

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université Djillali Liabes de Sidi Bel Abbès

Faculté des Sciences, de la Nature et de la Vie

Département de Biologie

THESE

Pour l'obtention du

DOCTORAT 3^{ème} Cycle (LMD) en Sciences

Présentée par :

Meriem Rabia ZAHZEH

Spécialité : Biologie

Option : Biologie de la Cellule Normale et Pathologique

Intitulé

Effet de l'agression environnementale sur la balance Th1/Th2 et le NADPH au cours du lymphome non-Hodgkinien : rôle des pesticides sur l'effet Warburg

Soutenu le :

Devant le jury composé de :

Président :	Pr. MOULESSEHOUL Soraya	UDL de Sidi Bel Abbès
Examineurs :	Pr. MOUATS Aziz	Université de Mostaganem
	Dr. KLOUCHE Lynda	UDL de Sidi Bel Abbès
	Dr.SMAHI Chems-Eddine Ismet	Université de Tlemcen
Directeur de thèse :	Pr. ARIBI Mourad	Université de Tlemcen

Année Universitaire : 2014-2015

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université Djillali Liabes de Sidi Bel Abbès

Faculté des Sciences, de la Nature et de la Vie

Département de Biologie

THESE

Pour l'obtention du

DOCTORAT 3^{ème} Cycle (LMD) en Sciences

Présentée par :

Meriem Rabia ZAHZEH

Spécialité : Biologie

Option : Biologie de la Cellule Normale et Pathologique

Intitulé

Effet de l'agression environnementale sur la balance Th1/Th2 et le NADPH au cours du lymphome non-Hodgkinien : rôle des pesticides sur l'effet Warburg

Soutenu le :

Devant le jury composé de :

Président :	Pr. MOULESSEHOUL Soraya	UDL de Sidi Bel Abbès
Examineurs :	Pr. MOUATS Aziz	Université de Mostaganem
	Dr. KLOUCHE Lynda	UDL de Sidi Bel Abbès
	Dr.SMAHI Chems-Eddine Ismet	Université de Tlemcen
Directeur de thèse :	Pr. ARIBI Mourad	Université de Tlemcen

Année Universitaire : 2014-2015

Résumé

Introduction. Le lymphome non-Hodgkinien (LNH) est un syndrome lymphoprolifératif. L'apparition du LNH a été corrélée positivement à une exposition aux pesticides dans de nombreuses études, en effet, les pesticides ont un rôle dans la lymphomagenèse et conditionnent l'évolution des LNH ainsi que le pronostic du patients. Le lien entre les pathologies cancéreuses et l'altération du métabolisme a déjà été suggéré comme une caractéristique commune des tissus cancéreux. Les cellules cancéreuses dépendent de la glycolyse pour produire de l'énergie, même en présence d'oxygène à des concentrations normales, c'est l'effet Warburg.

Objectif. L'effet des pesticides sur le nicotinamide adénine dinucléotide phosphate hydrogène (NADPH) et l'altération du métabolisme « effet Warburg » ainsi que sa relation avec le rapport Th1/Th2 ont été évalué chez des patients souffrant de LNH.

Matériels et méthodes. 100 patients nouvellement diagnostiqués avec un LNH agressif (53 hommes, 47 femmes) et 40 contrôles (23 hommes, 17 femmes), exposés ou non aux pesticides, ont été recrutés pour une étude cas-témoin, menée au niveau des Services d'Hématologie des Centres Hospitaliers et Universitaires de Tlemcen et de Sidi Bel-Abbès.

Résultats. Les niveaux de NADPH ont été significativement élevés chez les patients par rapport aux contrôles; et chez les patients exposés aux pesticides (PE) par rapport aux non exposés (PNE) et aux contrôles (analyse unidirectionnelle de la variance, $p=0,000$). L'albumine, la glutathion peroxydase, la superoxyde dismutase, l'activité de catalase, et la capacité antioxydante totale (ORAC) ont été significativement diminués chez les patients en comparaison avec les contrôles, avec des niveaux de l'ORAC significativement diminués chez les PE par rapport aux PNE; cependant, les niveaux de malondialdéhyde ont été significativement augmentés chez les PE par rapport aux contrôles et aux PNE. Les taux de protéines carbonylées et de xanthine oxydase ont été significativement élevés chez les PE par rapport aux contrôles; alors qu'aucune différence significative n'a été observée entre les deux groupes de patients ou entre les PNE et les contrôles. Le rapport Th1/Th2 a été significativement diminué chez les patients par rapport aux contrôles; alors que le rapport neutrophiles sur lymphocytes a été significativement élevé (pour les deux comparaisons, $P<0,001$). En outre, le NADPH a été fortement associé au LNH (Odds ratio commun de Mantel-Haenszel = 5,55; intervalle de confiance 95% 2,22-13,88; $P= 0,000$). Aussi, les niveaux de NADPH ont été corrélés négativement au rapport Th1/Th2, soit chez les PE ou chez les PNE (respectivement, $r=-0,498$ [$P=0,004$] et $r=-0,327$ [$p=0,006$]).

Conclusions. L'exposition aux pesticides a été fortement associée à l'altération du métabolisme « effet Warburg » et des taux de NADPH au cours du LNH. La relation entre le NADPH et le rapport Th1/Th2 devrait être au centre des nouvelles stratégies thérapeutiques contre la maladie.

Mots clés. Lymphome non hodgkinien, pesticides, effet Warburg, NADPH, rapport Th1/Th2.

Abstract

Introduction. Non-Hodgkin lymphoma (NHL) is a lymphoproliferative disorder. NHL appearance was positively correlated with exposure to pesticides in many studies. In fact, pesticides have a role in lymphomagenesis and condition the evolution of NHL and the prognosis of patients. The link between cancer diseases and altered metabolism has been suggested as a common feature of cancer tissue. Cancer cells depend on glycolysis for energy production, even in the presence of oxygen at normal concentrations, this is the Warburg effect.

Objective. The effect of pesticides on nicotinamide adenine dinucleotide phosphate hydrogen (NADPH) and impaired metabolism "Warburg effect", including its relationship with Th1/Th2 ratio, in patients suffering from non-Hodgkin lymphoma (NHL) was investigated.

Materials and methods. One hundred newly diagnosed patients with aggressive NHL (53 men, 47 women) and 40 healthy age-, sex-, and body mass index-matched controls (23 men, 17 women), exposed or not to pesticides, were recruited for a cross-sectional study conducted at the Clinical Hematology Departments of Tlemcen and Sidi Bel-Abbès University Medical Centers in the northwest of Algeria.

Results. NADPH levels were significantly increased in patients compared with controls; and in exposed patients (EP) compared with those not exposed (NEP), and controls (one-way analysis of variance; $P=0.000$). Albumin, glutathione peroxidase, superoxide dismutase, catalase activity, and oxygen radical absorbance capacity levels were significantly decreased in patients compared with in the control group. Oxygen radical absorbance capacity levels were significantly decreased in EP compared with in NEP; however, malondialdehyde levels were significantly increased in EP when compared with controls and NEP. Protein carbonyl and xanthine oxidase levels were significantly increased in EP compared with controls; meanwhile, there were no significant differences between the two patient groups or between NEP and controls. The Th1/Th2 ratio was significantly decreased in patients when compared with controls; the neutrophil-to-lymphocyte ratio was significantly increased (for both comparisons, $P<0.001$). In addition, NADPH was strongly associated with NHL (Mantel–Haenszel common odds ratio estimate =5.55; 95% confidence interval, 2.22–13.88; $P=0.000$). Moreover, NADPH levels were significantly negatively related to the Th1/Th2 ratio, either in EP or in NEP (respectively, $r=-0.498$ [$P=0.004$] and $r=-0.327$ [$P=0.006$]).

Conclusions. Pesticide exposure was strongly associated with the altered metabolism "Warburg effect" and NADPH rate during the NHL. The relationship between NADPH and Th1/Th2 ratio should focus on new therapeutic strategies for the disease.

Keywords. Non-Hodgkin lymphoma, pesticides, Warburg effect, NADPH, Th1/Th2 ratio.

ملخص

مقدمة. الأورام اللمفاوية غير هودجكين هي اضطراب تكاثري لمفي. ارتبط ظهورها مع التعرض للمبيدات الحشرية في العديد من الدراسات و التي لها دور في حالة تطور و التشخيص للمرضى. اقترح العلاقة بين السرطان و تغير الأيض كسمة مشتركة من الأنسجة السرطانية. الخلايا السرطانية تعتمد على تحلل لإنتاج الطاقة، حتى في وجود الأكسجين في تركيزات العادية. هذا ما يسمى بتأثير واربورغ.

الهدف. تم تقييم تأثير المبيدات على نيكوتيناميد الأدينين ثنائي النوكليوتيد فوسفات الهيدروجين و ضعف التمثيل الغذائي " تأثير واربورغ " وعلاقته مع نسبة Th1 /Th2 في المرضى الذين يعانون من الأورام اللمفاوية غير هودجكين.

المواد والأساليب. تم تجنيد 100 مريض بالأورام اللمفاوية غير هودجكين (53 من الرجال و 47 للنساء) و 40 الضوابط (23 رجلا و 17 امرأة)، يتعرضون أم لا للمبيدات لدراسة الحالات والشواهد، التي أجريت في مستشفى جامعة تلمسان وسيدي بلعباس. **النتائج.** نسب النيكوتيناميد ادنين دينكليوتيد فوسفات هيدروجين مرتفعة بصفة عامة لدى المرضى مقارنة بالأشخاص السليمة و عند المرضى المعرضون بنسبة للغير المعرضون للمبيدات بينما نسب الالبين غليوتيون بروكسداز الاوراك سوبيير اوكسيد ديسميناز و الكتالاز منخفضة بشكل ملموس عند المرضى و نسب الاوراك منخفضة عند المرضى المعرضون بنسبة للغير المعرضون بينما نسب الملونددليبيد مرتفعة عند المرضى المعرضون. نسب البروتينات الكربونيلية و الكزونتين اوكسيداز مرتفعة عند المرضى المعرضون بنسبة للأشخاص السليمة بينما لا توجد فروق ذات دلالة إحصائية بين فئتي المرضى و بين المرضى الغير المعرضون و الأشخاص السليمة. نسبة Th1 /Th2 منخفضة بصفة هامة عند المرضى بنسبة للأشخاص السليمة بينما نسبة N/L مرتفعة إضافة إلى ذلك صلة سلبية موجود بين نسب النيكوتيناميد ادنين دينكليوتيد فوسفات هيدروجين و الأورام اللمفاوية غير هودجكين عند كلتا الفئتين. نسب النيكوتيناميد ادنين دينكليوتيد فوسفات هيدروجين كانت مرتبطة سلبيا مع نسبة Th1 /Th2 عند المرضى. **الاستنتاجات.** التعرض للمبيدات ارتبط بقوة مع تغير الأيض "تأثير اربورغ" و نسب النيكوتيناميد ادنين دينكليوتيد فوسفات هيدروجين في الأورام اللمفاوية غير هودجكين. العلاقة بين النيكوتيناميد ادنين دينكليوتيد فوسفات هيدروجين ونسبة Th1 /Th2 ينبغي أن يكون محور استراتيجيات علاجية جديدة ضد المرض.

الكلمات المفتاحية. الأورام اللمفاوية غير هودجكين، المبيدات، تأثير اربورغ، النيكوتيناميد ادنين دينكليوتيد فوسفات هيدروجين، نسبة Th1 /Th2.

Avant-propos

Cette thèse s'intègre dans le cadre de l'obtention du titre de Docteur en Biologie. Elle a été réalisée sous la direction du Professeur Mourad ARIBI, Directeur du Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée et Immunologie (Université de Tlemcen, Algérie).

De nombreuses personnes ont contribué à la réalisation de cette thèse de Doctorat et je ne saurais commencer sans leur témoigner ma gratitude.

En premier lieu, je tiens à exprimer toute ma reconnaissance au Pr Mourad Aribi, mon directeur de thèse, qui m'a accueillie au sein de son laboratoire et qui aura été à l'origine de cette recherche. Je vous dis tout simplement merci pour votre encadrement constructif, instructif ainsi que votre disponibilité.

Je remercie les membres du jury qui m'ont fait l'honneur d'examiner cette thèse à savoir Professeur MOULESSEHOUL Soraya (Présidente du Jury), Professeur MOUATS Aziz, Docteur KLOUCHE Lynda et Docteur SMAHI Mohammed Chems-Eddine Ismet.

Mes remerciements vont également à tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail notamment : Professeur ZOUAOUI Zahia et Professeur MESLI Naima pour m'avoir accueillie au niveau de leurs services respectifs d'hématologie.

Je dédie cette thèse à mes deux grands pères qui auraient été fière de moi paix à leurs âmes.

A mes parents qui m'ont soutenue durant la préparation de ce travail.

A ma sœur Fazia et mon frère Othman.

A mes grand-mères qui étaient présentes par leurs douaas.

Et à tous ceux qui ont été là pour moi durant cette période

TABLE DES MATIERES

Résumé	iii
Abstract	v
ملخص	vii
Avant-propos	viii
Table des matières	ix
Liste des figures	xiii
Liste des tableaux	xv
Liste des abréviations	xvi
Introduction	1
CHAPITRE 1. Revue de la littérature	4
1.1. Lymphome non-Hodgkinien	4
1.1.1. Incidence du lymphome non-Hodgkinien	4
1.1.2. Classification des lymphomes non-Hodgkinien	7
1.1.3. Mécanismes cellulaires et moléculaires des lymphomes non-Hodgkinien	10
1.1.3.1. Etiologie	10
1.1.3.1.1. Facteurs environnementaux	10
1.1.3.1.2. Facteurs liés à l'hôte	15
1.1.3.1.3. Facteurs génétiques	17
1.1.3.1.3.1. Translocations chromosomiques récurrentes	17
1.1.3.1.3.2. Translocations chromosomiques avec gènes de fusion	21
1.1.3.1.3.3. Inactivation de gènes suppresseurs de tumeurs	21
1.1.4. Symptômes du lymphome non-Hodgkinien	22
1.1.5. Diagnostic du lymphome non-Hodgkinien	22
1.1.6. Traitement du lymphome non-Hodgkinien	23
1.2. Effet Warburg	24
1.2.1. Définition de l'effet Warburg	24
1.2.2. Historique	25

1.2.3. Conséquences métaboliques de l'effet Warburg sur la prolifération tumorale	26
1.2.4. Voies de signalisation impliquées dans l'effet Warburg	26
1.2.5. Applications thérapeutiques de l'effet Warburg	30
1.3. Espèces réactives de l'oxygène et cancer	30
1.3.1. Statut oxydant/antioxydant	30
1.3.1.1. Radicaux libres	31
1.3.1.2. Sources des espèces réactives de l'oxygène	32
1.3.1.2.1. Sources endogènes	32
1.3.1.2.1.1. Xanthine oxydase	32
1.3.1.2.1.2. Malondialdéhyde	33
1.3.1.2.1.2.1. Peroxydation lipidique	33
1.3.1.2.1.3. Protéines carbonylées	36
1.3.1.2.1.3.1. Oxydation des protéines	36
1.3.1.2.2. Sources exogènes	36
1.3.1.3. Implication des radicaux libres en pathologie	36
1.3.1.4. Statut antioxydant	38
1.3.1.4.1. Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate hydrogène	38
1.3.1.4.2. Enzymes anti-oxydantes	39
1.3.1.4.2.1. Superoxyde dismutase	39
1.3.1.4.2.2. Catalase	41
1.3.1.4.2.3. Glutathion peroxydase	42
1.3.1.5. Processus inflammatoire	44
1.3.1.5.1. Albumine	44
1.3.1.5.2. Rapport neutrophiles/lymphocytes	45

1.4. Balance Th1/Th2	45
1.4.1. Définition	45
1.4.2. Mode d'action	45
1.4.3. Déséquilibre de la balance Th1/Th2 et pathologies	47
1.5. Problématique et objectifs	48
1.5.1. Problématique	48
1.5.2. Objectifs	49
1.5.3. But	49
CHAPITRE 2. Article. Relationship between NADPH and Th1/Th2 ratio in patients with non-Hodgkin lymphoma who have been exposed to pesticides	50
2.1. Matériels et méthodes	52
2.1.1. Patients et sujets	52
2.1.2. Prélèvements sanguins	53
2.1.3. Méthodes	53
2.1.3.1. Dosage du nicotinamide adénine dinucléotide phosphate hydrogène	53
2.1.3.2. Le rapport neutrophiles/lymphocytes	54
2.1.3.3. Dosages de l'IL-4 et l'IFN-gamma et le ratio Th1/Th2	54
2.1.3.4. Dosage de l'albumine	54
2.1.3.5. Dosage de la glutathion peroxydase	55
2.1.3.6. Dosage de la superoxyde dismutase	56
2.1.3.7. Test de la catalase	56
2.1.3.8. Détermination de la capacité anti-oxydante totale	57
2.1.3.9. Dosage du Malondialdéhyde	57
2.1.3.10. Dosage des protéines carbonylées	58
2.1.3.11. Dosage de la xanthine oxydase	59
2.1.3.12. Dosage de la phosphatase alcaline	59

Table des matières	xii
<hr/>	
2.1.3.13. Dosage du lactate deshydrogénase	59
2.1.4. Analyses statistiques	59
2.2. Résultats	60
2.2.1. Caractéristiques des patients et témoins	60
2.3. Discussion	70
2.4. Conclusion	77
Chapitre 3. Conclusions et perspectives	78
Chapitre 4. Bibliographie	80
Annexes	
Publications et communications	

Liste des figures

Figure 1.1 Répartition des différents sous-types de LNH	9
Figure 1.2 Rôles de l'EBV dans la lymphomogénèse	16
Figure 1.3 Translocation chromosomique du gène c-myc	18
Figure 1.4 Ratio BCL-2/Bax	19
Figure 1.5 Translocation du gène BCL-2	19
Figure 1.6 Surexpression de BCL-2 et échappement à l'apoptose	20
Figure 1.7 Translocation du gène BCL-6	21
Figure 1.8 L'effet Warburg	25
Figure 1.9 Cycle de transformation du glucose	27
Figure 1.10 Voies de signalisation de l'effet Warburg	29
Figure 1.11 Déséquilibre de la balance entre antioxydants et ERO	30
Figure 1.12 Nature et relation entre les principaux radicaux libres et les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote intervenant au cours du stress oxydatif	33
Figure 1.13 Peroxydation lipidique voie de synthèse du malondialdéhyde à partir des acides gras polyinsaturés	35
Figure 1.14 Malondialdéhyde	35
Figure 1.15 Métabolisme des ERO et les molécules affectées	37
Figure 1.16 Les quatre formes de la superoxyde dismutase selon le métal contenu dans la molécule	40
Figure 1.17 Réaction de la superoxyde dismutase	41
Figure 1.18 Réaction catalysée par la catalase	42
Figure 1.19 Mode d'action du GPx	42
Figure 1.20 Les ERO et leur système de détoxification	44
Figure 1.21 Balance Th1/Th2	48

Figure 2.1 Principe de la réaction de la glutathion peroxydase	55
Figure 2.2 Réaction de la superoxyde dismutase	56
Figure 2.3 Biochimie du dosage des protéines carbonylées	58
Figure 2.4 Niveaux du LDH chez les témoins et les patients	61
Figure 2.5 Niveaux de la PAL chez les témoins et les patients	61
Figure 2.6 Niveaux du ratio neutrophiles/lymphocytes chez les témoins et les patients	62
Figure 2.7 Niveaux de NADPH chez les témoins et les patients	63
Figure 2.8 Taux de l'IFN-g, de l'IL-4 et le ratio Th1/Th2 chez les patients (PE et PNE) et les témoins	63
Figure 2.9 Niveaux de l'albumine chez les témoins et les patients	64
Figure 2.10 Niveaux de la glutathion peroxydase chez les témoins et les patients	64
Figure 2.11 Niveaux de la superoxyde dismutase chez les témoins et les patients	65
Figure 2.12 Niveaux de la catalase chez les témoins et les patients	65
Figure 2.13 Niveaux de l'ORAC chez les témoins et les patients	66
Figure 2.14 Niveaux du malondialdéhyde chez les témoins et les patients	66
Figure 2.15 Niveaux des protéines carbonylées chez les témoins et les patients	67
Figure 2.16 Niveaux de la xanthine oxydase chez les témoins et les patients	67
Figure 2.17 Relation entre le NADPH et le LNH	69
Figure 2.18 Relation entre le NADPH et le rapport Th1/Th2 chez les patients exposés et non exposés aux pesticides	69

Liste des tableaux

Tableau 1.1 Entités du LNH apparentées à la classification de l’OMS	10
Tableau 1.2 Classification anatomopathologique de REAL	12
Tableau 1.3 Classification d’Ann Arbor	13
Tableau 1.4 Enzymes dépendantes du NADPH	39
Tableau 1.5 Différentes caractéristiques des GPxs	43
Tableau 1.6 Activités des différentes GPx vis à vis de différents substrats (%)	43
Tableau 2.1 Caractéristiques des patients et témoins	60
Tableau 2.2 Bio-marqueurs du stress oxydatif chez les patients atteints de LNH et les témoins	68
Tableau 2.3 Études cas-témoins analysant le lien entre pesticides et LNH	72

Liste des abréviations

A

ACL: ATP citrate lyase

ADN : acide désoxy nucléotidique

AKT: serine thréonine protein

Alb: albumine

AMP: adénosine monophosphate

AMPK : AMP activated protein kinase

API2: apoptosis inhibitor 2

ATL: adult T lymphoma (lymphoma T de l'adulte)

ATP: adenosine triphosphate

B

Bad: BCL-2 associated death promoter

Bax: BCL-2 associated X protein

BCL-1: B cell lymphoma 1

BCL-2: B cell lymphoma 2

BCL-6: B cell lymphoma 6

BCR: B cell receptor

B : lymphome de Burkitt

C

CAT : catalase

CE : contrôles exposés aux pesticides

CMH : complexe majeur d'histocompatibilité

CNE : contrôles non exposés aux pesticides

CPA : cellules présentatrices d'antigènes

CSF: colony stimulating factor

CTL : cytotoxic T lymphocyte

Cu : cuivre

D

DLBCL: diffuse large B cell lymphoma (lymphome diffus à grandes cellules B)

DNPH: dinitrophénylhydrazine

E

EBNA-2: epstein barr virus nuclear antigene 2

EBV : virus d'Epstein Barr

EDTA : ethylene diamine tetracetic acid

EOA : espèces oxygénées activées

ERO : espèces réactives de l'oxygène

F

FAD : flavine adénine dinucléotide

Fe : fer

G

G6PD : 6 phosphogluconate déshydrogénase

GR: glutathion réductase

GSH : glutathion réduit

GSH-Px: glutathion peroxydase

GSSG : glutathion oxydé

Gy : Gray

H

HHV: human herpes virus

HTLV-1: human T lymphotrope virus 1

HIF 1 α : hypoxia inducible factor 1 α (facteur induit par l'hypoxie 1 α)

I

IDH 1: isocitrate déshydrogénase 1

IFN: interféron

Ig: immunoglobuline

IL: interleukine

IMC : indice de masse corporelle

IU : unité internationale

L

LAI: lymphadénopathie angioimmunoblastique

LBK1 : liver kinase B1

LDH : lactate déshydrogénase

LDHA: lactate déshydrogénase A

LDL: low density lipoprotein

LMP-1: latent membrane protein 1

LNH: lymphome non-Hodgkinien

LPO : peroxydes lipidiques

M

MALT: mucosa associated lymphoïde tissue (tissu lymphoïde associé aux muqueuses)

Max: BCL-2 homologous antagonist killer

MCT1 : monocarboxylate transporter 1

MDA : malondialdéhyde

ME : malic enzyme (enzyme malique)

MLT: mucosa associated lymphoid tissue lymphoma translocation

Mn: manganèse

mtHK : mitochondria total hexokinase

N

NAD: nicotinamide adénine dinucléotide

NADP : nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

NADPH : nicotinamide adénine dinucléotide phosphate d'hydrogène

Ni : nickel

NK:natural killer

NLR: neutrophil lymphocyte ratio (rapport neutrophiles/lymphocytes)

NO : nitric oxide (monoxyde d'azote)

NOS : nitric oxide synthase

O

OMS: organization mondiale de la santé

ORAC: oxygen radical absorbance capacity

P

PAL: phosphatase alcaline

PC : protéines Carbonylées

PE : patients exposés aux pesticides

PFK : phosphofructokinase

pg : picogramme

PGD : phosphogluconate déshydrogénase

PI3K: phosphatidyl inositol triphosphate kinase

PNE : patients non exposés aux pesticides

PPS : pentose phosphate shunt

PTL: peripheral T cell lymphoma

PTLU: peripheral T cell lymphoma unspecified

S

SOD : superoxyde dismutase

T

Tax: transactivator of pX

TCR: T cell receptor

TGF: transforming growth factor

Th: T helper

Th1: T helper 1

Th2: T helper 2

TIGAR: TP53 inducible glycolysis and apoptosis regulator

TNF: tumor necrosis factor

TP-53 : tumor protein 53

Treg : T régulateurs

U

U : unité

V

VDAC: voltage dependent anion channel

VHC: virus de l'hépatite C

VIH: virus de l'immunodéficience humaine

X

XO: xanthine oxydase

Z

Zn : zinc

Introduction

Le LNH comprend plusieurs maladies malignes lympho-prolifératives avec différentes apparences cliniques et histologiques. Il peut être présent de diverses manières et est donc difficile à diagnostiquer (Bagirath *et al.*, 2014 ; Evans et Hancock, 2003).

La fréquence du LNH a augmenté au cours des 30 dernières années (Vilchez *et al.*, 2002). C'est le cinquième cancer le plus fréquent dans le monde et rend compte de 5 % de la mortalité liée au cancer (Chatnoud et Bach, 2008). Dans la majorité des cas de LNH, la cause n'est pas identifiée, bien que plusieurs facteurs aient été impliqués dans la pathogenèse, comme la stimulation antigénique chronique, les virus, l'immunosuppression et des facteurs génétiques, endogènes et professionnels, comme les pesticides (Von, 2013). Ainsi, une forte association entre les pesticides et le LNH a déjà été signalé (Boccolini *et al.*, 2013 ; Morrison *et al.*, 1992). Une étude française récente a montré la relation à l'échelle moléculaire entre l'exposition professionnelle aux pesticides et l'acquisition d'une anomalie chromosomique connue pour provoquer le développement de la maladie (Agopian, 2009).

Le nicotinamide adénine dinucléotide phosphate d'hydrogène (NADPH) est la forme réduite du nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADP), c'est une coenzyme composée de ribosylnicotinamide 5'-phosphate couplé par une liaison pyrophosphate à l'adénosine 5'-phosphate 2', 5'-bisphosphate. Le NADPH est d'une importance majeure dans le compartiment mitochondrial. Il remplit son rôle à la fois en piégeant les radicaux libres toxiques et en réparant des biomolécules dérivées de radicaux, et sert également de transporteur d'électrons dans de nombreuses réactions (Kirsch et De Groot, 2001).

Le NADPH est produit principalement par quatre enzymes dans les cellules de mammifères : le 6-phosphogluconate déshydrogénase (G6PD), le phosphogluconate déshydrogénase (PGD), l'enzyme malique (ME), l'isocitrate déshydrogénase et cytoplasmique (Stanton, 2012).

Le NADPH a un rôle dans la détoxification des espèces réactives de l'oxygène (ERO) qui implique la glutathion, qui doit être régénéré en permanence par la glutathion réductase. Du fait de cette réaction, le NADPH est considéré comme un antioxydant fonctionnant indirectement en maintenant le pouvoir antioxydant de la glutathion (Kirsch et De Groot, 2001). Il est également connu pour son action essentielle dans le métabolisme énergétique et l'antioxydation. En fait, le système antioxydant dépend de la production du NADPH pour son bon fonctionnement. Ses trois composantes principales dans les cellules sont le système de la glutathion, la catalase, et la superoxyde dismutase (Lesgards *et al.*, 2002).

Introduction

Le système de la glutathion dépend de la production de glutathion réduit par la glutathion réductase qui dépend du NADPH, qui est régénéré par le glucose 6 phosphate déshydrogénase (G6PDH) fourni par la voie des pentoses phosphate. Le NADPH fourni ici une molécule d'hydrogène en réduisant le disulfure de glutathion (GSSG) à la forme de glutathion sulfhydryle (GSH) (Kirkman et Gaetani, 1984).

La catalase n'a pas besoin de NADPH pour convertir le peroxyde d'hydrogène en eau, mais a un site de liaison allostérique pour le NADPH qui maintient la catalase dans sa conformation active. De ce fait, le NADPH n'influence pas l'activité de cette enzyme, mais augmente fortement la durée de vie de la catalase catalytiquement active (Richard *et al.*, 1997).

La superoxyde dismutase n'utilise pas de NADPH pour convertir la superoxyde en peroxyde d'hydrogène. Cependant, lorsque ce n'est pas correctement réduit par la catalase ou la glutathion, les niveaux de peroxyde d'hydrogène augmentent quantitativement et inhibent la superoxyde dismutase. Par conséquent, l'ensemble du système antioxydant dépend du NADPH (Pandolfi *et al.*, 1995).

Durant ces dernières années, des études ont démontré que ce cofacteur est impliqué dans d'autres fonctions physiologiques, y compris le vieillissement, le stress oxydatif, l'homéostasie du calcium intracellulaire, la production d'ERO, la mort cellulaire et l'expression des gènes (Ying, 2008).

D'autres enzymes qui dépendent du NADPH comme les oxydes nitriques synthases (NOS, *Nitric Oxide Synthase*). Le NADPH permet de réduire la puissance de telle sorte que NOS est capable de convertir l'arginine en citrulline et en oxyde nitrique (NO, *Nitric Oxide*). NOS dépend du NADPH, du tétrahydrobioptérine, de la flavine adénine nucléotides et de la flavine mononucléotide (Leopolds *et al.*, 2003 (a) ; Leopolds *et al.*, 2003 (b)). Par ailleurs, le NADPH fournit les équivalents réducteurs requis par des séries de réactions médiées par le cytochrome P540 contenant les andhème-monooxygénases (Ferrier et Wolters, 2013).

L'équilibre Th1/Th2 est défini par le contrôle homéostatique du système immunitaire par la sécrétion de diverses cytokines. L'immunité tumorale est habituellement médiée par les lymphocytes T cytotoxiques dont l'activation et la stimulation est supporté par les cytokines de type Th1. De ce fait, la plupart des études cliniques ont mis en évidence un rapport Th1/Th2 anormal chez les patients cancéreux (Sato *et al.*, 1998). L'altération du profil des cytokines Th1 ou Th2 est généralement caractérisée par une diminution du rapport Th1/Th2 et est décrite dans la quasi-totalité des patients testés avec un cancer y compris ceux avec un LNH (Imtiaz *et al.*, 2012). Les modifications du rapport Th1/Th2 chez les patients

Introduction

cancéreux est une caractéristique commune d'un processus malin et pourraient résulter d'un dysfonctionnement dans les cellules Th1, l'activation des lymphocytes Th2, ou les deux phénomènes.

En ce qui concerne le rapport neutrophiles sur lymphocytes (NLR, *Neutrophils Lymphocytes Ratio*), des preuves préliminaires suggèrent le rôle de l'inflammation dans le développement et le pronostic des cancers. Le NLR apparaît comme un bon outil permettant de mieux prédire les résultats chez les patients atteints de cancer, car il est pratique, facilement obtenu, à faible coût et un biomarqueur fiable. Aussi ce rapport a été récemment proposé comme un facteur pronostique de la survie dans plusieurs types de cancer. En effet, un $NLR \geq 3,1$ a été significativement corrélé à un mauvais pronostic (Luo *et al.*, 2015 ; Dalpiaz *et al.*, 2014 ; Imtiaz *et al.*, 2012).

En raison du fait que le NADPH a un rôle dans une large gamme de processus avec un effet antioxydant puissant et que le stress oxydatif intrinsèque ainsi que la condition de stress oxydatif dans les cellules cancéreuses sont élevés, on a essayé de mettre en évidence la relation qui peut exister entre le NADPH et le rapport Th1/Th2 chez des patients atteints de LNH exposés aux pesticides et des patients non exposés aux pesticides.

Chapitre 1

Revue de la littérature

- 1.1. Lymphome non-Hodgkinien
- 1.2. Effet Warburg
- 1.3. Espèces réactives de l'oxygène et cancer
- 1.4. Balance Th1/Th2
- 1.5. Problématique et objectifs

CHAPITRE 1

Revue de la littérature

1.1. Lymphome non-Hodgkinien

Le lymphome non hodgkinien est un syndrome lymphoprolifératif des cellules du système lymphatique « les lymphocytes », avec un point de départ aussi bien nodal qu'extranodal (Karlin et Coman, 2009 ; Auclerc et Khayat, 1985). C'est un groupe hétérogène de tumeurs malignes touchant le système lymphoïde (Boyle et Ferlay, 2004). Cette caractéristique est commune aux LNH et aux lymphomes de Hodgkin, lesquels par contre sont diagnostiqués après biopsie révélant un certain type de cellule dite cellule de Reed-Sternberg (Küppers *et al.*, 2012).

1.1.1. Incidence du Lymphome non-Hodgkinien

C'est un cancer fréquent, il survient à tous les âges et représente la 5^{ème} cause de tumeurs malignes dans le monde et rend compte de 5 % de la mortalité liée aux cancers (Chatenoud et Bach, 2008).

Il s'agit dans 80 % des cas d'un lymphome à cellules B, et dans 10 % à 15 % des cas d'un lymphome à cellules T ou NK. Ils s'observent à tout âge, y compris chez l'enfant et l'adolescent, mais l'incidence augmente plus fortement après l'âge de 60 à 65 ans. Ainsi, l'âge médian lors du diagnostic est de 64 ans chez l'homme et 70 ans chez la femme. (National Institutes of Health, 2010). L'incidence du lymphome non hodgkinien est croissante, tout particulièrement chez les sujets âgés, avec plus d'un tiers des cas chez les sujets de plus de 70 ans (Lichtman, 2000 ; Connors, 1997). L'âge est un facteur pronostique majeur qui conditionne l'agressivité et la tolérance au traitement (Shipp, 1994).

Dans les vingt dernières années, une augmentation de l'incidence des lymphomes non-Hodgkiniens a été observée, celle-ci est passée de 5 pour 100.000 à 15 pour 100.000 avec une prépondérance chez les personnes âgées de plus de 40 ans et chez les hommes par rapport aux femmes.

En 1995, les LNH représentaient la néoplasie hématologique la plus fréquente (Gisselbrecht, 2009). 18.840 patients atteints de cette pathologie sont morts en 2006 (Long et Versea, 2006).

Chapitre 1. Revue de la littérature

Dans le monde, l'incidence des LNH est en augmentation constante avec une prédominance dans les pays développés. Les LNH représentent la dixième pathologie maligne. Selon les données d'une étude de Globocan de 2008 portant sur 20 régions du monde, les taux d'incidence de LNH pour 100 000 habitants, standardisés sur l'âge et sur la population mondiale, sont estimés à 5,1 pour les deux sexes, 6,1 pour les hommes et 4,2 pour les femmes, ce qui représente respectivement 2,8 %; 3,0 % et 2,6 % de l'ensemble des nouveaux cas de cancer estimés. Les taux d'incidence les plus élevés sont observés dans les régions du monde les plus développées (Amérique du nord, Australie, Nouvelle-Zélande et Europe), avec une estimation du nombre de nouveaux cas de 95 000 hommes et 64 000 femmes contre 37 000 hommes et 33 000 femmes dans les régions en voie de développement. Les taux les plus faibles ont été rapportés pour les Caraïbes et l'Europe centrale et de l'est. Les estimations de 2008 les placent au 10^e rang dans les 40 pays européens étudiés (Ferlay *et al.*, 2010a). Le *sex-ratio* est de 1,8. (Clavel *et al.*, 2004).

En Europe le LNH est le 7^{ème} cancer le plus fréquent avec 121.200 nouveaux cas par an et cause environ 65.200 morts chaque année (Boyle et Ferlay, 2004).

