilisant un modèle d'adénocarcinome du côlon chez le rat, nous avons montré antérieurement que les taux de méthylglyoxal (MG) libre dans le sang, un sous-produit de la glycolyse, restaient normaux chez les animaux greffés avec un clone de cellules cancérogènes non tumorigènes, tandis que les taux de MG augmentaient de manière significative et étaient positivement corrélés avec la croissance tumorale chez les animaux greffés avec un clone de cellules tumorigènes issu de la même tumeur.

**Méthodes:** Nous avons mesuré le MG libre dans le sang de patients cancéreux non diabétiques et comparé les résultats à ceux de sujets sains et de patients diabétiques non cancéreux. Nous avons également mesuré le MG libre dans les tumeurs et dans les tissus normaux correspondants, ainsi que dans le sang périphérique.

**Résultats:** Nous montrons que les taux de MG libre dans le sang périphérique de patients atteints de cancer sont significativement élevés par rapport aux taux de MG libre dans le sang périphérique des sujets sains ( $p < 0.0001$ ), et sont similaires à ceux dans le sang périphérique des patients diabétiques hyperglycémiques ( $p = 0.965$ ). De plus, nous montrons que la mesure renouvelée du taux de MG libre peut être utilisée pour le suivi thérapeutique des patients atteints de cancer. D'autre part, nous avons confirmé que le MG libre est produit par les

cellules tumorales à des taux significativement plus élevés que par les cellules des tissus normaux correspondants ( $p < 0.0001$ ), et est ensuite libéré dans le sang périphérique.

**Conclusions:** Le MG libre mesuré dans le sang est un nouveau biomarqueur métabolique utile pour le diagnostic, le pronostic et le suivi des patients non diabétiques atteints de cancers, tels que les cancers bronchiques, les cancers du pancréas et les glioblastomes cérébraux, pour lesquels aucun biomarqueur utile n'est actuellement disponible.

**Mots-clés:** méthylglyoxal; cancer; biomarqueur; sang; stadification; diagnostic; prolifération de tumeur

## 1. Introduction

Le cancer est la deuxième cause de décès dans le monde. Les plus fréquents étant les cancers du poumon, du côlon, du sein (chez les femmes), du pancréas et de la prostate (chez les hommes) [1]. Avec le nombre croissant des cas de cancer diagnostiqués chaque année dans le monde et le nombre globalement élevé de décès qui persiste [2], l'identification de nouveaux biomarqueurs pour la détection précoce et les interventions thérapeutiques ciblées est fortement nécessaire, afin de fournir de meilleurs résultats aux patients.

Depuis 1998, les biomarqueurs utilisés dans la pratique et les recherches cliniques ont été définis par le groupe de travail de l'institut américain, le National Institutes of Health (NIH) [3], et plus récemment par le groupe de travail de la Food and Drug Administration (FDA) et du NIH (le Biomarkers, EndpointS, and other Tools (BEST)) [4], comme des indicateurs qui peuvent être utilisés régulièrement et mesurés répétitivement pour caractériser objectivement les maladies et leur développement. En oncologie, ces biomarqueurs peuvent être produits soit par la tumeur elle-même, soit par le corps en réponse à la pression exercée par la transformation des cellules normales en cellules cancéreuses. Cependant, un défi majeur inhérent aux biomarqueurs utilisés en cancérologie pour la détection précoce des cancers est que l'initiation et la promotion du cancer, ainsi que la progression tumorale sont des processus complexes impliquant divers événements génétiques et épigénétiques anormaux ainsi que des interactions cellulaires [5,6].

De plus, le cancer peut résulter de facteurs de risques individuels [7] et de l'exposition à de nombreux agents cancérogènes environnementaux divers, tels que des produits chimiques, des radiations et/ou des microorganismes, en particulier chez des hôtes génétiquement vulnérables [8-10]. Par conséquent, les tumeurs varient considérablement dans leur étiologie et leur pathogénie, de sorte que de nombreux essais biologiques ont échoué à mettre en évidence une corrélation entre les paramètres cliniques et les biomarqueurs tumoraux. Ainsi, il existe encore un manque de biomarqueurs cliniquement utiles pour de nombreuses tumeurs afin d'aider les oncologues dans la prévention primaire, la prise de décision et les soins aux patients.

Une propriété fondamentale des cellules cancéreuses est leur reprogrammation métabolique, leur permettant d'augmenter l'incorporation du glucose et la glycolyse [11,12]. Ainsi, il apparaît que le méthylglyoxal (MG), un sous-produit de la glycolyse, puisse être un biomarqueur métabolique fondamental, dont les taux cellulaires pourraient permettre de différencier les cellules cancéreuses des cellules normales.

Comme précédemment indiqué, nous avons montré dans une étude expérimentale antérieure utilisant un modèle d'adénocarcinome du côlon chez le rat [13], que les taux de MG libre dans le sang augmentent de manière significative chez les animaux greffés par un clone de cellules cancérigènes PRO ( $p = 0.003$ ), tandis que les animaux greffés par un clone non tumorigène REG, dérivé de la même tumeur initiale chimiquement induite, conservent des taux de MG libre normaux [14]. De plus, il a pu être démontré que, chez les animaux greffés par le clone tumorigène PRO, les taux de MG libre dans le sang sont positivement corrélés avec la croissance de la tumeur, du moins dans ce modèle de rat.

Nous montrons maintenant que le MG libre mesuré dans le sang périphérique des patients cancéreux est un nouveau biomarqueur métabolique cliniquement utile de la croissance tumorale, permettant le diagnostic des cancers, l'établissement du pronostic, la prise de décisions thérapeutiques ciblées et le suivi des patients. De plus, en utilisant une méthode expérimentale, nous montrons que *in vivo* le MG libre peut être récupéré dans les tumeurs à des taux significativement plus élevés que dans leurs tissus normaux correspondants, et que les cellules tumorales humaines produisent et libèrent le MG libre dans le sang périphérique.

## 2. Matériels et Méthodes

Afin de confirmer nos données expérimentales chez le rat [14] en clinique, nous avons mesuré prospectivement le MG libre chez 139 patients évaluables porteurs de divers types de cancer à différents stades TNM et les avons comparés à 68 témoins sains. De plus, nous avons montré que les taux de MG libre dans le sang ne sont pas corrélés avec l'âge chez les sujets sains ( $\rho = 0.111$ ;  $p = 0.367$ ), ni chez les patients atteints de cancer ( $\rho = -0.0134$ ;  $p = 0.8929$ ), et ne diffèrent pas selon le sexe chez les sujets sains ( $p = 0.502$ ), ni chez les patients cancéreux ( $p = 0.1367$ ). Nous avons également comparé les résultats obtenus chez les patients atteints de cancer avec ceux de 12 cas de diabète de type 2 normoglycémiques traités, et avec ceux de 10 cas de diabète de type 2 hyperglycémiques non traités ou en rechute (pour les données démographiques, voir Tableau 1).

