



UNIVERSITE LILLE 2 DROIT ET SANTE  
**FACULTE DE MEDECINE HENRI WAREMBOURG**

Année : 2016

THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT  
DE DOCTEUR EN MEDECINE

**Résultats préliminaires de l'étude METCAP : intérêt de la metformine en association à une radiochimiothérapie néoadjuvante dans le traitement des cancers du rectum localement avancés.**

Présentée et soutenue publiquement le 10 juin 2016 à 14 heures  
au Pôle Recherche  
**Par Thomas Leroy**

---

**JURY**

**Président :**

**Monsieur le Professeur Eric Lartigau**

**Assesseurs :**

**Monsieur le Professeur Gilles Créhange**

**Monsieur le Professeur Mohamed Hebbar**

**Monsieur le Professeur Christophe Mariette**

**Directeur de Thèse :**

**Monsieur le Docteur Xavier Mirabel**

---

## **Avertissement**

**La Faculté n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses : celles-ci sont propres à leurs auteurs.**

## Liste des abréviations

3D	Trois dimensions
5-FU	5-Flurouracile
ACE	Antigène carcino-embryonnaire
ADN	Acide désoxyribonucléique
AJCC	American Joint Committee on Cancer
AKT	Protéine kinase B
AMP	Adénosine monophosphate
AMPK	Protéine kinase activée par l'AMP
ASCO	American Society of Clinical Oncology
CD133	Prominin-1
CRM	Marge de résection circonférentielle
CTV	Clinical target volume
CX-1	Complexe mitochondrial 1
EGFR	Récepteur de l'EGF (Epidermal Growth Factor)
EZH2	Enhancer of zeste homolog 2
FFCD	Fédération Francophone de Cancérologie Digestive
GTV	Gross tumor volume
Gy	Gray
HOMA-IR	Homeostasis model assessment of insulin resistance
IC95%	Intervalle de confiance à 95%
IGF-1	Facteur de croissance 1 ressemblant à l'insuline
IGF1-R	Récepteur du facteur de croissance 1 ressemblant à l'insuline
IMC	Indice de masse corporelle
INCa	Institut national du Cancer
IR	Récepteur à insuline
IRM	Imagerie
ITK	Inhibiteurs de tyrosine kinase
K-RAS	V-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog
MSKCC	Memorial Sloan Kettering Cancer Center
mTOR	Cible de la rapamycine chez les mammifères
MV	Megavolts
NAR score	Neoadjuvant rectal score
NFS	Numération de formule sanguine
OCT	Transporteur organique de cation
OMS	Organisation mondiale de la santé
OXPHOS	Phosphorylation oxydative
pCR	Réponse histologique complète

PFS	Survie sans progression
PI3K	Phosphoinositide 3-kinase
PS	Performans Status
PTV	Planning target volume
SCID	Severe combined immunodeficiency
SD	Déviation standard
Scanner TAP	Scanner thoracoabdominopelvien
TEP-scan	Tomographie par Émission de Positons
TILs	Lymphocytes infiltrants la tumeur
TME	Exérèse totale du mésorectum
TRG	Grade de régression tumorale
UICC	Union for International Cancer Control

# Table des matières

<b>Résumé .....</b>	<b>1</b>
<b>Introduction.....</b>	<b>2</b>
I. Épidémiologie du cancer du rectum .....	2
II. Classification anatomique et anatomopathologique .....	2
A. Classification anatomique .....	2
B. Classification anatomopathologique.....	3
III. Évaluation pré-thérapeutique.....	6
A. Évaluation clinique .....	6
B. Évaluation paraclinique .....	6
1. La rectoscopie .....	6
2. L'IRM rectale .....	6
3. L'écho-endoscopie rectale .....	7
4. Le scanner thoraco-abdomino-pelvien.....	7
IV. Prise en charge thérapeutique.....	8
A. La radiochimiothérapie néoadjuvante. ....	8
B. La prise en charge chirurgicale .....	11
C. La metformine .....	13
1. Généralités.....	13
2. Mécanismes antinéoplasiques .....	15
a) Mécanismes antiprolifératifs.....	15
b) Mécanismes chimiosensibilisants .....	15
c) Metformine et métabolisme cellulaire.....	16
d) Mécanismes radiosensibilisants.....	16
e) Metformine et immunité antitumorale .....	17
f) Metformine et cellules souches cancéreuses. ....	18
3. Données cliniques actuelles.....	19
4. Repositionnement des molécules en oncologie.....	20
V. Objectif.....	21
<b>Matériels et méthodes.....</b>	<b>22</b>
I. Critères d'inclusion .....	22
II. Critères de non-inclusion .....	23
III. Bilan d'inclusion et de suivi des patients .....	24
A. Bilan d'inclusion.....	24
B. Bilan en cours et fin de traitement.....	25
C. Bilan avant la chirurgie.....	25
D. Bilan de sortie d'étude.....	26
IV. Critères d'évaluation .....	26
A. Évaluation de l'efficacité.....	26
1. Critère de jugement principal .....	26
2. Critères de jugement secondaires .....	26
B. Évaluation de la tolérance .....	26
C. Facteurs prédictifs de réponse au traitement.....	27
V. Analyse statistique et détermination du nombre de patients .....	27
A. Détermination du nombre de sujets .....	27
B. Analyse statistique .....	27
C. Data Management.....	28
VI. Traitements.....	29
A. Metformine .....	29

B.	Radiochimiothérapie.....	29
1.	Radiothérapie.....	29
2.	Chimiothérapie.....	30
3.	Adaptation du traitement en fonction des toxicités.....	31
C.	Chirurgie.....	31
D.	Analyse histopathologique.....	32
VII.	Sortie d'étude.....	33
VIII.	Surveillance ultérieure.....	33
IX.	Démarches réglementaires.....	33
X.	Centres participants.....	34
<b>Résultats</b>	<b>.....</b>	<b>35</b>
I.	Caractéristiques initiales.....	35
A.	Données cliniques.....	35
B.	Caractéristiques tumorales.....	36
C.	Données biologiques.....	37
II.	Caractéristiques du traitement.....	39
A.	Radiothérapie.....	39
B.	Capécitabine.....	40
C.	Metformine.....	40
D.	Chirurgie.....	40
III.	Efficacité.....	41
A.	Critère de jugement principal.....	41
B.	Critères de jugement secondaire.....	41
IV.	Tolérance.....	43
<b>Discussion</b>	<b>.....</b>	<b>45</b>
I.	Résultats.....	45
C.	Efficacité.....	45
D.	Tolérance.....	48
II.	Limites de l'étude.....	49
A.	Sélection des patients.....	49
B.	Dose de metformine délivrée.....	50
C.	Critère de jugement principal.....	51
III.	Quel avenir pour la metformine en oncologie ?.....	53
A.	Mode de délivrance.....	53
B.	Identification de facteurs prédictifs de réponse.....	53
C.	Période de délivrance.....	54
D.	Autres localisations tumorales.....	55
E.	Utilisation d'autres biguanides.....	56
F.	Associations à d'autres thérapeutiques.....	57
IV.	Évolution de la prise en charge des adénocarcinomes rectaux.....	59
<b>Conclusion</b>	<b>.....</b>	<b>61</b>
<b>Références bibliographiques</b>	<b>.....</b>	<b>62</b>
<b>Annexes</b>	<b>.....</b>	<b>74</b>
Annexe 1 :	Classification TNM des tumeurs colorectales.....	74
Annexe 2 :	Performans status selon l'OMS.....	76
Annexe 3 :	Score HOMA-IR.....	77
Annexe 4 :	Schéma de l'étude.....	78
Annexe 5 :	Compte rendu anatomopathologique standardisé.....	79
Annexe n°6 :	Le neoadjuvant rectal score (NAR score).....	81

## RESUME

**Contexte** : La metformine est un antidiabétique auquel sont attribuées des propriétés antinéoplasiques à partir de données in-vitro et de cohortes rétrospectives. L'objectif de cette étude était d'étudier l'efficacité et la tolérance de la metformine en association à une radiochimiothérapie néoadjuvante dans le traitement des cancers du rectum localement avancés.

**Méthode** : il s'agit d'une étude de phase II multicentrique non contrôlée évaluant la metformine à la dose de 2550 mg/j en association à une radiochimiothérapie néoadjuvante à base de capécitabine (1600 mg/j 5j/7) dans le traitement des cancers du moyen et du bas rectum classé T3-4N0-2M0 chez des patients non-diabétiques. Le critère de jugement principal de cette étude était le taux de réponse histologique complète. Les critères de jugements secondaires étaient le taux de downstaging tumoral, de préservation sphinctérienne et les taux de toxicités.

**Résultats** : Nous rapportons ici les résultats des 16 premiers patients inclus dans l'étude METCAP. Le taux de réponse histologique complète était de 7%. Le taux de downstaging tumoral était de 75% (IC95% 48-93%) et était associé à un taux de stérilisation ganglionnaire de 83%. Le taux de préservation sphinctérienne était de 44%. Aucun facteur prédictif de downstaging ou de réponse histologique complète n'a été mis en évidence. L'association de la radiochimiothérapie et de la metformine a été correctement tolérée. En dehors de 2 lymphopénies de grade 3 et d'une lymphopénie de grade 4, la seule toxicité de grade  $\geq 3$  liée au traitement observée était une diarrhée de grade 3.

**Conclusion** : La metformine ne permet pas d'augmenter le taux de réponse histologique complète après radiochimiothérapie dans les cancers du rectum localement avancés. En revanche, elle semble pouvoir augmenter le taux de downstaging tumoral et pourrait avoir un impact sur le pronostic à long terme des patients.

## INTRODUCTION

### I. Épidémiologie du cancer du rectum

Les dernières données épidémiologiques de l'INCA estimaient en 2012 à 42152 le nombre de nouveaux patients porteurs d'une tumeur colorectale et à 17722 le nombre de décès imputables à cette pathologie. Le cancer colorectal demeure donc à ce jour le deuxième cancer en termes de mortalité en France.

Les cancers du rectum représentent environ 30% des tumeurs colorectales.

Malgré des progrès thérapeutiques réalisés sur le contrôle local de la maladie grâce à l'avènement de l'exérèse totale du mésorectum (TME) et de la radiochimiothérapie néoadjuvante, leur pronostic en termes de survie demeure médiocre. L'étude EUROCORE-5 montrait ainsi en France un taux de survie à 5 ans de 57,9% (1) concordant avec les résultats du registre d'Amsterdam qui retrouvait une survie de 59% à 5 ans pour des patients opérés par TME (68% pour les stades II et 57% pour les stades III) (2). Ces données concernent des patients traités il y a plus de 10 ans et les données actuelles tendent à suggérer une meilleure survie.

Du fait de la localisation tumorale, l'enjeu actuel dans la prise en charge des cancers du rectum est double : assurer le contrôle local de la maladie tout en préservant la fonction sphinctérienne et améliorer le contrôle systémique de celle-ci et donc la survie des malades.

### II. Classification anatomique et anatomopathologique

#### A. Classification anatomique

Le rectum est un organe médian débutant à la jonction rectosigmoïdienne et se terminant au niveau de la jonction ano-rectale. Il est long d'environ 15 à 18 cm.

Il est divisé en trois sections : le bas, le moyen et le haut rectum (3).

Cette division est historiquement basée sur le niveau de la réflexion péritonéale séparant haut et moyen rectum (4). Du fait de l'absence de séreuse, les tumeurs du bas et du moyen rectum peuvent s'étendre plus profondément dans la graisse péirectale et



avaient historiquement des taux de rechutes locorégionales plus importants que les tumeurs du haut rectum.

Afin de faciliter la prise en charge des cancers du rectum, la localisation anatomique tumorale est basée sur la distance de la tumeur à la marge anale, paramètre le plus reproductible. La distance par rapport au bord supérieur du sphincter anal est également considérée en raison des variations anatomiques de longueur du canal anal et de son impact ultérieur sur les possibilités de préservation sphinctérienne.

Les distances suivantes sont communément utilisées en France :

- Tumeurs du bas rectum de 0 à 5 cm de la marge anale ou à 2 cm ou moins du bord supérieur du sphincter.
- Tumeurs du moyen rectum de 5 à 10 cm de la marge anale ou de 2 à 7 cm du bord supérieur du sphincter.
- Tumeurs du haut rectum de 10 à 15 cm de la marge anale ou à plus de 7 cm du bord supérieur du sphincter.

Ces distances sont évaluées cliniquement, endoscopiquement et par IRM.

En IRM, le bord du supérieur du sphincter est repéré par le bord supérieur du muscle puborectal. À l'examen clinique, on considère qu'une tumeur non perceptible au toucher rectal est située dans le haut rectum.

## **B. Classification anatomopathologique**

Les tumeurs du rectum sont à plus de 95% des adénocarcinomes ( dont environ 5 à 10% comportant une composante mucineuse) (5,6). On évalue leur extension locorégionale et métastatique à l'aide la classification TNM. La classification actuellement utilisée est la septième version de la classification TNM de l'UICC datant de 2009 (Annexe 1).

Avant la prise en charge chirurgicale, elle est basée sur la clinique (cTNM), l'IRM (mrTNM) ou l'écho-endoscopie (usTNM) et permet d'orienter la stratégie thérapeutique.

Après la chirurgie, elle se base sur l'examen anatomopathologique de la pièce opératoire (pTNM ou en cas de traitement néoadjuvant ypTNM) et guidera les indications de traitement adjuvant.

Les tumeurs dites localement avancées sont les tumeurs de stade II et III. Ce sont donc les tumeurs sans métastases à distance, avec envahissement ganglionnaire ou franchissant la musculature.

D'autres classifications sont également utilisées afin d'évaluer la régression tumorale après traitement néoadjuvant, elles sont résumées dans le tableau 1 (7). Alors qu'il est maintenant établi qu'une réponse complète après radiochimiothérapie est prédictive d'un meilleur contrôle et d'une meilleure survie, la valeur pronostique des réponses partielles est plus discutée. Une standardisation de l'évaluation pathologique sera nécessaire pour démontrer formellement leur impact pronostique (8–10).

**Tableau 1: Différentes classifications de régression tumorale après radiochimiothérapie néoadjuvante.**

Niveaux	Mandard (5 niveaux)	AJCC	Dworak/Rödel (5 niveaux)	MSKCC	Mandard (3 niveaux)	Dworak/Rödel (3 niveaux)
TRG 0		Pas de cellules cancéreuses résiduelles	Pas de régression			
TRG 1	Pas de cellules cancéreuses résiduelles	Cellule isolée ou petit groupe de cellules	Fibrose occupant moins de 25% de la masse tumorale	100% de réponse tumorale	Pas de cellules cancéreuses résiduelles	Régression complète
TRG 2	Rares cellules cancéreuses	Cancer résiduel avec réponse desmoplastique	Fibrose occupant de 25% à 50% de la masse tumorale	86-99% de réponse tumorale	Rares cellules cancéreuses ou prédominance de fibrose sur le cancer résiduel	Fibrose occupant de 25 à 99% de la masse tumorale
TRG 3	Prédominance de fibrose sur le cancer résiduel	Peu de signes de réponse tumorale	Régression complète	Réponse tumorale $\leq$ 85%	Prédominance de cancer sur la fibrose résiduelle ou absence de régression tumorale	Fibrose occupant moins de 25% de la masse tumorale ou pas de régression
TRG 4	Prédominance de cancer sur la fibrose résiduelle					
TRG 5	Absence de régression tumorale					

TRG : Grade de régression tumorale Adapté de Trakarnsanga et al.(11)

### III. Évaluation pré-thérapeutique

L'évaluation pré-thérapeutique va avoir quatre objectifs :

- Confirmer le diagnostic de tumeur localisée du rectum.
- Évaluer la résecabilité tumorale et les possibilités de conservation sphinctérienne.
- Évaluer l'extension tumorale afin de poser les indications de traitement néoadjuvant.
- Recherche d'une lésion synchrone

#### A. Évaluation clinique

Elle évaluera l'état général du patient (score OMS, poids, taille) et ses comorbidités afin de rechercher une contre-indication thérapeutique. Un recueil des antécédents personnels ou familiaux permettra de rechercher une prédisposition génétique notamment un syndrome de Lynch.

Le toucher rectal précisera la localisation tumorale, notamment la distance de la tumeur par rapport à la marge anale, sa taille, son extension circonférentielle et sa mobilité par rapport aux plans profonds. Il s'attardera également à vérifier la tonicité sphinctérienne et à rechercher des ganglions dans le mésorectum.

#### B. Évaluation paraclinique

##### 1. La rectoscopie

Elle permettra de confirmer le diagnostic par la réalisation de biopsies et de préciser la localisation tumorale, sa taille et la distance de la tumeur par rapport à la marge anale

En raison de la présence dans 4 à 15% d'une tumeur colorectale synchrone, elle doit être complétée d'une coloscopie complète qui pourra être réalisée après le traitement en cas de tumeur obstructive (12).

##### 2. L'IRM rectale

L'IRM rectale est l'examen fondamental de l'évaluation pré-thérapeutique.

Elle permet de distinguer les tumeurs T1/T2 des tumeurs T3/T4, de prédire l'envahissement de la marge de résection circonférentielle et d'évaluer le statut ganglionnaire afin de guider les indications de traitement néoadjuvant. Cependant bien que l'IRM soit un examen très performant pour l'évaluation du stade T et de l'envahissement de la CRM, ses performances pour l'évaluation du statut ganglionnaire sont moins élevées. Une méta-analyse de 21 études retrouvait respectivement pour l'évaluation du stade T, du

stade N et de l'envahissement de la CRM des sensibilités de 87% IC95% (81%-92%), 77% IC95(69%-84%), 77% IC95%(57%-90%) et des spécificités de 75% IC95% (68%-80%), 71% IC95(59%-81%), 94% IC95%(88%-97%) (13).

L'évaluation du statut ganglionnaire est notamment rendue difficile par l'existence de ganglions inflammatoires indemnes de cellules cancéreuses dont la taille peut se superposer avec celle de ganglions envahis et par le fait que certains ganglions de faible diamètre peuvent être le siège de métastase. La taille des ganglions ne doit pas donc être le seul critère pour les considérer comme pathologiques (14).

Concernant l'évaluation de la CRM, les résultats à 5 ans de l'étude MERCURY ont montré que son évaluation par IRM était prédictive du contrôle local et de la survie globale (15).

### **3. L'écho-endoscopie rectale**

L'écho-endoscopie rectale est le deuxième examen avec l'IRM permettant de réaliser une stadification locale de la tumeur.

Elle possède une meilleure spécificité que l'IRM pour le staging de la tumeur primitive notamment pour distinguer les tumeurs T3 des T1-T2 (86% contre 69%) et possède des performances identiques pour l'évaluation du statut ganglionnaire (16,17). Elle permet également de différencier les lésions T1 des lésions T2 ce que ne permet pas l'IRM.

Cependant, elle est limitée par son caractère opérateur dépendant et une impossibilité de réalisation en cas de tumeur obstructive. L'IRM reste cependant supérieure afin d'évaluer la CRM (18).

Ces deux examens sont complémentaires, l'écho-endoscopie étant notamment utile en cas de doute sur une lésion T3 à l'IRM.

Néanmoins, l'évaluation ganglionnaire demeure à ce jour imprécise du fait de la faible spécificité des deux examens, l'IRM ayant l'avantage potentiel de pouvoir se baser sur des séquences fonctionnelles.

### **4. Le scanner thoraco-abdomino-pelvien**

Il recherchera les métastases à distance notamment hépatiques et pulmonaires ainsi que des adénopathies notamment en dehors du mésorectum dont l'envahissement est rare, mais peut modifier la stratégie thérapeutique

## IV. Prise en charge thérapeutique

Le traitement des tumeurs localisées ou localement avancées du rectum repose sur la chirurgie. Dans les années 70, le taux de récurrence locale après chirurgie d'un cancer du rectum pouvait atteindre 50%. Ce taux de récurrence a amené à considérer des stratégies trimodales associant chirurgie avec exérèse du mésorectum, radiothérapie et chimiothérapie. Cela a permis de diminuer le taux de récurrence locale à moins de 10%. En cas de tumeur localement avancée du bas ou du moyen rectum, le standard actuel repose sur une radiochimiothérapie néoadjuvante suivie d'une chirurgie. En fonction de l'analyse anatomopathologique de la pièce opératoire, une chimiothérapie adjuvante peut être discutée.

Les modalités de ces traitements sont détaillées ci-dessous.

### A. La radiochimiothérapie néoadjuvante.

Historiquement, la radiothérapie a été utilisée dans les cancers du rectum, en raison des hauts taux de récurrence locale des tumeurs rectales localement avancées survenant après chirurgie. L'exérèse totale du mésorectum a permis de diminuer ce taux à moins de 10% et l'essai allemand de *Sauer et al.* a permis de montrer que la radiochimiothérapie néoadjuvante était moins toxique et plus efficace que la radiochimiothérapie adjuvante (19). Bien que le bénéfice de la radiothérapie en termes de contrôle local ait été démontré (20), les seuls gains observés en survie globale l'ont été dans des essais où la chirurgie n'était pas optimale et où les taux de récurrences locales étaient plus élevés que ceux des études modernes (21).

Le bénéfice de l'irradiation néoadjuvante en cas de tumeur du haut rectum localement avancée est contesté en raison d'une littérature discordante et du taux de récurrence locale moins élevé du fait de la localisation intrapéritonéale de ces tumeurs.

Deux schémas de radiothérapie ont démontré un bénéfice en situation néoadjuvante : un schéma court Nord européen (5 fractions de 5 Gy) et un schéma long associé à une chimiothérapie adjuvante (45 à 50 Gy en fractions de 1,8 ou 2 Gy).

