

Université de Montréal

**ÉVALUATION DU LACTATE SANGUIN
CHEZ LES CHIENS ATTEINTS DE CANCER**

par

MAUDE TOURET

Département de sciences cliniques

Faculté de médecine vétérinaire

Mémoire présenté à la Faculté de médecine vétérinaire

en vue de l'obtention du grade de

maître ès sciences (M.Sc.)

en sciences vétérinaires

option sciences cliniques

Avril, 2010

© Maude Touret, 2010

Université de Montréal
Faculté de médecine vétérinaire

Ce mémoire intitulé

**ÉVALUATION DU LACTATE SANGUIN
CHEZ LES CHIENS ATTEINTS DE CANCER**

présenté par

MAUDE TOURET

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes

Marie-Claude Blais, présidente-rapporteuse

Marie-Eve Nadeau, directrice de recherche

Søren Boysen, codirecteur

Derek Boerboom, membre du jury

RESUME

Malgré le manque d'études sur ce sujet, le cancer est considéré comme une des principales causes d'hyperlactatémie de type B chez le chien. Les cellules malignes ont une production accrue de lactates secondaire à une glycolyse aérobie accrue, via l'effet Warburg. Les mécanismes ne sont pas encore clairement établis mais certains auteurs suggèrent que le cancer pourrait causer une hyperlactatémie via l'effet Warburg. Cette étude a pour objectif de déterminer si les tumeurs malignes peuvent être associées à une hyperlactatémie cliniquement significative ($\geq 2,5$ mmol/L) chez le chien.

Trente-sept chiens atteints de tumeurs malignes ont été recrutés (22 atteints de tumeurs hématopoïétiques et 15 de tumeurs non hématopoïétiques). Le diagnostic était confirmé par analyse histologique, ou cytologique en cas de lymphome. Les autres causes possibles d'hyperlactatémie étaient écartées puis la mesure des lactates sanguins était réalisée sur sang veineux jugulaire immédiatement analysé avec le LactatePro[®].

Aucun chien n'était hyperlactatémique. La concentration moyenne en lactates sanguins était de 1,09 mmol/L. La concentration moyenne en lactates sanguins pour les chiens atteints de tumeurs non hématopoïétiques et hématopoïétiques était respectivement de 0,95 mmol/L et de 1,19 mmol/L. Les chiens atteints de lymphome (n=18) avaient une concentration moyenne en lactates sanguins de 1,15 mmol/L.

Les tumeurs malignes ne sont pas associées à une hyperlactatémie de type B cliniquement significative chez le chien. L'hyperlactatémie tumorale est donc une complication rare chez le chien. Son diagnostic devrait conduire à une investigation minutieuse des autres causes d'hyperlactatémie.

Mots clés : Lactate ; Cancer ; Warburg ; Hyperlactatémie ; Chien

ABSTRACT

Cancer is considered a cause of type B hyperlactatemia in dogs. However, studies evaluating cancer as a cause of clinically relevant type B hyperlactatemia (≥ 2.5 mmol/L) are lacking. It is well accepted that cancer cells have a higher lactate production due to increased aerobic glycolysis, known as the Warburg effect. The mechanisms through which aerobic glycolysis occurs are not well elucidated but it has been suggested that neoplasia may cause type B hyperlactatemia via this process.

The aim of this study is to determine if canine malignant tumors could be associated with a clinically relevant type B hyperlactatemia (≥ 2.5 mmol/L).

Thirty-seven dogs with malignant tumors were included: 22 with hematopoietic and 15 with solid tumors. Histology was used to confirm the diagnosis (cytology was considered appropriate for lymphoma). Confounding factors associated with hyperlactatemia were excluded. Lactate measurements were obtained from a free flow jugular whole blood sample and immediately analyzed using the LactatePro[®].

All dogs had lactate values less than 2.5 mmol/L. The mean blood lactate concentration was 1.09 mmol/L. The mean blood lactate concentration for solid and hematopoietic tumor was 0.95 mmol/L and 1.19 mmol/L respectively. Dogs with lymphoma (n = 18) had a mean blood lactate concentration of 1.15 mmol/L.

Malignant tumors were not considered a cause of clinically relevant type B hyperlactatemia. Therefore, cancer related type B hyperlactatemia in dogs with cancer is uncommon and its diagnosis should prompt careful investigation for causes other than cancer.

Keywords: Lactate; Cancer; Warburg; Hyperlactatemia; Dog

TABLE DES MATIERES

| | |
|------------------------------|------|
| RESUME | i |
| ABSTRACT | ii |
| LISTE DES TABLEAUX | vi |
| LISTE DES FIGURES | vii |
| LISTE DES ABREVIATIONS | viii |
| REMERCIEMENTS | ix |
| INTRODUCTION | 1 |

PARTIE 1 – RECENSION DE LITTERATURE

| | |
|--|-----------|
| 1. METABOLISME GLUCIDIQUE ET FORMATION DE LACTATES | 4 |
| 1.1. GLYCOLYSE | 4 |
| 1.2. FORMATION DE LACTATES | 7 |
| 1.3. CLAIRANCE DES LACTATES | 9 |
| 2. HYPERLACTATEMIE | 10 |
| 2.1. DEFINITION DE L'HYPERLACTATEMIE | 10 |
| 2.2. CLASSIFICATION DES HYPERLACTATEMIES | 12 |
| 2.3. FACTEURS INFLUENÇANT LA MESURE DES LACTATES SANGUINS | 14 |
| 2.3.1. APPAREILS DE MESURE | 14 |
| 2.3.2. SITE DE PONCTION | 14 |
| 2.3.3. CONSERVATION DES ECHANTILLONS | 15 |
| 2.3.4. STRESS | 16 |

| | |
|---|-----------|
| 2.3.5. FLUIDOTHERAPIE | 16 |
| 2.4. EFFET WARBURG | 18 |
| 3. EFFET WARBURG : SIMPLE CONSEQUENCE DU CANCER ? | 19 |
| 3.1. MUTATIONS GENETIQUES | 19 |
| 3.2. ALTERATIONS MITOCHONDRIALES | 24 |
| 3.3. ADAPTATION AUX CONDITIONS HYPOXIQUES | 25 |
| 4. EFFET WARBURG : UN CRITERE DE MALIGNITE ? | 27 |
| 5. SIGNIFICATION CLINIQUE DE L'EFFET WARBURG | 31 |
| 5.1. CACHEXIE TUMORALE | 31 |
| 5.2. CAS D'HYPERLACTATEMIE RAPPORTES CHEZ DES PATIENTS CANCEREUX | 34 |

PARTIE 2 – PRESENTATION DES RESULTATS (PAR ARTICLES)

1. ÉTUDE RETROSPECTIVE

Touret M, Boysen SR, Nadeau ME. Evaluation of potential causes associated with clinically relevant hyperlactatemia in dogs with lymphoma. *J Vet Intern Med* – Submitted in 2010.....

38

2. ÉTUDE PROSPECTIVE

Touret M, Boysen SR, Nadeau ME. Prospective evaluation of clinically relevant type B hyperlactatemia in dogs with cancer. *J Vet Intern Med* – Submitted in 2010.....

54

PARTIE 3 – DISCUSSION GENERALE DES RESULTATS

| | |
|--|-----------|
| 1. HYPERLACTATEMIE TUMORALE : UNE COMPLICATION RARE | |
| CHEZ LES CHIENS ATTEINTS DE CANCER | 68 |
| 2. EFFET WARBURG SANS REPERCUSSION SYSTEMIQUE ? | 70 |
| 3. LIMITES DE L'ETUDE | 71 |
| 4. INTERET CLINIQUE | 72 |
| | |
| CONCLUSION | 75 |
| REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES | 76 |
| ANNEXE | i-2 |

Liste des Tableaux

| | |
|--|----|
| Tableau I. Classification des hyperlactatémies de type A | 12 |
| Tableau II. Principales causes d'hyperlactatémie de type B et leurs mécanismes | 13 |
| Tableau III. Classification des principaux oncogènes | 22 |
| Tableau IV. Altérations métaboliques lors de cachexie tumorale | 33 |

LISTE DES FIGURES

| | |
|---|----|
| Figure 1. Étapes de la glycolyse | 5 |
| Figure 2. Schématisation du métabolisme énergétique glucidique en conditions aérobie vs anaérobie | 6 |
| Figure 3. Structure chimique du lactate | 7 |
| Figure 4. Cycle de Cori | 10 |
| Figure 5. Schématisation de la liaison de l'enzyme HK-II sur le récepteur VDAC, couplé à l'ATP synthasome | 23 |
| Figure 6. Caractéristiques du phénotype malin | 27 |
| Figure 7. Exemple de coopération pour l'acquisition du phénotype malin entre VEGF et l'effet Warburg | 30 |

LISTE DES ABREVIATIONS

| | |
|--------|--|
| ADN | Acide DésoxyriboNucléique |
| Akt | Sérine Thréonine Kinase |
| ALP | Phosphatase alcaline |
| ARNm | Acide RiboNucléique messenger |
| ATP | Adénosine TriPhosphate |
| CHUV | Centre Hospitalier Universitaire Vétérinaire |
| FMV | Faculté de Médecine Vétérinaire |
| GLUT-1 | Transporteur de Glucose de type 1 |
| HIF-1 | <i>Hypoxia Inductible Factor -1</i> |
| HK | Hexokinase |
| HK-II | HexoKinase de type II |
| IL | Interleukine |
| LDH-A | Lactate DésHydrogénase de type A |
| NAD | Nicotinamide Adénine Dinucléotide |
| PDH | Pyruvate DésHydrogénase |
| PDK | Pyruvate Déshydrogénase Kinase |
| PET | Tomographie Positron-Emission |
| PFK | PhosphoFructoKinase |
| PK | Pyruvate Kinase |
| ROS | <i>Reactive Oxygen Species</i> |
| VDAC | <i>Voltage Dependent Anion Channel</i> |
| VEGF | <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i> |

REMERCIEMENTS

En préambule à ce mémoire, je souhaiterais adresser mes remerciements les plus sincères à toutes les personnes qui m'ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de cette étude.

Je tiens à remercier sincèrement Marie-Eve Nadeau, qui, en tant que directrice de recherche, s'est toujours montrée à l'écoute et très disponible tout au long de la réalisation de ce travail. Pour ses conseils, sa patience, sa gentillesse et le temps qu'elle m'a consacré.

Mes remerciements s'adressent aussi à Soren Boysen, qui, en tant que codirecteur, a su se montrer très présent. Pour son soutien, sa gentillesse et sa disponibilité.

Je remercie également Guy Beauchamp pour sa patience, sa disponibilité et son aide concernant l'analyse statistique.

A tous les cliniciens, résidents, internes et techniciennes du CHUV pour leur aide précieuse dans le recrutement et dans la prise en charge des patients.

Aux généreux donateurs du Fonds de Santé des Animaux de Compagnie (FSAC) pour avoir soutenu financièrement cette étude.

Bien évidemment, à tous les propriétaires et leurs chiens des plus coopératifs sans qui la réalisation de ce travail n'aurait pu être possible.

Je tiens à exprimer ma reconnaissance envers Marie-Claude Blais et Derek Boerboom qui ont eu la gentillesse de lire et corriger ce travail.

Enfin, j'adresse mes plus sincères remerciements à tous mes proches et amis, qui m'ont toujours soutenue et encouragée.

Merci à tous et à toutes.

INTRODUCTION

Le cancer est la première cause de mortalité chez nos animaux domestiques¹. De par leur fréquence, leur incidence croissante et leur issue souvent fatale, les tumeurs malignes constituent une préoccupation majeure en médecine vétérinaire. Il semblerait que les chiens atteints de tumeurs malignes, et plus particulièrement atteints de tumeurs hématopoïétiques, présentent une élévation de leur concentration sanguine en lactates².

Il est certes reconnu que le métabolisme glucidique est différent chez les patients cancéreux. L'explication découlerait de l'installation d'une cachexie tumorale et/ou encore de l'effet Warburg. L'effet Warburg, ou glycolyse aérobie, correspond à la conversion du glucose en lactate en présence d'oxygène. Ce phénomène a été décrit pour la première fois par Otto Warburg dans les années 1930. Il montra que les cellules tumorales présentaient un métabolisme glucidique accru et émit l'hypothèse que le cancer résultait de défauts mitochondriaux^{3, 4}. Bien que cette hypothèse fût remise en question à plusieurs reprises, ses observations expérimentales ont été répétées *in vitro* et *in vivo*⁵⁻⁷. Aujourd'hui, l'intérêt grandissant porté à l'oncologie et les progrès réalisés dans le domaine de l'imagerie ont permis de valider l'observation de Warburg. En effet, la technique de tomographie positron-émission (PET) montre de façon non équivoque que les cellules malignes ont un métabolisme du glucose augmenté, tant au niveau des sites de métastases qu'au niveau de la tumeur elle-même^{8, 9}. L'effet Warburg existe donc au sein des cellules tumorales. Les cellules malignes ont une activité de glycolyse augmentée, même en présence d'oxygène, ce qui a pour conséquence une augmentation de la production de lactates.

La littérature documente une trentaine de cas de tumeurs hématopoïétiques chez l'homme présentant une hyperlactatémie cliniquement significative dont l'effet Warburg en serait l'origine¹⁰⁻¹⁴. Toutefois, certains facteurs qui pourraient contribuer à une hyperlactatémie¹⁵, comme une insuffisance hépatique ou l'administration de certaines drogues, n'ont pas été évalués dans ces cas rapportés.

En médecine vétérinaire, une seule étude montra que les chiens atteints de lymphome avaient des concentrations sanguines en lactate significativement plus élevées que celles de la population contrôle¹⁶. En revanche, les concentrations sanguines en lactates des chiens atteints de lymphome ne dépassaient pas la limite supérieure établie à 2,5 mmol/L chez le chien^{17, 18}.

Notre étude rétrospective préalable portant sur des chiens atteints de lymphome présentés dans un service d'urgence, montra que la plupart des chiens hyperlactatémiques atteints de lymphome avaient au moins une autre condition pouvant expliquer ou contribuer à une hyperlactatémie. A date, aucune étude prospective n'a encore documenté d'association entre le cancer et une hyperlactatémie cliniquement significative chez le chien. Pourtant de nombreux ouvrages de référence en médecine vétérinaire¹⁹⁻²⁵ incluent le cancer, notamment le lymphome canin, comme principal diagnostic différentiel lors d'hyperlactatémie de type B, *i.e.* en l'absence d'hypoperfusion.

Utilisée depuis une trentaine d'années en médecine humaine dans les unités de soins intensifs, la mesure des lactates sanguins a une importance clinique reconnue. Elle constitue à la fois un outil diagnostique d'hypoperfusion, une aide à la prise de décision thérapeutique, et peut s'avérer être un facteur pronostique intéressant. Avec l'arrivée sur le marché d'appareil de mesure portatifs, peu coûteux, simples et rapides d'utilisation, l'intérêt pour les lactates est désormais en plein essor en médecine vétérinaire. Ainsi, la mesure des lactates sanguins chez les chiens atteints de tumeurs malignes serait décisive puisqu'elle permettrait d'identifier une population de patients critiques, plus ou moins stables, et pourrait aussi être un outil pronostique tel qu'établi en médecine humaine^{10, 11}.

Plusieurs facteurs comme le site de ponction¹⁸, la technique de prélèvement^{26, 27}, la conservation des échantillons sanguins^{26, 28}, la mise en place d'une fluidothérapie intraveineuse^{29, 30} dépendamment du débit et du type de soluté peuvent influencer significativement la mesure des lactates sanguins. Pour l'étude présentée, nous retiendrons que les conditions idéales quant à la mesure des lactates sanguins reposent sur un prélèvement sanguin jugulaire dans un tube sec ou hépariné,

dans les meilleures conditions possibles, soit sans compression veineuse prolongée et sans stress pour l'animal. La mesure sera réalisée immédiatement, à l'aide de l'analyseur portatif LactatePro® dont la fiabilité a été démontrée^{31,32}.

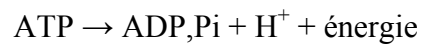
Nous proposons donc de déterminer, de façon prospective, si les tumeurs malignes peuvent être associées à une hyperlactatémie cliniquement significative, soit excédant les 2,5 mmol/L, tout en excluant les autres causes possibles d'hyperlactatémie chez le chien. Dans un premier temps, nous réviserons la littérature actuelle sur la formation des lactates et l'effet Warburg. Nous discuterons des causes et des conséquences potentielles de cet effet dans le but de mieux objectiver nos hypothèses de travail. L'objectif de notre étude est de déterminer, de façon prospective, si les tumeurs malignes peuvent être associées à une hyperlactatémie cliniquement significative, *i.e.* $\geq 2,5$ mmol/L, en excluant les autres causes possibles d'hyperlactatémie. La revue de littérature précédemment présentée nous conduira à émettre l'hypothèse selon laquelle les tumeurs malignes peuvent être associées à une hyperlactatémie cliniquement significative en excluant les autres causes possibles d'hyperlactatémie. Nos résultats seront ensuite présentés sous forme d'articles puis discutés dans une dernière partie.

PARTIE 1 – RECENSION DE LITTERATURE

1. METABOLISME GLUCIDIQUE ET FORMATION DE LACTATES

1.1. GLYCOLYSE

La fonction cellulaire nécessite une consommation permanente d'énergie. L'organisme a alors besoin de structures de stockage et de transport d'énergie, faciles à utiliser, flexibles et disponibles en tout temps. L'énergie cellulaire est stockée sous forme d'adénosine triphosphate (ATP). Son hydrolyse conduit à la production d'énergie selon la réaction suivante :



Physiologiquement, la production d'ATP se fait à partir du glucose, en présence d'oxygène, via la glycolyse suivie de l'étape de phosphorylations oxydatives³³. Le métabolisme énergétique repose principalement sur la glycolyse aérobie.

Chez les mammifères, toutes les cellules métabolisent le glucose via la glycolyse. C'est une voie métabolique spécifique au glucose qui consiste en une succession de dix réactions enzymatiques transformant le glucose en pyruvate (Figure 1. p5). La glycolyse joue un rôle clé dans le métabolisme énergétique, elle fournit une quantité d'énergie importante à l'organisme.

Dans les voies métaboliques, les sites potentiels de contrôle sont les enzymes qui catalysent des réactions irréversibles. Lors de la glycolyse, les réactions catalysées par l'hexokinase (HK), la phosphofructokinase (PFK) et la pyruvate kinase (PK) sont irréversibles ; on peut donc s'attendre à ce que ces enzymes aient des rôles clés dans la régulation de la glycolyse³⁴.

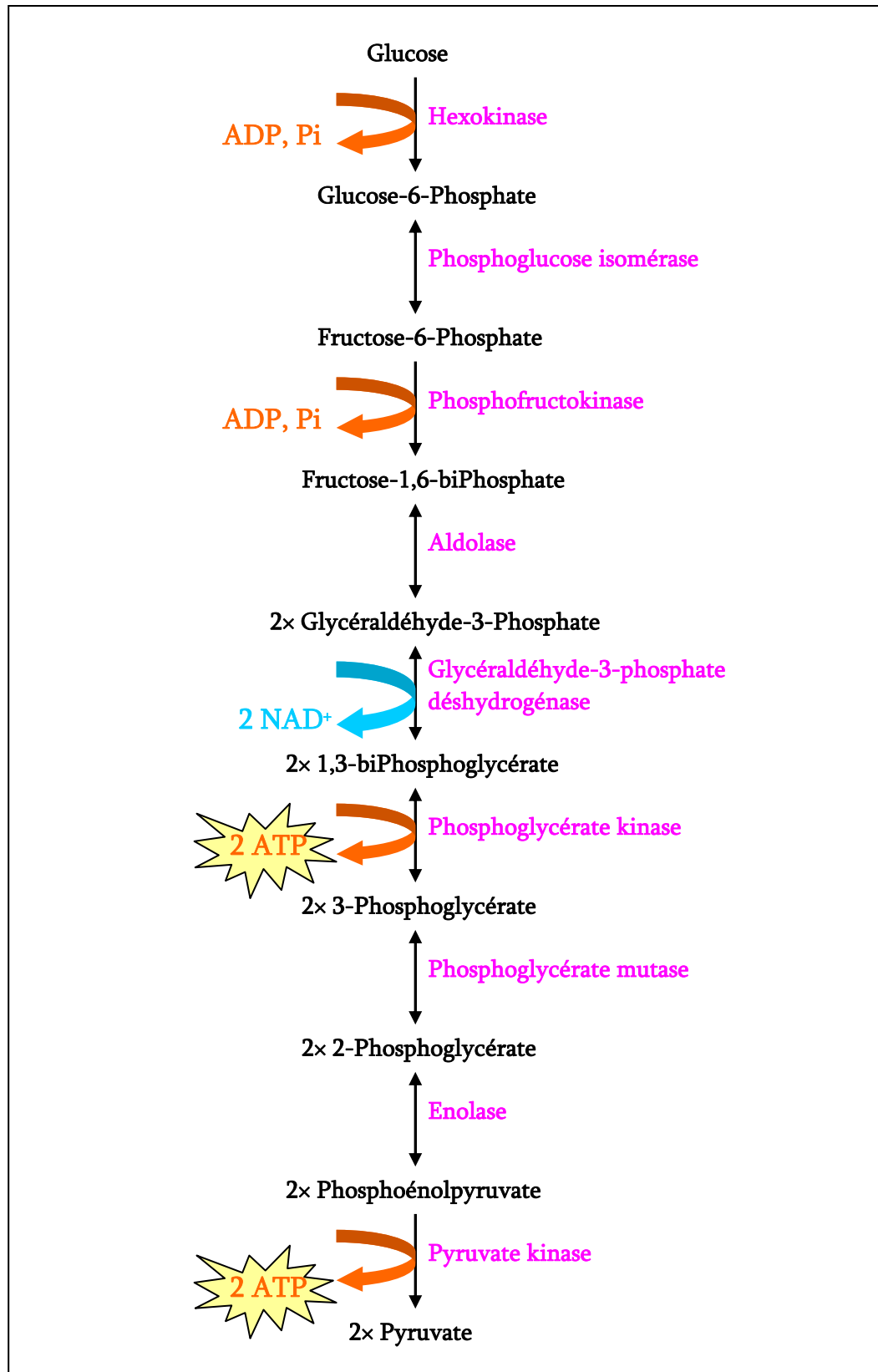


Figure 1. Étapes de la glycolyse³³.

En présence d'oxygène, le pyruvate issu de la glycolyse entre dans les mitochondries. Il est converti en acétylCoA et intègre le cycle de Krebs, ou cycle de l'acide citrique (Figure 2. p6). L'oxydation du pyruvate se termine par les étapes de phosphorylations oxydatives. L'oxygène est requis indirectement puisqu'il est l'accepteur final d'électrons nécessaires à la régénération de NAD^+ lors de la phosphorylation oxydative³⁴.