**Tableau 1.** Âge et sex-ratio chez les témoins sains ou les patients

Données démographiques	Témoins sains normaux	Diabétiques de type 2 traités normoglycémiques	Patients atteints de cancers	Diabétiques de type 2 hyperglycémiques
<i>n</i>	68	12	139	10
Âge (moyenne $\pm$ écart type)	45.32 $\pm$ 15.61	62.33 $\pm$ 10.79	62.01 $\pm$ 10.76	55.50 $\pm$ 15.61
Âge (médiane [extrêmes])	43 [23–83]	60 [49–81]	62.5 [28–90]	67 [37–81]
Ratio Femmes/Hommes	41/27	7/5	68/71	3/7
Femme (%)	60.3	58.3	48.92	30

La stadification TNM a été obtenue chez 133 patients cancéreux et la réponse thérapeutique chez 98 patients. L'indisponibilité des 139 patients atteints de cancer pour la stadification TNM et la réponse thérapeutique est due à un manque d'informations cliniques. Pour l'évaluation de la réponse thérapeutique, nous avons utilisé des normes reconnues internationalement [15]. Des réponses complètes ont été obtenues après chirurgie et/ou radiothérapie dans 30 cas évaluables avec une

extension de cancer limitée (stades TNM I et II), et dans 8 cas avec une maladie avancée (stades TNM III ou IV), tandis qu'une réponse partielle a été obtenue dans 31 cas et une réponse stable/progressive dans 29 cas, principalement après chimiothérapie et/ou radiothérapie. De plus, en utilisant des mesures répétitives de MG libre dans le sang périphérique, un suivi des 38 patients avec une réponse complète a été réalisé.

Afin de valider biologiquement nos données cliniques, nous avons également mesuré le MG libre dans la tumeur et dans le tissu pulmonaire normal correspondant, ainsi que dans le sang périphérique de 18 patients atteints de carcinome bronchiques à grandes cellules avant tout traitement.

Notre étude de recherche prospective impliquant des êtres humains a été approuvée par le comité éthique de l'Île-de-France II pour les échantillons de sang (Numéro d'enregistrement de l'essai: 2007-03-03), et par le comité éthique de l'Est III pour les échantillons chirurgicaux de tissus tumoraux et pulmonaires normaux, et des échantillons de sang simultanés chez les patients cancéreux (Numéro d'enregistrement de l'essai: DC-2008-459).

### *2.1 Mesure du MG*

Dans cette étude clinique, les échantillons de sang ont été prélevés sous héparine. Pour des raisons pratiques, nous avons utilisé la totalité du sang des patients et des témoins sains au lieu du plasma, car une centrifugation immédiate à 4 °C par les infirmières n'était pas possible. Tous les échantillons de sang ont ensuite été congelés à -80 °C, avant d'être traités pour la quantification du MG libre.

La méthode utilisée pour mesurer les taux de MG libre dans le sang est celle proposée par Rabbani et Thornalley en 2014 [16], avec quelques modifications décrites dans la partie « Méthode Supplémentaire ». Pour les tumeurs et les tissus normaux, les analyses des échantillons des patients atteints de carcinome bronchique à grandes cellules ont été réalisées pendant la chirurgie. Les biopsies des tissus pulmonaires normaux ont été effectuées dans une zone éloignée de la tumeur. La quantification de MG libre dans les tumeurs et leurs tissus normaux correspondants a été réalisée après désagrégation et homogénéisation des tissus tumoraux et normaux.

### *2.2 Analyses Statistiques*

Nous avons utilisé le test de Wilcoxon, car nos données ne correspondaient pas une distribution normale, pour comparer les différentes valeurs de MG obtenues chez les patients et chez les témoins sains. Étant donné que plusieurs comparaisons ont été effectuées, nous avons utilisé la correction statistique de Bonferroni, qui ajuste la détermination du seuil  $\alpha$ . Nous avons utilisé également le test de corrélation de Pearson pour mesurer la force de l'association entre les taux de MG libre et l'âge chez les sujets sains, entre les taux de MG libre et l'âge chez les patients atteints de cancer des bronches ou de tumeurs digestives, entre les taux de MG libre et les stades TNM, ainsi qu'entre les taux de MG libre dans les tumeurs et dans le sang des patients. Toutes les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel XLSTAT 2021.1.

### 3. Résultats

#### 3.1 Données cliniques

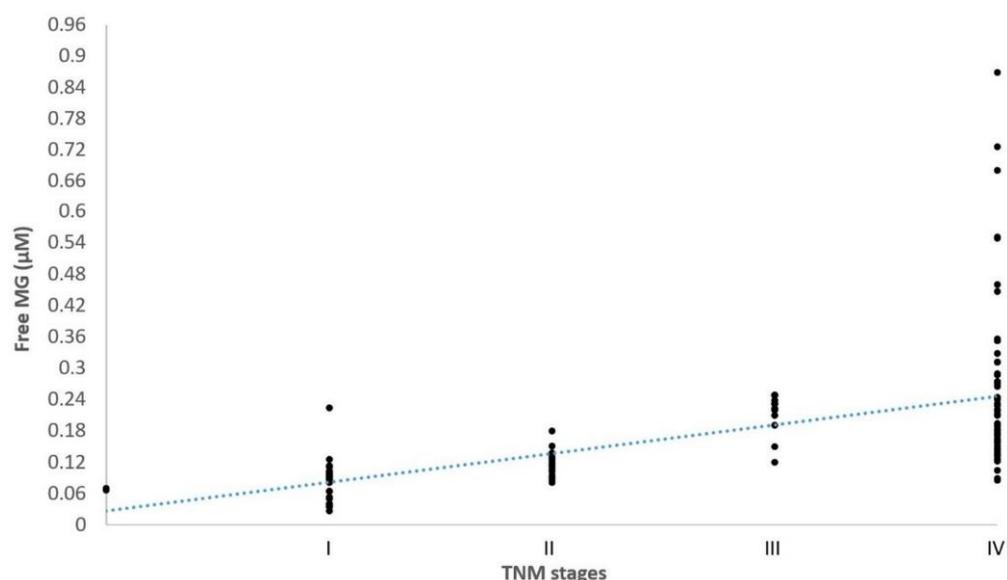
Comme il est rapporté dans le Tableau 2, que comparées aux sujets sains ou aux patients diabétiques de type 2 normo-glycémiques traités, les valeurs moyennes des taux de MG libre dans le sang sont significativement élevées chez les patients atteints de cancer dans l'ensemble ( $p < 0.0001$ ). En revanche, les valeurs moyennes des taux de MG libre dans le sang chez les patients cancéreux ne diffèrent pas significativement de celles des patients diabétiques de type 2 non traités ou en rechute hyperglycémiques, utilisés comme contrôle positif ( $p = 0.965$ ).