En France, par exemple, le LNH se situe au 6^{ème} rang des cancers les plus fréquents avec plus de 10.400 nouveaux cas par an et au 9^{ème} rang en termes de mortalité avec environ 4.000 décès par an. Entre 1980 et 2005 l'incidence et la mortalité liée au LNH dans ce pays étaient de respectivement 10224 et 4203 (La Ligue nationale contre le cancer, 2007). D'après les données françaises de 6 registres pédiatriques, les lymphomes non hodgkiniens (non Burkitt) représentaient 3,7 % des cancers diagnostiqués chez les enfants âgés de 0 à 14 ans, sur la période comprise entre 1990 et 1999 (Désandes *et al.*, 2004).

En Suisse, les lymphomes non hodgkiniens (toutes formes confondues) touchent chaque année 1200 à 1400 personnes (20 sur 100000). La fréquence de ces tumeurs a presque doublé en vingt ans et continue d'augmenter. (Association suisse des registres des cancers, 1995).

Au total 14,500 cas chez les hommes (5.8 % de tous les cancers) et 10,600 cas chez les femmes (3.8 % de tous les cancers de la femme) ont été recensés en 2002 en Afrique Sub-saharienne (Jamison *et al.*, 2006).

En Algérie, l'incidence variait en 2005 entre 5,4 et 6,25/100.000. L'âge moyen des patients était de 49 ans et le sexe ratio de 1,42 (Boudjerra, 2005). En 2009, les taux d'incidence reportés étaient de 5,4/100.000 dans la région centre, 6,26/100.000 dans l'ouest, 5,85/100.000 dans l'est, 4, 23/100.000 dans le sud ouest et 1,46/100.000 dans le sud avec une incidence nationale de 5/100.000 (Boudjerra, 2009).

1.1.2. Classification des LNH

Leur classification a évolué depuis 20 ans. Il existe plus de vingt types de LNH selon l'aspect microscopique des cellules cancéreuses, une classification internationale à usage clinique a été proposée en 1982, celle-ci divise ces lymphomes en trois grands groupes :

1- A faible malignité, dits de bas grade, d'évolution lente ou indolents, ils ne sont pas curables par chimiothérapie, on retrouve dans cette catégorie :

- Les lymphomes folliculaires : représente 20 à 30 % des LNH, cliniquement c'est une atteinte des territoires ganglionnaires superficiels et profonds, associée à un envahissement médullaire. Dans 90 % des cas il existe une translocation du gène anti-apoptotique BCL-2, *B-Cell Lymphoma 2*, du chromosome 18 vers le chromosome 14. Ces lymphomes ont une évolution le plus souvent paisible, indolente.

- Les lymphomes lymphocytiques : ce sont des lymphomes à évolution longue.

2- A haute malignité ou de haut grade :

- Le lymphome de Burkitt (BL) : associé au virus d'Epstein Barr (EBV), il est favorisé par l'infection par le VIH, il se développe plus particulièrement chez l'enfant (40 % des lymphomes de l'enfant), mais 5 % des cas de l'adulte, se présente souvent sous forme d'une tumeur abdominale. Le BL est caractérisé par une translocation du gène c-MYC du chromosome 8 vers le chromosome 14 ou 2.

- Les lymphomes lymphoblastiques : de phénotype T, on les retrouve sous forme ganglionnaire chez l'adolescent et l'adulte jeune, la proportion de ces lymphomes est équivalente à celle du lymphome de Burkitt aussi bien chez l'enfant que chez l'adulte. Le tableau le plus fréquent reste celui d'une tumeur médiastinale avec une progression rapide du volume, ce sont des lymphomes T intestinaux qui peuvent compliquer une maladie cœliaque. Ces lymphomes T périphériques (PTL : peripheral T-cell lymphoma) sont eux-mêmes constitués de différentes entités : les PTLU (PTL unspecified) d'histologie souvent polymorphe, lympho-épithélioïde et la lymphadénopathie angio-immunoblastique (LAI). Les lymphomes anaplasiques sont typiquement à grandes cellules CD3-, CD30+ et expriment la tyrosine kinase ALK (anaplastic associated kinase) du fait d'une translocation t(2;5). Les lymphomes T hépatospléniques sont, pour l'essentiel, des lymphomes des cellules T $\gamma\delta$, remarquables par leur caractère double négatif (CD3+ mais CD4- et CD8-) (Ferland *et al.*, 2011).

Chapitre 1. Revue de la littérature

3- A malignité intermédiaire, nous avons :

- Les lymphomes B diffus à grandes cellules (DLBCL, *Diffuse Large B-Cell Lymphoma*) : ganglionnaires et extraganglionnaires, ils augmentent rapidement de volume, ils se présentent sous forme de grosses masses tumorales avec des localisations médiastinales et abdominales du fait de la prolifération de lymphocytes B clonaux, de grandes tailles et centroblastiques. Ils peuvent être guéris par chimiothérapie. Ils représentent 30 % de l'ensemble des lymphomes non-Hodgkinien et se caractérisent par une évolution agressive avec une translocation t (14; 18) due au gène BCL-2 dans 20 à 30 % des cas (Ferland *et al.*, 2011).

- Les lymphomes T et NK : sont plus rares seulement 15 % des LNH, caractérisés par une maladie disséminée avec présence de ganglions cutanés, hépatiques et spléniques.

4- Autres formes de lymphomes : ces lymphomes n'appartiennent à aucune des trois catégories citées précédemment, ce sont :

- Les lymphomes du manteau : dérivent de lymphocytes B de la zone dite du manteau qui constitue, avec le centre germinatif, le follicule lymphoïde secondaire. Ils surviennent chez l'adulte avec un envahissement splénique, de la moelle osseuse et du tractus digestif. Ils sont dus à la prolifération clonale de lymphocytes B CD5+ portant habituellement une translocation entre les chromosomes 11 et 14 conduisant à une surexpression de BCL-1, *B-Cell Lymphoma 1*, retrouvée dans plus de 90 % des cas (Ferland *et al.*, 2011).

- Lymphomes MALT (*Mucosa-Associated Lymphoïde Tissue*) : c'est des lymphomes B de bas grade, souvent associés à une trisomie 3 et à une translocation (11; 18). Dans ces lymphomes on retrouve une association avec une infection à *Helicobacter pylori*. Comme ces lymphomes sont localisés, le traitement préconisé est une exérèse chirurgicale ou une radiothérapie localisée.

- Lymphomes cérébraux primitifs : leur fréquence est en augmentation en raison de la survenue de cette pathologie chez les sujets immunodéprimés. Leur traitement est une association de chimiothérapie et de radiothérapie.

- Mycosis fongoïdes : hémato dermatie évoluant vers l'apparition de tumeurs cutanées typiques.

- Le syndrome de Sézary : des cellules mononuclées avec un noyau cérébriforme (cellules de Sézary) qui sont en fait des lymphocytes T matures sont retrouvées au niveau cutané, dans le sang, la rate, les poumons, le foie et la moelle osseuse. Le traitement est assez difficile et fait appel à la photothérapie (irradiation de toute la peau par des faisceaux

Chapitre 1. Revue de la littérature

d'électrons) ou à la chimiothérapie systémique (Daly-Schweitzer, 2008 ; Bachir *et al.*, 1987; Auclerc et Khayat, 1985).

La classification proposée en 2001 par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) comporte près de 30 entités différentes (Karlin et Coman, 2009). Celle-ci prend en compte :

- L'architecture folliculaire ou diffuse de la prolifération et ses caractères cytologiques,
- Les phénotypes B ou T/NK,
- Les données cytogénétiques et moléculaires,
- La présentation clinique (Gisselbrecht, 2009).

Certains lymphomes sont dits agressifs, car spontanément mortels en quelques mois; d'autres, dits indolents, laissent spontanément une médiane de survie de 10 ans environ. Le lymphome à grandes cellules B est un des plus fréquents des lymphomes agressifs. Le lymphome folliculaire est le plus fréquent des lymphomes non Hodgkinien en général et des lymphomes indolents en particulier avec une survie médiane de 8 à 12 ans (Le Dû, 2005).

Des études du LNH utilisant des marqueurs de membranes et des études moléculaires montrent que dans plus de 80 % des cas les lymphomes dérivent des cellules B et le reste des cellules T ou ne sont pas encore classifiés (Mehta et Hoffbrand, 2003).

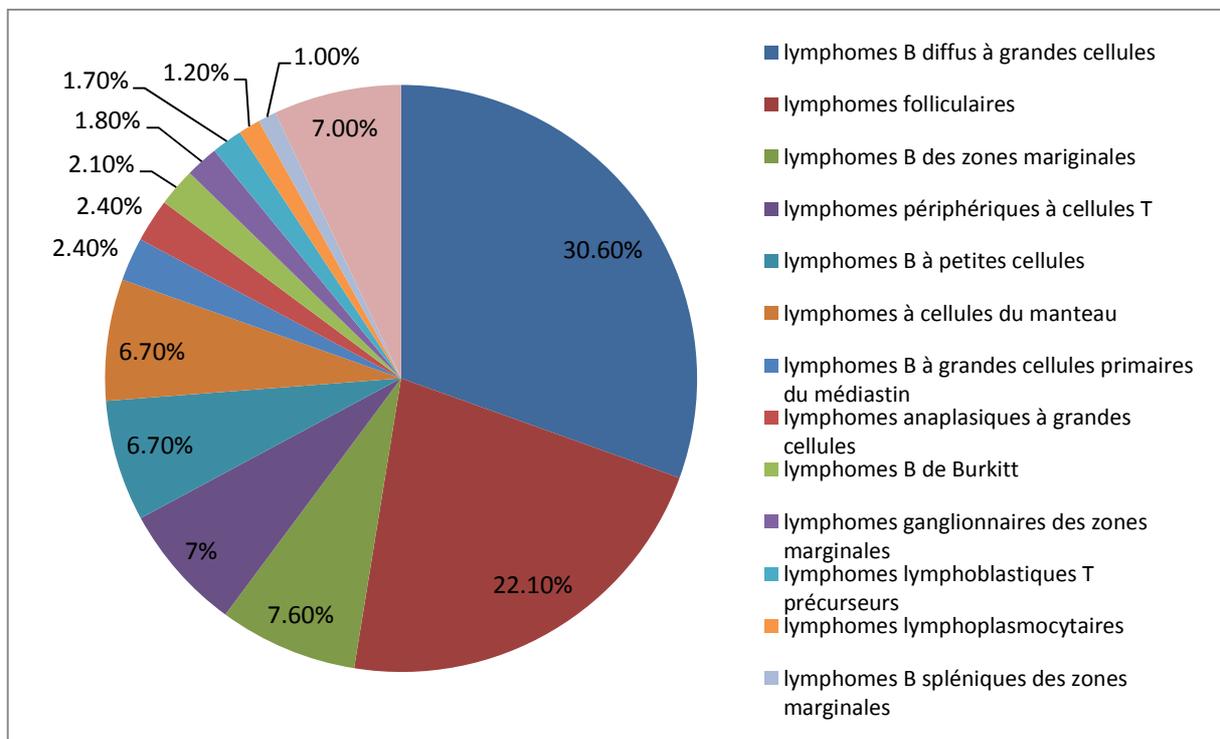


Figure 1.1. Répartition des différents sous-types de LNH

1.1.3. Mécanismes cellulaires et moléculaires des lymphomes non-Hodgkinien

1.1.3.1. Etiologies

La survenue de cette maladie est probablement multifactorielle, son développement peut être la résultante d'une accumulation de plusieurs événements oncogéniques (Davi et Macintyre, 2000), de ce fait ses étiologies sont encore largement inconnues (Gisselbrecht, 2009), cependant, on peut en citer quelques unes (Daly-Schweitzer, 2008) :

1.1.3.1.1. Facteurs environnementaux

- Les radiations ionisantes : qui se trouvent être un facteur de déclenchement.

En résumé les entités de LNH apparentées à la classification l'OMS sont représentées dans le tableau suivant 1.1

Tableau 1.1. Entités de LNH apparentées à la classification l'OMS (Gisselbrecht, 2009).

Lymphomes B	Lymphomes T et NK
Prolifération de cellules B « précurseurs »	Prolifération de cellules T « précurseurs »
Lymphomes B	Lymphomes T
Prolifération B matures (périphériques)	Prolifération T matures (périphériques)
Lymphome lymphocytaire	Lymphome T angioimmunoblastique
Lymphome lymphoplasmocytaire	Lymphome T périphérique sans autre précision
Lymphome splénique de la zone marginale	Lymphome anaplasique à grandes cellules (T/nul) de type systémique
Lymphome zone marginale type MALT	Lymphome NK/T extraganglionnaire, de type nasal
Lymphome zone marginale ganglionnaire	Lymphome T de type entéropathie
Lymphome folliculaire	Lymphome T hépatosplénique
Lymphome du Manteau	Lymphome T sous cutané type panniculite
Lymphome diffus à grandes cellules B	Lymphome anaplasique à grandes cellules (T/nul), cutané primitif
Lymphome à grandes cellules B médiastinal	
Lymphome des séreuses	
Lymphome de Burkitt	

Une classification anatomopathologique a été proposée en 1994, c'est la classification REAL, résumé dans le tableau 1.2 ci-après.

Chapitre 1. Revue de la littérature

- Des agents infectieux : ce sont des facteurs d'origine exogène qui sont impliqués de manière directe ou indirecte dans la lymphomagenèse (Davi et Macintyre, 2000), en effet, le rôle des virus dans le développement des tumeurs chez l'homme est bien établi depuis la découverte en 1964 du virus d'Epstein Barr (EBV) dans les cellules du lymphome de Burkitt. Comme souligné précédemment le rôle de ces agents dans le développement tumoral est variable, en effet certains jouent un rôle direct par leur présence dans les cellules tumorales et participent à la dérégulation de la division cellulaire et/ou l'apoptose, on retrouve dans cette catégorie : (Lyons, Liebowitz, 1998).

1- Le virus d'Epstein Barr (EBV) : il est présent dans 95 % des lymphomes de Burkitt endémiques (africains), par contre, on le retrouve dans seulement 15 % des formes sporadiques (européennes et américaines) (Marelle *et al.*, 1993) et dans 30 à 60 % des formes survenant au cours de l'infection au VIH (*Virus de l'Immunodéficience Humaine*). Il est présent aussi dans les syndromes lymphoprolifératifs au cours des déficits immunitaires congénitaux (syndrome de Purtillo) ou acquis (transplantation), certains lymphomes T/NK, et environ la moitié des cas de maladie de Hodgkin (Davi et Macintyre, 2000).

L'EBV infecte les lymphocytes B entraînant leur activation et immortalisation, cette activation est normalement contrôlée par le système immunitaire, cependant une petite partie des cellules B infectées environ 10^5 à 10^7 échappe à ce contrôle et induit une rupture dans l'équilibre hôte-virus et donc une prolifération incontrôlée. Le virus va produire des protéines nucléaires et membranaires qui jouent un rôle oncogénique prédominant (EBNA-2, *Epstein Barr virus nuclear antigen 2* : permet l'entrée dans le cycle cellulaire et le maintien de l'immortalisation et LMP-1, *Latent Membrane Protein 1* qui provoque l'expression de l'oncogène BCL-2 et donc l'inhibition de l'apoptose) (Marechal *et al.*, 1997).

L'EBV est également retrouvé dans le cadre d'hypothèses physiopathologiques du développement des syndromes lymphoprolifératifs associés aux traitements immunosuppresseurs, où il joue un rôle majeur dans le développement des lésions précoces après traitement immunosuppresseur avec apparition de la tumeur qui régresse le plus souvent après diminution de l'immunosuppression. En outre, les lésions polymorphes sont quasiment toujours associées à l'EBV, elles sont souvent clonales et des anomalies génétiques y sont parfois associées ; la régression après l'arrêt de l'immunosuppression est aléatoire. Aussi, les lésions monomorphes tardives correspondant à des lymphomes, le plus souvent B à grandes cellules, sont associées ou non à l'EBV, les anomalies génétiques sont fréquentes et complexes, ces tumeurs sont de très mauvais pronostic, ne régressent pas après diminution de l'immunosuppression et requièrent un traitement comprenant des

Chapitre 1. Revue de la littérature

anticorps monoclonaux et de la chimiothérapie (Raphaël *et al.*, 2007). Le rôle de L'EBV dans la lymphomagénèse est représenté dans la Figure 1.1 ci-après.

Tableau 1.2. Classification anatomopathologique de REAL (Daly-Schveitzer, 2008).

Principales formes de lymphome B	Hémopathies lymphoïdes à précurseurs B Lymphome lymphoblastique B
	Hémopathies lymphoïdes matures B Lymphome lymphocytaire Lymphome lymphoplasmocytaire Lymphome B de la zone marginale Extraganglionnaire de type MALT Ganglionnaire, parfois monocytoïde Lymphomes folliculaires Lymphomes à celles du manteau Lymphomes diffus à grandes cellules Variantes : Centroblastique Immunoblastique Riche en cellules T Type granulomateuse lymphomatoïde Anaplasique Plasmoblastique Lymphome de Burkitt
Principales formes de lymphomes T	Hémopathies lymphoïdes à précurseurs T Lymphome lymphoblastique T
	Hémopathies lymphoïdes matures T Lymphome prolymphocytaire T Lymphome à celles à grains Lymphome à cellules NK Lymphome T de l'adulte Mycosis fongoïde/Syndrome de Sézary Lymphome extranodal T/NK Lymphome T avec entéropathie Lymphome T γ - δ Lymphome T sous cutané de type panniculaire Lymphome anaplasique à grandes cellules Lymphomes T périphériques Lymphomes T angio-immunoblastique

Chapitre 1. Revue de la littérature

Les lymphomes non-Hodgkinien sont classés selon la classification d'Ann Arbor, en 4 stades résumés dans le tableau suivant :

Tableau 1.3. Classification d'Ann Arbor (Gisselbrecht, 2009).

<i>Définition de stades les lymphomes</i>	
I	Atteinte ganglionnaire limitée à un territoire anatomique Atteinte extraganglionnaire unique
II	Atteinte de deux territoires ganglionnaires ou plus situés du même coté du diaphragme Atteinte d'un seul territoire ganglionnaire associé à une ou plusieurs localisations extraganglionnaires de contigüité accessibles à un champ d'irradiation délivrant une dose curatrice Atteinte extraganglionnaire unique associée à une ou plusieurs localisations ganglionnaires de contigüité accessibles à un champ d'irradiation délivrant une dose curatrice
III	Atteintes ganglionnaires de part et d'autre du diaphragme avec ou sans atteinte splénique
IV	Atteinte extraganglionnaire avec atteinte ganglionnaire non contigüe Deux atteintes extraganglionnaires au moins non contigües Toutes association d'atteinte(s) ganglionnaire(s) et extraganglionnaire(s) dont le volume interdit un champ d'irradiation à dose curatrice

2- Le virus T-lymphotrope 1 humain (HTLV-1) : il est associé au lymphome T de l'adulte (ATL), type de lymphome présent au Japon, en Afrique sub-saharienne et aux caraïbes, le virus ne comporte aucun oncogène mais son implication dans le processus cancéreux serait liée à des protéines de régulation comme Tax (*Transactivator of pX*) qui stimule la transcription de gènes viraux et cellulaires induisant l'expression d'interleukines qui stimuleraient les cellules T infectées, de plus Tax favorise la prolifération cellulaire par l'expression d'oncogènes comme c-myc et l'inactivation de protéines régulant le cycle cellulaire comme p16.

Le HTLV-1 joue par conséquent un rôle important dans les étapes de la transformation néanmoins d'autres facteurs doivent être présents pour développer un ATL (Franchini, 1995).

3- Le virus de l'herpès (HHV-8) : ce virus est présent dans quasiment tous les cas de sarcome de Kaposi associés ou non à une infection VIH, ainsi que dans les lymphomes primitifs des séreuses et dans les lymphomes B développés par des sujets VIH+, il contribue au développement tumoral par un certain nombre de gènes présents dans son génome, on

Chapitre 1. Revue de la littérature

peut citer la cycline D et l'IL6 contrôlant la prolifération et le BCL-2 pour l'apoptose (Cesarman, Knowles, 1999).

- D'autres agents infectieux jouent un rôle indirect dans la lymphomagenèse ils ne sont pas retrouvés dans les cellules lymphomateuses, mais contribuent à la prolifération tumorale, on peut citer :

1- Le virus du Sida (VIH) : les lymphomes ont une incidence 100 fois plus élevée chez les patients infectés par ce virus, on retrouve essentiellement des lymphomes B agressifs, de Burkitt ou à grandes cellules (Knowles, 1999), le rôle du VIH est indirecte, il agit par l'intermédiaire du déficit immunitaire, la désorganisation du réseau de cytokines et l'activation polyclonale B. En outre, il a été démontré que la protéine gp120 du virus est reconnue par les immunoglobulines et joue le rôle de super antigène stimulant un grand nombre de lymphocytes T (Berberian *et al.*, 1993).

Enfin l'analyse des séquences nucléotidiques des régions variables des Ig exprimées par certains lymphomes suggère que, dans certain cas, une activation antigénique de ces cellules est une cause probable de transformation maligne (Przybylski *et al.*, 1996).

2- Le virus de l'hépatite C (VHC) : associé aux lymphomes B de type plasmocytaire (Nieters *et al.*, 2006 ; Silvestri et Baccarani, 1997). Ce virus induirait selon des études italiennes une stimulation antigénique chronique des lymphocytes B pouvant aboutir à leur expansion clonale (Agnello *et al.*, 1992).

Des recherches menées en 1998, montrant que la molécule CD81 constituait un récepteur du virus à la surface des lymphocytes B ont étayé cette hypothèse (Pileri *et al.*, 1998).

- Des agents bactériens, on retrouve en première ligne *Helicobacter pylori*, lié à l'apparition du lymphome MALT, une infection chronique de l'estomac par *H. pylori* peut évoluer vers un lymphome de bas grade, lui-même pouvant se transformer en lymphome de haut grade. Des études ont effectivement montré que la prolifération des lymphocytes B est entretenue par des cellules T qui en reconnaissant cette bactérie sécrète l'IL2 (Wotherspoon, 1998).

- Stimulations antigéniques chroniques : La stimulation antigénique des lymphocytes B tumoraux *via* leurs récepteurs spécifiques (*B-cell receptor*, BCR) pourrait être également un élément important de la lymphomagenèse.

L'analyse du BCR a montré que dans les lymphomes folliculaires en particulier, une stimulation antigénique par le BCR avait eu lieu (Zelenetz *et al.*, 1992).

Chapitre 1. Revue de la littérature

- Exposition aux pesticides : une étude française a mis en évidence à l'échelle moléculaire une relation entre l'exposition professionnelle aux pesticides et l'acquisition d'une anomalie chromosomique connue pour être à l'origine du développement de lymphomes non-Hodgkinien (Agopian *et al.*, 2009). Ainsi que l'exposition à des produits divers, comme l'oxyde d'éthylène, les chlorophénols, les engrais, les herbicides, les insecticides, les colorants capillaires et les solvants organiques.

En 1992, aux états unis, on estimait que 10 % des lymphomes étaient liés à des expositions professionnelles, (Hartge et devesa, 1992), des excès de risque ont notamment été associés aux emplois dans les centrales électriques, dans l'agriculture, la manipulation des céréales, la métallurgie et le bois, le raffinage du pétrole, ainsi que chez les chimistes. (Stellman, 2004).

1.1.3.1.2. Facteurs liés à l'hôte

- Déficit immunitaire congénital acquis, un traitement immunosuppresseur ou une maladie du système immunitaire (polyarthrite rhumatoïde, sarcoïde, maladie cœliaque.....).

- Obésité et alimentation : de nombreuses études ont montré une augmentation de risque de lymphome avec une alimentation riche en viandes, graisses et produits laitiers et un effet protecteur avec la consommation de légumes et de poissons, avec un risque accru chez les sujets obèses.

- Teinture de cheveux : utilisée avant 1980 (date de modification de sa composition) était liée à l'apparition du lymphome.

- Tabac et alcool : le tabac se retrouve associé au lymphome folliculaire, quant à l'alcool les résultats vont dans le sens d'un effet protecteur de la consommation. (Gisselbrecht, 2009).

- Antibiotiques : les résultats d'une étude menée en 2003 sur un échantillon de 376 cas de LNH à New York ont démontré un lien entre l'augmentation du risque de LNH et l'utilisation continue d'antibiotiques contre les infections respiratoires et les maladies dentaires.

Les résultats sont cohérents avec l'hypothèse que l'infection persistante et l'inflammation prédisposent au développement du lymphome (Kato *et al.*, 2003).

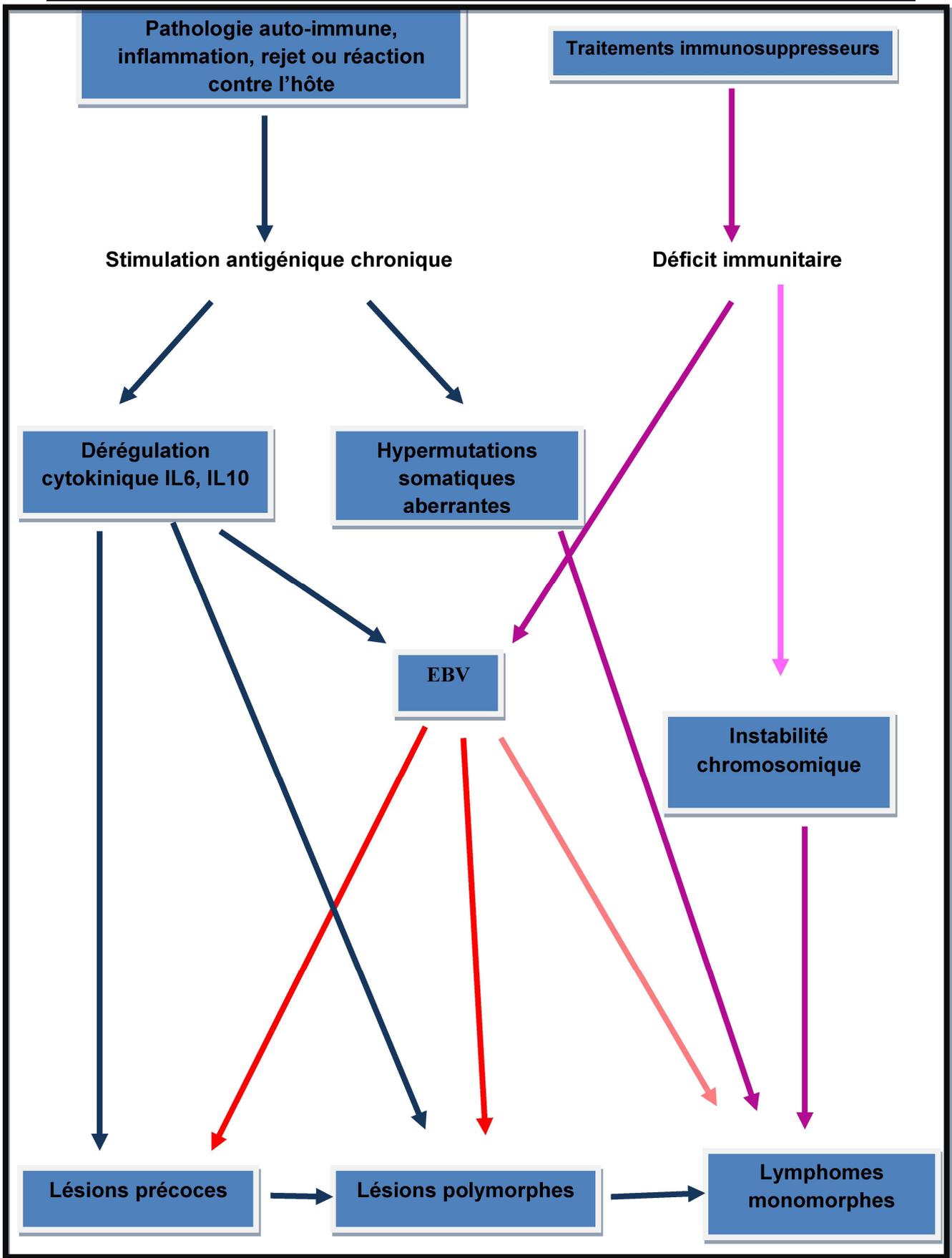


Figure 1.2. Rôles de l'EBV dans la lymphomagenèse (Raphael et al 2007)

1.1.3.1.3. Facteurs génétiques

Ce sont des facteurs endogènes représentés par les altérations des gènes cellulaires.

Comme dans la plupart des cancers, il est aujourd'hui connu que des lésions géniques sont présentes dans 90 % des lymphomes (Ong et Le Beau, 1998). Elles sont acquises, clonales et limitées à la tumeur et concernent des gènes ayant un rôle dans la prolifération, la différenciation ou la mort cellulaire, en effet, Celles-ci consistent soit en l'activation anormale d'un ou plusieurs proto-oncogènes, résultant le plus souvent d'une translocation chromosomique, soit au contraire en la perte de fonction d'un gène à effet anti-oncogène ou suppresseur de tumeur. Ces lésions sont soit primitives (correspondent à un événement précoce dans le développement des tumeurs) ou secondaires (concernent la progression tumorale ou la transformation histologique). En outre, il existe fréquemment des modifications du microenvironnement tumoral par le biais de sécrétions anormales de cytokines, produites de façon paracrine ou autocrine, et participant ainsi à la prolifération tumorale (Davi et Macintyre, 2000).

Différents mécanismes moléculaires concourent à ces lésions géniques :

1.1.3.1.3.1. Translocations chromosomiques récurrentes

On retrouve dans 90 % des cas de lymphome des anomalies du caryotype, les plus fréquentes sont les translocations chromosomiques réciproques qui vont juxtaposer des gènes qui sont normalement situés sur des chromosomes différents (Karlin et Coman, 2009 ; Smaili, 2005 ; Rabbitts, 1994). Ces translocations impliquent des gènes des récepteurs de l'antigène des lymphocytes (BCR, *B Cell Receptor* et TCR, *T Cell Receptor*), et sont une conséquence d'une erreur de la recombinaison qui induit une expression anormale dans les cellules de gènes transloqués.

Les gènes impliqués dans ces translocations sont :

c-myc : La translocation t (8; 14) (q24;q32) est associée au lymphome de Burkitt, elle juxtapose le gène c-myc en 8q24 aux gènes des chaînes lourdes ou légères des immunoglobulines, celle-ci a pour effet la synthèse constitutive de la protéine Myc qui joue un rôle important dans les mécanismes cellulaires et favorise en particulier la prolifération, l'apoptose et inhibe la différenciation. Le produit de c-myc est un facteur de transcription dont la surexpression est oncogénique en stimulant la prolifération cellulaire (Schlee, 2007).

La protéine Myc peut également agir en synergie avec la protéine Max, cette association semble très importante dans la transformation des cellules (Facchini et Penn, 1998).

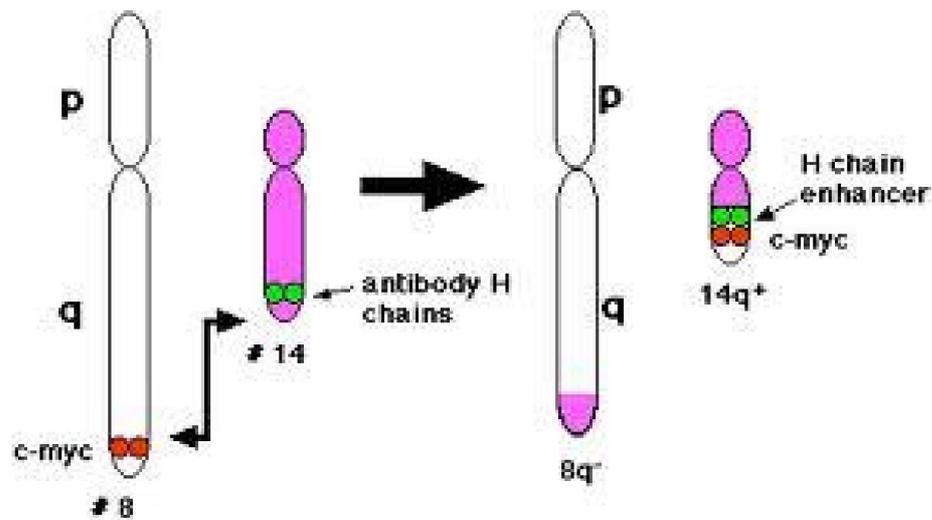


Figure 1.3. Translocation chromosomique du gène c-myc

Cycline D1 : La translocation $t(11; 14)(q13;q32)$ est associée au lymphome de Manteau, Elle juxtapose les gènes des Ig au locus BCL-1, cette translocation évolue en une hyperexpression de la cycline D1 qui favorise l'entrée permanente des cellules dans le cycle cellulaire induisant une prolifération anormale et donc la constitution du clone tumoral (Weisenburger et Armitage, 1996). En effet, par son activité régulatrice du cycle cellulaire au niveau de G1*S et une cascade de protéines, elle permet de libérer un facteur de transcription E2F qui en activant des gènes induit la division cellulaire (Boer *et al.*, 1997).

BCL-2 : la translocation $t(14; 18)(q32;q21)$ est présente dans 90 % des lymphomes folliculaire et 20 % des lymphomes B à grandes cellules. BCL-2 joue son rôle en formant des dimères avec des protéines, soit pro-apoptotiques (Bax, *BCL-2 Associated X protein*, Bad, *BCL-2 Associated Death Promotor*, Bak, *BCL-2 Homologous Antagonist Killer*), soit anti-apoptotiques (BCL-XL, *B Cell Lymphoma Extra Large*). C'est l'équilibre complexe entre ces différents dimères qui détermine le devenir des cellules, une hyper production de BCL-2 favorise la formation d'hétérodimères anti-apoptotiques et inhibe l'action d'homodimères pro-apoptotiques, ce qui confère un avantage de survie à la cellule B porteuse de l'anomalie, le BCL-2 interviendrait donc dans les étapes initiales de la lymphomagenèse (Yang et Korsmeyer, 1996). La translocation interviendrait également en mettant en contact le locus IGH (*Immunoglobulin Heavy Locus Human*), avec le gène BCL-2, qui peut constituer un premier évènement oncogénique favorisant le développement ultérieur d'un lymphome folliculaire.

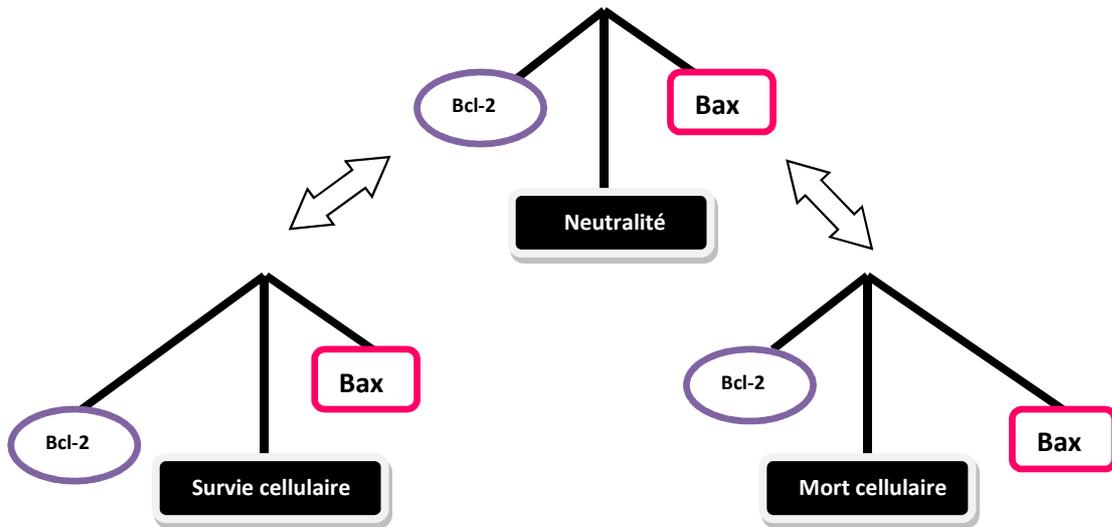


Figure 1.4. Ratio BCL-2/Bax

Des études effectuées sur la translocation t (14; 18) ont suggéré que le développement d'un lymphome folliculaire s'effectue en deux étapes: la première consiste en l'émergence, dans la moelle osseuse, d'un lymphocyte B porteur de la translocation; ensuite, à l'occasion de la rencontre avec l'antigène, la deuxième étape se traduit par la survenue d'une ou de plusieurs altérations génétiques aboutissant au développement du clone tumoral (Femand *et al.*, 2011).