En conclusion, en condition aérobie, une molécule de glucose permet la formation de 36 molécules d'ATP, selon l'équation de réaction :

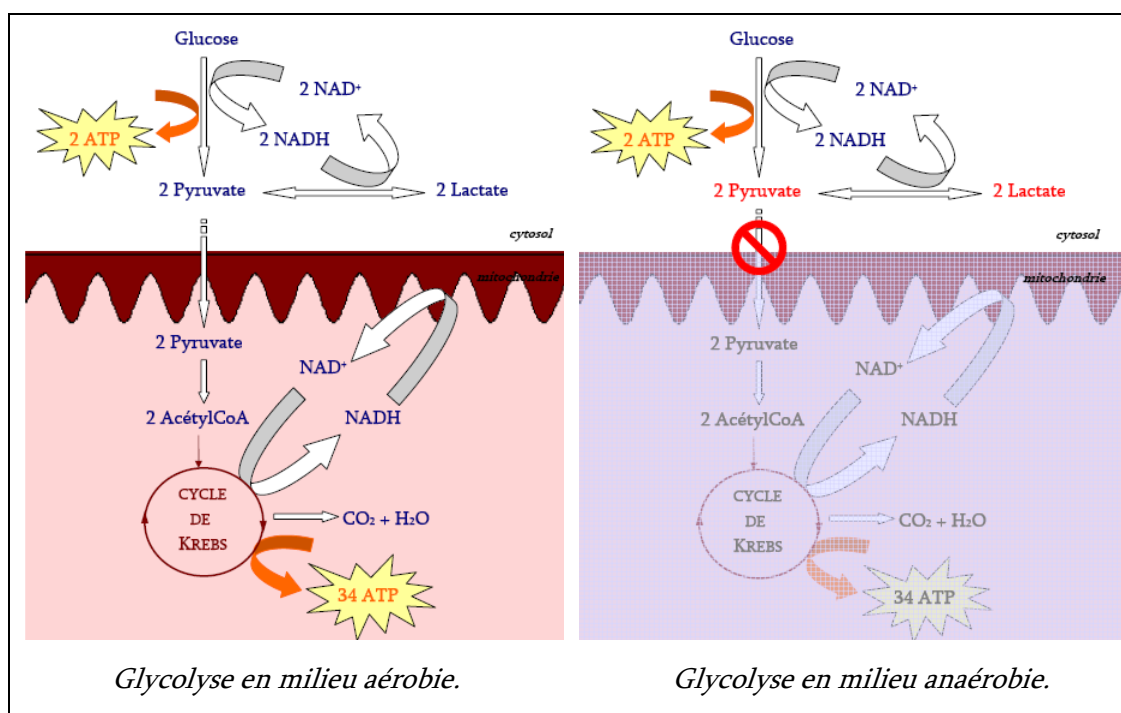
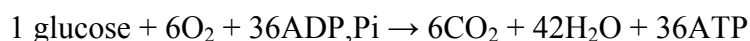


Figure 2. Schématisation du métabolisme énergétique glucidique en conditions aérobie vs anaérobie^{15, 35}. En présence d'oxygène, les étapes mitochondriales (cycle de Krebs et phosphorylations oxydatives) succèdent à la glycolyse. En anaérobiose, le pyruvate issu de la glycolyse ne rentre plus dans les mitochondries, il s'accumule et forme des lactates, régénérant ainsi NAD^+ indispensable à la glycolyse, désormais seule source d'énergie (ATP).

En milieu anaérobie en revanche, le pyruvate n'entre plus dans les mitochondries, il ne peut pas rejoindre le cycle de Krebs (Figure 2. p6). La production d'énergie à partir du glucose ne repose plus que sur la glycolyse. Le rendement énergétique de la glycolyse seule est moindre puisqu'il permet de générer 2 molécules d'ATP seulement par molécule de glucose selon l'équation de réaction :



La régénération de NAD^+ est alors indispensable pour que la glycolyse continue à fonctionner. Cette régénération repose sur la formation de lactate depuis le pyruvate, selon la réaction catalysée par l'enzyme spécifique L-lactate déshydrogénase (LDH) :



La formation de lactate est donc une étape indispensable pour maintenir une activité de glycolyse continue, seule source d'énergie sous forme d'ATP en condition anaérobie^{27, 34}.

Les muscles squelettiques, le cerveau, les hématies (dépourvues de mitochondrie) et la médulla rénale sont les principaux sites producteurs de lactates¹⁵.

1.2. FORMATION DE LACTATES

Le lactate, ou 2hydroxypropanoate (Figure 3. p7), existe sous deux formes selon la position de la fonction alcool au niveau de son carbone asymétrique : L-lactate et D-lactate. Les deux stéréoisomères ou énantiomères possèdent des caractéristiques physico-chimiques comparables³⁴.

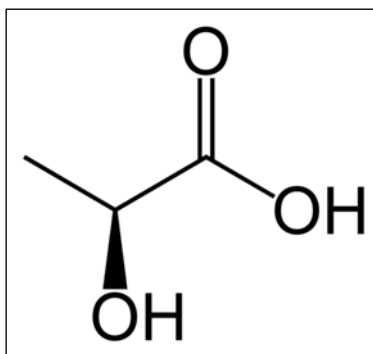
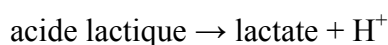


Figure 3. Structure chimique du lactate.

Les cellules des mammifères produisent majoritairement la forme L-lactate. En effet, les cellules de mammifères ne possèdent pas l'enzyme D-lactate déshydrogénase permettant la formation de D-lactate^{36, 37}. Toutefois, du D-lactate peut être présent dans le sang de manière physiologique à des concentrations nanomolaires. Chez les mammifères, les sources de D-lactates sont exogènes et nécessitent la fermentation des bactéries présentes dans le tube digestif (lactobacilles principalement)³⁸. Cependant des concentrations sanguines plus importantes de D-lactate ont été rapportées lors de diabète acido-cétosique^{36, 38, 39}, de sepsis⁴⁰, ou encore lors d'ingestion de propylène glycol chez le chat³⁶. Chez l'homme, le *short bowel syndrome*³⁹, ou syndrome de l'intestin court, et certains cas de pancréatites chroniques ou d'insuffisances du pancréas exocrine sont associés à une acidose de type D-lactique³⁶ d'origine bactérienne. Les signes cliniques associés à une élévation du D-lactate sanguin sont essentiellement des troubles neurologiques^{38, 41}.

Dans cette étude, nous nous intéresserons uniquement au L-lactate. Afin d'alléger le texte, le terme lactate sera employé pour L-lactate dans ce mémoire.

Avec un pKa de 3,86, l'acide lactique est un acide fort. Au pH physiologique (7,35), l'acide lactique est transformé en lactate. Il y a alors libération d'un proton H⁺, suivant la réaction :



Le lactate provient du pyruvate issu de la glycolyse via la réaction catalysée par la LDH. Cette réaction est réversible et est soumise à la loi d'action de masse. Il en découle que la concentration cellulaire en lactate dépend de trois facteurs déterminants :

- la concentration en pyruvate ;
- le rapport NADH/NAD⁺ ;
- le pH (concentration en H⁺).

1.3. CLAIRANCE DES LACTATES

La petite quantité de lactates produite en conditions normales est majoritairement prise en charge par le foie et le cortex rénal²⁷. En effet, 60 à 70% de la clairance des lactates est assurée par le foie, tandis que le cortex rénal prend en charge 20 à 30% des lactates¹⁵. En cas d'hyperlactatémie, les muscles squelettiques peuvent aussi prendre en charge une petite quantité de lactates (oxydation). Notons que le myocarde utilise une petite quantité de lactates comme source d'énergie en conditions physiologiques.

Au niveau rénal, les lactates sont d'abord filtrés par le glomérule avant d'être réabsorbés par le tubule contourné proximal. Au final, l'excrétion urinaire des lactates n'excède pas 2%²⁷. La concentration sanguine en lactates peut alors être augmentée lors d'hypoperfusion rénale sévère⁴², plus précisément quand le flux sanguin rénal chute de 90%²⁷. Le rein n'est alors plus capable d'assurer la clairance des lactates et devient même producteur de lactates.

Le foie, lui, convertit tout d'abord le lactate en pyruvate, puis assure une transformation du pyruvate en glucose via la néoglucogenèse^{33, 34}. Le muscle squelettique en contraction produit du lactate, de par son augmentation de la glycolyse en condition anaérobie. Le foie va alors prendre en charge le lactate et produire du glucose qu'il redistribue aux cellules de l'organisme. Ces réactions constituent le cycle de Cori^{33,34} (Figure 4. p10).

Le recyclage hépatique des lactates est fortement compromis lors d'insuffisance hépatique sévère, touchant 70 à 80% de la fonction hépatique⁴³. Plusieurs études s'accordent sur le fait qu'un apport correct en oxygène est nécessaire pour un bon fonctionnement hépatique, par conséquent une bonne clairance des lactates^{42, 44}. La lactatémie augmente de manière significative lorsque la pression partielle en oxygène des veines hépatiques est inférieure à 24 mmHg²⁷. L'hypoxie et/ou l'hypoperfusion hépatique aboutissent à une augmentation des lactates sanguins

puisque, d'une part la clairance hépatique des lactates est diminuée et, d'autre part, le foie devient lui-même un producteur de lactates¹⁵.

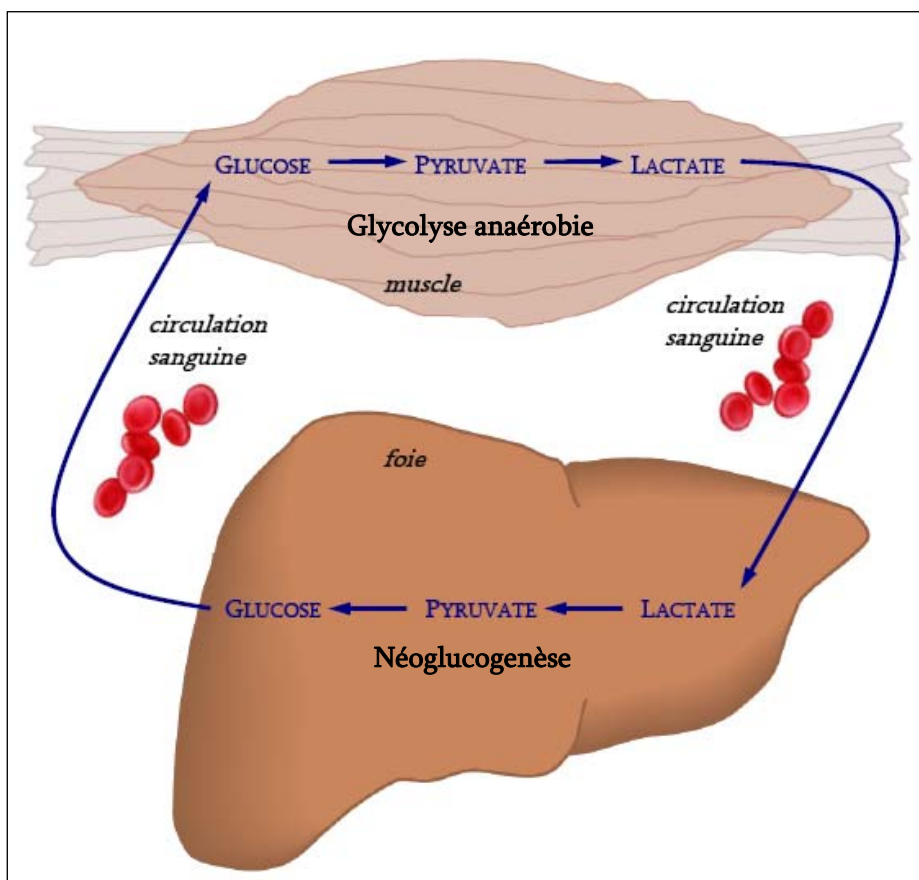


Figure 4. Cycle de Cori³³, montrant l'interaction entre le foie et les muscles squelettiques dans la prise en charge des lactates.

2. HYPERLACTATEMIE

2.1. DEFINITION DE L'HYPERLACTATEMIE

La concentration sanguine en lactates, ou lactatémie, est une concentration d'un état stationnaire qui résulte à la fois du flux de production et du flux d'élimination. L'interprétation d'une lactatémie nécessite donc une connaissance complète du métabolisme des lactates.

L'hyperlactatémie se définit comme une élévation pathologique des lactates sanguins par rapport aux valeurs usuelles. Chez l'homme la production physiologique de lactates est estimée à 18,4 mmol/kg/jour²⁰ et les valeurs des lactates sanguins sont comprises entre 0,8 et 2,5 mmol/L¹⁷. Chez l'homme, l'hyperlactatémie peut être caractérisée comme suit :

- Hyperlactatémie légère si les valeurs de lactates sanguins sont comprises entre 2,5 et 5,0 mmol/L ;
- Hyperlactatémie modérée si les valeurs de lactates sanguins sont comprises entre 5,0 et 7,0 mmol/L ;
- Hyperlactatémie sévère si les lactates sanguins excèdent 7,0 mmol/L. Cette situation est souvent associée à une acidose lactique.

Chez le chien, il est admis que la concentration veineuse en lactate chez un chien sain au repos est d'environ 1,5 mmol/L¹⁸. Un chien présentant une concentration sanguine en lactates supérieure à 2,5 mmol/L est considéré comme hyperlactatémique^{15, 35}. Aussi, la lactatémie est significativement plus élevée chez les chiots de moins de 28 jours d'âge. Elle atteint une valeur normale (comparable à celle d'un chien adulte) seulement vers l'âge de 70 à 80 jours⁴⁵.

L'hyperlactatémie s'explique par une augmentation de production des lactates, ou par une moins bonne utilisation des lactates par l'organisme *i.e.* une clairance diminuée, voire une combinaison des deux.

L'hyperlactatémie n'est pas toujours associée à une acidose lactique si les systèmes tampons sont capables de contrer la baisse de pH et si la perfusion des organes est adéquate²⁷. Lorsque que la valeur des lactates sanguins dépasse 5 mmol/L, avec un pH sanguin inférieur à 7,35, il y a acidose lactique. Ce phénomène est le plus souvent secondaire à une hypoxie tissulaire, une intoxication ou à des déficits congénitaux¹⁵.

2.2. CLASSIFICATION DES HYPERLACTATEMIES

L'hyperlactatémie est habituellement classée en deux types : l'hyperlactatémie de type A et l'hyperlactatémie de type B¹⁵.

L'hyperlactatémie de type A est toujours associée à de l'hypoxie tissulaire¹⁵. Toutes les causes d'hypoxie tissulaire (Tableau I. p12) peuvent donc être à l'origine d'une hyperlactatémie de type A, par exemple : un état d'hypoperfusion secondaire à une hypovolémie, une anémie sévère, ou encore un sepsis. L'hypoperfusion est la cause la plus fréquente d'hyperlactatémie de type A⁴⁶. Dans cette situation, le fonctionnement des mitochondries n'est pas altéré²⁰.

| Baisse d'apport en O ₂ : | Demande accrue en O ₂ : |
|---|--|
| <ul style="list-style-type: none"> - Anémie sévère (Hb < 12 g/L, Ht < 24%) - Choc cardiogénique⁴⁶ - Choc septique - Hémorragie - Hypovolémie⁴⁷ - Hypoxémie sévère (PaO₂ < 40 mmHg) - Sepsis* - Syndrome de réponse inflammatoire systémique | <ul style="list-style-type: none"> - Convulsions⁴⁶ - Exercice intense⁴⁸ - Tremblements¹⁸ - Stress |

Tableau I. Classification des hyperlactatémies de type A¹⁵. *Notons que le sepsis est souvent considéré mixte, i.e. classé dans les deux types d'hyperlactatémie (A et B)¹⁵. Le sepsis est une réponse inflammatoire systémique suite à une infection, pouvant s'accompagner d'une défaillance organique. Par conséquent, de l'hypoxie tissulaire, mais aussi une diminution de la clairance des lactates, ainsi qu'une relâche de catécholamines peuvent être présentes, les trois pouvant conduire à une hyperlactatémie. Abréviations : Hb hémoglobémie ; Ht hématoците.

A l'inverse, l'hyperlactatémie de type B n'est jamais associée à de l'hypoxie tissulaire²⁰¹⁵. C'est la fonction oxydative mitochondriale qui est déficiente²⁰. Les différentes causes d'hyperlactatémie de type B peuvent être réparties en trois catégories¹⁵ (Tableau II. p13).

| Mauvaise utilisation de l'oxygène : | |
|--|--|
| Anurie / Oligurie | Diminution de la clairance des lactates ^{15, 35, 46, 49} |
| Insuffisance hépatique | |
| Insuffisance rénale | |
| Sepsis* | |
| Syndrome inflammatoire | |
| Alcalose | Augmentation de la glycolyse en activant la PFK ^{15, 49} |
| Diabète mellitus (rare) | Diminution de l'oxydation des lactates au niveau musculaire et baisse d'activité de PDH ^{43, 49} |
| Néoplasie | Augmentation de la glycolyse par l'effet Warburg ^{4, 9, 11} |
| Nutrition parentérale totale ou déficit en thiamine | Baisse d'activité de la PDH ¹⁵ |
| Autres | |
| Défauts métaboliques congénitaux (assez rares en médecine vétérinaire). Par exemple, un déficit en PDH ⁵⁰ | |
| Déficit en biotine | Baisse d'activité de l'enzyme pyruvate carboxylase (impliquée la néoglucogenèse) ⁴⁹ |
| Toxiques | |
| Acétaminophène | Augmentation de la glycolyse, interférences avec la néoglucogenèse, et hépatotoxique à forte dose ¹⁵ |
| Bicarbonates | Augmentation de la glycolyse par activation de la PFK ¹⁵ |
| Catécholamines (adrénaline) | Augmentation du métabolisme tissulaire, amplification de la glycolyse, hyperglycémie et diminution de la clairance hépatique ⁵¹ |
| Terbutaline (bronchodilatateurs agonistes β 2-adrénergiques) | |
| Charbon activé (contient du glycérol +/- propylène glycol) | Absorption par la muqueuse digestive puis conversion en lactates et pyruvate au niveau du foie ^{15, 52} |
| Ethylène / Propylène glycol (solvant présent dans de nombreux médicaments, exemple lorazepam IV) | |
| Cyanide | Toxicité au niveau mitochondrial (phosphorylation oxydative) ^{15, 49} |
| Nitroprusside | |
| Glucocorticoïdes | Augmentation de la néoglucogenèse ⁵³ |
| Halothane | Toxicité hépatique ⁴⁹ |
| Monoxyde de carbone (CO) | Formation de carboxyhémoglobine \rightarrow type A ¹⁵ |
| Salicylates | Inhibition directe du métabolisme oxydatif \rightarrow alcalose ^{46, 49} |
| Strychnine et autres toxiques convulsivants | Convulsions \rightarrow type A ⁴⁶ |

Tableau II. Principales causes d'hyperlactatémie de type B et leurs mécanismes¹⁵.
 Abréviations : PDH pyruvate déshydrogénase, enzyme transformant le pyruvate en AcétylCoA entre la glycolyse et le cycle de Krebs ; PFK phosphofructokinase, enzyme clé de la glycolyse. *Notons que le sepsis est souvent considéré mixte, i.e. classé dans les deux types d'hyperlactatémie (A et B)¹⁵. Le sepsis est une réponse inflammatoire systémique suite à une infection, pouvant s'accompagner d'une défaillance organique. Par conséquent, de l'hypoxie tissulaire, mais aussi une diminution de la clairance des lactates, ainsi qu'une relâche de catécholamines peuvent être présentes, les trois pouvant conduire à une hyperlactatémie.

2.3. FACTEURS INFLUENÇANT LA MESURE DES LACTATES SANGUINS

2.3.1. APPAREILS DE MESURE

En pratique, plusieurs types d'analyseurs portatifs sont disponibles pour la mesure des lactates sanguins. Ces analyseurs sont facilement accessibles, peu coûteux et très pratique d'utilisation. Aussi simple d'utilisation qu'un glucomètre, ils donnent généralement un résultat dans la minute. Une étude a comparé plusieurs analyseurs portables pour la mesure des lactates sanguins chez le chien : méthode colorimétrique (Accutrend®Lactate, Roche Diagnostics, Basel, Suisse), méthode ampérométrique (LactatePro® ; LactateScout®, SensLab GmbH, Leipzig, Allemagne et iSTAT®, Abbott Laboratories, Abbott Park, Illinois, US) avec une méthode de référence en laboratoire (électrode de platine)³¹. Les analyseurs ampérométriques ont obtenus la meilleure corrélation avec la méthode de référence testée, plus particulièrement le LactatePro®³¹. En revanche, l'analyseur portatif choisi pour réaliser l'étude, LactatePro®, aurait tendance à sous-évaluer légèrement les mesures de lactates sanguins par rapport à l'analyseur de gaz sanguin NOVA®, Nova Biomedical, Waltham, Massachusetts, USA. Cette différence semble être amplifiée pour les valeurs élevées de lactate. Toutefois aucune différence statistiquement significative n'a été observée entre une mesure faite au LactatePro® et une mesure faite par l'analyseur de gaz sanguin NOVA®³².

2.3.2. SITE DE PONCTION

Le site de ponction peut avoir une influence mineure sur le dosage des lactates, particulièrement quand le prélèvement s'effectue au niveau de veines périphériques qui ont tendance à refléter la concentration locale en lactates plutôt que la lactatémie systémique de l'organisme. Plusieurs études ont montré qu'il existe des différences significatives selon le site de ponction, toutefois ces différences sont sans conséquence clinique¹⁸. Toutefois, les prélèvements au niveau de la veine de l'oreille sont fortement déconseillés⁵⁴.

En théorie, le sang artériel est plus représentatif de la concentration systémique en lactate, puisque non influencé par les variations locales de lactates. Le sang veineux céphalique présente un taux de lactates significativement plus élevé que celui du sang artériel fémoral, lui-même plus élevé que celui du sang veineux jugulaire¹⁸. Ces différences, certes statistiquement significatives, n'ont toutefois aucune répercussion clinique.

Il est aussi possible de noter une augmentation significative du taux de lactates après une occlusion ou une compression prolongée de la veine (30-60 secondes). C'est pourquoi, la méthode de choix prélèvement pour doser les lactates sanguins est la méthode « free-flow »²⁷. Cette méthode consiste en une légère compression veineuse afin de visualiser le site de ponction, une fois l'aiguille dans la veine, la compression est relâchée et le sang est ainsi prélevé sans compression veineuse.

2.3.3. CONSERVATION DES ECHANTILLONS

La mesure des lactates sanguins à partir de plasma ou de sang total est significativement différente¹⁷. Elle est plus élevée si elle est réalisée sur du plasma ou du sérum par rapport au sang total²⁶. Cette différence est statistiquement significative mais n'a pas d'influence d'un point de vue clinique. Pour des raisons pratiques avant tout, pour gagner du temps, la centrifugation étant une étape supplémentaire, il est recommandé de mesurer les lactates sur un prélèvement de sang total²⁶.

Étant dépourvues de mitochondrie, les hématies sont des cellules productrices de lactates. Cette production continue après le prélèvement, ainsi la concentration en lactate augmenterait de plus de 10% en 15 minutes²⁸, pour atteindre une augmentation de 20% par heure de conservation à 25°C²⁷. Quoiqu'il en soit, cette augmentation pourrait avoir des répercussions non négligeables sur le diagnostic ou sur la prise en charge thérapeutique du patient. C'est pourquoi il est recommandé d'analyser l'échantillon dans les 5 minutes suivant le prélèvement²⁸.

Si la mesure des lactates ne peut se faire immédiatement, l'échantillon sanguin doit être conservé dans un tube contenant du fluorure de sodium (NaF), qui est un inhibiteur de plusieurs enzymes de la glycolyse. Une étude rapporte qu'il n'y a pas d'effet significatif du temps de conservation, ni de la température sur les taux plasmatiques de lactates, si le sang prélevé est placé dans un tube NaF et immédiatement centrifugé⁵⁵. Notons que la conservation dans de la glace n'arrête pas la production de lactates.

Pour ce qui est du choix de l'anticoagulant, le citrate est déconseillé puisqu'il se lie avec les lactates, il en résulte une mesure des lactates sanguins plus basse qu'elle n'est en réalité²⁶. En revanche, aucune différence significative n'a pu être établie entre l'utilisation d'EDTA, d'héparine (sodium ou lithium) pour la mesure des lactates sanguins²⁶. D'autres études conseillent d'utiliser l'héparine (sodium) comme anticoagulant pour effectuer une mesure de lactates sanguins^{17,28}.