**Tableau 2.** Valeurs moyennes des taux de MG libre dans le sang ( $\mu\text{M}$ ),  $\pm$  erreurs standards et intervalles de confiance chez les patients atteints de cancer; en comparaison avec (1) les sujets normaux et les patients diabétiques de type 2 normo-glycémiques traités, et (2) les patients diabétiques de type 2 non traités ou en rechute hyperglycémiques (utilisés comme contrôles positifs).

Type	n	MG libre moyen ( $\mu\text{M}$ )	p *	p **
Témoins sains normaux	68	0.0647 +/- 0.0031 [0.021–0.121]	–	–
Diabète de type 2 traité normoglycémique	12	0.0676 +/- 0.0281 [0.064–0.089]	0.046	–
Patients atteints de cancer globalement	139	0.1758 +/- 0.0117 [0.035–0.868]	<0.0001	–
Hyperglycemic type 2 diabetes	10	0.1624 +/- 0.0074 [0.138–0.199]	<0.0001	0.965

$p$ : probabilité que la différence soit due à une variation aléatoire. \* Comparaison avec le groupe de sujets sains pour des valeurs moyennes des taux en utilisant le test de la somme des rangs de Wilcoxon ( $\alpha = 0.016$ ). La correction de Bonferroni a été appliquée, ce qui paramètre le seuil de signification  $\alpha$  à 0.05/3, par exemple, 0.0016. \*\* Comparaison entre le groupe de patients atteints de diabète de type 2 hyperglycémiques et le groupe de patients cancéreux pour les valeurs moyennes des taux en utilisant le test de la somme des rangs Wilcoxon ( $\alpha = 0.05$ ).

La Figure 1 montre une corrélation positive significative entre les taux de MG libre dans le sang et les différentes catégories de stades TNM chez les patients atteints de cancer ( $\rho: 0.5639$ ;  $p < 0.0001$ ). Quel que soit le stade TNM du cancer, à l'exception des patients au stade I, toutes les valeurs des taux de MG libre dans le sang se sont révélées être supérieures à la valeur moyenne de contrôle normale de 0.06  $\mu\text{M}$ , les taux les plus élevés de MG libre dans le sang étant observés chez les patients atteints de cancer au stade IV. Cela montre que la mesure répétée de MG libre dans le sang des patients cancéreux non diabétiques peut être un outil complémentaire pour le diagnostic, la stadification et l'évaluation du pronostic.



**Figure 1.** Corrélation positive entre le taux de MG libre dans le sang et les différents stades TNM chez 133 patients cancéreux examinés. La ligne bleue en pointillé représente la ligne de régression linéaire.

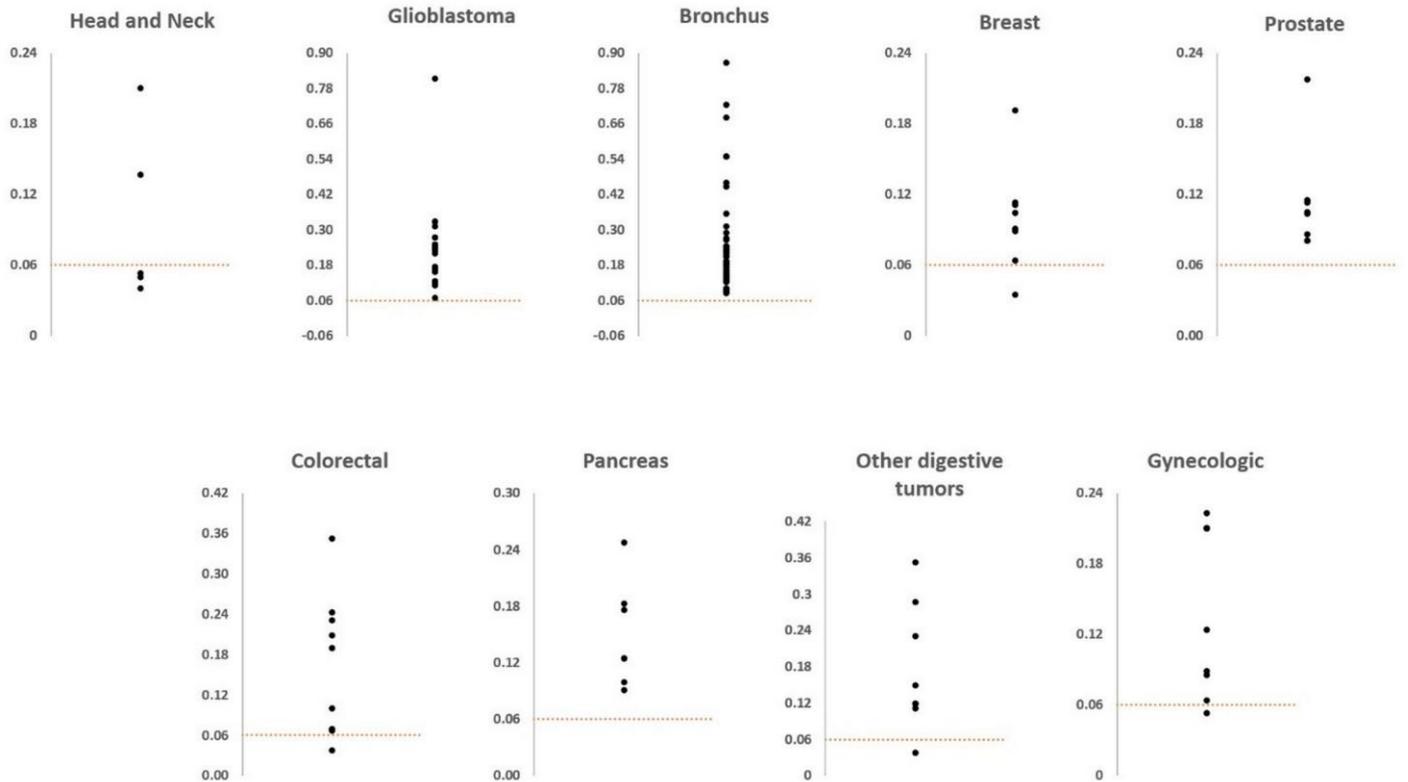
Le Tableau 3 montre les valeurs moyennes des taux de MG libre dans le sang +/- les écart-types et les intervalles de confiance en fonction des différentes localisations des cancers, tels que le cancer bronchique à grandes cellules, les glioblastomes, les cancers du sein (chez les femmes) et de la prostate (chez les hommes), et les cancers colorectaux, du pancréas, gynécologiques, et les cancers de la tête et du cou. Comparées aux témoins normaux, à l'exception de cancers de la tête et du cou, toutes les localisations de cancer ont montré un taux moyen de MG libre significativement plus élevé ( $p$  entre 0.002 et  $p < 0.0005$ ). Cela est particulièrement le cas pour les cancers bronchiques à grandes cellules, les cancers du pancréas et les glioblastomes, pour lesquels il n'existe actuellement aucun biomarqueur tumoral sanguin disponible.

