

# Que faut-il penser en 2007 des conceptions de Beljanski sur le cancer

Jean Roussaux, Professeur honoraire (Université Pierre et Marie Curie)

## Introduction :

Les travaux fondamentaux de Beljanski s'inscrivent dans le contexte des recherches de biologie moléculaire des années 1970-1980. Les mécanismes de transcription et de traduction de l'ADN sont bien décrits dans leurs grandes lignes, sans toutefois que leurs complexités et leurs variantes selon les organismes soient bien évaluées. De même les mécanismes de la réplication de l'ADN ne sont qu'incomplètement connus, en particulier l'aspect coordonné des interventions enzymatiques reste mal documenté. Enfin les mécanismes biochimiques du contrôle de la division cellulaire, ceux de la mort cellulaire par apoptose et surtout ceux de la différenciation cellulaire commencent seulement à être explorés.

## Etat des connaissances sur la réplication, la transcription et la cancérisation pendant les années 1970

Pendant cette période, on décrit les modalités de la synthèse des nouvelles molécules d'ADN au cours de la réplication. On montre que la duplication s'opère par un mécanisme complexe avec formation d'un brin précoce et d'un brin tardif, ce dernier faisant intervenir de petits ADN ( fragments d'Okasaki) codés par les molécules d'ADN préexistantes. L'enzyme qui réalise cette synthèse d'ADN néoformé, l'ADN polymérase III, ne peut toutefois former les brins nouveaux que dans la mesure où il existe de petits ARN précurseurs dits ARN amorces. Ces amorces sont l'œuvre d'une ARN-polymérase (ARN primase). Ces polymérases sont déjà bien connues en 1975 (16). D'autres petits ARN, d'origine nucléaire, dont le rôle était beaucoup moins clair, ont été également décrits (15, 27, 28). C'est dans ce contexte que Beljanski met en évidence le rôle de petits ARN (7) qui agissent spécifiquement (en fonction de leur composition en bases) sur la réplication in vitro de l'ADN de divers tissus et est même amené à proposer un mécanisme de transformation induite par des ARN, ce qui était en accord avec des travaux portant sur la tumorigenèse provoquée par des virus à ARN comme le virus du sarcome de Rous ou le rôle tumorigène d'ARN chez les végétaux (30,39,42) . Ces travaux sur les petits ARN (12) sont à l'origine de la mise au point du produit qui stimule la formation de leucocytes par la moelle osseuse (RLB)

A cette époque, les processus de la cancérisation ne sont encore que très mal connus et on ne dispose pas comme aujourd'hui de schémas qui décrivent, pour des types cellulaires déterminés, la succession des événements qui aboutissent à la cancérisation. Dans le cas des tumeurs végétales que sont les crown-galls, type de tumeur qui a fait l'objet de nombreuses investigations de Beljanski, on sait tout juste qu'un fragment d'ADN provenant de plasmides d'une bactérie (*Agrobacterium tumefaciens*) est intégré dans les cellules transformées. Cette intégration entraîne une production continue et excessive de deux facteurs de croissance de la plante : auxine et cytokinine. Bien entendu cette caractéristique rapprochait le crown-gall du cancer des animaux qui impliquent souvent une hyperproduction de facteurs de croissance et donnait l'impression d'une uniformité dans les mécanismes de tumorigenèse chez l'animal et chez la plante. C'est en particulier ce qui amena Beljanski à utiliser le modèle crown-gall, parmi d'autres tests, pour évaluer le pouvoir anti-tumoral d'alcaloïdes tels que l'alstonine ou

la flavopéirine que l'on retrouve dans les compléments alimentaires baptisés ROVOL et PAO.