Ces schémas ont été comparés dans deux essais randomisés qui n'ont pas montré de différence en termes de contrôle local ou de survie (22,23). En raison d'une utilisation ancrée dans les pratiques, d'une tendance non significative à la diminution des récurrences locales et du bénéfice démontré par deux essais randomisés de la chimiothérapie en association à la radiothérapie, le schéma long associant chimiothérapie et radiothérapie est actuellement le standard thérapeutique en France. Ce standard pourrait être remis en cause par la

publication récente d'un essai polonais montrant une équivalence entre le schéma long et le schéma court suivi d'une consolidation par chimiothérapie en termes de contrôle local et de réponse histologique complète (pCR). En revanche, il existe dans cette étude un bénéfice en survie globale à 3 ans en faveur du schéma court associé à une chimiothérapie de consolidation (73 vs 65%  $p=0,046$ ) (24).

La dose de radiothérapie est également sujette à débat. Un taux de pCR plus élevé était observé dans les essais ayant utilisé une dose de 50 Gy en 25 fractions, de ce fait la dose de 50 Gy est considérée comme le schéma de référence malgré le fait qu'elle n'ait pas été directement comparée dans un essai randomisé à la dose historique de 45 Gy et que les taux de contrôle local ou de survie n'étaient pas meilleurs.

L'irradiation conformationnelle 3D demeure à ce jour la technique de référence pour le traitement des tumeurs rectales. Néanmoins, la radiothérapie conformationnelle par modulation d'intensité est de plus en plus utilisée et fait l'objet de publications concernant notamment l'escalade de dose.

Une chimiothérapie concomitante par 5-FU en association à la radiothérapie a montré un bénéfice en termes de contrôle local dans les deux essais FFCD 9203 et EORTC 22921(25,26).

La capécitabine a montré une équivalence aux perfusions continues de 5-FU en termes de contrôle local et de toxicité dans deux essais de phase III (27,28).

Devant la persistance de taux élevés de récurrence métastatique, des essais d'intensifications du régime de chimiothérapie concomitante ont été menés. Les essais de phase III ayant étudié l'association d'oxaliplatine sont résumés dans le tableau 2, mais n'ont au mieux démontré qu'une augmentation du taux de pCR au prix d'une augmentation significative des toxicités. Seul un essai a montré un bénéfice sur la PFS mais il évaluait l'ajout de l'oxaliplatine à la radiochimiothérapie néoadjuvante associée à une chimiothérapie adjuvante. Le bénéfice constaté peut donc être lié à la chimiothérapie adjuvante et non à l'intensification de la chimiothérapie concomitante (29). D'autres molécules sont actuellement à l'essai : irinotécan, bevacizumab, cetuximab.

À ce jour, les recommandations préconisent donc en cas d'indication de traitement néoadjuvant une radiochimiothérapie à la dose de 50 Gy délivrée en fraction de 2 Gy associée à une chimiothérapie orale par capécitabine.

**Tableau 2: Essais de phase III d'intensification de la chimiothérapie concomitante à la radiothérapie dans le traitement des cancers du rectum localement avancés.**

Essai	Nombre de patients	Dose de radiothérapie (Gy)	Chimiothérapie concomitante	pCR (%)	Toxicités Grade 3-5 (%)	Différences significatives
ACCORD 12 (30)	586	45	Capécitabine	13,8	11	Plus de toxicités Pas de gain
		50	Capécitabine et oxaliplatine	18,8	25	
STAR-01 (31)	747	50,4	5-fluoro-uracile	16	8	Plus de toxicités Pas de gain
		50,4	5-fluoro-uracile et oxaliplatine	15	24	
NSABP R-04 (32)	1437	50,4	5-fluoro-uracile ou capécitabine	19,1	32,7	Plus de toxicités Pas de gain
		50,4	5-fluoro-uracile et oxaliplatine ou capécitabine et oxaliplatine	20,9	41	
CAO/ARO/AIO-04 (29)	1265	50,4	5-fluoro-uracile	13	20,6	Gain en PFS à 3 ans (75,9% vs 71,2% p=0,03) Plus de toxicités
		50,4	5-fluoro-uracile et oxaliplatine	17	24,4	
FOWARC (33)	495	≥46	5-fluoro-uracile	12,5	37,2	Gain en pCR Pas de PFS présentée Rapport préliminaire à l'ASCO 2015
		≥46	mFOLFOX6	31,3	54,1	
		0	mFOLFOX6	7,4	7,9	
PETACC-6 (34)	1094	45	Capécitabine	11,3	15,1	Plus de toxicités Pas de gain
		45	Capécitabine/oxaliplatine	13,3	36,7	

*pCR : réponse histologique complète.*



## B. La prise en charge chirurgicale

Le premier objectif de cette prise en charge est une résection à visée curative. Le geste chirurgical sera fonction de la localisation et de l'extension tumorale.

En cas de tumeurs superficielles, de petite taille, une résection limitée peut être réalisée par voie endoscopique ou transanale. Dans le cas de tumeurs invasives, une exérèse carcinologique avec marges distales et latérales et curage complémentaire doit être réalisée. Le contrôle locorégional des tumeurs du rectum a été grandement modifié grâce à l'exérèse du mésorectum faisant passer le taux de récurrences locales à 5 ans de 40% à 4%(35,36). Cette exérèse doit être totale en cas de tumeur du bas et du moyen rectum et doit en cas de tumeur du haut rectum comporter une exérèse rectale et du mésorectum jusqu'à 5 cm en dessous du pôle inférieur de la tumeur. Une anastomose colorectale ou coloanale est ensuite réalisée avec mise en place d'une stomie de protection temporaire.

Le second objectif de la prise en charge sera la préservation de la fonction ano-rectale. Elle sera dépendante de l'intégrité du sphincter anal, de la localisation tumorale et de l'extension aux organes de voisinage. Il s'agit d'une question essentielle pour les tumeurs du bas rectum pour lesquelles une marge distale de 1 cm est requise qui peut notamment être obtenue par dissection intersphinctérienne (37).

En cas d'impossibilité de préservation sphinctérienne, une amputation abdominopérinéale sera réalisée et une stomie définitive mise en place.

Les recommandations actuelles préconisent que cette chirurgie doive être réalisée, six à huit semaines après la radiochimiothérapie néoadjuvante. Cependant, le délai optimal à respecter avant la chirurgie reste l'objet de controverses.

Le seul essai randomisé s'étant intéressé à l'intervalle entre chirurgie et radiothérapie a comparé un délai court (2 semaines) à un délai standard (6 à 8 semaines) après un schéma de radiothérapie non utilisé en routine clinique (39 Gy en 13 fractions) rendant son interprétation délicate (38). Des cohortes suggèrent qu'un allongement du délai entre radiothérapie et chirurgie serait bénéfique et une méta-analyse de 3584 patients montre une augmentation du taux de réponse histologique complète après un intervalle de plus de 8 semaines entre la radiothérapie et la chirurgie sans amélioration de la survie ou du contrôle local (39).

Ces données nécessitent d'être confirmées par des études randomisées telles que l'essai GRECCAR6 qui compare un délai de 7 semaines à un délai de 11 semaines(40). Les résultats préliminaires de cet essai ont été présentés aux dernières journées francophones d'hépatogastroentérologie et d'oncologie digestive. Un allongement du délai à 11 semaines entre radiochimiothérapie et chirurgie ne permet pas d'augmentation significative de la

réponse histologique que cela soit en termes de pCR, de ypT, de ypN ou du taux de réponse histologique majeure. Une augmentation significative de la morbidité opératoire était constatée dans le groupe 11 semaines (44,2% versus 31,5%,  $p=0,036$ ). À ce jour, le délai entre radiothérapie et chirurgie ne doit donc pas être allongé.

Afin d'éviter une chirurgie invasive après radiochimiothérapie adjuvante, des stratégies de surveillance dite de « watch and wait » ou de résection limitée se développent pour les tumeurs ayant totalement régressé après radiochimiothérapie néoadjuvante. Les résultats publiés par l'équipe brésilienne d'Habr-Gama montrent que seul un tiers des patients ayant présenté une réponse clinique complète après radiochimiothérapie présentera une récurrence locale et que celle-ci sera accessible à un geste de rattrapage dans 90% des cas (41,42). Ces résultats nécessitent d'être validés dans un essai randomisé avant d'être considérés comme un standard thérapeutique. Ils encouragent cependant à essayer d'augmenter le taux de réponse histologique complètes en vue du développement de stratégie de préservation d'organe.

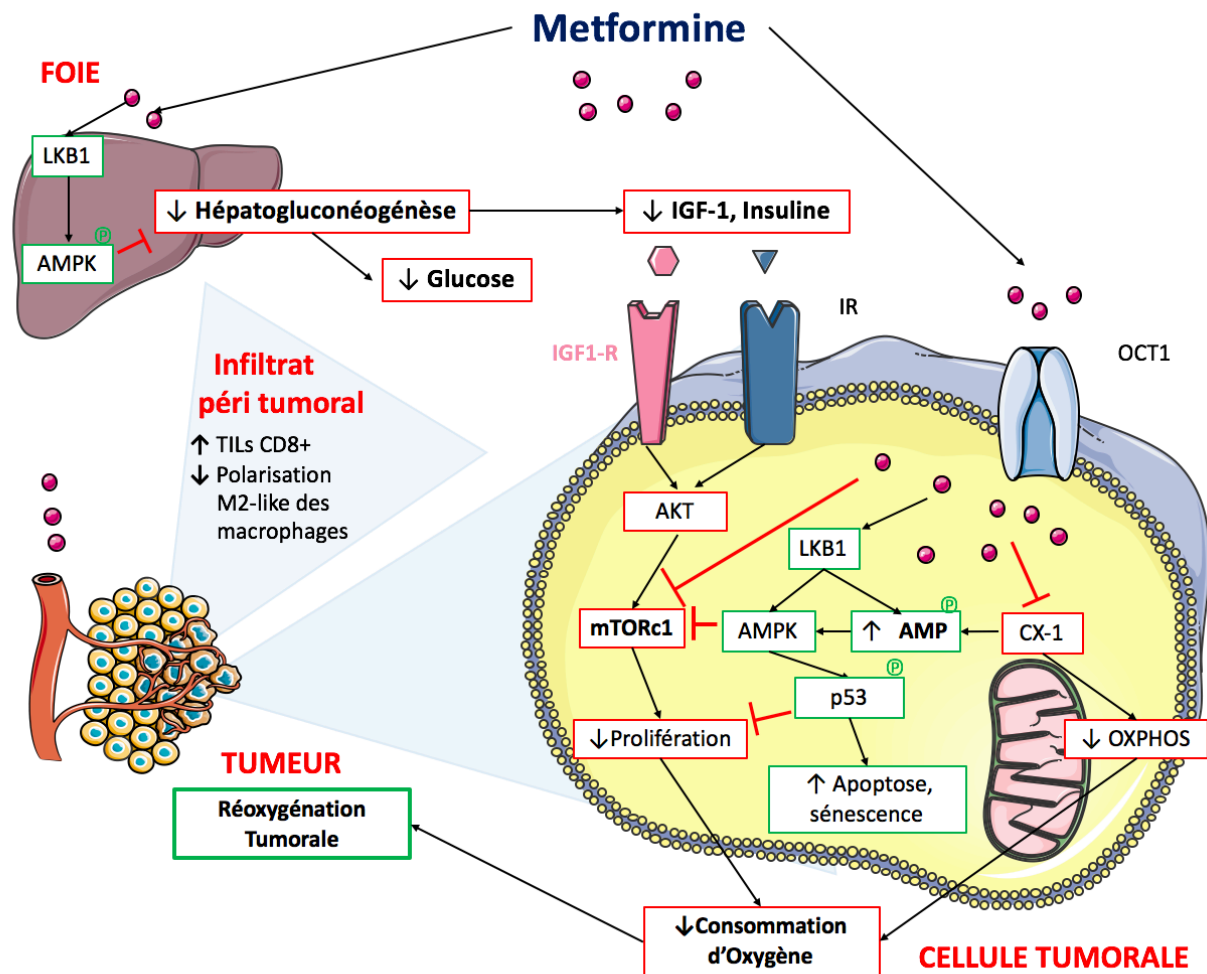
## C. La metformine

### 1. Généralités

La metformine est un antidiabétique oral utilisé dans le traitement du diabète de type II. Elle provient d'une plante le *galega officinalis*. Son mode d'action bien que largement décrit est en réalité assez mal connu. Elle fait partie des traitements dits « insulino-sensibilisateurs ». Il s'agit d'un traitement relativement bien toléré en dehors de troubles digestifs. La classique acidose lactique est exceptionnelle avec une fréquence de 0,4/10000 et survient dans la totalité des cas décrits lors d'un non-respect des contre-indications dont la plus fréquente est l'insuffisance rénale (43). Actuellement reconnue comme le premier traitement du diabète insulino-dépendant après échec des mesures hygiéno-diététiques, la metformine fait l'objet d'un regain d'intérêt en oncologie. Des méta-analyses rétrospectives ont en effet mis en évidence une réduction du risque de décès par cancer pouvant atteindre 34% chez les diabétiques prenant un traitement par metformine comparés aux diabétiques traités par d'autres traitements (44). Cependant, ces études rétrospectives sont soumises à des biais liés à la chronologie de la prise de la metformine par rapport à la survenue du cancer et à la dose administrée (45). D'autre part, cette réduction de risque n'a pas été observée dans toutes les études.

Ces observations ont malgré tout amené à étudier les mécanismes antinéoplasiques de la metformine *in vitro*. Les principales actions publiées sont décrites ci-après et sont synthétisées sur la figure n°1.

**Figure 1: Mécanismes anti-néoplasiques de la metformine.**



AKT : protéine kinase B, AMP : adénosine monophosphate, AMPK, AMP-protéine kinase activée par l'AMP, CX-1 : complexe mitochondrial 1, IGF-1 : facteur de croissance ressemblant à l'insuline 1, IGF1-R : Récepteur de l'IGF-1, IR : récepteur de l'insuline, LKB1 : kinase hépatique B1, mTORc1 : complexe 1 de la cible de la rapamycine chez les mammifères, OCT1 : transporteur organique de cation 1, OXPHOS : phosphorylation oxydative, p53 : protéine tumorale p53, TILs : Lymphocytes infiltrants la tumeur. Une activation est représentée par une flèche, une inhibition par un trait. Les protéines ou mécanismes physiologiques inhibés par un traitement par metformine sont encadrés en rouge, ceux activés sont encadrés en vert.

## 2. Mécanismes antinéoplasiques

### a) Mécanismes antiprolifératifs

De multiples mécanismes sont décrits pour expliquer l'action antitumorale de la metformine. Du fait de son action antidiabétique, la prise de metformine aboutit à une diminution du taux de glucose, d'insuline circulante et d'IGF-1 (46). Cette baisse du taux d'insuline a pour un effet une réduction de l'activation de la voie PI3K/AKT/mTOR via le récepteur IGF-1 qui a une proximité structurale avec le récepteur de l'insuline. L'action sur IGF1-R est particulièrement intéressante, car sa surexpression est corrélée à une mauvaise réponse à la radiothérapie des cancers rectaux (47).

La metformine inhibe également mTOR via l'activation AMPK et il a été démontré une action directe de la metformine sur mTORC1. La voie mTOR étant une voie de prolifération et de survie cellulaire, la metformine a via cette voie une action antiproliférative. Alors que l'on pensait que l'activation des AMPK était médiée par LKB1, *Guo et al.* ont montré qu'il existait une activation des AMPK par la metformine indépendante de LKB1(48). Cette action semble prépondérante en cas d'inactivation de la protéine p53 (49–51).

### b) Mécanismes chimiosensibilisants

L'association entre metformine et chimiothérapie dépend de la drogue considérée et de la lignée cellulaire considérée. Alors que les données sont contradictoires quant à l'utilisation de la metformine avec du cisplatine, les modèles cellulaires et *in vivo* montrent une synergie avec le 5FU et un mode d'action comparable à celui-ci (52). *Corominas et al.* ont effet démontré que la metformine agissait comme un antifolate en altérant le transport du 5-forminino-tetrahydrofolate indispensable à la synthèse des bases puriques et pyrimidiques. D'autre part, la metformine a une activité cytotoxique synergique avec le 5FU et l'oxaliplatine sur des lignées cellulaires de tumeurs colorectales chemoresistantes *in vivo* et *in vitro*. Un traitement par metformine permet également une augmentation du taux d'apoptose tardive des cellules CD133+ classiquement décrites comme cellules souches des tumeurs rectales (53).

### c) Metformine et métabolisme cellulaire

Les cellules cancéreuses ont un métabolisme altéré. Alors que les cellules saines utilisent principalement l'énergie provenant de la phosphorylation oxydative de la mitochondrie (OXPHOS), les cellules cancéreuses utilisent l'énergie de la glycolyse aérobie ou anaérobie.

Ce switch métabolique a été appelé effet Warburg et explique la consommation excessive de glucose des cellules tumorales, notamment visualisé lors d'un TEP-Scan au  $^{18}\text{F}$ FDG. Il est maintenant établi que l'effet Warburg n'est pas exclusif et que les cellules tumorales utilisent également l'ATP issue de l'OXPHOS. Le rendement énergétique de la glycolyse étant en effet insuffisant pour assurer une prolifération cellulaire satisfaisante (54).

Au-delà de son action sur les AMPK, il a été prouvé que la metformine inhibait le complexe mitochondrial I (NADPH dépendant) et via cette voie l'OXPHOS aboutissant à un effet cytostatique. En cas de glycolyse altérée et/ou de manque de glucose, cette inhibition aboutit à la mort cellulaire par défaut d'apport énergétique. Cette action de la metformine est dépendante des transporteurs de cations organiques (OCT-1) qui permettent l'entrée de la metformine au niveau mitochondrial. L'inhibition de l'OXPHOS a également un effet activateur des AMPK, renforçant l'action directe de la metformine sur ceux-ci (55,56).

### d) Mécanismes radiosensibilisants

La diminution de la prolifération tumorale et de l'OXPHOS induite par la metformine a pour effet une diminution de la consommation cellulaire d'oxygène aboutissant à une augmentation de l'oxygénation tumorale globale. Ce phénomène a notamment pu être observé sur un modèle murin de tumeurs colorectales. L'injection de metformine diminuait la portion hypoxique tumorale visualisée à l'aide d'un TEP-scan au  $^{18}\text{F}$ -FAZA. Cette réoxygénation se traduisait alors par un allongement du délai de croissance tumorale et une diminution du volume tumoral plus importante après irradiation et metformine qu'après irradiation seule. *In vitro*, la radiosensibilité intrinsèque tumorale n'était pas modifiée, appuyant le fait que l'effet radiosensibilisant était lié à une réoxygénation tumorale (57).

La présence d'oxygène lors d'une irradiation permet en effet une augmentation du nombre de lésions létales induites par Gray en raison de la cascade de radicaux libres formés. Cela explique que les tumeurs hypoxiques soient de plus mauvais pronostic après radiothérapie.

Dans le traitement du cancer rectal, certaines mutations ont été rapportées comme associées à une mauvaise réponse à la radiochimiothérapie et corrélées à un plus haut taux

de récurrence tumorale. Il s'agit notamment des mutations des gènes codant pour les protéines p53 et K-RAS. La protéine p53 est responsable de l'entrée en apoptose des cellules présentant des lésions de l'ADN non réparées. De ce fait, il a été montré qu'un traitement par radiochimiothérapie sélectionnait les clones porteurs de mutations au niveau du gène TP53, ceux-ci étant moins radiosensibles (58).

Une radiosensibilisation par la metformine de lignées cellulaires de cancer colorectal déficientes en protéine p53 a été mise en évidence par *Jeong et al.* Elle s'explique par une induction de l'arrêt du cycle en G2/M (phase du cycle radiosensible) et un ralentissement de la vitesse de réparation des lésions de l'ADN lié à une baisse de l'expression notamment de Rad51 et ERCC1 (protéines participant à la réparation des lésions radio-induites) (50). La metformine pourrait permettre de sensibiliser ces clones à la radiothérapie.

Concernant les mutations de K-ras, il existe moins de données prouvant une interaction entre la metformine et cette protéine. *Iglesias et al.* (59) ont montré une action proapoptotique de la metformine médiée par K-ras sur des lignées cellulaires de tumeurs endométriales. *Ma et al.* ont obtenu les mêmes résultats sur des cellules de cancers du poumon et du pancréas présentant une mutation de K-ras (60).

La metformine semble donc active en cas de mutation p53 et K-ras et pourrait donc permettre d'induire une réponse sur carcinomes rectaux décrits comme « radiorésistants ».

### **e) Metformine et immunité antitumorale**

L'immunité joue un rôle important dans la carcinogenèse ainsi que dans la réponse à la chimiothérapie et à la radiothérapie. Une récente publication montre une stimulation de l'immunité antitumorale par la metformine. Ainsi dans un modèle murin, un traitement par metformine orale permettait un allongement du délai de croissance tumorale. Cet effet n'était pas mis en évidence lors du traitement de souris SCID suggérant un effet du système immunitaire dans la réponse à la metformine. L'analyse des populations lymphocytaires a permis de mettre en évidence que la metformine accroissait le nombre de lymphocytes T CD8+ infiltrant la tumeur (TILs) en les protégeant de l'apoptose. De plus, la population TIL CD8+ induite par la metformine était des lymphocytes effecteurs capables de sécréter de multiples cytokines impliquées dans le contrôle tumoral (61).

En sus de l'effet sur les lymphocytes, un traitement par metformine permet l'inhibition de la polarisation M2-like des macrophages associés à la tumeur. Or ces macrophages sont impliqués dans la dissémination métastatique tumorale. L'inhibition de cette polarisation par

la metformine montre ainsi une réduction du taux de métastases dans un modèle de Lewis de cancer pulmonaire via une activation des AMPK $\alpha$  (62).