2.3.4. STRESS

Le stress peut causer une augmentation des lactates sanguins due à la décharge de catécholamines⁴³. Aucune étude clinique n'a été réalisée chez le chien, mais une étude rapporte, chez le chat, une augmentation significative des lactates sanguins (10 fois), lorsque les animaux sont stressés, comme ici après leur avoir donné un bain⁵⁶. Il convient alors d'éviter de stresser l'animal pendant le prélèvement afin d'obtenir une mesure des lactates sanguins la moins biaisée possible.

2.3.5. FLUIDOTHERAPIE

La mise en place d'une fluidothérapie intraveineuse pourrait avoir une influence sur la mesure des lactates sanguins. Plusieurs facteurs rentreraient en jeu : le type de soluté, le débit et la durée d'administration, mais aussi le statut du patient. La solution de lactate de Ringer (LRS) contient 28 mEq/L de lactates répartis selon les certains fabricants sous forme d'un mélange racémique 50% de L-lactates et 50%

de D-lactates²⁰. L'administration de bolus de 15-20 mL/kg de LRS n'aurait pas d'influence sur la mesure des lactates chez des patients sains²⁷. Une autre étude réalisée chez l'homme en bonne santé n'a pas montré de variation dans la mesure des lactates sanguins suite à l'administration de LRS ou de saline à un débit de 1L/h²⁹. En revanche, l'administration de solutés dextrosés au même débit a provoqué une augmentation significative de la mesure des lactates sanguins²⁹. Une possible augmentation des lactates sanguins pourrait aussi se produire juste après l'initiation de la fluidothérapie suite à une relâche des déchets tissulaire (dont les lactates peuvent faire partie) dans la circulation sanguine²⁰. Aucune précision n'est à ce jour disponible sur l'intensité et les délais de ce phénomène.

De plus, les chiens atteints de lymphome présentent un métabolisme glucidique altéré ne leur permettant pas de prendre en charge les lactates qui leur seraient apportés par un plan de fluidothérapie².

Aussi, des études réalisées *in vitro* ont démontré que l'addition de LRS ou de glucosé 5% dilué dans du LRS dans un tube de sang augmentait significativement la mesure des lactates, de façon volume dépendant³⁰. A l'inverse, l'ajout d'autres solutions ne contenant pas de lactates dans les tubes de sang diminuait significativement le dosage des lactates, de façon là encore volume dépendant, reflétant en réalité un effet de dilution³⁰. Ces observations ont des répercussions importantes lors de prélèvements sanguins réalisés à partir d'un cathéter mis en place au départ pour assurer un plan de fluidothérapie. Ainsi, le faible volume de fluide contenu dans le cathéter influencera de manière significative la mesure de la lactatémie du patient³⁰ (fausse hyperlactatémie si la fluidothérapie contient des lactates, et effet de dilution si la fluidothérapie ne contient pas de lactates). Il convient donc d'éviter de prélever du sang via un cathéter pour la mesure des lactates.

2.4. EFFET WARBURG

Chez les mammifères, en présence d'oxygène, la glycolyse est normalement inhibée, c'est l'effet Pasteur⁵⁷. Cette inhibition ne s'applique pas sur les cellules cancéreuses, bien au contraire, puisque même en présence d'oxygène l'activité de glycolyse semble être dix fois plus rapide qu'au sein de cellules normales, non tumorales³³. L'utilisation et le catabolisme du glucose sont exacerbés au sein des cellules tumorales, surtout sur les cellules peu différenciées et à prolifération rapide. La glycolyse produit environ 50% de l'énergie utilisable des cellules tumorales⁵⁸.

Dans les années 1930, Warburg montra que les cellules tumorales présentaient un métabolisme glucidique accru³. Ses études démontrèrent que les cellules tumorales, même en présence d'oxygène, présentent une activité de glycolyse nettement augmentée⁴, à l'origine d'une surproduction de lactates. Ce phénomène de glycolyse aérobie est désormais appelé effet Warburg. L'hypothèse de Warburg met en cause des défaillances au niveau des mitochondries qui aboutissent à un dysfonctionnement lors du métabolisme oxydatif^{4, 59}, même en présence d'oxygène.

Récemment, les progrès réalisés dans le domaine de l'imagerie ont permis de vérifier et de visualiser l'effet Warburg. En effet, la tomographie positron-émission (PET) qui utilise un analogue de glucose couplé à un marqueur, le ¹⁸fuorodeoxyglucose, a mis en évidence une assimilation du glucose significativement plus importante au sein des cellules malignes, qu'elles soient métastatiques ou situées dans la tumeur primaire^{8, 9}. D'autres études ont montré une élévation anormale du taux de lactates au sein même de la tumeur⁶⁰.

3. EFFET WARBURG : SIMPLE CONSEQUENCE DU CANCER ?

A première vue, le fait de faire de la glycolyse aérobie est beaucoup moins rentable du point de vue énergétique (18 fois moins rentable que la dégradation complète du glucose en condition aérobie standard, en passant par la glycolyse, le cycle de Krebs puis les phosphorylations oxydatives). Plusieurs études tendent à expliquer les mécanismes de l'effet Warburg et suggèrent que la glycolyse aérobie serait une adaptation suite à l'acquisition du phénotype malin. Certaines publications font état de mutations génétiques expliquant en partie cette glycolyse aérobie qui serait en bout de ligne bénéfique pour la tumeur malgré le faible rendement énergétique. D'autres discutent du rôle potentiel des mitochondries anormales des cellules tumorales. Et enfin, certaines décrivent la glycolyse aérobie tumorale comme une simple adaptation de la cellule maligne.

3.1. MUTATIONS GENETIQUES

Il est aujourd'hui admis que le cancer a une origine génétique. Les bases génétiques du cancer peuvent être définies selon le modèle « Initiation – Promotion – Progression »⁶¹. Initialement, une cellule somatique subit une mutation génétique, c'est la phase d'initiation. Cette première mutation est irréversible, impliquant un dommage permanent à l'ADN, mais n'est pas suffisante pour qu'il se forme une tumeur car la cellule est toujours sous le contrôle de son environnement. Une cellule initiée n'est pas différente morphologiquement d'une cellule normale. Vient ensuite la phase de promotion. Cette étape est réversible et habituellement de longue durée. Elle se traduit par des changements épigénétiques. Enfin, une dernière série de mutations sera nécessaire pour l'expression du phénotype malin de la cellule, c'est la phase de progression. Cette étape correspond à une accumulation de mutations sans fin, favorisant une instabilité génétique certaine.

Il est possible de classer les gènes qui contribuent à la carcinogenèse dans deux catégories : les oncogènes et les gènes suppresseurs de tumeur. Dans une cellule normale, l'expression de ces gènes est contrôlée en permanence⁶². Un oncogène est un gène dont la protéine produite contribue au développement ou à la progression d'un cancer. Il peut s'agir d'un gène normal mais exprimé de façon excessive, ou d'un gène ayant subi une mutation qui le rend activé de façon constitutive. Il résulte alors d'une mutation activatrice sur un proto-oncogène telle qu'une translocation chromosomique, une amplification de gène (myc), une mutation (ras), ou encore une insertion virale (myc). Les mutations responsables de la formation d'oncogènes agissent de façon dominante, c'est-à-dire qu'un seul allèle doit être muté pour qu'il y ait un gain de fonction. Les oncogènes peuvent être classés comme suit (Tableau III. p22). La plupart des oncogènes connus agissent habituellement en mimant un signal mitotique, représentant en quelque sorte le moteur de la division cellulaire. Indépendamment des signaux venant du milieu environnant, les oncogènes stimulent la division cellulaire de façon excessive.

A l'inverse, les gènes suppresseurs de tumeur émettent des signaux antiprolifératifs et freinent le cycle cellulaire. Deux allèles doivent être mutés en même temps pour qu'il y ait perte de fonction, le mode de mutation est ici récessif. La perte de fonction des gènes suppresseurs de tumeur participe directement à l'acquisition du phénotype malin. Le gène suppresseur de tumeur p53 est l'un des plus connus. Il est à l'origine de la protéine p53 qui a un rôle dans le maintien de la stabilité génomique au sein des cellules normales. Le gène p53 est inactivé dans la plupart des tumeurs⁶¹.

Les mécanismes moléculaires expliquant l'effet Warburg ne sont pas exactement définis⁹, mais l'effet Warburg serait le résultat de l'activation de certains oncogènes et/ou de l'inhibition de gènes suppresseurs de tumeur. Des oncogènes, comme ras, src et c-myc, stimulent la glycolyse en augmentant l'expression de transporteurs du glucose et d'enzymes glycolytiques⁶³. Par exemple, l'activité de certaines enzymes glycolytiques, comme l'hexokinase (HK), la phosphofructokinase

(PFK), ou la pyruvate kinase, est significativement plus élevée dans les cellules cancéreuses⁶³ ; tandis que les enzymes qui catalysent la conversion du pyruvate en acétylCoA, comme la pyruvate déshydrogénase (PDH) et la pyruvate déshydrogénase kinase (PDK), ont une expression fortement diminuée⁶⁴.

L'hexokinase de type II (HK-II) a une importance reconnue dans les modifications du métabolisme des hydrates de carbones au sein des cellules tumorales. HK-II est l'enzyme qui catalyse la première étape irréversible d'entrée du glucose dans la glycolyse. La forme libre de HK-II est normalement inhibée par le glucose-6-phosphate, produit de cette réaction. Mais la forme liée, fixée à un récepteur particulier placé sur la membrane mitochondriale externe, le *voltage dependent anion channel* (VDAC), n'est plus sensible au rétrocontrôle négatif du glucose-6-phosphate.

Les cellules malignes montrent une surexpression de HK-II^{59, 65}, ce d'autant plus que leur potentiel de croissance est grand⁵⁸. C'est la mutation du gène suppresseur de tumeur p53 qui semble être à l'origine de la surexpression du gène codant pour HK-II^{5, 6, 58, 65-67}. Une étude a d'ailleurs montré que la proportion d'ATP issue de la glycolyse est inversement proportionnelle au dosage de p53⁶⁷. L'enzyme HK-II ainsi surexprimée se lie au récepteur VDAC et reste fonctionnelle tout en étant insensible à l'inhibition par le glucose-6-phosphate⁶⁵. Notons que VDAC est lui aussi amplifié au sein des cellules tumorales⁶⁵. La liaison de l'enzyme sur le récepteur VDAC active aussi l'ATP synthasome qui est un complexe situé sur la membrane mitochondriale interne, à l'origine d'une production directe d'ATP pour la cellule⁶⁵ (Figure 5. p23).

| Catégories | Abréviations | Mode d'action |
|---|---|---|
| Facteurs de croissance | PDGF EGF ILGF-1 VEGF TGF- β IL-2 | <ul style="list-style-type: none"> • Effet par excès de production • Action au niveau membranaire |
| Récepteurs de facteurs de croissance | PDGF-R erbB-1 ILGF-R VEGF-R IL-2R met neu/erbB-2 kit | <ul style="list-style-type: none"> • Effet par altérations structurales de la protéine • Rôle dans la réception des signaux |
| Protéines kinases | bcr-abl src raf/mil mos | <ul style="list-style-type: none"> • Effet par changements structuraux des gènes ou de la protéine, effet par augmentation de l'activité • Protéines associées à la membrane cytoplasmique interne • Rôle dans la transduction des signaux |
| Transducteurs de signaux (association aux protéines G) | H-ras K-ras N-ras | <ul style="list-style-type: none"> • Effet par mutation du proto-oncogène • Rôle dans la transduction des signaux depuis les récepteurs jusqu'au noyau (liaison à des messagers de type protéines G) |
| Protéines nucléaires et facteurs de transcription | ets fos jun myb myc rel | <ul style="list-style-type: none"> • Effet par changement d'activité • Rôle dans la prolifération cellulaire |

Tableau III. Classification des principaux oncogènes⁶¹.

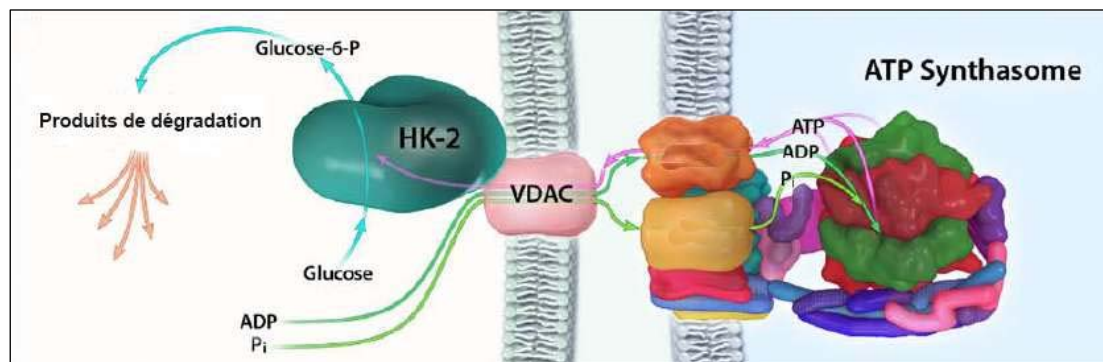


Figure 5. Schématisation de la liaison de l'enzyme HK-II sur le récepteur VDAC, couplé à l'ATP synthasome⁶⁵.

La lactate deshydrogénase de type A (LDH-A) est une autre enzyme surexprimée lors de l'effet Warburg⁶⁶. Cette enzyme catalyse la réaction de transformation du pyruvate en lactate, régénérant ainsi NAD^+ , indispensable pour assurer une activité continue de glycolyse. Chez l'homme, des nombreux cancers ont été associés à une augmentation de LDH-A^{68, 69}. Une mutation de l'oncogène c-myc semble être responsable d'une surexpression de LDH-A^{5, 66, 68, 70}.

La mutation de l'oncogène c-myc serait aussi à l'origine d'une surexpression des gènes codant pour le transporteur de glucose de type 1 (GLUT-1)⁷¹. GLUT-1, de par sa position transmembranaire, fait entrer le glucose dans les cellules. Il est habituellement inhibé par une quantité de glucose trop importante. Mais dans la majorité des tumeurs malignes chez l'homme, ce transporteur est surexprimé, permettant une meilleure prise en charge du glucose par les cellules tumorales. Une étude a d'ailleurs montré que l'expression de GLUT-1 peut être reliée à une valeur pronostique chez l'homme atteint de carcinome spino-cellulaire oral⁷⁰. La surexpression de GLUT-1 serait associée avec l'agressivité de la tumeur et serait inversement proportionnelle aux taux de survie observés⁷⁰.

L'oncogène sérine-thréonine kinase (Akt) joue lui aussi un rôle dans la prise en charge du glucose. Il maintient l'activité de l'HK chez les cellules normales ou tumorales dans des conditions qui auraient normalement causé l'apoptose^{59, 72}. Akt,

comme la plupart des oncogènes, cumule plusieurs rôles à la fois. Il stimule la glycolyse, inhibe l'apoptose, en plus d'interagir avec d'autres oncogènes (Bcr-Abl, Her2/neu et ras)⁷². L'activation d'Akt est souvent observée sur les cellules cancéreuses. Une étude a montré que cet oncogène Akt induit de façon dose-dépendante la stimulation de la glycolyse et par conséquent une augmentation de la production de NADH et a même établi une corrélation entre l'expression d'Akt et le caractère malin agressif *in vivo*⁷².

3.2. ALTERATIONS MITOCHONDRIALES

Comme l'a suggéré Otto Warburg dans les années 1930, l'hypothèse mettant en cause des altérations mitochondriales a été évaluée.

Tout d'abord, il est reconnu que les cellules tumorales disposent de moins de mitochondries qu'une cellule normale³³. La glycolyse serait alors la principale source d'énergie pour la cellule tumorale, même en présence d'oxygène.

Les cellules malignes peuvent aussi présenter de nombreuses anomalies au niveau de leurs mitochondries à l'origine d'un dysfonctionnement métabolique conduisant à une augmentation de la glycolyse même en présence d'oxygène⁷³. Les altérations sont variées et inconstantes selon les cancers. Elles peuvent concerner la fonction métabolique de façon directe lors de modifications de la composition de la membrane mitochondriale interne par exemple ; ou au niveau moléculaire lorsque certaines enzymes sont moins exprimées ou non fonctionnelles⁷³.

D'autre part, la taille du génome des mitochondries étant très petite, l'ARNm est sujet à de plus fréquentes mutations, conduisant à des modifications moléculaires et fonctionnelles ayant des répercussions sur le métabolisme énergétique des cellules tumorales⁷⁴.

Au sein des cellules malignes, les mitochondries sont souvent capables de synthétiser de l'ATP, elles semblent être fonctionnelles mais leur capacité à consommer de l'oxygène est diminuée⁶⁵. Il s'agit en réalité d'une baisse d'activité de la cytochrome c oxydase^{65, 73}, enzyme mitochondriale essentielle au bon fonctionnement de la phosphorylation oxydative. L'inhibition du gène codant pour la cytochrome c oxydase serait à l'origine de la diminution d'activité décrite⁷³.

Malgré toutes ces observations, aucune étude n'a pu démontrer aujourd'hui que l'effet Warburg résultait d'altérations mitochondriales.

3.3. ADAPTATION AUX CONDITIONS HYPOXIQUES

Au départ, l'effet Warburg a été interprété comme une adaptation des cellules tumorales aux conditions hypoxiques³³. En effet, les cellules tumorales sont des cellules dont le besoin énergétique est très important bien qu'elles se situent souvent au départ loin des capillaires (100-200 μm). Les cellules tumorales doivent donc produire beaucoup d'énergie, qui plus est, dans des conditions anaérobies. La glycolyse serait alors la principale source d'énergie pour la cellule tumorale puisque cette dernière serait en milieu anaérobie.

Toute cellule met en place, du moins initialement, des mécanismes d'adaptation lors d'hypoxie. Ces mécanismes passent notamment par l'induction d'un facteur particulier : *hypoxia inductible factor* (HIF-1). Ce facteur est à l'origine d'une surexpression des gènes codant pour les enzymes de la glycolyse (HK-II, LDH-A)^{59, 66}. Tout comme l'oncogène ras⁶⁶, HIF-1, en coopération avec c-myc⁷⁵, semble jouer un rôle important dans la stimulation de l'oncogène *vascular endothelial growth factor* (VEGF)⁶⁶. HIF-1 stimule toute une série de gènes impliqués dans le métabolisme énergétique de la glycolyse, dans l'angiogenèse, dans la survie cellulaire et dans l'érythropoïèse⁶³. D'autre part, HIF-1 stimule la production mitochondriale de *reactive oxygen species* (ROS), à l'origine de dommages importants au niveau de la

chaîne respiratoire⁷⁶, participant ainsi de manière indirecte à une stimulation de la glycolyse.

Par contre, les cellules tumorales semblent maintenir une surexpression de HIF-1⁷⁶, même en présence d'oxygène. Des études ont montré que les lactates exercent un rétrocontrôle positif direct sur HIF-1^{5, 63}. HIF-1 semble donc être impliqué dans l'effet Warburg. Ainsi, en conditions aérobies, les cellules tumorales ont une activité de glycolyse accrue et le pyruvate accumulé en fin de glycolyse est transformé en lactates, qui, eux-mêmes, seraient à l'origine de la surexpression de HIF-1. Il y a installation d'un cycle vicieux. Les lactates sont à la fois le résultat d'une amplification de la glycolyse par plusieurs mécanismes et par la surexpression de HIF-1 ; et ils sont aussi à l'origine de la surexpression de HIF-1.

Les conditions hypoxiques initiales pourraient aussi être à l'origine d'une pression de sélection qui persiste même en présence d'oxygène. S'il est vrai que la glycolyse aérobie a un rendement énergétique très limité et que les ions H⁺ produits causent une acidification du milieu extracellulaire, la cellule tumorale semble en tirer quelques profits. L'effet Warburg est ainsi toujours présent à des stades avancés, même lorsque les cellules tumorales ne sont plus dans un environnement hypoxique. L'effet Warburg correspondrait alors à une solution avantageuse pour les cellules tumorales et participerait ainsi à l'acquisition du phénotype malin⁹. L'effet Warburg correspondrait-il à l'émergence d'un nouveau phénotype malin ?

4. EFFET WARBURG : UN CRITERE DE MALIGNITE ?

Au sein de l'organisme, les divisions, proliférations et différenciations cellulaires sont contrôlées. Il en résulte un équilibre rigoureux entre l'apparition de nouvelles cellules et la mort des cellules sénescents. Lorsque cet équilibre vient à être modifié, i.e. lorsque la prolifération devient incontrôlée ou la sénescence atténuée, il en résulte la formation d'une tumeur⁶¹. L'acquisition du phénotype malin résulte habituellement de mutations des oncogènes et des gènes suppresseurs de tumeur conduisant à l'acquisition de six caractéristiques essentielles⁷⁷(Figure 6. p27) :

- Autosuffisance
- Insensibilité aux signaux antiprolifératifs
- Echappement de l'apoptose
- Capacité de réplication illimitée
- Pouvoir d'angiogenèse
- Pouvoir d'invasion et métastases

A ces six critères de malignité pourrait s'ajouter l'effet Warburg.

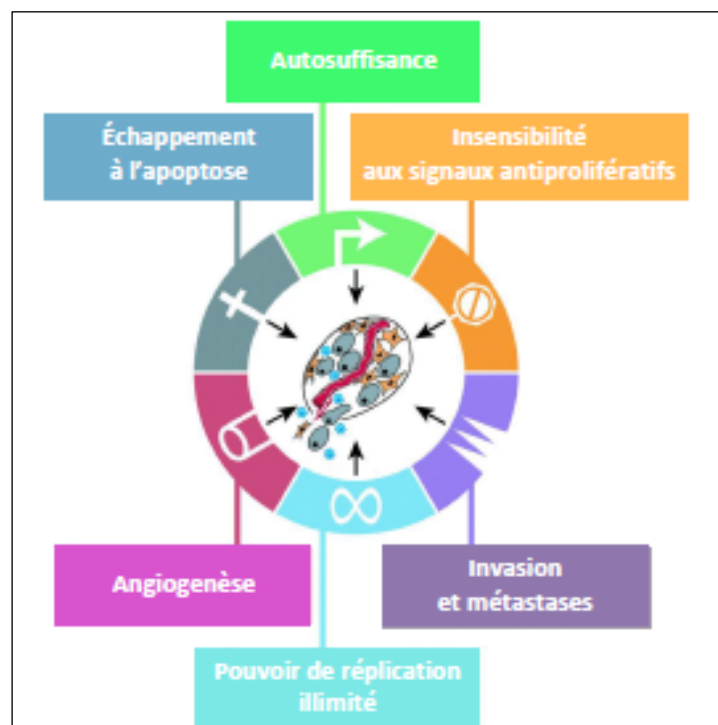


Figure 6. Caractéristiques du phénotype malin⁷⁷.

L'altération du métabolisme du glucose au sein des cellules malignes semble jouer un rôle non négligeable dans l'acquisition du phénotype malin⁹.

En effet, chez l'homme, l'augmentation de la glycolyse, sa persistance en condition aérobie et sa corrélation avec l'agressivité de la tumeur indiquent un phénotype glycolytique qui confère un avantage certain à la prolifération des cellules tumorales⁹. L'élévation du taux de lactates au sein de la tumeur, suite à l'effet Warburg, serait d'ailleurs plus importante lors de cancers associés avec des métastases⁵.