Contrairement à ce qui est parfois allégué, on voit que les recherches de Beljanski qui l'amènent à proposer son modèle d'activation des gènes s'inscrivent bien dans le contexte biochimique des travaux portant sur la synthèse des acides nucléiques et des protéines dans les années 1970-1980. Ces travaux sont d'ailleurs bien exposés dans son article de 1983 (5, pp 23-41). En ce qui concerne en particulier l'ouverture de la double hélice, l'auteur attire l'attention sur le rôle de protéines associées à l'ADN alors que l'intervention des hélicases, des topoisomérases et des protéines déstabilisantes de l'ADN n'est pas encore bien établie. De même les relations entre l'ouverture de la double hélice et les nucléosomes sont ignorées. Il faut en outre remarquer qu'à cette époque les mécanismes enzymatiques de contrôle du cycle cellulaire étaient très mal connus, la plupart des cyclines et des kinases intervenant dans la progression du cycle n'ayant été décelées que dans les années 1980-1990 (26,34). En outre les mécanismes de l'apoptose qui se révèlent maintenant si importants dans la régulation des populations cellulaires, n'étaient alors que très imparfaitement connus (37,43). C'est sans doute la raison pour laquelle il n'est pratiquement pas question de ces aspects de la multiplication et de la mort cellulaires dans les travaux de Beljanski.

### **Point de vue de Beljanski sur la cancérisation**

Les conceptions de Beljanski sur l'activation de l'ADN et la cancérisation ont été fortement influencées par les travaux sur les effets des œstrogènes et de l'auxine sur la réplication de l'ADN et sur l'expression des gènes via la transcription (5, pp 43-67). De même les remaniements de la structure de la chromatine au cours de la transcription sont certainement à l'origine des recherches de Beljanski sur la déstabilisation de la structure secondaire de l'ADN et la mise en évidence de l'hyperchromicité des ADN tumoraux (5, pp115-119).

Quatre ensembles de travaux servent de piliers à la théorie de Beljanski sur la cancérisation

#### *1) Les effets des hormones dans l'expression de l'information génétique.*

Lorsqu'une hormone stéroïde (ou une auxine chez le végétal) pénètre dans une cellule réceptrice, elle se lie à un récepteur protéique cytoplasmique et le complexe formé est transféré dans le noyau où il active la chromatine provoquant ainsi la transcription de certains gènes(44). Cette activité est cytologiquement décelable dans certains matériels par autoradiographie sous la forme de puffs ou de chromosomes en écouvillon qui expriment la déstabilisation locale de l'ADN chromosomique.(17,36)

*2) les effets des hormones stéroïdes et de l'auxine sur la réplication de l'ADN.* Ces composés hormonaux stimulent la synthèse de l'ADN (18, 21, 22, 25, 33), particulièrement de l'ADN tumoral. Divers composés chimiques ont le même effet.

*3) La réplication de l'ADN et sa transcription* qui mettent en jeu des mécanismes enzymatiques (polymérases) impliquent une ouverture de la double hélice due à la rupture des ponts hydrogènes qui normalement la stabilisent. L'ouverture de la double hélice provoque une augmentation de l'absorption de la lumière UV à 260 nm (effet hyperchromique).

*4) Enfin des travaux déjà anciens ( 32,35) qui montraient que les séquences d'ADN (ou de mARN correspondants) sains ou tumoraux ne différaient pas significativement,* ce qui rendait improbable le rôle majeur de mutations géniques dans la cancérisation. Il est actuellement vérifié que les populations de mARN des cellules saines ou tumorales sont peu différentes, puisque 3% seulement des mARN apparaissant spécifiques des cellules cancéreuses..

Pour Beljanski la cellule cancéreuse est donc une cellule dont *l'ADN est déstabilisé* en partie par rupture de ponts hydrogènes. Ce dernier fonctionne incorrectement, certains gènes s'expriment trop du fait d'une accessibilité accrue pour l'ARN polymérase, d'autres ne peuvent s'exprimer du fait de resserrement locaux, contre-partie de l'ouverture excessive de certaine régions de la double hélice ( pour le modèle voir 5, pp 136-139). La déstabilisation pourrait être due à des interactions entre l'ADN et des peptides ou de petits ARN dont la nature et la concentration seraient différentes dans les tissus tumoraux et sains (5).

### **Critique de la conception de Beljanski à la lumière des connaissances actuelles.**

On connaît maintenant plusieurs modèles de tumorigenèse bien documentés chez l'animal (19,20, 29) et la plante (23). Il s'agit le plus souvent de proliférations résultant d'un excès de facteurs de croissance ou d'enzymes lié au fonctionnement dérégulé de gènes importés ou de gènes mutés (oncogènes). Des défauts du contrôle de la division cellulaire par des gènes inhibiteurs du cycle devenus inactifs, par mutation ou répression, sont également observés. Enfin le mécanisme d'apoptose est également perturbé (1).