Enfin, un traitement par metformine permet la réexpression du complexe majeur d'histocompatibilité de classe I à la surface des cellules tumorales (63). La perte d'expression de ce complexe permet lors de la carcinogenèse d'échapper à la régulation du système immunitaire. Sa réexpression permet une reconnaissance des cellules tumorales par les lymphocytes et facilite leur élimination.

Les interactions entre le système immunitaire et la metformine sont donc multiples. Elles sont pour le moment peu explorées, mais constituent une approche intéressante dans la compréhension des mécanismes antinéoplasiques de la metformine.

#### **f) Metformine et cellules souches cancéreuses.**

Deux modèles d'organisation tumorale sont actuellement décrits : le modèle d'organisation stochastique où chaque cellule peut générer une nouvelle tumeur et le modèle hiérarchique où seule une proportion de cellules a la capacité de former une nouvelle tumeur, ces cellules sont dites « cellules souches ». Cela a de fortes implications thérapeutiques, car il faut soit dans le cas d'un modèle stochastique tuer toutes les cellules tumorales pour assurer la guérison du patient soit uniquement tuer les cellules souches dans le cas d'un modèle hiérarchique. Actuellement, le modèle hiérarchique est le plus communément admis notamment depuis la mise en évidence d'un contingent de cellules tumorales possédant un haut potentiel tumorigène. Ces cellules souches ont la particularité d'être résistantes aux thérapies anticancéreuses conventionnelles et sont impliquées dans les rechutes tumorales après traitement. Dans le cancer colorectal, l'antigène de surface CD133 est un des marqueurs reconnus de cellules souches.

De manière intéressante, la metformine permet d'augmenter l'apoptose induite par le 5-FU dans cette population cellulaire (53). D'autre part, il a été montré, qu'à l'inverse des cellules non-souches, les cellules souches de cancer colique demeuraient dans un état de quiescence dans lequel leur métabolisme reposait principalement sur l'OXPPOS et étaient donc susceptibles d'être ciblées par la metformine (64).

Cependant, ce modèle hiérarchique est remis en cause par la mise en évidence d'une reprogrammation des cellules non-souches tumorales en cellules souches tumorales notamment après traitement par chimiothérapie ou radiothérapie. Un enrichissement en cellules CD133+ après radiochimiothérapie néoadjuvante a ainsi été corrélé par *Sprenger et al.* à un plus mauvais pronostic oncologique (65).



Cette reprogrammation s'accompagne d'un « shift » métabolique en diminuant la consommation glucidique et en réactivant l'OXPPOS. Un traitement par metformine peut permettre d'induire la mort de ces cellules résistantes à la chimiothérapie à l'origine de récurrences de cancer du côlon (66). Il a également été montré qu'une activation des AMPK permettait de bloquer la reprogrammation de cellules non-souches en cellules souches en empêchant la transcription d'OCT-4 (67). La metformine semble donc être un candidat idéal dans le ciblage des cellules souches résiduelles après traitement par radiochimiothérapie.

### 3. Données cliniques actuelles.

Au-delà des modèles expérimentaux *in vitro* et *in vivo*, certaines données cliniques suggèrent une efficacité de la metformine. Tout d'abord les données de survie des patients diabétiques provenant de cohortes rétrospectives et prospectives dont les méta-analyses réalisées concluent à un effet protecteur de la metformine quant à la survenue de cancer colorectal et une amélioration de la survie après un traitement pour un cancer colorectal (68–73).

Ensuite, l'étude de *Skinner et al.* qui s'intéresse de manière rétrospective à la même population que notre étude soit aux patients traités par radiochimiothérapie néoadjuvante pour une tumeur du rectum localement avancée. Un taux de réponse histologique complète de 35% était observé chez les diabétiques sous metformine contre 16,6% chez les non-diabétiques et 7,5% chez les diabétiques non traités par metformine ( $p=0,03$ ) (74). Les résultats de cette étude sont à pondérer du fait du faible effectif de patients traités par metformine ( $n=20$ ) et de son caractère rétrospectif.

Une autre étude rétrospective de *Oh et al.* montre quant à elle une amélioration du downstaging ganglionnaire et de la régression tumorale sous metformine. En revanche, il n'était pas noté de différence significative sur le downstaging tumoral et en termes de réponse complète (75).

Enfin, une étude prospective démontre à ce jour une activité de la metformine sur la carcinogenèse du cancer du côlon. Il s'agit d'un essai randomisé évaluant l'impact d'un traitement par metformine à faible dose (250 mg/j) sur les foyers de cryptes aberrantes. Après un traitement d'un mois, il était observé une diminution significative du nombre de foyers de cryptes aberrantes dans le bras metformine par rapport au bras contrôle (76). Cet effet clinique a été obtenu chez des non-diabétiques à faibles doses de metformine prouvant le concept de l'utilisation de la metformine en oncologie digestive.

Ces données cliniques bien qu'intéressantes demeurent néanmoins à valider dans des essais prospectifs.

#### 4. Repositionnement des molécules en oncologie

Le traitement du cancer fait actuellement face à un problème dont il s'était affranchi jusqu'à présent : le médico-économique.

Le coût des nouvelles immunothérapies crée actuellement un débat et a même récemment fait l'objet d'une pétition.

Tant que ces traitements étaient pris en charge par les laboratoires dans des études cliniques et ne concernaient qu'un nombre restreint de malades, le problème de la dépense de santé ne s'était pas posé. Les résultats prometteurs de ces immunothérapies questionnent sur la possibilité de la généralisation de ces traitements, de leur rapport coût-efficacité et sur le coût sociétal de ceux-ci.

Dans un contexte de réduction des dépenses de santé, le repositionnement de molécules anciennes en tant qu'antinéoplasiques présente donc un intérêt non négligeable. Un traitement annuel par metformine à la dose utilisée dans notre étude coûterait 103,2 euros ce qui ne suffit pas à payer une seule perfusion d'ipilimumab ou de nivolumab. À ce jour, comparer l'efficacité de la metformine par rapport à celle des immunothérapies peut sembler irréaliste, mais en termes de santé publique et de qualité de vie, la question mérite d'être étudiée.

D'autre part, l'utilisation de molécules connues, aux toxicités étudiées dans d'autres indications permet un développement rapide d'études cliniques dont les risques encourus par le patient sont limités ce qui contraste avec les toxicités lourdes des antinéoplasiques y compris les immunothérapies. Certains essais se sont d'ailleurs intéressés à l'association de la metformine avec de la chimiothérapie conventionnelle et montrent une excellente tolérance. Les mécanismes décrits de la metformine suggèrent à l'heure une potentialisation des effets des autres thérapeutiques, donnant l'espoir pour un coût modeste de l'optimisation de l'index thérapeutique.

D'autres molécules telles que l'aspirine ou les statines sont également étudiées en ce sens. Cependant, le repositionnement de ces molécules doit se faire au sein d'études cliniques afin d'identifier les mécanismes sous-jacents aux effets constatés dans les cohortes.

## **V. Objectif**

En raison des données de chimio- et de radiosensibilisation de la metformine, ainsi que de son action antinéoplasique sur des lignées cellulaires de cancer colorectal, nous faisons l'hypothèse que la metformine permettrait d'augmenter l'efficacité d'une radiochimiothérapie néoadjuvante dans les tumeurs du rectum localement avancées.

L'objectif principal de cette étude sera donc d'étudier l'efficacité de la metformine en association à une radiochimiothérapie adjuvante dans les tumeurs du rectum localement avancées. Les objectifs secondaires seront d'étudier la tolérance de cette association thérapeutique et d'identifier des facteurs prédictifs de réponse.

## MATERIELS ET METHODES

Cette étude présente les résultats préliminaires d'une étude interventionnelle, médicamenteuse, multicentrique, de phase II qui évalue l'efficacité de la Metformine associée à la radiochimiothérapie dans les cancers du rectum localement avancés.

### I. Critères d'inclusion

Tous les critères étaient nécessaires pour l'inclusion.

- Patient présentant un adénocarcinome du bas ou du moyen rectum
- De stade T3 ou T4 (T évalué par IRM et/ou écho-endoscopie)
- Absence de métastase à distance
- Relevant d'une radiochimiothérapie
- Conditions hématologiques correctes : Neutrophiles  $\geq 1500$  G/L, plaquettes  $\geq 100\ 000$  G/L
- Âge  $\geq 18$  ans
- Performance Status (OMS)  $\leq 2$
- Lactatémie  $\leq$  Norme supérieure du laboratoire de prélèvement
- Pour les femmes en âge de procréer, une méthode de contraception est obligatoire pendant toute la durée de l'étude
- Bénéficiant d'un régime de Sécurité sociale
- Consentement éclairé et signé par le patient avant la mise en place de toute procédure spécifique à l'étude
- Consentement éclairé et signé avant la mise en place de toute procédure spécifique à l'étude.

## II. Critères de non-inclusion

Un seul critère était suffisant pour la non-inclusion :

- Autres histologies telles que les carcinomes épidermoïdes, tumeurs neuroendocrines, mélanomes...
- Antécédent d'acidose lactique
- Antécédent de diabète (selon la définition OMS glycémie à jeun  $> 1,26 \text{ g.L}^{-1}$ )
- Prise actuelle d'une médication antidiabétique telle que :
  - o Biguanides, sulfamides hypoglycémiants, glinides, analogue du GLP-1, gliptines, inhibiteurs de l'alphaglycosidase
  - o Insuline ou Analogues de l'insuline
- Hypersensibilité à la capécitabine ou à l'un des excipients, ou au fluorouracile
- Antécédents de réactions sévères et inattendues à un traitement contenant une fluoropyrimidine
- Patient présentant un déficit connu à la dihydropyrimidine déshydrogénase (DPD)
- Hypersensibilité à la Metformine ou à l'un des excipients
- Insuffisance rénale ou altération de la fonction rénale (clairance de la créatinine  $< 60 \text{ ml/min}$ )
- Infection sévère
- Maladie aiguë ou chronique pouvant entraîner une hypoxie tissulaire, telle que :
  - o Insuffisance cardiaque ou respiratoire ou infarctus du myocarde récent  $< 6$  mois
  - o Insuffisance hépatique, intoxication alcoolique aiguë, alcoolisme
  - o Incapacité psychiatrique à donner son consentement.
- Contre-indications à la radiothérapie et/ ou à la chimiothérapie
- Traitement par la sorivudine ou ses analogues chimiquement apparentés, tel que la brivudine
- Patient sous tutelle ou curatelle
- Femme enceinte ou allaitante

### III. Bilan d'inclusion et de suivi des patients

Les patients éligibles pour l'essai et ayant signé leur consentement de participation ont subi un bilan initial dans les 3 semaines qui précédaient le début du traitement. Parallèlement, les antécédents pertinents ainsi que l'histoire de la maladie et les traitements en cours étaient notés.

#### A. Bilan d'inclusion

Bilan d'inclusion	Détail – Commentaires
<p><b>Examen clinique</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Histoire de la maladie, principaux antécédents, traitements antérieurs</li> <li>• Examen clinique complet avec appréciation de l'état général (Performance Status – Annexe 2)</li> <li>• Poids, taille</li> <li>• Examen cardiologique si cliniquement indiqué</li> </ul>	14 jours avant début du traitement
<p><b>Examens de laboratoire</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• NFS, plaquettes, ASAT-ALAT, Bilirubine totale, Phosphatases alcalines, urée, créatinine, clairance à la créatinine (formule de Cockcroft-Gault)</li> <li>• Lactatémie</li> <li>• Insulinémie et glycémie à jeun, index d'insulinorésistance HOMA-IR (Annexe 3)</li> <li>• Marqueurs ACE</li> </ul>	7 jours avant début du traitement
<p><b>Examens paracliniques</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• IRM rectale</li> <li>• Écho-endoscopie</li> <li>• Scanner TAP</li> <li>• Coloscopie complète</li> </ul>	<p>&lt; 6 semaines avant début du traitement</p> <p>Si tumeur franchissable</p> <p>&lt; 6 semaines avant début du traitement</p> <p>Si tumeur franchissable, sinon réalisée après le traitement</p>

## B. Bilan en cours et fin de traitement

Bilan	Détail - Commentaires
<p><b>Examen clinique</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Examen clinique complet avec appréciation de l'état général (Performance Status – Annexe 2)</li> <li>• Poids</li> <li>• Recueil des effets secondaires liés à la Metformine</li> </ul>	<p>1 fois par semaine Puis 3 semaines après la fin de la radiochimiothérapie</p>
<p><b>Examens de laboratoire</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• NFS, Plaquettes, urée, créatinine, clairance à la créatinine (formule de Cockcroft-Gault)</li> </ul>	<p>1 fois par semaine</p>

## C. Bilan avant la chirurgie

Bilan	Détail - Commentaires
<p><b>Examen clinique</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Examen clinique complet avec appréciation de l'état général (Performance Status – Annexe 2)</li> <li>• Poids</li> <li>• Recueil des effets secondaires liés à la Metformine</li> </ul>	<p>&lt; 7 jours avant la chirurgie</p>
<p><b>Examens paracliniques</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• IRM rectale</li> </ul>	<p>&lt; 5 semaines avant la chirurgie</p>

## D. Bilan de sortie d'étude

Bilan	Détail - Commentaires
Examen clinique complet avec appréciation de l'état général (Performance Status – Annexe 2) Poids Recueil des effets secondaires liés à la Metformine	30 jours après la chirurgie Récupération du carnet patient et des boîtes de traitements utilisées.

## IV. Critères d'évaluation

### A. Évaluation de l'efficacité

#### 1. Critère de jugement principal

L'efficacité était jugée sur la pièce opératoire par le taux de réponse histologique complète (absence de cellules tumorales: pCR) évaluée selon la classification de Mandard(11).

#### 2. Critères de jugement secondaires

L'efficacité a été également été appréciée sur deux critères :

- Taux de préservation sphinctérienne = nombre de patients avec préservation sphinctérienne / nombre de patients opérés
- Taux de downstaging = défini comme le taux de stade 0 ou I après l'examen anatomopathologique (classé ypT0-2N0M0).

### B. Évaluation de la tolérance

La radiochimiothérapie et la chirurgie sont les traitements standards des cancers rectaux. Ils ne sont pas considérés comme expérimentaux. La toxicité liée à la Metformine a été évaluée et jugée selon l'échelle NCI-CTCAE v4.0.

Afin de ne pas méconnaître des toxicités, l'ensemble des effets secondaires présentés par les patients a été rapporté.



## C. Facteurs prédictifs de réponse au traitement

Une analyse en sous-groupe sera effectuée dans l'étude finale afin de rechercher des facteurs prédictifs de réponse à la metformine. Les facteurs suivants seront analysés :

- Index HOMA-IR
- Compte absolu de lymphocytes
- Rapport neutrophile/Lymphocytes
- Rapport lymphoplaquettaire

Ils ont en effet été rapportés comme facteur de réponse à la metformine ou à la radiochimiothérapie néoadjuvante.

## V. Analyse statistique et détermination du nombre de patients

### A. Détermination du nombre de sujets

Nous présentons ici les résultats des 16 premiers patients inclus dans l'étude METCAP. L'étude finale est un essai clinique de phase 2 bâtie sur un design de Minimax-Simon à 2 étapes avec  $p_0=0,15$ ,  $p_1=0,30$ ,  $\alpha=0,10$  et  $\beta=0,10$ . Elle inclura 53 patients. Les règles de décision permettent de considérer l'association thérapeutique comme prometteuse si au moins 12 parmi 53 patients sont en pCR à la suite de la chirurgie. En tenant compte des patients inévaluables, le nombre de sujets inclus sera de 60 patients pour 53 évaluable.

La durée du recrutement est estimée à 18 mois, 5 patients par centre participant.

### B. Analyse statistique

Les caractéristiques démographiques, cliniques et biologiques sont présentées par des statistiques descriptives au moyen de fréquence et pourcentages pour les variables catégorielles, et par des médianes et étendues pour les variables continues. L'efficacité en termes du taux de pCR est présentée par un taux de succès associé avec un intervalle de confiance unilatéral de 90% en concordance avec le risque de première espèce du design (risque  $\alpha$ ).

Le taux de préservation sphinctérienne et le taux de downstaging sont présentés avec un intervalle de confiance à 95%. La tolérance en termes du taux de toxicités globales de grade 3-4 est présentée par un taux associé avec un intervalle de confiance de 95%. Les toxicités sont présentées selon les catégories SOC de la nomenclature MEDRA.

### **C. Data Management**

Le data-management a été réalisé par l'Unité de Méthodologie et de Biostatistique (UMB) du Centre Oscar Lambret.

Une base de données spécifique à l'étude a été créée, testée et validée avant le début de la saisie. Cette base de données a été développée à l'aide de Clinsight (ENNOV), qui est un progiciel conçu pour la gestion globale des études cliniques, et répondant aux exigences réglementaires liées à ce type d'étude. Un plan de validation des données a été élaboré et décrit de manière détaillée les contrôles à exécuter pour chaque variable ainsi que la liste des corrections évidentes autorisées. Les données indispensables nécessaires à la surveillance du rapport bénéfice/risque ont été identifiées et gérées au fur et à mesure tout au long de l'étude en lien avec le coordonnateur et la cellule promotion.

Les cahiers d'observation ont été vérifiés lors de leur réception et ont fait l'objet d'une simple saisie.

Les données ont été contrôlées par l'équipe responsable du data management en utilisant les messages d'erreur provenant des programmes de validation. Les erreurs évidentes seront corrigées. Les autres erreurs, omissions ou incohérences sont mentionnées sur des formulaires de demande de correction (DCF) qui sont adressés au médecin investigateur pour résolution. Lorsque l'UMB reçoit la réponse du médecin investigateur, les corrections sont incluses dans la base de données. Un plan d'analyse statistique a été établi en collaboration avec le data-manager, le coordonnateur et la cellule promotion. La base de données a été gelée après contrôle de qualité final, puis exportée vers le logiciel de statistique STATA selon une procédure automatisée et validée.

## **VI. Traitements**

Le schéma expérimental de l'étude est résumé en Annexe 4.

### **A. Metformine**

La Metformine est commencée 48 heures après le scanner de dosimétrie afin de respecter le délai par rapport à l'injection de produit de contraste.

Elle est commencée pendant au moins une semaine à la dose de 1700 mg/jour soit 850 mg matin et soir pendant 7 jours. Le jour de début de la radiochimiothérapie, elle est augmentée à 2550 mg / jour soit 850 mg trois fois par jour jusqu'à 48 avant la chirurgie.

La metformine, utilisée pour cette étude, est fournie par le promoteur. Elle est étiquetée conformément aux bonnes pratiques de fabrication des médicaments expérimentaux.

### **B. Radiochimiothérapie**

#### **1. Radiothérapie**

La radiothérapie sera délivrée par photonthérapie de haute énergie (6-20MV) sur accélérateur linéaire par radiothérapie conformationnelle ou par radiothérapie conformationnelle par modulation d'intensité. Elle est délivrée 5 jours sur 7 pendant 5 semaines.

Les volumes de traitement ont été délinés sur Tomodensitométrie avec injection de produit de contraste. L'acquisition a été réalisée en coupes jointives de 3 mm de L5-S1 jusqu'aux petits trochanters. Celle-ci a été réalisée en décubitus dorsal ou ventral selon les habitudes du centre.

Les volumes de traitement sont définis ainsi (77) :

- **GTV (Gross tumor volume)** : volume tumoral macroscopique comprenant le GTVt correspondant à la tumeur primitive et le GTVn correspondant aux adénopathies considérées comme envahies sur le bilan initial. Les données cliniques (TR), d'IRM et endoscopiques ont permis de le délimiter au mieux.

- **CTV (Clinical tumor Volume)** : volume d'extension tumoral microscopique, il comprend :

- Les aires ganglionnaires iliaques internes de la bifurcation iliaque jusqu'aux trous obturateurs.
- L'aire ganglionnaire pré sacrée et les aires péri rectales.
- Le mésorectum : sa limite supérieure délimitée doit être soit au minimum à 2 cm au-dessus de la limite supérieure du GTV soit en niveau de la charnière rectosigmoïdienne en regard de S2-S3. La limite inférieure est située au minimum à 2 cm en dessous du pôle inférieur de la tumeur et doit au mieux exclure le canal anal. En cas de tumeur située à moins de 6 cm de la marge anale ou d'amputation abdominopérinéale programmée, le volume devra également comprendre les fosses ischio rectales et inclure le canal anal.

- **PTV: (Planned target volume):**

PTV1: CTV + 1 cm

PTV2 : GTVt et GTVn + 1 cm

Les deux volumes de traitement pouvaient être traités de manière séquentielle ou concomitante :

- En cas de traitement séquentiel, il a été délivré 44Gy en 22 fractions de 2Gy au PTV1 puis 6 Gy en 3 fractions de 2Gy au PTV2.

- En cas de traitement concomitant, il a été délivré 50Gy en 25 fractions de 2Gy au PTV2 et 45Gy en 25 fractions de 1,8Gy au PTV1.

## 2. Chimiothérapie

La capécitabine était commencée en même temps que la radiothérapie et poursuivie durant les 5 semaines. 5 jours sur 7 : Capécitabine 800 mg/m<sup>2</sup> 2 fois/jour (matin et soir), soit 1600 mg/m<sup>2</sup>/jour

### 3. Adaptation du traitement en fonction des toxicités

Toxicité grade NCI	Capécitabine		Metformine		Radiothérapie
	Arrêt	Modification de dose	Arrêt	Modification de dose	
1	non	Non	Non	Non	Poursuivre
2	1 <sup>er</sup> épisode -> oui, jusqu'à grade ≤ 1	600 mg/m <sup>2</sup> matin et soir	1 <sup>er</sup> épisode Oui, jusqu'à grade ≤ 1	1700 mg/jour	Poursuivre
	2 <sup>ème</sup> épisode -> oui, jusqu'à grade ≤ 1	400 mg/m <sup>2</sup> matin et soir	2 <sup>ème</sup> épisode Oui, jusqu'à grade ≤ 1	1000 mg/jour	Poursuivre
	3 <sup>ème</sup> épisode Arrêt définitif	-	3 <sup>ème</sup> épisode Arrêt définitif	-	Poursuivre
3	Comme pour un grade 2	-	Comme pour un grade 2	-	Si diarrhées, arrêter jusqu'à grade ≤ 2
4	Arrêt définitif ou jusqu'à grade ≤ 1	-	Arrêt définitif ou jusqu'à grade ≤ 1	-	
Angor, infarctus	Arrêt définitif	-	-	-	Poursuivre

### C. Chirurgie

Elle était réalisée 6 à 8 semaines après la fin de la radiochimiothérapie et a consisté en une exérèse tumorale avec exérèse totale du mésorectum.