**Tableau 3.** Valeurs moyennes du taux de MG libre dans le sang  $\pm$  erreurs standards et intervalles de confiance ( $\mu\text{M}$ ) chez 139 patients cancéreux.

Cancer Type	<i>n</i>	Mean Free MG ( $\mu\text{M}$ )	<i>p</i> *
Bronchique	52	0.2354 $\pm$ 0.0235 [0.085–0.868]	<0.0001
Glioblastome	28	0.2201 $\pm$ 0.0256 [0.068–0.814]	<0.0001
Autres tumeurs digestives	8	0.1758 $\pm$ 0.0371 [0.053–0.352]	0.0002
Colorectal	9	0.1666 $\pm$ 0.0347 [0.038–0.352]	<0.0001
Pancréatique	7	0.1496 $\pm$ 0.0210 [0.099–0.248]	<0.0001
Gynécologique **	10	0.1479 $\pm$ 0.0224 [0.053–0.223]	0.0004
Prostate	8	0.1127 $\pm$ 0.0157 [0.081–0.217]	0.0003
Sein	12	0.0985 $\pm$ 0.0114 [0.035–0.191]	0.002
Tête et Cou	5	0.0980 $\pm$ 0.0330 [0.040–0.210]	0.654
<b>Total</b>	<b>139</b>	<b>0.1758 <math>\pm</math> 0.0117 [0.035–0.868]</b>	<b>&lt;0.0001</b>

*p*: probabilité que la différence soit due à une variation aléatoire. \* Comparaison entre des sujets sains et des groupes de patients atteints de cancers spécifiques pour les valeurs moyennes du taux en utilisant le test de la somme des rangs Wilcoxon ( $\alpha = 0.005$ ). La correction de Bonferroni a été appliquée, ce qui paramètre le seuil de signification  $\alpha$  à 0.05/10, par exemple, 0.005. \*\* Cancers endométriaux, ovariens et pelviens indéterminés.

La Figure 2 montre que les valeurs moyennes des taux de MG libre dans le sang sont au-dessus de la valeur moyenne de référence normale de  $0.06 \mu\text{M}$  dans la plupart des types de cancer étudiés. Il y a cependant plusieurs cas en-dessous de la valeur moyenne normale de référence du MG dans les cancers du sein et gynécologiques (chez la femme), digestifs et de la tête et du cou. Par conséquent, ces cas doivent être considérés comme des faux négatifs.



**Figure 2.** Taux de MG libre dans le sang dans les différentes catégories de cancers étudiées. La ligne en pointillé se réfère à la valeur moyenne du contrôle normal de  $0.06 \mu\text{M}$ .

En outre, le Tableau 4 montre que les patients atteints de cancer avec une réponse thérapeutique complète ont des taux de MG libre dans le sang normaux, tandis que les patients avec une réponse partielle ou aucune réponse ont des taux de MG libre dans le sang élevés et persistants. Cela suggère qu'en plus des biomarqueurs du cancer et des techniques d'imagerie actuellement disponibles, la mesure de MG libre dans le sang des patients cancéreux pourrait contribuer à une évaluation de la réponse thérapeutique plus précise et au suivi thérapeutique des patients. En effet, au cours du suivi des 38 patients avec une réponse thérapeutique complète, grâce aux mesures répétitives de MG libre, nous avons pu détecter une rechute tumorale chez 10 patients plus tôt qu'avec l'utilisation d'autres méthodes d'investigation clinique et/ou biologique.

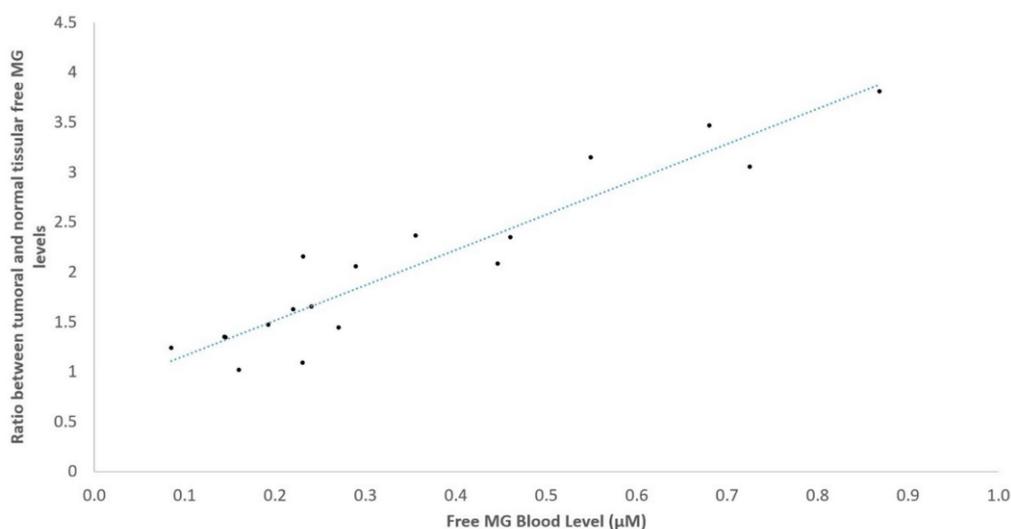
**Tableau 4.** Valeurs moyennes de l'évaluation de MG libre en fonction de la réponse thérapeutique chez 98 patients évaluable.

Réponse thérapeutique	<i>n</i>	MG libre moyen ( $\mu\text{M}$ ) $\pm$ Erreur standard
Réponse complète	38	0.0610 $\pm$ 0.0252
Réponse partielle	31	0.1305 $\pm$ 0.0721
Réponse stable/progressive	29	0.1405 $\pm$ 0.0617

### 3.2 Données expérimentales

Pour justifier les données cliniques rapportées ci-dessus, nous avons mesuré les taux de MG libre extraits des tumeurs de 18 patients atteints de carcinome bronchique à grandes cellules et avons comparé leurs taux de MG libre intra-tumoraux à ceux de leurs tissus pulmonaires normaux correspondants. Nous avons constaté que la quantité de MG libre par mg de protéine dans la tumeur atteignait 58.70  $\pm$  11.98 nmoles, tandis qu'elle était de 38.98  $\pm$  7.40 nmoles dans le tissu pulmonaire normal, une différence hautement significative ( $p < 0.0001$ ). Cette observation montre donc que, *in vivo*, les cellules tumorales humaines produisent une quantité significativement plus élevée de MG libre que les cellules des tissus normaux.

De plus, la Figure 3 montre une corrélation positive obtenue pour les 18 patients étudiés entre le rapport du taux de MG libre dans la tumeur rapporté à celui dans le tissu normal, et le taux de MG libre dans le sang périphérique correspondant de chaque patient ( $\rho$ : 0.8245;  $p < 0.0001$ ). Cela suggère fortement que le MG libre produit dans les tumeurs est libéré dans le sang périphérique des patients.