D'autres réflexions concernant l'effet Warburg ont souligné l'importance du microenvironnement cellulaire. Ainsi, l'augmentation de la glycolyse au sein des lésions tumorales n'aurait pas de rôle direct dans la production d'énergie, mais serait plutôt un phénomène producteur de H⁺, bénéfique pour les cellules tumorales^{65, 78}. Une exposition prolongée à une telle acidité causerait habituellement la nécrose ou l'apoptose des cellules par l'implication de p53 et de caspase-3⁹. Alors qu'un microenvironnement acide est toxique pour des cellules normales, une étude a montré qu'il favoriserait le pouvoir d'invasion des cellules tumorales⁷⁸. Les cellules cancéreuses métastatiques consomment du glucose en grande quantité, produisant alors de nombreux ions H⁺ et sélectionnant en même temps un phénotype cellulaire résistant^{9, 78}. La même étude a montré que des prétraitements acidifiant le milieu favoriseraient l'invasion in vitro et le pouvoir métastatique in vivo⁹. Une exposition aiguë à un pH acide participe à l'acquisition du pouvoir métastatique⁷ en stimulant les facteurs de l'angiogenèse, comme VEGF et l'interleukine-8 (IL-8). Toutefois, l'induction de métastase par l'acidification du milieu est un phénomène transitoire et réversible⁷. A l'inverse, l'alcalinisation du milieu par l'utilisation de bicarbonates semblerait réduire le pouvoir métastatique⁷⁸.

Une autre étude a montré que l'hypoxie initialement à l'origine de l'effet Warburg, sélectionnerait une population de cellules résistantes à l'apoptose (dont le gène suppresseur de tumeur p53 est muté)⁷⁹.

L'effet Warburg résulte de la coopération complexe entre oncogènes, gènes suppresseurs de tumeurs, et autres facteurs impliqués certes dans la glycolyse, mais aussi dans l'acquisition des critères de malignité précédemment décrits. Nous pouvons citer plusieurs exemples :

- La mutation du gène suppresseur de tumeur p53 permet à la future cellule maligne d'échapper à l'apoptose et de participer en même temps à la surexpression de l'enzyme HK-II^{5, 6, 58, 65-67} à l'origine d'une augmentation certaine de la glycolyse.
- La mutation de l'oncogène c-myc a des répercussions sur la prolifération cellulaire mais aussi sur la surexpression de l'enzyme LDH-A^{5, 66, 68, 71} responsable de la formation de lactates.
- L'oncogène Akt, une fois muté, a un rôle dans le maintien de la glycolyse lorsque les conditions environnementales auraient induit l'apoptose^{72, 75}.
- L'oncogène VEGF qui stimule l'angiogenèse, est activé par les oncogènes mutés c-myc et ras, ainsi que par le facteur HIF-1, lui-même à l'origine d'une amplification de la glycolyse (Figure 7. p30).

Les oncogènes et les gènes suppresseurs de tumeurs cumulent plusieurs rôles à la fois, et interagissent toujours avec d'autres gènes ou d'autres facteurs selon des schémas complexes. Il est certain qu'ils participent à l'acquisition des six critères de malignité communément admis mais ils semblent aussi contribuer à l'effet Warburg, voire en être à l'origine. L'effet Warburg est à la fois dépendant de l'acquisition de certains critères, l'échappement à l'apoptose par exemple ; mais il semble aussi impliquer d'autres caractéristiques comme le pouvoir d'invasion et de métastases. C'est pourquoi, l'effet Warburg pourrait être considéré comme le septième critère de malignité.

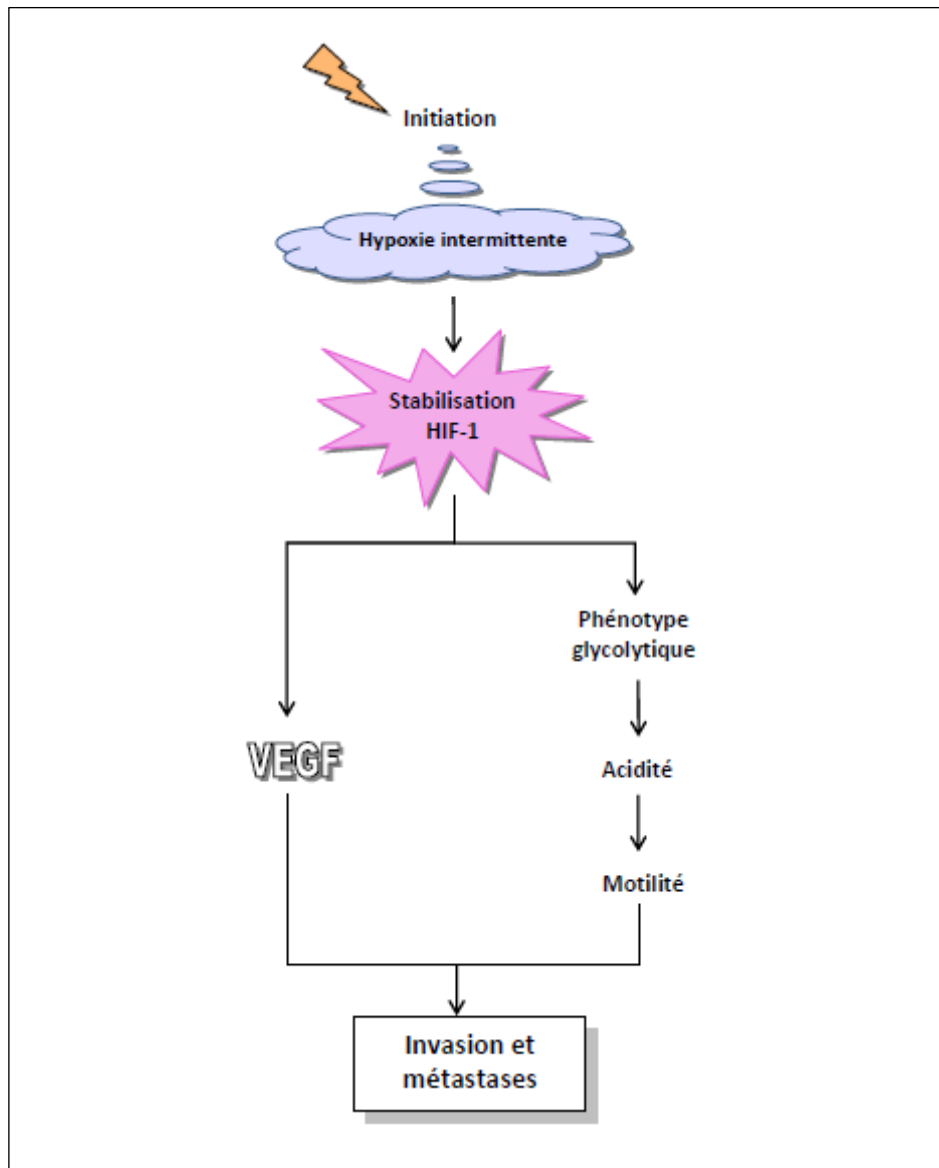


Figure 7. Exemple de coopération pour l'acquisition du phénotype malin entre VEGF et l'effet Warburg^{8,9}.

5. SIGNIFICATION CLINIQUE DE L'EFFET WARBURG

Après avoir discuté des aspects biochimiques et moléculaires impliqués dans l'effet Warburg au sein des cellules tumorales, nous nous intéresserons à la signification clinique de cette modification métabolique si particulière.

5.1. CACHEXIE TUMORALE

La cachexie tumorale est un syndrome paranéoplasique conduisant à une perte de poids malgré un apport nutritionnel adéquat^{61, 80-82}. Chez l'homme, la cachexie tumorale affecte presque la moitié des patients cancéreux⁸¹⁻⁸³. Elle se présente cliniquement le plus souvent par une perte de poids importante, de l'amyotrophie, de la fatigue, une baisse des défenses immunitaires et de l'anorexie. Elle est associée à une qualité de vie moindre ainsi qu'à une moins bonne réponse aux traitements et à des temps de survie plus courts^{84, 85}. La cachexie tumorale est une cause majeure de morbidité et de mortalité chez les patients cancéreux. Chez l'homme, on estime à 30% le taux de mortalité dû à la cachexie tumorale plutôt qu'à la tumeur elle-même⁸³. En médecine vétérinaire, nous ne disposons pas de données chiffrées concernant l'incidence de la cachexie mais on estime que moins de 25% des chiens atteints de cancer présentent des signes de cachexie tumorale⁶¹.

Il est important de distinguer la cachexie tumorale primaire, non reversée par une augmentation des apports nutritionnels, de la cachexie secondaire qui est la conséquence d'atteinte d'organes (métastases) impliqués dans la prise alimentaire, la digestion et l'absorption, ou encore la conséquence d'effets secondaires iatrogènes^{61,84}.

Les études conduites chez l'homme admettent souvent que l'anorexie fait partie de la cachexie tumorale. En effet, un patient atteint de cancer peut développer de l'anorexie pour diverses raisons (dépression, douleur, nausées, effets secondaires de certaines thérapies, etc.), et il paraîtrait logique que la cachexie soit causée par une

baisse d'apport nutritionnel. Mais plusieurs études s'accordent à prouver qu'un meilleur apport nutritionnel par l'utilisation de stimulateurs d'appétit ou de nutrition parentérale par exemple, ne suffit pas à contrer la cachexie tumorale⁸³. L'utilisation d'acétate de mégestrol peut certes induire une prise de poids significative (+5 à +15%), mais ce phénomène est transitoire, consistant en réalité à une augmentation de volume du tissu adipeux et de fluides plutôt qu'une prise de poids de muscles squelettiques⁸³.

A la différence de ce que l'on observe lors de malnutrition ou de carences nutritionnelles sévères, la cachexie tumorale se caractérise par une perte aussi importante de masse musculaire que de masse graisseuse⁸³. Par conséquent, la cachexie tumorale apparaît comme étant une entité indépendante de l'apport nutritionnel.

L'étiologie est complexe et implique plusieurs facteurs. Il y a, d'une part, les facteurs cataboliques circulants sécrétés par l'organisme en réponse à la présence de la tumeur maligne ; et d'autre part, les facteurs produits par la tumeur elle-même⁸¹⁻⁸³. Chez l'hôte, la tumeur exprime une variété de cytokines pro-inflammatoires^{81, 82} et induit des altérations qui conduisent à une importante diminution du rendement énergétique¹. Chez les animaux cancéreux, l'altération métabolique la plus importante est probablement celle du métabolisme glucidique (Tableau IV. p33). Plusieurs études ont montré des modifications concernant la disponibilité du glucose, la néoglucogenèse hépatique, les effets de l'insuline ainsi que l'oxydation et le turn-over du glucose⁸³. Ces anomalies sont présentes avant même l'apparition d'une cachexie tumorale clinique⁸⁰.

Métabolisme des hydrates de carbones :

- Intolérance au glucose
- Augmentation de la néoglucogénèse hépatique et du cycle de Cori
- Turnover du glucose normal à augmenté
- Hyperlactatémie

Métabolisme des lipides :

- Hyperlipidémie
- Augmentation de la lipolyse
- Baisse d'activité des lipoprotéines lipases
- Oxydation accrue des acides gras
- Augmentation des taux de triglycérides, corps cétoniques et acides gras libres
- Augmentation des lipoprotéines de très basse densité

Métabolisme des protéines :

- Accélération du turnover des protéines
- Diminution des synthèses protéiques
- Augmentation du catabolisme au niveau des muscles squelettiques
- Augmentation de la synthèse des acute-phase protéines par le foie

Tableau IV. *Altérations métaboliques lors de cachexie tumorale*^{1, 83, 84}.

Les cellules cancéreuses ont un métabolisme glucidique altéré qui se traduit principalement par une activité de glycolyse accrue, même en présence d'oxygène (effet Warburg). En conséquence, la production de lactates augmente et le cycle de Cori est amplifié au niveau hépatique afin de recycler les lactates en glucose via la néoglucogénèse^{2, 83}. Une étude a d'ailleurs montré une augmentation significative de la lactatémie chez les chiens atteints de lymphome². D'après cette même étude, des observations similaires ont été observées chez l'homme lors de cachexie tumorale. La glycolyse et la néoglucogénèse ainsi augmentées sont coûteuses en énergie pour

l'organisme et participeraient de cette façon à l'installation d'une cachexie tumorale^{61, 86}. La cachexie tumorale serait-elle la conséquence ultime de l'effet Warburg ?

La tumeur utilisant tout le glucose via l'effet Warburg, l'organisme doit alors utiliser d'autres voies énergétiques. Les voies métaboliques des lipides et des protéines sont par conséquent modifiées elles-aussi lors de cachexie tumorale^{1, 83, 84} (Tableau IV. p33). L'effet Warburg pourrait ainsi être à l'origine de la cachexie tumorale.

5.2. CAS D'HYPERLACTATEMIE RAPPORTES CHEZ DES PATIENTS CANCEREUX

Chez l'homme, une trentaine de cas d'hyperlactatémie sévère associée à un état d'acidose lactique (lactatémie > 5 mmol/L et pH < 7,35) ont été rapportés chez des patients atteints de tumeurs hématopoïétiques. Cette complication sévère n'est pas fréquente mais elle semble être associée à un pronostic très sombre à court terme^{10, 11}. L'origine de l'acidose lactique rapportée était à chaque fois attribuée à l'effet Warburg via une augmentation de la glycolyse par les cellules malignes aboutissant à une accumulation de lactates^{10, 11}.

Cependant, en examinant plus précisément les rapports de cas publiés, on constate que toutes les autres causes potentielles d'hyperlactatémie de type B n'ont pas toujours été exclues. Aussi, la grande majorité des patients présentaient une implication hépatique^{10, 11, 13}. La clairance des lactates étant assurée de 60 à 70% par le foie, une atteinte de la fonction hépatique pourrait être responsable d'une accumulation des lactates sanguins. Ainsi, l'hyperlactatémie de ces patients ne devrait pas être seulement expliquée par l'effet Warburg, mais plutôt par un mécanisme mixte impliquant l'effet Warburg associé à un défaut de clairance hépatique.

Ensuite, il aurait été intéressant de prendre en compte les traitements mis en place chez ces patients car certaines drogues sont connues pour avoir une influence sur la production de lactates. Par exemple, un des cas rapportés atteint de myélome et présentant une hyperlactatémie cliniquement significative mettant en cause l'effet Warburg, recevait depuis 3 ans de la chimiothérapie ainsi que d'autres drogues dont des corticostéroïdes et de l'acétaminophène¹⁴. Ces médications sont connues pour leur activité sur la néoglucogenèse causant une accumulation de lactates sanguins. L'hyperlactatémie de ce patient ne devrait donc pas être uniquement expliquée par l'effet Warburg mais par une combinaison de l'effet Warburg et de l'effet des drogues administrées.

En médecine vétérinaire, une seule équipe a rapporté que les valeurs de lactates sanguins chez les chiens atteints de tumeurs non hématopoïétiques étaient significativement plus élevées que chez une population de chiens sains⁸⁶. Les mêmes résultats ont été observés chez des chiens atteints de lymphome^{2, 16}. Cependant, les valeurs de lactatémie des chiens atteints de cancer n'excédaient jamais la valeur seuil de 2,5 mmol/L^{2, 16, 86}. Il est intéressant de noter que cette augmentation significative des lactates sanguins persiste 6 semaines après l'exérèse chirurgicale ou après rémission⁸⁶.

Plus récemment, une étude rétrospective conduite par notre équipe incluant des chiens atteints de lymphome présentés à un service d'urgence, rapporta des cas d'hyperlactatémie cliniquement significative dont la plupart pouvait être expliqué par une ou plusieurs causes d'hyperlactatémie autres que le lymphome lui-même. Au final, cette étude montra que le lymphome pouvait être la seule cause identifiable d'hyperlactatémie dans seulement 10% des cas. Toutefois, plusieurs limites ont été identifiées dont le manque de données et la population biaisée (chiens présentés en urgence). Il est probable que moins de 10% des chiens atteints de lymphome présentent en réalité une hyperlactatémie cliniquement significative attribuable au lymphome seulement. Le lymphome ne serait donc pas une cause fréquente

d'hyperlactatémie. Aussi, cette même étude rapporta que tous les chiens atteints de lymphome et présentant une implication hépatique étaient hyperlactatémiques.

A ce jour, aucune étude prospective n'a encore documenté de réelle association entre le cancer et une hyperlactatémie cliniquement significative. Malgré le manque évident de publications sur ce sujet, la plupart des livres de référence en médecine vétérinaire mentionne le cancer, en particulier le lymphome canin, comme principal diagnostic différentiel lors d'hyperlactatémie^{19-21, 23-25}.

L'objectif de notre étude est donc de déterminer, de façon prospective, si les tumeurs malignes peuvent être associées à une hyperlactatémie cliniquement significative, *i.e.* $\geq 2,5$ mmol/L, en excluant les autres causes possibles d'hyperlactatémie.

L'hypothèse émise serait que les tumeurs malignes peuvent être associées à une hyperlactatémie cliniquement significative, *i.e.* $\geq 2,5$ mmol/L, en excluant les autres causes possibles d'hyperlactatémie.

PARTIE 2 – PRÉSENTATION DES RÉSULTATS (PAR ARTICLES)

1. ÉTUDE RETROSPECTIVE

Touret M, Boysen SR, Nadeau ME.

Evaluation of potential causes associated with clinically relevant hyperlactatemia in dogs with lymphoma.

J Vet Intern Med – Submitted in March 2010

page 38

2. ÉTUDE PROSPECTIVE

Touret M, Boysen SR, Nadeau ME.

Prospective evaluation of clinically relevant type B hyperlactatemia in dogs with cancer.

J Vet Intern Med – Submitted in April 2010

page 54

Evaluation of potential causes associated with clinically relevant hyperlactatemia in dogs with lymphoma

M Touret, SR Boysen, ME Nadeau

Background: Canine lymphoma is often cited as a major cause of type B hyperlactatemia, based on a study which showed that the blood lactate concentration of dogs with lymphoma was significantly higher when compared with controls. However, the lactate value of dogs with lymphoma from that study did not exceed the clinical threshold of 2.5 mmol/L. **Objectives:** To determine if canine lymphoma could be associated with a clinically relevant type B hyperlactatemia (> 2.5 mmol/L). **Animals:** Fifty client-owned dogs with lymphoma, retrospectively acquired. **Methods:** Medical database from the University of Montreal Veterinary Medical Teaching Hospital was searched for confirmed cases of canine lymphoma with a blood lactate measurement. Information retrieved included stage, clinical observations compatible with causes of type A and B hyperlactatemia other than cancer, hepatic involvement, and drugs administered. **Results:** Twenty (40%) dogs were hyperlactatemic (> 2.5 mmol/L). Five dogs (10%) were classified as having cancer related hyperlactatemia. Seventy five percent of hyperlactatemic dogs had clinical evidence of type A hyperlactatemia. In addition to lymphoma, 70% of hyperlactatemic dogs had evidence of an additional cause of type B hyperlactatemia. A significant association ($p=0.01$) was identified between corticosteroid administration and hyperlactatemia. Cytological, echographic and/or biochemical tests revealed hepatic changes in all hyperlactatemic dogs. **Conclusions:** Canine lymphoma patients presenting with hyperlactatemia should be carefully evaluated for type A hyperlactatemia as well as other causes of type B hyperlactatemia. Lymphoma alone may not be sufficient to explain clinically relevant hyperlactatemia in dogs.

Short title: Causes of hyperlactatemia in canine lymphoma.

Keywords: Lactate; Cancer; Warburg

This study was done at the Centre Hospitalier Universitaire Vétérinaire, Université de Montréal, Saint-Hyacinthe, Québec, Canada.

This study was not supported by any grant.

This work has been presented as an abstract at the Annual Congress of Veterinary Cancer Society, Oct 2008, Seattle, WA.

Acknowledgments: The authors acknowledge Guy Beauchamp for guidance with statistical analysis.

Malignant cells have altered carbohydrate metabolism and prefer glycolytic pathways even in the presence of oxygen¹. This is referred to as the Warburg effect^{2, 3} or aerobic glycolysis and can lead to increased lactate production^{4, 5}. The exact mechanism through which this occurs has not been elucidated⁶ but several hypothesis exist: genetic mutations of glycolytic oncogenes⁷⁻¹⁴, mitochondrial alterations^{15, 16} and adaptation to initial hypoxic conditions^{5, 7}. The literature documents approximately 30 cases of hematopoietic tumors in people with concomitant hyperlactatemia believed to be the result of the Warburg effect¹⁷⁻²¹. However, other factors that could contribute to hyperlactatemia²², such as hepatic failure and drug administration, were not evaluated in these reports.

There are two major types of hyperlactatemia²²: types A and B. The different causes of hyperactatemia are listed in Table 1. Type A hyperlactatemia is associated with hypoxia²² and hypoperfusion represents the most common cause in dogs²³. Type B hyperlactatemia occurs in the presence of normal oxygen delivery²². Several drugs or toxins have also been associated with clinically significant hyperlactatemia²², which may be classified as type A or type B depending on the underlying pathophysiology. In dogs, the normal mean blood lactate concentration established is 1.5 mmol/L and hyperlactatemia is defined as a blood lactate concentration exceeding 2.5 mmol/L^{24, 25}.

One study in dogs with lymphoma has demonstrated that blood lactate concentrations are significantly higher in dogs with lymphoma when compared to controls²⁶. However, dogs from that study did not have blood lactate values that exceeded the accepted 2.5mmol/L upper limit of normal^{22, 24}. Therefore, no study has yet documented the association of cancer with clinically relevant hyperlactatemia. Despite this fact, most veterinary textbooks report neoplasia, especially canine lymphoma, as a significant cause of type B hyperlactatemia^{1, 27-33}.

The aim of this retrospective study was to determine if canine lymphoma is associated with a clinically relevant type B hyperlactatemia (greater than 2.5mmol/L) independent of other potential causes of type A and type B hyperlactatemia.

| CAUSES OF TYPE A HYPERLACTATEMIA |
|---|
| Decreased oxygen delivery |
| Anemia (severe) |
| Cardiogenic shock ²³ |
| Hemorrhage |
| Hypoxemia (severe) |
| Sepsis |
| Septic shock |
| Systemic inflammatory response syndrome ²³ |
| Volume depletion ³⁴ |
| Increased oxygen demand |
| Intense exercise ³⁵ |
| Seizures ²³ |
| Shivering ²⁵ |
| Stress |
| CAUSES OF TYPE B HYPERLACTATEMIA |
| Inadequate oxygen utilization |
| Alkalosis |
| Anuria/Oliguria |
| Diabetes mellitus |
| Hepatic failure |
| Neoplasia ²⁶ |
| Renal failure |
| Sepsis |
| Systemic inflammatory response syndrome ²³ |
| Thiamine deficiency |
| Total parenteral nutrition |
| Congenital errors of metabolism |
| CAUSES OF HYPERLACTATEMIA ASSOCIATED WITH DRUGS/TOXINS |
| Acetaminophen |
| Activated charcoal ³⁶ |
| Bicarbonate |
| Carbon monoxide |
| Catecholamines |
| Cyanide |
| Ethylene/Propylene glycol ²³ |
| Glucocorticosteroids ³⁷ |
| Halothane |
| Nitroprusside |
| Salicylates ²³ |
| Strychnine |
| Terbutaline |

Table 1. Causes of hyperlactatemia. Adapted from^{22, 38}.