En fonction, de la localisation de la tumeur a été réalisée :

- Une résection antérieure avec anastomose colorectale basse ou coloanale ou résection intersphinctérienne
- Une amputation abdominopérinéale

Elle a été laissée à l'appréciation du chirurgien en accord avec les recommandations de la FFCD.

## D. Analyse histopathologique

La pièce de résection rectale (résection antérieure avec exérèse totale du mésorectum ou amputation abdominopérinéale) devait être adressée au laboratoire d'anatomie pathologique au mieux à l'état frais ou le cas échéant fixée dans le formol 10% (ou à défaut un fixateur compatible avec d'éventuelles analyses moléculaires complémentaires, ex : mutation k-Ras...) après avoir été épinglée sur un support rigide (liège) sous faible tension par le chirurgien. Il était préférable de ne pas ouvrir la pièce pour garder l'intégrité du mésorectum et ne pas fausser l'appréciation de celui-ci. L'état du mésorectum devait être apprécié selon la classification proposée par Phil Quirke. Les dimensions de la pièce, de la tumeur et la distance tumeur/limite pariétale longitudinale la plus proche (le plus souvent la limite distale) doivent également être notées lors de l'examen macroscopique. Une compresse est glissée dans la lumière rectale pour optimiser la fixation de la pièce. La pièce ainsi conditionnée doit être épinglée à nouveau pour une fixation minimale de 72h. Une fois la pièce fixée, la surface du mésorectum (ou fascia recti) est encrée avant découpe de la pièce. La zone tumorale est débitée en tranches macroscopiquement sériées (tous les 3 à 5 mm). Ces tranches tumorales peuvent également être photographiées puisqu'elles illustrent l'état du mésorectum dans son épaisseur. Si le reliquat tumoral mesure plus de 3 Cm de grand axe, 5 niveaux de coupe illustrant l'infiltration maximale de la tumeur dans la paroi et ses rapports les plus étroits avec le fascia recti encré sont sélectionnés. Les tranches résiduelles sont regroupées dans une compresse et remises dans le formol afin de faciliter la reprise éventuelle de la pièce pour analyse de niveaux de coupe complémentaires. Si le reliquat tumoral mesure moins de 3 cm de grand axe il est inclus en totalité en cassette standard +/- 1 à 2 mégacassettes (optionnel) en gardant le mésorectum en regard afin de pouvoir mesurer la marge circonférentielle au microscope. Aucune évaluation de réponse complète (ypT0N0) ne doit être réalisée sans inclusion totale du reliquat tumoral, quelle que soit sa taille. Tous les ganglions isolés sur la pièce doivent être inclus en totalité et en bloc séparé. Tout ganglion situé à moins de 10 mm du fascia recti encré doit être prélevé en monobloc avec le mésorectum attendant. Les limites longitudinale et distale doivent également être isolées.

Le compte rendu sera réalisé à l'aide du compte rendu standardisé fourni en Annexe 5.

## VII. Sortie d'étude

La sortie d'étude protocolaire s'effectue 30 jours après la date de chirurgie.

Les raisons de sortie prématurée d'étude sont :

- Progression rapide de la maladie
- Décision du patient
- Décision de l'investigateur
- Décès du patient

## VIII. Surveillance ultérieure

La surveillance après la sortie d'étude des patients est assurée selon les recommandations de la FFCD et inclut notamment :

- Examen clinique tous les 3-4 mois.
- Échographie abdominale tous les 3-4 mois pendant 2 ans puis tous les 6 mois pendant 3 ans.
- Radio de thorax tous les ans pendant 5 ans.
- Coloscopie à 3 ans puis délai fonction de la découverte ou non d'adénomes.
- Un TDM TAP peut être réalisé en alternance avec l'échographie abdominale.

## IX. Démarches réglementaires

Cette étude a été enregistrée sous le numéro EUDRA-CT : 2014-003687-20.

Elle a reçu un avis favorable du Comité de Protection des Personnes Nord Ouest le 13 février 2015 et de l'agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé le 13 mars 2015.

## X. Centres participants

La liste des centres participants est détaillée ci-dessous :

Centre	Investigateur principal
Centre Oscar Lambret Lille	Dr X. MIRABEL
Clinique du Bois Lille	Dr S. DEWAS
Centre Galilée Lille	Dr O. OLSZYK
Centre Gray Maubeuge	Dr L. GILBEAU
Centre Hospitalier Lens	Dr M. TOKARSKI
Clinique des Dentellières Valenciennes	Dr N. BLANCHARD
Centre Pierre Curie Beuvry	Dr JB. PREVOST
Centre Marie Curie Arras	Dr A. HENNI
Centre Léonard de Vinci Dechy	Dr D. CARLIER
Centre Joliot-Curie Boulogne	Dr AC. COURTECUISSÉ-DEGREDEL
Institut Andrée Dutreix Dunkerque	Dr L. BOUTAUD DE LA COMBE - CHOSSIERE



## RESULTATS

Nous présentons ici les résultats des 16 premiers patients inclus dans l'étude METCAP

### I. Caractéristiques initiales

#### A. Données cliniques.

Les caractéristiques cliniques initiales sont synthétisées dans le tableau 3.

À l'inclusion, 10 patients présentaient des rectorragies, 4 des diarrhées, 1 une constipation, 2 de faux besoins, 2 une anémie, 1 une proctalgie et 1 une perte de poids

**Tableau 3: Caractéristiques des patients à l'inclusion**

Sexe		
N=16		
Féminin	10	63%
Masculin	6	38%
Âge		
Médiane - (Intervalle)	70	(50-85)
Moyenne - SD	69	9
Poids (kg)		
Médiane - (Intervalle)	77,5	(45-125)
Moyenne - SD	79,3	24
IMC (kg/m <sup>2</sup> )		
Médiane - (Intervalle)	28,4	(18,3-40,9)
Moyenne - SD	28,8	7,3
PS		
0	11	69%
1	4	25%
2	1	6%
Centre d'inclusion		
Centre Oscar Lambret	5	31%
Centre Pierre Curie	4	25%
Clinique des Dentellières	3	19%
Centre Gray	2	13%
Centre Galilée - Hôpital Privé La Louvière	1	6%
Centre Marie Curie	1	6%

## B. Caractéristiques tumorales

La totalité des tumeurs était des adénocarcinomes. 12 patients étaient classés cT3N+, 3 patients cT3N0 et un patient, cT4N0. Au total, 12 patients étaient de stade III selon l'UICC et 4 de stade II. L'ensemble des caractéristiques tumorales est présenté dans le tableau 4.

**Tableau 4 : Caractéristiques tumorales initiales**

<b>Type histologique</b>		
Adénocarcinome lieberkühnien	16	100
<b>Localisation</b>		
Bas rectum	7	0,44
Moyen rectum	9	0,56
<b>Différenciation</b>		
Bien différencié	8	50%
Moyennement différencié	4	25%
Grade 3	1	6,25%
Manquant	3	18,75%
<b>Stade cT</b>		
cT3	15	94%
cT4	1	6%
<b>Stade cN</b>		
cN0	4	25%
cN1-2	12	75%
<b>Taille IRM</b>	<b>n=15</b>	
Médiane (Intervalle)	60	(38-100)
Moyenne-SD	60,2	16,2

### **C. Données biologiques**

Les données biologiques à l'inclusion sont détaillées dans le tableau 5

Aucun patient n'était diabétique. (Glycémie à jeun  $\leq 1,26 \text{ g.L}^{-1}$ )

3 patients présentaient une clairance  $< 60 \text{ ml/min}$  en utilisant la formule de Cockcroft, mais  $> 60 \text{ ml/min}$  en utilisant la formule MDRD, plus fiable chez les patients âgés. Ces patients ont été inclus avec une déviation mineure du protocole.

**Tableau 5 : Données biologiques à l'inclusion**

Hématologie			Biochimie					
<b>Hémoglobine (g/dL)</b>			<b>Lactatémie (mmol/L)</b>			<b>ASAT (UI/L)</b>		
Médiane - (Intervalle)	12,9	(9.9-16.7)	Médiane - (Intervalle)	1,1	(0.7-2.3)	Médiane - (Intervalle)	16	(14-21)
Moyenne - SD	13,3	1,9	Moyenne - SD	1,2	0,4	Moyenne - SD		
<b>Neutrophiles (G/L)</b>			<b>Insulinémie (/L)</b>			<b>ALAT</b>		
Médiane - (Intervalle)	4,3	(2.5-7)	Médiane - (Intervalle)	10,9	(3-25)	Médiane - (Intervalle)	15	(9-28)
Moyenne - SD	4,6	1,4	Moyenne - SD	9,9	5,8	Moyenne - SD	16	5,8
<b>Lymphocytes (G/L)</b>			<b>Glycémie à jeun (g/L)</b>			<b>Bilirubine totale (µmol/L)</b>		
Médiane - (Intervalle)	1,6	(1.2-2.7)	Médiane - (Intervalle)	1	(0.9-1.2)	Médiane - (Intervalle)	7.4	(3.1-12)
Moyenne - SD	1,7	0,4	Moyenne - SD	1	0,1	Moyenne - SD	7.7	2.6
<b>Plaquettes (G/dL)</b>			<b>Index HOMA-IR (g/dl)</b>			<b>Créatinine (µmol/L°)</b>		
Médiane - (Intervalle)	2,4	(1.4-4.1)	Médiane - (Intervalle)	2,5	(0.7-7)	Médiane - (Intervalle)	69	(46-113.°)
Moyenne - SD	2,7	0,8	Moyenne - SD	2,4	1,6	Moyenne - SD	74.7	19.3
<b>Rapport Neutrophiles/ Lymphocytes</b>			<b>ACE (µg/L)</b>			<b>Clairance de la créatinine (ml/min)</b>		
Médiane - (Intervalle)	2,4	(1.4-4.1)	Médiane - (Intervalle)	2,9	(0.5-86.6)	Médiane - (Intervalle)	82.5	(42.4-151.7)
Moyenne - SD	2,7	0,8	Moyenne - SD	8,9	21	Moyenne - SD	91.2	33.6

SD : Déviation standard, ACE : Antigène carcinoembryonnaire, HOMA-IR : Homeostasis model assessment of insulin resistance

## II. Caractéristiques du traitement

### A. Radiothérapie

La radiothérapie a été délivrée en radiothérapie conformationnelle 3D pour 4 patients (25%) et en radiothérapie conformationnelle par modulation d'intensité pour 12 patients (75%).

Les doses et fractionnements utilisés ont été détaillés dans le tableau 6.

Un arrêt de la radiothérapie a été nécessaire chez 4 patients pour une durée médiane de 4 jours (2-10). Les causes d'arrêt ont été une hospitalisation pour intoxication alimentaire et la survenue de diarrhées grade 3, les causes d'arrêt pour 2 patients ne sont pas connues.

**Tableau 6 : Caractéristiques du traitement par radiothérapie**

Dose prescrite au PTV 2 (Gy)		
Médiane (Intervalle)	50	(50-50,4)
D95% PTV1 (Gy)		
Médiane (Intervalle)	44,4	(40-48,7)
Moyenne SD	44,8	2,3
D95% PTV2 (Gy)		
Médiane (Intervalle)	48,6	(47,9-50,1)
Moyenne SD	48,9	0,7
Technique utilisée		
3D	4	25%
RCMI	12	75%
Nombre de fractions		
25	14	88%
28	2	13%
Étalement en jours		
Médiane (Intervalle)	36,5	(33-44)
Moyenne SD	37,4	3,4

SD : Déviation standard, PTV : planning target volume, Gy : Gray

## **B. Capécitabine**

La dose médiane initiale de capécitabine délivrée a été de 3000 mg (1300-3200). 4 patients ont eu une adaptation de dose au premier palier : 2 sur toxicité, 1 sur décision de l'investigateur et 1 pour une erreur initiale de posologie. Une deuxième adaptation de dose a été nécessaire chez 1 patient pour toxicité. Un arrêt temporaire d'une durée médiane de 7 jours (3-9) a été nécessaire chez 3 patients : 2 en raison de toxicités, 1 pour intoxication alimentaire. Il n'y a pas eu d'arrêt définitif du traitement.

## **C. Metformine**

Tous les patients ont reçu une dose de 2550 mg. 6 patients ont nécessité une adaptation de dose en raison de toxicité (38%). 6 patients ont arrêté le traitement temporairement. 5 patients (31%) ont arrêté définitivement le traitement de manière prématurée : 1 par choix de la patiente, 3 pour diarrhées (1 seule de grade 3) et 1 pour une cause inconnue. L'arrêt définitif le plus précoce a eu lieu 36 jours après le début du traitement.

## **D. Chirurgie**

L'ensemble des patients inclus a pu être opéré.

La chirurgie a été réalisée après un délai médian de 54,5 jours (40 jours-70 jours) après la radiothérapie. Elle a consisté en une résection antérieure avec anastomose colorectale pour 7 patients (44%) et une amputation abdominopérinéale pour 9 patients (56%). Les résultats anatomopathologiques sont détaillés ci-après dans le tableau 7.

### **III. Efficacité**

#### **A. Critère de jugement principal**

Une seule réponse histologique complète a été observée sur 16 patients ce qui correspond à un taux de pCR de 7%. Le détail des stades de régression tumoral est donné dans le tableau 7. En raison de l'unique pCR, nous n'avons pas effectué de recherche de facteurs pronostiques.

#### **B. Critères de jugement secondaire**

12 patients sont classés ypT0-2N0 sur l'examen anatomopathologique de la pièce opératoire. Cela correspond à downstaging de 75% (IC95% 48-93%)

88% des patients (12/16) ont présenté une régression du stade T et 83% des patients classés initialement cN+ sont classés pN0. Seuls deux patients sont classés pN1a.

1 patient passe de cT3 à pT0 ; 2 patients passent de cT3 à pT1 ; 10 patients passent de cT3 à pT2 ; 1 patient passe de cT4 à pT2. 2 patients étaient cT3 et restent pT3

Le taux de préservation sphinctérienne a été de 44% (7/16)

L'ensemble des résultats anatomopathologiques est présenté dans le tableau 7.

Nous avons recherché des facteurs prédictifs de downstaging par régression logistique univariée. Les facteurs suivants ont été testés : rapport neutrophiles/lymphocytes, nombre absolu de Lymphocytes à l'inclusion, Index HOMA-IR, taux d'ACE à l'inclusion, taille tumorale à l'IRM. Aucun de ces facteurs n'était significatif du taux de downstaging.

**Tableau 7 : Données anatomopathologiques**

<b>Mésorectum</b>		
Complet	11	79%
Presque complet	2	14%
Incomplet	1	7%
Manquant	2	
<b>Marge distale (mm)</b>		
	N=11	
Mediane - (Intervalle)	20	(2-80)
Moyenne - SD	27,5	22,1
Manquant	5	
<b>Résection</b>		
	N=16	
R0	15	38%
R1	0	0%
R2	1	6%
<b>Marge circonférentielle (mm)</b>		
	N=11	
Médiane - (Intervalle)	10	(0-40)
Moyenne - SD	13,8	12,1
Manquant	5	
<b>Nombre de ganglions prélevés</b>		
	N=16	
Médiane - (Intervalle)	10.5	(2-29)
Moyenne - SD	11.2	6.5
<b>Réponse histologique complète</b>		
	1	7%
<b>Stade ypT</b>		
ypT0	1	6,3
ypT1	2	12,5
ypT2	11	68,8
ypT3	2	12,5
<b>Stade ypN</b>		
N0	14	87,5
N1a	2	12,5
<b>Stade UICC</b>		
Stade I	12	75%
Stade II	2	12,5%
Stade III	2	12,5%
<b>TRG selon Mandard</b>		
TRG1 régression tumorale complète	1	7%
TRG2 rares résidus tumoraux (cellules) dans la fibrose	6	38%
TRG3 résidus tumoraux, fibrose reste prédominante	5	31%
TRG4 résidus tumoraux > fibrose	4	25%
<b>NAR score</b>		
Médiane - (Intervalle)	8,4	(0.9-20.4)
Moyenne - SD	9,4	5,7

TRG : Tumor regression grade, NAR score : Neoadjuvant rectal score



## IV. Tolérance

L'ensemble des toxicités présentées par les patients au cours du suivi sont présentées dans le tableau 8.

Les toxicités reliées au traitement de grade supérieur ou égal à 3 ont été :

Une diarrhée de grade 3 ayant amené à l'arrêt temporaire puis définitif de la metformine chez un patient, deux lymphopénies de grade 3 et une lymphopénie de grade 4 chez un patient.

Cinq événements indésirables sérieux sont survenus chez 3 patients. Les événements indésirables sérieux ont été une hospitalisation pour intoxication alimentaire entraînant une diarrhée de grade 2 et une déshydratation de grade 3, une hospitalisation pour subiléus de grade 3, et une hospitalisation pour altération de l'état général de grade 3 associée à une infection urinaire de grade 3. Aucun de ces événements n'a été attribué au traitement.

**Tableau 8 : Toxicités par type et par grade**

Toxicités par type N=16	Grade maximal par toxicité et par patient					Total G≥1	Total G≥3	% de G≥3	G≥3 relié au traitement par metformine
	G0	G1	G2	G3	G4				
<b>AFFECTIONS DE LA PEAU ET DU TISSU SOUS-CUTANÉ</b>									
Epithélite	11	4	1	0	0	5	0	0%	
Rash	15	1	0	0	0	1	0	0%	
Syndrome acral	15	1	0	0	0	1	0	0%	
<b>AFFECTIONS DU REIN ET DES VOIES URINAIRES</b>									
Azotémie	15	1	0	0	0	1	0	0%	
Cystite	13	3	0	0	0	3	0	0%	
Dysurie	14	2	0	0	0	2	0	0%	
Impériosité mictionnelle	15	0	1	0	0	1	0	0%	
Infection du tractus urinaire	14	0	1	1	0	2	1	7%	Non
Pollakiurie	14	1	1	0	0	2	0	0%	
<b>AFFECTIONS GASTRO-INTESTINALES</b>									
Abcès rectal	15	0	1	0	0	1	0	0%	
Constipation	14	2	0	0	0	2	0	0%	
<b>Diarrhée</b>	<b>1</b>	<b>6</b>	<b>8</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>15</b>	<b>1</b>	0%	<b>OUI</b>
Douleur abdominale	9	6	1	0	0	7	0	0%	
Dysgueusie	15	1	0	0	0	1	0	0%	
Dyspepsie	15	1	0	0	0	1	0	0%	
Faux besoins	15	1	0	0	0	1	0	0%	
Inflammation anale	12	3	1	0	0	4	0	0%	
Nausées	11	3	2	0	0	5	0	0%	
Proctalgie	14	1	1	0	0	2	0	0%	
Proctite	10	6	0	0	0	6	0	0%	
Selles glaireuses	15	0	1	0	0	1	0	0%	
Subileus	15	0	0	1	0	1	1	7%	Non
Vomissement	13	2	1	0	0	3	0	0%	
<b>AFFECTIONS HÉMATOLOGIQUES ET DU SYSTÈME LYMPHATIQUE</b>									
Anémie	8	6	2	0	0	8	0	0%	
Leucopénie	13	2	1	0	0	3	0	0%	
<b>Lymphopénie</b>	<b>7</b>	<b>1</b>	<b>4</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>9</b>	<b>4</b>	<b>25%</b>	<b>OUI</b>
Neutropénie	14	1	1	0	0	2	0	0%	
Thrombopénie	13	2	1	0	0	3	0	0%	
<b>AFFECTIONS MUSCULO-SQUELETTIQUES ET SYSTÉMIQUES -</b>									
Arthralgie	15	0	1	0	0	1	0	0%	
<b>AFFECTIONS PSYCHIATRIQUES</b>									
Trouble du sommeil	14	1	1	0	0	2	0	0%	
<b>TROUBLES DU MÉTABOLISME ET DE LA NUTRITION</b>									
Anorexie	13	2	1	0	0	3	0	0%	
Déshydratation	15	0	0	1	0	1	1	7%	Non
Hypoalbuminémie	15	0	1	0	0	1	0	0%	
Hypokaliémie	15	0	0	1	0	1	1	7%	Non
Hyponatrémie	15	0	0	0	1	1	1	7%	Non
Perte de poids	14	1	1	0	0	2	0	0%	
<b>TROUBLES GÉNÉRAUX ET ANOMALIES AU SITE D'ADMINISTRATION</b>									
Asthénie	9	4	3	0	0	7	0	0%	
Détérioration générale de l'état de santé	15	0	0	1	0	1	1	7%	Non

## DISCUSSION

### I. Résultats

#### C. Efficacité

Les résultats préliminaires de l'étude METCAP ne sont pas en faveur de l'amélioration du taux de réponse complète après radiochimiothérapie néoadjuvante dans les cancers du rectum. Ces résultats bien que devant être pris avec prudence, car préliminaires, sont cohérents avec la publication de *Oh et al.* qui montrait que la metformine permettait d'augmenter le taux de bons répondeurs à la radiochimiothérapie néoadjuvante, mais pas le taux de réponse histologique complète (75). Le taux observé de 6,5 % est cependant inférieur aux taux observés dans la littérature pouvant varier entre 7,5 et 30%.