**Figure 3.** Corrélation positive entre le rapport du taux de MG libre mesuré dans la tumeur rapporté à celui dans le tissu normal et le taux de MG libre mesuré dans le sang périphérique pour les 18 patients étudiés atteints de cancer. La ligne bleue en pointillé représente la ligne de régression linéaire.

## 4. Discussions

Au cours des dernières années, le cancer est apparu comme une maladie métabolique, où les cellules cancéreuses s'adaptent et prolifèrent dans différents microenvironnements tissulaires. Cependant, les changements dans le métabolisme

des cellules cancéreuses ne s'expliquent pas uniquement par leur adaptation au microenvironnement tumoral. Ils dépendent également de la reprogrammation génétique, par exemple, des mutations survenant dans les oncogènes promoteurs de tumeurs et/ou les gènes suppresseurs de tumeurs, ainsi que des changements épigénétiques conduisant les cellules cancéreuses à surexprimer les transporteurs transmembranaires de glucose et les enzymes glycolytiques [17-19].

La glycolyse anaérobie étant plus rapide que la phosphorylation oxydative mitochondriale (OXPHOS) [20,21], les cellules cancéreuses ont une augmentation de la glycolyse anaérobie, même en présence d'une disponibilité normale d'oxygène intra-tumoral. Ce phénomène a été rapporté en 1920 par Otto Warburg et appelé la glycolyse aérobie [22]. L'effet Warburg, selon lequel les cellules cancéreuses ont une consommation accrue de glucose et une production de lactate élevée dans des conditions aérobies, a été confirmé dans de nombreuses tumeurs, y compris les cancers du sein, des bronches et colorectaux et les mélanomes [23]. Aujourd'hui, l'une des principales applications de l'effet Warburg est le développement et l'utilisation clinique de l'imagerie par Tomographie par Emission de Positons (TEP) au 18F-fluorodésoxyglucose (18F-FDG) dans ces cancers afin de localiser la tumeur et d'en suivre l'évolution [24]. Il convient de noter qu'en cas de détection élevée de MG libre, la TEP au 18F-FDG peut être utilisée pour localiser de la tumeur.

Considérée comme une caractéristique clé du cancer [12], l'augmentation de glycolyse aérobie s'est avérée être associée à la production du dicarbone MG, hautement réactif. Nous savons que le MG est principalement généré par la dégradation non enzymatique des trioses phosphate, à savoir la dihydroxyacétone phosphate et le glycéraldéhyde-3-phosphate [25]. En raison de ses propriétés électrophiles, le MG est un puissant agent de glycation des protéines, des acides nucléiques et des lipides [26], ce qui entraîne la formation de produits de glycation avancée (AGE) du MG, tels que les MG-hydroimidazolines et MG-argyrimidines, qui sont couramment formés dans les cancers [27], et qui peuvent diminuer les diverses fonctions moléculaires normales des cellules en se combinant aux macromolécules [28,29].

Une conséquence importante de l'augmentation glycolytique dans les cellules cancéreuses est qu'une majeure partie de l'augmentation du taux de MG intracellulaire forme des AGEs, tandis qu'une petite partie est libérée sous la forme de MG libre perméable et diffusible dans le compartiment extracellulaire du alade [26].

Dans cette étude, nous démontrons pour la première fois que les cellules tumorales humaines peuvent produire et libérer in vivo des taux de MG libre plus élevés que dans les tissus normaux correspondants. Cependant, étant donné que les cellules normales en prolifération peuvent également produire du MG libre à des taux élevés [30], il ne peut être exclu que les taux accrus de MG libre que nous avons antérieurement obtenus de manière expérimentale [14], et dans la présente étude dans le sang des patients cancéreux, puissent être produits et libérés à la fois par les cellules cancéreuses et non cancéreuses du stroma tumoral, et que la corrélation positive que nous avons obtenue entre l'augmentation des taux de MG libre dans le sang et la croissance tumorale puisse avoir été causée par l'augmentation du nombre des deux types de cellules proliférantes.

En effet, il est tentant de supposer que les fibroblastes du stroma d'une tumeur peuvent également produire et libérer du MG, puisqu'il a été montré que les

fibroblastes du stroma, sous l'influence de cellules cancéreuses, peuvent être glycolytiques et produire et libérer à la fois du MG libre et du lactate afin de stimuler et d'alimenter la croissance et la prolifération de la tumeur [31,32].

Confirmant nos données expérimentales antérieures sur les animaux de laboratoire [14], nous avons montré que la mesure répétitive du MG libre dans le sang des patients cancéreux peut être utilisée cliniquement pour évaluer la croissance des tumeurs dans de nombreux types de cancer, ce qui fait du MG libre un nouveau biomarqueur métabolique cliniquement utile en oncologie. De plus, étant donné que la normalisation du taux de MG libre dans le sang périphérique se produit en cas de réponse thérapeutique complète chez les patients atteints de cancer, alors que les patients qui n'ont pas répondu complètement au traitement ont des taux élevés persistant de MG libre, ce biomarqueur pourrait être utilisé pour le suivi thérapeutique des patients. À noter que nous n'avons pas trouvé de différence significative entre les patients avec une réponse thérapeutique partielle et ceux dont la tumeur est restée stable ou progressive. Par conséquent, les mesures du taux de MG libre peuvent constituer un nouvel outil plus précis que les autres méthodes actuelles de suivi thérapeutique des patients cancéreux.

Un fondement biologique de nos données cliniques pourrait provenir de découvertes antérieures selon lesquelles les MG-AGEs extracellulaires peuvent activer le récepteur des AGEs (RAGE), qui est exprimé sur de nombreuses cellules, y compris les cellules cancéreuses [33-35]. En effet, il faut clairement distinguer les effets intracellulaires du MG-AGEs des effets extracellulaires. Alors que les concentrations intracellulaires précises de MG-AGE qui délimitent un effet pro- ou anti-tumoral ne sont pas encore claires, et conduisent au concept d'un double rôle du MG [36], la mesure de MG libre dans le sang révèle la possibilité d'une augmentation des MG-AGEs circulants chez les patients cancéreux. L'utilisation de cultures cellulaires telles que l'activation de RAGE par les MG-AGEs a bien été établie dans de nombreux types de cancers, montrant que l'activation de RAGE inhibe l'apoptose [37], induit de l'inflammation et la néoangiogénèse via le facteur de croissance endothélial vasculaire (VEGF) [26], et enfin favorise la croissance de la tumeur et des métastases via des voies telles que AP-1, NF-kB, PI3K et mToR [26].

Par conséquent, le rôle pro-cancer de l'activation des MG-AGEs/RAGE circulants et de ses cascades de signalisation en aval pourrait expliquer nos données cliniques, puisque le MG libre peut former des combinaisons covalentes avec les protéines circulantes dans le sang.