Materials and Methods

The medical records of the Centre Hospitalier Universitaire Vétérinaire (CHUV) of the Université de Montréal were retrospectively reviewed for cases of canine lymphoma that had blood lactate values measured between January 2003 and December 2007. The diagnosis of lymphoma was based either on cytological or histopathological examination. The lactate measurements were performed on whole venous blood, using the LactatePro[®] (Arkay Inc., Kyoto, Japan). Dogs less than 80 days of age, cases in remission, and cases receiving chemotherapy other than prednisone were excluded from the study. When available, the following data was recorded: clinical stage, heart rate, mucous membrane color and capillary refill time, any drugs administered (other than chemotherapy and prednisone), and any evidence of type A or B hyperlactatemia other than cancer as described in Table 1. All causes of hyperlactatemia other than cancer were evaluated according to the criteria listed in Table 2. Hepatic involvement was also recorded and was defined as cytological evidence of hepatic lymphoma, abnormal hepatic ultrasound or elevation of biochemical liver enzymes.

For the purpose of statistical analysis, cases were classified into 4 groups: type A hyperlactatemia, type B hyperlactatemia, mixed (A and B) hyperlactatemia and cancer related hyperlactatemia. Cases were defined as type A hyperlactatemia if they had evidence of one or more criteria or cause compatible with type A hyperlactatemia. Cases were defined as having type B hyperlactatemia if they had evidence of one or more criteria or cause compatible with type B hyperlactatemia. Cases were defined as having mixed hyperlactatemia if they had evidence of one or more criteria or cause compatible with type A and type B hyperlactatemia. Cases were defined as having cancer related hyperlactatemia if no other cause of hyperlactatemia could be identified. Classical descriptive statistics and a Khi-square test were used to determine any association between described detection criteria (Table 2) and hyperlactatemia causes (Table 1) as well as drug administration, hepatic involvement and the presence of hyperlactatemia with a p-value set at 0.05 (SAS[®] software).

| DETECTION CRITERIA | |
|---|---|
| Alkalosis: <ul style="list-style-type: none"> ▪ pH > 7,45 ▪ +/- HCO³⁻ > 24 mmEq/L | Poor tissue perfusion: <ul style="list-style-type: none"> ▪ Pale/Grey/White mucous membrane ▪ Capillary refill time ≥ 2 sec ▪ Heart rate > 120 bpm ▪ Respiratory rate > 20/min |
| Anemia (severe): <ul style="list-style-type: none"> ▪ Pack cell volume < 24% ▪ +/- Hemoglobin < 12 g/L | Renal failure: <ul style="list-style-type: none"> ▪ History ▪ Anuria/Oliguria/Polyuria ▪ Inadequate urine specific gravity ▪ Serum urea > 9 mmol/L ▪ Serum creatinine > 150 μmol/L |
| Anuria/Oliguria: <ul style="list-style-type: none"> ▪ History ▪ Urine production < 0.25 mL/kg/hr | Seizures (recent): <ul style="list-style-type: none"> ▪ History (seizure within the previous hours) ▪ Clinical examination ▪ Medical data |
| Cardiogenic shock: <ul style="list-style-type: none"> ▪ Echographic evidence of cardiac failure ▪ Heart rate > 120 bpm ▪ Abnormal capillary refill time ▪ Heart murmur ▪ +/- Arythmia ▪ Increased breath sounds/Crackles ▪ Dyspnea | Sepsis: <ul style="list-style-type: none"> ▪ Systemic inflammatory response syndrome ▪ Infectious condition (positive culture) |
| Diabetes mellitus: <ul style="list-style-type: none"> ▪ History ▪ Fasting blood glucose > 10 mmol/L ▪ Glucosuria | Septic shock: <ul style="list-style-type: none"> ▪ Sepsis ▪ Systolic arterial pressure < 90 mmHg ▪ Hemodynamic collapse ▪ Non responsive to adequate fluid therapy |
| Drugs/Toxins: <ul style="list-style-type: none"> ▪ History ▪ Medical data | Shivering: <ul style="list-style-type: none"> ▪ Clinical examination |
| Hemorrhage: <ul style="list-style-type: none"> ▪ History ▪ Clinical examination | Stress: <ul style="list-style-type: none"> ▪ Clinical examination |
| Hepatic changes: <ul style="list-style-type: none"> ▪ History ▪ Significant (2-3 times) increased serum ALP ▪ +/- Bilirubinemia ▪ +/- Inadequate serum bile acids | Systemic inflammatory response syndrome: <ul style="list-style-type: none"> ▪ At least 2 of the following criteria: ▪ Heart rate > 120 bpm ▪ Respiratory rate > 20/min ▪ Rectal temperature > 39.7°C or < 37.8°C ▪ Neutrophils count ($\cdot 10^9/L$) >18000 or <5000 or bands > 10% |
| Hypoxemia (severe): <ul style="list-style-type: none"> ▪ PaO₂ < 40 mmHg ▪ Pale/Grey/White mucous membrane ▪ Capillary refill time ≥ 2 sec ▪ Heart rate > 120 bpm ▪ Respiratory rate > 20/min | Thiamine deficiency: <ul style="list-style-type: none"> ▪ History ▪ Clinical presentation |
| Intense exercise (recent): <ul style="list-style-type: none"> ▪ History (exercise within the previous hour) | Volume depletion: <ul style="list-style-type: none"> ▪ History supportive of fluid loss (i.e. vomiting, blood loss, diarrhea) ▪ Systolic arterial pressure < 90 mmHg ▪ Heart rate > 120 bpm ▪ Pale/Grey/White mucous membrane ▪ Capillary refill time ≥ 2 sec ▪ +/- Central venous pressure < 0 cmH₂O ▪ +/- Mental depression |
| Neoplasia: <ul style="list-style-type: none"> ▪ History ▪ Medical data | |
| Parenteral nutrition (total): <ul style="list-style-type: none"> ▪ History | |

Table 2. Detection criteria used to evaluate for the different causes of hyperlactatemia.

Results

Fifty dogs with lymphoma had a blood lactate measurement and met the inclusion criteria. The mean blood lactate concentration was 2.53 mmol/L \pm 0.58 which is not significantly higher than the 2.5 mmol/L upper limit of normal. Twenty (40%) of the 50 dogs included in our study were defined as hyperlactatemic (blood lactate concentration > 2.5 mmol/L) (Figure 1).

Of the 20 hyperlactatemic dogs, 3 dogs had clinical evidence of a type A hyperlactatemia, 6 dogs had evidence of a clinical type B hyperlactatemia other than cancer, and 6 dogs had evidence of mixed (type A and B) hyperlactatemia (Table 3). Five dogs (10%) were classified as having cancer related hyperlactatemia (Figure 2). All dogs classified as type A were also receiving corticosteroid therapy and one had hepatic involvement. One dog classified as type B was receiving corticosteroid and had hepatic involvement and 4 had hepatic involvement. Two dogs classified as mixed hyperlactatemia were receiving corticosteroids; one of these also had hepatic involvement. Additionally, three dogs in that group had hepatic involvement. None of the dogs in the cancer related group were receiving corticosteroids and none had hepatic involvement. In total 6 dogs were receiving corticosteroid and 10 dogs had hepatic involvement. Ten of the 20 hyperlactatemic dogs could not be evaluated for hepatic involvement because of insufficient data. The three type A hyperlactatemic dogs had criteria consistent with poor tissue perfusion (3), hemorrhage (1), severe anemia (1), and intense stress (1). The six hyperlactatemic dogs with evidence of type B hyperlactatemia other than cancer had criteria consistent with SIRS (2), hepatic changes (3), renal failure (1), and alkalosis (2). The five dogs in the cancer related hyperlactatemia group could not be evaluated for all criteria established for type A or B hyperlactatemia due to missing data. Evaluations performed in these 5 dogs are presented in Table 4.

A significant association ($p=0.01$) was present between administration of prednisone and the presence of clinically relevant hyperlactatemia in our study. All dogs classified as having hepatic involvement were hyperlactatemic. All other criteria and causes evaluated were not significantly associated with hyperlactatemia (Table5).

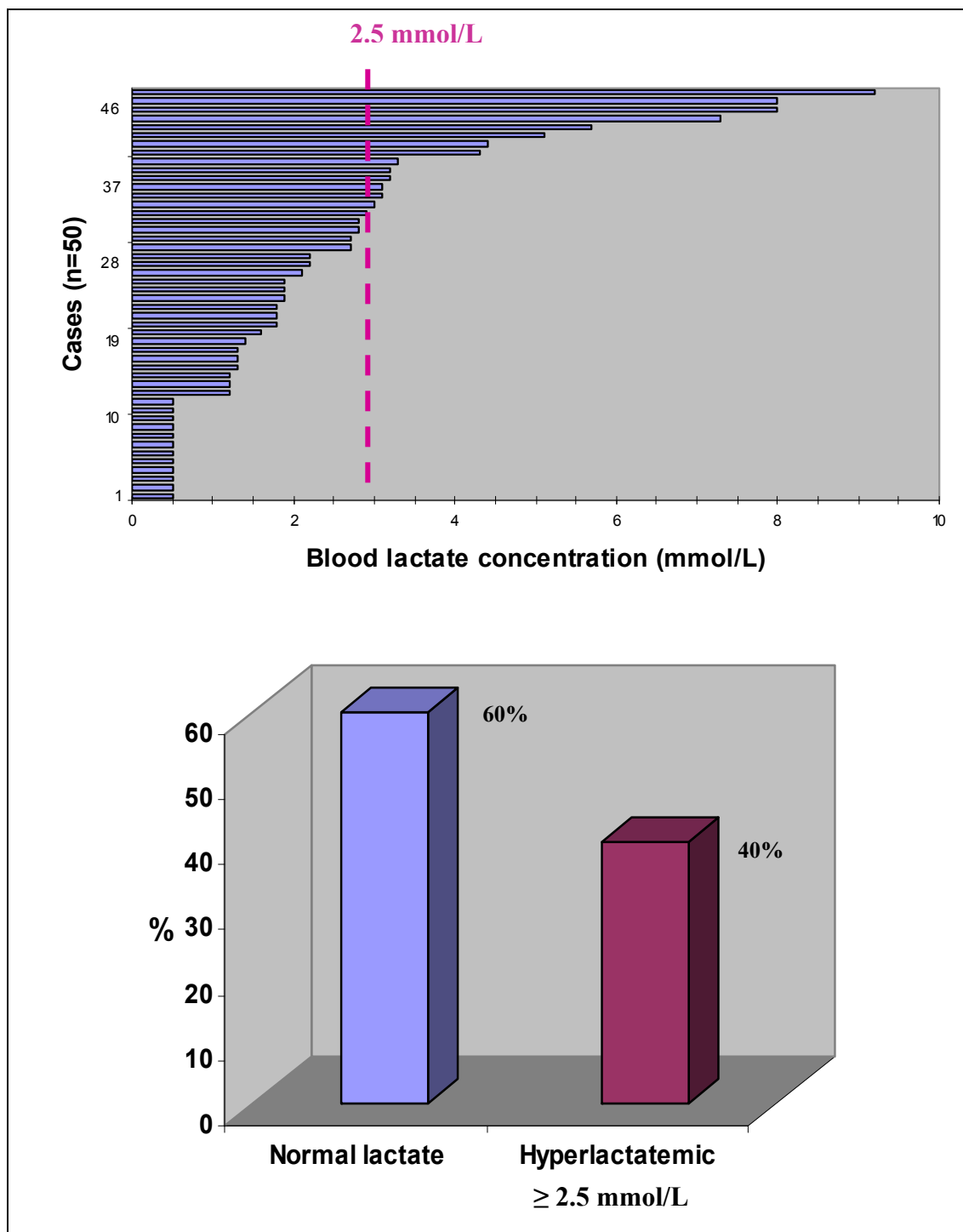


Figure 1. Blood lactate concentrations in dogs with lymphoma (n=50) and proportion of hyperlactatemic dogs.

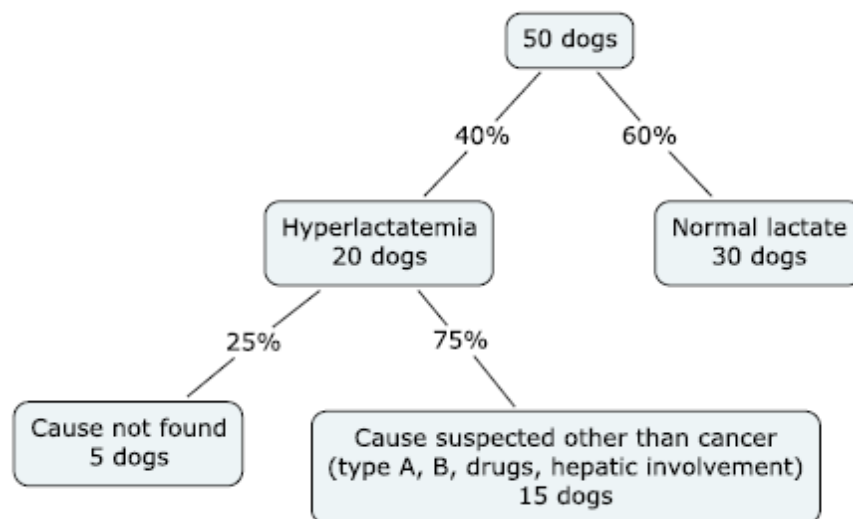


Figure 2. Summary of the cases repartition and analysis of potential causes associated with clinically relevant hyperlactatemia in dogs with lymphoma.

Discussion

In this study, 40 % of dogs were diagnosed as hyperlactatemic based on the study criteria (Table2). Despite the high percentage of hyperlactatemia, only 10% were classified as having cancer related hyperlactatemia. The mean blood lactate concentration of the dogs included in this study with lymphoma was 2.53 mmol/L. This value, although higher than the normal mean established in dogs of 1.5 mmol/L^{22, 24}, is not statistically different than the 2.5 mmol/L threshold. Although these results are compatible with previous published studies^{26, 39}, the small percentage of dogs with cancer related hyperlactatemia do not support the affirmation that lymphoma is a major cause of type B hyperlactatemia in dogs as previously stated in the veterinary litterature²⁷⁻³³.

| Hyperlactatemic cases | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 |
|---|----------|------------|------------|----------|----------|------------|-----------|------------|-----------|-----------|------------|----------|-----------|-----------|----------|----------|----------|------------|----------|----------|
| Blood lactate (mmol/L) | 5.1 | 7.3 | 9.2 | 2.8 | 3.1 | 3.2 | 2.7 | 3.3 | 5.7 | 4.4 | 8.0 | 2.8 | 3.2 | 3.0 | 3.1 | 2.7 | 2.9 | 2.7 | 8.0 | 4.3 |
| Anemia (severe) | - | - | - | - | - | - | - | - | / | - | - | - | - | / | - | - | - | + | + | - |
| Cardiogenic shock | - | - | - | - | / | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Hemorrhage | - | + | + | - | - | - | - | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + |
| Hypoxemia (severe) | - | / | / | - | - | / | - | / | / | / | / | - | / | / | / | / | - | / | / | / |
| Intense exercise | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Poor tissue perfusion | + | - | + | - | - | - | - | + | / | - | / | - | - | - | - | - | / | + | + | + |
| Seizures | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Sepsis | - | - | - | - | - | + | - | + | / | - | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Septic shock | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Shivering | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Stress | + | - | - | - | - | - | / | - | - | - | - | - | / | / | - | - | - | - | - | - |
| Volume depletion | - | + | + | - | - | - | - | - | - | - | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Type A hyperlactatemia | + | + | + | - | / | + | / | + | / | / | + | - | / | / | / | / | / | + | + | + |
| Alkalosis | - | / | / | / | / | / | / | / | / | - | / | - | - | / | + | + | / | - | / | / |
| Anuria / Oliguria | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Diabetes mellitus | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | / | - | - | - | - | - | - |
| Hepatic changes | - | + | + | + | - | - | - | - | / | - | + | + | - | / | / | + | - | - | - | - |
| Parenteral nutrition / Thiamine deficiency | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Renal failure | - | - | + | - | - | - | - | - | / | - | - | - | - | / | / | - | + | - | - | - |
| Systemic inflammatory response syndrome | - | - | + | - | + | + | - | + | / | - | + | - | - | - | - | + | - | + | - | - |
| Type B Hyperlactatemia except drugs and except neoplasia | - | + | + | + | + | + | / | + | / | - | + | + | - | / | + | + | + | + | / | / |
| Drugs | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | - | + | + | + |
| Hepatic Involvement | / | + | + | + | / | / | / | + | / | / | + | + | / | / | + | + | + | / | + | / |
| Classification of hyperlactatemia | A | A/B | A/B | B | B | A/B | C* | A/B | C* | C* | A/B | B | C* | C* | B | B | B | A/B | A | A |

Table 3. Criteria evaluated in the 20 hyperlactatemic dogs. Note: + stands for present, - for absent and / for non evaluated criteria; A for type A, B for type B, A/B for mixed and C* for cancer related hyperlactatemia.

| | Cancer related hyperlactatemic cases C* | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|---|--|-----|-----|-----|-----|-----|
| | Blood lactate (mmol/L) | 2.7 | 5.7 | 4.4 | 3.2 | 3.0 |
| Type A hyperlactatemia criteria | Anemia (severe) | - | / | - | - | / |
| | Cardiogenic shock | - | - | - | - | - |
| | Hemorrhage | - | - | - | - | - |
| | Hypoxemia (severe) | - | / | / | / | / |
| | Intense Exercise | - | - | - | - | - |
| | Poor tissue perfusion | - | / | - | - | - |
| | Seizures | - | - | - | - | - |
| | Sepsis | - | / | - | - | - |
| | Septic shock | - | - | - | - | - |
| | Shivering | - | - | - | - | - |
| | Stress | / | - | - | / | / |
| | Volume Depletion | - | - | - | - | - |
| | Type A hyperlactatemia | | / | / | / | / |
| Type B hyperlactatemia | Alkalosis | / | / | - | - | / |
| | Anuria / Oliguria | - | - | - | - | - |
| | Diabetes mellitus | - | - | - | - | - |
| | Hepatic changes | - | / | - | - | / |
| | Parenteral nutrition / Thiamine deficiency | - | - | - | - | - |
| | Renal failure | - | / | - | - | / |
| | Systemic inflammatory response syndrome | - | / | - | - | - |
| Type B hyperlactatemia except drugs and except neoplasia | | / | / | - | - | / |
| Drugs | | - | - | - | - | - |
| Hepatic involvement | | / | / | / | / | / |

Table 4. Criteria evaluated for the 5 cancer related hyperlactatemic dogs. Note: + stands for present, - for absent and / for non evaluated criteria.

| Criteria studied | p-value |
|---|---------------|
| Anemia (severe) | 1.000 |
| Cardiogenic shock | / |
| Hemorrhage | 0.210 |
| Hypoxemia (severe) | / |
| Intense exercise | / |
| Poor tissue perfusion | 0.450 |
| Seizures | 0.510 |
| Sepsis | 0.290 |
| Septic shock | / |
| Shivering | / |
| Stress | 1.000 |
| Volume depletion | 0.080 |
| Type A hyperlactatemia | 0.250 |
| Alkalosis | 0.350 |
| Anuria / Oliguria | / |
| Diabetes mellitus | / |
| Hepatic changes | 1.000 |
| Parenteral nutrition / Thiamine deficiency | / |
| Renal failure | 0.560 |
| Systemic inflammatory response syndrome | 0.530 |
| Type B Hyperlactatemia except drugs and except neoplasia | 1.000 |
| Drugs (prednisone) | 0.010* |
| Hepatic Involvement | 0.070 |

Table 5. Statistical association between the studied criteria and the presence of clinically relevant hyperlactatemia. Note: a p-value < 0.05* is considered statistically significant, / stands for no statistical analysis because the criteria was not present in our sample.

As previously mentioned, only about 30 human cases with hematopoietic tumors are reported to have a clinically significant hyperlactatemia¹⁷⁻²¹. Hyperlactatemia therefore represents an uncommon cancer complication in humans which is mostly associated with hematopoietic tumors¹⁸. In the human case reports published, the increase in blood lactate concentration is believed to be the result of the Warburg effect. Other factors that could contribute to hyperlactatemia, such as hepatic failure and drug administration were not taken into consideration in most of these reports. Additionally most hyperlactatemic cases reported in the human literature had evidence of neoplastic involvement of the liver, which may contribute to hyperlactatemia as a result of altered lactate clearance¹⁸.

This study identified 20 dogs with lymphoma and concomitant clinically relevant hyperlactatemic during a 5 year period. During this same period, the CHUV received a total of 242 dogs diagnosed with lymphoma. These results suggest that, similar to human medicine, clinically relevant hyperlactatemia seems to be a rare complication of lymphoma. Furthermore, only 10% of these dogs were diagnosed with a cancer related hyperlactatemia based on the diagnostic criteria used in this study.

The relatively small number of cancer related hyperlactatemia identified in the present study leads to the possibility that the Warburg effect may not be sufficient to cause systemic repercussions such as clinically relevant hyperlactatemia. We hypothesize that a more complex interaction probably exists between the high lactate production by cancer cells and the systemic clearance mechanism. Therefore in the presence of normal systemic clearance mechanisms, blood lactate concentration may remain normal despite increases production by cancer cells. However, in the presence of altered lactate clearance, the increase lactate production by cancer cells via the Warburg effect could result in clinically relevant hyperlactatemia. The liver accounts for 70% of lactate metabolism¹. Therefore, if hepatic function is altered, lactate clearance will be significantly decreased resulting in lactate accumulation and possibly hyperlactatemia. To further strengthen our hypothesis, all of the dogs in this study that presented with hepatic involvement were clinically hyperlactatemic.

This study suggests that prednisone administration may have a significant impact on blood lactate concentration as reported by other authors^{37, 40, 41}. Eighty five percent of dogs with lymphoma already on prednisone were hyperlactatemic in the present study. The hypothetical mechanism by which this occurs is through the hyperglycemic effect of glucocorticoids as well as their various roles in glucose regulation which could result in an increase in blood lactate concentration^{37, 40, 41}.

This study presents some limitations. First, our search for canine lymphoma patients with a blood lactate measurement revealed a bias as blood lactate is not performed routinely on all patients. At the CHUV, from January 2003 to December 2007, only 50 dogs with lymphoma had a blood lactate measurement out of a total of 242 dogs diagnosed with lymphoma during that time. Most cases with lymphoma that had blood lactate measured were admitted through the emergency service, which may reflect a more critically ill patient population. Furthermore, due to the retrospective nature of our study, some records were incomplete and there was inconsistent reporting of some of the data. Finally, improper sample collection and handling, which may result in elevated blood lactate levels^{42, 43}, was also not taken into consideration in the current study. As a result, all causes of hyperlactatemia could not always be fully evaluated and the determination of a cancer related hyperlactatemia was made by exclusion. Therefore, it is quite probable that less than 10% of dogs with lymphoma may have a clinically relevant hyperlactatemia independent of other causes of hyperlactatemia.

In conclusion, the measurement of blood lactate in cancer patients is important because it may identify a more critical patient subset and is proven to be prognostic in some human studies^{17, 18}. The results of this study illustrates that careful patient evaluation should be undertaken in any dog with lymphoma and that hyperlactatemia is likely to be multifactorial in patients presenting with lymphoma. Given the association between type A hyperlactatemia and prognosis, this cause, among other causes of type B hyperlactatemia should not be overlooked in lymphoma patients, as prognosis and outcome will vary depending on the underlying cause of hyperlactatemia. The Warburg effect remains poorly understood and this study

provides some grounds on which to formulate further hypothesis that should be tested in a prospective manner. A prospective study evaluating the presence of clinically relevant hyperlactatemia in dogs with lymphoma and other cancers, with strict exclusion of other causes of hyperlactatemia is required in order to assess if lymphoma or other cancers alone can be responsible for clinically relevant hyperlactatemia as well as identifying its incidence in the canine population.