Plusieurs explications peuvent être évoquées pour expliquer ces résultats.

La première est qu'une diminution de la prolifération cellulaire induit une diminution de la réponse à la radiothérapie. La mort cellulaire prédominante après radiothérapie est la mort mitotique. Celle-ci survient après une ou plusieurs mitoses. La réduction de la prolifération cellulaire induite par la metformine pourrait donc induire un allongement du délai nécessaire à la survenue de la mort cellulaire. Dans ce cas, le taux de réponse histologique complète sera diminué au moment de la chirurgie, mais les taux de survie sans maladie et de survie globale devraient être améliorés. Il est possible que cela puisse expliquer les données contradictoires qui existent quant à l'allongement du délai entre chirurgie et radiothérapie et qui ne tiennent pas compte de la vitesse de prolifération cellulaire initiale de la tumeur.

Alors qu'il serait intuitivement logique qu'une tumeur à croissance rapide soit de plus mauvais pronostic, plusieurs études ont montré un lien entre un haut taux de marqueurs de prolifération tels que le Ki-67 ou EZH2 et une bonne réponse à la radiochimiothérapie (78–80). Un haut taux d'apoptose spontanée est également retrouvé au sein de ces tumeurs suggérant une absence de mutation TP53 ou du moins une protéine p53 fonctionnelle (81). Ce haut taux de prolifération peut être en rapport avec des tumeurs peu avancées. Les tumeurs évoluées ont effet tendance à devenir hypoxiques et ont de moins en moins de cellules en prolifération. Cela explique en partie leur résistance à la radiothérapie (82).

La deuxième hypothèse à ce phénomène est qu'une diminution de la prolifération permet une meilleure réparation des dommages à l'ADN radio-induits. Dans ce cas, le

pronostic de la maladie devrait être mauvais. Cependant, la metformine a montré *in vitro* une inhibition des mécanismes de réparation de l'ADN. Le suivi des patients et leurs données de survie permettront à terme de s'orienter vers l'une ou l'autre des hypothèses.

Le défaut d'efficacité de la metformine sur le taux de réponse histologique complète peut également être lié au fait que nous l'avons étudié chez des non-diabétiques. Il est rationnel de penser que la carcinogenèse chez les diabétiques est différente des non-diabétiques notamment en raison des hyperglycémies, des taux d'insuline circulante et d'IGF-1 plus élevés chez les diabétiques de type 2. Dans notre cohorte, l'indice HOMA-IR qui reflète l'insulinorésistance était en médiane de 2,5. Ce taux est faible par rapport à une population diabétique et l'on peut faire l'hypothèse que les voies de proliférations liées au récepteur de l'insuline et de l'IGF-1 n'étaient pas les voies prédominantes au sein des tumeurs de nos patients. Il reste cependant élevé par rapport à la population générale (norme < 2,25) et donc n'élimine pas une action de la metformine via cette voie, d'autant plus que l'insulinémie était élevée chez certains patients. Cela n'exclut en revanche pas les autres mécanismes d'action de la metformine, mais expliquerait la différence observée en termes de réponse complète entre notre série et les résultats de l'étude de *Skinner et al.* qui retrouvait 35% de réponses complètes chez des diabétiques (74). Si la metformine n'agissait que via cette voie, elle ne devrait pas avoir d'action dans la carcinogenèse du cancer colorectal chez des non-diabétiques. Pourtant l'essai d'*Higurashi et al.* a récemment montré que la metformine à faible dose (250 mg/jour) permettait de prévenir la récurrence d'adénome chez des non-diabétiques (83). Ce résultat plaide en faveur de l'utilisation de la metformine même chez des non-diabétiques.

Enfin, il est possible que ce taux soit en relation le volume tumoral prétraitement. Or une taille de moins de 5 cm a été retrouvée comme un facteur prédictif de pCR (84). On note dans notre série une taille médiane de 60 mm (38-100) sur l'IRM pré radiochimiothérapie. Cette taille est plus élevée par exemple que celle retrouvée dans l'essai de *Garcia-Aguilar et al.* qui retrouvait un taux de pCR de 38% grâce à l'ajout de mFolfox6 après la radiochimiothérapie (85). La différence de pCR entre cette série peut également être liée au délai entre la radiochimiothérapie et la chirurgie qui était de 26 semaines dans le groupe recevant 6 cycles de mFolfox6.

Un de nos critères de jugement d'efficacité secondaires était le taux de downstaging tumoral. Il a effet été corrélé à un meilleur pronostic dans de nombreuses séries.

*Valentini et al.* rapportaient ainsi dans une série rétrospective un meilleur contrôle et une meilleure survie globale pour les stades ypT0-ypT2ypN0 indépendamment de leur stade clinique initial (86). *Rullier et al.*, qui ont comparé plusieurs classifications évaluant la régression tumorale chez 292 patients atteints de cancer localement avancés, ont ainsi montré que si toutes les classifications étaient prédictives de la survie en analyse univariée, seul le downstaging tumoral l'était en analyse multivariée (87). Dans notre étude, 87,5% des patients ont présenté un downstaging du stade ypT par rapport au stade cT. Ce taux est très élevé par rapport à ce qu'on retrouve dans la littérature. Ainsi, dans le récent essai de *Rödel et al.*, seuls 25% des patients étaient classés en stade I de l'UICC après une radiochimiothérapie néo adjuvante contre 75% dans notre série. Il semble donc que, bien que dans notre série le taux de réponse histologique complète soit plus faible, plus de patients ont présenté une réponse à la radiochimiothérapie néoadjuvante (29). Cela interroge sur la pertinence de l'utilisation du taux de pCR comme critère de jugement principal.

Cette question est centrale dans l'évaluation des thérapies néo-adjuvantes des cancers du rectum. Les essais cliniques de phase II, y compris celui-ci, cherchent une preuve d'efficacité thérapeutique précoce en se basant sur un critère de substitution : le taux de réponse histologique complète. Ce taux a été corrélé à un meilleur pronostic dans les séries historiques. Bien que certaines thérapies aient permis d'augmenter ce taux dans des études de phase II, elles ont toutes échoué à démontrer un bénéfice en survie sans maladie et en survie globale dans les essais de phase III. Les thérapies cytostatiques peuvent agir en modifiant la durée de cycle cellulaire et donc fausser l'évaluation de ce critère de jugement en retardant la réponse histologique. Des molécules n'ayant pas permis d'augmenter ce taux de réponse, telles que le cetuximab n'ont pas poursuivi leur développement dans des études de phase III. Pourtant l'essai EXPERT-C, qui a randomisé des patients atteints de cancers rectaux localement avancés entre une radiochimiothérapie (capécitabine et oxaliplatine) avec et sans cetuximab, montrait un bénéfice statistiquement significatif en survie globale à 3 ans en faveur du bras avec cetuximab. Ce bénéfice n'était plus significatif à 5 ans, mais le critère de jugement principal de l'étude était le taux de réponse histologique complète qui était de 9% avec le cetuximab (88). Une étude utilisant le bevacizumab et construite sur le même design que la nôtre retrouvait un taux de pCR de 7,5% pour un taux de downstaging de 75%. Les survies sans maladie et globale à 4 ans étaient

respectivement de 85,4% et 92,7%, malgré un taux de pCR plus bas qu'avec une radiochimiothérapie seule (89).

Le mode d'action de la metformine peut être assimilé à un cytostatique et il n'est donc pas surprenant d'obtenir des résultats comparables.

Nous observons également un haut taux de stérilisation ganglionnaire. Sur les 12 patients présentant initialement une atteinte ganglionnaire, seuls deux ont des ganglions métastatiques sur la pièce opératoire. Cela équivaut à un taux de downstaging ganglionnaire de 83,7%. Ce taux peut être faussé par des faux positifs de l'IRM et de l'écho-endoscopie. Cependant, il est plus élevé que ceux retrouvés habituellement dans les séries historiques dont le statut ganglionnaire initial était évalué selon les mêmes modalités. La stérilisation ganglionnaire (stade ypN0) a été rapportée par *Hernandez et al.* dans leur série comme seul facteur prédictif de survie en analyse multivariée (90). Malgré ces constatations, l'utilisation unique de ce critère de jugement est rendue difficile par les incertitudes de l'évaluation ganglionnaire initiale.

Notre dernier critère d'efficacité était le taux de conservation sphinctérienne. Ce critère ne peut être en soi considéré comme un critère d'efficacité de la metformine. En effet, l'habitude actuelle est de ne pas modifier la chirurgie en fonction de la réponse à la radiochimiothérapie. Ainsi dans notre série le seul malade en réponse complète a été opéré par amputation abdominopérinéale et n'a donc pas pu bénéficier d'une préservation sphinctérienne. Notre taux de 44% de préservation montre que dans la région l'attitude est maximaliste et que la majorité des malades seront opérés par amputation abdominale du fait de la découverte initiale de tumeurs évoluées. Les stratégies de préservation sphinctériennes représentent une piste pour diminuer ce taux et la metformine pourrait permettre d'induire des réponses chez plus de patients.

#### **D. Tolérance.**

Notre étude démontre la bonne tolérance de la metformine, car en dehors de 4 lymphopénies (2 de grade 3 et 2 de grade 4) une seule toxicité de grade  $\geq 3$  (1 diarrhée de grade 3) est en relation avec le traitement

L'évaluation de certaines toxicités a pu être difficile du fait de toxicités communes entre la metformine, la capécitabine et la radiothérapie : diarrhées, nausées, dyspepsie, ballonnement abdominal.

De ce fait, nous avons choisi de vous présenter la totalité des toxicités présentées par les patients en cours de traitement et non pas uniquement celles attribuées par l'investigateur à la metformine. Il en résulte un taux de toxicité grade 3-4 plus élevé que dans les autres études, mais celles-ci ne sont habituellement pas décrites.

Cependant, on note, malgré une tolérance clinique correcte, un taux d'arrêt définitif de la metformine assez important en raison notamment de diarrhées de grade 2. Ces arrêts ont été relativement tardifs et la metformine a pu être administrée durant la radiochimiothérapie. Cela pose néanmoins un problème quant à l'observance du traitement si celui-ci venait à se généraliser et à son impact sur la qualité de vie des patients.

## **II. Limites de l'étude**

### **A. Sélection des patients**

La première limite de cette étude est qu'il s'agit de résultats préliminaires sur un faible effectif de patients et qu'il faudra confirmer ces résultats par la suite.

Notre essai est non randomisé et non contrôlé ce qui oblige à se comparer à la littérature. Cependant, il faut s'interroger sur l'existence d'un biais de sélection à exclure les diabétiques de l'étude. Les taux de contrôle locaux et de survie sans métastases sont en effet moins élevés chez les patients diabétiques non sous metformine que dans la population non diabétique. Le fait d'avoir exclu cette sous-population peut artificiellement améliorer les résultats de notre population. Cela était néanmoins nécessaire afin de ne pas induire de biais de mesure : nous voulions mesurer l'action antinéoplasique directe de la metformine et non l'impact d'un meilleur contrôle de la glycémie qui pourrait être obtenu avec n'importe quel antidiabétique.

Nous avons également exclu de l'étude les patients classés cT2N+ en raison des incertitudes évoquées quant à l'évaluation du statut ganglionnaire. Ces patients ont habituellement un pronostic favorable après radiochimiothérapie et le fait de ne pas les inclure peut induire une sous-estimation de l'efficacité de la metformine.

Il est actuellement discuté de l'intérêt de la radiochimiothérapie chez ces patients, de même que chez les T3N0 ayant une CRM prédite à l'IRM supérieure à 2mm (91). Ces patients ont effet après chirurgie seule un taux de récurrence locale très faible. Il est probable que ces patients ne soient plus inclus de manière systématique à l'avenir dans les essais de radiochimiothérapie. Dans notre essai, seuls 3 patients étaient classés cT3N0. De plus, tous les essais de radiochimiothérapie néoadjuvante incluent

à ce jour ces patients et cela ne peut donc pas avoir faussé nos résultats en comparaison à la littérature existante.

## **B. Dose de metformine délivrée**

Nous avons choisi de réaliser d'emblée une étude de phase 2 sans recherche de dose en phase 1. La dose de metformine utilisée est de 2550 mg sachant que la dose maximale recommandée en France est de 3 g par jour. Cependant, la dose de 3 g n'est pas fréquemment utilisée et certaines recommandations internationales considèrent comme dose maximale la dose de 2550 mg. Cette dose étant couramment employée chez les diabétiques et la metformine n'étant pas arrêtée en cours de radiochimiothérapie, elle nous apparaissait comme une dose prudente, mais raisonnable pour la réalisation de l'étude. Déterminer la dose efficace à partir des données provenant des études rétrospectives est difficile, car elles sont soumises à des biais de mesure et la dose de prise de metformine au moment du traitement peut être faussée. Dans l'étude prospective de *Zhao et al.* évaluant plusieurs niveaux de dose sur la survenue de foyers de cryptes aberrantes, les seuls résultats significatifs étaient obtenus avec une dose de 1500 mg/jour qui était la plus haute dose étudiée (92).

Dans un essai néoadjuvant testant la metformine dans le cancer de l'endomètre, une dose de 1500 à 2250 mg était utilisée et elle permettait une réduction du Ki-67 (93).

En réalité, afin de déterminer la dose optimale, il sera nécessaire lors de prochaines études de réaliser des mesures pharmacocinétiques et pharmacodynamiques afin de déterminer les concentrations de metformine plasmatique et intratumorale ainsi que les effets antitumoraux obtenus à ces doses. Une des critiques actuelles des études *in vitro* de la metformine provient du fait que les effets obtenus le sont à des concentrations élevées (1mM, 5mM et 10mM) par rapport aux concentrations plasmatiques obtenues chez les diabétiques (10µm-20µm). Cependant, il a été montré que la metformine pouvait s'accumuler en intra-tissulaire à des concentrations beaucoup élevées qu'au niveau plasmatique. D'autre part *in vitro* les cellules tumorales sont exposées à des concentrations de glucose et de facteurs de croissance beaucoup plus élevées qu'*in vitro*. Il a également été obtenu des résultats *in vitro*, notamment de radiosensibilisation et d'immunomodulation, à des concentrations moins élevées, mais les données à ces doses sont plus éparses (61,94). Enfin, les résultats cliniques observés dans les premières études cliniques utilisant la metformine comme antinéoplasique montrent qu'il est possible d'obtenir un effet clinique ou



biologique chez l'humain aux doses usuelles. Néanmoins, il y'aurait un intérêt potentiel à obtenir des concentrations de metformine plus élevées. Un modèle murin de tumeurs vésicales de sensibilité inhabituelle à la metformine a permis de lier cette hypersensibilité à une concentration urinaire de metformine 240 fois plus élevée que la concentration plasmatique (95). La dose utilisée dans notre essai apparaît donc acceptable, car bien tolérée, mais l'utilisation de plus hautes doses de metformine pourrait être bénéfique à visée antinéoplasique.

### C. Critère de jugement principal

Dans notre étude, nous avons choisi d'utiliser le taux de réponse histologique complète comme critère de jugement principal. Ce choix a été fait en se basant sur le fait que ce critère est communément utilisé comme critère de substitution dans les essais de radiochimiothérapie néoadjuvante des cancers du rectum et en considérant l'étude rétrospective du MSKCC qui retrouvait un taux augmenté de pCR chez les diabétiques traités par metformine (74).

Cependant, les résultats constatés nous poussent à nous interroger sur la pertinence de ce critère.

La définition de la réponse histologique complète a l'avantage d'être la même dans toutes les classifications proposées à savoir : aucune cellule cancéreuse viable.

Si sa définition est standardisée, son évaluation l'est moins et il a été montré que dans la majorité des cas il persistait des cellules cancéreuses et qu'elles pouvaient être détectées après un examen anatomopathologique plus exhaustif qu'en routine clinique. Il peut donc exister un biais de mesure entre les études liées à une différence de minutie entre les différents pathologistes.

Bien qu'il existe également des incertitudes liées à leurs évaluations, il semble que la mesure des stades ypT et ypN soit plus objective et plus reproductible que l'évaluation de la pCR (96). Dans notre étude, il existe un biais de mesure liée à une évaluation non centralisée des pièces opératoires, cependant cela permet de mieux refléter la prise en charge quotidienne des patients. L'utilisation d'un compte rendu standardisé d'anatomopathologie permet de limiter ce biais, mais il existe malgré tout des données anatomopathologiques manquantes pour lesquelles une relecture sera demandée.

*Valentini et al.* ont établi un nomogramme à partir des données de 2795 patients inclus dans 5 essais européens randomisés (97). Les facteurs prédictifs les plus forts que cela soit en termes de contrôle local et de survie globale étaient les stades ypT et ypN.

À partir de la même série de patients, la valeur prédictive de la pCR et de la survie à deux ans sans maladie sur la survie globale ont été comparées. Plusieurs groupes pronostics de patients ont été identifiés : ceux présentant une pCR et sans maladie à deux ans, ceux sans pCR et en vie à deux ans sans maladie, ceux présentant une rechute locale ou à distance dans les deux ans. Si les patients qui sont en pCR ont un excellent pronostic, ceux sans pCR mais en vie à deux ans sans maladie ont également une bonne survie globale. La survie sans maladie à deux ans était un meilleur critère prédictif de survie globale que la pCR (98). À l'heure actuelle, bien que largement utilisée dans les essais cliniques, la pCR ne devrait donc être utilisée qu'en cas de stratégie visant uniquement à assurer une conservation sphinctérienne. Dans l'optique d'une amélioration de la survie globale, la survie sans maladie à 2 ans est un critère de substitution acceptable.

Néanmoins, afin de pouvoir prédire plus précocement la survie globale, et ainsi identifier les molécules candidates à être testées en phase III ou les patients candidats à un traitement adjuvant, un score pronostic le neoadjuvant rectal (NAR) score a été développé à partir du nomogramme de *Valentini et al.*(97) et validé sur des cohortes externes (99). Il permet en fonction du résultat anatomopathologique et de la stadification clinique initiale d'estimer la survie globale. Moins il est élevé, meilleure est la survie globale prédite.

Sa formule est fournie en Annexe 6 et il a l'avantage de ne tenir compte que des paramètres les plus reproductibles : le statut cN, le grade de régression tumorale et la notion de réponse complète ne sont pas pris en compte. Il sera utilisé comme critère de jugement principal dans les futurs essais du NCI et du NRG Oncology group. Nous avons calculé ce score pour l'ensemble de la cohorte et retrouvons dans notre série un NAR score médian de 8,42 (0,93-20,39) et une moyenne de 9,40. Ce score est inférieur à ceux précédemment rapportés dans la littérature et notamment plus bas que dans l'essai NSABP-R04 (15,61) qui avait servi à valider le score de manière indépendante (100). Ces résultats encouragent donc la poursuite de l'essai et de l'investigation de la metformine en oncologie.

### III. Quel avenir pour la metformine en oncologie ?

#### A. Mode de délivrance

Comme discuté ci-dessus, la dose de metformine à délivrer à visée antinéoplasique pose question. Les résultats obtenus dans les modèles *in vitro* et *in vivo* le sont avec des concentrations de metformine bien plus élevées que les taux plasmatiques observés chez les patients diabétiques. Afin de bénéficier de l'effet antinéoplasique de la metformine, mais de ne pas prendre un risque de toxicités graves, des modes de délivrance alternatifs sont actuellement envisagés.

Concernant les carcinomes rectaux, on peut notamment citer l'utilisation en suppositoires qui permettrait de délivrer de très hautes doses de biguanides en intratumoral en s'affranchissant des effets systémiques. Cela éviterait notamment les effets digestifs liés à l'accumulation intestinale de metformine.

Une autre approche est de coupler la metformine à des nano particules qui pourraient s'accumuler en intratumoral. Au vu des propriétés des nanoparticules actuellement développées, elles pourraient également aider à la délinéation des volumes tumoraux et avoir une action radiosensibilisante. (101–103)

Enfin il est actuellement envisagé de délivrer la metformine à hautes en intra-artériel dans le traitement des carcinomes hépatocellulaires ce qui peut présenter un intérêt notamment en association avec la radiothérapie stéréotaxique.

#### B. Identification de facteurs prédictifs de réponse

Le bénéfice obtenu grâce à la metformine dans notre étude ne l'est pas chez tous les patients. Elle pourrait également avoir un impact péjoratif sur les patients qui auraient obtenu une pCR sans metformine. La variabilité de l'effet observé peut être liée à plusieurs facteurs liés à l'hôte à la tumeur. Parmi-ceux-ci on peut citer notamment : la glycémie et l'index d'insulino-résistance, le statut mutationnel tumoral TP-53 ou K-Ras, la présence de mutations d'OCT-1, le degré d'hypoxie tumorale.

Le faible nombre de patients analysés à l'heure actuelle ne nous a pas permis de mettre en évidence de facteur pronostic de pCR ou de downstaging.

La réalisation d'études translationnelles associant imagerie métabolique à des analyses génomiques et biologiques semble à ce stade indispensable afin d'identifier les sous-groupes de patients répondeurs au traitement.

*Sun et al.* ont ainsi réalisé un mappage en réseau des voies de signalisations de la metformine. 7 gènes principaux impliqués dans ces voies (CDKN1A, ESR1, MAX, MYC, PPARGC1A, SP1, and STK11) et une nouvelle voie de signalisation centrée sur MYC ont ainsi pu être identifiés. Ces gènes et voies devront être étudiés lors de futurs essais afin de confirmer leur implication dans la réponse à la metformine (104).

Une autre voie de développement est d'utiliser la metformine couplée à un traceur (11C-metformine) en TEP-scan afin d'évaluer la captation de la metformine par la tumeur et indirectement d'étudier le transport de la metformine par les OCT. (105)

La meilleure compréhension des mécanismes d'action de la metformine permettra d'identifier des marqueurs prédictifs de réponse qui pourront être validés au sein d'études prospectives et ainsi de mieux personnaliser le traitement.