Il s'agit donc toujours d'un emballement du mécanisme de la division cellulaire et corrélativement de l'expression des gènes, dont l'origine est complexe et surtout variable selon les tumeurs : mutations (de gènes codant pour des activités tyrosine (famille *src*), thréonine ou sérine kinases ou des protéines des voies de signalisation comme *Notch* ou *ras* (GTPase par exemple) ou amplifications de proto-oncogènes (comme dans le cas du gène *myc* détecté dans une lignée cellulaire de leucémie myéloïde aigüe ). Ce sont parfois des translocations (comme dans le cas du chromosome Philadelphie portant le gène hybride *bcr/abl* des leucémies myéloïdes chroniques) ou des insertions de promoteurs viraux (cas d'un cancer mammaire de la souris du au gène *Wnt-1*) qui provoquent la tumorigenèse par activation de proto-oncogènes.

Des mutations peuvent également affecter des gènes suppresseurs de tumeur dont le rôle normal est de freiner ou d'empêcher la transition G1-S, comme dans le cas du rétinoblastome (34). Enfin des anomalies du contrôle épigénétique peuvent être impliquées comme dans le cas de la destruction provoquée par un virus de la protéine p53. L'activité de cette protéine inhibitrice de tumeur est souvent affectée dans de nombreux types de cancers (colon, poumon, sein ...) à la suite de délétions ou de mutations portant sur son propre gène ou certains de ses gènes régulateurs

Toutes ces déficiences géniques provoquent des déséquilibres métaboliques, source de nouvelles mutations et d'anomalies chromosomiques qui expliquent l'augmentation progressive de la malignité. Ces perturbations ont une répercussion au niveau de la chromatine et de la structure secondaire de la double hélice dont les nombreuses ouvertures ne font qu'exprimer l'activité anormale de transcription et de réplication.

Ainsi, actuellement, on connaît de très nombreuses modifications génétiques qui conduisent à la cancérisation, malheureusement la plupart ne sont *ni spécifiques d'un type de tumeur, ni responsables à elles seules de la tumorigenèse*. Le processus de cancérisation fait en effet intervenir à la fois des modifications génétiques héréditaires (1,24) et des interventions épigénétiques (1,19) souvent déterminantes. On conçoit donc que l'approfondissement des connaissances sur les mécanismes génétiques de la cancérisation, bien qu'indispensable, ne puisse pas déboucher à court terme sur des réponses thérapeutiques et que la cancérologie doive encore se battre avec des inhibiteurs dont la sélectivité est très insuffisante.

Si les recherches récentes confirment que toute cancérisation implique des modifications d'ordre génétique, en particulier des mutations, ce que Beljanski a contesté, il n'en reste pas

moins que rien dans toutes les données qui viennent d'être brièvement résumées ne rend obsolète sa conception sur l'ADN tumoral. Celui-ci est donc bien déstabilisé, bien que ce ne soit pas la cause première de la maladie *mais la résultante obligée de plusieurs effets inducteurs et promoteurs additifs, voire synergistes*. C'est donc une des conséquences majeures de mécanismes transformants polymorphes, *sorte de dénominateur commun* à tous les types tumoraux, que les recherches récentes sur les causes de la cancérisation n'invalident pas.

### **Les inhibiteurs de l'expression cancéreuse étudiés par Beljanski**

Les produits étudiés par Beljanski sont des alcaloïdes extraits à partir de plantes connues pour leur richesse en molécules d'intérêt pharmacologique, en particulier anticancéreux. Il s'agit de l'alstonine extraite de *Rauwolfia vomitoria*, de *Vinca rosea* et d'*Alstonia constricta* (des Apocynacées.), de son stéréoisomère serpentine, de la sempervirine et de la flavopéirine, extraites de *Pao pereira*, de *Strychnos melinoniana* (Loganiacées) et de *Geissospermum vellosoi* (Apocynacées). Tous ces produits sont connus depuis longtemps et leurs formules chimiques sont bien établies (2, 3, 4, 38, 40, 41). Ils sont généralement peu toxiques, leur seuil de toxicité étant loin de leur zone d'activité pharmacologique ou leur pénétration dans les cellules saines étant impossible (10)