References

1. Lehninger AL, Cox MM, Nelson DL. Lehninger principles of biochemistry. WH Freeman & Company; 2004:1100.
2. Warburg O. Metabolism of tumours. London: Constable and Co; 1930:254-270.
3. Warburg O. On the Origin of Cancer Cells on the Metabolism of Tumors in the Body. Science 1956;123:309-314.
4. Walenta S, Mueller-Klieser WF. Lactate: Mirror and Motor of Tumor Malignancy. Semin Radiat Oncol 2004;14:267-274.
5. Bartrons R, Caro J. Hypoxia, Glucose Metabolism and the Warburg's Effect. J Bioenerg Biomembr 2007.
6. Gatenby RA, Gillies RJ. Why do Cancers have High Glycolysis? Nat Rev Cancer 2004;4:891-899.
7. Lu H, Forbes RA, Verma A. Hypoxia-Inductible Factor 1 Activation by Aerobic Glycolysis Implicates the Warburg Effect in Carcinogenesis. J Biol Chem 2002;277:23111-23115.
8. Dang CV, Semenza GL. Oncogenic Alterations of Metabolism. Trends Biochem Sci 1999;24:68-72.
9. Koukourakis MI, Giatromanolaki A, Sivridis E, *et al.* Pyruvate Dehydrogenase and Pyruvate Dehydrogenase Kinase Expression in Non Small Cell Lung Cancer and Tumor-Associated Stroma. Neoplasia 2005;7:1-6.
10. Kim JW, Gao P, Liu YC, *et al.* HIF-1 and Dysregulated c-Myc Cooperatively Induces VEGF and Metabolic Switches, HK2 and PDK1. Mol Cell Biochem 2007;27:7381-7393.
11. Mathupala SP, Rempel A, Pederson PL. Aberrant Glycolytic Metabolism of Cancer Cells: A Remarkable Coordination of Genetic, Transcriptional, Post-Translational, and Mutational Events that Leads to a Critical Role for Type II Hexokinase. J Bioenerg Biomembr 1997;29:339-343.
12. Pederson PL. Warburg, Me and Hexokinase 2: Multiple Discoveries of Key Molecular Events Underlying One of Cancers' most Common Phenotypes, the "Warburg Effect", i.e., Elevated Glycolysis in the Presence of Oxygene. J Bioenerg Biomembr 2007;39:211-222.

13. Osthus RC, Shim H, Kim S, *et al.* Deregulation of Glucose Transporter 1 and Glycolytic Gene Expression by c-Myc. *J Biol Chem* 2000;275:21797-21800.
14. Elstrom RL, Bauer DE, Buzzai M, *et al.* Akt Stimulates Aerobic Glycolysis in Cancer Cells. *Cancer Res* 2004;64:3892-3899.
15. Modica-Napolitano JS, Singh KK. Mitochondrial Dysfunction in Cancer. *Mitochondrion* 2004;4:755-762.
16. Taylor RW, Turnbull DM. Mitochondrial DNA Mutations in Human Disease. *Nat Rev Cancer* 2005;6:389-402.
17. Friedenbergs AS, Brandoff DE, Schiffman FJ. Type B Lactic Acidosis as a Severe Metabolic Complication in Lymphoma and Leukemia. A Case Series from a Single Institution and Literature Review. *Medicine* 2007;86:225-232.
- vvvv. Sillos EM, Shenep JL, Burghen GA, *et al.* Lactic Acidosis: A Metabolic Complication of Hematologic Malignancies. *Cancer* 2001;92:2237-2246.
19. Ustun C, Fall P, Szerlip HM, *et al.* Multiple Myeloma Associated with Lactic Acidosis. *Leuk Lymphoma* 2002;43:2395-2397.
20. Glasheen JJ, Sorensen MD. Burkitt's Lymphoma Presenting with Lactic Acidosis and Hypoglycemia - A Case Presentation. *Leuk Lymphoma* 2005;46:281-283.
21. Mizock BA, Glass JN. Lactic Acidosis in a Patient with Multiple Myeloma. *WJM* 1994;161:417-418.
22. Lagutchik MS, Ogilvie GK, Wingfield WE, *et al.* Lactate Kinetics in Veterinary Critical Care: A Review. *J Vet Emerg Crit Care* 1996;6:81-95.
23. Lagutchik MS, Ogilvie GK, Hackett TB, *et al.* Increased Lactate Concentrations in Ill and Injured Dogs. *J Vet Emerg Crit Care* 1998;8:117-127.
24. Karagiannis MH, Reniker AN, Kerl ME, *et al.* Lactate Measurement as an Indicator of Perfusion. *Compend Contin Educ Pract Vet* 2006:287-298.
25. Hughes D, Rozanski ER, Shofer FS, *et al.* Effect of Sampling Site, Repeated Sampling, pH, and PCO₂ on Plasma Lactate Concentration in Healthy Dogs. *Am J Vet Res* 1999;60:521-524.
26. Vail DM, Ogilvie GK, Fettman MJ, *et al.* Exacerbation of Hyperlactatemia by Infusion of Lactated Ringer's Solution in Dogs with Lymphoma. *J Vet Intern Med* 1990;4:228-232.
27. Côté E. *Clinical Veterinary Advisor: Dogs and Cats*. St Louis, Missouri, USA: Mosby Elsevier 2007:1702.
28. DiBartola SP. *Fluid, electrolyte and acid-base disorders in small animal practice*. St Louis, Missouri, USA: Saunders Elsevier; 2005:720.

29. Ettinger SJ, Feldman EC. Textbook of veterinary internal medicine. Saunders; 2005:2208.
30. Kirk RW. Current veterinary therapy XIII : Small animal practice. St Louis, Missouri, USA: WB Saunders; 2000:1308.
31. Mathews KA. Veterinary emergency and critical care manual. Guelph, Ontario, Canada: Lifelearn Inc; 2006:806.
32. Tilley LP, Smith FWK. The 5-minute veterinary consult : Canine and feline. Philadelphia, USA: Lipincott Williams & Wilkins; 2004:1487.
33. Wingfield WE, Raffe MR. The veterinary ICU book. USA: Teton NewMedia; 2002:1337.
34. De Papp E, Drobatz KJ, Hughes D. Plasma Lactate Concentration as a Predictor of Gastric Necrosis and Survival among Dogs With Gastric Dilatation-Volvulus: 102 Cases (1995-1998). J Am Vet Med Assoc 1999;215:49-52.
35. Matwichuk CL, Taylor SM, Shmon CL, *et al.* Changes in Rectal Temperature and Hematologic, Biochemical, Blood Gaz, and Acid-Base Values in Healthy Labrador Retrievers before and After Exercise. Am J Vet Res 1999;60:88-92.
36. Burkitt JM, Haskins SC, Aldrich J, *et al.* Effects of Oral Administration of a Commercial Activated Charcoal Suspension on Serum Osmolality and Lactate Concentration in the Dog. J Vet Intern Med 2005;19:683-686.
37. Boysen SR, Bozzetti M, Rose L, *et al.* Effects on Prednisone on Blood Lactate Concentrations in Healthy Dogs. J Vet Intern Med 2009:1123-1125.
38. Pang DS, Boysen SR. Lactate in Veterinary Critical Care: Pathophysiology and Management. J Am Anim Hosp Assoc 2007;43:270-279.
39. Vail DM, Ogilvie GK, Wheeler SL, *et al.* Alterations in Carbohydrate Metabolism in Canine Lymphoma. J Vet Intern Med 1990;4:8-11.
40. Forbath N, Hall JD, Hetenyi G Jr. The Effect of Methyl-Prednisolone on the Turnover of Lactate and the Conversion of Lactate to Glucose in Dogs. Horm Metab Res 1969;1:178-182.
41. McMahon M, Gerich J, Rizza R. Effects of Glucocorticoids on Carbohydrate Metabolism. Diabetes Metab Rev 1988;4:17-30.
42. Kost GJ, Nguyen TH, Tang Z. Whole-Blood Glucose and Lactate. Arch Pathol Lab Med 2000;124:1128-1134.
43. Wiese J, Didwania A, Kerzner R, *et al.* Use of Different Anticoagulants in Tests Tubes for Analysis of Blood Lactate Concentrations: Part 2. Implications for the Proper Handling of Blood Specimens obtained from Critically Ill Patients. Crit Care Med 1997;25:1847-1850.

Prospective evaluation of clinically relevant type B hyperlactatemia in dogs with cancer

M Touret, SR Boysen, ME Nadeau

Background: Cancer is considered a cause of type B hyperlactatemia in dogs. However, studies evaluating cancer as a cause of clinically relevant type B hyperlactatemia (>2.5 mmol/L) are lacking. It is well accepted that cancer cells have a higher lactate production due to increased aerobic glycolysis, known as the “Warburg effect”. The mechanisms through which aerobic glycolysis occurs are not well elucidated but it has been suggested that neoplasia may cause type B hyperlactatemia via this process. **Objectives:** To determine if canine malignant tumors could be associated with a clinically relevant type B hyperlactatemia (> 2.5 mmol/L). **Animals:** Thirty-seven client-owned dogs with malignant tumors. **Methods:** Thirty-seven dogs with malignant tumors were included: 22 with hematopoietic and 15 with solid tumors. Histology was used to confirm the diagnosis (cytology was considered appropriate for lymphoma). Confounding factors associated with hyperlactatemia were excluded. Lactate measurements were obtained from a free flow jugular whole blood sample and immediately analyzed using the LactatePro[®]. **Results:** All dogs had lactate values less than 2.5 mmol/L. The mean blood lactate concentration was 1.09 mmol/L. The mean blood lactate concentration for solid and hematopoietic tumor was 0.95 mmol/L and 1.19 mmol/L respectively. Dogs with lymphoma (n = 18) had a mean blood lactate concentration of 1.15 mmol/L. **Conclusions:** Malignant tumors were not considered a cause of clinically relevant type B hyperlactatemia. Therefore, cancer related type B hyperlactatemia in dogs with cancer is uncommon and its diagnosis should prompt careful investigation for causes other than cancer.

This study was supported in part by a grant from the “Fonds de Santé des Animaux de Compagnie” (FSAC).

This work has been presented as an abstract at the Annual ACVIM Forum, June 2009, Montreal, Canada.

Acknowledgments: The authors acknowledge Guy Beauchamp for guidance with statistical analysis. This study was funded in part by a grant from the “Fonds de Santé des Animaux de Compagnie” (FSAC).

Malignant cells have altered carbohydrate metabolism and prefer glycolytic pathways even in the presence of oxygen¹. This is referred to as the Warburg effect^{2, 3} or aerobic glycolysis and can lead to increased lactate production^{4, 5}. The exact mechanism through which this occurs has not been elucidated⁶ but several hypothesis are suspected and include genetic mutations of glycolytic oncogenes⁷⁻¹⁴, mitochondrial alterations^{15, 16} and adaptation to initial hypoxic conditions^{5, 7}. It is hypothesized that, through aerobic glycolysis, cancer cells can lead to hyperlactatemia in cancer patients¹⁷⁻²¹. As such, the literature documents approximately 30 cases of hematopoietic tumors in people with concomitant hyperlactatemia believed to be the result of the Warburg effect¹⁷⁻²¹. However, other factors that could contribute to hyperlactatemia²², such as hepatic failure and drug administration, were not evaluated in these reports.

There are two major types of hyperlactatemia²² : type A and type B. The different causes of hyperactatemia are listed in Table 1. Type A hyperlactatemia is associated with hypoxia²². Hypoperfusion is the most common cause of type A hyperlactatemia in dogs²³. Type B hyperlactatemia occurs in the presence of normal oxygen delivery²². Several drugs or toxins (cyanide, strychnine, nitroprusside, carbon monoxide, bicarbonate, acetaminophen, ethylene glycol, propylene glycol, activated charcoal, salicylates, halothane, catecholamines, terbutaline, glucocorticosteroids²⁴) have also been associated with clinically significant hyperlactatemia²², which may be classified as type A or type B depending on the underlying pathophysiology. In dogs, the normal mean established is 1.5 mmol/L and hyperlactatemia is defined when blood lactate concentration exceeds 2.5 mmol/L^{25, 26}.

In the veterinary literature, one study²⁷ in dogs with lymphoma has demonstrated that blood lactate concentrations are significantly higher in dogs with lymphoma when compared with controls. However, dogs from that study did not have blood lactate values that exceeded the accepted 2.5mmol/L upper limit of normal^{22, 25}.

| CAUSES OF TYPE A HYPERLACTATEMIA |
|---|
| Decreased oxygen delivery |
| Anemia (severe) |
| Cardiogenic shock ²³ |
| Hemorrhage |
| Hypoxemia (severe) |
| Sepsis |
| Septic shock |
| Systemic inflammatory response syndrome ²³ |
| Volume depletion ³⁴ |
| Increased oxygen demand |
| Intense exercise ³⁵ |
| Seizures ²³ |
| Shivering ²⁵ |
| Stress |
| CAUSES OF TYPE B HYPERLACTATEMIA |
| Inadequate oxygen utilization |
| Alkalosis |
| Anuria/Oliguria |
| Diabetes mellitus |
| Hepatic failure |
| Neoplasia ²⁶ |
| Renal failure |
| Sepsis |
| Systemic inflammatory response syndrome ²³ |
| Thiamine deficiency |
| Total parenteral nutrition |
| Congenital errors of metabolism |
| CAUSES OF HYPERLACTATEMIA ASSOCIATED WITH DRUGS/TOXINS |
| Acetaminophen |
| Activated charcoal ³⁶ |
| Bicarbonate |
| Carbon monoxide |
| Catecholamines |
| Cyanide |
| Ethylene/Propylene glycol ²³ |
| Glucocorticosteroids ³⁷ |
| Halothane |
| Nitroprusside |
| Salicylates ²³ |
| Strychnine |
| Terbutaline |

Table 1. Causes of hyperlactatemia. Adapted from^{22, 38}.

A more recent retrospective study looking at dogs presenting to an emergency service, found that most cases of hyperlactatemia with confirmed lymphoma had at least one other condition which could have explained or contributed to the hyperlactatemia²⁸.

To the authors' knowledge, no prospective study has documented an association of cancer with clinically relevant type B hyperlactatemia in dogs. Despite this fact, most veterinary textbooks²⁹⁻³⁴ report neoplasia, especially canine lymphoma, as a significant cause of type B hyperlactatemia. The aim of this study is to determine if canine malignant tumors are associated with a clinically relevant type B hyperlactatemia (greater than 2.5 mmol/L), independent of other possible causes of type A and type B hyperlactatemia.

Materials and Methods

All client-owned dogs that presented to the Veterinary Teaching Hospital with confirmed cancer between December 2007 and April 2009 were considered in our study. The study was approved by the ethics committee and owner consent was required. A confirmed diagnosis was based on histological examination, except for lymphoma where cytological examination was accepted. Dogs less than 80 days of age, cases in remission, cases on chemotherapy or on glucocorticoids were excluded from the study. A complete physical examination by a veterinarian and a standardized lactate measurement was performed on each dog. Jugular whole blood was sampled using a free flow technique and immediately analyzed using a portable lactate analyzer LactatePro[®] (Arkay Inc., Kyoto, Japan).

When blood lactate measurement exceeded 2.5 mmol/L, causes of hyperlactatemia other than cancer were investigated (Figure 1). In addition to a complete physical examination, all dogs with blood lactate concentrations greater than 2.5 mmol/L, had Doppler arterial blood pressure and arterial blood gas measurement, as well as a complete blood count with cytology, routine biochemistry and routine urinalysis performed in an effort to reasonably exclude the presence of type A hyperlactatemia and type B hyperlactatemia other than cancer. The detection

criteria for different causes of hyperlactatemia are described in Table 2. Furthermore, the history was carefully assessed for prior drug administration. Additional investigations were considered such as bile acids or liver biopsy when liver enzymes were increased, abdominal ultrasound, or urine culture when renal insufficiency was confirmed.

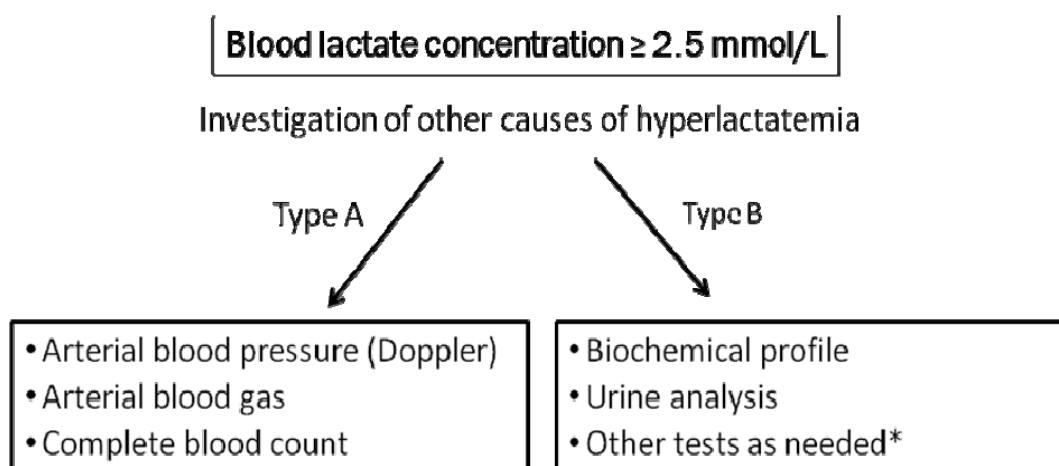


Figure 1. Tests performed on hyperlactatemic dogs to reasonably exclude the presence of type A or B hyperlactatemia. *Additional tests, such as bile acids or hepatic biopsy when liver enzymes were increased, or abdominal ultrasound, or urine culture when renal insufficiency was confirmed, were performed as needed.

If a cause other than cancer was suspected, it was treated appropriately, with intravenous fluids for example when evidence pointed towards a type A hyperlactatemia, and lactate was then reevaluated. Following the correction of the underlying problem, if blood lactate concentration remained elevated i.e. ≥ 2.5 mmol/L, cancer was considered as the most likely cause of hyperlactatemia by process of elimination and the persistent hyperlactatemia was defined as a cancer related hyperlactatemia. Conversely, if the blood lactate concentration returned to normal reference limits following appropriate therapy of the underlying cause, a cause other than cancer was considered responsible for hyperlactatemia and it was defined as a non cancer related type A or B hyperlactatemia (Figure 2). The last lactate concentration measured was the value used for statistical analysis in this study.

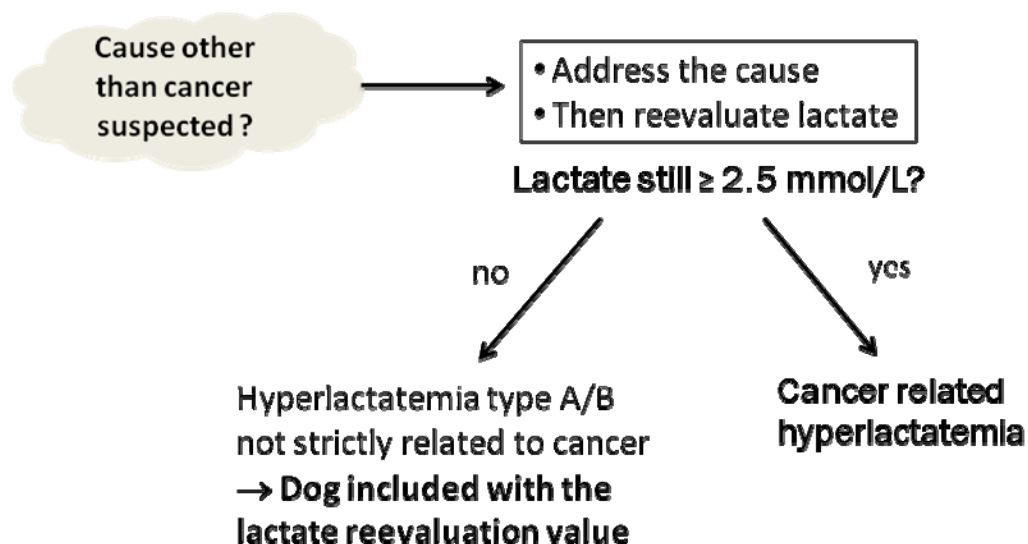


Figure 2. Classification of hyperlactatemic dogs when a cause other than cancer was suspected.

Statistical analysis was used to determine if the blood lactate concentration in dogs with malignant tumors was higher than the 2.5 mmol/L threshold. We first normalized our values and then calculated the mean, standard deviation and confidence intervals with a p-value set at 0.05 to compare our mean and the 2.5 mmol/L threshold (SAS[®] software).

Results

Thirty-seven dogs met the inclusion criteria: 15 dogs with solid tumors and 22 dogs with hematopoietic tumors including 18 dogs with lymphoma. The mean blood lactate concentration for all 37 dogs was 1.09 mmol/L with a confidence interval of 0.98 – 1.21. No differences were found when blood lactate concentrations were analyzed by groups (Table 3).

Only 2 dogs were hyperlactatemic (i.e. blood lactate concentration ≥ 2.5 mmol/L) on initial presentation. According to their complete physical examination, the dogs were initially classified as having a type A hyperlactatemia. After initial fluid therapy, blood lactate concentrations were reevaluated and returned to normal values for both dogs.

| DETECTION CRITERIA | |
|---|---|
| Alkalosis: <ul style="list-style-type: none"> ▪ pH > 7,45 ▪ +/- HCO³⁻ > 24 mmEq/L | Poor tissue perfusion: <ul style="list-style-type: none"> ▪ Pale/Grey/White mucous membrane ▪ Capillary refill time ≥ 2 sec ▪ Heart rate > 120 bpm ▪ Respiratory rate > 20/min |
| Anemia (severe): <ul style="list-style-type: none"> ▪ Pack cell volume < 24% ▪ +/- Hemoglobin < 12 g/L | Renal failure: <ul style="list-style-type: none"> ▪ History ▪ Anuria/Oliguria/Polyuria ▪ Inadequate urine specific gravity ▪ Serum urea > 9 mmol/L ▪ Serum creatinine > 150 μmol/L |
| Anuria/Oliguria: <ul style="list-style-type: none"> ▪ History ▪ Urine production < 0.25 mL/kg/hr | Seizures (recent): <ul style="list-style-type: none"> ▪ History (seizure within the previous hours) ▪ Clinical examination ▪ Medical data |
| Cardiogenic shock: <ul style="list-style-type: none"> ▪ Echographic evidence of cardiac failure ▪ Heart rate > 120 bpm ▪ Abnormal capillary refill time ▪ Heart murmur ▪ +/- Arrhythmia ▪ Increased breath sounds/Crackles ▪ Dyspnea | Sepsis: <ul style="list-style-type: none"> ▪ Systemic inflammatory response syndrome ▪ Infectious condition (positive culture) |
| Diabetes mellitus: <ul style="list-style-type: none"> ▪ History ▪ Fasting blood glucose > 10 mmol/L ▪ Glucosuria | Septic shock: <ul style="list-style-type: none"> ▪ Sepsis ▪ Systolic arterial pressure < 90 mmHg ▪ Hemodynamic collapse ▪ Non responsive to adequate fluid therapy |
| Drugs/Toxins: <ul style="list-style-type: none"> ▪ History ▪ Medical data | Shivering: <ul style="list-style-type: none"> ▪ Clinical examination |
| Hemorrhage: <ul style="list-style-type: none"> ▪ History ▪ Clinical examination | Stress: <ul style="list-style-type: none"> ▪ Clinical examination |
| Hepatic changes: <ul style="list-style-type: none"> ▪ History ▪ Significant (2-3 times) increased serum ALP ▪ +/- Bilirubinemia ▪ +/- Inadequate serum bile acids | Systemic inflammatory response syndrome: <ul style="list-style-type: none"> ▪ At least 2 of the following criteria: ▪ Heart rate > 120 bpm ▪ Respiratory rate > 20/min ▪ Rectal temperature > 39.7°C or < 37.8°C ▪ Neutrophils count ($\cdot 10^9/L$) >18000 or <5000 or bands > 10% |
| Hypoxemia (severe): <ul style="list-style-type: none"> ▪ PaO₂ < 40 mmHg ▪ Pale/Grey/White mucous membrane ▪ Capillary refill time ≥ 2 sec ▪ Heart rate > 120 bpm ▪ Respiratory rate > 20/min | Thiamine deficiency: <ul style="list-style-type: none"> ▪ History ▪ Clinical presentation |
| Intense exercise (recent): <ul style="list-style-type: none"> ▪ History (exercise within the previous hour) | Volume depletion: <ul style="list-style-type: none"> ▪ History supportive of fluid loss (i.e. vomiting, blood loss, diarrhea) ▪ Systolic arterial pressure < 90 mmHg ▪ Heart rate > 120 bpm ▪ Pale/Grey/White mucous membrane ▪ Capillary refill time ≥ 2 sec ▪ +/- Central venous pressure < 0 cmH₂O ▪ +/- Mental depression |
| Neoplasia: <ul style="list-style-type: none"> ▪ History ▪ Medical data | |
| Parenteral nutrition (total): <ul style="list-style-type: none"> ▪ History | |

Table 2. Detection criteria used to evaluate for the different causes of hyperlactatemia.