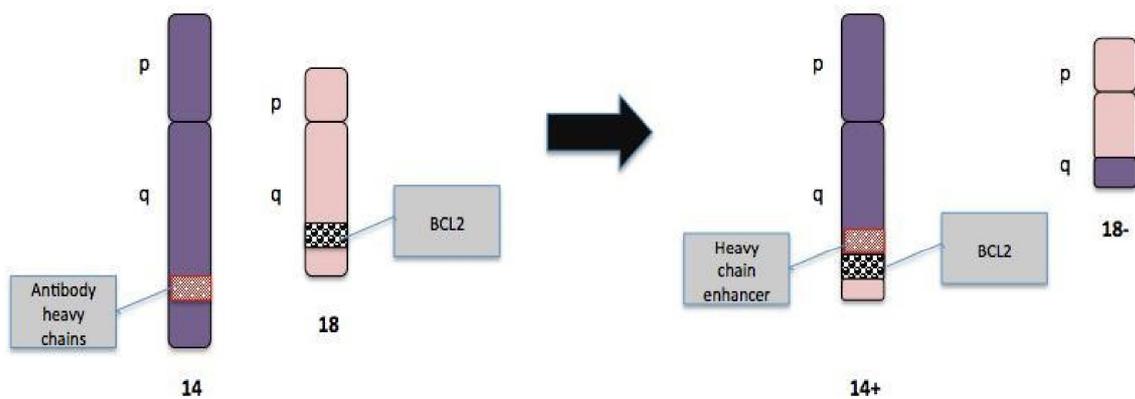


Figure 1.5. Translocation du gène BCL-2

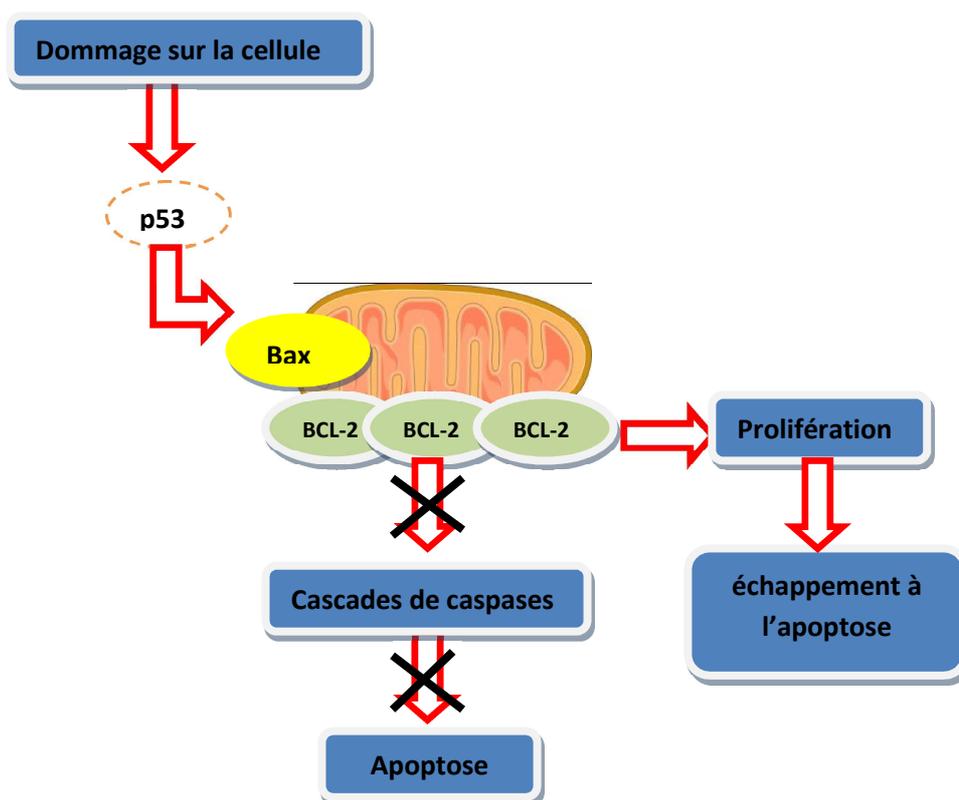


Figure 1.6. Surexpression de BCL-2 et échappement à l'apoptose

BCL-6 (B Cell Lymphoma 6) : les Translocations chromosomiques 3q27 affectant la bande, où le gène de BCL-6 est localisé, est l'une des anomalies génétiques les plus courantes dans le lymphome non Hodgkinien. En effet, elles sont présentes dans 30 à 40 % des lymphomes B diffus à grandes cellules (Ohno, 2004). BCL-6 est indispensable pour la formation des centres germinatifs des tissus lymphoïdes et le contrôle de l'inflammation médiée par les lymphocytes T de type Th2. Un dysfonctionnement de la protéine BCL-6 et donc son expression permanente et dérégulée due aux translocations, aurait comme conséquence des mutations ponctuelles de la région régulatrice 5' présentes dans 70 % des lymphomes à grandes cellules et faciliterai les remaniements géniques, la survie et le blocage de la différenciation du lymphocyte B centro-germinatif, favorisant l'émergence d'un clone tumoral à grandes cellules B (Ferland *et al.*, 2011 ; Dalla-Favera, *et al.* 1999).

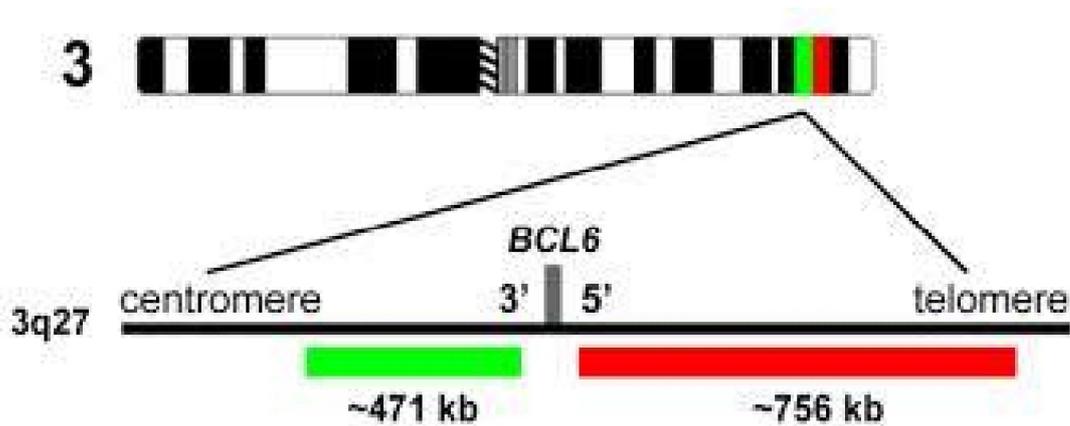


Figure 1.7. Translocation du gène BCL-6

1.1.3.1.3.2. Translocations chromosomiques avec gènes de fusion

Translocation t (2; 5)

La t (2; 5) (p23;q35) est retrouvée dans les lymphomes anaplasiques à grandes cellules T ou nul des sujets jeunes (environ 3 % des lymphomes non Hodgkiniens de l'adulte, plus fréquents chez l'enfant). Cette translocation aboutit à une protéine la p80, qui s'accumule dans les cellules lymphoïdes tumorales et joue son rôle tumorigène, elle possède une activité kinase constitutive qui favorise la prolifération et la transformation de la cellule T (Falini *et al.*, 1999 ; Kadin et morris, 1998).

Translocation t (11; 18)

La t (11; 18) (q21;q21) représente l'anomalie structurale la plus fréquente des lymphomes de MALT de bas grade. C'est une fusion entre le gène API2, *Apoptosis Inhibitor 2*, un inhibiteur de l'apoptose (sur le chromosome 11) et un nouveau gène baptisé MLT, *Mucosa-associated lymphoid tissue Lymphoma Translocation* (sur le chromosome 18) (Dierlamm *et al.*, 1999).

1.1.3.1.3.3. Inactivation de gènes suppresseurs de tumeurs

p53 : Les altérations de ce gène sont fréquentes dans environ la moitié des cancers, appelé gardien du génome pour son rôle crucial dans la vie cellulaire et la protection du patrimoine génétique, il entraîne un arrêt du cycle cellulaire en cas de lésion de l'ADN afin de permettre sa réparation, ou une apoptose lorsque les altérations sont irréparables. Son dérèglement permet aux cellules cancéreuses d'échapper aux phénomènes d'apoptose et s'accompagne d'une instabilité génétique importante et donc d'un processus cancéreux (Yonish-Rouach, 1997). On le retrouve dans 30 % des ATL et des lymphomes de haut grade et 40 % des lymphomes de Burkitt (Imamura *et al.*, 1994).

Inhibiteurs des kinases du cycle cellulaire : Ces lésions résultent de plusieurs mécanismes : mutations, délétions et hyperméthylation et sont fréquentes dans les lymphomes de haut grade et les transformations de lymphomes bas grade (Baur *et al.*, 1999). Des polymorphismes et des affections héréditaires constitutionnelles comme le syndrome de Wiskott Aldrich et l'ataxie-télangiectasie qui sont connues pour être des affections pré-disposantes à la survenue d'un LNH. Des facteurs familiaux, un rapport d'INTERLYMPH réalisé récemment a montré que le risque de survenue d'un LNH augmente de 50 % lorsqu'il existe un cas antérieur dans la famille d'hémopathie lymphoïde au 1^{er} degré, ce risque est voisin de 3 lorsqu'il s'agit d'un frère ou d'une sœur et est multiplié par 40 chez les jumeaux homozygotes (Gisselbrecht, 2009).

1.1.4. Symptômes du lymphome non-Hodgkinien

Lorsque la maladie est à un stade précoce ou appartient à un type à évolution lente, les symptômes sont quasiment absents ou mineurs, aux stades III et IV l'adénopathie est notable et on retrouve en premier lieu et c'est le signe le plus fréquent : une enflure dans les ganglions lymphatiques situés dans le cou, les aisselles ou les aines, viennent ensuite : une perte de poids et des fièvres inexplicables, une grande fatigue, des sueurs nocturnes intenses, des démangeaisons cutanées, une anémie et des douleurs dans l'estomac et les intestins (Sholtis Brunner et Suddarth, 2006 ; Yaker, 1984).

1.1.5. Diagnostic du lymphome non-Hodgkinien

Le diagnostic est posé après :

Un bilan préthérapeutique :

-clinique : qui permet d'évaluer l'état général du malade ;

-biologique : sérologie virale, bilan étiologique, électrophorèse des protéines, numération-formule sanguine-plaquette, bilan électrolytique sanguin, fonction rénale, vitesse de sédimentation, fibrinémie, Lactate déshydrogénase LDH (marqueur de dommages tissulaires, son niveau est élevé dans de nombreux types de cancers notamment le LMNH et a été lié à la croissance tumorale, l'entretien et l'invasion), recherche d'anticorps anti-érythrocytaires (test de Coombs) et phosphatase alcaline (critère d'évolutivité, son augmentation est retrouvée dans les lymphomes non Hodgkiniens (Ferri, 2014 ; Miao, 2013).

-imagerie : échographie et scanner abdominaux pour préciser la taille des masses tumorales, radiographie du thorax et scanner thoracique, scanner cérébral ou IRM en cas de signes particuliers.

L'imagerie permet de localiser et vérifier la propagation du cancer ;

Une biopsie des ganglions : prélèvement des cellules pour une étude microscopique (Auclerc et Khayat, 1985), elle doit être suffisamment importante et prise en charge rapidement pour être divisée en plusieurs fragments : un fragment principal pour les études anatomo-pathologiques, morphologiques et immunophénotypiques, un fragment pour les études histochimiques et moléculaires et un fragment à mettre en milieu de culture pour une analyse cytogénétique. (Gisselbrecht, 2009).

1.1.6. Traitement du lymphome non-Hodgkinien

Son traitement consiste en :

-un traitement symptomatique (Smaili, 2005) ;

-la chimiothérapie (en comprimés ou par injections), en effet le traitement associant cyclophosphamide, hydroxyadriamycine, oncovin et prednisone (CHOP) demeure la chimiothérapie cytotoxique de référence (Smaili, 2005 ; Fisher *et al.*, 1993 ; Auclerc et Khayat, 1985).

-l'utilisation d'un antinéoplasique, le plus connu reste le Rituximab, utilisé en première ligne de traitement du lymphome non-Hodgkinien folliculaire de type B en combinaison avec une chimiothérapie classique, ce dernier montre des bénéfices considérables avec une augmentation très significative de la durée de la rémission (Marcus *et al.*, Solal *et al.*, 2005).

-la radiothérapie (rayons X), elle concerne les aires ganglionnaires allant de l'irradiation symptomatique décompressive à l'irradiation ganglionnaire segmentaire, la dose nécessaire est de 35 à 40 Gy pour les formes de faible grade ou lymphocytiques mais atteint 45 à 50 Gy pour les contingences à grandes cellules. Elle est utilisée en particulier dans les formes localisées et permet une rémission complète dans plus de 95 % des cas et l'absence de rechute pour 50 % d'entre eux (Daly-Schweitzer, 2008);

-l'autogreffe ou l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (Karlin et Coman, 2009) ;

-l'immunothérapie : l'utilisation d'anticorps anti CD20 monoclonaux obtenus par génie génétique (Karlin et Coman, 2009 ; Goldsby *et al.*, 2003).

Ces méthodes peuvent être utilisées seules ou en combinaison en fonction du type et du stade du cancer ainsi que des facteurs personnels (Yaker, 1984).

En dépit de leur hétérogénéité, les types histologiques et les grades intermédiaires sont potentiellement curables par chimiothérapie. De nombreux progrès ont été faits dans la compréhension de la biologie de ces tumeurs et dans leur traitement. Les facteurs simples

comme l'âge, le stade, l'indice de performance permettent de prédire la réponse au traitement et la survie et constituent des paramètres utiles pour décider de l'intensité de la chimiothérapie (Gisselbrecht, 1995).

La prise en charge thérapeutique du lymphome non hodgkinien (LNH) du sujet âgé est complexe en raison de la toxicité médicamenteuse et de la fréquence des affections concomitantes.

1.2. Effet Warburg

1.2.1. Définition de l'effet Warburg

Le cancer est une maladie qui survient en raison d'un dérèglement de la croissance cellulaire. Pour que les cellules cancéreuses se développent rapidement, elles ont besoin d'énergie et de nutriments. Alors que les cellules différenciées quiescentes utilisent la fermentation lactique en l'absence d'oxygène (les cellules catabolisent le glucose en acide lactique) et la respiration mitochondriale en présence d'oxygène (les cellules n'utilisent plus de glucose mais brûlent d'autres molécules organiques comme les acides gras conduisant à la production de dioxyde de carbone et de molécules d'eau), les cellules cancéreuses utilisent la fermentation lactique quelles que soient les conditions d'oxygénation. Cette adaptation métabolique irréversible des cellules cancéreuses porte le nom de l'effet Warburg (Puyraimond-Zemmor et Vignot, 2013).

L'effet Warburg se base donc sur l'observation suivante : au contraire des cellules non dégénérées, la plupart des cellules cancéreuses utilisent préférentiellement la glycolyse pour produire l'énergie dont elles ont besoin, créant ainsi de grandes quantités de lactate et cela même en présence d'oxygène. En fait, les cellules cancéreuses se multiplient en utilisant un processus de fermentation du glucose (Madeleine, 2010).

Cet effet émerge aujourd'hui comme une propriété fondamentale des cancers par son universalité et son mécanisme de régulation moléculaire spécifique. En effet, les cellules cancéreuses présentent cette caractéristique métabolique qui les différencie des cellules normales (Puyraimond-Zemmor et Vignot, 2013).

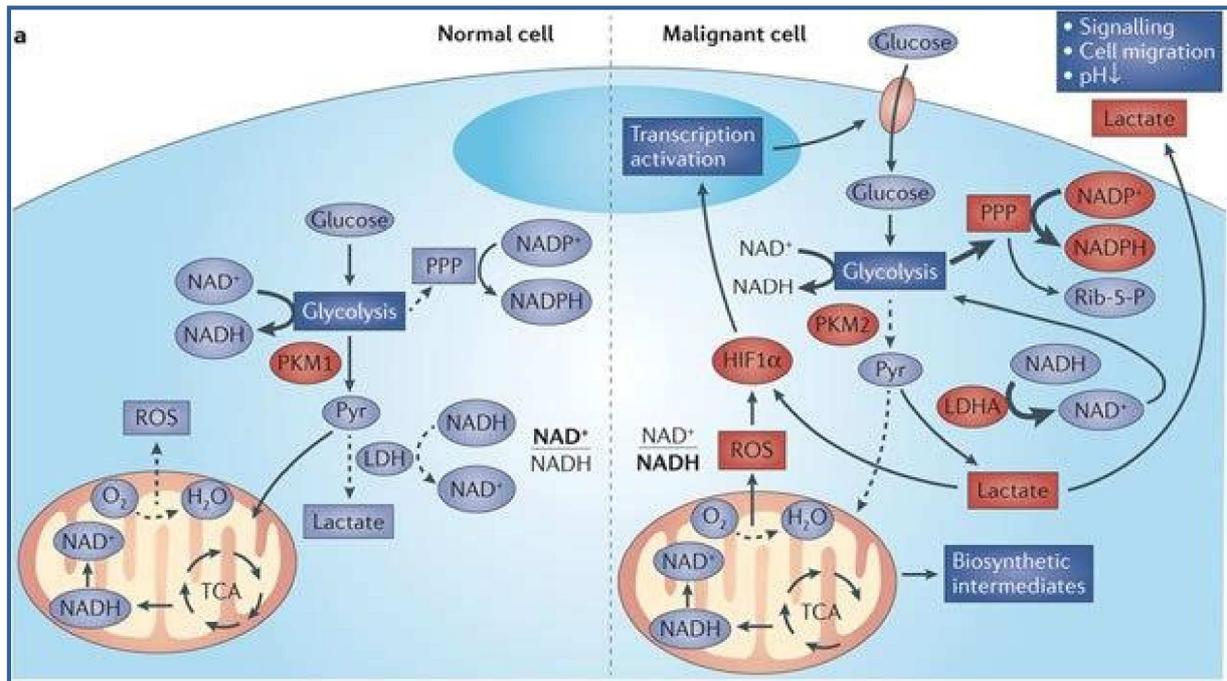


Figure 1.8. L'effet Warburg (Chiarugi et al., 2012). La transduction de l'énergie dans les cellules normales conduit à l'oxydation des nutriments via la phosphorylation oxydative. La glycolyse génère en continu le pyruvate (Pyr), qui est préférentiellement transporté dans les mitochondries, puis métabolisé par l'intermédiaire de l'acide trichloroacétique (TCA). Dans les cellules cancéreuses, un taux élevé de glycolyse est observée avec une augmentation de l'absorption de glucose, tandis que la respiration reste pratiquement inchangé (glycolyse aérobie). Le rapport de NAD en NADH est équilibré en faveur de NAD (indiquée en gras) dans les cellules normales. Dans les cellules tumorales, la lactate déshydrogénase isoforme A (LDHA) transforme de manière préférentielle d'accumulation de pyruvate en lactate, régénérant ainsi le NAD⁺ de NADH pour maintenir la glycolyse. L'excès de lactate est sécrété et contribue à un environnement extracellulaire qui favorise la progression de la tumeur. Sur la base de la réaction de LDHA, l'accumulation de lactate dans les tumeurs implique une augmentation du rapport NADH/NAD⁺. Le taux élevé de glycolyse et une augmentation de la pyruvate kinase M2 (PKM2) dans les cellules cancéreuses augmente les concentrations d'intermédiaires de la glycolyse, qui sont essentiellement détournées pour la voie des pentoses phosphates (PPP). En conséquence, le NADPH est produit à fin de neutraliser le stress oxydatif et pour soutenir la production de biomasse. En outre, des blocs de construction pour les synthèses d'acides nucléiques tels que le ribose-5-phosphate (Rib-5-P) sont produits. Un médiateur majeur du changement métabolique vers une augmentation du flux glycolytique est le facteur induit par l'hypoxie (HIF1 α).

1.2.2. Historique

C'est en appliquant les travaux de Louis Pasteur sur la fermentation alcoolique en 1924 à des tissus mammifères (cellules carcinomateuses péritonéales) qu'Otto Warburg observe les cellules cancéreuses fermenter le glucose en lactate (glycolyse anaérobie) *in vitro* en présence de quantités d'oxygène suffisantes pour permettre la phosphorylation oxydative, montrant ainsi que la fermentation occupe une place plus importante dans le métabolisme

Chapitre 1. Revue de la littérature

des cellules cancéreuses en comparaison avec les cellules normales. Celle-ci est utilisée jusqu'à 50 % pour la production d'ATP dans les cellules cancéreuses contre moins de 1 % dans les cellules normales. En 1926, Warburg fait les mêmes constatations *in vivo* (Vander Heiden *et al.*, 2009).

1.1.3. Conséquences métaboliques de l'effet Warburg sur la prolifération tumorale

En présence d'oxygène, la plupart des cellules différenciées métabolisent le glucose en pyruvate dans le cytoplasme puis en dioxyde de carbone au cours du cycle de Krebs dans le compartiment mitochondrial. Cette réaction permet une production maximale d'ATP et une production limitée de lactate (forme ionisée de l'acide lactique). Cette réaction n'est possible qu'en présence d'oxygène. C'est la glycolyse aérobie observée dans toutes les cellules saines. A l'inverse, la glycolyse anaérobie est utilisée par plusieurs types cellulaires afin d'approvisionner en lactate un autre type cellulaire à proximité, comme par exemple le couplage métabolique entre astrocytes et neurones. Cette réaction convertit le glucose en acide lactique en absence d'oxygène, produisant ainsi de grandes quantités de lactate et peu d'ATP. La prolifération cellulaire a besoin de ressources énergétiques et organiques afin de reproduire les composants de la cellule (ADN, membranes, protéines). Le glucose est essentiel pour les cellules prolifératives car outre l'ATP, il fournit également les intermédiaires métaboliques qui participent aux réactions anaboliques. Dans le cas des cellules tumorales, la prise de glucose et sa dégradation sont accrues, en absence ou en présence d'oxygène, pour permettre aux cellules de satisfaire les demandes en dérivés glycosylés, afin de soutenir la prolifération rapide (Vander Heiden *et al.*, 2009). La conversion du pyruvate en lactate par la lactate déshydrogénase A (LDHA) et l'expulsion du lactate par les transporteurs de monocarboxylate (MCT1, *Monocarboxylate Transporter 1*) contribuent à l'acidification du milieu environnant la tumeur. De plus, la production de lactate génère le NAD⁺, nécessaire au maintien de la glycolyse (Razungles *et al.*, 2013).

Figure 1.8 des glycolyses aérobie et anaérobie ci-après.

1.2.4. Voies de signalisation impliquées dans l'effet Warburg

Les voies métaboliques actives dans des cellules proliférantes sont directement contrôlées par des voies de signalisation impliquant des oncogènes connus et des gènes suppresseurs de tumeurs. Il est actuellement admis que la glycolyse, la phosphorylation oxydative, la voie des pentoses phosphates et le métabolisme de la glutamine sont reliés entre eux dans ces cellules (Vander Heiden *et al.*, 2009).

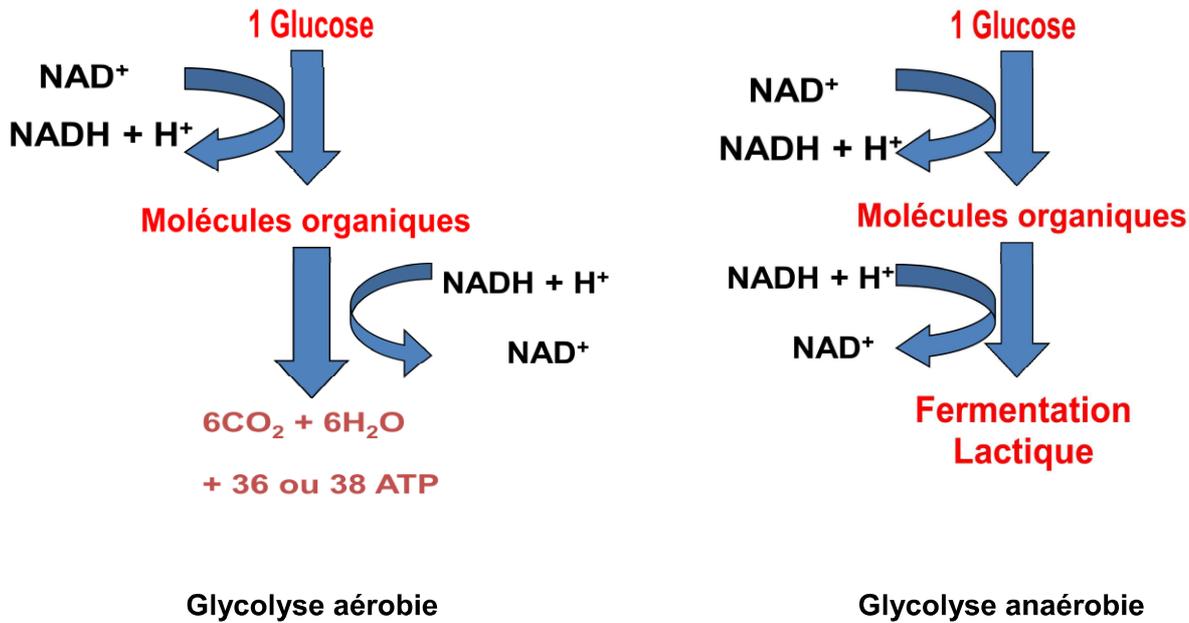


Figure 1.9. Glycolyses aérobie et anaérobie

Les cellules cancéreuses ont souvent recours à la glutamine en tant que source de combustible qui pénètre dans les mitochondries et peut être utilisé pour reconstituer les intermédiaires du cycle de Krebs, ou peut être utilisé pour produire plus de pyruvate par l'action de l'enzyme malique et du NADPH par activation par myc (*Myelocytose*). De plus ces cellules hautement prolifératives ont besoin de produire en excès des lipides, nucléotides et acides aminés pour la création d'une nouvelle biomasse. L'excès de glucose est donc détourné par la voie des pentoses phosphates (PPS, *Pentose Phosphate Shunt*) pour créer des nucléotides. Aussi, ce câblage métabolique permet à la fois la production du NADPH (générés par les actions de l'enzyme malique, IDH1 (*Isocitrate Déshydrogénase 1*), et aussi de plusieurs étapes dans la voie PPS), et de l'acétyl-CoA pour la synthèse des lipides essentiels pour une nouvelle production de la membrane à partir de citrate dans le cytosol à travers l'action de l'ATP-citrate lyase (ACL) (Dang *et al.*, Samudio *et al.*, 2009).

Plusieurs voies de signalisation contribuent à l'effet Warburg. Les principales étapes de ces voies métaboliques peuvent être influencées par des voies de signalisation connues pour être importantes pour la prolifération des cellules. L'activation des récepteurs de facteurs de croissance conduit à la fois à la signalisation par la tyrosine kinase et à l'activation de PI3K (*Phosphatidyl inositol triphosphate Kinase*) via Akt (*sérine thréonine protéine kinase*) (Gogvadze *et al.*, 2010)

Chapitre 1. Revue de la littérature

Akt stimule l'absorption du glucose par l'activation de plusieurs enzymes de la glycolyse, y compris hexokinase et phosphofructokinase (PFK). De plus, elle permet la phosphorylation des protéines apoptotiques tels que Bax ce qui rend les cellules cancéreuses résistantes à l'apoptose et contribue à stabiliser la membrane mitochondriale externe en favorisant la fixation de l'hexokinase mitochondriale (mtHK, *mitochondria total Hexokinase*) au canal complexe VDAC (*Voltage Dependent Anion Channel*) (Tennant *et al.*, 2010).

Quant à la tyrosine kinase, elle régule négativement les dernières étapes de la glycolyse, produisant des intermédiaires de la glycolyse disponibles pour la synthèse de macromoléculaires ainsi que la production de NADPH. L'oncogène p53 active TP53 (*Tumor Protein 53*) induisant la glycolyse et la production des régulateurs de l'apoptose (TIGAR, *TP53-Inducible Glycolysis and Apoptosis Regulator*) et entraînant une augmentation de la production de NADPH par PPS (Cairns *et al.*, Lunt *et al.*, 2011).

L'AMPK (*AMP-activated protein kinase*) participe également à la régulation de l'effet Warburg lorsqu'il existe des mutations de la kinase LBK1 (*Liver Kinase B1*) qui bloquent les fonctions d'AMPK et de ses cibles en aval. En effet, son inactivation entraîne une augmentation de la glycolyse aérobie (l'effet Warburg), une augmentation de la croissance tumorale et la transformation du glucose en lipides (Faubert *et al.*, 2013).

En plus des voies citées précédemment, l'oncogène Ras, muté dans plus de 35% des tumeurs, induit une expression accrue de plusieurs gènes impliqués dans l'effet Warburg, comme par exemple le gène de la lactate déshydrogénase A (LDHA). Les cellules transformées par le mutant K-Ras présentent plusieurs désordres métaboliques comme une augmentation de l'absorption du glucose, de la glycolyse et de la production d'acide lactique ainsi qu'un dysfonctionnement mitochondrial. De plus, le potentiel prolifératif des cellules transformées par K-Ras dépend d'une forte concentration en glucose et en glutamine (Yun *et al.*, 2009 ; Chiaradonna *et al.*, 2006).

De plus, les tumeurs solides présentent une déprivation en oxygène conduisant au phénomène d'hypoxie qui active le régulateur sensible à l'oxygène HIF1 α . Ce régulateur est un facteur de transcription impliqué dans la régulation de l'expression de nombreux gènes qui contrôlent différentes fonctions cellulaires, comme l'angiogenèse, la survie et l'invasion cellulaire et le métabolisme. HIF1 α augmente l'expression des enzymes de la glycolyse, comme la 6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-bisphosphatase-3 (PFKFB3), l'aldolase A ou encore GLUT3. Cependant, l'expression de HIF1 α peut être induite en conditions de normoxie par la glycolyse aérobie (Brahimi-Horn *et al.*, 2006 ; Lu *et al.*, 2002).

Chapitre 1. Revue de la littérature

De nombreux gènes impliqués dans la dégradation du glucose en pyruvate et finalement en lactate sont des cibles directes de l'oncogène Myc. Parmi ces gènes on trouve la lactate déshydrogénase A (LDHA) et le transporteur de glucose GLUT1. Par ailleurs, Myc induit la dégradation de la glutamine en stimulant l'expression de la glutaminase, qui transforme la glutamine en glutamate. Myc favorise donc la glycolyse et la dégradation de la glutamine des cellules cancéreuses, leur conférant ainsi une dépendance énergétique (Dang et al., 2009 ; Yuneva et al., 2007).

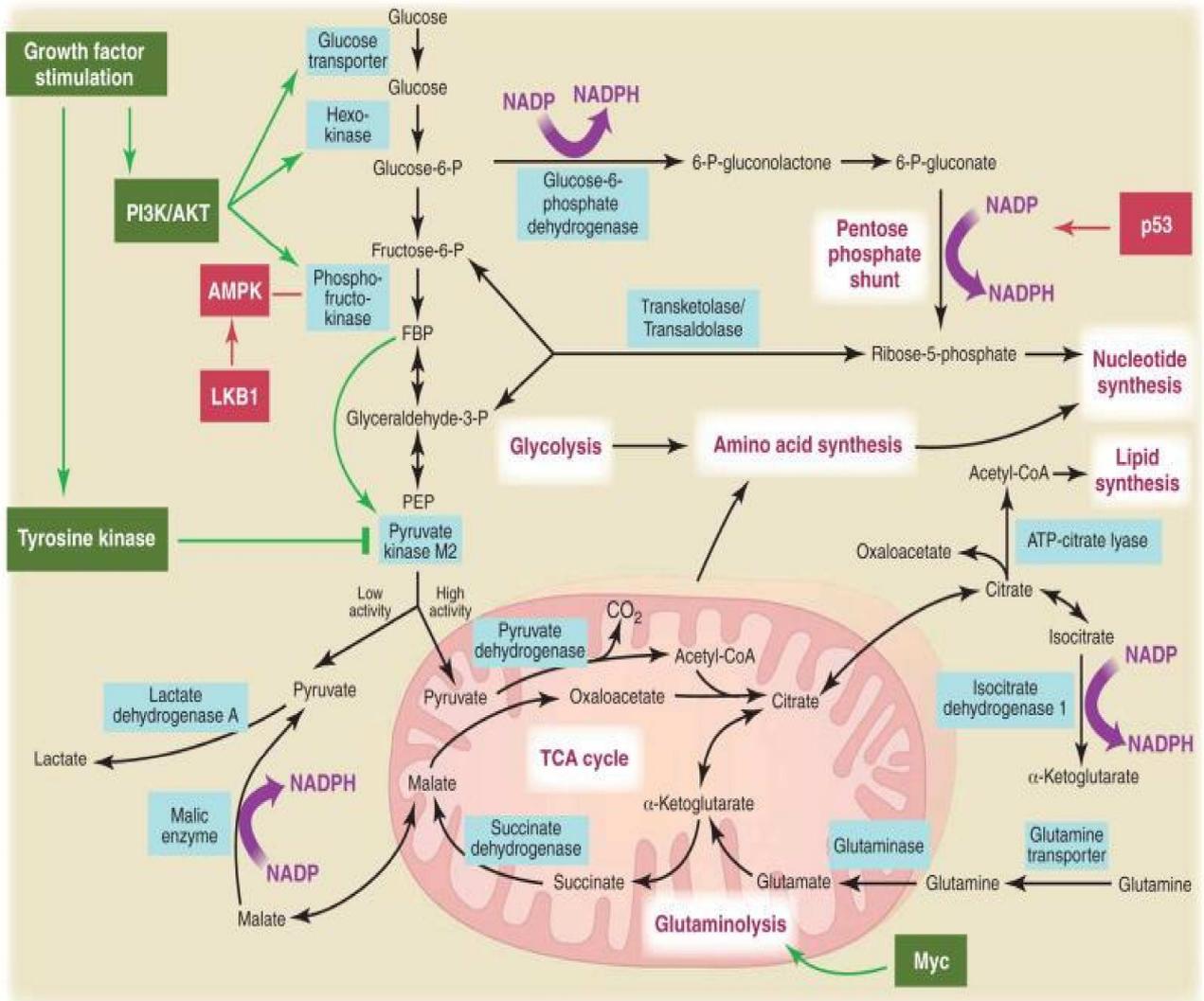


Figure 1.10. Voies de signalisation de l'effet Warburg (Vander Heiden, 2009). Les suppresseurs de tumeurs apparaissent en rouge, et les oncogènes sont en vert. Les voies métaboliques clés sont marquées en violet avec des cases blanches, et les enzymes qui contrôlent des étapes critiques dans ces voies sont indiqués en bleu.

1.2.5. Applications thérapeutiques de l'effet Warburg

Les impacts de l'effet Warburg sur la prolifération des cellules tumorales font de ce mécanisme une cible thérapeutique intéressante. Bloquer l'apport énergétique des cellules cancéreuses pourrait provoquer leur mort en inhibant leur reprogrammation métabolique (Terret and Solari, 2012). Ainsi, différentes molécules ciblant le métabolisme induisent une inhibition de la prolifération des cellules cancéreuses.

La toxicité de ces molécules sur le métabolisme des cellules prolifératives normales peut cependant limiter leur utilisation (Vander Heiden, 2011).

1.3. Espèces réactives de l'oxygène et cancer

1.3.1. Statut oxydant/antioxydant

La détermination du statut oxydant/antioxydant nous renseigne sur le stress oxydatif au niveau de l'organisme de ces patients. Le stress oxydatif est défini comme un état caractérisé par un déséquilibre entre la production des espèces oxygénées activées (les radicaux libres ou EOA) et les capacités antioxydantes de l'organisme (enzymes antioxydantes et systèmes antioxydants non enzymatiques) (Delattre *et al.*, 2005).