Pour contrer l'effet électrophile nocif du MG, les cellules des mammifères ont développé plusieurs enzymes cytosoliques de détoxification, parmi lesquelles les glyoxalases I (Glo-1) et les glyoxalases II (Glo-2) constituent le système le plus important de détoxification du MG. Il a été démontré que Glo-1 est une enzyme inductible et limitante qui utilise le glutathion réduit (GSH) comme cofacteur pour catalyser la conversion de l'hémithioacétal formé par la réaction entre le MG et le GSH en S-D-lactoylglutathion, tandis que Glo-2 hydrolyse le S-D-lactoylglutathion en D-Lactate, régénérant ainsi le GSH [38].

Nous savons que Glo-1 est surexprimé dans de nombreux types de cancers [39,40], possiblement en conséquence de l'accumulation plus élevée de MG dans les cellules cancéreuses [41], tandis que l'expression de Glo-2 pourrait être diminuée [42-44], ce qui signifie que le défaut de détoxification du MG pourrait entraîner une

saturation de l'accumulation intracellulaire de MG, et par conséquent, une libération de MG libre dans le compartiment extracellulaire.

La surexpression de Glo-1 dans le cancer a été considérée comme un facteur indépendant de mauvais pronostic associé à une résistance à de multiples médicaments multiples [45]. Nous l'avons confirmé dans le cancer du sein [46], mais cela n'a pas pu être mis en évidence cliniquement dans les cancers colorectaux [47], dans lequel une faible activité de Glo-1 a été associée à un mauvais pronostic des tumeurs de stade IV [47]. Il a été souligné que ce rôle ambivalent de Glo-1 en tant que promoteur ou suppresseur de tumeur pourrait dépendre du type de cancer. En fait, la mesure de l'expression de Glo-1 sans Glo-2 dans les tumeurs peut être insuffisante pour l'évaluation du pronostic. De plus, la mesure de Glo-1 et Glo-2 dans les tumeurs, ainsi que toute analyse immunohistochimique des tumeurs, ne peut pas être utilisée à plusieurs reprises pour le suivi des patients. Cela explique pourquoi divers essais ont proposé la mesure des AGEs circulants ou des produits dérivés des AGEs comme biomarqueurs du cancer pour en établir le pronostic [48-50], mais à notre connaissance, ces tentatives n'ont pas encore démontré leur utilité en oncologie clinique.

Nos résultats présentent toutefois plusieurs limites.

Premièrement, dans le Tableau 1, notre groupe de témoins sains est associé à un âge médian et moyen inférieur à celui de notre groupe de patients cancéreux, ce qui confirme que le cancer survient plus tard chez les patients. Nous avons cependant montré qu'il n'y a pas de corrélation entre le taux de MG libre et l'âge chez les témoins sains ( $\rho = 0.111$ ;  $p = 0.367$ ), ainsi que chez les patients atteints de cancer ( $\rho = -0.0134$ ;  $p = 0.8929$ ).

Deuxièmement, comme indiqué aux Figures 1 et 2, des valeurs du taux de MG libre sont inférieures à la valeur de référence moyenne normale de  $0.06 \mu\text{M}$ . C'est particulièrement le cas pour les stades TNM 1, mais pas pour les stades TNM plus avancés (Figure 1). En outre, il y a plusieurs cas inférieurs à la valeur de référence pour les différents types de cancer étudiés (Figure 2). Par conséquent, ces cas constituent des faux négatifs.

Troisièmement, l'augmentation de MG libre dans le sang des patients n'étant pas spécifique du cancer, il peut y avoir des faux positifs. Comme indiqué précédemment [26,51] et confirmé dans le Tableau 2, le MG libre est également fortement produit et libéré dans le sang, en cas d'hyperglycémie, avec des taux élevés de MG libre dans le sang des patients atteints de diabète de type 2. Avant de considérer le MG libre comme un biomarqueur du cancer, il est donc obligatoire d'exclure tout diabète sucré.

De même, il a été démontré que l'accumulation de MG-AGE est une caractéristique du vieillissement et qu'elle contribue au développement de maladies neurodégénératives, telle que la maladie d'Alzheimer [26,52]. Cependant, dans notre étude, nous n'avons pas trouvé de corrélation entre le MG libre et l'âge chez les patients atteints de cancer, ainsi que chez les témoins sains ; pourtant, dans l'hypertension et les maladies cardiovasculaires, il a été démontré que les AGEs s'accumulent dans le sang, le collagène et les reins [26]. À notre connaissance, il n'est cependant pas clair si ces pathologies peuvent être associées à des taux de MG libre circulants supérieurs aux valeurs normales. Néanmoins, il semble évident qu'une

augmentation de MG libre détectée dans le sang de n'importe quel patient peut constituer un faux diagnostic de cancer.

Enfin, nous devons souligner la difficulté technique de traiter les échantillons de sang humain car, après le prélèvement, ils doivent être conservés à une température inférieure à 4 °C.

## 5. Conclusions

Malgré ces limitations, il ressort de notre étude que le MG libre peut être utilisée comme un nouveau biomarqueur métabolique dans les cancers, y compris dans les cas pour lesquels il n'existe actuellement aucun biomarqueur disponible. Nos résultats ouvrent la voie à d'autres développements bio-cliniques dans cette nécessaire avancée de la médecine.