The first hyperlactatemic dog, a 2 year old Dalmatian, presented with evidence of hypovolemic shock: tachycardia (176 bpm), pale to icteric mucous membrane, a prolonged capillary refill time (3 sec) and a systolic arterial blood pressure (Doppler) of 80 mmHg. Blood lactate concentration on presentation was 4.7 mmol/L. Following initial fluid resuscitation with an intravenous bolus of crystalloids (Plasmalyte-A) at a rate 20 mL/kg over 15 min, his blood lactate concentration decreased to 1.1 mmol/L. Furthermore, the biochemical profile revealed hepatic changes with significant cholestasis (ALP high at 1501.00 U/L (6.00-80.00), GGT high at 65.00 U/L (0.00-10.00), and total bilirubin high at 50.70 umol/L (0.00-8.60)). An abdominal ultrasound showed intestinal and hepatic masses which were diagnosed as lymphoma on cytology. This dog was classified as having type A hyperlactatemia at presentation that responded to fluid therapy.

The second hyperlactatemic dog was also suspected to be in hypovolemic shock secondary to abdominal bleeding from a splenic histiocytic sarcoma. The 7 year old Golden Retriever, presented with tachycardia (176 bpm) associated with a systolic heart murmur, pale mucous membranes, a prolonged capillary refill time (3 sec) and systolic arterial blood pressure (Doppler) of 120 mmHg. The abdominal ultrasound showed splenic masses associated with significant abdominal effusion which was confirmed to be hemorrhage on cytology. Blood lactate concentration on presentation was 2.7 mmol/L. Blood work showed a regenerative anemia, while thoracic radiographs and cardiac ultrasound were normal. Following fluid resuscitation with an intravenous bolus of crystalloids (Plasmalyte-A) at a rate 20 mL/kg over 15 min, the blood lactate concentration returned to normal (1.7 mmol/L). This dog was classified as having a type A hyperlactatemia.

A total of 24 dogs were excluded from our study. Seven dogs were already on corticosteroids, 4 clients refused owner consent or to have sufficient diagnostic tests performed to rule out other causes of hyperlactatemia, and 13 dogs had only a cytological suspicion of malignant tumor, but no definitive diagnosis.

| Malignant tumors | N | Mean blood lactate concentration | Confidence intervals (95%) |
|-----------------------------|-----------|---|-----------------------------------|
| Solid tumors | 15 | 0.95 mmol/L | [0.83 – 1.09] |
| Hematopoietic tumors | 22 | 1.19 mmol/L | [1.03 – 1.38] |
| Lymphoma | 18 | 1.15 mmol/L | [0.97 – 1.37] |
| All malignant tumors | 37 | 1.09 mmol/L | [0.98 – 1.21] |

Table 3. Mean blood lactate concentration classified with respect to tumor type.

Discussion

In this study, the mean blood lactate concentration in dogs with neoplasia was 1.09 mmol/L, which is within the normal reference range reported for healthy dogs²⁶, and the 2.5 mmol/L threshold was clearly not included in the confidence interval of 0.98 – 1.21. These results are in contrast to statements in the literature reporting that cancer is a major cause of hyperlactatemia in dogs²⁹⁻³⁴.

A recent retrospective study showed that although clinically relevant hyperlactatemia may be found in dogs with lymphoma, most cases can be explained by at least one known cause other than the presence of lymphoma²⁸. In fact, only 10% of canine lymphoma cases presenting to an emergency and critical care service had hyperlactatemia that could not be explained by the presence of at least one other cause of hyperlactatemia. Due to the retrospective nature of that study, the lack of data to allow all causes of hyperlactatemia to be excluded, and the important population bias that existed, it is likely that less than 10% of dogs with lymphoma could present with systemic hyperlactatemia consecutive to lymphoma alone. The present study supports these findings and demonstrates that uncomplicated lymphoma is an infrequent cause of hyperlactatemia in dogs.

Only 2 dogs were hyperlactatemic on initial presentation (4.7 mmol/L and 2.7 mmol/L respectively). Both of these dogs had their blood lactate values return to normal following fluid therapy and both of these dogs had historical and or clinical findings consistent with shock which responded well to fluid therapy. It was therefore felt that these 2 dogs had type A hyperlactatemia at the time of presentation. These 2 cases illustrate the importance of careful assessment of hyperlactatemic dogs with cancer for other causes of hyperlactatemia.

The current study does not negate the Warburg effect, but suggests that the Warburg effect may not be sufficient to cause a clinically relevant hyperlactatemia in dogs with cancer. Previous studies^{27, 39, 40} showed that carbohydrate metabolism is altered in dogs with cancer and malignant cells are known to have an increased lactate production^{4, 5} but we hypothesized that dogs with malignancies without systemic complications have an efficient clearance system to balance any higher lactate production that may result from cancer. This may help explain why dogs with uncomplicated cancers rarely show clinically relevant hyperlactatemia. Conversely, dogs with cancer and systemic complications could have decreased lactate clearance secondary to a number of causes such as hepatic infiltration or disease. The liver, kidneys and muscles are predominantly responsible for lactate metabolism, with the liver converting up to 70% of the circulating lactate to pyruvate and then glucose via gluconeogenesis¹. Therefore, if hepatic function is altered, lactate clearance could be significantly decreased resulting in lactate accumulation and possibly systemic hyperlactatemia. Previous work by our group showed that all dogs diagnosed with lymphoma and concurrent hepatic disease were clinically hyperlactatemic²⁸. In addition, this work also suggests that clinically relevant hyperlactatemia in dogs with cancer may be a combination of type A and type B hyperlactatemia, especially in critically ill patients and not due to the Warburg effect alone.

This study presents some limitations. The strict exclusion of type A hyperlactatemia could not be performed. The exclusion of peripheral hypoxia could not be confirmed due to limited funding and available equipment (i.e. absence of gastric tonometry measurement, lingual capnography or capillary blood flow

measurements). As a result, it is possible that regional or occult hypoperfusion existed in some of our cases. Even though this limitation was not ideal for research purpose, the recommendations of the ethics comity as well as the rules of clinical and convenient practice had to be followed.

In conclusion, only one study has shown that cancer related hyperlactatemia may exist in dogs and is probably the result of several underlying factors²⁸. The results of this study confirm that systemic hyperlactatemia is an uncommon complication in dogs with cancer. It illustrates that the Warburg effect alone seems to be insufficient to cause clinically relevant hyperlactatemia and that other causes of systemic hyperlactatemia should be considered in conjunction to the Warburg effect. As a result, it is recommended that dogs presenting with cancer and hyperlactatemia be carefully investigated for all other causes that may contribute to hyperlactatemia. Blood lactate measurement in dogs with cancer is important because it may identify a more critical patient subset and has proven prognostic value in some human cancers^{17, 18}.

References

1. Lehninger AL, Cox MM, Nelson DL. Lehninger principles of biochemistry. WH Freeman & Company; 2004:1100.
2. Warburg O. On the Origin of Cancer Cells on the Metabolism of Tumors in the Body. *Science* 1956;123:309-314.
3. Warburg O. Metabolism of tumours. London: Constable and Co; 1930:254-270.
4. Walenta S, Mueller-Klieser WF. Lactate: Mirror and Motor of Tumor Malignancy. *Semin Radiat Oncol* 2004;14:267-274.
5. Bartrons R, Caro J. Hypoxia, Glucose Metabolism and the Warburg's Effect. *J Bioenerg Biomembr* 2007.
6. Gatenby RA, Gillies RJ. Why do Cancers have High Glycolysis? *Nat Rev Cancer* 2004;4:891-899.

7. Lu H, Forbes RA, Verma A. Hypoxia-Inductible Factor 1 Activation by Aerobic Glycolysis Implicates the Warburg Effect in Carcinogenesis. *J Biol Chem* 2002;277:23111-23115.
8. Dang CV, Semenza GL. Oncogenic Alterations of Metabolism. *Trends Biochem Sci* 1999;24:68-72.
9. Koukourakis MI, Giatromanolaki A, Sivridis E, *et al.* Pyruvate Dehydrogenase and Pyruvate Dehydrogenase Kinase Expression in Non Small Cell Lung Cancer and Tumor-Associated Stroma. *Neoplasia* 2005;7:1-6.
10. Kim JW, Gao P, Liu YC, *et al.* HIF-1 and Dysregulated c-Myc Cooperatively Induces VEGF and Metabolic Switches, HK2 and PDK1. *Mol Cell Biochem* 2007;27:7381-7393.
11. Mathupala SP, Rempel A, Pederson PL. Aberrant Glycolytic Metabolism of Cancer Cells: A Remarkable Coordination of Genetic, Transcriptional, Post-Translational, and Mutational Events that Leads to a Critical Role for Type II Hexokinase. *J Bioenerg Biomembr* 1997;29:339-343.
12. Osthus RC, Shim H, Kim S, *et al.* Deregulation of Glucose Transporter 1 and Glycolytic Gene Expression by c-Myc. *J Biol Chem* 2000;275:21797-21800.
13. Elstrom RL, Bauer DE, Buzzai M, *et al.* Akt Stimulates Aerobic Glycolysis in Cancer Cells. *Cancer Res* 2004;64:3892-3899.
14. Pederson PL. Warburg, Me and Hexokinase 2: Multiple Discoveries of Key Molecular Events Underlying One of Cancers' most Common Phenotypes, the "Warburg Effect", i.e., Elevated Glycolysis in the Presence of Oxygene. *J Bioenerg Biomembr* 2007;39:211-222.
15. Modica-Napolitano JS, Singh KK. Mitochondrial Dysfunction in Cancer. *Mitochondrion* 2004;4:755-762.
16. Taylor RW, Turnbull DM. Mitochondrial DNA Mutations in Human Disease. *Nat Rev Cancer* 2005;6:389-402.
17. Friedenber AS, Brandoff DE, Schiffman FJ. Type B Lactic Acidosis as a Severe Metabolic Complication in Lymphoma and Leukemia. A Case Series from a Single Institution and Literature Review. *Medicine* 2007;86:225-232.

18. Sillos EM, Shenep JL, Burghen GA, *et al.* Lactic Acidosis: A Metabolic Complication of Hematologic Malignancies. *Cancer* 2001;92:2237-2246.
19. Ustun C, Fall P, Szerlip HM, *et al.* Multiple Myeloma Associated with Lactic Acidosis. *Leuk Lymphoma* 2002;43:2395-2397.
20. Glasheen JJ, Sorensen MD. Burkitt's Lymphoma Presenting with Lactic Acidosis and Hypoglycemia - A Case Presentation. *Leuk Lymphoma* 2005;46:281-283.
21. Mizock BA, Glass JN. Lactic Acidosis in a Patient with Multiple Myeloma. *WJM* 1994;161:417-418.
22. Lagutchik MS, Ogilvie GK, Wingfield WE, *et al.* Lactate Kinetics in Veterinary Critical Care: A Review. *J Vet Emerg Crit Care* 1996;6:81-95.
23. Lagutchik MS, Ogilvie GK, Hackett TB, *et al.* Increased Lactate Concentrations in Ill and Injured Dogs. *J Vet Emerg Crit Care* 1998;8:117-127.
24. Boysen SR, Bozzetti M, Rose L, *et al.* Effects on Prednisone on Blood Lactate Concentrations in Healthy Dogs. *J Vet Intern Med* 2009;1123-1125.
25. Karagiannis MH, Reniker AN, Kerl ME, *et al.* Lactate Measurement as an Indicator of Perfusion. *Compend Contin Educ Pract Vet* 2006:287-298.
26. Hughes D, Rozanski ER, Shofer FS, *et al.* Effect of Sampling Site, Repeated Sampling, pH, and PCO₂ on Plasma Lactate Concentration in Healthy Dogs. *Am J Vet Res* 1999;60:521-524.
27. Vail DM, Ogilvie GK, Fettman MJ, *et al.* Exacerbation of Hyperlactatemia by Infusion of Lactated Ringer's Solution in Dogs with Lymphoma. *J Vet Intern Med* 1990;4:228-232.
28. Touret M, Boysen SR, Nadeau ME. Evaluation of Potential Causes Associated with Clinically Relevant Hyperlactatemia in Dogs with Lymphoma. ABSTRACT. Proceedings of the 28th Annual Conference of the Veterinary Cancer Society. Seattle, WA, October 18-21, 2008.
29. Côté E. *Clinical Veterinary Advisor: Dogs and Cats*. St Louis, Missouri, USA: Mosby Elsevier 2007:1702.
30. Ettinger SJ, Feldman EC. *Textbook of veterinary internal medicine*. Saunders; 2005:2208.

31. Mathews KA. Veterinary emergency and critical care manual. Guelph, Ontario, Canada: Lifelearn Inc; 2006:806.
32. Tilley LP, Smith FWK. The 5-minute veterinary consult : Canine and feline. Philadelphia, USA: Lipincott Williams & Wilkins; 2004:1487.
33. Wingfield WE, Raffe MR. The veterinary ICU book. USA: Teton NewMedia; 2002:1337.
34. DiBartola SP. Fluid, electrolyte and acid-base disorders in small animal practice. St Louis, Missouri, USA: Saunders Elsevier; 2005:720.
35. De Papp E, Drobatz KJ, Hughes D. Plasma Lactate Concentration as a Predictor of Gastric Necrosis and Survival among Dogs With Gastric Dilatation-Volvulus: 102 Cases (1995-1998). J Am Vet Med Assoc 1999;215:49-52.
36. Matwichuk CL, Taylor SM, Shmon CL, *et al.* Changes in Rectal Temperature and Hematologic, Biochemical, Blood Gaz, and Acid-Base Values in Healthy Labrador Retrievers before and After Exercise. Am J Vet Res 1999;60:88-92.
37. Burkitt JM, Haskins SC, Aldrich J, *et al.* Effects of Oral Administration of a Commercial Activated Charcoal Suspension on Serum Osmolality and Lactate Concentration in the Dog. J Vet Intern Med 2005;19:683-686.
38. Pang DS, Boysen SR. Lactate in Veterinary Critical Care: Pathophysiology and Management. J Am Anim Hosp Assoc 2007;43:270-279.
39. Ogilvie GK, Walters L, Salman MD, *et al.* Alterations in Carbohydrate Metabolism in Dogs with Non Hematopoietic Malignancies. Am J Vet Res 1997;58:277-281.
40. Vail DM, Ogilvie GK, Wheeler SL, *et al.* Alterations in Carbohydrate Metabolism in Canine Lymphoma. J Vet Intern Med 1990;4:8-11.

PARTIE 3 – DISCUSSION GENERALE DES RESULTATS

1. HYPERLACTATEMIE Tumorale : UNE COMPLICATION RARE CHEZ LES CHIENS ATTEINTS DE CANCER

Dans notre étude prospective, la concentration moyenne des lactates sanguins chez les chiens atteints de tumeurs malignes est de 1,09 mmol/L avec un intervalle de confiance (95%) allant de 0,98 à 1,21 mmol/L. La limite supérieure de 2,5 mmol/L n'étant même pas comprise dans l'intervalle de confiance, la concentration moyenne des lactates sanguins chez les chiens atteints de tumeurs malignes est ainsi considérée dans les limites de la normale établie chez les chiens en santé¹⁸. Ces résultats sont en contradiction avec la plupart des ouvrages de référence^{19-21, 23-25}. Notre étude montre donc que les tumeurs malignes ne sont pas associées à une hyperlactatémie cliniquement significative.

Sur les 37 chiens inclus au total, seulement 2 étaient hyperlactatémiques lors de la présentation initiale avec des concentrations respectives en lactates sanguins de 4,7 mmol/L et 2,7 mmol/L. L'anamnèse et la présentation clinique de ces 2 chiens conduisaient raisonnablement à un diagnostic d'état de choc. Après une prise en charge thérapeutique adéquate avec l'administration de fluides intraveineux, les concentrations en lactates sanguins étaient revenues dans les limites de la normale pour les 2 chiens en question. Par conséquent, nous en avons déduit que ces chiens présentaient à leur arrivée une hyperlactatémie de type A. Ces exemples illustrent parfaitement l'importance d'une prise en charge rigoureuse des chiens hyperlactatémiques atteints de tumeurs malignes. Il est primordial de considérer toutes les autres causes d'hyperlactatémie probables puisque le cancer à lui-seul ne semble pas être une cause fréquente d'hyperlactatémie cliniquement significative, *i.e.* $\geq 2,5$ mmol/L.

De plus, l'étude rétrospective préalablement conduite par notre équipe montra certes que quelques cas de lymphome canins pouvaient être associés à une hyperlactatémie cliniquement significative mais surtout que la plupart des cas d'hyperlactatémie cliniquement significative chez les chiens atteints de lymphome pouvait être expliquée par la présence d'au moins une cause évidente d'hyperlactatémie, autre que le lymphome lui-même. Dans cette étude, 40% des chiens atteints de lymphome étaient hyperlactatémiques. Malgré ce pourcentage élevé, seulement 10% des hyperlactatémies ont pu être attribuées au cancer lui-même. De par sa nature rétrospective, le manque de données ne permettait pas toujours une évaluation complète de toutes les causes possibles d'hyperlactatémie, et la population était incontestablement biaisée puisque les chiens sélectionnés étaient, pour la plupart, présentés à un service d'urgence. Par conséquent, il serait fort probable qu'il y ait en réalité moins de 10% des chiens atteints de lymphome présentant une hyperlactatémie cliniquement significative. La concentration moyenne en lactates sanguins chez les chiens atteints de lymphome inclus dans cette étude était de 2,53 mmol/L. Cette valeur est statistiquement supérieure à la normale établie chez les chiens en santé de 1,5 mmol/L^{15, 35} mais n'est pas statistiquement différente de la limite supérieure 2,5 mmol/L. Bien que ces résultats soient compatibles avec les études déjà publiées^{2, 16}, le faible pourcentage de chiens dont l'hyperlactatémie serait attribuable au lymphome ne supporte pas l'affirmation reconnue dans la littérature vétérinaire stipulant que le lymphome canin est une cause fréquente d'hyperlactatémie^{19-21, 23-25}.

En médecine humaine, une trentaine de cas d'hyperlactatémie cliniquement significative ont été rapportés chez des patients atteints de tumeurs hématopoïétiques¹⁰⁻¹⁴. L'hyperlactatémie serait, par conséquent, une complication peu fréquente chez les patients atteints de tumeurs malignes, et toucherait principalement les patients atteints de tumeurs hématopoïétiques. D'autre part, les cas d'hyperlactatémie publiés mettent toujours en cause l'effet Warburg alors que de nombreux facteurs pouvant contribuer à une élévation de la concentration en lactates sanguins, tels une insuffisance hépatique ou l'administration de certains

médicaments, n'ont pas été pris en compte dans la plupart des cas rapportés. En effet, la grande majorité des patients hyperlactatémiques atteints de tumeurs hématopoïétiques cités dans la littérature présentaient une infiltration néoplasique hépatique, ce qui pourrait très clairement contribuer à une hyperlactatémie par une fonction de clairance altérée¹¹.

Tous ces résultats, en médecine vétérinaire tout comme en médecine humaine, suggèrent donc que l'hyperlactatémie est une complication peu fréquente chez les patients atteints de tumeurs malignes.

2. EFFET WARBURG SANS REPERCUSSION SYSTEMIQUE ?

Notre étude ne contredit pas l'effet Warburg mais suggère simplement que l'effet Warburg ne semble pas suffisant pour causer, à lui-seul, une hyperlactatémie cliniquement significative chez les chiens atteints de tumeurs malignes. Des études ont déjà montré que le métabolisme glucidique était altéré chez les chiens atteints de tumeurs malignes^{2, 16, 86} et que les cellules malignes avaient une production accrue de lactates^{5, 76}, mais, aujourd'hui, nous émettons l'hypothèse qu'il y aurait là une interaction plus complexe entre la production accrue de lactates par les cellules malignes et le système de clairance des lactates par l'organisme. Les chiens atteints de tumeurs malignes, sans complication systémique, auraient un système de clairance suffisamment efficace pour compenser la production accrue de lactates résultant de l'effet Warburg. Ceci expliquerait pourquoi les chiens atteints de tumeurs malignes montrent rarement d'hyperlactatémie cliniquement significative. A l'inverse, les chiens atteints de tumeurs malignes et présentant des complications systémiques pourraient avoir une clairance des lactates diminuée de par plusieurs causes, comme une infiltration néoplasique hépatique, ou toute autre dysfonction hépatique. Le foie, les reins et les muscles squelettiques sont responsables de la clairance des lactates. Le foie peut convertir jusqu'à 70% des lactates circulants en pyruvate puis en glucose via la néoglucogenèse³³. Ainsi, si la fonction hépatique se voit diminuée pour quelque raison, la clairance des lactates pourrait être significativement diminuée elle-aussi

pouvant résulter en une accumulation des lactates voire en une hyperlactatémie systémique.

Notre étude rétrospective préalable montra que tous les chiens atteints de lymphome et présentant une maladie hépatique concomitante étaient cliniquement hyperlactatémiques. Cette même étude suggéra que l'hyperlactatémie cliniquement significative chez les chiens atteints de lymphome pourrait s'expliquer, non pas par l'effet Warburg seul, mais par une combinaison mixte d'hyperlactatémies de type A et B, tout particulièrement chez des chiens instables à critiques. De plus, 85% des chiens atteints de lymphome recevant de la prednisone présentaient une hyperlactatémie cliniquement significative dans cette même étude. Ces résultats confirment que l'administration de prednisone pourrait avoir un impact significatif sur la concentration en lactates sanguins, comme l'avaient déjà rapporté certains auteurs^{53, 87, 88}. Cette médication souvent administrée aux patients atteints de cancer pourrait donc aussi être à l'origine de plusieurs cas d'hyperlactatémies rapportés dans notre étude.

3. LIMITES DE L'ETUDE

Notre étude comporte toutefois quelques limites. En effet, la stricte exclusion d'une hyperlactatémie de type A n'a pu réellement être établie. La détection d'hypoxie périphérique aurait du être réalisée à l'aide de techniques invasives encore réservées à la recherche (mesure du flot sanguin capillaire, capnographie linguale, tonométrie gastrique, etc.). Sans ces techniques, nous pourrions donc avoir manqué quelques cas présentant une hypoperfusion régionale ou occulte. Même si les conditions de notre étude n'ont pas été idéales d'un point de vue recherche, nous voulions, d'une part, respecter les directives imposées par le comité d'éthique et, d'autre part, être en accord avec la pratique clinique.