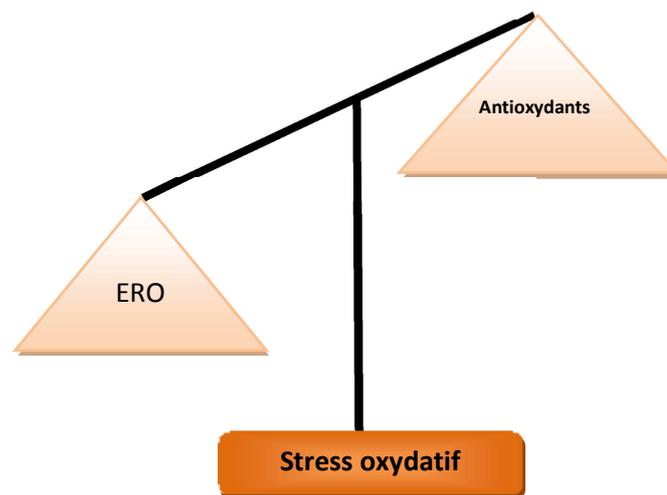


Figure 1.11. Déséquilibre de la balance entre antioxydants et EOA

Ce déséquilibre peut être déterminé par le pouvoir antioxydant total du plasma (ORAC) qui représente la capacité du plasma à neutraliser les radicaux libres générés *in vitro* et donc à freiner l'hémolyse des globules rouges attaqués.

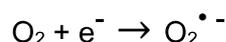
1.3.2. Radicaux libres

Les radicaux libres sont essentiellement des particules réactives issues du métabolisme de certaines molécules, ou de la conversion de l'oxygène en énergie. Ce sont des espèces chimiques (atomes ou molécules) qui possèdent un électron célibataire (ou non apparié) qui leur confère une réactivité vis à vis d'autres molécules.

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) regroupent l'ensemble des dérivés radicalaires de l'oxygène ($O_2^{\bullet -}$, $\bullet OH$, NO^\bullet , ROO^\bullet , etc.) mais aussi les composés non radicalaires ($ROOH$, H_2O_2 , 1O_2) (Toussaint, 2007 ; Milane, 2004). Ce sont des résidus nuisibles, provoqués par une mauvaise transformation ou une réaction chimique incomplète impliquant l'oxygène. Lorsqu'il y a une surproduction radicalaire ou une diminution des capacités antioxydantes (insuffisance d'apports des micronutriments antioxydants, inactivation enzymatique) ces radicaux libres très toxiques attaquent l'organisme créant ce stress oxydatif (Sharma *et al.*, 2008 ; Ozmen *et al.*, Tarozzi *et al.*, 2007 ; Pincemail *et al.*, 2000 ; 1999).

Les principaux radicaux libres oxygénés sont les suivants (Borg et Reeber, 2008 ; Haton, 2005 ; Milane, 2004) :

- l'anion superoxyde : la molécule d'oxygène, mise en présence d'une quantité d'énergie suffisante, peut acquérir un électron supplémentaire et former ainsi l'anion superoxyde :



Cet anion intervient comme facteur oxydant dans de nombreuses réactions, c'est également un réducteur.

- le radical hydroxyle : $\bullet OH$, Il est très réactif vis-à-vis des structures organiques et joue un rôle initiateur dans l'auto-oxydation lipidique, il est d'une très faible distance de diffusion.
- le radical peroxyde : ROO^\bullet , intermédiaire réactif avec les lipides.
- l'oxygène singulier : 1O_2 , forme « excitée » de l'oxygène moléculaire, est souvent assimilé à un radical libre en raison de sa forte réactivité, réagit avec les macromolécules biologiques (ADN, Protéines, lipoprotéines...).

- le peroxyde d'hydrogène: H_2O_2 , aux puissantes propriétés oxydantes, il existe naturellement chez les êtres vivants comme sous produit de la respiration cellulaire. Il génère des radicaux hydroxyles.
- le monoxyde d'azote: NO, produit par les NO synthases (NOS), gaz paramagnétique présentant un électron célibataire. Il génère des anions peroxytrites.
- le peroxytrite: $ONOO^-$, puissant oxydant, généré par NO, interagit avec les lipides, l'ADN et les protéines.

La nature et la relation entre les principaux radicaux libres et les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote intervenant au cours du stress oxydatif sont représentées dans la figure 1.12 ci après.

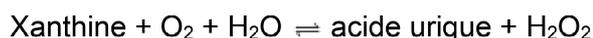
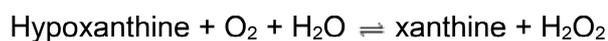
1.3.1.2. Sources des espèces réactives de l'oxygène (ERO)

1.3.1.2.1. Sources endogènes

Les ERO sont générés par de nombreux systèmes enzymatiques identifiés dans les cellules, on retrouve par exemple :

1.3.1.2.1.1. Xanthine oxydase

Appelée également xanthine oxydoréductase, c'est une enzyme de grande taille avec un poids moléculaire de 270 kDa, Chaque unité enzymatique est liée à deux molécules de flavine (liée sous forme de FAD, *Flavine Adénine Dinucléotide*), deux atomes de molybdène (sous forme de cofacteur à molybdène), et huit atomes de fer (sous forme de clusters fer-soufre). Présente dans le cytosol de la plupart des tissus, elle est capable de produire des radicaux superoxydes à partir de la base purique nucléotide hypoxanthine et d'oxygène, elle catalyse l'oxydation de l'hypoxanthine en xanthine ainsi que l'oxydation de la xanthine en acide urique.



La xanthine oxydase joue également un rôle important dans la production des ERO lors de l'ischémie. (Lamprecht *et al.*, 2004 ; Enroth *et al.* 2000).

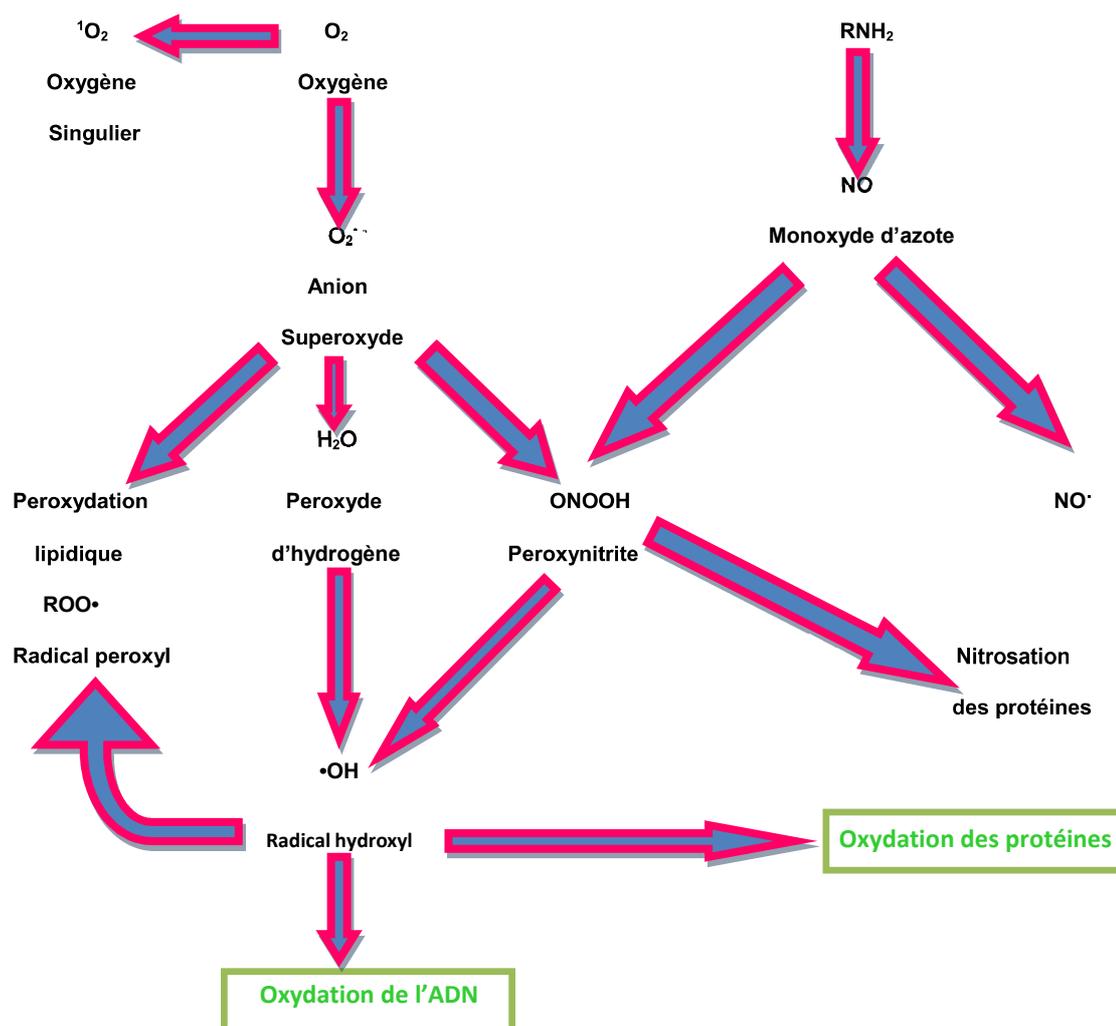


Figure 1.12. Nature et relation entre les principaux radicaux libres et les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote intervenant au cours du stress oxydatif (adapté d'après Codoïner-Franch et *al.*, 2011)

• : électron non apparié

1.3.1.2.1.2. Malondialdéhyde

1.3.1.2.1.2.1. Peroxydation lipidique

Les lipides sont les constituants essentiels des membranes cellulaires et des lipoprotéines. Leur peroxydation est un processus qui intervient dans certaines pathologies dans lesquelles le stress oxydant est impliqué. La peroxydation lipidique est un mécanisme en chaîne de dégradation des acides gras membranaires (destruction par oxydation des acides gras polyinsaturés) médiée par les radicaux libres conduisant à la formation de peroxydes

Chapitre 1. Revue de la littérature

lipidiques (LPO) qui peuvent se mesurer dans le plasma ou le sang total avec certaines limites de sensibilité et de spécificité. Les LPO se décomposent toutefois en sous-produits comme le malondialdéhyde (MDA), en effet des lésions protéiques vont induire la réaction en chaîne de la peroxydation lipidique qui va libérer ce composé (Poortmans *et al.*, 2003 ; Rémita, 2001 ; Meagher et FitzGerald, 2000).

L'étude des mécanismes de la peroxydation lipidique et des moyens de la prévenir par les antioxydants connaît depuis les dernières décennies un regain d'intérêt dû aux implications de ces phénomènes dans les domaines de la nutrition et de la santé. En effet, *in vivo*, la peroxydation lipidique est un phénomène très important. Les membranes des cellules sont particulièrement riches en acides gras polyinsaturés (30 à 50 %) présents dans les phospholipides, les sphingolipides, les cardiolipines. La lipoperoxydation des membranes va altérer leur fonctionnalité (modification de leur perméabilité, de leur fluidité, perte d'activité d'enzymes, de récepteurs...).

L'oxydation des cardiolipines de la mitochondrie est un facteur déterminant dans le déclenchement de l'apoptose des cellules (Nakagawa, 2004). Les lipoprotéines telles que les LDL (*Low Density Lipoprotein*), riches en cholestérol et en phospholipides sont également des cibles privilégiées de la peroxydation lipidique. Les LDL oxydées sont fortement incriminées dans l'athérogenèse. De nombreuses autres pathologies sont associées à la peroxydation des lipides. C'est le cas des maladies neurodégénératives (Alzheimer, Parkinson), du diabète, des cancers, des maladies inflammatoires, du vieillissement...(Cillard et Cillard, 2006).

Le malondialdéhyde ou aldéhyde malonique est un composé chimique de formule $\text{CH}_2(\text{CHO})_2$, c'est le produit terminal de la peroxydation lipidique des acides gras polyinsaturés médiée par les radicaux libres et c'est l'une des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et en tant que telle, il est analysé comme biomarqueur du stress oxydatif (le reflet du stress oxydant) (Terrier-Lenglet *et al.*, 2011 ; Nair *et al.*, Kasperska-Zajac *et al.*, 2008 ; Del Rio *et al.*, 2005 ; Lefèvre *et al.*, 1998).

Le malondialdéhyde est responsable avec d'autres métabolites réactifs d'altération du métabolisme cellulaire, c'est une molécule très toxique dont l'altération avec l'ADN et les protéines a souvent été décrite comme potentiellement mutagène et athérogène (Del Rio D *et al.*, 2005).

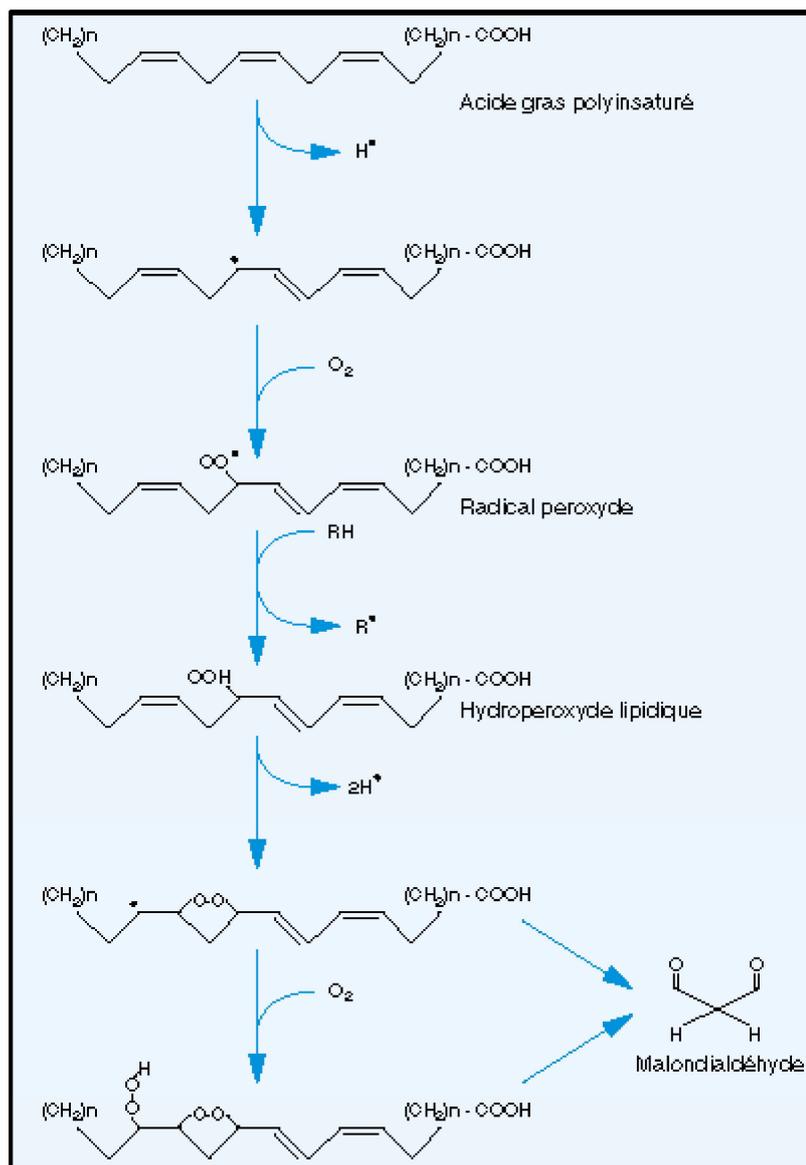


Figure 1.13. Peroxydation lipidique : voie de synthèse du malondialdéhyde à partir des acides gras polyinsaturés (Lefèvre *et al.*, 1998)

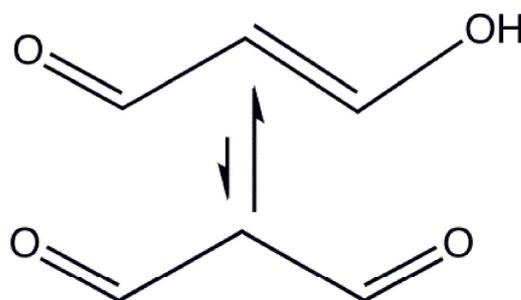


Figure.1.14. Malondialdéhyde

1.3.1.2.1.3. Protéines carbonylées

1.3.1.2.1.3.1. Oxydation des protéines

Les protéines représentent une cible importante des ERO du fait de leur abondance dans l'organisme. Celles-ci peuvent piéger 50 à 75 % des ERO générés. Leur oxydation affecte la fonction des protéines qui peuvent se fragmenter ou former des agglomérats les rendant susceptibles à la protéolyse, et résulte en la formation de protéines carbonylées (PC) dont l'accumulation peut être dosée comme témoin de l'oxydation (Fisher-Wellman *et al.*, 2009 ; Bloomer *et al.*, 2004 ; Clarkson et Thompson, 2000).

Suivant leur nature les acides aminés subiront des attaques radicalaires présentant des successions de réactions différentes. Toutefois l'oxydation des acides aminés est similaire à celle des sucres et implique une attaque radicalaire ($\text{LOO}\bullet \rightarrow \text{LOOH}$, ou autre) sur un des groupes méthyle lié à un atome d'azote (Spiteller, 2006 ; Uchida, 2003). On fait généralement référence à un procédé qui forme des cétones ou des aldéhydes qui peuvent réagir avec le 2,4-dinitrophénylhydrazine (DNPH) pour former des hydrazones réactifs. L'oxydation directe des chaînes latérales de la lysine, l'arginine, la proline, la thréonine et autres acides aminés dans la réaction de carbonylation protéique primaire produit le DNPH qui est un produit protéique détectable (Levine, 2002 ; Stadtman et Levine, 2000 ; Butterfield et Stadtman, 1997). Le DNPH dérivable peut également être formé dans la réaction de carbonylation protéique secondaire par l'addition d'aldéhydes tels que ceux générés par des procédés de peroxydation des lipides (Grimsrudet *al.*, 2008 ; Sayre et *al.*, 2006).

Les dommages oxydatifs des protéines peuvent provenir de divers ERO comme le radical hydroxyle, le peroxydite, des radicaux d'acides aminés, d'acides gras insaturés ou de sucres (Bloomer et *al.*, 2004).

1.3.1.2.2. Sources exogènes

Elles sont surtout d'origine physique et chimique : les rayons ultraviolets (315-400 nm), radiations X ou gamma, réactions photochimiques. On retrouve également : l'alcool, le tabac, le cancer, l'inflammation, le SIDA, la pollution.....(Belkheiri, 2010 ; Salvayre et *al.*, 2003 ; Mabile et *al.*, 1997).

1.3.1.3. Implication des radicaux libres en pathologie

Les radicaux libres oxygénés (RLO), interviennent au niveau des facteurs de transcription et de la phagocytose et sont impliqués dans la prolifération cellulaire et la mort cellulaire programmée, de ce fait ils jouent un rôle physiologique au sein de l'organisme.

1.3.1.4. Statut antioxydant

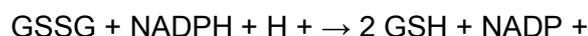
Le statut antioxydant est déterminé par des marqueurs antioxydants on retrouve :

1.3.1.4.1. Le Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate hydrogène

C'est la forme réduite du nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADP), coenzyme composée par une liaison pyrophosphate d'adénosine 2', 5'bisphosphate; elle sert de porteur d'électrons dans de nombreuses réactions (Kirsch et De Groot, 2001).

Le nicotinamide adénine dinucléotide phosphate hydrogène (NADPH) est produit principalement par quatre enzymes G6PD, GPI, enzyme malique, et isocitrate déshydrogénase (Stanton, 2012).

Le NADPH joue un rôle dans les réactions d'oxydoréduction de l'organisme, dans le transfert d'électrons. Il est lié à des réactions anabolisantes (réactions biosynthétiques) et a un pouvoir réducteur. En ce qui concerne son métabolisme, il est produit principalement par la phase de la voie oxydative des pentoses phosphates. La détoxification de ces espèces réactives implique la glutathion qui doit être constamment régénérée par la glutathion réductase selon la réaction suivante (Stanton, 2012 ; Kirsch, 2001).



Il est aussi connu pour jouer un rôle essentiel dans le métabolisme énergétique, et l'antioxydation, en effet, le système antioxydant dépend de la production du NADPH pour son bon fonctionnement. Ses trois composantes principales dans les cellules sont le système de glutathion, la catalase, et la superoxyde dismutase (Lesgards et *al.*, 2002).

Le premier est dépendant de la production de la glutathion réduit par la glutathion réductase qui dépend du NADPH. La catalase n'a pas essentiellement besoin de le NADPH pour convertir le peroxyde d'hydrogène en eau, mais elle a un site de liaison allostérique pour le NADPH qui maintient la catalase dans sa conformation active. La superoxyde dismutase n'utilise pas le NADPH pour convertir le superoxyde en peroxyde d'hydrogène; toutefois, si ce n'est pas suffisamment réduit chimiquement par la catalase ou la glutathion, les niveaux de peroxyde d'hydrogène vont augmenter quantitativement et inhiber la superoxyde dismutase.

Par conséquent, l'ensemble du système antioxydant dépend du NADPH (Pandolfi et *al.*, 1995). Au cours des dernières années, l'implication de ce cofacteur dans d'autres fonctions physiologiques a été démontré, y compris dans le vieillissement, le stress oxydatif,

Chapitre 1. Revue de la littérature

l'homéostasie du calcium intracellulaire, la production des ERO, la mort cellulaire et l'expression des gènes (Ying, 2008).

Une autre série d'enzymes qui dépendent du NADPH sont les oxydes nitriques synthases (NOS). Le NADPH permet de réduire la puissance de telle sorte que l'oxyde nitrique NOS est capable de convertir l'arginine en citrulline et en oxyde nitrique (NO). NOS dépend donc du NADPH (Leopold *et al.*, 2003).

Tableau.1.4. Enzymes dépendantes de la NADPH

Principales enzymes dépendantes de la NADPH
Enzymes antioxydants La glutathion réductase La catalase
L'oxyde nitrique synthase
La dihydrofolate réductase
La NADPH oxydase
L'oxydoréductase du cytochrome P450
Des enzymes de la synthèse des lipides

1.3.1.4.2. Enzymes anti-oxydantes

1.3.1.4.2.1. Superoxyde dismutase

C'est des métalloprotéines, enzymes produites par les cellules de l'organisme. La superoxyde dismutase (SOD) est constituée de deux sous-unités de poids moléculaire identique reliés par une liaison disulfure. Son poids moléculaire est de 32,500 (Keele *et al.*, 1971). La molécule est composée de deux atomes de Cu (II) et deux atomes de Zn (II) avec un rôle structurel de stabilisation pour le zinc et une implication directe dans l'activité catalytique pour le Cu_2 + (Rotilto *et al.*, 1973 ; Rotilio *et al.*, 1972 Bannister *et al.*, 1971).

Il en existe cinq formes selon le métal contenu dans sa molécule: fer, manganèse, cuivre, zinc ou nickel, cette dernière est dite inhabituelle. La SOD à cuivre et à zinc (Cu, Zn) est celle que l'on trouve dans le cytosol et au niveau des liquides extracellulaires, la SOD à fer et la SOD à manganèse, dans les mitochondries (EFSA, 2014 ; Thomson Healthcare, 2001).

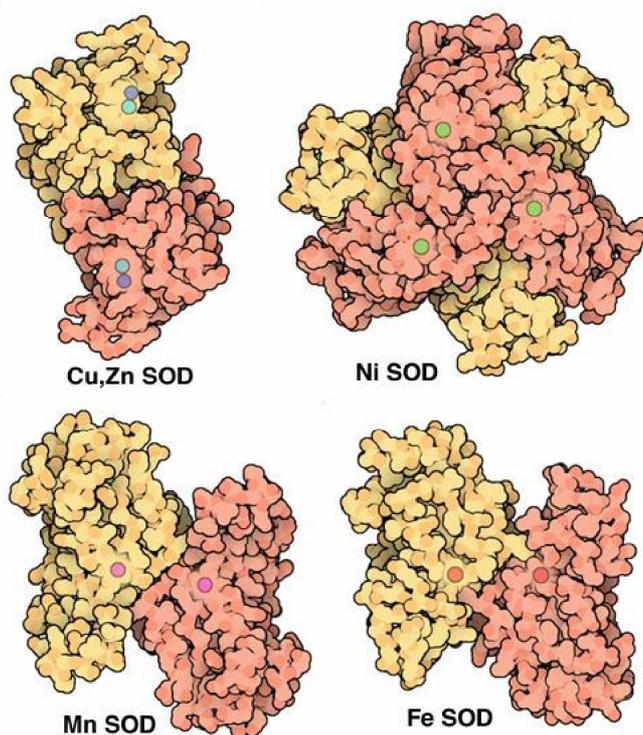


Figure 1.15. Les quatre formes de la superoxyde dismutase selon le métal contenu dans la molécule (cuivre, zinc, manganèse, fer et nickel)

La superoxyde dismutase est sans doute le plus cruciale antioxydant de l'organisme, car il est responsable de désarmer les radicaux libres les plus dangereux de tous: les radicaux superoxydes hautement réactives, son rôle catalytique est de détruire le radical superoxyde (Mc Cord et Fridovitch, 1969). La transformation du radical superoxyde en H_2O_2 peut s'effectuer spontanément mais la SOD l'accélère environ 10 000 fois. Elle s'attaque à l'anion superoxyde pour arrêter à la base les réactions en chaîne. La superoxyde dismutase catalyse donc la destruction des radicaux libres O_2^- . Elle est responsable de la catalyse de la conversion de l'oxygène élémentaire en superoxyde et peroxyde d'hydrogène, elle va en effet, prendre deux molécules de superoxyde, et dépouiller l'une d'entre elles de son électron supplémentaire et le placer dans la seconde molécule.

Ainsi, on aboutit à un électron en moins dans la première molécule, en formant de l'oxygène normale, alors que la seconde se retrouve avec un électron supplémentaire et va reprendre rapidement deux ions d'hydrogène pour former du peroxyde d'hydrogène. Cette transformation est appelée dismutation (Goodsell, 2007 ; Faraci et Didion, 2004).

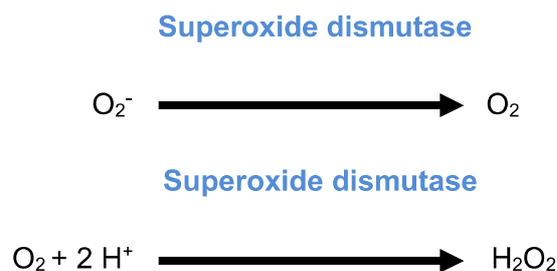


Figure 1.17. Réaction de la superoxyde dismutase

SOD a un rôle crucial dans la réduction du stress oxydatif impliqué dans le processus cancéreux, mais aussi dans la réduction de l'inflammation interne en incitant les cellules immunitaires (les macrophages) à libérer la cytokine anti-inflammatoire (interleukine-10) dans des conditions de stress oxydatif (Vouldoukis et *al.*, 2004). Donc empêche la progression tumorale promue par l'inflammation (Okada et *al.*, Kiefer, 2006).

1.3.1.4.2.2. Catalase

La catalase (CAT) est une enzyme dépendante du Fe, C'est un tétramère qui est formé de quatre chaînes polypeptidiques qui comportent chacune un groupe hème composant les sites actifs de cette enzyme. Le gène de la catalase est caractérisé chez de nombreuses espèces. Chez l'homme, il comprend 13 exons (Quan et *al.*, 1986).

Elle est fortement exprimée dans le foie, le rein et le sang. Elle est localisée dans les peroxysomes qui sont des organites responsables de plusieurs fonctions métaboliques telles que la β -oxydation des acides gras ou la synthèse des acides biliaires.

Elle fait partie du système de défense contre les ERO. En effet, la catalase transforme le H_2O_2 en O_2 et H_2O . Son utilisation devenant importante quand les quantités d' H_2O_2 sont élevées (Finaud et *al.*, 2006 ; Wolinsky, 1998).

En effet, La catalase n'utilise que l' H_2O_2 comme substrat et fonctionne lorsque celui-ci est présent à des concentrations élevées bien supérieures aux conditions physiologiques de l'ordre de 10^{-6}M (Cohen et Hochstein, 1963).

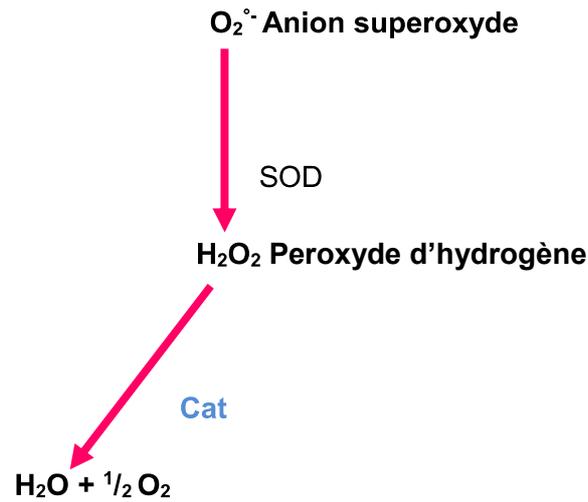


Figure.1.18. Réaction catalysée par la catalase

1.3.1.4.2.3. Glutathion peroxydase

La glutathion peroxydase (Gpx) est une enzyme antioxydante du plasma, des fluides extracellulaires et du cytosol, dépendante du sélénium mais aussi de la disponibilité en glutathion réduit (GSH), glutathion réductase (GR), glutathion oxydé (GSSG) et en NADPH (Elosua et *al.*, 2003 ; Sies et *al.*, 1997 ; Maddipati et Marnett 1987). Nous avons donc des GPxs sélénio-dépendantes, elles ont au niveau de leur site catalytique une sélénocystéine : GPx1, GPx2, GPx3 et GPx4. La glutathion peroxydase 1, comme GPx2 et GPx3 sont des protéines tétramériques qui comprennent 4 sous unités identiques alors que GPx4 est monomérique. D'autres ne présentent pas cette sélénocystéine, elles sont dites sélénio-indépendantes : GPx5 et GPx6 (tableau 5). L'ensemble de ces enzymes forment un groupe homogène avec des blocs de conservation qui sont indispensables à leur activité dont un motif structural de trois acides aminés : le tryptophane, la glutamine et la sélénocystéine.

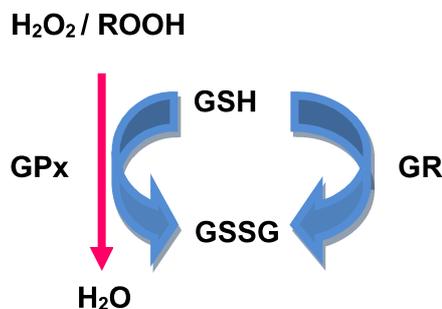


Figure.1.19. Mode d'action du GPx

Tableau.1.5. Différentes caractéristiques des GPxs.

	GPx1	GPx2	GPx3	GPx4	GPx5	GPx6
Expression	Ubiquiste	estomac intestin foie	rein poumon épididyme	Testicule spermatozoïde foie rein	épididyme spermatozoïde	corps ciliaire
Localisation	cytosol mitochondrie	cytosol	secrétée cytosol	mitochondrie nucléaire	secrétée	ND
Masse moléculaire (KDa)	21	22	22	19	24	ND
Sélénocystéine	Oui	oui	oui	Oui	non	non

ND: Non déterminé.

Contrairement à la catalase, les glutathion peroxydases métabolisent une grande variété d'hydroperoxydes (R-OOH) en plus de l' H_2O_2 (tableau 2). Néanmoins pour GPx1, GPx2 et GPx3 le substrat H_2O_2 reste préférentiel. Par contre, la GPx4 est la seule capable d'agir directement sur les hydroperoxydes de phospholipides (Van Kuijk et al., 1986), les autres interviennent après clivage des hydroperoxydes par des phospholipases. La glutathion peroxydase transforme le H_2O_2 en H_2O , elle désintoxique le H_2O_2 , avec l'aide du glutathion réduit. Le glutathion réduit, sert de substrat à la Gpx pour former du glutathion oxydé et un oxydant désactivé par réduction. Avec l'aide d'une glutathion réductase et de $NADPH + H^+$, le GSH sera régénéré à partir du GSSG (Sayre et al. 2008). Son action permet donc d'éliminer le H_2O_2 produit, de façon à éviter sa participation comme pro-oxydant. Elle convertit aussi les hydroperoxydes lipidiques en des alcools non toxiques et de ce fait participe à l'interruption de la chaîne de peroxydation lipidique.

Tableau 6. Activités des différentes GPx vis à vis de différents substrats (%).

	GPx1	GPx2	GPx3	GPx4	GPx5	GPx6
H2O2	96	100	100	55	ND	ND
Hydroperoxyde de tert-butyl	100	31	86	6	ND	ND
Hydroperoxyde de phospholipides	0	0.2	27	100	ND	ND

ND: Non déterminé.

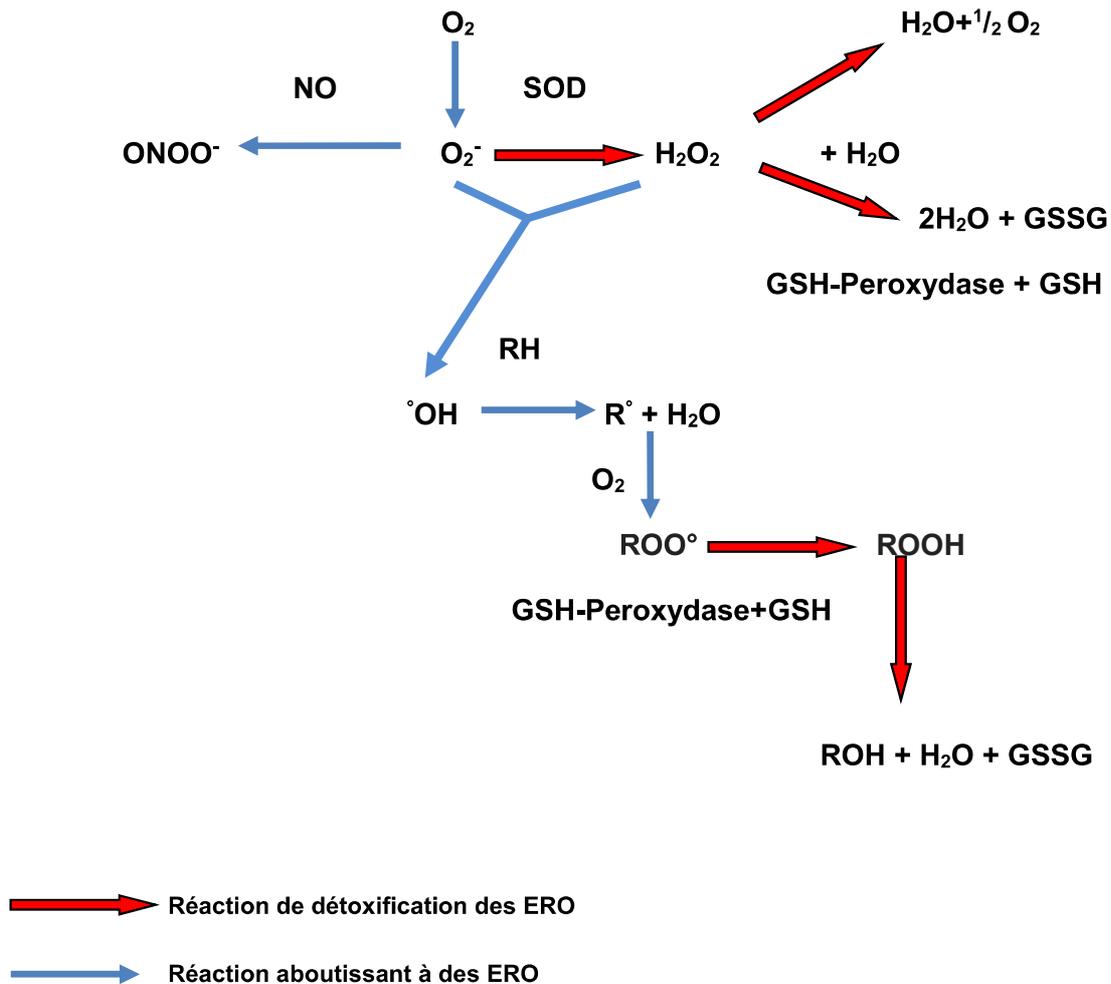


Figure.1.20 Les ERO et leur système de détoxification.