## Références

1. WHO. *Cancer—Key Facts*; World Health Organization: Geneva, Switzerland, 3 February 2022; Available online: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer> (accessed on 14 February 2024).
2. Ferlay, J.; Ervik, M.; Lam, F.; Colombet, M.; Mery, L.; Piñeros, M.; Znaor, A.; Soerjomataram, I.; Bray, F. *Global Cancer Observatory: Cancer Today*; International Agency for Research on Cancer: Lyon, France, 2020; Available online: <https://gco.iarc.fr/today> (accessed on 14 February 2024).
3. Strimbu, K.; Tavel, J.A. What are biomarkers? *Curr. Opin. HIV AIDS* **2010**, *5*, 463–466. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
4. FDA-NIH Biomarker Working Group. BEST (Biomarkers, EndpointS, and Other Tools) Resource. Silver Spring (MD). Available online: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK326791/pdf/Bookshelf\\_NBK326791.pdf](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK326791/pdf/Bookshelf_NBK326791.pdf) (accessed on 10 February 2024).
5. Kamińska, K.; Nalejska, E.; Kubiak, M.; Wojtysiak, J.; Żoła, Ł.; Kowalewski, J.; Lewandowska, M.A. Prognostic and Predictive Epigenetic Biomarkers in Oncology. *Mol. Diagn. Ther.* **2019**, *23*, 83–95. [[CrossRef](#)]
6. Nam, A.S.; Chaligne, R.; Landau, D.A. Integrating genetic and non-genetic determinants of cancer evolution by single-cell multi-omics. *Nat. Rev. Genet.* **2021**, *22*, 3–18. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
7. Irigaray, P.; Newby, J.A.; Clapp, R.; Hardell, L.; Howard, V.; Montagnier, L.; Epstein, S.; Belpomme, D. Lifestyle-related factors and environmental agents causing cancer: An overview. *Biomed. Pharmacother.* **2007**, *61*, 640–658. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
8. Belpomme, D.; Irigaray, P.; Hardell, L.; Clapp, R.; Montagnier, L.; Epstein, S.; Saso, A.J. The multitude and diversity of environmental carcinogens. *Environ. Res.* **2007**, *105*, 414–429. [[CrossRef](#)]
9. US Department of Health and Human Services (NIH and NCI). 2008–2009 Annual President's Cancer Panel: Environmental Factors in Cancer. NIH. April 2018. Available online: [https://deainfo.nci.nih.gov/advisory/pcp/annualReports/pcp08-09rpt/PCP\\_Report\\_08-09\\_508.pdf](https://deainfo.nci.nih.gov/advisory/pcp/annualReports/pcp08-09rpt/PCP_Report_08-09_508.pdf) (accessed on 14 February 2024).
10. Irigaray, P.; Belpomme, D. Basic properties and molecular mechanisms of exogenous chemical carcinogens. *Carcinogenesis* **2010**, *31*, 135–148. [[CrossRef](#)]
11. DeBerardinis, R.J.; Lum, J.J.; Hatzivassiliou, G.; Thompson, C.B. The biology of cancer: Metabolic reprogramming fuels cell growth and proliferation. *Cell Metab.* **2008**, *7*, 11–20. [[CrossRef](#)]
12. Ward, P.S.; Thompson, C.B. Metabolic reprogramming: A cancer hallmark even warburg did not anticipate. *Cancer Cell* **2012**, *21*, 297–308. [[CrossRef](#)]

13. Caignard, A.; Pelletier, H.; Martin, F. Specificity of the immune response leading to protection or enhancement by regressive and progressive variants of a rat colon carcinoma. *Int. J. Cancer* **1988**, *42*, 883–886. [[CrossRef](#)]
14. Irigaray, P.; Belpomme, D. Circulating free methylglyoxal as a metabolic tumor biomarker in a rat colon adenocarcinoma model. *Mol. Clin. Oncol.* **2020**, *12*, 311–316. [[CrossRef](#)]
15. WHO. *Handbook for Reporting Results of Cancer Treatment*; World Health Organization Offset Publication: Geneva, Switzerland, 1979; Volume 48. Available online: [https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/37200/WHO\\_OFFSET\\_48.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/37200/WHO_OFFSET_48.pdf?sequence=1&isAllowed=y) (accessed on 14 February 2024).
16. Rabbani, N.; Thornalley, P.J. Measurement of methylglyoxal by stable isotopic dilution analysis LC-MS/MS with corroborative prediction in physiological samples. *Nat. Protoc.* **2014**, *9*, 1969–1979. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
17. Jia, D.; Lu, M.; Jung, K.H.; Park, J.H.; Yu, L.; Onuchic, J.N.; Kaiparettu, B.A.; Levine, H. Elucidating cancer metabolic plasticity by coupling gene regulation with metabolic pathways. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2019**, *116*, 3909–3918. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
18. Vander Heiden, M.G.; Cantley, L.C.; Thompson, C.B. Understanding the Warburg effect: The metabolic requirements of cell proliferation. *Science* **2009**, *324*, 1029–1033. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
19. Hsu, P.P.; Sabatini, D.M. Cancer cell metabolism: Warburg and beyond. *Cell* **2008**, *134*, 703–707. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
20. Liberti, M.V.; Locasale, J.W. The Warburg Effect: How Does it Benefit Cancer Cells? *Trends Biochem. Sci.* **2016**, *41*, 211–218. [[CrossRef](#)]
21. Vazquez, A.; Liu, J.; Zhou, Y.; Oltvai, Z.N. Catabolic efficiency of aerobic glycolysis: The Warburg effect revisited. *BMC Syst. Biol.* **2010**, *4*, 58. [[CrossRef](#)]
22. Warburg, O.H. On the origin of cancer cells. *Science* **1956**, *123*, 309–314. [[CrossRef](#)]
23. Bensinger, S.J.; Christofk, H.R. New aspects of the Warburg effect in cancer cell biology. *Semin. Cell Dev. Biol.* **2012**, *23*, 352–361. [[CrossRef](#)]
24. Jadvar, H.; Alavi, A.; Gambhir, S.S. 18F-FDG uptake in lung, breast, and colon cancers: Molecular biology correlates and disease characterization. *J. Nucl. Med.* **2009**, *50*, 1820–1827. [[CrossRef](#)]
25. Phillips, S.A.; Thornalley, P.J. The formation of methylglyoxal from triose phosphates: Investigation using a specific assay for methylglyoxal. *Eur. J. Biochem.* **1993**, *212*, 101–105. [[CrossRef](#)]
26. Lai, S.W.T.; Lopez Gonzalez, E.D.J.; Zoukari, T.; Ki, P.; Shuck, S.C. Methylglyoxal and Its Adducts: Induction, Repair, and Association with Disease. *Chem. Res. Toxicol.* **2022**, *35*, 1720–1746. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
27. Thornalley, P.J. Pharmacology of methylglyoxal: Formation, modification of proteins and nucleic acids, and enzymatic detoxification—A role in pathogenesis and antiproliferative chemotherapy. *Gen. Pharmacol.* **1996**, *27*, 565–573. [[CrossRef](#)]
28. Riboulet-Chavey, A.; Pierron, A.; Durand, I.; Murdaca, J.; Giudicelli, J.; Van Obberghen, E. Methylglyoxal impairs the insulin signaling pathways independently of the formation of intracellular reactive oxygen species. *Diabetes* **2006**, *55*, 1289–1299. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
29. Sakamoto, H.; Mashima, T.; Yamamoto, K.; Tsuruo, T. Modulation of heat-shock protein 27 (Hsp27) anti-apoptotic activity by methylglyoxal modification. *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 45770–45775. [[CrossRef](#)]
30. Chaplen, F.W.; Fahl, W.E.; Cameron, D.C. Method for determination of free intracellular and extracellular methylglyoxal in animal cells grown in culture. *Anal. Biochem.* **1996**, *238*, 171–178. [[CrossRef](#)]
31. Wallace, D.C. Mitochondria and cancer. *Nat. Rev. Cancer* **2012**, *12*, 685–698. [[CrossRef](#)]
32. Pavlides, S.; Vera, I.; Gandara, R.; Sneddon, S.; Pestell, R.G.; Mercier, I.; Martinez-Outschoorn, U.E.; Whitaker-Menezes, D.; Howell, A.; Sotgia, F.; et al. Warburg meets autophagy: Cancer-associated fibroblasts accelerate tumor growth and metastasis via oxidative stress, mitophagy, and aerobic glycolysis. *Antioxid. Redox Signal.* **2012**, *16*, 1264–1284. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