D'autre part, nous avons opté pour un prélèvement sanguin veineux jugulaire dans notre étude. En théorie, le sang artériel est plus représentatif de la concentration systémique en lactate, puisque non influencé par les variations locales de lactates. Le sang veineux céphalique présente un taux de lactates significativement plus élevé que celui du sang artériel fémoral, lui-même plus élevé que celui du sang veineux jugulaire¹⁸. Ces différences, certes statistiquement significatives, n'ont toutefois aucune répercussion clinique.

Le stress est un autre facteur connu pouvant causer une augmentation significative des lactates sanguins²⁷. Bien que les animaux de notre étude étaient des chiens de propriétaires présentés au CHUV, donc potentiellement stressés par leur visite dans notre hôpital, les prélèvements sanguins ont été réalisés dans des conditions les moins stressantes possibles pour l'animal.

Enfin, l'analyseur portatif choisi pour notre étude, le LactatePro®, aurait tendance à sous-évaluer légèrement les mesures de lactates sanguins par rapport à l'analyseur de gaz sanguin NOVA®, Nova Biomedical, Waltham, Massachusetts, USA. Cette différence semble être amplifiée pour les valeurs élevées de lactate. Toutefois aucune différence statistiquement significative n'a été observée entre une mesure faite au LactatePro® et une mesure faite par l'analyseur de gaz sanguin NOVA®³².

4. INTERET CLINIQUE

En médecine humaine comme en médecine vétérinaire, la mesure des lactates sanguins a une importance clinique reconnue. Elle est très utilisée dans les unités de soins intensifs, et constitue à la fois un outil diagnostique d'hypoperfusion, une aide à la prise de décision thérapeutique, et peut s'avérer être un facteur pronostique intéressant. La mesure des lactates sanguins chez les chiens atteints de cancer est décisive puisqu'elle permettrait d'identifier une population de patients critiques, plus

ou moins stables, et pourrait aussi être un outil pronostique tel qu'établi en oncologie humaine^{10,11}.

Les lactates sanguins sont considérés comme un bon indice d'hypoperfusion par la plupart des cliniciens. En effet, le degré d'hyperlactatémie reflète la sévérité de l'hypoxie tissulaire chez les patients dont l'apport en oxygène, la perfusion tissulaire ou la prise en charge de l'oxygène sont insuffisants^{15, 46}. L'hyperlactatémie, qu'elle soit de type A ou B, n'est pas une maladie à proprement parler, elle est plutôt la conséquence d'un problème sous-jacent. La prise en charge thérapeutique d'une hyperlactatémie repose donc avant tout sur le traitement de la cause initiale²⁷. Notre étude montrant que les tumeurs malignes ne sont que rarement associées à une hyperlactatémie cliniquement significative, enlève ainsi une limite importante quant à l'identification des états de choc par la mesure des lactates sanguins.

La valeur des lactates sanguins lors de l'admission du patient peut donc être un élément diagnostique important, toutefois le pronostic découle non pas de cette première mesure des lactates sanguins mais de son évolution dans le temps après la mise en place d'un traitement⁸⁹. Plus précisément, le taux de mortalité est significativement plus élevé quand la valeur des lactates sanguins n'a pas diminué de plus de 50% dans les 6 heures après la mise en place du traitement⁸⁹. La mesure des lactates sanguins peut ensuite aider à la prise de décision thérapeutique. Elle permet d'adapter au mieux le plan thérapeutique (fluidothérapie agressive) et peut même s'avérer utile à la prise de décision en cas de transfusion³⁵, tout en apportant un indice pronostique important. En médecine humaine, l'identification d'acidose lactique chez des patients atteints de tumeurs hématopoïétiques semble être un facteur pronostique très sombre¹¹. Bien qu'aucune étude ne se soit encore penchée sur ce point, la mesure des lactates sanguins chez les chiens atteints de tumeurs malignes pourrait donc s'avérer être un outil pronostique intéressant.

Notre étude montre l'importance d'une évaluation complète et consciencieuse des chiens atteints de tumeurs malignes puisque l'hyperlactatémie semble être multifactorielle chez ces patients. Les hyperlactatémies touchant les chiens atteints de tumeurs malignes devraient donc être prises en charge sérieusement en recherchant activement toute cause d'hyperlactatémie probable, autre que le cancer.

CONCLUSION

Pour conclure, l'hyperlactatémie tumorale existe probablement chez le chien mais serait le résultat de mécanismes hypothétiques plus complexes associant l'effet Warburg, ou glycolyse aérobie, responsable d'une production accrue de lactates par les cellules malignes, à une éventuelle altération des systèmes de clairance de l'organisme.

Les résultats de notre étude confirment que l'hyperlactatémie cliniquement significative, *i.e.* $\geq 2,5$ mmol/L, est une complication rare des tumeurs malignes chez le chien. L'effet Warburg ne semblerait pas causer d'hyperlactatémie systémique à lui-seul. C'est pourquoi nous recommandons d'investiguer attentivement toutes les causes d'hyperlactatémie possibles lorsque qu'un chien atteint de tumeur maligne présente une hyperlactatémie cliniquement significative.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Withrow SJ, Vail DM. Withrow and MacEwen's small animal clinical oncology. Philadelphia, US: Saunders; 2007:846.
2. Vail DM, Ogilvie GK, Wheeler SL, *et al.* Alterations in Carbohydrate Metabolism in Canine Lymphoma. *J Vet Intern Med* 1990;4:8-11.
3. Warburg O. Metabolism of tumours. London: Constable and Co; 1930:254-270.
4. Warburg O. On the Origin of Cancer Cells on the Metabolism of Tumors in the Body. *Science* 1956;123:309-314.
5. Walenta S, Mueller-Klieser WF. Lactate: Mirror and Motor of Tumor Malignancy. *Semin Radiat Oncol* 2004;14:267-274.
6. Pelicano H, Martin DS, Xu RH, *et al.* Glycolysis Inhibition for Anticancer Treatment. *Oncogene* 2006;25:4633-4646.
7. Rofstad EK, Mathiesen B, Kindem K, *et al.* Acidic Extracellular pH Promotes Experimental Metastasis Oh Human Melanoma Cells in Arythmic Nude Mice. *Cancer Res* 2006;66:6699-6707.
8. Gambhir SS. Molecular Imaging of Cancer with Positron Emission Tomography. *Nat Rev Cancer* 2002;2:683-693.
9. Gatenby RA, Gillies RJ. Why do Cancers have High Glycolysis? *Nat Rev Cancer* 2004;4:891-899.
10. Friedenber AS, Brandoff DE, Schiffman FJ. Type B Lactic Acidosis as a Severe Metabolic Complication in Lymphoma and Leukemia. A Case Series from a Single Institution and Literature Review. *Medicine* 2007;86:225-232.

11. Sillos EM, Shenep JL, Burghen GA, *et al.* Lactic Acidosis: A Metabolic Complication of Hematologic Malignancies. *Cancer* 2001;92:2237-2246.
12. Ustun C, Fall P, Szerlip HM, *et al.* Multiple Myeloma Associated with Lactic Acidosis. *Leuk Lymphoma* 2002;43:2395-2397.
13. Glasheen JJ, Sorensen MD. Burkitt's Lymphoma Presenting with Lactic Acidosis and Hypoglycemia - A Case Presentation. *Leuk Lymphoma* 2005;46:281-283.
14. Mizock BA, Glass JN. Lactic Acidosis in a Patient with Multiple Myeloma. *West J Med* 1994;161:417-418.
15. Lagutchik MS, Ogilvie GK, Wingfield WE, *et al.* Lactate Kinetics in Veterinary Critical Care: A Review. *J Vet Emerg Crit Care* 1996;6:81-95.
16. Vail DM, Ogilvie GK, Fettman MJ, *et al.* Exacerbation of Hyperlactatemia by Infusion of Lactated Ringer's Solution in Dogs with Lymphoma. *J Vet Intern Med* 1990;4:228-232.
17. Toffaletti J, Hammes ME, Gray R, *et al.* Lactate Measured in Diluted and Undiluted Whole Blood and Plasma: Comparison of Methods and Effect of Hematocrit. *Clin Chem* 1992;38:2430-2434.
18. Hughes D, Rozanski ER, Shofer FS, *et al.* Effect of Sampling Site, Repeated Sampling, pH, and PCO₂ on Plasma Lactate Concentration in Healthy Dogs. *Am J Vet Res* 1999;60:521-524.
19. Côté E. *Clinical Veterinary Advisor: Dogs and Cats*. St Louis, Missouri, USA: Mosby Elsevier 2007:1702.
20. DiBartola SP. *Fluid, electrolyte and acid-base disorders in small animal practice*. St Louis, Missouri, USA: Saunders Elsevier; 2005:720.

21. Ettinger SJ, Feldman EC. Textbook of veterinary internal medicine. Saunders; 2005:2208.
22. Kirk RW. Current veterinary therapy XIII : Small animal practice. St Louis, Missouri, USA: WB Saunders; 2000:1308.
23. Mathews KA. Veterinary emergency and critical care manual. Guelph, Ontario, Canada: Lifelearn Inc; 2006:806.
24. Tilley LP, Smith FWK. The 5-minute veterinary consult : Canine and feline. Philadelphia, USA: Lipincott Williams & Wilkins; 2004:1487.
25. Wingfield WE, Raffe MR. The veterinary ICU book. USA: Teton NewMedia; 2002:1337.
26. Wiese J, Didwania A, Kerzner R, Chernow B. Use of Different Anticoagulants in Tests Tubes for Analysis of Blood Lactate Concentrations: Part 2. Implications for the Proper Handling of Blood Specimens obtained from Critically Ill Patients. Crit Care Med 1997;25:1847-1850.
27. Pang DS, Boysen SR. Lactate in Veterinary Critical Care: Pathophysiology and Management. J Am Anim Hosp Assoc 2007;43:270-279.
28. Kost GJ, Nguyen TH, Tang Z. Whole-Blood Glucose and Lactate. Arch Pathol Lab Med 2000;124:1128-1134.
29. Didwania A, Miller J, Kassel D, *et al.* Effect of Intravenous Lactated Ringer's Solution Infusion on the Circulating Lactate Concentration: Part 3. Results of a Prospective, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. Crit Care Med 1997;25:1851-1854.

30. Jackson EV, Wiese J, Sigal B, *et al.* Effects of Crisalloid Solutions on Circulating Lactate Concentrations: Part 1. Implications for the Proper Handling of Blood Specimens obtained from Critically Ill Patients. *Crit Care Med* 1997;25:1840-1846.
31. Acierno MJ, Mitchell MA. Evaluation of Four Point-of-Care Meters for Rapid Determination of Blood Lactate Concentrations in Dogs. *J Am Vet Med Assoc* 2007;230:1315-1318.
32. Thorneloe C, Bédard C, Boysen SR. Evaluation of a Hand-Held Lactate Analyzer in Dogs. *Can Vet J* 2007;48:283-288.
33. Lehninger AL, Cox MM, Nelson DL. *Lehninger principles of biochemistry*. WH Freeman & Company; 2004:1100.
34. Stryer L, Berg JM, Tymoczko JL. *Biochimie*. Paris: MÃ©decine-Sciences Flammarion; 2003:974.
35. Karagiannis MH, Reniker AN, Kerl ME, *et al.* Lactate Measurement as an Indicator of Perfusion. *Compend Contin Educ Pract Vet* 2006:287-298.
36. Packer RA, Cohn LA, Wohlstadter DR, *et al.* D-Lactic Acidosis Secondary to Exocrine Pancreatic Insufficiency in a Cat. *J Vet Intern Med* 2005;19:106-110.
37. Nappert G, Dunphy E, Ruben D, Mann FA. Determination of Serum Organic Acids in Puppies with Naturally Acquired Parvoviral Enteritis. *Can J Vet Res* 2002;66:15-18.
38. Ewaschuk JB, Naylor JM, Zello GA. D-Lactate in Human and Ruminant Metabolism. *J Nutr* 2005;135:1619-1625.
39. Marti R, Valera E, Segura RM, *et al.* Determination of D-Lactate by Enzymatic Methods in Biological Fluids: Study of Interferences. *Clin Chem* 1997;43:1010-1015.

40. Poeze M, Solberg BC, Greve JW, Ramsay G. Gastric PgCO₂ and Pg-aCO₂ Gap are Related to D-Lactate and Not to L-Lactate Levels in Patients with Septic Shock. *Intensive Care Med* 2003;29:2081-2085.
41. Abeysekara S, Naylor JM, Wassef AW, *et al.* D-Lactic Acid-Induced Neurotoxicity in a Calf Model. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2007;293:E558-65.
42. Schröder R, Eltringham WK, Gumpert JRW, *et al.* The Role of the Liver in the Development of Lactic Acidosis in Low Flow States. *Postgrad Med J* 1969;45:566-570.
43. Shirey TL. Interpreting lactate in critically ill patients. Waltham, USA: Nova Biomedical; 1997:30.
44. De Jonghe B, Cheval C, Misset B, *et al.* Relationship between Blood Lactate and Early Hepatic Dysfunction in Acute Circulatory Failure. *J Crit Care* 1999;14:7-11.
45. McMichael MA, Lees GE, Hennessey J, *et al.* Serial Plasma Lactate Concentrations in 68 Puppies Aged 4 to 80 Days. *J Vet Emerg Crit Care* 2005;15:17-21.
46. Lagutchik MS, Ogilvie GK, Hackett TB, *et al.* Increased Lactate Concentrations in Ill and Injured Dogs. *J Vet Emerg Crit Care* 1998;8:117-127.
47. De Papp E, Drobatz KJ, Hughes D. Plasma Lactate Concentration as a Predictor of Gastric Necrosis and Survival among Dogs With Gastric Dilatation-Volvulus: 102 Cases (1995-1998). *J Am Vet Med Assoc* 1999;215:49-52.
48. Matwichuk CL, Taylor SM, Shmon CL, *et al.* Changes in Rectal Temperature and Hematologic, Biochemical, Blood Gaz, and Acid-Base Values in Healthy Labrador Retrievers before and After Exercise. *Am J Vet Res* 1999;60:88-92.
49. Fall PJ, Szerlip HM. Lactic Acidosis: From Sour Milk to Septic Shock. *J Intensive Care Med* 2005;20:255-271.

50. Abramson CJ, Platt SR, Shelton GD. Pyruvate Dehydrogenase Deficiency in a Sussex Spaniel. *J Small Anim Pract* 2004;45:162-165.
51. Träger K, DeBacker D, Radermacher P. Metabolic Alterations in Sepsis and Vasoactive Drug-Related Metabolic Effects. *Curr Opin Crit Care* 2003;9:271-278.
52. Burkitt JM, Haskins SC, Aldrich J, *et al.* Effects of Oral Administration of a Commercial Activated Charcoal Suspension on Serum Osmolality and Lactate Concentration in the Dog. *J Vet Intern Med* 2005;19:683-686.
53. Boysen SR, Bozzetti M, Rose L, *et al.* Effects on Prednisone on Blood Lactate Concentrations in Healthy Dogs. *J Vet Intern Med* 2009;1123-1125.
54. Feracin L, Nguyenba TP. Comparison of Canine Capillary and Jugular Venous Blood Lactate Concentration Determined by use of an Enzymatic-Amperometric Bedside System. *Am J Vet Res* 2008;69:208-211.
55. Feracin L, Dodkin SJ, Amodio A, *et al.* Evaluation of a Portable Lactate Analyzer (Lactate Scout) in Dogs. *Vet Clin Path* 2007;36:36-39.
56. Rand JS, Kinnaird E, Baglioni A, *et al.* Acute Stress Hyperglycemia in Cats is Associated with Struggling and Increased Concentrations of Lactate and Norepinephrine. *J Vet Intern Med* 2002;16:123-132.
57. Racker E. History of the Pasteur Effect and its Physiopathology. *Mol Cell Biochem* 1974;5:17-23.
58. Mathupala SP, Rempel A, Pederson PL. Aberrant Glycolytic Metabolism of Cancer Cells: A Remarkable Coordination of Genetic, Transcriptional, Post-Translational, and Mutational Events that Leads to a Critical Role for Type II Hexokinase. *J Bioenerg Biomembr* 1997;29:339-343.
59. Kim JW, Dang CV. Multifaceted Roles of Glycolytic Enzymes. *Trends Biochem Sci* 2005;30:142-150.

60. Adalsteinsson E, Spielman DM, Pauly JM, *et al.* Feasibility Study of Lactate Imaging of Head and Neck Tumors. *NMR Biomed* 1998;11:360-369.
61. Withrow SJ, Vail DM. *Withrow and MacEwen's small animal clinical oncology.* Philadelphia, US: Saunders; 2007:846.
62. Tannock IF, Hill RP, Bristow RG, Harrington L. *The basic science of oncology.* USA: McGraw-Hill Medical Publishing Division; 2005.
63. Lu H, Forbes RA, Verma A. Hypoxia-Inductible Factor 1 Activation by Aerobic Glycolysis Implicates the Warburg Effect in Carcinogenesis. *J Biol Chem* 2002;277:23111-23115.
64. Koukourakis MI, Giatromanolaki A, Sivridis E, *et al.* Pyruvate Dehydrogenase and Pyruvate Dehydrogenase Kinase Expression in Non Small Cell Lung Cancer and Tumor-Associated Stroma. *Neoplasia* 2005;7:1-6.
65. Pederson PL. Warburg, Me and Hexokinase 2: Multiple Discoveries of Key Molecular Events Underlying One of Cancers' most Common Phenotypes, the "Warburg Effect", i.e., Elevated Glycolysis in the Presence of Oxygene. *J Bioenerg Biomembr* 2007;39:211-222.
66. Dang CV, Semenza GL. Oncogenic Alterations of Metabolism. *Trends Biochem Sci* 1999;24:68-72.
67. Ma W, Sung HJ, Park JY, *et al.* A Pivotal Role for p53: Balancing Aerobic Respiration and Glycolysis. *J Bioenerg Biomembr* 2007.
68. Shim H, Dolde C, Lewis BC, *et al.* C-Myc Transactivation of LDH-A: Implications for Tumor Metabolism and Growth. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:6658-6663.

69. Zanatta R, Abate O, D'Angelo A, *et al.* Diagnostic and Prognostic Value of Serum Lactate Dehydrogenase (LDH) and LDH Isoenzymes in Canine Lymphoma. *Vet Res Commun* 2003;27:449-452.
70. Kunkel M, Reichert TE, Benz P, *et al.* Overexpression of Glut-1 and Increased Glucose Metabolism in Tumors are Associated with a Poor Prognosis in Patients with Oral Squamous Cell Carcinoma. *Cancer* 2003;97:1015-1024.
71. Osthus RC, Shim H, Kim S, *et al.* Deregulation of Glucose Transporter 1 and Glycolytic Gene Expression by c-Myc. *J Biol Chem* 2000;275:21797-21800.
72. Elstrom RL, Bauer DE, Buzzai M, *et al.* Akt Stimulates Aerobic Glycolysis in Cancer Cells. *Cancer Res* 2004;64:3892-3899.
73. Modica-Napolitano JS, Singh KK. Mitochondrial Dysfunction in Cancer. *Mitochondrion* 2004;4:755-762.
74. Taylor RW, Turnbull DM. Mitochondrial DNA Mutations in Human Disease. *Nat Rev Cancer* 2005;6:389-402.
75. Kim JW, Gao P, Liu YC, *et al.* HIF-1 and Dysregulated c-Myc Cooperatively Induces VEGF and Metabolic Switches, HK2 and PDK1. *Mol Cell Biochem* 2007;27:7381-7393.
76. Bartrons R, Caro J. Hypoxia, Glucose Metabolism and the Warburg's Effect. *J Bioenerg Biomembr* 2007.
77. Hanahan D, Weinberg RA. The Hallmarks of Cancer. *Cell* 2000;100:57-70.
78. Gillies RJ, Gatenby RA. Adaptive Landscapes and Emergent Phenotypes: Why do Cancer have High Glycolysis? *J Bioenerg Biomembr* 2007.
79. Graeber TG, Osmanian C, Jacks T, *et al.* Hypoxia-Mediated Selection of Cells with Diminished Apoptotic Potential in Solid Tumours. *Nature* 1996;379:88-91.

80. Ogilvie GK. Alterations in Metabolism and Nutritional Support for Veterinary Cancer Patients: Recent Advances. *The Compendium* 1993;15:925-936.
81. Skipworth RJ, Stewart GD, Dejong CH, *et al.* Pathophysiology of Cancer Cachexia: Much More than Host-Tumour Interaction? *Clin Nutr* 2007;14.
82. Tisdale MJ. Pathogenesis of Cancer Cachexia. *J Support Oncol* 2003;1:159-168.
83. Esper DH, Harb WA. The Cancer Cachexia Syndrome: A Review of Metabolic and Clinical Manifestations. *Nutr Clin Pract* 2005;20:369-376.
84. Strasser F, Bruera ED. Update on Anorexia and Cachexia. *Hematol Oncol Clin N Am* 2002;16:589-617.
85. Leibach A, Muzes G, Feher J. Current Perspectives of Catabolic Mediators of Cancer Cachexia. *Med Sci Monit* 2007;13:168-173.
86. Ogilvie GK, Walters L, Salman MD, *et al.* Alterations in Carbohydrate Metabolism in Dogs with Non Hematopoietic Malignancies. *Am J Vet Res* 1997;58:277-281.
87. McMahon M, Gerich J, Rizza R. Effects of Glucocorticoids on Carbohydrate Metabolism. *Diabetes Metab Rev* 1988;4:17-30.
88. Forbath N, Hall JD, Hetenyi G Jr. The Effect of Methyl-Prednisolone on the Turnover of Lactate and the Conversion of Lactate to Glucose in Dogs. *Horm Metab Res* 1969;1:178-182.
89. Stevenson CK, Kidney BA, Duke T, *et al.* Serial Blood Lactate Concentrations in Systemically Ill Dogs. *Vet Clin Path* 2007;36:234-239.

ANNEXE

Numéro de dossier :

Formulaire de Consentement du Client

Évaluation du lactate sanguin chez les chiens atteints de cancer.

Votre chien est atteint de cancer et se qualifie pour une étude visant à évaluer par une prise de sang le niveau sanguin d'un métabolite appelé lactate. Nous étudions sa présence chez les chiens atteints de cancer dans le but éventuel de l'utiliser comme un élément nous permettant le diagnostic du cancer et potentiellement comme indicateur de pronostic.

Pour cette étude, la prise de sang effectuée pour déterminer la santé générale de votre animal nous servira aussi pour l'analyse du lactate. Nous devons également effectuer une prise de sang artériel pour déterminer le taux d'oxygène dans le sang. La complication potentielle la plus fréquente de ce test est la formation d'un hématome (bleu) au site de la ponction.

Les frais associés aux tests mentionnés ci-haut seront assumés par les fonds de recherche obtenus.

Je consens à ce que mon animal _____ fasse partie de l'étude «Évaluation du lactate sanguin chez les chiens atteints de cancer» et je comprends bien les procédures nécessaires et leurs complications potentielles. J'ai eu l'opportunité de discuter avec le Dr _____ et de poser des questions.

Commentaires additionnels pour ce cas :

Nom (en lettres moulées) _____

Signature _____ Date : _____
PROPRIÉTAIRE OU PERSONNE AUTORISÉE PAR LE PROPRIÉTAIRE

Témoin _____ Date : _____