1.3.1.5. Processus inflammatoire

L'inflammation est un processus de défense de l'organisme dont le but est de neutraliser, de combattre ou d'éliminer l'agent pathogène en cause et de préparer la réparation des tissus. Le processus inflammatoire accompagne donc l'état cancéreux. Celui-ci est représenté par des marqueurs d'inflammation on retrouve:

1.3.1.5.1. Albumine

C'est une protéine soluble plasmatique produite par le foie, formée de carbone, d'hydrogène, d'oxygène, d'azote et d'un petit pourcentage de soufre. L'intervalle normal de concentration en albumine dans le sang est de 38 à 48 g·l⁻¹, mais la moyenne reste généralement de 40 g/l et elle représente habituellement environ 60 % des protéines plasmatiques (Pardridge et

Chapitre 1. Revue de la littérature

Fierer, 1990). C'est un antioxydant, l'albumine est riche en cystéine qui contient de nombreux groupes thiol, ceci lui permettrait d'agir directement sur les ERO (Lamprecht et *al.*, 2004). Elle est dite protéine négative de la réaction inflammatoire car sa concentration diminue 10 à 1000 fois au cours de l'inflammation (Peltier et *al.*, 1998).

1.3.1.5.2. Le ratio neutrophiles/lymphocytes (RNL)

Le RNL est un facteur indépendant de pronostic négatif de la survie chez les patients atteints de cancers en général et de LNH en particulier. Il est positivement corrélé avec la sévérité de la maladie et avec la progression tumorale (Badea et *al.*, 2014).

1.4. Balance Th1/Th2

1.4.1. Définition

L'hypothèse de la balance Th1/Th2 née en 1986, se base sur l'équilibre entre les cellules T helper 1 (Th1) qui participent à l'immunité cellulaire pour lutter contre les virus et autres agents pathogènes intracellulaires et éliminer les cellules cancéreuses et les cellules T helper 2 (Th2) impliquées dans l'immunité humorale et régulant à la hausse la production d'anticorps pour lutter contre les organismes extracellulaires (Abbas et *al.*, 1996).

1.4.2. Mode d'action

Les événements soigneusement orchestrés qui régulent l'homéostasie du système immunitaire et le développement d'une réponse immunitaire sont coordonnés principalement par les cytokines produites par Th1 et Th2.

Après de nombreuses études, il semble maintenant que les cellules Th1 et la voie qu'elles dominant sont fortement tributaires de l'interféron-gamma (IFN- γ), et que les cellules Th2 sont dominées par l'interleukine-4 (IL-4) (Abbas et *al.*, 1996).

Les cytokines sont des médiateurs solubles de signalisation cellulaire, sécrétés par les cellules du système immunitaire et agissant à distance sur d'autres cellules pour réguler leur activité et leur fonction. C'est des protéines ou des glycoprotéines.

C'est un grand groupe de molécules composé des interférons (IFN), des interleukines (ILS), et divers facteurs de stimulation des colonies (CSF, *Colony Stimulating Factor*). Ainsi que des facteurs de nécrose tumorale (TNF, *Tumor Necrosis Factor*) et des facteurs de croissance (TGF, *Transforming Growth Factor*) (Pagès, 2010).

Chapitre 1. Revue de la littérature

Les réponses immunitaires cellulaires sont induites et maintenues par les cellules CD4⁺ Th1 réglementaires sécrétant l'IL-2 et l'IFN- γ . L'induction de l'immunité anti-tumorale systémique efficace, par exemple, implique l'amorçage à la fois de CD4 + et CD8 + spécifiques à l'antigène associés à la tumeur.

Le rôle des cellules Th est de fournir des signaux réglementaires requis pour l'amorçage du CMH de classe I spécifique aux lymphocytes T cytotoxiques CD8⁺ (CTL, *Cytotoxic T Lymphocyte*). Activées les CTL servent principalement d'effecteurs immunitaires qui induisent la mort de la cellule tumorale par apoptose.

Ainsi, l'immunité tumorale est habituellement médiée par des CTL et dont l'activation est supportée par la stimulation des cytokines de type Th1.

La survie des cellules Th1 et CTL est à son tour soutenu par les cellules dendritiques locales, des molécules co-stimulatrices et des cytokines telles que l'IL-12, l'IL-15 et l'IL-18.

Autre caractéristique clé de l'hypothèse est que les cellules Th1 et Th2 peuvent antagoniser les actions de chacune, soit en bloquant la maturation polarisée du type de cellule opposé ou en bloquant ses fonctions (Lafaille, 1998). A titre d'exemple, l'IFN- γ sécrété par les cellules Th1 peut bloquer la prolifération des cellules Th2, et des concentrations élevées d'IL-4 peuvent bloquer la génération de cellules Th1 à partir de cellules T naïves.

Cependant, d'autres types de cellules immunitaires peuvent également intervenir pour bloquer l'activité soit de Th1 ou de Th2 ou des deux à la fois. Ce sont les cellules T régulatrices (Treg).

Plusieurs sous-ensembles de cellules T régulatrices ont été identifiés en fonction du rôle tenu et de leur phénotype (caractéristiques de surface) (McGuirk et Mills, 2002).

Les Treg ont un rôle immunosuppresseur, ils inhibent la fonction des cellules T CD4 et CD8 et jouent un rôle important dans la préservation de la tolérance au soi et la modulation de la réponse immunitaire globale contre les cellules tumorales.

En effet, il a été récemment démontré que le nombre de cellules Treg sont élevés dans les LNH et que les cellules B induisent le développement des cellules Treg inhibant ainsi les réponses anti-tumorales, contribuant ainsi à la survie des cellules cancéreuses, ce qui aggrave la croissance tumorale et les métastases (Duan *et al.*, 2014 ; Yang *et al.*, 2007).

Aussi, la balance entre Treg/Th17 semble avoir un rôle important au cours du LNH. L'IL-17 sécrétée par T helper 17 (Th17) inhiberait la croissance de cellules tumorales ce qui suggère

Chapitre 1. Revue de la littérature

un rôle potentiel des cellules Th17 dans l'immunité anti-tumorale. Hors, les cellules B du LNH bloquent la différenciation des cellules Th17.

L'équilibre entre les cellules Th17 effectrices et les cellules Treg inhibitrices est donc perturbé ce qui favorise considérablement le développement des cellules Treg inhibitrices immunosuppressives et de ce fait le développement tumoral (Duan *et al.*, 2014).

1.4.3. Déséquilibre de la balance Th1/Th2 et pathologies

Un déséquilibre de la balance peut être responsable de l'apparition et de la progression de plusieurs maladies. En effet, les patients atteints de cancer avancé ont souvent une déficience de l'immunité à médiation cellulaire associée à Th1 ou Th2. De ce fait une régulation de la balance Th1/Th2 modifie la réponse immunitaire, et peut ainsi diminuer le risque de développement ou de rechute de malignité.

Ainsi des altérations du profil des cytokines de type Th1 ou Th2 ont été généralement caractérisées par une diminution du rapport Th1/Th2 et ont été décrits chez des patients cancéreux, y compris ceux avec un lymphome non-Hodgkinien.

Ces altérations pourraient résulter d'un dysfonctionnement dans les cellules Th1, l'activation des lymphocytes Th2, ou les deux phénomènes. Il semble que cette dérégulation augmente au fur et à mesure que la maladie progresse jusqu'aux stades les plus avancés. Cela suggère qu'il pourrait être un mécanisme important qui permet à la tumeur de s'implanter et de progresser dans l'organisme (Cortes et Kurzrock, 1997).

Il a été démontré que les cellules tumorales elles-mêmes peuvent produire une variété de facteurs qui peuvent modifier le niveau des cytokines de type Th1 ou Th2, soit par un effet direct sur les cellules T ou par interaction ultérieure avec d'autres cellules immunitaires, y compris les cellules dendritiques (DC, *Dendritic Cell*) ou les macrophages.

Ces facteurs comprennent par exemple le TGF- β (*Transforming Growth Factor β*), l'IL-10, les prostaglandines et autres (Kidd, 2003 ; Asselin-Paturel *et al.*, 1998 ; Chouaib *et al.*, 1997 ; Kavanaugh et Carbone, 1996 ; Kim *et al.*, 1995).

1	
---	--

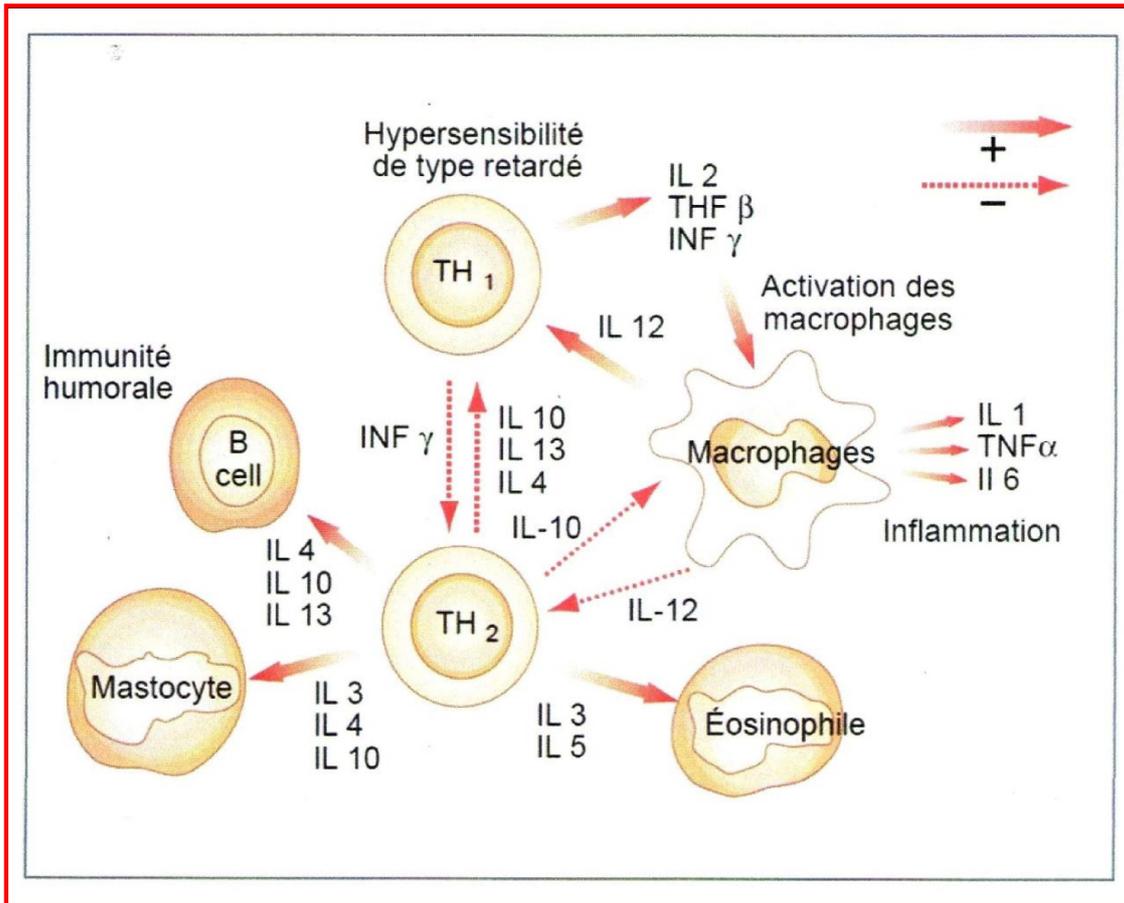


Figure.1.21. Balance Th1/Th2 (Kim et al., 2011). Les flèches pleines indiquent une stimulation et celles en pointillés une inhibition. IL: Interleukine; INF: Interféron; TNF: Tumor Necrosis Factor.

1.5. Problématique et objectifs

1.5.1. Problématique

Le lymphome non-Hodgkinien est l'un des cancers les plus répandus de nos jours, sa fréquence a augmenté de manière spectaculaire ces 20 dernières années avec un taux de mortalité très élevé.

Les étiologies de cette néoplasie sont nombreuses et encore très mal connues, néanmoins l'un des facteurs de risque le plus rencontré est l'exposition aux pesticides, des études antérieures ayant démontrées la relation entre ce dernier et l'acquisition d'une anomalie chromosomique à l'origine du développement tumoral (le LNH est très largement retrouvé chez les agriculteurs) ainsi qu'avec l'altération de nombreux paramètres.

1.5.2. Objectifs

1.5.2.1. Objectif principal

Démontrer le rôle délétère des pesticides sur le NADPH et la balance Th1/Th2 chez des patients nouvellement diagnostiqués avec LNH agressif exposés ou non aux pesticides.

1.5.2.2. Objectifs secondaires

1. Déterminer le statut oxydant/antioxydant par les dosages des différents marqueurs du stress oxydatif chez des patients nouvellement diagnostiqués avec LNH agressif exposés ou non aux pesticides.

2. Etudier l'état inflammatoire chez des patients nouvellement diagnostiqués avec LNH agressif exposés ou non aux pesticides.

1.5.3. But

Le but de notre étude a été de mettre en évidence les différences potentielles concernant divers paramètres chez les deux populations de patients et les contrôles afin d'améliorer la prise en charge des malades et de définir de nouvelles stratégies thérapeutiques et des moyens de prévention contre le LNH.

CHAPITRE 2

Article. Relationship between NADPH and Th1/Th2 ratio in patients with non-Hodgkin lymphoma who have been exposed to pesticides

2.1. Matériels et méthodes

2.2. Résultats

2.3. Discussion

2.4. Conclusion

Chapitre 2. Article. Relationship between NADPH and Th1/Th2 ratio in patients with non-Hodgkin lymphoma who have been exposed to pesticides

Cette partie a fait l'objet d'une publication internationale auprès d'un journal avec comité de lecture spécialisé.

Journal of Blood Medicine

Dovepress

open access to scientific and medical research

 Open Access Full Text Article

ORIGINAL RESEARCH

Relationship between NADPH and Th1/Th2 ratio in patients with non-Hodgkin lymphoma who have been exposed to pesticides

This article was published in the following Dove Press journal:
Journal of Blood Medicine
31 March 2015
[Number of times this article has been viewed](#)

Meriem Rabia Zahzeh¹
Bouchra Loukidi¹
Warda Meziane¹
Mustapha Haddouche^{1,2}
Naima Mesli^{1,3}
Zahia Zouaoui⁴
Mourad Aribi¹

¹Laboratory of Applied Molecular Biology and Immunology,

²Department of Medicine, University of Tlemcen, Tlemcen, Algeria;

³Department of Clinical Haematology, Tlemcen Medical Centre University, Tlemcen, Algeria; ⁴Department of Clinical Haematology, Sidi Bel-Abbès Medical Centre University, Sidi Bel-Abbès, Algeria

Abstract: The effect of pesticides on nicotinamide adenine dinucleotide phosphate hydrogen (NADPH), including its level and relationship with the T helper 1 (Th1)/Th2 ratio, in patients suffering from non-Hodgkin lymphoma (NHL) was investigated. One hundred newly diagnosed patients with aggressive NHL (53 men, 47 women) and 40 healthy age-, sex-, and body mass index-matched controls (23 men, 17 women), exposed or not to pesticides, were recruited for a cross-sectional study conducted at the Clinical Hematology Departments of Tlemcen and Sidi Bel-Abbès University Medical Centers in the northwest of Algeria. NADPH levels were significantly increased in patients compared with controls; and in exposed patients compared with those not exposed, and controls (one-way analysis of variance; $P=0.000$). Albumin, glutathione peroxidase, superoxide dismutase, catalase activity, and oxygen radical absorbance capacity levels were significantly decreased in patients compared with in the control group. Oxygen radical absorbance capacity levels were significantly decreased in exposed patients compared with in unexposed patients; however, malondialdehyde levels were significantly increased in exposed patients when compared with controls and unexposed patients. Protein carbonyl and xanthine oxidase levels were significantly increased in exposed patients compared with controls; meanwhile, there were no significant differences between the two patient groups or between unexposed patients and controls. The Th1/Th2 ratio was significantly decreased in patients when compared with controls; the neutrophil-to-lymphocyte ratio was significantly increased (for both comparisons, $P<0.001$). In addition, NADPH was strongly associated with NHL (Mantel-Haenszel common odds ratio estimate =5.55; 95% confidence interval, 2.22–13.88; $P=0.000$). Moreover, NADPH levels were significantly negatively related to the Th1/Th2 ratio, either in exposed patients or in unexposed patients (respectively, $r=-0.498$ [$P=0.004$] and $r=-0.327$ [$P=0.006$]). In conclusion, pesticide exposure was strongly associated with NADPH alteration in NHL. The relationship between NADPH and Th1/Th2 ratio should focus on new therapeutic strategies for the disease.

Keywords: non-Hodgkin lymphoma, pesticides, NADPH, Th1/Th2 ratio

Bureau éditorial

<http://www.dovepress.com/journal-of-blood-medicine-journal>

Editeur en chef Martin Bluth, USA

Abstracting and indexing

http://www.dovepress.com/articles.php?article_id=21092.

1. PubMed and PubMed Central (*J Blood Med*)
2. Scopus
3. Embase

4. Directory of Open Access Journals (DOAJ)
5. OAIster - The Open Access Initiative

CHAPITRE 2

Article. Relationship between NADPH and Th1/Th2 ratio in patients with non-Hodgkin lymphoma who have been exposed to pesticides

2.1. Matériels et méthodes

2.1.1. Patients et sujets

Cent (100) patients nouvellement diagnostiqués avec un LNH agressif (53 hommes, 47 femmes) et 40 témoins sains (23 hommes, 17 femmes), exposés ou non aux pesticides, ont été recrutés pour une étude cas-témoin menée au niveau des services d'hématologie clinique des centres hospitaliers et universitaires de Tlemcen et de Sidi Bel-Abbés nord-ouest de l'Algérie.

Le recrutement a été fait sur la base d'un questionnaire (annexe 1). Les participants exposés aux pesticides (patients [n = 32], $58,48 \pm 3,27$ ans, contrôles [n = 20], $56,12 \pm 2,93$ ans) ont été sélectionnés parmi les travailleurs agricoles afin d'obtenir une population homogène.

Les patients (n = 68; $55,25 \pm 2,82$ ans) et contrôles (n = 20; $56,6 \pm 3,1$ ans) non exposés aux pesticides n'avaient pas d'antécédents d'exposition professionnelle ou environnementale aux pesticides.

Pour minimiser les biais, les caractéristiques cliniques et démographiques, l'exposition aux pesticides, la durée de l'exposition aux pesticides, et l'accès aux soins sont identiques pour tous les groupes étudiés.

Les patients et les témoins ont été choisis sur la base de critères d'admissibilité à partir d'un groupe de 264 sujets (172 patients et 92 témoins). 124 participants ont été exclus, 72 patients (19 exposés aux pesticides et 53 non exposés aux pesticides) ont été éliminés parce qu'ils ne répondaient pas aux critères d'admissibilité. Sur les 45 participants dans le groupe de contrôles exposés aux pesticides, 21 ont été exclus en raison de l'inéligibilité et 4 ont été éliminés parce qu'ils ont refusé de participer. Sur les 47 témoins non exposés, 20 sujets ont été choisis au hasard parmi ceux qui remplissaient les critères d'admissibilité et ont accepté de participer à cette étude.

La présentation clinique et les caractéristiques des patients ont été enregistrées au moment du recrutement. L'examen histologique et l'analyse immunohistochimique ont été complétés

Chapitre 2. Article. Relationship between NADPH and Th1/Th2 ratio in patients with non-Hodgkin lymphoma who have been exposed to pesticides

par un examen clinique obligatoire complet et approfondi couplé à des évaluations biologiques.

Le principal critère d'inclusion était patients atteints de LNH agressif exposé ou non aux pesticides. Les critères d'exclusion ont été principalement LNH associés à un autre type de cancer, des antécédents familiaux de cancer, un lymphome indolent, une sérologie positive pour le VIH et l'hépatite C et une auto-immunité.

Tous les patients ont signé un consentement éclairé (annexe 2). Ce travail a été approuvé par notre comité d'éthique institutionnel local (CSF-SBA).

2.1.2. Prélèvements sanguins :

Les échantillons de sang ont été prélevés au niveau de la veine du pli du coude et recueillis dans des tubes à EDTA et héparine ou tubes secs.

Le dosage du NADPH a été réalisé sur le sérum.

Les dosages relatifs au stress oxydatif ont été effectués sur plasma pour la capacité anti-oxydante totale (ORAC, oxygen radical absorbance capacity).

La peroxydation des lipides (malondialdéhyde), les enzymes anti-oxydantes (superoxyde dismutase, glutathion peroxydase et catalase) sur tubes à EDTA, les enzymes oxydatives (xanthine oxydase) et l'oxydation des protéines (protéine carbonylée) sur tubes héparinés.

Les niveaux de cytokines ont été déterminés sur le sérum.

Le ratio neutrophiles/lymphocytes à partir du sang total.

Le Lactate déshydrogénase (LDH) et la phosphatase alcaline (ALP) ont été recueillies dans le dossier médical de chaque patient.

2.1.3. Méthodes

2.1.3.1. Dosage du nicotinamide adénine dinucléotide phosphate hydrogène

Les niveaux de NADPH sériques ont été mesurées par spectrophotométrie à 450 nm par dosage immuno-enzymatique ELISA, en utilisant un kit commercial (PNDA / NADPH Kit de quantification, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)

Le nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADP) est un cofacteur enzymatique impliqué dans de nombreuses réactions d'oxydoréduction où il jongle entre sa forme réduite le NADPH et sa forme oxydée le NADP. Le NADP est également impliquée dans des

Chapitre 2. Article. Relationship between NADPH and Th1/Th2 ratio in patients with non-Hodgkin lymphoma who have been exposed to pesticides

réactions biosynthétiques telles que la synthèse des lipides et d'acide nucléique où il fonctionne comme un agent réducteur. La branche oxydative de la voie des pentose-phosphates (PPP) est la principale source de NADPH produit dans des cellules animales.

NADP est décomposé pour détecter NADPH seulement selon les instructions du fabricant. Les échantillons ont été déprotéinisés avant utilisation à l'aide d'un filtre de 10KDa. Toutes les mesures ont été effectuées en double. Une courbe d'étalonnage a été tracée et les résultats ont en été déduits.

2.1.3.2. Le rapport neutrophiles/lymphocytes (NLR)

Le rapport neutrophiles/lymphocytes (LNR) a été calculé à partir du comptage de neutrophiles et lymphocytes dans le sang total. Le dénombrement a été fait dans les 24 heures qui ont suivies l'arrivée à l'hôpital par automate de type Beckman Coulter.

2.1.3.3. Dosages de l'IL-4 et l'IFN-gamma et le ratio Th1/Th2

Les niveaux d'IL-4 et IFN-gamma dans le sérum ont été mesurés par kit Quantikine ELISA sandwich humain selon les instructions du fabricant (R & D Systems GmbH, Wiesbaden-Nordenstadt, Allemagne). Les limites de détection (LOD) étaient de 8 pg/mL pour l'IFN-gamma et 10 pg/mL pour le ratio IL-4.

Ce test utilise la technique de dosage immunologique enzymatique en sandwich quantitatif. Un anticorps polyclonal spécifique de l'interleukine a été pré-revêtu sur une microplaque. Les étalons et les échantillons sont déposés avec une pipette dans les puits, toutes les molécules d'IFN-gamma ou d'IL-4 présentes sont alors immobilisées par liaison avec les anticorps spécifiques. Après lavage de toutes les substances non liées, un anticorps polyclonal-enzymatique spécifique à la molécule est ajouté dans les puits. Après un lavage pour éliminer tout complexe anticorps-enzyme non lié, une solution de substrat est ajoutée dans les puits et une couleur se développe proportionnellement à la quantité d'IFN- γ ou IL-4 lié à l'étape initiale. Le développement de la couleur est stoppé et l'intensité de la couleur mesuré.

Le ratio Th1/Th2 a été estimé à partir du rapport IFN-gamma/IL-4.

2.1.3.4. Dosage de l'albumine (Alb)

Les niveaux de l'albumine sérique ont été déterminés par électrophorèse des protéines Sebia sur Hydragel K20 (Sebia, France).

Chapitre 2. Article. Relationship between NADPH and Th1/Th2 ratio in patients with non-Hodgkin lymphoma who have been exposed to pesticides

L'électrophorèse des protéines sérique est une analyse très utile en laboratoire d'analyses cliniques pour rechercher les modifications du profil protéique. Des techniques d'électrophorèse de zone ont été développées sur différents supports, chacun donnant un fractionnement des protéines sériques en fonction de leur charge, dans un tampon de pH donné. L'agarose, d'utilisation très facile, a été choisi comme support. Il donne une séparation des constituants sériques humains en six fractions majeures de mobilités différentes : albumine, alpha-1 globulines, alpha-2 globulines, bêta-1 globulines, bêta-2 globulines et gamma globulines.

2.1.3.5. Dosage de la glutathion peroxydase (GSH-Px)

La glutathion peroxydase a un rôle essentiel dans la détoxification de peroxyde dans les cellules vivantes et donc protection des cellules contre les dommages causés par les radicaux libres.

L'activité de la glutathion peroxydase (GSH-Px) a été mise en évidence selon la méthode de Paglia et Valentine, qui repose sur la mesure spectrophotométrique à 340 nm de l'oxydation du glutathion par l'hydroperoxyde de cumène qui est utilisé comme substrat de peroxyde (ROOH), GR et NADPH sont également inclus dans le mélange réactionnel.

La formation de GSSG (glutathion oxydé) catalysée par la GPx est couplé au recyclage de GSSG en GSH par GR avec oxydation simultanée de NADPH en NADP +.

L'oxydation de NADPH en NADP + est suivie par spectrophotométrie, une diminution de l'absorbance à 340 nm est directement proportionnelle à l'activité de la GPx dans l'échantillon.

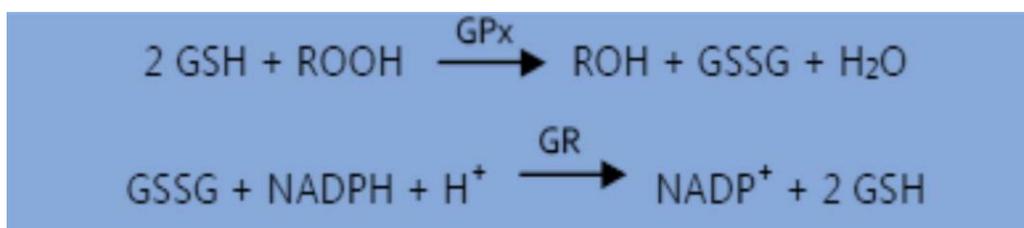


Figure 2.1. Principe de la réaction de la glutathion peroxydase

Chapitre 2. Article. Relationship between NADPH and Th1/Th2 ratio in patients with non-Hodgkin lymphoma who have been exposed to pesticides

2.1.3.6. Dosage de la superoxyde dismutase (SOD)

La superoxyde dismutase (SOD) catalyse la dismutation du superoxyde en oxygène et en peroxyde d'hydrogène, par conséquent, fournit une protection contre les superoxydes qui font parties des radicaux libres les plus courants dans le corps. Le dosage de la superoxyde dismutase (SOD) a été réalisée par un kit commercial Randox Laboratories Ltd. (Crumlin, Royaume-Uni).

Lorsque SOD se trouve dans l'échantillon, elle inhibe la production du colorant formazan par la conversion du radical superoxyde en oxygène. La couleur observée est le résultat de l'interaction entre les sels de p-iodonitrotétrazolium (2- (4-iodo-phényl) -3 (4-notrophenol) de chlorure -5-phényltétrazolium) (INT) et la xanthine, et la xanthine oxydase qui va générer des radicaux superoxydes. L'activité de la SOD a ensuite été déterminée par spectrophotométrie à 505 nm.

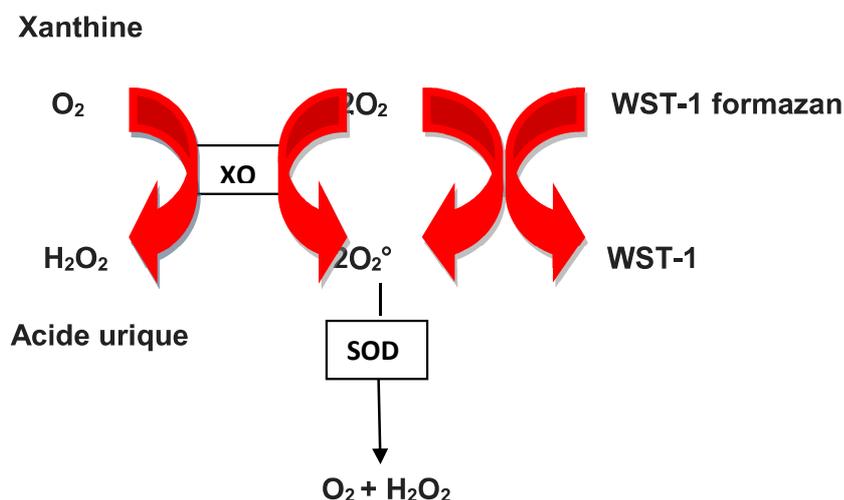


Figure 2.2. Réaction de la superoxyde dismutase

2.1.3.7. Test de la catalase (CAT)

La catalase est une enzyme impliquée dans la détoxification du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂).

Elle catalyse la conversion de deux molécules de H₂O₂ en oxygène moléculaire et deux molécules d'eau suivant la réaction:



Chapitre 2. Article. Relationship between NADPH and Th1/Th2 ratio in patients with non-Hodgkin lymphoma who have been exposed to pesticides

La disparition du peroxyde d'hydrogène peut être mesurée par spectrophotométrie à 240nm selon la méthode d'Aebi, (1974) (25).

En présence de la catalase la décomposition du peroxyde d'hydrogène conduit à une diminution de l'absorption de la solution de H₂O₂ en fonction du temps.

2.1.3.8. Détermination de la capacité anti-oxydante totale (ORAC)

La capacité anti-oxydante totale (ORAC) a été mesurée dans le plasma selon le test KRL (Spiral / Kirial, Dijon, France) qui permet l'évaluation de la résistance globale du sang soumis à une attaque radicalaire.

Ce test biologique permet une mesure dynamique du potentiel global de défense antiradicalaire d'un individu et la détermination in vitro, de la capacité "antioxydante" ou l'action "prooxydante" de différents composés. Ainsi, en ajoutant au milieu un composé à action antiradicalaire nous augmentons le potentiel global de défense contre l'agression radicalaire d'un sang témoin. Au contraire en ajoutant un composé à action proradicalaire nous diminuons la capacité antiradicalaire globale du sang témoin.

La résistance globale du sang témoin à l'attaque radicalaire en présence ou non du produit est exprimée par le temps au bout duquel 50 % des cellules sanguines sont lysées (T_{1/2} en minutes). L'efficacité antiradicalaire des produits est alors exprimée en pourcentage du potentiel global de défense antiradicalaire du sang témoin (%T_{1/2} du sang témoin).

Les résultats sont standardisés en équivalents Trolox (analogue hydrosoluble de la vitamine E) et/ou en équivalents Acide gallique (acide phénolique).

2.1.3.9. Dosage du Malondialdéhyde (MDA)

L'analyse de la peroxydation lipidique a été basée sur la détermination des teneurs en malondialdéhyde (MDA) en utilisant le test thiobarbiturique. Les composés carbonylés comme le MDA réagissent avec l'acide thiobarbiturique (TBA) pour donner des chromophores de couleur rose absorbant à 535 nm.

En premier lieu, pipeter dans les tubes à essai en verre et à vis, 100µl d'échantillon, 400µl de réactif TBA (0.375 % P/V) et fermer hermétiquement.

Chauffer le mélange au bain marie à 100°C pendant 15 minutes. Puis refroidir dans un bain d'eau froide pendant 30 minutes en laissant les tubes ouverts pour permettre l'évacuation des gaz formés lors de la réaction.

Chapitre 2. Article. Relationship between NADPH and Th1/Th2 ratio in patients with non-Hodgkin lymphoma who have been exposed to pesticides

Puis centrifuger à 3000 tours/minutes pendant 5 minutes et lire l'absorbance du surnageant à 535nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

2.1.3.10. Dosage des protéines carbonylées (PC)

Le marqueur le plus couramment utilisé de l'oxydation des protéines est la teneur en protéines carbonylés.

La méthode immuno-enzymatique (ELISA) a été utilisée pour mesurer les concentrations de protéine carbonylé (PC), sur la base de la détection de la 2,4-dinitrophénylhydrazine (DNP) par l'anticorps spécifique (Biocell carbonyle protéine kit ELISA, ALX - 850- 312-KI01, AXXORA Deutschland GmbH, Allemagne).

Les échantillons de protéines réagissent avec le DNP puis sont adsorbées de manière non spécifique sur une plaque ELISA. Le DNP libre et les constituants non-protéiques sont facilement emportés, avec donc un minimum d'interférences.

La protéine adsorbée va alors réagir avec un anticorps biotinylé anti-DNP suivi par la streptavidine biotine-peroxydase.

Les valeurs enregistrées sont liées à une courbe d'étalonnage préparée à partir d'albumine de sérum contenant des proportions croissantes de protéine oxydée HOCl et les résultats en sont déduits.

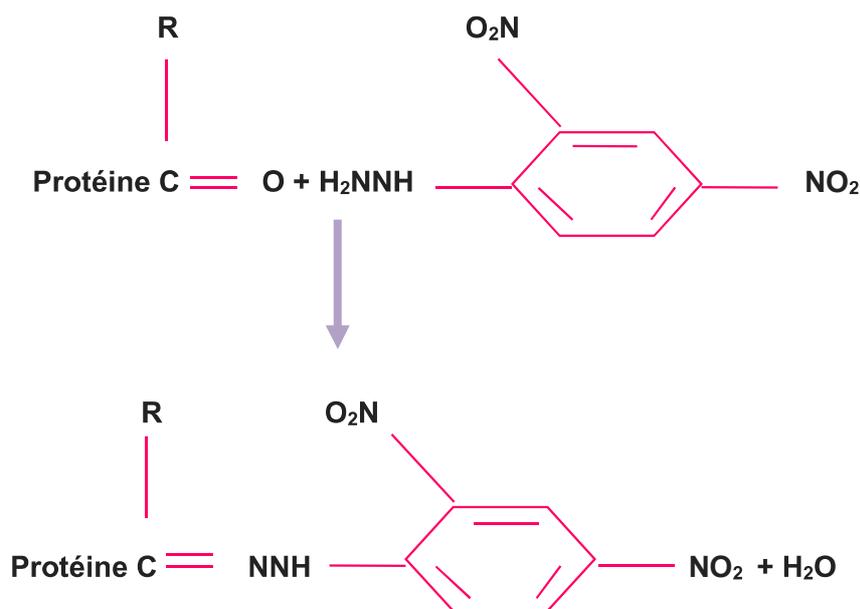


Figure 2.3. Biochimie du dosage des protéines carbonylées

2.1.3.11. Dosage de la xanthine oxydase (XO)

L'oxydation enzymatique a été représentée par la mesure de la xanthine oxydase (XO).

Elle a été déterminé par le taux de formation d'acide urique de xanthine à 293 nm selon la méthode de Hashimoto, qui est basé sur l'ajout de potassium 2,4-dihydroxy-6-carboxy-1,3,5-triazine (oxonate de potassium) dans le système de réaction de la XO brut afin d'obtenir le même acide urique à mesuré.

2.1.3.12. Dosage de la phosphatase alcaline (PAL)

Les dosages de la PAL ont été réalisé sur plasma par mesures spectrophotométrique de l'hydrolyse du 4-nitrophenylphosphate à 405nm sur auto-analyseur Siemens dimension RXL Max.

Les normes sont situées entre 38 et 49 g/l.

2.1.3.13. Dosage du lactate déshydrogénase (LDH)

Les niveaux de LDH ont été déterminés sur plasma par le dosage de l'activité enzymatique par spectrophotométrie en mesurant la disparition du NADH à 340 nm sur auto-analyseur Siemens dimension XPAND plus.

Les normes se situent entre 240 et 280 IU/l.

2.1.4. Les analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées par le test t de Student à sens unique ou par l'analyse bilatérale de la variance (ANOVA) selon les cas.

Un test du chi-carré non paramétrique a été utilisé pour comparer les fréquences entre les sexes.