D'après Beljanski, ces molécules bloquent l'induction de la synthèse de l'ADN tumoral mais non celle de l'ADN sain (5,31). Elles agiraient comme des *compétiteurs de molécules cancérigènes* qui stimulent les sites d'initiation de l'ADN. Des hormones stéroïdes ont le même effet inducteur que les cancérigènes sur de l'ADN tumoral mais les sites d'initiation touchés par ces deux types de substances seraient différents, pourtant là encore les alcaloïdes se révèlent compétiteurs des stéroïdes (5). Les stéroïdes ont peu d'effet stimulant sur l'ADN sain, peut-être parce qu'ils se lient faiblement à ce dernier. Les alcaloïdes se lient peu également à l'ADN sain. Pour Beljanski la réponse des ADN tumoraux est due à leur structure relâchée. Ils sont d'ailleurs de meilleurs templates pour la polymérase que des ADN sains et leur réplication est fortement amplifiée par les carcinogènes. Quant aux alcaloïdes ils joueraient le *rôle d'intercalants*, ils peuvent en effet déplacer les psoralènes (5), des agents cancérigènes intercalants bien connus. En outre la réplication des ADN tumoraux en présence de cancérigènes est inhibée par les sels, qui stabilisent les ponts hydrogènes de la double hélice (5).

Bien que les travaux de Beljanski apportent de nombreuses précisions sur les effets de ces alcaloïdes, il n'en reste pas moins que leur mode d'action exact reste inconnu, mais leurs effets stabilisants sur les liaisons hydrogènes de la double hélice paraissent bien établis et leur caractère intercalant peut les rapprocher de la triacanthine dont l'activité anticancéreuse a été mise en évidence.

### **Action des alcaloïdes sur des tissus et des organismes cancéreux**

Les expérimentations de Beljanski ont porté sur des tissus sains ou cancéreux en culture (par exemple fibroblastes, astrocytes, cellules de glioblastomes ou de mélanomes ...) Les lignées cellulaires cancéreuses utilisées étaient sensibles ou non à la chimiothérapie (6). Des essais ont également été menés sur des souris porteuses de tumeurs induites par injection de cellules cancéreuses (9). Enfin, l'activité des alcaloïdes a aussi été étudiée sur des tissus végétaux (*Chrysanthème*, *Datura*, *Parthenocissus*, Pois, Tabac (13, 31)) transformés par *Agrobacterium tumefaciens*, tissus qui prolifèrent de manière autonome comme les tissus cancéreux des animaux.

Dans ces diverses expériences les alcaloïdes ont été le plus souvent efficaces pour ralentir ou bloquer la croissance des tissus cancéreux. Une relation dose-effet et le caractère sélectif de ces composés ont été mis en évidence (8, 10, 11). Quelques échecs ont toutefois été enregistrés. En outre une synergie entre les alcaloïdes et des agents chimiothérapeutiques ou les radiations ionisantes a été observée. Pour Beljanski, cette synergie est le résultat d'une augmentation de la déstabilisation des ADN cancéreux induite par ces agents ce qui les rend encore plus accessibles à l'action des alcaloïdes (9)

Il paraît intéressant de signaler que certains des tableaux de résultats obtenus sur des souris montrent, qu'aux doses utilisées, les alcaloïdes seuls ne sont pas plus efficaces - voire même moins- que les agents chimiothérapeutiques étudiés en synergie. Un autre point mérite intérêt : le traitement chimiothérapeutique (ou radiothérapeutique) synergiste doit aussi déstabiliser l'ADN des cellules saines, ce qui le rend délétère pour ces dernières. Les alcaloïdes en s'opposant à la déstabilisation de l'ADN sain induite par le traitement cytolytique, peuvent atténuer les effets secondaires néfastes de ce dernier ainsi que le prétend Beljanski. En outre, il n'est pas impossible que l'activité stabilisante de ces alcaloïdes sur l'ADN ne puisse leur conférer, s'ils sont bien systémiques, un rôle de protection préventive, en évitant l'expression de petites anomalies de la transcription *pendant la promotion* de cellules en voie de transformation. Enfin, au cours de ces expérimentations sur la tumorigénèse, Beljanski met en évidence le rôle néfaste du fer (11,14). Il n'est pas inintéressant de signaler qu'une publication récente (45) indique que l'alstonine des extraits de *Rauwolfia* inhibe la croissance de cellules tumorales prostatiques humaines, induit l'apoptose et module l'action de gènes de la division cellulaire.