33. Chen, M.C.; Chen, K.C.; Chang, G.C.; Lin, H.; Wu, C.C.; Kao, W.H.; Teng, C.J.; Hsu, S.L.; Yang, T.Y. RAGE acts as an oncogenic role and promotes the metastasis of human lung cancer. *Cell Death Dis.* **2020**, *11*, 265. [[CrossRef](#)]
34. Kang, R.; Loux, T.; Tang, D.; Schapiro, N.E.; Vernon, P.; Livesey, K.M.; Krasinskas, A.; Lotze, M.T.; Zeh, H.J., 3rd. The expression of the receptor for advanced glycation endproducts (RAGE) is permissive for early pancreatic neoplasia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2012**, *109*, 7031–7036. [[CrossRef](#)]
35. Miki, S.; Kasayama, S.; Miki, Y.; Nakamura, Y.; Yamamoto, M.; Sato, B.; Kishimoto, T. Expression of receptors for advanced glycosylation end products on renal cell carcinoma cells in vitro. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1993**, *196*, 984–989. [[CrossRef](#)]
36. Leone, A.; Nigro, C.; Nicolò, A.; Prevezano, I.; Formisano, P.; Beguinot, F.; Miele, C. The Dual-Role of Methylglyoxal in Tumor Progression—Novel Therapeutic Approaches. *Front. Oncol.* **2021**, *11*, 645686. [[CrossRef](#)]
37. Kang, R.; Tang, D.; Schapiro, N.E.; Livesey, K.M.; Farkas, A.; Loughran, P.; Bierhaus, A.; Lotze, M.T.; Zeh, H.J. The receptor for advanced glycation end products (RAGE) sustains autophagy and limits apoptosis, promoting pancreatic tumor cell survival. *Cell Death Differ.* **2010**, *17*, 666–676. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
38. Thornalley, P.J. The glyoxalase system in health and disease. *Mol. Asp. Med.* **1993**, *14*, 287–371. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
39. Wang, Y.; Kuramitsu, Y.; Ueno, T.; Suzuki, N.; Yoshino, S.; Iizuka, N.; Akada, J.; Kitagawa, T.; Oka, M.; Nakamura, K. Glyoxalase I (GLO1) is up-regulated in pancreatic cancerous tissues compared with related non-cancerous tissues. *Anticancer. Res.* **2012**, *32*, 3219–3222.
40. Kreyzy, N.; Gotzian, C.; Fleming, T.; Flechtenmacher, C.; Grabe, N.; Plinkert, P.; Hess, J.; Zaoui, K. Glyoxalase 1 expression is associated with an unfavorable prognosis of oropharyngeal squamous cell carcinoma. *BMC Cancer* **2017**, *17*, 382. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
41. Rabbani, N.; Thornalley, P.J. Dicarbonyl stress in cell and tissue dysfunction contributing to ageing and disease. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2015**, *458*, 221–226. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
42. Jerzykowski, T.; Winter, R.; Matuszewski, W.; Piskorska, D. A re-evaluation of studies on the distribution of glyoxalases in animal and tumour tissues. *Int. J. Biochem.* **1978**, *9*, 853–860. [[CrossRef](#)]
43. Di Ilio, C.; Angelucci, S.; Pennelli, A.; Zezza, A.; Tenaglia, R.; Sacchetta, P. Glyoxalase activities in tumor and non-tumor human urogenital tissues. *Cancer Lett.* **1995**, *96*, 189–193. [[CrossRef](#)]
44. Dragani, B.; Cocco, R.; Ridderström, M.; Stenberg, G.; Mannervik, B.; Aceto, A. Unfolding and refolding of human glyoxalase II and its single-tryptophan mutants. *J. Mol. Biol.* **1999**, *291*, 481–490. [[CrossRef](#)]
45. Thornalley, P.J.; Rabbani, N. Glyoxalase in tumorigenesis and multidrug resistance. *Semin. Cell Dev. Biol.* **2011**, *22*, 318–325. [[CrossRef](#)]
46. Chiavarina, B.; Nokin, M.J.; Durieux, F.; Bianchi, E.; Turtoi, A.; Peulen, O.; Peixoto, P.; Irigaray, P.; Uchida, K.; Belpomme, D.; et al. Triple negative tumors accumulate significantly less methylglyoxal specific adducts than other human breast cancer subtypes. *Oncotarget* **2014**, *5*, 5472–5482. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
47. Chiavarina, B.; Nokin, M.J.; Bellier, J.; Durieux, F.; Bletard, N.; Sherer, F.; Lovinfosse, P.; Peulen, O.; Verset, L.; Dehon, R.; et al. Methylglyoxal-Mediated Stress Correlates with High Metabolic Activity and Promotes Tumor Growth in Colorectal Cancer. *Int. J. Mol. Sci.* **2017**, *18*, 213. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
48. Ahmad, M.I.; Ahmad, S. Preferential recognition of methylglyoxal-modified calf thymus DNA by circulating antibodies in cancer patients. *Indian. J. Biochem. Biophys.* **2011**, *48*, 290–296. [[PubMed](#)]
49. Alamil, H.; Lechevrel, M.; Lagadu, S.; Galanti, L.; Dagher, Z.; Delépée, R. A validated UHPLC-MS/MS method for simultaneous quantification of 9 exocyclic DNA adducts induced by 8 aldehydes. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2020**, *179*, 113007. [[CrossRef](#)]

50. Coluccio, M.L.; Presta, I.; Greco, M.; Gervasi, R.; La Torre, D.; Renne, M.; Voci, C.P.; Lunelli, L.; Donato, G.; Malara, N. Microenvironment Molecular Profile Combining Glycation Adducts and Cytokines Patterns on Secretome of Short-term Blood-derived Cultures during Tumour Progression. *Int. J. Mol. Sci.* **2020**, *21*, 4711. [[CrossRef](#)]
51. Brownlee, M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* **2001**, *414*, 813–820. [[CrossRef](#)]
52. Li, J.; Liu, D.; Sun, L.; Lu, Y.; Zhang, Z. Advanced glycation end products and neurodegenerative diseases: Mechanisms and perspective. *J. Neurol. Sci.* **2012**, *317*, 1–5. [[CrossRef](#)]

**Avertissement/Note de l'éditeur:** Les déclarations, opinions et données contenues dans toutes les publications sont uniquement celles des auteur(s) et contributeur(s) individuel(s) et non celles de MDPI et/ou de l'éditeur. MDPI et/ou les éditeur(s) décline(nt) toute responsabilité en cas de dommages corporels ou matériels résultant d'idées, de méthodes, d'instructions ou de produits mentionnés dans le contenu.