L'analyse de la corrélation bidimensionnelle a été réalisée en utilisant les coefficients de corrélation de Spearman ou de Pearson.

L'analyse de l'association a été évaluée par odds ratio (OR) et l'intervalle de confiance était de 95 % (IC à 95 %), en utilisant le 90^{ème} percentile pour le groupe des contrôles non exposées aux pesticides comme les niveaux de coupure.

Une estimation globale de OR commun et son intervalle de confiance a été obtenue par la méthode de Mantel-Haenszel.

Chapitre 2. Article. Relationship between NADPH and Th1/Th2 ratio in patients with non-Hodgkin lymphoma who have been exposed to pesticides

Les analyses statistiques ont été réalisées avec la version du logiciel SPSS 16.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Les valeurs de $P < 0,05$ ont été considérées comme statistiquement significatives.

2.2. Résultats

2.2.1. Caractéristiques des patients et témoins

Elles sont représentées dans le tableau suivant.

Tableau 2.1. Caractéristiques des patients et témoins

Variables	Contrôles n=40		Patients n=100		P ^b
	Contrôles exposés n=20	Contrôles non exposés n=20	Patients exposés n=32	Patients non exposés n=68	
Age (ans)	52.12±2.93	56.6±3.1	58.48±3.27	55.25±2.82	0.901
p ^a	0.911		0.492		
Sexe (M/F)	12/8	11/9	18/14	35/33	0.911
p ^a	0.749		0.817		
IMC (Kg/m²)	22.84±0.64	22.45±0.55	22.53±0.76	22.2±0.5	0.920
p ^a	0.647		0.713		
LDH (U/L)	208.73±57.29	194.42±59.74	498.72±75.77	489.24±84.61	0.049
p ^a	0.685		0.944		
PAL (U/100mL)	87.25±13.41	83.57±14.13	136.54±16.54	132.71±10.47	0.021
p ^a	0.850		0.841		
NLR	1.82±0.09	1.76±0.06	2.34±0.03	2.16±0.06	0.000
p ^a	0.582		0.000		
Type de LNH					
LNH type B	-	-	84.38	86.76	-
p ^a			0.748		
LNH type T	-	-	15.63	13.24	-
p ^a			0.748		
Stade de LNH					
Stade I (%)	-	-	40.63	42.65	-
p ^a			0.848		
Stade II (%)	-	-	21.88	20.59	-
p ^a			0.883		
Stade III (%)	-	-	25	22.06	-
p ^a			0.744		
Stade IV (%)	-	-	12.5	14.71	-
p ^a			0.767		

$P < 0,05$ a été considérée comme statistiquement significative. Les données sont présentées sous forme de moyenne (X) ± erreur standard (ES). Test t de Student ; p^a: contrôles exposés vs contrôles non exposés ou patients exposés vs patients non exposés, p^b: comparaison entre les quatre groupes. PAL: phosphatases alcalines, LDH: lactate déshydrogénase, NLR : rapport neutrophiles/lymphocytes. LNH: lymphome non hodgkinien. IMC : indice de masse corporelle, M : masculin, F : féminin.

Chapitre 2. Article. Relationship between NADPH and Th1/Th2 ratio in patients with non-Hodgkin lymphoma who have been exposed to pesticides

Comme indiqué dans le tableau précédent, aucune différence significative n'a été notée concernant l'âge, l'IMC et le sexe entre les deux groupes de patients et entre les patients et les contrôles (pour toutes les comparaisons, $p > 0,05$).

Les niveaux de LDH et de la PAL ont augmenté significativement chez les patients exposés aux pesticides et les patients non exposés aux pesticides par rapport aux témoins (pour les deux comparaisons $p < 0,05$). Entre les deux groupes de patients (PE et PNE) aucune différence significative n'a été notée (respectivement $p = 0,944$ et $p = 0,841$) (figures 2.4 et 2.5).

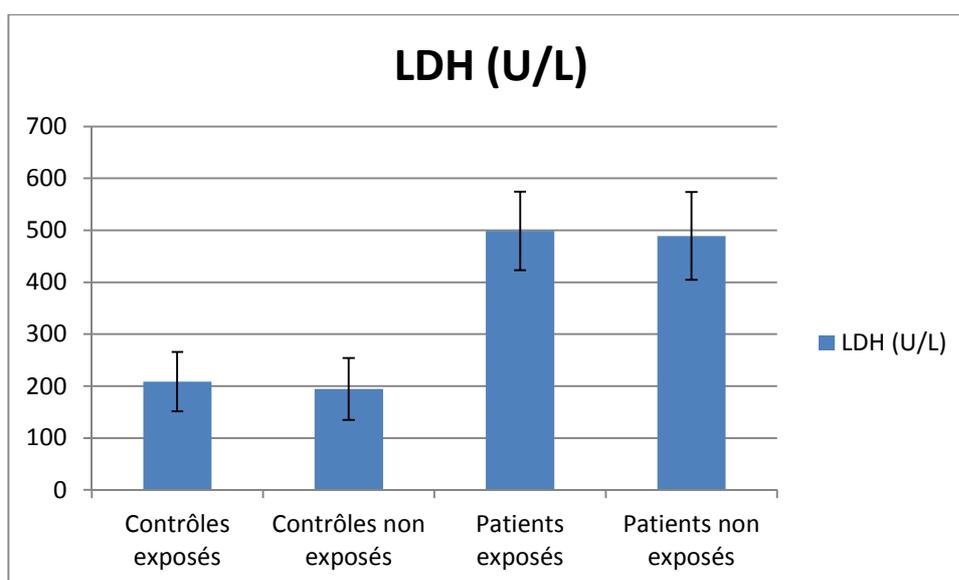


Figure 2.4. Niveaux du LDH chez les témoins et les patients

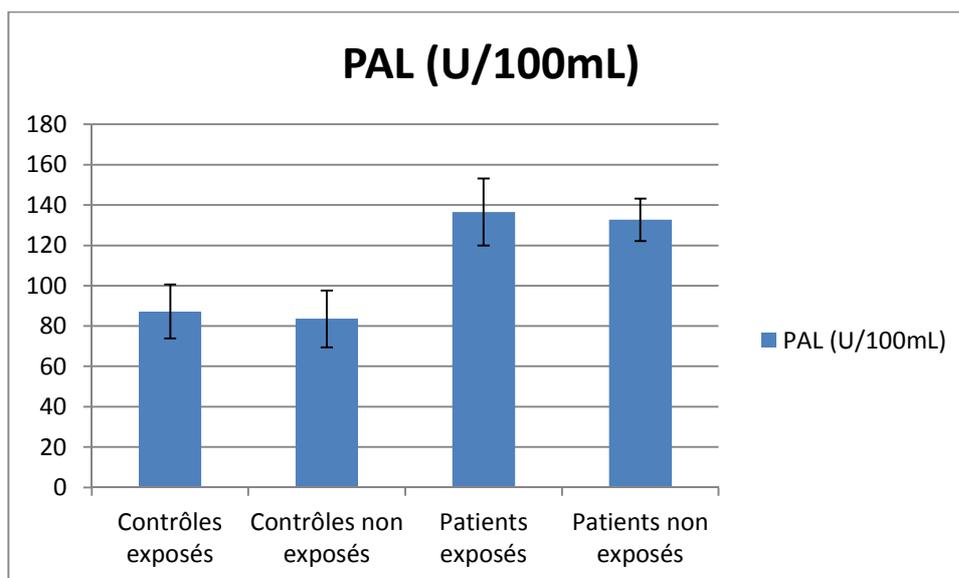


Figure 2.5. Niveaux de la PAL chez les témoins et les patients

En outre, les niveaux NLR étaient significativement augmentées chez les patients en comparaison avec les témoins et chez les PE par rapport aux PNE et les contrôles (pour toutes les comparaisons, $p < 0,01$) (figure 26).

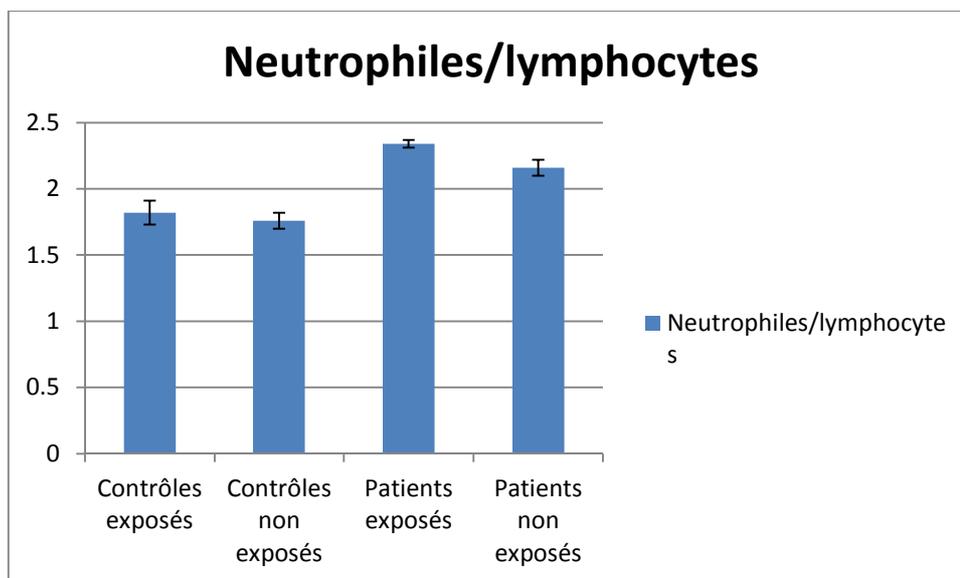


Figure 2.6. Niveaux du ratio neutrophiles/lymphocytes chez les témoins et les patients

Concernant les types et stades de LNH aucune différence significative n'a été notée ($p > 0,05$). Nos résultats montrent néanmoins que le type B est plus fréquent chez les deux groupes, par rapport au lymphome T.

Concernant les stades de LNH le stade I est prédominant chez les deux échantillons.

Les niveaux de NADPH sont présentés dans la figure 2.7 ci-après.

Nos résultats montrent des niveaux de NADPH sérique significativement élevés chez les patients par rapport aux témoins et chez les PE en comparaison avec les taux retrouvés chez les PNE et les contrôles (ANOVA; $p = 0,000$).

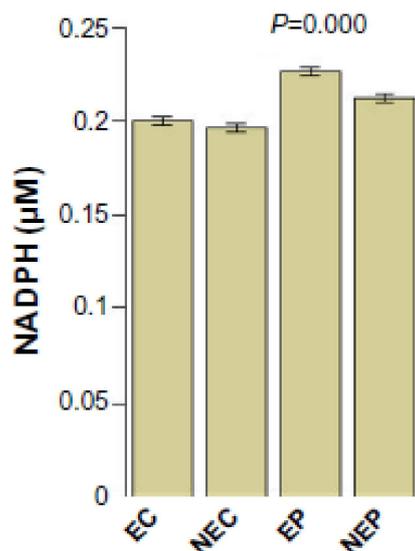


Figure 2.7. Niveaux de NADPH chez les témoins et les patients

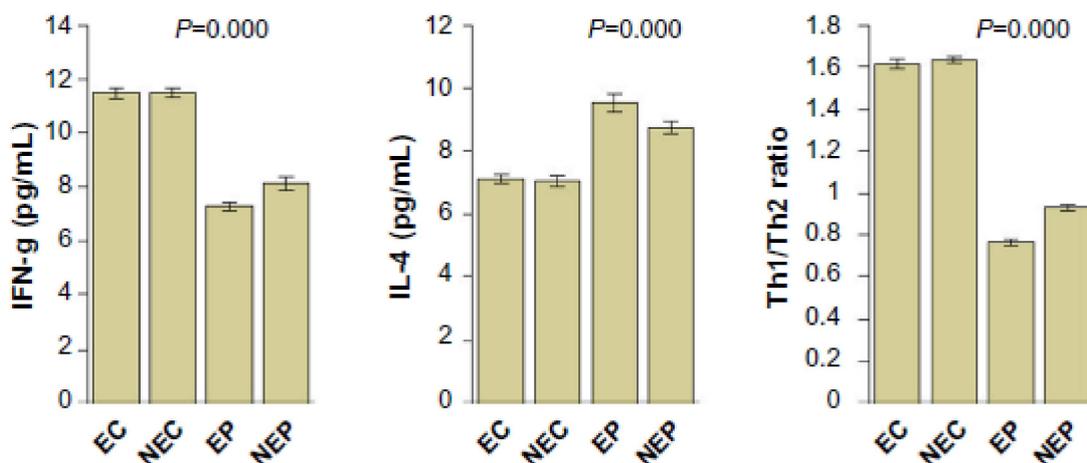


Figure 2.8. Taux de l'IFN-g, de l'IL-4 et le ratio Th1/Th2 chez les patients (PE et PNE) et les témoins

La figure 2.8 représente les taux d'IFN- γ , d'IL-4 et le rapport Th1/Th2 chez notre population.

Le taux d'IFN- γ et le rapport *Th1/Th2* ont été significativement bas chez les patients par rapport aux témoins; alors que les niveaux d'IL-4 étaient significativement élevés (pour toutes les comparaisons, ANOVA; $p = 0,000$).

Les taux de l'albumine, de la GSH-Px, de la SOD, de la CAT et les niveaux de l'ORAC ont été significativement bas chez les patients par rapport aux témoins. Les niveaux de l'ORAC

Chapitre 2. Article. Relationship between NADPH and Th1/Th2 ratio in patients with non-Hodgkin lymphoma who have been exposed to pesticides

étaient significativement diminués chez les PE par rapport aux niveaux retrouvés chez les PNE ($p = 0,039$) (figures 2.9, 2.10, 2.11, 2.12, 2.13).

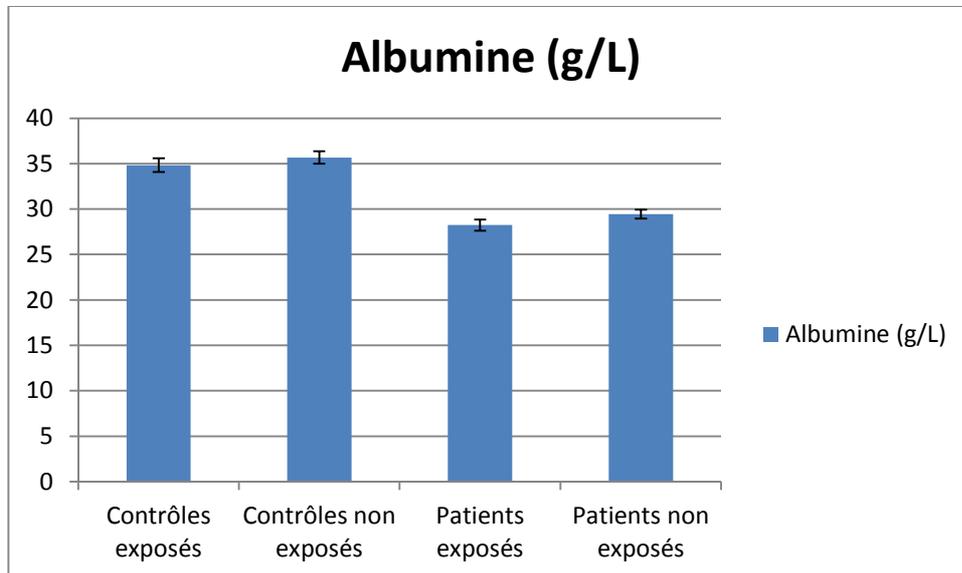


Figure 2.9. Niveaux de l'albumine chez les témoins et les patients

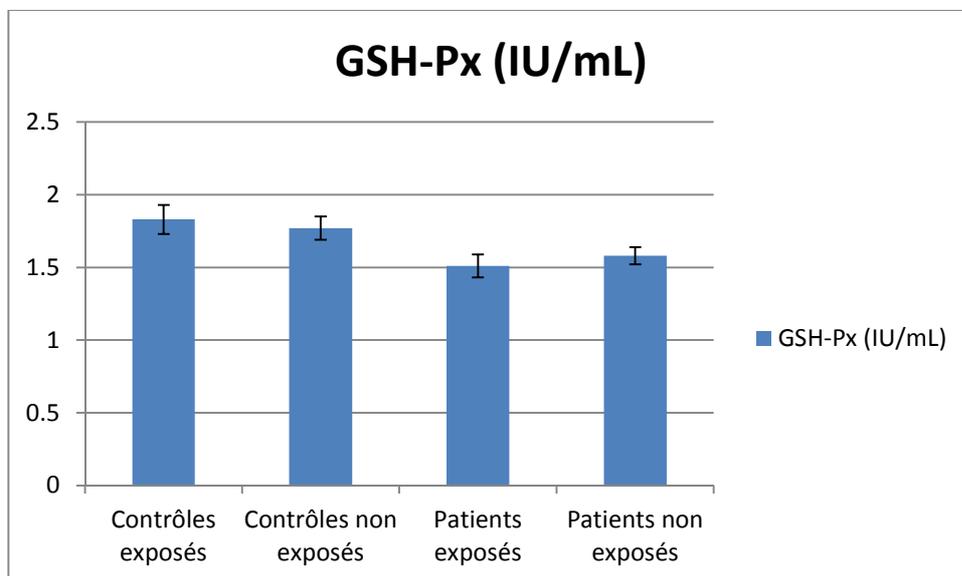


Figure 2.10. Niveaux de la glutathion peroxydase chez les témoins et les patients

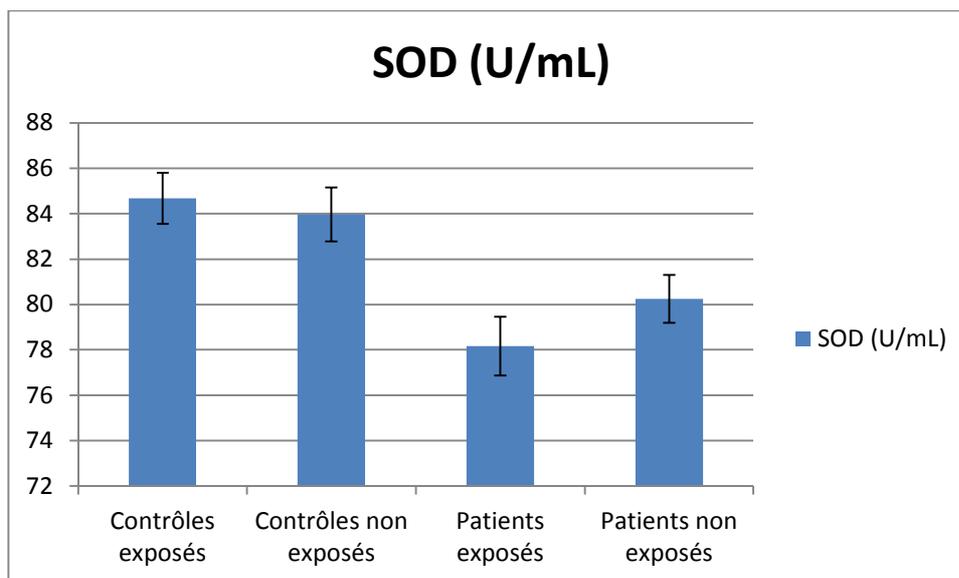


Figure 2.11. Niveaux de la superoxyde dismutase chez les témoins et les patients

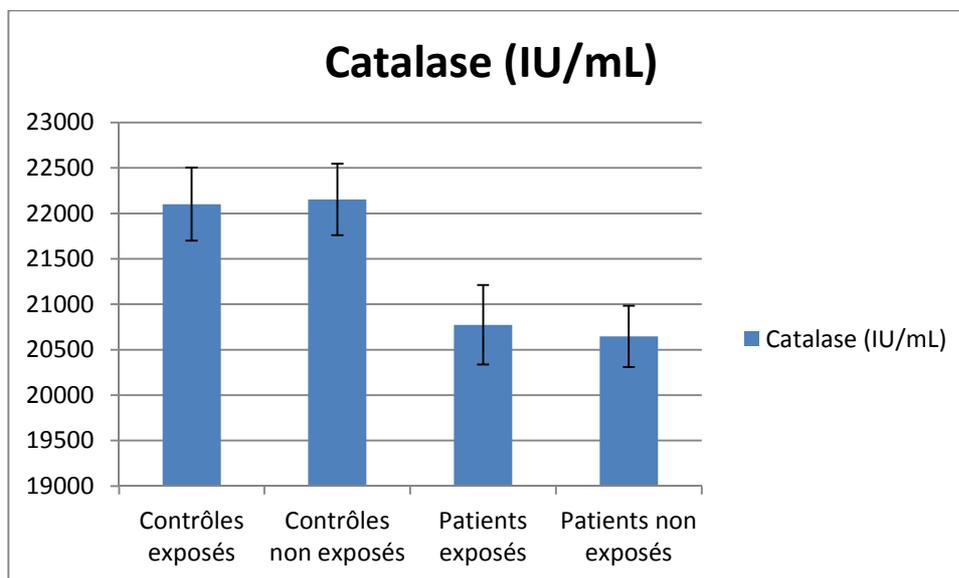


Figure 2.12. Niveaux de la catalase chez les témoins et les patients

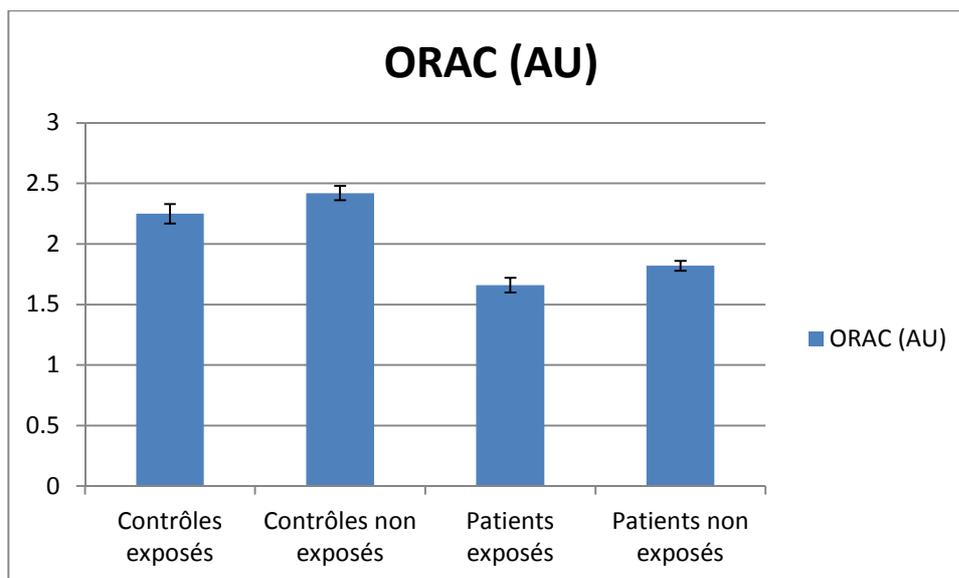


Figure 2.13. Niveaux de l'ORAC chez les témoins et les patients

Cependant, les niveaux de MDA ont été significativement élevés chez les patients exposés aux pesticides par rapport aux témoins et aux patients non exposés aux pesticides (figure 2.14).

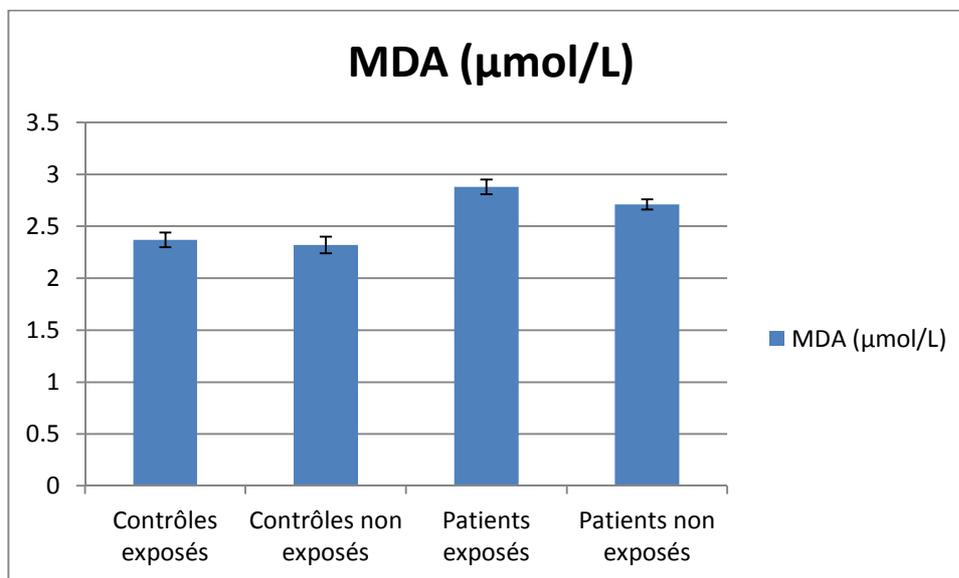


Figure 2.14. Niveaux du malondialdéhyde chez les témoins et les patients

Chapitre 2. Article. Relationship between NADPH and Th1/Th2 ratio in patients with non-Hodgkin lymphoma who have been exposed to pesticides

Les taux de PC et de XO ont été significativement augmentés chez les patients en comparaison avec les témoins ; alors qu'aucune différence significative n'a été notée entre les deux groupes de patients et entre les PNE et les contrôles (pour toutes les comparaisons, $p > 0,05$) (figures 2.15 et 2.16).

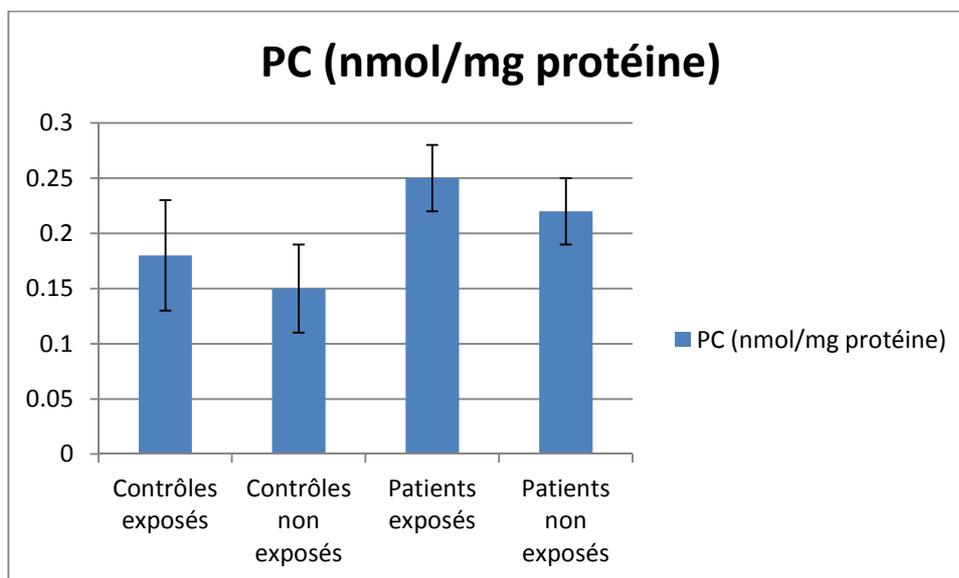


Figure 2.15. Niveaux des protéines carbonylées chez les témoins et les patients

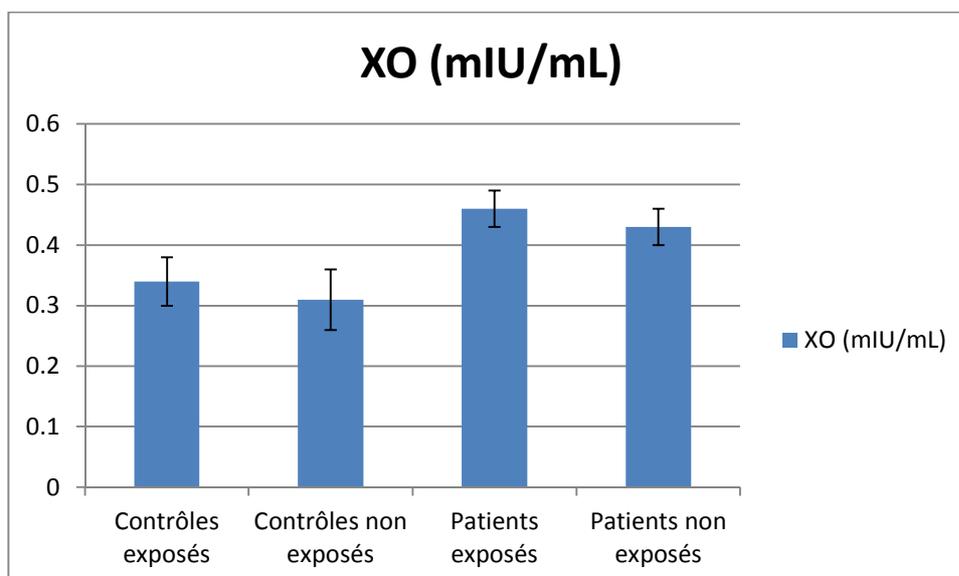


Figure 2.16. Niveaux de la xanthine oxydase chez les témoins et les patients

Chapitre 2. Article. Relationship between NADPH and Th1/Th2 ratio in patients with non-Hodgkin lymphoma who have been exposed to pesticides

Nos résultats sont résumés dans le tableau suivant.

Tableau 2.2. Bio-marqueurs du stress oxydatif chez les patients atteints de LNH et les témoins.

Variables	Contrôles n=40		Patients n=100		P ^b
	Contrôles exposés n=20	Contrôles non exposés n=20	Patients exposés n=32	Patients non exposés n=68	
Albumine (g/L)	34.85±0.75	35.69±0.68	28.22±0.61	29.43±0.5	0.000
p ^a	0.412		0.153		
GSH-Px (IU/mL)	1.83±0.1	1.77±0.08	1.51±0.08	1.58±0.06	0.038
p ^a	0.644		0.516		
SOD (U/mL)	84.68±1.12	83.97±1.19	78.16±1.3	80.25±1.05	0.006
p ^a	0.666		0.242		
CAT (IU/mL)	22101.29±402.27	22153.66±392.95	20774.32±438.71	20645.94±336.22	0.023
p ^a	0.926		0.543		
ORAC (AU)	2.25±0.08	2.42±0.06	1.66±0.06	1.82±0.04	0.000
p ^a	0.099		0.039		
MDA (µmol/L)	2.37±0.07	2.32±0.08	2.88±0.07	2.71±0.05	0.000
p ^a	0.641		0.047		
PC (nmol/mg protéine)	0.18±0.05	0.15±0.04	0.25±0.03	0.22±0.02	0.189
p ^a	0.640		0.395		
XO (mIU/mL)	0.34±0.04	0.31±0.05	0.46±0.03	0.43±0.03	0.044
p ^a	0.638		0.476		

P < 0,05 a été considérée comme statistiquement significative. Les données sont présentées comme moyenne ± erreur standard. Test t de Student; p^a: contrôles exposés vs contrôles non exposés ou patients exposés vs patients non exposés, p^b: comparaison entre les quatre groupes. CAT: catalase, GSH-Px: glutathion peroxydase, MDA: malondialdéhyde, LNH: lymphome non hodgkinien, ORAC: capacité d'absorption des radicaux oxygénés, PC: protéines carbonylées, SOD: superoxyde dismutase, XO: xanthine oxydase.

Concernant la relation entre le NADPH et le LNH nous rapportons dans la figure 37 une forte association entre ce paramètre et la maladie, soit chez les patients exposés ou non exposés aux pesticides (respectivement OR = 6,63 [IC 95 %, 1,91 à 23; P = 0,002]; OR = 4,75 [IC 95 %, 1,27 -17,72; P = 0,014]; Mantel-Haenszel OR commun estimé = 5,55 [IC 95 %, 2,22 à 13,88; P = 0,000]).

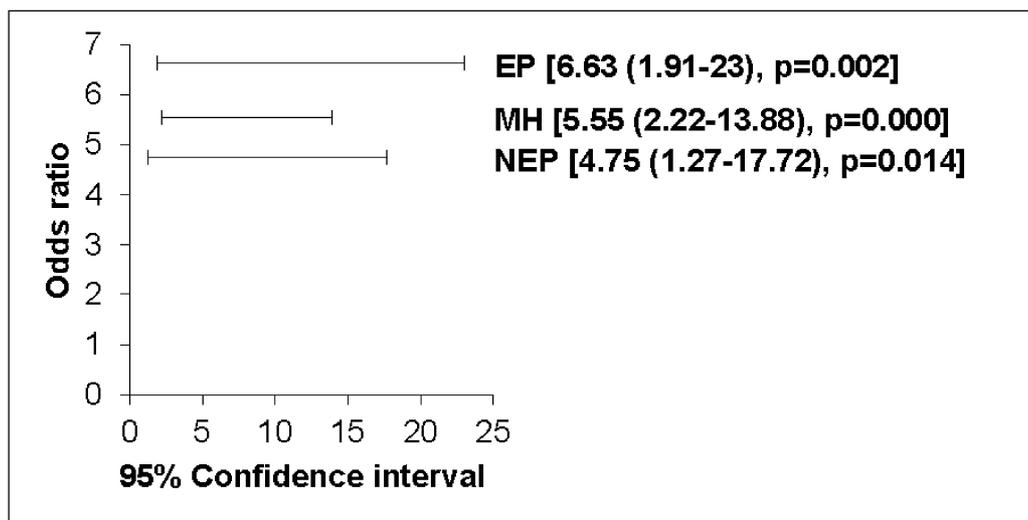


Figure 2.17. Relation entre le NADPH et le LNH

L'analyse de la relation entre le NADPH et le rapport Th1/Th2 est présentée dans la figure 2.18.

Comme le montre la Figure, une corrélation négative a été notée entre les niveaux de NADPH et le rapport Th1/Th2, que ce soit chez les patients qui ont été ou non exposés aux pesticides (respectivement $r = -0,498$, $p = 0,004$, $r = -0,327$, $p = 0,006$).

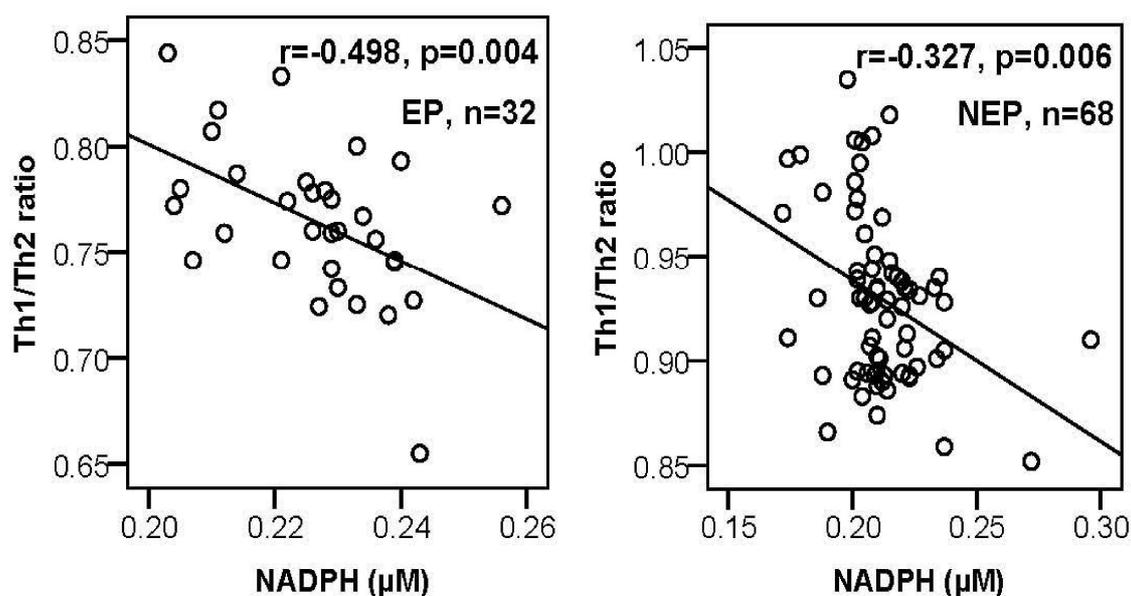


Figure 2.18. Relation entre le NADPH et le rapport Th1/Th2 chez les patients exposés et non exposés aux pesticides

Chapitre 2. Article. Relationship between NADPH and Th1/Th2 ratio in patients with non-Hodgkin lymphoma who have been exposed to pesticides

2.3. Discussion

Le but de cette étude est d'évaluer le niveau de NADPH et sa relation avec le ratio Th1/Th2 et de démontrer le rôle délétère des pesticides sur les taux de NADPH et les statuts oxydant-antioxydant et inflammatoire chez des patients atteints de lymphome non Hodgkinien.