## Conclusion

L'analyse qui vient d'être faite des travaux de Beljanski permet de tirer plusieurs conclusions dont la valeur scientifique peut-être difficilement contestée :

- 1) Les recherches de cet auteur s'appuient sur un support bibliographique en biochimie et biologie moléculaire parfaitement à jour au moment où elles ont été développées.
- 2) L'orientation du travail et les conclusions auxquelles il aboutit sont *parfaitement compatibles* avec les connaissances du moment, plusieurs recherches de la même époque recoupant d'ailleurs les résultats de Beljanski, on ne peut donc le taxer d'illuminé ou d'escroc, comme cela a été parfois le cas.
- 3) La conception selon laquelle l'ADN tumoral est un ADN déstabilisé rend bien compte des anomalies de la transcription et de la réplication observées généralement dans les cancers. Non seulement elle ne semble en désaccord avec aucune des connaissances accumulées lorsqu'elle a été établie mais *elle n'est pas non plus en désaccord avec les données actuelles* sur la cancérisation.
- 4) Enfin les alcaloïdes les plus étudiés, alstonine et flavopéirine, ont à l'évidence une activité expérimentale inhibitrice du développement tumoral bien caractérisée. De plus, comme ils sont dépourvus d'effets secondaires notables, ils sont *potentiellement du plus haut intérêt*

Si l'on replace maintenant ces travaux dans le cadre général de la cancérogenèse, on ne peut que constater que **la déstabilisation de l'ADN serait l'un des seuls caractères communs à tous ( ? ) les tissus tumoraux**, puisque les mécanismes génétiques aboutissant à la cancérisation sont au contraire extrêmement variés, non seulement d'un type de cancer à l'autre mais également pour un même type de tumeur. Comme les caractéristiques métaboliques et membranaires particulières aux cellules cancéreuses n'ont pas permis de proposer de traitement valable, s'efforcer de réduire cette déstabilisation chromatinienne

reste donc une orientation thérapeutique souhaitable, puisqu'elle peut s'associer aux traitements habituels dont elle diminuerait les effets secondaires néfastes.

Il est alors *scientifiquement détestable et humainement tout à fait incompréhensible* que ces travaux aient pu faire l'objet d'un rejet quasi unanime par la communauté scientifique et médicale, au moins en France. Bien que des incompatibilités entre chercheurs, la défense d'une position hégémonique et sectaire par quelques cancérologues éminents, ou celle d'intérêts mercantiles, expliquent ce rejet, rien de tout cela ne peut justifier que des travaux scientifiques sérieux soient écartés, surtout s'ils portent sur une pathologie aussi grave et répandue que le cancer. La conséquence la plus évidente de ces comportements néfastes a été *l'impossibilité de tester correctement l'activité de ces alcaloïdes chez l'homme*. Les seuls éléments dont on dispose actuellement - après un recul de plus de dix ans depuis les premières utilisations de ces produits - ne sont que des témoignages souvent fragmentaires, voire scientifiquement inconsistants, et les informations que pourraient livrer les quelques médecins qui les conseillent, mais qui se gardent bien de l'ébruiter au risque de se voir sanctionner par le conseil de l'ordre.

Il ne reste alors à la majorité des malades souhaitant améliorer leurs chances de survie qu'à se soumettre, sans informations sérieuses, à un *traitement très onéreux* appliqué le plus souvent *sans coordination* avec les thérapeutiques codifiées de la médecine officielle.