### **C. Période de délivrance**

Du fait du choix de la pCR comme critère de jugement principal, nous n'avons pas choisi de poursuivre le traitement par la metformine en adjuvant. Pourtant il est licite de l'envisager au vu de l'efficacité *in vitro* de la metformine sur les cellules souches tumorales. Comme précédemment expliqué, le pronostic des cancers du rectum est essentiellement lié au contrôle systémique de la maladie. La TME et la radiochimiothérapie ont en effet permis une diminution drastique des récidives locales. Son inhibition de la transition épithélio-mésenchymateuse et son action sur les cellules CD133+ ainsi que son excellente tolérance font de la metformine un candidat idéal dans l'optique d'un traitement adjuvant. Ce traitement pourrait être proposé à l'ensemble des patients atteints de cancers rectaux. En effet, même les malades en pCR développent à 10 ans des métastases dans 18% des cas et une récurrence locale dans 4,1% des cas (98). Ces chiffres suggèrent l'existence d'une population souche en quiescence peu sensible aux thérapies conventionnelles, mais qui *in vitro* est sensible à la metformine.

De surcroît, les résultats obtenus par un essai japonais de phase III dans la prévention des adénomes permettent d'envisager un traitement par metformine afin de réduire le taux de lésions métachrones. La durée de ce traitement serait bien sûr à préciser.

Enfin dans l'optique du développement d'une stratégie de conservation sphinctérienne, un traitement prolongé par metformine pourrait permettre d'amener plus de patients à une réponse clinique complète.

## D. Autres localisations tumorales

Nous avons étudié la metformine dans le traitement du cancer du rectum. Cependant, les mécanismes d'action que nous avons décrits sont ubiquitaires et peuvent concerner l'ensemble des cellules cancéreuses. Ainsi de nombreuses publications ont montré l'intérêt de la metformine dans le traitement des cancers du sein, du poumon, des voies aérodigestives supérieures, de l'œsophage, de l'endomètre, du système nerveux central, du foie, de la prostate.

Du fait de ces données et des résultats encourageants de cette étude, il est raisonnable de penser à la conception d'études associant la metformine à une radiochimiothérapie en particulier dans les localisations citées ci-dessous.

Dans le cancer du poumon, une récente étude rétrospective de cohorte néerlandaise multicentrique a montré qu'après radiochimiothérapie concomitante les patients sous metformine présentaient une PFS de 41 mois contre 15 mois ( $p=0,01$ ) chez les patients ne prenant pas de metformine. La metformine était un facteur indépendant de survie même après ajustement dans un modèle de Cox (106).

Dans le cancer de l'œsophage, deux études rétrospectives ont mis en évidence un bénéfice statistiquement significatif en termes de réponse histologique complète et de contrôle local après radiochimiothérapie néoadjuvante. L'étude de *Van De Voorde et al.* met également en évidence un bénéfice en survie globale (107). *Spierings et al.* ne retrouvent quant à eux aucun bénéfice à un traitement par metformine (108). Au vu des résultats discordants, mais de la sensibilité des lignées de cancers œsophagiens à la metformine, il est rationnel d'envisager des essais prospectifs en ce sens (109–111).

Actuellement, seuls les sels de platine et le cetuximab ont montré un bénéfice en association à la radiothérapie dans le traitement des cancers de la tête et du cou(112). Comme détaillé pour les cancers rectaux, la metformine est active en cas de mutation TP53. Cette mutation est associée dans les cancers des VADS à des récives locales plus fréquentes après radiochimiothérapie (113,114). Des études *in vitro* montrent que la metformine est capable d'inhiber la croissance et de sensibiliser au cisplatine ces carcinomes. *Spratt et al.* rapportent également dans cette localisation un taux moins élevé de métastases chez les diabétiques avec un traitement par metformine (115).

De manière analogue, des résultats existent pour le glioblastome, montrant une synergie avec le témozolomide et une inhibition de croissance des cellules souches

tumorales. *Adeberg et al.* mettaient en évidence une amélioration de la PFS des patients diabétiques traités par metformine. Cet effet pourrait cependant être dû à une meilleure régulation des hyperglycémies induites par les corticostéroïdes et non à l'action antinéoplasique de la metformine (116).

Concernant le cancer de prostate, actuellement 50% des patients sont initialement traités par radiothérapie. Un traitement par metformine pourrait permettre une réoxygénation de la prostate et du tissu tumoral. *Zannella et al.* ont ainsi décrit un meilleur contrôle biochimique à 3 ans après radiothérapie des patients traités par metformine ainsi qu'une diminution de l'hypoxie tumorale. Un traitement par metformine pourrait donc permettre de diminuer le taux de récurrences locales qui demeure le principal problème après radiothérapie de prostate (57).

Enfin, les tumeurs hépatiques semblent particulièrement sensibles à la metformine. À l'heure où la radiothérapie offre de nouvelles options thérapeutiques dans le traitement du carcinome hépatocellulaire grâce notamment à la radiothérapie stéréotaxique, il apparaîtrait intéressant de combiner les deux modalités de traitement, d'autant qu'il existe spécifiquement des données de radiosensibilisation de la metformine sur des lignées de carcinome hépatocellulaire (94,117,118).

## **E. Utilisation d'autres biguanides**

La metformine est le biguanide le plus utilisé et le plus étudié en cancérologie. Cependant, elle n'est pas la seule molécule de sa classe thérapeutique et d'autres molécules telles que la phenformine ou la buformine ont été testées. Ces molécules sont peu employées à l'heure actuelle en raison du risque d'acidose lactique plus important qu'avec la metformine. Cependant, leur action antinéoplasique semble supérieure à la metformine et leur utilisation pourrait être reconsidérée en cancérologie. Une modification de la voie d'administration comme discutée ci-dessus pourrait permettre de réduire leurs toxicités tout en préservant leur efficacité. La phenformine étant une molécule lipophile possède un transport membranaire passif et serait donc moins dépendante des mutations des récepteurs OCT. (119).

## F. Associations à d'autres thérapeutiques

### a) **Metformine et chimiothérapie**

Comme précédemment expliqué, les essais *in vitro* montrent un effet chimiosensibilisant de la metformine. Il faut cependant être prudent, car les essais randomisés de phase II publiés dans le cancer du pancréas n'ont pas été concluants, mettant même parfois en évidence une tolérance médiocre. Cependant l'association avec certaines chimiothérapies telles que le 5-FU utilisée dans cet essai semble bien tolérée et synergique.

### b) **Metformine et radiothérapie**

Nous avons déjà détaillé l'intérêt de la metformine en association avec la radiothérapie. Cependant, cette association pourrait être encore plus prometteuse à l'avenir. Les effets radiosensibilisants de la metformine semblent en effet être prépondérants en cas d'utilisation de rayonnement à transfert d'énergie linéique élevé. Peu développée à l'heure actuelle, l'hadronthérapie notamment par ion carbone pourrait donc être associée à un traitement par metformine (120).

### c) **Metformine et thérapies ciblées**

Du fait des mécanismes d'action de la metformine, il est cohérent d'envisager une association thérapeutique avec certaines thérapies ciblées, notamment les inhibiteurs de mTor. Une étude de phase I vient d'être publiée étudiant l'association metformine et temsirolimus dans des tumeurs avancées. L'association a été correctement tolérée et a permis d'obtenir un taux de bénéfice clinique de 22%. Ce taux est intéressant, car il s'agissait de patients prétraités ne disposant plus d'alternatives thérapeutiques (121).

Il est également rationnel de penser que les anti-EGFR et la metformine aient une action synergique. Cela a été confirmé par *Li et al.* qui ont montré que la metformine permettait de sensibiliser des lignées cellulaires de cancer du poumon aux ITK de l'EGFR (122).

La phenformine a été testée dans le mélanome avec un inhibiteur de BRAF et il a été montré une coopération entre les deux molécules. Cela s'explique notamment par l'action de la phenformine sur les AMPK.

Cependant du fait de l'augmentation potentielle des toxicités, ces associations devront faire l'objet d'études préliminaires et notamment d'études de phase I.

**d) Metformine et immunothérapie**

L'immunothérapie est actuellement en train de révolutionner la prise en charge des cancers. Cependant bien que de nombreux essais soient en cours, les mécanismes immunitaires en jeu ne sont pas encore totalement compris. Récemment, il a été mis en évidence que le microbiote intestinal jouait un rôle dans la réponse à l'immunothérapie. Les réponses immunitaires vont donc bien au-delà d'une simple inhibition d'anticorps (123).

Nous avons déjà décrit les actions immunologiques de la metformine. Cependant au vu de ces données, l'action de la metformine sur le microbiote est à considérer. Il est en effet démontré que la metformine a une action propre sur le microbiote. Des interactions entre immunothérapies sont donc possibles, bien que non explorées à l'heure actuelle (124).

**e) Metformine et autres molécules repositionnées**

La metformine n'est à l'heure pas la seule molécule étudiée en vue d'un repositionnement en cancérologie. L'aspirine a également été testée avec des résultats encourageants en cas de mutations de PI3K. Les statines sont également étudiées. Du fait de leur bonne tolérance et du faible risque d'effets secondaires, des combinaisons sont envisageables. Ainsi *in vitro* la metformine semble avoir une action synergique avec l'aspirine. Cela a été démontré sur des lignées cellulaires de cancer du sein, de pancréas, de poumon et de prostate. Cela s'explique notamment par des cibles thérapeutiques communes à savoir les AMPK et mTOR. L'association de ce type de thérapies pourrait permettre une amplification de leurs effets (125).



## IV. Évolution de la prise en charge des adénocarcinomes rectaux

La prise en charge des adénocarcinomes localement avancés du rectum est actuellement face à plusieurs paradigmes : d'un côté une désescalade thérapeutique afin de s'affranchir soit des toxicités de la radiothérapie soit d'une colostomie définitive et de l'autre une intensification thérapeutique afin de prévenir les récives métastatiques.

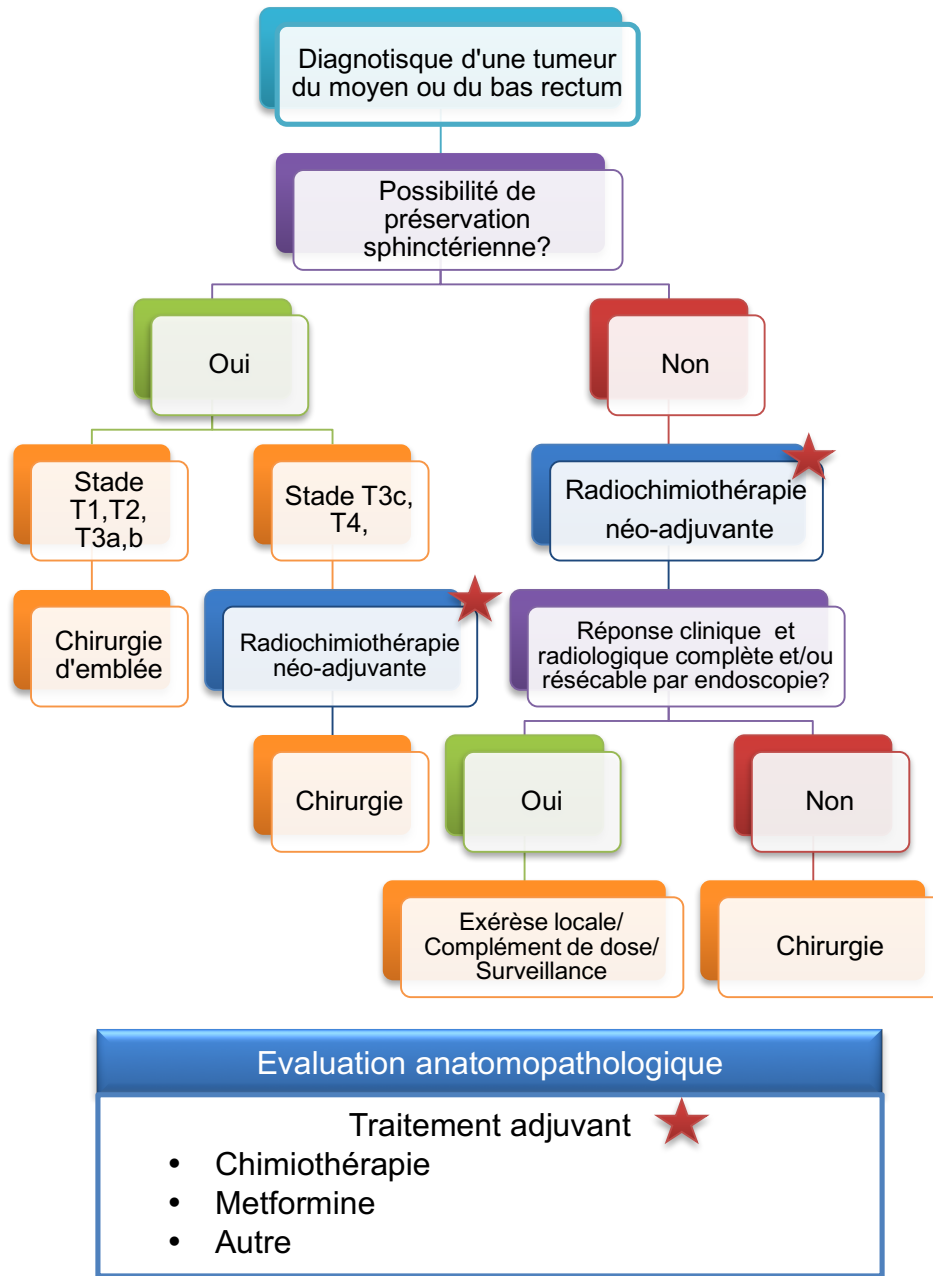
En effet à ce jour, la radiothérapie n'a montré qu'un bénéfice en termes de contrôle local. Or l'essai MERCURY a permis d'identifier un groupe de patients classés T3 dont le risque récive local est extrêmement faible de l'ordre de 3%, indépendamment de l'envahissement ganglionnaire initial et même en l'absence de radiochimiothérapie néoadjuvante. Cela concerne notamment les patients dont l'envahissement tumoral ne s'étend pas à plus de 5 mm dans le mésorectum (définis comme les stades T3a et T3b) (15). La nécessité des traitements néoadjuvants dans ce groupe de tumeurs est donc remise en question, car leur morbidité n'est pas nulle.

À l'inverse, la chirurgie est débattue pour les tumeurs ayant très bien ou complètement répondu à la radiochimiothérapie néoadjuvante et pour lesquelles une préservation sphinctérienne ne serait pas possible. Plusieurs stratégies sont envisagées : surveillance en cas de réponse complète, résection endoscopique, complément de dose par contactthérapie ou curiethérapie. Les résultats obtenus par l'équipe d'*Habr-Gama et al.* sont encourageants, car ils montrent qu'une préservation d'organe est possible en ne compromettant pas le pronostic oncologique. Il faut cependant être prudent, car les gestes de résection endoscopique après radiochimiothérapie ne sont pas dénués de toxicités (41,126,127).

Ces stratégies restent donc à ce jour débattues et devront être validées dans des essais thérapeutiques tels que les essais OPERA et GRECCAR 12 . Nous présentons Figure 2 un algorithme de prise en charge auquel ces essais pourraient aboutir et qui est suggéré par les données actuelles. Il faudra pour valider ces stratégies s'affranchir des obstacles suivants : la définition du groupe de tumeurs de bon pronostic (quid du stade cN+?), la standardisation de l'évaluation et de la définition de la réponse complète clinique après radiochimiothérapie néoadjuvante et la définition du groupe de tumeurs qui bénéficierait d'un traitement adjuvant.

La metformine pourrait avoir un rôle dans chacune des stratégies présentées.

**Figure n°2 : Proposition d’algorithme de prise en charge des carcinomes du bas et moyen rectum**



★ Rôle potentiel de la metformine

## CONCLUSION

Au vu de ces résultats préliminaires, la metformine ne permet pas d'augmenter le taux de réponse histologique complète après radiochimiothérapie dans les cancers du rectum localement avancés. Elle permet en revanche d'augmenter le taux de downstaging tumoral ce qui pourrait avoir un impact sur le pronostic à terme des patients. Ces résultats devront être confirmés en fin d'étude et sont encourageants pour le développement ultérieur d'étude utilisant la metformine en cancérologie.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Holleczeck B, Rossi S, Domenic A, Innos K, Minicozzi P, Francisci S, et al. Ongoing improvement and persistent differences in the survival for patients with colon and rectum cancer across Europe 1999-2007 - Results from the EURO CARE-5 study. *Eur J Cancer*. 6 sept 2015;
2. Visser O, Bakx R, Zoetmulder FAN, Levering CC, Meijer S, Slors JFM, et al. The influence of total mesorectal excision on local recurrence and survival in rectal cancer patients: a population-based study in Greater Amsterdam. *J Surg Oncol*. 1 mai 2007;95(6):447-54.
3. Salerno G, Sinnatamby C, Branagan G, Daniels IR, Heald RJ, Moran BJ. Defining the rectum: surgically, radiologically and anatomically. *Colorectal Dis*. sept 2006;8 Suppl 3:5-9.
4. Kenig J, Richter P. Definition of the rectum and level of the peritoneal reflection - still a matter of debate? *Wideochirurgia i inne Tech małoinwazyjne = Videosurgery other miniinvasive Tech / Kwart Pod patronatem Sekc Wideochirurgii TChP oraz Sekc Chir Bariatrycznej TChP*. sept 2013;8(3):183-6.
5. Tamas K, Walenkamp AME, de Vries EGE, van Vugt MATM, Beets-Tan RG, van Etten B, et al. Rectal and colon cancer: Not just a different anatomic site. *Cancer Treat Rev*. sept 2015;41(8):671-9.
6. Tarantino I, Hüttner FJ, Warschkow R, Schmied BM, Diener MK, Ulrich A. Prognostic Relevance of Mucinous Subtype in a Population-based Propensity Score Analysis of 40,083 Rectal Cancer Patients. *Ann Surg Oncol*. 29 déc 2015;
7. Thies S, Langer R. Tumor regression grading of gastrointestinal carcinomas after neoadjuvant treatment. *Front Oncol*. janv 2013;3:262.
8. García-Aguilar J, Hernandez de Anda E, Sirivongs P, Lee S-H, Madoff RD, Rothenberger DA. A pathologic complete response to preoperative chemoradiation is associated with lower local recurrence and improved survival in rectal cancer patients treated by mesorectal excision. *Dis Colon Rectum*. mars 2003;46(3):298-304.
9. Agarwal A, Chang GJ, Hu C-Y, Taggart M, Rashid A, Park IJ, et al. Quantified pathologic response assessed as residual tumor burden is a predictor of recurrence-free survival in patients with rectal cancer who undergo resection after neoadjuvant chemoradiotherapy. *Cancer*. 15 déc 2013;119(24):4231-41.
10. Peng Y-F, Yu W-D, Pan H-D, Wang L, Li M, Yao Y-F, et al. Tumor regression grades: potential outcome predictor of locally advanced rectal adenocarcinoma after preoperative radiotherapy. *World J Gastroenterol*. 14 févr

- 2015;21(6):1851-6.
11. Trakarnsanga A, Gönen M, Shia J, Nash GM, Temple LK, Guillem JG, et al. Comparison of tumor regression grade systems for locally advanced rectal cancer after multimodality treatment. *J Natl Cancer Inst.* oct 2014;106(10).
  12. Takeuchi H, Toda T, Nagasaki S, Kawano T, Minamisono Y, Maehara Y, et al. Synchronous multiple colorectal adenocarcinomas. *J Surg Oncol.* avr 1997;64(4):304-7.
  13. Al-Sukhni E, Milot L, Fruitman M, Beyene J, Victor JC, Schmocker S, et al. Diagnostic accuracy of MRI for assessment of T category, lymph node metastases, and circumferential resection margin involvement in patients with rectal cancer: a systematic review and meta-analysis. *Ann Surg Oncol.* juill 2012;19(7):2212-23.
  14. Kono Y, Togashi K, Utano K, Horie H, Miyakura Y, Fukushima N, et al. Lymph Node Size Alone Is Not an Accurate Predictor of Metastases in Rectal Cancer: A Node-for-Node Comparative Study of Specimens and Histology. *Am Surg.* déc 2015;81(12):1263-71.
  15. Taylor FGM, Quirke P, Heald RJ, Moran BJ, Blomqvist L, Swift IR, et al. Preoperative magnetic resonance imaging assessment of circumferential resection margin predicts disease-free survival and local recurrence: 5-year follow-up results of the MERCURY study. *J Clin Oncol.* 1 janv 2014;32(1):34-43.
  16. Bipat S, Glas AS, Slors FJM, Zwinderman AH, Bossuyt PMM, Stoker J. Rectal cancer: local staging and assessment of lymph node involvement with endoluminal US, CT, and MR imaging--a meta-analysis. *Radiology.* sept 2004;232(3):773-83.
  17. Vannelli A, Poiasina E, Battaglia L. The impact of EUS to predict lymph node metastasis in patients with rectal cancer: a difficult challenge. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* déc 2015;19(24):4766-73.
  18. Lahaye MJ, Engelen SME, Nelemans PJ, Beets GL, van de Velde CJH, van Engelshoven JMA, et al. Imaging for predicting the risk factors--the circumferential resection margin and nodal disease--of local recurrence in rectal cancer: a meta-analysis. *Semin Ultrasound CT MR.* août 2005;26(4):259-68.
  19. Sauer R, Liersch T, Merkel S, Fietkau R, Hohenberger W, Hess C, et al. Preoperative versus postoperative chemoradiotherapy for locally advanced rectal cancer: results of the German CAO/ARO/AIO-94 randomized phase III trial after a median follow-up of 11 years. *J Clin Oncol.* 1 juin 2012;30(16):1926-33.
  20. McCarthy K, Pearson K, Fulton R, Hewitt J. Pre-operative chemoradiation for non-metastatic locally advanced rectal cancer. *Cochrane database Syst Rev.* janv 2012;12:CD008368.