Un tri selon les critères d'inclusion et d'exclusion a été fait chez tous les patients rencontrés au niveau des services d'hématologie des centres hospitalo-universitaires de Sidi Bel Abbes et de Tlemcen (Ouest algérien).

Cent patients (53 hommes, 47 femmes) divisés en deux groupes d'étude : patients exposés aux pesticides (18 hommes, 14 femmes) et patients non exposés aux pesticides (35 hommes, 33 femmes), ainsi que 40 sujets sains divisés également en deux groupes (20 sujets exposés aux pesticides et 20 autres non exposés aux pesticides) ont été retenus pour ce présent travail.

Le lymphome non Hodgkinien est défini comme étant un groupe hétérogène de tumeurs malignes qui touchent le système lymphoïde (Paiva *et al.*, 2008). Ses étiologies sont très variées on peut citer : des facteurs environnementaux tel que les pesticides.

Les pesticides constituent un groupe très hétérogène sur le plan chimique. Les quatre classes chimiques principales sont : les pesticides arsenicaux, les insecticides organochlorés, les insecticides organophosphorés et les herbicides acides phénoxyacétiques. Ils sont, par nature, toxiques. Ils regroupent les herbicides, les fongicides, les insecticides, les nématocides, les acaricides, les rodenticides, les molluscides et les algicides (Dich *et al.*, 1997).

Il est actuellement admis que l'apparition et/ou l'évolution d'un lymphome non Hodgkinien peut être due à une exposition aux pesticides, une association entre ce facteur et le LNH a été reporté par de nombreuses études (Boccolini *et al.*, 2013 ; Morrison *et al.*, 1992).

En effet, l'exposition professionnelle aux pesticides apparaît comme un facteur de risque de lymphomes malins non hodgkiniens, de nombreux travaux suggèrent également un lien entre exposition des parents aux pesticides et cancer de l'enfant (Penel et Vansteene, 2007), toutes les études cas-témoins concluent à une association positive.

De plus, une étude française réalisée en 2009 a démontré la relation à l'échelle moléculaire entre l'exposition professionnelle aux pesticides et l'acquisition d'une anomalie chromosomique connue pour provoquer le développement de la maladie, en effet, la translocation t (14; 18) constitue l'événement initiateur d'une cascade causal menant à un lymphome. Ces translocations sont retrouvées avec une prévalence accrue chez les

Chapitre 2. Article. Relationship between NADPH and Th1/Th2 ratio in patients with non-Hodgkin lymphoma who have been exposed to pesticides

agriculteurs exposés aux pesticides, en raison d'une expansion clonale dramatique des cellules B activées, les résultats de ces travaux fournissent une connexion moléculaire entre l'exposition aux pesticides agricoles, et la fréquence de la translocation t (14; 18) dans le sang, et la progression clonale de la pathologie (Agopian *et al.*, 2009).

Une étude récente datant de 2014 elle a évalué l'existence d'un lien entre l'exposition à des pesticides et un sous groupe de lymphome non-Hodgkinien : les lymphomes diffus à grandes cellules B (LDGCB) et a démontré que l'exposition aux herbicides pourrait avoir une influence sur les LDGCB (Aras *et al.*, 2014).

Nos résultats quant la relation entre l'exposition aux pesticides et le lymphome non-Hodgkinien concordent avec de nombreuses études réalisées entre 1989 et 2011, citées dans le tableau 2.3 ci après.

L'un des principaux indicateurs du processus cancéreux est l'augmentation des niveaux de la phosphatase alcaline (PAL). C'est une enzyme que l'on retrouve à des niveaux particulièrement élevés dans le sang lorsque les cellules osseuses sont très actives. Son augmentation est observée au cours des cancers solides métastatiques tel que le cancer colorectal (Saif *et al.*, 2005). Elle peut aussi servir comme un marqueur de pronostic pour les tumeurs malignes, compte tenu de son rôle dans l'élimination des groupes de phosphates à partir de nombreux types de molécules, y compris les nucléotides (Yu *et al.*, 2011 ; Choudhari *et al.*, 2013). Elle est considérée comme un critère d'évolutivité au cours du Lymphome non-Hodgkinien (Thyss, 2006). Nos résultats ont montré une augmentation significative de la PAL chez nos patients par rapport aux témoins et sont en accord avec ceux qui ont révélé cette même augmentation chez les patients atteints de LNH en particulier et de cancer en général (Tardivon *et al.*, 1997 ; Kittivorapart *et al.*, 2011).

En plus de la PAL, le ratio neutrophiles/lymphocytes en tant que marqueur de l'inflammation dont l'augmentation est associée à un processus cancéreux, peut être considéré comme un bon indicateur de pronostic et un marqueur de récurrence de la tumeur. En effet, les neutrophiles sont responsables de l'inflammation en cours et les lymphocytes représentent la voie réglementaire et intègrent les informations par les deux voies immunitaires. Ce rapport est utilisé chez les patients cancéreux pour comparer la réponse inflammatoire produite par la tumeur par l'évaluation du nombre de neutrophiles et l'immunité de l'hôte par dénombrement des lymphocytes (Alkhouri *et al.*, 2012). Il est évident que son augmentation au cours du LNH est établie ce qui concorde avec les résultats de notre étude et ceux de plus de 15 études qui ont démontré cette augmentation chez des patients avec un LNH plus agressif et plus avancé (Ubukata *et al.*, 2010 ; Guthrie *et al.*, 2013 ; Proctor *et al.*, 2012 ;

Chapitre 2. Article. Relationship between NADPH and Th1/Th2 ratio in patients with non-Hodgkin lymphoma who have been exposed to pesticides

Porrata *et al.*, 2010). Néanmoins à notre connaissance, nous avons démontré pour la première fois cette augmentation chez des patients avec un LNH exposés aux pesticides.

Tableau 2.3. Études cas-témoins analysant le lien entre pesticides et lymphomes malins non hodgkiniens

Étude	Expositions ou activités	Odd ratio [IC-95 %]
Persson, et al. 1989 [31]	Acides phénoxyacétiques	4,9 [1,3-18]
Hardell, et al. 1994 [32]	Acides phénoxyacétiques	5,5 [2,7-11]
Hardell, et al. 1994 [32]	Chlorophénols	4,8 [2,7-8,8]
Amadori, et al. 1995 [33]	Élevage	2,2 [1,2-4,3]
Garabedian, et al. 1999 [34]	Chlorophénoles	1,5 [0,9-2,6]
Zheng, et al. 2001 [35]	Carbamates	1,5 [1,1-2,0]
Fabbro-Peray, et al. 2001 [36]	Agriculture	1,5 [1,0-1,6]
Mao, et al. 2000 [37]	Pesticides	1,3 [1,0-1,6]
De Roos, et al. 2003 [38]	Triazine et alachlore	2,1 [1,1-3,9]
De Roos, et al. 2003 [38]	Triazine et insecticides (diazinon)	3,9 [1,7-8,8]
Kato, et al. 2004 [39]	Pesticides	2,7 [1,4-5,4]
Boffetta et de Vocht, 2007	Elevage	5,81 [2,01-16,8]
Jones et coll., 2009	Pesticides	1,98 [1,45-2,65]
Chiu, et al. 2009	Pesticides	1,4 [0,9-2,3]
Hohenadel, et al. 2011	Pesticides	1,30 [0,90-1,88]
Yildirim <i>et al.</i> , 2013	Pesticides	ND
Boccolini <i>et al.</i> , 2013	Pesticides	ND
Alavanja <i>et al.</i> , 2014	Pesticides	1,2 [1-1,5]

ND : Non défini

Chapitre 2. Article. Relationship between NADPH and Th1/Th2 ratio in patients with non-Hodgkin lymphoma who have been exposed to pesticides

Le lien entre cancer et altération du métabolisme a déjà été suggérée comme une caractéristique commune des tissus cancéreux, tels que l'effet Warburg (Warburg, 1956).

Le NADPH est une molécule clé produite à la suite de l'altération du métabolisme au cours du cancer. Cette molécule est utilisée dans les mécanismes de protection contre le stress oxydatif et les ERO qui sont produites au cours de la prolifération cellulaire rapide. Cependant, à notre connaissance, il n'y a pas eu d'études qui correspondent au NADPH associé au lymphome non-Hodgkinien.

Les résultats de notre étude ont révélé une forte association entre le NADPH et le LNH, que se soit chez nos deux groupes de patients, cependant, cette association était plus significative chez les patients exposés par rapport à ceux non exposés aux pesticides.

Afin de maintenir une division cellulaire continue et rapide, les cellules cancéreuses utilisent une très grande quantité d'énergie requise pour la biosynthèse de macromolécules (nucléotides, protéines et lipides). L'énergie utilisée pour la division cellulaire, mais aussi pour le processus métastatique et le maintien du redox cellulaire appropriée, est fourni principalement par la glycolyse, ce qui entraîne la formation de nucléotides, de lactate et d'ATP (El Sayed *et al.*, 2013).

La persistance de la division cellulaire est permise par une variété de mécanismes moléculaires, y compris l'effet Warburg. Otto Warburg a rapporté que les cellules cancéreuses dépendent de la glycolyse pour produire de l'énergie, même avec la présence d'oxygène à des concentrations normales, conduisant à la production de niveaux élevés de lactate (Warburg, 1956). Contrairement aux cellules normales qui produisent de l'énergie à partir de la phosphorylation oxydative mitochondriale (Semenza *et al.*, 2001), sans production de lactate (Xu *et al.*, 2005).

L'effet Warburg conduit à la production de grandes quantités de lactate, ce qui contribue au phénomène d'acidose micro-environnementale. Cet effet est régulé par les voies : de la PI3K, du facteur de l'hypoxie indicible (HIF), de p53, de MYC, de la protéine kinase activée par l'AMP (AMPK) et de la kinase hépatique B1 (LKB1). En effet, la production d'ATP par la glycolyse est plus rapide que par la phosphorylation oxydative, les cellules cancéreuses adoptent des mécanismes pour absorber des quantités anormalement élevés de glucose pour répondre aux besoins accrus en énergie, biosynthèse et redox (Cairns *et al.*, 2011).

Le lactate déshydrogénase est produit dans les cellules cancéreuses par l'effet Warburg, et ce par l'amélioration de la glycolyse aérobie, il est en effet produit à partir de la conversion de pyruvate en lactate déshydrogénase (LDH) (Shim *et al.*, 1997 ; Colen *et al.*, 2011) et est extrudé à travers l'espace extracellulaire via le transporteur mono-carboxylate 1 (MCT1)

Chapitre 2. Article. Relationship between NADPH and Th1/Th2 ratio in patients with non-Hodgkin lymphoma who have been exposed to pesticides

dans les cellules endothéliales (Végran *et al.*, 2011 ; Garcia *et al.*, 1994) et les cellules cancéreuses aérobies où il peut être utilisé pour alimenter le cycle de Krebs en énergie (Shim *et al.*, 1997 ; Semenza, 2008).

Le lactate active les voies pro-inflammatoires (Shime *et al.*, 2008) et améliore l'angiogenèse, ce qui est essentiel pour la croissance des cellules cancéreuses et les métastases (Vérgan *et al.*, 2011). Des taux élevés de LDH circulant chez des patients cancéreux peuvent être dus à une augmentation du nombre de cellules anormales en réponse à plusieurs conditions telles que des lésions tissulaires, une nécrose, une hypoxie ou une hémolyse.

De plus, le niveau du LDH dans le sang est un facteur pronostic. En effet, plus les taux de LDH sont élevés plus le pronostic est mauvais et plus la maladie est étendue (Friedberg *et al.*, 2008 ; Manson et Porter, 2011). Dans notre étude, les taux circulants de LDH étaient significativement plus élevés chez les patients par rapport aux témoins, ce qui est cohérent avec les résultats récents (Koukourakis *et al.*, 2009 ; Abdelrazik *et al.*, 2008).

Au cours de la prolifération rapide les cellules cancéreuses affichent une augmentation des ERO (Aykin-Burns *et al.*, 2009) qui peuvent être utilisées de manière bénéfique dans de nombreux processus. Ainsi, un niveau utile d'ERO est maintenue dans la cellule au moyen d'un équilibre entre les systèmes de production de radicaux libres (XO) et les systèmes antioxydants (SOD, GSH-Px, CAT, PC, albumine) et ORAC.

La CAT réduit les peroxydes, la GSH-Px protège les cellules contre les radicaux libres et la SOD catalyse la conversion de deux anions superoxydes en une molécule de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) et d'oxygène (Trachootham *et al.*, 2008). Dans notre étude, nous avons observé un déséquilibre entre les oxydants et les antioxydants qui penché vers le côté oxydant chez les patients avec un LNH. Des études récentes ont montré une augmentation du stress oxydatif dans les hémopathies malignes (Pasanen *et al.*, 2012 ; Akinlolu *et al.*, 2012), néanmoins, on n'a peu de connaissance sur les biomarqueurs du stress oxydatif dans le LNH.

Lors d'un stress oxydatif, les ERO peuvent induire une production accrue de sous-produits de réactifs mutagènes, tels que le MDA. Nos résultats sont donc conformes aux observations signalés précédemment (Eissa et Esmael, 2008). En outre, il a été montré que la capacité anti-oxydante globale, telle que mesurée par l'ORAC, diminue chez les patients atteints d'hémopathies malignes, en particulier chez les patients atteints de LNH, qui corroborent nos résultats (Holtan *et al.*, 2012).

En outre, l'augmentation du MDA et la diminution de l'ORAC étaient significativement prononcée chez les patients exposés aux pesticides par rapport aux patients non exposés.

Chapitre 2. Article. Relationship between NADPH and Th1/Th2 ratio in patients with non-Hodgkin lymphoma who have been exposed to pesticides

En effet, il a été rapporté que le stress oxydatif peut être induit par des pesticides, soit par une surproduction de radicaux libres ou par une modification des mécanismes de défenses anti-oxydantes (Meccad et al., 2011).

Fait intéressant, des niveaux élevés d'ERO peuvent causer des dommages à des macromolécules, qui peuvent induire l'apoptose et la sénescence (Cairns et al., 2011). Pour cette raison, les cellules cancéreuses s'adaptent aux changements métaboliques qui peuvent influencer sur l'équilibre redox. Ainsi, contrairement aux cellules normales, les cellules cancéreuses produisent de grandes quantités de NADH, H⁺ qui est consommé au cours de la formation du LDH dans la réaction de glycolyse en faveur de l'effet Warburg, dans le but de gagner de l'énergie par oxydation pour former trois molécules d'ATP par chaque molécule de NADH, H⁺ (El Sayed et al., 2013).

Cependant, ces cellules sont capables de perdurer au-delà de l'effet Warburg à la suite d'une modification du métabolisme pour répondre aux besoins de construction des macromolécules et maintenir l'équilibre redox. Par conséquent, le NADPH peut être produit par les cellules cancéreuses pour agir comme un puissant antioxydant contre les ERO (Czernin et Phelps, 2002 ; Le et al., 2010). Cette coenzyme est produite en deux étapes distinctes dans la voie d'hexose-monophosphate (HM shunt) (Mayes et Bender, 2003).

Ces données sont conformes à nos constatations relatives à l'augmentation des niveaux de NADPH chez les patients par rapport aux témoins.

Dans notre étude, nous avons également observé que les niveaux de bio-marqueurs du stress oxydatif et du NADPH sont beaucoup plus élevés chez les patients exposés aux pesticides par rapport à ceux non exposés aux pesticides et par rapport aux sujets sains. Nous suggérons donc que les cellules cancéreuses peuvent prévenir leur endommagement par les ERO et la cytotoxicité causée par une prolifération rapide et un environnement toxique par la production d'énormes quantités de NADPH.

Concernant nos résultats quant à la diminution des taux de l'IFN- γ et l'augmentation de ceux de l'IL-4 en faveur d'une diminution du rapport *Th1/Th2*. Il a été rapporté que l'IFN- γ est importante pour le contrôle de la croissance tumorale et l'invasion et a été impliquée dans plusieurs cancers (Hayashi et al., 2011).

Aussi, il a été démontré précédemment que l'augmentation des taux d'IL-4 est impliquée dans le développement tumoral (Mellgren et al., 2012 ; Prokopchuk et al., 2005). En effet, l'IL-4 peut bloquer l'activation des cellules NK et réduire la formation d'antigène des cellules tumorales pour échapper à la cyto-immunité utilisée par l'hôte contre la croissance tumorale (Shi et Li, 2014).

Chapitre 2. Article. Relationship between NADPH and Th1/Th2 ratio in patients with non-Hodgkin lymphoma who have been exposed to pesticides

En outre, le déséquilibre du rapport Th1/Th2 pourrait jouer un rôle important dans l'étiologie du LNH et de ses principaux sous-types (Lan *et al.*, 2006). Bien que cette corrélation n'implique pas de causalité, la relation négative mise en évidence dans l'étude actuelle entre le NADPH et le rapport Th1/Th2 serait en faveur d'une augmentation des effets immunosuppresseurs de l'IL-4 sur les cellules de type Th1. La relation de cause à effet impliquant l'IL-4 et la voie des pentoses phosphates nécessaires pour générer le NADPH a déjà été démontrée dans les mécanismes de polarisation des macrophages (Haschemi *et al.*, 2012).

Aussi, il a été démontré précédemment que l'IL-4 médie la survie des lymphocytes B en augmentant le transport du glucose et la glycolyse dans ces cellules par la voie Stat6 dépendante de la régulation à la hausse de Bcl-xL (Dufort *et al.*, 2007).

De plus il s'est révélé que la poly (ADP-ribose) polymérase (PARP) 14 -membre du lymphome B agressif (LBA) famille de macro-domaine contenant PARP- est nécessaire pour réaliser la signalisation en faveur de la pro-survie par l'IL-4 dans les cellules B (Cho *et al.*, 2011).

En outre, l'IL-4 peut être importante dans la promotion de l'absorption du glucose et le métabolisme, qui peut être métabolisé par la voie des pentoses phosphates et est nécessaire pour promouvoir la prolifération des cellules T et la survie (Maciver *et al.*, 2008).

Enfin, la relation négative entre le NADPH et le rapport Th1/Th2 serait également en faveur des effets anti-tumoraux inférieurs de l'IFN- γ (Ikeda *et al.*, 2002). Par conséquent, il a été récemment rapporté que la production d'IFN-gamma par les cellules NK peut être directement liée à la cible mammalienne du complexe rapamycine 1 (mTORC1) et la glycolyse (Donnelly *et al.*, 2014).

Cependant, il a été démontré que l'acide lactique altère considérablement la production d'IFN- γ dans les lymphocytes T cytotoxiques humains et le nombre de cellules IFN- γ positif (Fischer *et al.*, 2007).

Toutes ces constatations sont en accord avec nos résultats et expliquent les taux retrouvés chez nos patients concernant le rapport Th1/Th2, ainsi que la relation retrouvée entre le NADPH et ce même rapport.

2.4. Conclusion

Nos résultats démontrent pour la première fois que l'exposition aux pesticides a été fortement associée à l'altération du NADPH au cours du LNH. L'examen de la relation entre le NADPH et le rapport Th1/Th2 devrait être au centre de nouvelles stratégies thérapeutiques pour prévenir l'apparition de la maladie. En outre, les stratégies de traitement devraient également tenir compte de l'exposition aux pesticides comme un facteur de risque important pour le développement de la maladie et adapter les soins et le suivi des patients.

CHAPITRE 3

Conclusions et perspectives

CHAPITRE 3

Conclusions et perspectives

L'étude du NADPH chez des patients atteints d'un lymphome non hodgkinien a été menée à notre connaissance pour la première fois et est d'une importance primordiale. Nos résultats ont montré divers points.

Premièrement, les systèmes antioxydants dépendent de la production de NADPH, en effet, il est utilisé dans les mécanismes de protection contre le stress oxydatif et les ERO. Un déficit dans la production de NADPH provoque une hypersensibilité au stress oxydatif qui influence le cours de la maladie.

Deuxièmement, nos résultats démontrent des taux inférieurs de NADPH en particulier chez les patients exposés aux pesticides par rapport aux patients non exposés et aux contrôles, le NADPH est inactivé chez ces premiers patients résultant de mutations qui se produisent en réponse aux expositions environnementales.

Pour ses propriétés antioxydantes, le NADPH peut être utilisé dans des stratégies thérapeutiques en tant que complément afin d'améliorer le pronostic de la maladie et en tant que moyen de prévention contre l'apparition du LNH.

De plus, nous avons confirmé les conclusions antérieures d'une association entre le lymphome non hodgkinien et l'exposition aux pesticides. En outre, nous avons apporté la preuve d'une augmentation du risque d'altération des différents paramètres chez les PE.

Dans le cadre d'une meilleure utilisation du potentiel de NADPH, des études pourraient être menées pour comparer les statuts de divers paramètres et le pronostic des patients souffrant de LNH exposés aux pesticides avec un traitement complété avec du NADPH et des patients sans NADPH.

En conclusion, nos résultats ont démontré pour la première fois que l'exposition aux pesticides est fortement associée à l'altération du NADPH au cours du LNH. La relation entre le NADPH et le rapport *Th1/Th2* devrait constituer un point important dans les nouvelles stratégies thérapeutiques afin de prévenir l'apparition de la maladie. Aussi, les stratégies de traitement devraient tenir compte de l'exposition aux pesticides comme un facteur de risque important dans le développement de la maladie, et adapter les soins et le suivi des patients.

CHAPITRE 4

Bibliographie

CHAPITRE 4

Bibliographie

A

Abbas AK, Murphy KM, Sher A. Functional diversity of helper T lymphocytes. *Nature*. 1996;383:787-793.

Abbas AK, Lichtman AH. *Basic immunology: Functions and disorders of the immune system*. Saunders, 2010. ISBN: 978-1-4160-5569-3.

Abdelrazik N, Fouda M, Zaghloul MH, et al. Serum level of intercellular adhesion molecule-1 in children with malignant lymphoma. *Med PrincPract*. 2008;17(3):233-238.

Agnello V, Chung RT, Kaplan LM. A role for hepatitis C virus infection in type II cryoglobulinemia. *New Engl J Med*. 1992;327:1490-1495.

Agopian J, Navarro JM, Gac AC, et al. Agricultural pesticide exposure and the molecular connection to lymphomagenesis. *J Exp Med*. 2009;206(7):1473-1483.

Akinlolu A, Akingbola T, Salau B. Lipid peroxidation in Nigerians affected with haematological malignancies. *Afr J Med Med Sci*. 2012;41:145-148.

Alavanja M, Hofmann J, Lynch C, et al. 0286 Occupational use of insecticides, fungicides and fumigants and risk of non-Hodgkin lymphoma and multiple myeloma in the Agricultural Health Study0286 Occupational use of insecticides, fungicides and fumigants and risk of non-Hodgkin lymphoma and multiple myeloma in the Agricultural Health Study. *Occup Environ Med*. 2014;71:A36.

Alkhoury N, Morris-Stiff G, Campbell C, et al. Neutrophil to lymphocyte ratio: a new marker for predicting steatohepatitis and fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Liver Int*. 2012;32(2):297-302.

Amadori D, Nanni O, Falciani F, et al. Chronic lymphocytic leukaemia and non-Hodgkin's lymphomas by histological type in farming-animal breeding worker: a population case-control study on job titles. *Occup Environ Med*. 1995;52:374-9.

Aras M, Jeanne A, Eisinger F, et al. Exposition aux pesticides et sous-groupes de lymphomes non hodgkiniens. *Oncologie*. 2014;16(10):465-472.

Chapitre 4. Bibliographie

Asselin-Paturel C, Echchakir H, Carayol G, et al. Quantitative analysis of Th1, Th2 and TGF-beta1 cytokine expression in tumor, TIL and PBL of non-small cell lung cancer patients. *Int J Cancer*. 1998;77:7.

Association suisse des registres des cancers. Les lymphomes malins : causes, symptômes, diagnostic, traitement, pronostic. 1995.

Auclerc G et Khayat D. *Révision accélérée en hématologie*. Paris : Maloine s.a. 1985, ISBN: 2-224-01083-4.

Aykin-Burns N, Ahmad IM, Zhu Y, et al. Increased levels of superoxide and H₂O₂ mediate the differential susceptibility of cancer cells versus normal cells to glucose deprivation. *Biochem J*. 2009;418(1):29-37.

B

Bachir D, Belabes S, smaili F et al. *Hématologie S4 clinique tome II*. Alger : Office des publications universitaires, 1987. ISBN: 3-01-2694.

Badea M, Blaj A, Cijevschi Prelipcean C, et al. Le rapport neutrophiles/lymphocytes sériques est un facteur de pronostic négatif chez les patients atteints d'hépatocarcinome. *Livre des résumés des JFHOD*. 2014, p274.

Bagirath PV, Kumar JV, ArvindUD, et al. Aggressive extranodal peripheral T-cell non-Hodgkin's lymphoma: A rare case report and review. *J Oral Maxillofac Pathol*. 2014;18(1):80-83.

Bannister J, Bannister W, Wood E. Bovine erythrocyte cupro-zinc protein. 1. Isolation and general characterization. *Eur J Biochem*. 1971;18:178-186.

Batteux F, Garraud O, Prin L, et al. Diversité, ontogénèse, différenciation et activation. In: *Immunologie Fondamentale et immunopathologie, Enseignements thématiques et intégré ; le cours QCM corrigés*. Elsevier Masson, 2013; p. 41-52.

Baudry C, Brézellec H. *Microbiologie-Immunologie*. Cahiers du préparateur en pharmacie. 2^{ème} édition. 2006. ISBN: 978-2-9155-8526-1.

Baur AS, Shaw P, Burri N, et al. Frequent methylation silencing of p15 (INK4b) (MTS2) and p16 (INK4a) (MTS1) in B-cell and T-cell lymphomas. *Blood*. 1999;94:1773-1881.

Chapitre 4. Bibliographie

Belkheiri N. *Dérivés phénoliques à activités antiathérogènes*. Thèse de doctorat. Université de Toulouse, 2010.

Berberian L, Goodglick L, Kipps TJ, et al. Immunoglobulin V_H3 gene products : natural ligands for HIV gp 120. *Science*. 1993;261:1588-1591.

Bloomer RJ, Goldfarb AH, McKenzie MJ, et al. Effects of antioxidant therapy in women exposed to eccentric exercise. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*. 2004;14:377-388.

Boccolini P, Boccolini C, Chrisman J, et al. Pesticide use and non-Hodgkin's lymphoma mortality in Brazil. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. 2013; 216:461–466.

Boer CJ, Van Krieken JH, Schuurin E, et al. Bcl-1/cyclin D1 in malignant lymphoma. *Ann Oncol*. 1997;8:109-117.

Boffetta P, De Vocht F. Occupation and the Risk of Non-Hodgkin Lymphoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2007;16(3):369 – 72.

Borg JM, Reeber A. *Biochimie métabolique*. Ellipses, France. 2008.

Bottino C, Moretta L, Pende D, et al. Learning how to discriminate between friends and enemies, a lesson from Natural killer cells. *Molecular Immunology*. 2004;41:569-575.

Boudjerra N. Approche épidémiologique des lymphomes malins non hodgkiniens ganglionnaires de l'adulte. *Revue algérienne d'hématologie*. 2009;00.

Boudjerra N. Etude épidémiologique des lymphomes malins non hodgkiniens ganglionnaires de l'adulte en Algérie. Alger, 2005.

Boyle P, Ferlay J. Cancer incidence and mortality in Europe. *Ann Oncol*. 2004;16(3):481-8.

Brahimi-Horn C, Pouyssegur J. The role of the hypoxia-inducible factor in tumor metabolism, growth and invasion. *Bull Cancer*. 2006;93:73-80.

Butterfield DA, Stadtman ER. Protein oxidation processes in aging brain. *Advantage of Cell Aging Gerontology*. 1997;2:161–191.

C

Cairns RA, Harris IS, Mak TW. Regulation of cancer cell metabolism. *Nat Rev Cancer*. 2011;11(2):85-95.

Chapitre 4. Bibliographie

Capron M. L'immunité à médiation cellulaire. Immunologie. Lille 2, 2012.

Cesarman E, Knowles DM. The role of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (KSHV/HHV-8) in lymphoproliferative diseases. *Cancer Biol.* 1999;165-174.

Chatenoud L, Bach JF. *Immunologie*. Médecine-Science Flammarion. 2008. ISSN : 978-2-2570-0073-6.

Chiaradonna F, Sacco E, Manzoni R, et al. Ras-dependent carbon metabolism and transformation in mouse fibroblasts. *Oncogene.* 2006; 25:5391-404.

Chiarugi A, Dölle C, Felici R et al. The NAD metabolome — a key determinant of cancer cell biology. *Nature Reviews Cancer.* 12, 741-752.

Chiu B, Blair A. Pesticides, Chromosomal Aberrations, and Non-Hodgkin's Lymphoma. *J Agromedicine.* 2009;14(2): 250–255.

Cho SH, Ahn AK, Bhargava P, et al. Glycolytic rate and lymphomagenesis depend on 7 PARP14, an ADP ribosyltransferase of the B aggressive lymphoma (BAL) family. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011;108(38):15972-15977.

Chouaib S, Asselin-Paturel C, Mami-Chouaib F et al. The host-tumor immune conflict: from immunosuppression to resistance and destruction. *Immunol Today.* 1997;18:493.

Choudhari A, Desai P, Indumati V et al. Activities of serum Ada, GGT and alp in carcinoma breast-a case control study for diagnostic and prognostic significance. *Indian J Med Sci.* 2013; 67(5-6):123-129.

Cillard J, Cillard P. Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti-oxydations." Oléagineux, Corps Gras, Lipides. 2006;13(1): 24-29.

Clarkson PM, Thompson HS. Antioxidants: what role do they play in physical activity and health? *Am J Clin Nutr.* 2000;72:637–646.

Clavel J, Goubin A, Auclerc Mf et al. Incidence of childhood leukemia and non-hodgkin's lymphoma in France – National Registry of Childhood Leukemia and Lymphoma, 1990-1999. *Eur J Cancer Prev.* 2004,13:97-103.

Codoïner-Franch F, Valls-Bellés V, Arilla-Codoïner A, et al. Oxidant mechanisms in childhood obesity: the link between inflammation and oxidative stress. *Translational Research.* 2011;158(6): 369-384.

Chapitre 4. Bibliographie

Cohen G, Hochstein P. Glutathione Peroxidase: The Primary Agent for the Elimination of Hydrogen Peroxide in Erythrocytes. *Biochemistry*. 1963; 2: 1420-8.

Colen CB, Shen Y, Ghoddoussi F, et al. Metabolic targeting of lactate efflux by malignant glioma inhibits invasiveness and induces necrosis: an in vivo study. *Neoplasia*. 2011;13(7):620-632.

Connors JM, O'Reilly SE. Treatment considerations in the elderly patients with lymphoma. *Hematol Oncol Clin NorthAm*. 1997;11:949-61.

Corbeau P. Phénotype, différenciation, circulation et homéostasie des cellules du système immunitaire. *Faculté de médecine Montpellier-Nice*, 2008.

Cortes J, Kurzrock R. Interleukin-10 in non-Hodgkin's lymphoma. *Leuk Lymphoma*. 1997; 26: 251.

Czernin J, Phelps ME. Positron emission tomography scanning: current and future applications. *Annu Rev Med*. 2002;53:89-112.

D

Dalla-Favera R, et al. Molecular pathogenesis of B cell malignancy: the role of BCL-6. *Curr Top Microbiol Immunol*. 1999;246: 257-263.

Dalpiaz O, Pichler M, Mannweiler S, et al. Validation of the pretreatment derived neutrophil-lymphocyte ratio as a prognostic factor in a European cohort of patients with upper tract urothelial carcinoma. *Br J Cancer*. 2014;110(10):2531-2536.

Daly-Schweitzer N. *Cancérologie clinique*. Elsevier Masson, 3^{ème} édition. 2008. ISBN : 978-2-2947-0123-8.

Dang CV, Le A, Gao P. MYC-induced cancer cell energy metabolism and therapeutic opportunities. *Clin Cancer Res*. 2009;15: 6479-83.

Davi F, Macintyre E. Mécanismes cellulaires et moléculaires des lymphomes non Hodgkiniens. *Médecine thérapeutique*. 2000;6(5):366-71.

De Roos AJ, Zahm SH, Cantor KP, et al. Integrative assessment of multiple pesticides as risk factors for non-Hodgkin's lymphoma among men. *Occup Environ Med*. 2003;60:E11.

Chapitre 4. Bibliographie

DeFranco A, Robertson M, Locksley R. *Immunité : La réponse immunitaire dans les maladies infectieuses et inflammatoires*. De Boeck. 2009 ; p.400. ISBN : 978-2-8041-5957-3.

Del rio D, Stewart AJ, Pellegrini N: A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2005;15: 316-328.

Delattre J, Beaudeau JL. Bonnefont-Rousselot D. *Radicaux libres et stress oxydant – aspects biologiques et pathologiques*. Tec & Doc. 2005; p. 547. ISBN : 2-7430-0700-1.

Désandes E, Clavel J, Berger C, et al. Cancer incidence among children in France, 1990-1999. *Pediatr Blood Cancer*. 2004;43:749-757.

Dich J, Zahm SH, Hanberg A, et al. Pesticides and cancer. *Cancer Causes Control*. 1997;8: 420-43.

Dierlamm J, et al. The apoptosis inhibitor gene API2 and a novel 18q gene, MLT, are recurrently rearranged in the t(11;18)(q21;q21) associated with mucosa-associated lymphoid tissue lymphomas. *Blood*. 1999;93:3601-3609.

Donnelly RP, Loftus RM, Keating SE, et al. mTORC1-Dependent Metabolic Reprogramming Is a Prerequisite for NK Cell Effector Function. *Immunol*. 2014;193(9):4477-4484.

Droge W. Free radicals in physiological control of cell function. *Physiol Rev*. 2002;82:47-95.

Duan MC, Zhong XN, Liu GN, et al. The Treg/Th17 paradigm in lung cancer. *Journal of Immunology Research*. 2014;2014:p9.

Dufort FJ, Bleiman BF, Gumina MR, et al. Cutting edge: IL-4-mediated protection of 4 primary B lymphocytes from apoptosis via Stat6-dependent regulation of glycolytic 5 metabolism. *J Immunol*. 2007;179(8):4953-4957.

E

Eissa LA, Esmaeel MI. Relevance of some serum biomarkers (E cadherin, GAGs& MDA in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Pak J Pharm Sci*. 2008;21(1):29-35.

El Sayed SM, Mahmoud AA, El Sawy SA, et al. Warburg effect increases steady-state ROS condition in cancer cells through decreasing their antioxidant capacities (anticancer effects of 3-bromopyruvate through antagonizing Warburg effect). *Med Hypotheses*. 2013;81(5):866-870.

Chapitre 4. Bibliographie

Elosua R, Molina L, Fito M, et al. Response of oxidative stress biomarkers to a 16-week aerobic physical activity program, and to acute physical activity, in healthy young men and women. *Atherosclerosis*. 2003;167(2):327-33.

Enroth C, Eger BT, Okamoto K, et al. Crystal structures of bovine milk xanthine dehydrogenase and xanthine oxidase: Structure-based mechanism of conversion. *PNAS*. 2000; 97(20):10723–10728.

EU Register on nutrition and health claims. *EFSA*, 2014.

Evans LS, Hancock BW. Non-Hodgkin lymphoma. *Lancet*. 2003;362(9378):139-146.

F

Fabbro-Peray P, Daures JP, Rossi JF. Environmental risk factors for non-Hodgkin's lymphoma : a population-based case-control study in Languedoc-Roussillon, France. *Cancer Causes Control*. 2001;12:201-12.

Facchini LM, Penn LZ. The molecular role of Myc in growth and transformation: recent discoveries lead to new insights. *FASEB J*. 1998;12:633-651.

Falini B, et al. ALK⁺ lymphoma : clinico-pathological findings and outcome. *Blood*. 1999;93: 2697-2706.