## BIBLIOGRAPHIE

**Plusieurs articles cites en référence correspondent à la période 1970-1985 pendant laquelle ont eu lieu les travaux fondamentaux de Beljanski sur la cancérisation et les alcaloïdes. Des données plus récentes peuvent être trouvées dans les manuels « Biologie et Biologie Moléculaire de la Cellule (1) » ou « Harper,Biochimie (24) » .**

- 1) Alberts *et al.* Molecular Biology of the Cell, Garland Publishing Inc., 1994
- 2) Bächli *et al.* Helv. Chim. Acta 40:1167, 1957.
- 3) Bader, Helv. Chim. Acta 36:215, 1953.
- 4) Bajar *et al.* Comptes Rendus 244: 2066,1957
- 5) Beljanski. Experimental Biology and Medicine Vol 8: pp1-190, Karger, 1983
- 6) Beljanski. Gen.Mol.Biol. 23:29-33,2000.
- 7) Beljanski et Aaron-da Cunha. Mol.Biol.Rep. 2: 497-506, 1976
- 8) Beljanski et Beljanski. Expl. Cell Biol. 50: 79-87, 1982
- 9) Beljanski et Beljanski. Oncology 43:198-203, 1986
- 10) Beljanski et Crochet. Intern. J. Oncology 7:81-85, 1995
- 11) Beljanski et Crochet. Intern. J. Oncology 8:1143-1148, 1996
- 12) Beljanski *et al.* Bull.Acad.Natl.Méd. 162: 475-481, 1978
- 13) Beljanski *et al.* Acta Horticulturae 125 : 239-248, 1982.
- 14) Beljanski *et al.* Anticancer Research 13:2301-2308, 1993.
- 15) Blinkerd et Toliver. Cytobios 10: 221-233, 1974.
- 16) Chambon. Ann. Rev. Biochem. 44: 613-638, 1975
- 17) Clever et Karlson. Expl. Cell Res 20 :623-626, 1960
- 18) Das.. J.Endocr. 55:203-204, 1972.
- 19) Farber et Cameron. Adv. Cancer Res. 31:125-225, 1980
- 20) Feron et Vogelstein. Cell 61 :759-767. 1990.
- 21) Galand *et al.* Expl.Cell Res. 48:595-604, 1967.

- 22) **Galand *et al.*** J.Endocrinol.49 :243-252,**1971**
- 23) **Gelvin.** Ann.Rev.Plant Mol.Biol.,51:223-256, **2000**
- 24) **Harper's Biochemistry.** 24<sup>th</sup> edition, McGraw-Hill, **1996**
- 25) **Harris et Gorski.** Mol. Cell Endocrinol. 10:293-305, **1978**
- 26) **Hartwell et Weinert.** Science, 246:629, **1989.**
- 27) **Kanehisa *et al.*** Biochem. Biophys. Acta 277:140-152, **1972**
- 28) **Kanehisa *et al.*** Archs. Biochem. Biophys. 165:146-152, **1974**
- 29) **Lasko *et al.***. Ann .Rev. Genet. 25:281-314, **1991.**
- 30) **Le Goff *et al.*** Canad.. J. .Microbiol.. 22:694-701, **1976**
- 31) **Le Goff *et al.*** Physiol. Plant.64 :177-184, **1985.**
- 32) **Le Pecq.** Actualités Scientifiques et Industrielles, 1388, Hermann, **1978.**
- 33) **Leroy *et al.*** Nature, 258:259-260, **1975**
- 34) **Murray et Hunt.** .The Cell Cycle. Oxford University Press, **1993**
- 35) **Myosis *et al.*** Biochemistry, 19:821-888, **1980**
- 36) **Pelling.** Nature, 184:655-656, **1959.**
- 37) **Raff.** Nature, 356:397-400, **1992**
- 38) **Rapoport *et al.*** J. Amer. Chem. Soc. 80:1601, **1958.**
- 39) **Roussaux.** Physiol. Plant. 35:269-272, **1975**
- 40) **Schlittler *et al.*** Helv. Chim. Acta 35: 271, **1952.**
- 41) **Sharp.** J.Chem.Soc.287, **1934.**
- 42) **Sobota.** Microbios 23 :115-126,**1978**
- 43) **Steller ;** Science, 267 :1445, **1995**
- 44) **Yamamoto.** Ann. Rev. Genet. 19 :209, **1985**
- 45) **Bemis *et al.*** Inter.J ;Oncology 29:10, **2006**