21. O'Connell MJ, Martenson JA, Wieand HS, Krook JE, Macdonald JS, Haller DG, et al. Improving adjuvant therapy for rectal cancer by combining protracted-infusion fluorouracil with radiation therapy after curative surgery. *N Engl J Med.* 25 août 1994;331(8):502-7.
22. Ngan SY, Burmeister B, Fisher RJ, Solomon M, Goldstein D, Joseph D, et al. Randomized trial of short-course radiotherapy versus long-course chemoradiation comparing rates of local recurrence in patients with T3 rectal cancer: Trans-Tasman Radiation Oncology Group trial 01.04. *J Clin Oncol.* 1 nov 2012;30(31):3827-33.
23. Bujko K, Nowacki MP, Nasierowska-Guttmejer A, Michalski W, Bebenek M, Kryj M. Long-term results of a randomized trial comparing preoperative short-course radiotherapy with preoperative conventionally fractionated chemoradiation for rectal cancer. *Br J Surg.* oct 2006;93(10):1215-23.
24. Bujko K, Wyrwicz L, Rutkowski A, Malinowska M, Pietrzak L, Kryński J, et al. Long-course oxaliplatin-based preoperative chemoradiation versus 5 × 5 Gy and consolidation chemotherapy for cT4 or fixed cT3 rectal cancer: results of a randomized phase III study. *Ann Oncol.* 15 févr 2016;
25. Gérard J-P, Conroy T, Bonnetain F, Bouché O, Chapet O, Closon-Dejardin M-T, et al. Preoperative radiotherapy with or without concurrent fluorouracil and leucovorin in T3-4 rectal cancers: results of FFCD 9203. *J Clin Oncol.* 1 oct 2006;24(28):4620-5.
26. Bosset J-F, Collette L, Calais G, Mineur L, Maingon P, Radosevic-Jelic L, et al. Chemotherapy with preoperative radiotherapy in rectal cancer. *N Engl J Med.* 14 sept 2006;355(11):1114-23.
27. Hofheinz R-D, Wenz F, Post S, Matzdorff A, Laechelt S, Hartmann JT, et al. Chemoradiotherapy with capecitabine versus fluorouracil for locally advanced rectal cancer: a randomised, multicentre, non-inferiority, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* juin 2012;13(6):579-88.
28. Allegra CJ, Yothers G, O'Connell MJ, Beart RW, Wozniak TF, Pitot HC, et al. Neoadjuvant 5-FU or Capecitabine Plus Radiation With or Without Oxaliplatin in Rectal Cancer Patients: A Phase III Randomized Clinical Trial. *J Natl Cancer Inst.* nov 2015;107(11).
29. Rödel C, Graeven U, Fietkau R, Hohenberger W, Hothorn T, Arnold D, et al. Oxaliplatin added to fluorouracil-based preoperative chemoradiotherapy and postoperative chemotherapy of locally advanced rectal cancer (the German CAO/ARO/AIO-04 study): final results of the multicentre, open-label, randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* juill 2015;16(8):979-89.
30. Gérard J-P, Azria D, Gourgou-Bourgade S, Martel-Lafay I, Hennequin C, Etienne P-L, et al. Clinical outcome of the ACCORD 12/0405 PRODIGE 2 randomized trial in rectal cancer. *J Clin Oncol.* 20 déc 2012;30(36):4558-65.
31. Aschele C, Cionini L, Lonardi S, Pinto C, Cordio S, Rosati G, et al. Primary

- tumor response to preoperative chemoradiation with or without oxaliplatin in locally advanced rectal cancer: pathologic results of the STAR-01 randomized phase III trial. *J Clin Oncol.* 10 juill 2011;29(20):2773-80.
32. O'Connell MJ, Colangelo LH, Beart RW, Petrelli NJ, Allegra CJ, Sharif S, et al. Capecitabine and oxaliplatin in the preoperative multimodality treatment of rectal cancer: surgical end points from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project trial R-04. *J Clin Oncol.* 20 juin 2014;32(18):1927-34.
  33. Deng Y, Chi P, Lan P, Wang L, Cui L, Chen D, et al. A multi-center randomized controlled trial of mFOLFOX6 with or without radiation in neoadjuvant treatment of local advanced rectal cancer (FOWARC study): Preliminary results. *ASCO Meet Abstr.* 20 mai 2015;33(15\_suppl):3500.
  34. Schmoll HJ, Haustermans K, Price T, Nordlinger B, Hofheinz R, Daisne JF, et al. O-0017 \* PREOPERATIVE CHEMORADIOTHERAPY AND POSTOPERATIVE CHEMOTHERAPY WITH CAPECITABINE AND OXALIPLATIN VS. CAPECITABINE ALONE IN LOCALLY ADVANCED RECTAL CANCER: DISEASE FREE SURVIVAL AT INTERIM ANALYSIS. *Ann Oncol.* 23 juin 2014;25(suppl 2):ii111-2.
  35. Krook JE, Moertel CG, Gunderson LL, Wieand HS, Collins RT, Beart RW, et al. Effective surgical adjuvant therapy for high-risk rectal carcinoma. *N Engl J Med.* 14 mars 1991;324(11):709-15.
  36. MacFarlane JK, Ryall RD, Heald RJ. Mesorectal excision for rectal cancer. *Lancet (London, England).* 20 févr 1993;341(8843):457-60.
  37. Martin ST, Heneghan HM, Winter DC. Systematic review of outcomes after intersphincteric resection for low rectal cancer. *Br J Surg.* mai 2012;99(5):603-12.
  38. Francois Y, Nemoz CJ, Baulieux J, Vignal J, Grandjean JP, Partensky C, et al. Influence of the interval between preoperative radiation therapy and surgery on downstaging and on the rate of sphincter-sparing surgery for rectal cancer: the Lyon R90-01 randomized trial. *J Clin Oncol.* août 1999;17(8):2396.
  39. Foster JD, Jones EL, Falk S, Cooper EJ, Francis NK. Timing of surgery after long-course neoadjuvant chemoradiotherapy for rectal cancer: a systematic review of the literature. *Dis Colon Rectum.* juill 2013;56(7):921-30.
  40. Lefevre JH, Rousseau A, Svrcek M, Parc Y, Simon T, Tiret E. A multicentric randomized controlled trial on the impact of lengthening the interval between neoadjuvant radiochemotherapy and surgery on complete pathological response in rectal cancer (GRECCAR-6 trial): rationale and design. *BMC Cancer.* janv 2013;13:417.
  41. Habr-Gama A, Sabbaga J, Gama-Rodrigues J, São Julião GP, Proscurshim I, Bailão Aguilár P, et al. Watch and wait approach following extended neoadjuvant chemoradiation for distal rectal cancer: are we getting closer to anal cancer management? *Dis Colon Rectum.* oct 2013;56(10):1109-17.

42. Habr-Gama A, Perez RO, Proscurshim I, Campos FG, Nadalin W, Kiss D, et al. Patterns of failure and survival for nonoperative treatment of stage c0 distal rectal cancer following neoadjuvant chemoradiation therapy. *J Gastrointest Surg.* déc 2006;10(10):1319-28; discussion 1328-9.
43. Salpeter S, Greyber E. Risk of fatal and nonfatal lactic acidosis with metformin use in type 2 diabetes mellitus. *Cochrane* .... 2005;(4).
44. Yin M, Zhou J, Gorak EJ, Quddus F. Metformin is associated with survival benefit in cancer patients with concurrent type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Oncologist.* janv 2013;18(12):1248-55.
45. Suissa S, Azoulay L. Metformin and the risk of cancer: time-related biases in observational studies. *Diabetes Care.* déc 2012;35(12):2665-73.
46. Choi YK, Park K-G. Metabolic roles of AMPK and metformin in cancer cells. *Mol Cells.* oct 2013;36(4):279-87.
47. Wu X-Y, Wu Z-F, Cao Q-H, Chen C, Chen Z-W, Xu Z, et al. Insulin-like growth factor receptor-1 overexpression is associated with poor response of rectal cancers to radiotherapy. *World J Gastroenterol.* 21 nov 2014;20(43):16268-74.
48. Guo Q, Liu Z, Jiang L, Liu M, Ma J, Yang C, et al. Metformin inhibits growth of human non-small cell lung cancer cells via liver kinase B-1-independent activation of adenosine monophosphate-activated protein kinase. *Mol Med Rep.* 29 janv 2016;
49. Muaddi H, Chowdhury S, Vellanki R, Zamiara P, Koritzinsky M. Contributions of AMPK and p53 dependent signaling to radiation response in the presence of metformin. *Radiother Oncol.* sept 2013;108(3):446-50.
50. Jeong YK, Kim M-S, Lee JY, Kim EH, Ha H. Metformin Radiosensitizes p53-Deficient Colorectal Cancer Cells through Induction of G2/M Arrest and Inhibition of DNA Repair Proteins. *PLoS One.* janv 2015;10(11):e0143596.
51. Buzzai M, Jones RG, Amaravadi RK, Lum JJ, DeBerardinis RJ, Zhao F, et al. Systemic treatment with the antidiabetic drug metformin selectively impairs p53-deficient tumor cell growth. *Cancer Res.* 15 juill 2007;67(14):6745-52.
52. Corominas-Faja B, Quirantes-Piné R, Oliveras-Ferraros C, Vazquez-Martin A, Cufí S, Martin-Castillo B, et al. Metabolomic fingerprint reveals that metformin impairs one-carbon metabolism in a manner similar to the antifolate class of chemotherapy drugs. *Aging (Albany NY).* juill 2012;4(7):480-98.
53. Zhang Y, Guan M, Zheng Z, Zhang Q, Gao F, Xue Y. Effects of Metformin on CD133+ Colorectal Cancer Cells in Diabetic Patients. *PLoS One.* janv 2013;8(11):e81264.
54. Cazzaniga M, Bonanni B. Relationship Between Metabolic Reprogramming and Mitochondrial Activity in Cancer Cells . *Understanding The Anticancer Effect of Metformin and Its Clinical Implications.* *Anticancer Res.*



- 2015;5796:5789-96.
55. Griss T, Vincent EE, Egnatchik R, Chen J, Ma EH, Faubert B, et al. Metformin Antagonizes Cancer Cell Proliferation by Suppressing Mitochondrial-Dependent Biosynthesis. *PLoS Biol.* déc 2015;13(12):e1002309.
  56. Berstein LM, Iyevleva AG, Vasilyev D, Poroshina TE, Imyanitov EN. Genetic polymorphisms potentially associated with response to metformin in postmenopausal diabetics suffering and not suffering with cancer. *Cell Cycle.* 1 déc 2013;12(23):3681-8.
  57. Zannella VE, Dal Pra A, Muaddi H, McKee TD, Stapleton S, Sykes J, et al. Reprogramming metabolism with metformin improves tumor oxygenation and radiotherapy response. *Clin Cancer Res.* 15 déc 2013;19(24):6741-50.
  58. Sakai K, Kazama S, Nagai Y, Muroto K, Tanaka T, Ishihara S, et al. Chemoradiation provides a physiological selective pressure that increases the expansion of aberrant TP53 tumor variants in residual rectal cancerous regions. *Oncotarget.* 30 oct 2014;5(20):9641-9.
  59. Iglesias DA, Yates MS, van der Hoeven D, Rodkey TL, Zhang Q, Co NN, et al. Another surprise from Metformin: novel mechanism of action via K-Ras influences endometrial cancer response to therapy. *Mol Cancer Ther.* déc 2013;12(12):2847-56.
  60. Ma Y, Guo F-C, Wang W, Shi H-S, Li D, Wang Y-S. K-ras gene mutation as a predictor of cancer cell responsiveness to metformin. *Mol Med Rep.* sept 2013;8(3):763-8.
  61. Eikawa S, Nishida M, Mizukami S, Yamazaki C, Nakayama E, Udono H. Immune-mediated antitumor effect by type 2 diabetes drug, metformin. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 10 févr 2015;112(6):1809-14.
  62. Ding L, Liang G, Yao Z, Zhang J, Liu R, Chen H, et al. Metformin prevents cancer metastasis by inhibiting M2-like polarization of tumor associated macrophages. *Oncotarget.* 3 nov 2015;6(34):36441-55.
  63. Oliveras-Ferraro C, Cufí S, Vazquez-Martin A, Menendez OJ, Bosch-Barrera J, Martin-Castillo B, et al. Metformin rescues cell surface major histocompatibility complex class I (MHC-I) deficiency caused by oncogenic transformation. *Cell Cycle.* 1 mars 2012;11(5):865-70.
  64. Song I-S, Jeong YJ, Han J. Mitochondrial metabolism in cancer stem cells: a therapeutic target for colon cancer. *BMB Rep.* oct 2015;48(10):539-40.
  65. Sprenger T, Conradi L-C, Beissbarth T, Ermert H, Homayounfar K, Middel P, et al. Enrichment of CD133-expressing cells in rectal cancers treated with preoperative radiochemotherapy is an independent marker for metastasis and survival. *Cancer.* 1 janv 2013;119(1):26-35.
  66. Denise C, Paoli P, Calvani M, Taddei ML, Giannoni E, Kopetz S, et al. 5-

- Fluorouracil resistant colon cancer cells are addicted to OXPHOS to survive and enhance stem-like traits. *Oncotarget*. 8 déc 2015;6(39):41706-21.
67. Vazquez-Martin A, Vellon L, Quirós PM, Cufí S, Ruiz de Galarreta E, Oliveras-Ferraros C, et al. Activation of AMP-activated protein kinase (AMPK) provides a metabolic barrier to reprogramming somatic cells into stem cells. *Cell Cycle*. 1 mars 2012;11(5):974-89.
68. Noto H, Goto A, Tsujimoto T, Noda M. Cancer risk in diabetic patients treated with metformin: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. janv 2012;7(3):e33411.
69. He X-K, Su T-T, Si J-M, Sun L-M. Metformin Is Associated With Slightly Reduced Risk of Colorectal Cancer and Moderate Survival Benefits in Diabetes Mellitus: A Meta-Analysis. *Medicine (Baltimore)*. févr 2016;95(7):e2749.
70. Mei Z-B, Zhang Z-J, Liu C-Y, Liu Y, Cui A, Liang Z-L, et al. Survival benefits of metformin for colorectal cancer patients with diabetes: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. janv 2014;9(3):e91818.
71. Zhang P, Li H, Tan X, Chen L, Wang S. Association of metformin use with cancer incidence and mortality: a meta-analysis. *Cancer Epidemiol*. juin 2013;37(3):207-18.
72. Soranna D, Scotti L, Zambon A, Bosetti C, Grassi G, Catapano A, et al. Cancer risk associated with use of metformin and sulfonylurea in type 2 diabetes: a meta-analysis. *Oncologist*. janv 2012;17(6):813-22.
73. Singh S, Singh H, Singh PP, Murad MH, Limburg PJ. Antidiabetic Medications and the Risk of Colorectal Cancer in Patients with Diabetes Mellitus: A Systematic Review and Meta-analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. déc 2013;22(12):2258-68.
74. Skinner HD, Crane CH, Garrett CR, Eng C, Chang GJ, Skibber JM, et al. Metformin use and improved response to therapy in rectal cancer. *Cancer Med*. mars 2013;2(1):99-107.
75. Oh BY, Park YA, Huh JW, Cho YB, Yun SH, Lee WY, et al. Metformin enhances the response to radiotherapy in diabetic patients with rectal cancer. *J Cancer Res Clin Oncol*. 24 mars 2016;
76. Hosono K, Endo H, Takahashi H, Sugiyama M, Sakai E, Uchiyama T, et al. Metformin suppresses colorectal aberrant crypt foci in a short-term clinical trial. *Cancer Prev Res (Phila)*. sept 2010;3(9):1077-83.
77. Huertas A, Marchal F, Peiffert D, Créhange G. [Preoperative radiotherapy for rectal cancer: target volumes]. *Cancer Radiother*. oct 2013;17(5-6):477-85.
78. Meng X, Huang Z, Wang R, Jiao Y, Li H, Xu X, et al. The prognostic role of EZH2 expression in rectal cancer patients treated with neoadjuvant chemoradiotherapy. *Radiat Oncol*. janv 2014;9:188.

79. Willett CG, Warland G, Coen J, Shellito PC, Compton CC. Rectal cancer: the influence of tumor proliferation on response to preoperative irradiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 30 avr 1995;32(1):57-61.
80. Rödel C, Grabenbauer GG, Papadopoulos T, Bigalke M, Günther K, Schick C, et al. Apoptosis as a cellular predictor for histopathologic response to neoadjuvant radiochemotherapy in patients with rectal cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1 févr 2002;52(2):294-303.
81. McDowell DT, Smith FM, Reynolds J V, Maher SG, Adida C, Crotty P, et al. Increased spontaneous apoptosis, but not survivin expression, is associated with histomorphologic response to neoadjuvant chemoradiation in rectal cancer. *Int J Colorectal Dis.* nov 2009;24(11):1261-9.
82. Prokopiou S, Moros EG, Poleszczuk J, Caudell J, Torres-Roca JF, Latifi K, et al. A proliferation saturation index to predict radiation response and personalize radiotherapy fractionation. *Radiat Oncol.* janv 2015;10:159.
83. Higurashi T, Hosono K, Takahashi H, Komiya Y, Umezawa S, Sakai E, et al. Metformin for chemoprevention of metachronous colorectal adenoma or polyps in post-polypectomy patients without diabetes: a multicentre double-blind, placebo-controlled, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2 mars 2016;
84. De Felice F, Izzo L, Musio D, Magnante AL, Bulzonetti N, Pugliese F, et al. Clinical predictive factors of pathologic complete response in locally advanced rectal cancer. *Oncotarget.* 16 mars 2016;
85. Garcia-Aguilar J, Chow OS, Smith DD, Marcet JE, Cataldo PA, Varma MG, et al. Effect of adding mFOLFOX6 after neoadjuvant chemoradiation in locally advanced rectal cancer: a multicentre, phase 2 trial. *Lancet Oncol.* août 2015;16(8):957-66.
86. Valentini V, Coco C, Picciocchi A, Morganti AG, Trodella L, Ciabattini A, et al. Does downstaging predict improved outcome after preoperative chemoradiation for extraperitoneal locally advanced rectal cancer? A long-term analysis of 165 patients. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1 juill 2002;53(3):664-74.
87. Rullier A, Laurent C, Capdepont M, Vendrely V, Bioulac-Sage P, Rullier E. Impact of tumor response on survival after radiochemotherapy in locally advanced rectal carcinoma. *Am J Surg Pathol.* avr 2010;34(4):562-8.
88. Dewdney A, Cunningham D, Tabernero J, Capdevila J, Glimelius B, Cervantes A, et al. Multicenter randomized phase II clinical trial comparing neoadjuvant oxaliplatin, capecitabine, and preoperative radiotherapy with or without cetuximab followed by total mesorectal excision in patients with high-risk rectal cancer (EXPERT-C). *J Clin Oncol.* 10 mai 2012;30(14):1620-7.
89. García M, Martínez-Villacampa M, Santos C, Navarro V, Teule A, Losa F, et al. Phase II study of preoperative bevacizumab, capecitabine and radiotherapy for resectable locally-advanced rectal cancer. *BMC Cancer.* janv 2015;15:59.

90. Hernandez JM, Clark W, Weber J, Fulp WJ, Lange L, Shibata D. The impact of pathologic nodal status on survival following neoadjuvant chemoradiation for locally advanced rectal cancer. *Int J Colorectal Dis.* sept 2014;29(9):1061-8.
91. Joye I, Haustermans K. Which Patients with Rectal Cancer Do Not Need Radiotherapy? *Semin Radiat Oncol.* Elsevier; 2016;
92. Zhao X, Li Y, Chen M, Chen Y, Dai Y, Wang Y, et al. Effects of different doses of metformin treatment for 6 months on aberrant crypt foci in Chinese patients with impaired glucose tolerance. *Eur J Cancer Prev.* janv 2015;24(1):27-36.
93. Sivalingam VN, Kitson S, McVey R, Roberts C, Pemberton P, Gilmour K, et al. Measuring the biological effect of presurgical metformin treatment in endometrial cancer. *Br J Cancer.* 2 févr 2016;114(3):281-9.
94. Liu J, Hou M, Yuan T, Yi G, Zhang S, Shao X, et al. Enhanced cytotoxic effect of low doses of metformin combined with ionizing radiation on hepatoma cells via ATP deprivation and inhibition of DNA repair. *Oncol Rep.* oct 2012;28(4):1406-12.
95. Liu Z, Yokoyama NN, Blair CA, Li X, Avizonis D, Wu X-R, et al. High Sensitivity of an Ha-RAS Transgenic Model of Superficial Bladder Cancer to Metformin Is Associated with ~240-Fold Higher Drug Concentration in Urine than Serum. *Mol Cancer Ther.* mars 2016;15(3):430-8.
96. Hav M, Libbrecht L, Ferdinande L, Geboes K, Pattyn P, Cuvelier CA. Pathologic Assessment of Rectal Carcinoma after Neoadjuvant Radio(chemo)therapy: Prognostic Implications. *Biomed Res Int.* janv 2015;2015:574540.
97. Valentini V, van Stiphout RGPM, Lammering G, Gambacorta MA, Barba MC, Bebenek M, et al. Nomograms for predicting local recurrence, distant metastases, and overall survival for patients with locally advanced rectal cancer on the basis of European randomized clinical trials. *J Clin Oncol.* 10 août 2011;29(23):3163-72.
98. Valentini V, van Stiphout RGPM, Lammering G, Gambacorta MA, Barba MC, Bebenek M, et al. Selection of appropriate end-points (pCR vs 2yDFS) for tailoring treatments with prediction models in locally advanced rectal cancer. *Radiother Oncol.* mars 2015;114(3):302-9.
99. George TJ, Allegra CJ, Yothers G. Neoadjuvant Rectal (NAR) Score: a New Surrogate Endpoint in Rectal Cancer Clinical Trials. *Curr Colorectal Cancer Rep.* janv;11(5):275-80.
100. Hong TS, Szymonifka J, Yothers G, Blaszkowsky LS, Russo AL, Wo JY-L, et al. Validation of the NSABP neoadjuvant rectal score (NAR) in a prospective phase II study evaluating an experimental regimen and a standard chemoradiation cohort with molecular genotyping. *ASCO Meet Abstr.* 20 mai 2014;32(15\_suppl):3599.

101. Xu Q, Zhu T, Yi C, Shen Q. Characterization and evaluation of metformin-loaded solid lipid nanoparticles for cellular and mitochondrial uptake. *Drug Dev Ind Pharm.* mai 2016;42(5):701-6.
102. Cetin M, Sahin S. Microparticulate and nanoparticulate drug delivery systems for metformin hydrochloride. *Drug Deliv.* 22 sept 2015;1-10.
103. Ngwuluka NC, Kotak DJ, Devarajan P V. Design and Characterization of Metformin-Loaded Solid Lipid Nanoparticles for Colon Cancer. *AAPS PharmSciTech.* 14 mars 2016;
104. Sun J, Zhao M, Jia P, Wang L, Wu Y, Iverson C, et al. Deciphering Signaling Pathway Networks to Understand the Molecular Mechanisms of Metformin Action. *PLoS Comput Biol.* juin 2015;11(6):e1004202.
105. Jensen JB, Sundelin EI, Jakobsen S, Gormsen LC, Munk OL, Frøkiær J, et al. [11C]-metformin distribution in the liver and small intestine using dynamic PET in mice demonstrates tissue-specific transporter dependency. *Diabetes.* 18 mars 2016;
106. Wink KCJ, Belderbos JSA, Dieleman EMT, Rossi M, Rasch CRN, Damhuis RAM, et al. Improved progression free survival for patients with diabetes and locally advanced non-small cell lung cancer (NSCLC) using metformin during concurrent chemoradiotherapy. *Radiother Oncol.* mars 2016;118(3):453-9.
107. Van De Voorde L, Janssen L, Larue R, Houben R, Buijsen J, Sosef M, et al. Can metformin improve « the tomorrow » of patients treated for oesophageal cancer? *Eur J Surg Oncol.* oct 2015;41(10):1333-9.
108. Spierings LEAMM, Lagarde SM, van Oijen MGH, Gisbertz SS, Wilmink JW, Hulshof MCCM, et al. Metformin Use During Treatment of Potentially Curable Esophageal Cancer Patients is not Associated with Better Outcomes. *Ann Surg Oncol.* déc 2015;22 Suppl 3:S766-71.
109. Kobayashi M, Kato K, Iwama H, Fujihara S, Nishiyama N, Mimura S, et al. Antitumor effect of metformin in esophageal cancer: in vitro study. *Int J Oncol.* févr 2013;42(2):517-24.
110. Honjo S, Ajani JA, Scott AW, Chen Q, Skinner HD, Stroehlein J, et al. Metformin sensitizes chemotherapy by targeting cancer stem cells and the mTOR pathway in esophageal cancer. *Int J Oncol.* août 2014;45(2):567-74.
111. Xu Y, Lu S. Metformin inhibits esophagus cancer proliferation through upregulation of USP7. *Cell Physiol Biochem.* janv 2013;32(5):1178-86.
112. Pignon J-P, le Maître A, Maillard E, Bourhis J. Meta-analysis of chemotherapy in head and neck cancer (MACH-NC): an update on 93 randomised trials and 17,346 patients. *Radiother Oncol.* juill 2009;92(1):4-14.
113. Skinner HD, Sandulache VC, Ow TJ, Meyn RE, Yordy JS, Beadle BM, et al. TP53 disruptive mutations lead to head and neck cancer treatment failure

- through inhibition of radiation-induced senescence. *Clin Cancer Res.* 1 janv 2012;18(1):290-300.
114. Sandulache VC, Skinner HD, Ow TJ, Zhang A, Xia X, Luchak JM, et al. Individualizing antimetabolic treatment strategies for head and neck squamous cell carcinoma based on TP53 mutational status. *Cancer.* 1 févr 2012;118(3):711-21.
115. Spratt DE, Beadle BM, Zumsteg ZS, Rivera A, Skinner HD, Osborne JR, et al. The Influence of Diabetes Mellitus and Metformin on Distant Metastases in Oropharyngeal Cancer: A Multicenter Study. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1 mars 2016;94(3):523-31.
116. Adeberg S, Bernhardt D, Ben Harrabi S, Bostel T, Mohr A, Koelsche C, et al. Metformin influences progression in diabetic glioblastoma patients. *Strahlentherapie und Onkol Organ der Dtsch Röntgengesellschaft . [et al].* déc 2015;191(12):928-35.
117. Li J, Hernanda PY, Bramer WM, Peppelenbosch MP, van Luijk J, Pan Q. Anti-tumor effects of metformin in animal models of hepatocellular carcinoma: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* janv 2015;10(6):e0127967.
118. Seo Y-S, Kim Y-J, Kim M-S, Suh K-S, Kim SB, Han CJ, et al. Association of Metformin Use With Cancer-Specific Mortality in Hepatocellular Carcinoma After Curative Resection: A Nationwide Population-Based Study. *Medicine (Baltimore).* avr 2016;95(17):e3527.
119. Pollak M. Potential applications for biguanides in oncology. *J Clin Invest.* 3 sept 2013;123(9):3693-700.
120. Kim EH, Kim M-S, Cho C-K, Jung W-G, Jeong YK, Jeong J-H. Low and high linear energy transfer radiation sensitization of HCC cells by metformin. *J Radiat Res.* mai 2014;55(3):432-42.
121. Khawaja MR, Nick AM, Madhusudanannair V, Fu S, Hong D, McQuinn LM, et al. Phase I dose escalation study of temsirolimus in combination with metformin in patients with advanced/refractory cancers. *Cancer Chemother Pharmacol.* 24 mars 2016;
122. Li L, Han R, Xiao H, Lin C, Wang Y, Liu H, et al. Metformin sensitizes EGFR-TKI-resistant human lung cancer cells in vitro and in vivo through inhibition of IL-6 signaling and EMT reversal. *Clin Cancer Res.* 15 mai 2014;20(10):2714-26.
123. Vetizou M, Pitt JM, Daillere R, Lepage P, Waldschmitt N, Flament C, et al. Anticancer immunotherapy by CTLA-4 blockade relies on the gut microbiota. *Science (80- ).* 5 nov 2015;350(6264):1079-84.
124. Hur KY, Lee M-S. Gut Microbiota and Metabolic Disorders. *Diabetes Metab J.* juin 2015;39(3):198-203.

125. Talarico G, Orecchioni S, Dallaglio K, Reggiani F, Mancuso P, Calleri A, et al. Aspirin and atenolol enhance metformin activity against breast cancer by targeting both neoplastic and microenvironment cells. *Sci Rep.* janv 2016;6:18673.
126. Habr-Gama A, Gama-Rodrigues J, São Julião GP, Proscurshim I, Sabbagh C, Lynn PB, et al. Local recurrence after complete clinical response and watch and wait in rectal cancer after neoadjuvant chemoradiation: impact of salvage therapy on local disease control. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 15 mars 2014;88(4):822-8.
127. Verseveld M, de Graaf EJR, Verhoef C, van Meerten E, Punt CJA, de Hingh IHJT, et al. Chemoradiation therapy for rectal cancer in the distal rectum followed by organ-sparing transanal endoscopic microsurgery (CARTS study). *Br J Surg.* juin 2015;102(7):853-60.

## ANNEXES

### Annexe 1 : Classification TNM des tumeurs colorectales

#### Tumeur primitive

<b>TX</b>	Renseignements insuffisants pour classer la tumeur primitive
<b>T0</b>	Pas de signe de tumeur primitive
<b>Tis (1)</b>	Carcinome in situ : intra-épithélial ou envahissant la lamina propria (chorion de la muqueuse)
<b>T1</b>	Tumeur envahissant la sous-muqueuse
<b>T2</b>	Tumeur envahissant la musculature
<b>T3</b>	Tumeur envahissant la sous-séreuse ou les tissus péri-coliques ou péri-rectaux non péritonisés
<b>T4</b>	Tumeur envahissant directement d'autres organes ou d'autres structures et/ou perforant le péritoine viscéral
	<b>T4a</b> : tumeur perforant le péritoine viscéral
	<b>T4b</b> : tumeur envahissant directement d'autres organes ou d'autres structures

#### Statut ganglionnaire

<b>NX</b>	Renseignements insuffisants pour classer les ganglions lymphatiques régionaux
<b>N0</b>	Pas de métastase ganglionnaire régionale
<b>N1</b>	Métastases dans 1 à 3 ganglions lymphatiques régionaux
	<b>N1a</b> Métastases dans 1 seul ganglion régional
	<b>N1b</b> Métastases dans 2-3 ganglions lymphatiques régionaux
	<b>N1c</b> Nodules tumoraux (c'est-à-dire satellites) dans la sous-séreuse ou dans les tissus mous non péritonéalisés péri-coliques ou péri-rectaux sans atteinte ganglionnaire lymphatique.
<b>N2</b>	Métastases dans > 4 ganglions lymphatiques régionaux
	<b>N2a</b> Métastases dans 4 à 6 ganglions lymphatiques régionaux
	<b>N2b</b> Métastases dans 7 ou plus ganglions lymphatiques régionaux



**Métastases à distance**

<b>M0</b>	Pas de métastase à distance
<b>M1</b>	Présence de métastases à distance
	<b>M1a</b> Métastases dans un seul organe (foie, poumon, ovaire, ganglion(s) lymphatique(s) non régional(aux))
	<b>M1b</b> Métastases dans plus d'un organe ou dans le péritoine

**Stade TNM**

TNM			
<b>Stade 0</b>	Tis	N0	M0
<b>Stade I</b>	T1, T2	N0	M0
<b>Stade II</b>	T3, T4	N0	M0
<b>Stade IIA</b>	T3	N0	M0
<b>Stade IIB</b>	T4a	N0	M0
<b>Stade IIC</b>	T4b	N0	M0
<b>Stade III</b>	Quel que soit T	N1, N2	M0
<b>Stade IIIA</b>	T1, T2	N1	M0
	T1	N2a	M0
<b>Stade IIIB</b>	T3, T4a	N1	M0
	T2, T3	N2a	M0
	T1, T2	N2b	M0
<b>Stade IIIC</b>	T4a	N2a	M0
	T3, T4a	N2b	M0
	T4b	N1, N2	M0
<b>Stade IV A</b>	Quel que soit T	Quel que soit N	M1a
<b>Stade IV B</b>	Quel que soit T	Quel que soit N	M1b

**Annexe 2 : Performans status selon l'OMS**

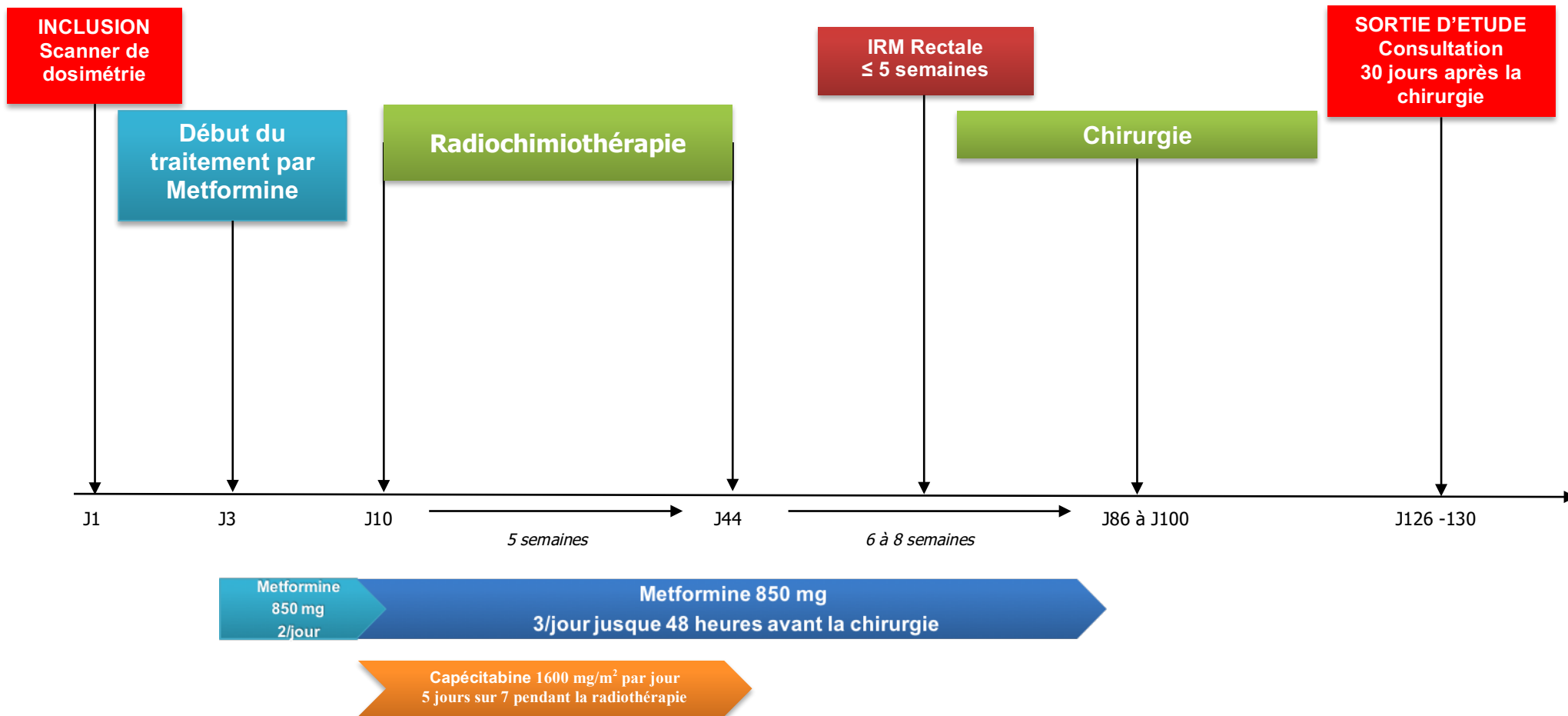
0	Capable d'une activité identique à celle précédant la maladie, sans aucune restriction
1	Activité physique diminuée mais ambulatoire et capable de mener un travail
2	Ambulatoire et capable de prendre soin de soi, incapable de travailler. Alité moins de 50 % de son temps
3	Capables de seulement quelques soins personnels. Alité ou en chaise plus de 50 % du temps
4	Incapable de prendre soin de lui-même, alité ou en chaise en permanence

**Annexe 3 : Score HOMA-IR**

$$HOMA - IR = \frac{\text{Glycémie} \times \text{insulinémie}}{20,5}$$

Avec glycémie en mmol/L et Insulinémie en MU/L

### Annexe 4 : Schéma de l'étude



**Annexe 5 : Compte rendu anatomopathologique standardisé****EXAMEN MACROSCOPIQUE**

N°anatomopathologique :

Pièce fraîche  Pièce fixée non épinglée  Pièce fixée épinglée 

Longueur de la résection : .....cm

Pour amputation : longueur canal anal : .....cm

Distance tumeur/tranche de section distale : .....cm

Pour amputation : Distance tumeur/ligne pectinée : .....cm Taille tumorale (diamètre maximum) : plus grand axe .....cm,

Pourcentage d'envahissement de la circonférence : ¼  ½  ¾  4/4 

\* si deuxième tumeur : utiliser une autre fiche

**Aspect de la tumeur**Bourgeonnante  Plane  Ulcérée Infiltrante  Ulcéro-bourgeonnante  Autre Perforation (si tumeur sus-péritonéale) : oui  non  Abcès mesorectum Adhérence/infiltration d'un autre organe : NON  OUI Vessie  Col  Vagin  Utérus  Paroi pelvienne Anse grêle  Segment colique  Prostate  Vésicule séminale **Mésorectum**Complet  Presque complet  Incomplet **Lésions associées**

OUI NON

Polypes :   Nombre : Taille : Sessile  Pédiculé Polypose :  Colite inflammatoire :  Prélèvements congelés NON  OUI **Autres prélèvements**

Collerette rectale :

Longueur : .... Cm Epaisseur : ....cm

Autres :

## EXAMEN MICROSCOPIQUE

### Type histologique

Pas de reliquat tumoral  Adénocarcinome lieberkuhnien   
 Bas grade   
 Haut grade   
 Carcinome indifférencié  Carcinome à cellules en bague à chaton   
 Carcinome colloïde (mucineux)  Autre : .....

### Niveau d'infiltration

Non évaluable (pTx)   
 Intra-épithélial ou intra-muqueux (pTis)   
 Sous-muqueuse (pT1)  sm1  sm2  sm3   
 Musculeuse (pT2)   
 Mesorectum ou sous-séreuse (pT3)   
 Séreuse (pT4a)   
 Organe adjacent (pT4b)   
 Lequel: .....

### Tranches de section chirurgicales

Marge proximale si maladie inflammatoire :  
 inflammation : oui  non  dysplasie : oui  non   
 Marge distale : .....mm  
 Etat de la tranche de section distale :  
 adénocarcinomateuse  adénomateuse  
 muqueuse rectale saine  muqueuse anale saine  
 Marge circonférentielle :  
 .....mm mesurée à partir  de la tumeur  d'un ganglion tumoral  d'un nodule tumoral

### Extension

Nombre de ganglions régionaux prélevés :  
 Nombre de ganglions régionaux métastatiques :  
 Nombre de ganglions non régionaux examinés :  
 Nombre de ganglions non régionaux métastatiques :  
 Emboles veineux extra-muraux : Oui  Non   
 Métastases péritonéales : Oui  Non

### Autres prélèvements

Collerette rectale : adénocarcinomateuse  adénomateuse  muqueuse rectale saine  muqueuse anale saine   
 Cytologie péritonéale : Non faite  Positive  Négative  Autres :

### CONCLUSION

Stade :  pTNM  ypTNM  
 pT0  pT1  pT2  pT3  pT4a  pT4b   
 N0  N1a  N1b  N1c  N2a  N2b

### Réponse tumorale selon Mandard :

TRG 1 : Régression Tumorale complète  
 TRG 2 : rares résidus tumoraux (cellules) dans la fibrose  
 TRG 3 : résidus tumoraux, Fibrose reste prédominante  
 TRG 4 : résidus tumoraux > Fibrose  
 TRG 5 : absence de régression tumoral

**Annexe n°6 : Le neoadjuvant rectal score (NAR score)**

Formule :

$$NAR = \frac{[5 pN - 3(cT - pT) + 12]^2}{9.61}$$

cT désigne le stade clinique tumoral compris entre 1 et 4

pT désigne le stade anatomopathologique tumoral compris entre 0 et 4

pN désigne le stade ganglionnaire tumoral compris entre 0 et 2

**AUTEUR : Nom : Leroy**

**Prénom : Thomas**

**Date de Soutenance : 10 juin 2016**

**Titre de la Thèse :**

**Résultats préliminaires de l'étude METCAP : intérêt de la metformine en association à une radiochimiothérapie néoadjuvante dans le traitement des cancers du rectum localement avancés.**

**Thèse - Médecine - Lille 2016**

**Cadre de classement : Oncologie**

**DES + spécialité : Oncologie option radiothérapie**

**Mots-clés :**

Radiothérapie ; cancer ; rectum ; metformine

**Résumé :**

**Contexte :** La metformine est un antidiabétique auquel sont attribuées des propriétés antinéoplasiques à partir de données in-vitro et de cohortes rétrospectives. L'objectif de cette étude était d'étudier l'efficacité et la tolérance de la metformine en association à une radiochimiothérapie néoadjuvante dans le traitement des cancers du rectum localement avancés.

**Méthode :** il s'agit d'une étude de phase II multicentrique non contrôlée évaluant la metformine à la dose de 2550 mg/j en association à une radiochimiothérapie néoadjuvante à base de capécitabine (1600 mg/j 5j/7) dans le traitement des cancers du moyen et du bas rectum classé T3-4N0-2M0 chez des patients non-diabétiques. Le critère de jugement principal de cette étude était le taux de réponse histologique complète. Les critères de jugements secondaires étaient le taux de downstaging tumoral, de préservation sphinctérienne et les taux de toxicités.

**Résultats :** Nous rapportons ici les résultats des 16 premiers patients inclus dans l'étude METCAP

Le taux de réponse histologique complète était de 7%. Le taux de downstaging tumoral était de 75% (IC95% 48-93%) et était associé à un taux de stérilisation ganglionnaire de 83%. Le taux de préservation sphinctérienne était de 44%. Aucun facteur prédictif de downstaging ou de réponse histologique complète n'a été mis en évidence. L'association de la radiochimiothérapie et de la metformine a été correctement tolérée. En dehors de 2 lymphopénie de grade 3 et d'une lymphopénie de grade 4, la seule toxicité de grade  $\geq 3$  liée au traitement observée était une diarrhée de grade 3

**Conclusion :** La metformine ne permet pas d'augmenter le taux de réponse histologique complète après radiochimiothérapie dans les cancers du rectum localement avancés. En revanche, elle semble pouvoir augmenter le taux de downstaging tumoral et pourrait avoir un impact sur le pronostic à long terme des patients.

**Composition du Jury :**

**Président : Pr Eric Lartigau**

**Assesseurs : Pr Gilles Créhange, Pr Mohamed Hebbar, Pr Christophe Mariette, Dr Xavier Mirabel**