Faraci FM, Didion SP. Vascular protection: superoxide dismutase isoforms in the vessel wall. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004;24(8):1367-73.

Faubert B, Boily G, Izreig S, et al. AMPK is a negativeregulator of the Warburg effect and suppresses tumorgrowth in vivo. *CellMetab*. 2013;17:113-24.

Ferlay J, Shin HR, Bray F, et al. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer*. 2010a;127:2893-2917.

Ferland JP, Amé-Thomas P, Arnulf B, et al. Mécanismes physiopathologiques des anomalies de la prolifération lymphocytaire, notion de clonalité/prolifération clonale. 2011.

Ferri FF, ed. Section IV– Laboratory tests and interpretation of results; In: Ferri's Clinical Advisor. Elsevier Mosby. Philadelphia; 2014.

Ferrier DR. *Lippincott's Illustrated Reviews: Biochemistry*. LWW. North American, 2013.

Chapitre 4. Bibliographie

Finaud J, Lac G, Filaire E. Oxidative Stress. Relationship with Exercise and raining. *Sports med.* 2006b;36(4): 327-58.

Fischer K, Hoffmann P, Voelkl S, et al. Inhibitory effect of tumor cell-derived lactic acid on human T cells. *Blood.* 2007;109(9):3812-3819.

Fisher RI, Gaynor ER, Dahlborg S, et al. Comparison of a standard regimen (CHOP) with three intensive chemotherapy regimens for advanced non-Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med.* 1993;328:1002–6.

Fisher-Wellman K, Bloomer RJ. Acute exercise and oxidative stress: a 30 year history. *Dyn Med.* 2009;8:1.

Franchini G. Molecular mechanisms of human T-cell leukemia/lymphotropic virus type I infection. *Blood.* 1995;86:3619-3639.

Friedberg JW, Mauch PM, Rimza LM et al. Lymphomas: non-Hodgkin's lymphomas. *Cancer: Principles & Practice of Oncology.* 2008;2:2098-2143.

G

Garabedian MJ, Hoppin JA, Tolbert PE, et al. Occupational chlorophenol exposure and non-Hodgkin's lymphoma. *Occup Environ Med.* 1999;41:267-72.

Garcia CK, Goldstein JL, PathakRK, et al. Molecular characterization of a membrane transporter for lactate, pyruvate, and other monocarboxylates: implications for the Cori cycle. *Cell.* 1994;76(5):865-873.

Gisselbrecht C. *Les Lymphomes Non Hodgkiniens, John libbey eurotext.* France. 2009, p.143. ISSN : 1264-7527.

Gisselbrecht C. *Traitement des lymphomes non hodgkiniens de malignité intermédiaire de l'adulte.* Revue de médecine interne. Paris: Elsevier, 1995.

Goldsby R, Kindt T, Osborne B. *Immunologie le cours de Janis Kuby.* Dunod. Paris, 2003. ISBN: 2-10-007396-6.

Goodsell D. Superoxide dismutase. *Molecule of the month.* 2007.

Grimsrud PA, Xie H, Griffin TJ, et al. Oxidative stress and covalent modification of protein with bioactive aldehydes. *J. Biol. Chem.* 2008;283:21837–21841.

Chapitre 4. Bibliographie

Guthrie JK, Charles KA, Roxburgh SD, et al. The systemic inflammation-based neutrophil-lymphocyte ratio: Experience in patients with cancer. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. 2013; 88:218-30.

H

Hardell L, Eriksson M, Degerman A. Exposure to phenoxyacetic acids, chlorophenols, or organic solvents in relation to histopathology, stage, and anatomical localization of non-Hodgkin's lymphoma. *Cancer Res*. 1994;54:2386-9.

Hartge P, Devesa SS. Quantification of the impact of known risk factors on time trends in non-Hodgkin's lymphoma incidence. *Cancer Res*. 1992;52:5566–5569.

Haschemi A, Kosma P, Gille L et al. The sedoheptulose kinase CARKL directs macrophages polarization through control of glucose metabolism. *Cell Metab*. 2012;15(6):813-826.

Haton C. *Effets des rayonnements ionisants sur la structure de la fonction de la cellule épithéliale intestinale*. Thèse de doctorat de l'université de Paris VI, France. 2005 ; pp.43-58.

Hayashi T, Horiuchi A, Sano K, et al. Potential role of LMP2 as tumor-suppressor defines new targets for uterine leiomyosarcoma therapy. *Sci Rep*. 2011;1:180.

Heath JW, Lowe J, Stevens A, et al. *Atlas d'histologie fonctionnelle de Wheater*. De Boeck. 2ème édition. 2008; 448 p. ISBN: 978-2-8041-5506-3.

Hohenadel K, Harris SA, McLaughlin JR, et al. Exposure to multiple pesticides and risk of non-Hodgkin lymphoma in men from six Canadian provinces. *Int J Environ Res Public Health*. 2011;8(6):2320-30.

Holtan SG, O'Connor HM, Fredericksen ZS, et al. Food-frequency questionnaire-based estimates of total antioxidant capacity and risk of non-Hodgkin lymphoma. *Int J Cancer*. 2012;131(5):1158-1168.

Homberg JC. *Immunologie fondamentale : 2e cycle des études de médecine, de pharmacie et d'odontologie*. De Boeck. 1999; p.215. ISBN: 978-2-8437-1045-2.

I

Chapitre 4. Bibliographie

Ikeda H, Old LJ, Schreiber RD. The roles of IFN gamma in protection against tumor development and cancer immunoediting. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2002;13(2):95-109.

Imamura J, Miyoshi I, Koeffler PH. p53 in Hematologic malignancies. *Blood.* 1994; 84:2412-2421.

Imtiaz F, Shafique K, Mirza SS, et al. Neutrophil lymphocyte ratio as a measure of systemic inflammation in prevalent chronic diseases in Asian population. *Int Arch Med.* 2012;5(1):2.

J

Jamison DT, Feachem RG, Makgoba MW, et al. *Disease and mortality in Sub-Saharan Africa*, 2^{ème} édition. World Bank. 2006. ISBN: 978-0-8213-6397-3.

Janeway CA, Travers P et Pierre L. *Immunologie : Le système immunitaire fondamental et pathologique*. Masson. 2^{ème} édition. 2003 ; p.782. ISBN:978-2-7445-0150-0.

Jones DR, Sutton AJ, Abrams KR, et al. Systematic review and meta-analysis of mortality in crop protection product manufacturing workers. *Occup Environ Med.* 2009;66:7-15.

K

Kadin ME, Morris SW. The t(2;5) in human lymphomas. *Leuk Lymphoma.* 1998;29:249-256.

Karlin L et Coman T. *Hématologie*. Elsevier masson. 2009:69-70. ISBN: 978-2-294-70070-5.

Kasperska-Zajac A, Brzoza Z, Rogala B, et al. Antioxidant Enzyme Activity and Malondialdehyde Concentration in the Plasma and Erythrocytes of Patients With Urticaria Induced by Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2008; 18(5): 372-375.

Kato I, Koenig KL, Baptiste MS, et al. History of antibiotic use and risk of non-Hodgkin's lymphoma (NHL). *Int J Cancer.* 2003;107:99-105.

Kato I, Watanabe-Meserve H, Koenig KL, et al. Pesticide product use and risk of non-Hodgkin lymphoma in women. *Environ Health Perspect.* 2004;112:1275-81.

Kavanaugh DY, Carbone DP. Immunologic dysfunction in cancer. *Hematol Oncol Clin North Am.* 1996;10:927.

Chapitre 4. Bibliographie

Keele B, McCord J, Fridovich I. Further characterization of bovine superoxide dismutase and the isolation from bovine Heart. *J.Biol.Chem.* 1971;46:2875-2880.

Kidd P. Th1/Th2 balance: the hypothesis, its limitations, and implications for health and disease.

1	
---	--

Altern Med Rev. 2003; 8(3):223-46.

Kiefer D. Superoxide Dismutase Boosting the Body's Primary Antioxidant Defense. *Life Extension Magazine.* 2006.

Kierszenbaum AL. *Histologie et biologie cellulaire.* De Boeck. 1^{ère} édition. 2006, 638 p. ISBN : 978-2-8041-4910-9.

Kim HW, Woo YS, Yang HN, et al. Primed monocytes: putative culprits of chronic low-grade inflammation and impaired innate immune responses in patients on hemodialysis. *Clin Exp Nephrol.* 2011;15:258-263.

Kim J, Modlin RL, Moy RL, et al. IL-10 production in cutaneous basal and squamous cell carcinomas. A mechanism for evading the local T cell immune response. *J Immunol.* 1995;155: 2240.

Kirkman HN, Gaetani GF. Catalase: a tetrameric enzyme with four tightly bound molecules of NADPH. *ProcNatlAcadSci.* 1984;81(14):4343-4347.

Kirsch M, De Groot H. NAD(P)H, a directly operating antioxidant? *FASEB J.* 2001;15(9):1569-1574.

Kittivorapart J, Chinthammitr Y. Incidence and risk factors of bone marrow involvement by non-Hodgkin lymphoma. *J Med Assoc Thai.* 2011;94:239-245.

Knowles DM. Immunodeficiency-associated lymphoproliferative disorders. *Mod Pathol.* 1999;12:200-17.

Koukourakis MI, Kontomanolis E, Giatromanolaki A, et al. Serum and tissue LDH levels in patients with breast/gynaecological cancer and benign diseases. *GynecolObstet Invest.* 2009;67(3):162-168.

Küppers R, Engert A and Hansmann ML. Hodgkin lymphoma. *J Clin Invest.* 2012; 122(10):3439–3447.

L

La Ligue nationale contre le cancer. *Les lymphomes : Maladie de Hodgkin et lymphomes non-Hodgkinien*. 2007.

Lacolley P. *Biologie et pathologie du coeur et des vaisseaux*. John Libbey Eurotext. 1^{ère} édition. 2007 ; 311p.

Lafaille JJ. The role of helper T cell subsets in autoimmune diseases. *Cytokine Growth Factor Rev*. 1998;9:139-151.

Lamprecht M, Greilberger J, Oettl K. Analytical aspects of oxidatively modified substances in sports and exercises. *Nutrition*. 2004; 20(7-8): 728-730.

Lamprecht R, LeDoux J. Structural plasticity and memory. *Nat. Rev. Neurosci*. 2004;5:45–5410.

Lan Q, Zheng T, Rothman N, et al. Cytokine polymorphisms in the Th1/Th2 pathway and susceptibility to non-Hodgkin lymphoma. *Blood*. 2006;107(10):4101-4108.

Lanier LL. Natural Killer Cells: From No Receptors to Too Many. *Immunity*. 1997;6:377-378.

Le A, Cooper CR, Gouw AM, et al. Inhibition of lactate dehydrogenase A induces oxidative stress and inhibits tumor progression. *ProcNatlAcadSci*. 2010;107(5):2037-2042.

Le Du K. Lymphome folliculaire transformé : apport de l'intensification thérapeutique avec autogreffe de cellules souches hématopoïétiques. Thèse de doctorat, octobre 2005. Université de Franche-comté faculté de médecine et de pharmacie de Besançon.

Lefevre G, Beljean-Leymarie M, Beyerle F: Evaluation of lipid peroxidation by measuring thiobarbituric acid reactive substances. *Ann.Biol.Clin*. 1998;56:395-418.

Leopold JA, Walker J, Scribner AW, et al. Glucose-6-phosphate dehydrogenase modulates vascular endothelial growth factor-mediated angiogenesis. *J Biol Chem*. 2003; 278(34):32100-32106.

Leopold JA, Zhang YY, Scribner AW, et al. Glucose-6-phosphate dehydrogenase overexpression decreases endothelial cell oxidant stress and increases bioavailable nitric oxide. *ArteriosclerThrombVasc Biol*. 2003;23(3):411-7.

Chapitre 4. Bibliographie

LesgardsJF, Durand P, Lassarre M, et al. Assessment of lifestyle effects on the overall antioxidant capacity of healthy subjects. *Environ Health Perspect.* 2002;110(5):479-486.

Levine RL. Carbonyl modified proteins in cellular regulation, aging, and disease. *Free Radic Biol Med.* 2002;32:790–796.

Lichtman SM. Aggressive lymphoma in the elderly. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2000;33:119–28.

Long J, Versea L. Nursing considérations for non-Hodgkin's lymphoma. *Seminars in oncology nursing.* 2006;22:97-106.

Lu H, Forbes RA, Verma A. Hypoxia-inducible factor 1 activation by aerobic glycolysisimplicates the Warburg effect in carcinogenesis. *J BiolChem.* 2002; 277: 23111-5.

Luo G, Guo M, Liu Z, et al. Blood neutrophil-lymphocyte ratio predicts survival in patients with advanced pancreatic cancer treated with chemotherapy. *Ann Surg Oncol.* 2015;22(2):670-6.

Lyons SF, Liebowitz DN. The roles of human viruses in the pathogenesis of lymphoma. *Semin Oncol.* 1998;25:461-475.

M

Mabile L, Meilhac O, Escargueil-Blanc I, et al. Mitochondrial function is involved in LDL oxidation mediated by human cultured endothelial cells. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1997;17:1575-1582.

Maciver NJ, Jacobs SR, Wieman HL, et al. Glucose 10 metabolism in lymphocytes is a regulated process with significant effects on immune cell 11 function and survival. *J Leukoc Biol.* 2008;84(4):949-957.

Maddipati KR, Marnett LJ. Characterization of the major hydroperoxide-reducing activity of human plasma. Purification and properties of a selenium-dependent glutathione peroxidase. *The Journal of Biological Chemistry.* 1987;262:17398-17403.

Male D. *Immunologie : aide mémoire illustré.* De Boeck. Paris. 4^{ème} éditions. 2005. ISBN: 2-8041-4715-0.

Chapitre 4. Bibliographie

Manson SD, Porter C. LYMPHOMAS. *Cancer Nursing: Principles and Practice*. 2011;60:1458-1512.

Mao Y, Hu J, Ugnat AM, et al. Non-Hogkin's lymphoma and occupational exposure to chemicals in Canada. Canadian Cancer Registries Epidemiology Research Group. *Ann Oncol*. 2000;11:69-73.

Marcus R, Imrie K, Belch A et al. CVP chemotherapy plus rituximab compared with CVP at first line treatment for advanced follicular lymphoma. *Blood*. 2005;105(4):1417-23.

Marechal V, Dehée A, Nicolas J.C. Virus Epstein-Barr et immortalisation cellulaire. *Ann Med Interne*. 1997;148:367-371.

Marelle L, Rea D, Raphaël M. Le virus d'Epstein-Barr et les proliférations lymphoïdes. *Med Sci*. 1993;9:693-700.

Martin C, Riou B, Vallet B. *Physiologie humaine appliquée*. Wolters Kluwer. France. 2006,1098p. ISBN: 978-2-7184-1137-8.

Mayer G, Nyland J, Hudrisier D. Chapitre 12 : Immunité à médiation cellulaire. In: *Immunologie*. 2013.

Mayes PA, Bender DA. Overview of Metabolism. In: MurrayRK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. *Harper's Illustrated Biochemistry*. 26th ed. New York: The McGraw-Hill Companies, Inc.; 2003:122-237.

Mc Cord JM, Fridovitch I. J Biol Chem. Superoxide dismutase: an enzymic function for erythrocyte hemocuprein (hemocuprein). *J. Biol. Chem*. 1969;244:6049-55.

McGuirk P, Mills KH. Pathogen-specific regulatory T cells provoke a shift in the Th1/ Th2 paradigm in immunity to infectious diseases. *Trends Immunol*. 2002;23:450-455.

Meagher EA, FitzGerald GA. Indices of lipid peroxidation in vivo: strengths and limitations. *Free Radic Biol Med*. 2000;28(12):1745-50.

Mecdad AA, Ahmed MH, ElHalwagy MEA, et al. A study on oxidative stress biomarkers and immunomodulatory effects of pesticides in pesticide-sprayers. *EJFS*. 201;1(2):93-98.

Mehta AB, Hoffbrand AV. *Hématologie*. De Boeck. 2003. ISBN : 978-2-7445-0141-8.

Chapitre 4. Bibliographie

Mellgren K, Hedegaard CJ, Schmiegelow K, et al. Plasma cytokine profiles at diagnosis in pediatric patients with non-hodgkin lymphoma. *PediatrHematolOncol*. 2012;34(4):271-275.

Miao P, Sheng S, Sun X, et al. Lactate dehydrogenase A in cancer: a promising target for diagnosis and therapy. *IUBMB Life*. 2013;65(11):904-10.

Milane H. *La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques*. Thèse de doctorat. Université Louis Pasteur de Strasbourg. Septembre 2004.

Morrison HI, Wilkins K, Semenciw R, et al. Herbicides and cancer. *J NatlCancer Inst*. 1992;84(24):1866-1874.

N

Nair V, O'Neil CL, Wang PG. "malondialdéhyde", *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis*, John Wiley & Sons, New York . 2008.

Nakagawa Y. Role of mitochondrial phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase (PHGPx) as an antiapoptotic factor. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 2004;27:956–960.

National Institutes of Health (NIH). Nature "Chronic Active B Cell Receptor Signaling in Diffuse Large B Cell Lymphoma ». 2010. DOI: 10.1038/nature08638.

Niedergang F, Chavrier P. Signaling and membrane dynamics during phagocytosis : many roads lead to the phagos. *Curr. Opin. Cell Biol*. 2004;16:422-428.

Nieters A, Deeg E, Becker N. Tobacco and alcohol consumption and risk of lymphoma: results of a population-based case-control study in Germany. *Int J Cancer*. 2006;118:422–430.

O

Ohno H. Pathogenetic role of BCL6 translocation in B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *Histol Histopathol*. 2004;19(2):637-50.

Okada F, Shionoya H, Kobayashi M, et al. Prevention of inflammation-mediated acquisition of metastatic properties of benign mouse fibrosarcoma cells by administration of an orally available superoxide dismutase. *Br J Cancer*. 2006;94(6):854-62.

Chapitre 4. Bibliographie

Ong ST, Le Beau MM. Chromosomal abnormalities and molecular genetics of non-Hodgkin's lymphoma. *Semin Oncol*. 1998;25:447-460.

Ozmen B, Koutlaki N, Youssry M, et al. DNA damage of human spermatozoa in assisted reproduction: origins, diagnosis, impacts and safety. *Reprod Biomed Online*. 2007;14(3):384-95.

P

Pagès F. *Cytokines et chimiokines (généralités)*. HEGP. Paris. 2010.

Paiva M, Marques H, Martins A et al. FcγRIIIa polymorphism and clinical response to rituximab in non-Hodgkin lymphoma patients. *Cancer genetics and cytogenetics*. Elsevier. 2008;183:35-45.

Pandolfi PP, Sonati F, Rivi R, et al. Targeted disruption of the housekeeping gene encoding glucose 6-phosphate dehydrogenase (G6PD): G6PD is dispensable for pentose synthesis but essential for defense against oxidative stress. *EMBO J*. 1995;14(21):5209-5215.

Pardridge WM, Fierer G. Transport of tryptophan into brain from the circulating, albumin-bound pool in rats and in rabbits. *Journal of Neurochemistry*. 1990;54(3):971–976.

Parham P. *Le système immunitaire*. De Boeck. 2003, 406p. ISBN: 978-2-7445-0146-3.

Pasanen AK, Kuitunen H, Haapasaari KM, et al. Expression and prognostic evaluation of oxidative stress markers in an immunohistochemical study of B-cell derived lymphomas. *Leuk Lymphoma*. 2012;53(4):624-631.

PDR for Nutritional Supplemnets, *Thomson Healthcare*, 2001.

Peltier A, Polla B, Russo Marie F. *L'inflammation*. John Libbey Eurotext. Paris, 1998. ISBN: 2-7420-0117-4.

Penel N, Vansteene D. Cancers et pesticides: données actuelles. *Bulletin du cancer*. 2007 ; 94(1).

Persson B, Dahlander AM, Fredriksson M, et al. Malignant lymphomas and occupational exposure. *Br J Ind Med*. 1989;46:516-20.

Pileri P, Uematsu Y, Campagnoli S, et al. Binding of hepatitis C virus to CD81. *Science*. 1998;282:938-941.

Chapitre 4. Bibliographie

Pincemail J, Siquet J, Chappelle JP. Evaluation des concentration plasmatiques en antioxydants anticorps contre les LDL oxydées et homocysteine dans un échantillon de la population liégeoise. *Ann .Biol. Chin.* 2000;58:178-185.

Pincemail J, Meurisse M, Limet R, et al. Evaluation du stress oxydant: une réalité pour le médecin généraliste. *Vaisseaux, Cœur, Poumon.* 1999;4:148-154.

Poortmans JR, Boisseau N, Guezennec CY. *Biochimie des activités physiques.* De Boeck. 2^{ème} édition. 2003; 480p. ISBN : 978-2-8041-4442-5.

Porrata LF, Ristow K, Habermann T, et al. Predicting survival for diffuse large B-cell lymphoma patients using baseline neutrophil/lymphocyte ratio. *Am J Hematol.* 2010;85(11):896-899.

Proctor MJ, McMillan DC, Morrison DS, et al. A derived neutrophil to lymphocyte ratio predicts survival in patients with cancer. *British Journal of Cancer.* 2012;107:695-99.

Prokopchuk O, Liu Y, Henne-Bruns D, et al. Interleukin-4 enhances proliferation of human pancreatic cancer cells: evidence for autocrine and paracrine actions. *Br J Cancer.* 2005;92(5):921-928.

Przybylski GK et al. Evidence for early B-cell activation preceding the development of Epstein-Barr virus-negative acquired immunodeficiency syndrome-related lymphoma. *Blood.* 1996;12:4620-4629.

Q

Quan, F, Korneluk RG, Tropak MB et al. Isolation and characterization of the human catalase gene. *Nucleic Acids Res.* 1986;14(13):5321-35.

R

Rabbitts T. Chromosomal translocations in human cancer. *Nature.* 1994;372:143-149.

Raphaël M, Duval A, Antoine-Poirel H, et al. Syndromes lymphoprolifératifs et immunosuppresseurs. *Hématologie.* 2007;13(3):177-85.

Rémita S. De la peroxydation lipidique radioinduite : les facteurs déterminant l'oxydabilité des lipides. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology.* 2001;79(2):144-153.

Richard MJ, Belleville F, Chalas J, et al. Glutathione peroxydase: their interest in clinical chemistry. *Ann Biol Clin.* 1997;55(3):195-208.

Chapitre 4. Bibliographie

Roitt IM, Brostoff J, Male D. *Immunologie*. De Boeck. 3^{ème} édition. 2002 ; 496p. ISBN: 978-2-8041-4057-1.

Rotilio G, Bray RC, Fielden EM. A pulse radiolysis study of superoxide dismutase. *Biochim. Biophys. Acta*. 1972;268:605-609.

Rotilio G, Calabrese L, Fijnazzi A, et al. Intracellular location of superoxide dismutase and its relation to the distribution and mechanism of H₂O₂ producing enzymes. *Biochim. Biophys. Acta*. 1973;321:98.

S

Saif MW, Alexander D, Wicox CM. Serum Alkaline Phosphatase Level as a Prognostic Tool in Colorectal Cancer: A Study of 105 patients. *J Appl Res*. 2005;5(1):88-95.

Salvayre R, Auge N, Nègre-Salvayre A. Rôle de l'oxydation dans la genèse et la progression de l'athérosclérose. In: *L'athérosclérose : Physiopathologie, Diagnostics, thérapeutiques*. Toussaint JF, Jacob MP, Lagrost L et al, Masson, Paris. 2003;14:269-290.

Sato M, Goto S, Kaneko R, et al. Impaired production of Th1 cytokines and increased frequency of Th2 subsets in PBMC from advanced cancer patients. *Anticancer Res*. 1998;18(5D):3951-3955.

Sayre LM, Lin D, Yuan Q, et al. Protein adducts generated from products of lipid oxidation: focus on HNE and one. *Drug Metab Rev*. 2006;38:651-675.

Schlee M, Hölzel M, Bernard S, et al. C-myc activation impairs the NF-kappaB and the interferon response: implications for the pathogenesis of Burkitt's lymphoma. *International Journal of Cancer*. 2007;120(7):1387-95.

Semenza GL. Tumor metabolism: cancer cells give and take lactate. *J Clin Invest*. 2008;118(12):3835-3837.

Semenza GL, Artemov D, Bedi A, et al. 'The metabolism of tumours': 70 years later. *Novartis FoundSymp*. 2001;240:251-260; discussion 260-264.

Sharma B, Viswanath G, Salunke R, et al. Effects of flavonoid-rich extract from seeds of *Eugenia jambolana* (L.) on carbohydrate and lipid metabolism in diabetic mice. *Food Chemistry*. 2008;110: 697-705.

Chapitre 4. Bibliographie

Shi H, Li W. Inhibitory effects of human lactoferrin on U14 cervical carcinoma through upregulation of the immune response. *OncolLett.* 2014;7(3):820-826.

Shim H, Dolde C, Lewis BC, et al. c-Myc transactivation of LDH-A: implications for tumor metabolism and growth. *ProcNatlAcadSci.* 1997;94(13):6658-6663.

Shime H, Yabu M, Akazawa T, et al. Tumor-secreted lactic acid promotes IL-23/IL-17 proinflammatory pathway. *J Immunol.* 2008;180(11):7175-7183.

Shipp MA. Prognostic factors in aggressive non-Hodgkin's lymphoma: Who has "high-risk" disease? *Blood Journal.* 1994;83(5):1165-73.

Sholtis Brunner L, Suddarth DS. *Soins infirmiers en médecine et en chirurgie: Fonctions respiratoire.* De Boeck et Larcier. Canada, 2006; 680p. ISBN: 2-7613-2038-7.

Sies H, Sharov VS, Klotz LO, et al. Glutathione peroxidase protects against peroxynitrite-mediated oxidations. A new function for selenoproteins as peroxynitrite reductase. *The Journal of Biological Chemistry.* 1997;272:27812-27817.

Silvestri F, Baccarani M. Hepatitis C virus-related lymphomas. *Br J Haematol.* 1997;99:475-480.

Smaili F. *Abrégé d'hématologie.* Office des publications universitaires ; 2005:196-198. ISBN: 9961-0-0360-8.

Solal CP, Imrie K, Belch A et al. mabthera (rituximab) plus CVP chemotherapy for first line treatment of stage III/IV follicular non-Hogkin's lymphoma (NHL): confirmed efficacy with longer follow up. *Blood.* 2005;106(11): 350.

Spiteller, G. Peroxyl radicals: Induction of neurodegenerative and other inflammatory diseases. Their origin and how they transform cholesterol, phospholipids, plasmalogens, polyunsaturated fatty acids, sugars and proteins into deleterious products. *Free Rad. Biol. Med.* 2006;41:362-87

Stadtman ER, Levine RL. Protein oxidation. *Ann N Y Acad Sci.* 2000; 899:191-208.

Stanton RC. Glucose-6-phosphate dehydrogenase, NADPH, and cell survival. *IUBMB Life.* 2012;64(5):362-9.

Stellman JM. *Encyclopédie de sécurité et de santé au travail.* Volume 1. Bureau international du travail, Genève. 2004. ISBN: 92-2-209203-1.

Chapitre 4. Bibliographie

Stellrecht CM, Gandhi V. Myeloma antioxidant status: the good, the bad and the reactive. *Leuk Lymphoma*. 2009;50(5):691-3.

T

Tardivon AA, Vanel D, MunckJN, et al. Magnetic resonance imaging of the bone marrow in lymphomas and leukemias. *Leuk Lymphoma*. 1997;25(1-2):55-68.

Tarozzi N, Bizzaro D, Flamigni C, et al. Clinical relevance of sperm DNA damage in assisted reproduction. *Reprod Biomed Online*. 2007;14(6):746-57.

Terrier-Lenglet A, Nollet A, Liabeuf S, et al. Groupe EUTox (European Uremic toxin).. [Plasma malondialdehyde may not predict mortality in patient with chronic kidney disease]. *Nephrol Ther*. 2011;7:219–224.

Thannickal VJ, Fanburg BL. Reactive oxygen species in cell signalling. *Am. J. Physiol*. 2000;279: 1005- 1028.

Thyss A. *Diagnostiquer un lymphome malin*. Polycopié national de cancérologie. 2006.

Toussaint B. Chapitre 6 : Oxygène et stress oxydant. In : *Biochimie générale*. Faculté de médecine de Grenoble. 2007.

Trachootham D, Lu W, Ogasawara MA, et al. Redox regulation of cell survival. *Antioxid Redox Signal*. 2008;10(8):1343-1374.

Tubiana M. *La lumière dans l'ombre: Le cancer hier et demain*. Odile Jacob. 1991; 592p. ISBN: 978-2-7381-0141-9.

U

Ubukata H, Motohashi G, Tabuchi T, et al. Evaluations of interferon- γ /interleukin-4 ratio and neutrophil/lymphocyte ratio as pronostic indicators in gastric cancer patients. *Journal of Surgical Oncology*. 2010;102:742-47.

Uchida K. Histidine and lysine as targets of oxidative modification. *Amino Acids*. 2003;25(3-4):249- 257.

V

Van Kuijk F, Sevanian A, Handelman GJ, et al. A new role for phospholipase A₂: protection of membranes from lipid peroxidation damage. 1987;12:31–34.

Chapitre 4. Bibliographie

Vaubourdolle M. *Infectiologie*. Wolters Kluwer. 2007; 1036p. ISBN: 978-2-9155-8540-7.

Végran F, Boidot R, Michiels C, et al. Lactate influx through the endothelial cell monocarboxylate transporter MCT1 supports an NF- κ B/IL-8 pathway that drives tumor angiogenesis. *Cancer Res*. 2011;71(7):2550-2560.

Vilchez RA, Madden CR, Kozinetz CA, et al. Association between simian virus 40 and non-Hodgkin lymphoma. *Lancet*. 2002;359(9309):817-823.

Von Stackelberg K.A Systematic Review of Carcinogenic Outcomes and Potential Mechanisms from Exposure to 2,4-D and MCPA in the Environment. *J Toxicol*. 2013;2013:371610.

Vouldoukis I, Lacan D, Kamate C, et al. Antioxidant and anti-inflammatory properties of a Cucumis melo LC. extract rich in superoxide dismutase activity. *J Ethnopharmacol*. 2004;94(1):67-75.

W

Warburg O. On the origin of cancer cells. *Science*. 1956;123(3191):309-314.

Weisenburger DD, Armitage JO. Mantle cell lymphoma an entity comes of age. *Blood*. 1996;87:4483-4494.

Wheater RO, Young B, Heath WJ. *Histologie fonctionnelle*. De Boeck. 4^{ème} édition. 2004; 329-334p.

Wolinsky I. *Nutrition in Exercise and Sport*. 3th edition. New York: CRC Press. 1998.

Wotherspoon AC. Gastric lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue and *helicobacter pylori*. *Ann Rev Med*. 1998;49:289-299.

X

Xu RH, Pelicano H, Zhou Y, et al. Inhibition of glycolysis in cancer cells: a novel strategy to overcome drug resistance associated with mitochondrial respiratory defect and hypoxia. *Cancer Res*. 2005;65(2):613-621.

Y

Chapitre 4. Bibliographie

Yaker A. *Cancérologie générale*. Alger : Office des publications universitaires ; 1984, 252-260.

Yang E, Korsmeyer SJ. Molecular thanatopsis : a discourse on the BCL-2 family and cell death. *Blood*. 1996;88:386-401.

Yang ZZ, Novak AJ, Witzig TE, et al. Malignant B Cells Skew the Balance between Treg Cell and Th17 Cell Differentiation in B-Cell Non-Hodgkin Lymphoma (NHL). *Blood* (ASH Annual Meeting Abstracts) 2007. Abstract 1347.

Yildirim M, Karakilinc H , Yildiz M , et al. Non-Hodgkin Lymphoma and Pesticide Exposure in Turkey. *Asian Pacific J Cancer Prev*. 2013;14 (6):3461-3463.

Ying W. NAD⁺/NADH and NADP⁺/NADPH in cellular functions and cell death: regulation and biological consequences. *Antioxid Redox Signal*. 2008;10(2):179-206.

Yonish-Rouach E. A question of life or death: the p53 tumor suppressor gene. *Pathol Biol*. 1997;45:815-823.

Yu MC, Chan KM, Lee CF, et al. Alkaline phosphatase: does it have a role in predicting hepatocellular carcinoma recurrence? *J Gastrointest Surg*. 2011;15(8):1440-1449.

Yun J, Rago C, Cheong I, et al. Glucose deprivation contributes to the development of KRAS pathway mutations in tumor cells. *Science*. 2009;325:1555-9.

Yuneva M, Zamboni N, Oefner P, et al. Deficiency in glutamine but not glucose induces MYC-dependent apoptosis in human cells. *J Cell Biol*. 2007;178:93-105.

Z

Zelenetz AD, Chen TT, Levy R. Clonal expansion in follicular lymphoma occurs subsequent to antigenic selection. *J Exp Med*. 1992; 176:1137-1148.

Zheng T, Zahm SH, Cantor KP, et al. Agricultural exposure to carbamate pesticides and risk of non-Hodgkin lymphoma. *Occup Environ Med*. 2001;43:641-9.

ANNEXES

Annexe 1

QUESTIONNAIRE

A. DONNEES DEMOGRAPHIQUES ET ANTHROPOMETRIE

Date d'admission:.....|_|_|_|

Date de l'enquête:.....|_|_|_|

Service:|_|_|_|

N° du dossier medical.....|_|_|

Sexe : M O F O Nom :Prénom :

Date et lieu de naissance :.....|_|_|_|

Adresse actuelle :.....

Groupe sanguin :.....|_|

Poids (kg) :Taille (cm) :

Indice de masse corporelle :.....|_|_|

Avez-vous eu une perte ou gain de poids marqué dernièrement ?.....

Autres constatations :.....

B. CRITERES SOCIOCULTURELS

Situation matrimoniale: Célibataire (1), Mariée (2), Divorcée (3), Veuve (4),
Indéterminé (5)|_|_|

Consanguinité : Oui (1), non (2).....|_|_|

Niveau d'instruction : Analphabète (1), Primaire (2), Moyen (3), Secondaire (4),
Supérieur (5), indéterminé (6).....|_|_|

Profession actuelle:.....

Revenus mensuels.....

Durée d'exercice en années:.....|_|_|

Congé de détente (mois):.....|_|_|

Annexes

C. HABITUDES ALIMENTAIRES

Habitudes alimentaires particulières :.....

Intolérance à un aliment particulier :.....

D. HABITUDES PARTICULIERES

Exposition aux pesticides ou autres produits : oui(1), non(2)..... | ____ |

Lequels.....

Durée de l'exposition :.....

Tabagisme : oui(1), non(2)..... | ____ |

Nombre de cigarettes /jour :..... | ____ |

Alcoolisme : oui(1), non(2)..... | ____ |

Durée de consommation..... | ____ |

Problèmes particuliers :.....

E. ANTECEDANTS PATHOLOGIQUES ET CARACTERE HEREDITAIRE

E.1 Antécédents médicaux:

Avez-vous déjà souffert ou souffrez-vous actuellement de :

Adénopathies : oui(1), non(2)..... | ____ |

Leucémie lymphoïde aigue : oui(1), non(2)..... | ____ |

Anémie: oui(1), non(2)..... | ____ |

Infections virales : VIH (1), Hépatite chronique virale C (2), Autres (3)..... | ____ |

Maladies inflammatoires aiguës ou chroniques : Maladie de Crohn (1), Pancréatite (2),
Cirrhose(3), Autres (4)..... | ____ |

Cancers : du pancréas (1), des voies biliaires (2), colorectal(3), de la thyroïde (4), autre (5)
..... | ____ |

Antécédents cardiaques: oui(1), non(2)..... | ____ |

Préciser.....

Avez-vous déjà subi un allogreffe d'organe avec immunosuppresseur : oui(1), non(2)
..... | ____ |

Autre :.....

E.2 Antécédents chirurgicaux

Avez-vous déjà subi une splénectomie ou une chirurgie qui a diminué la fonction d'un organe?

.....

Autre :

Annexes

E.3 Antécédents familiaux de lymphome ou de cancer hématologique

.....
.....

Antécédents familiaux médicaux et chirurgicaux:.....

.....

F. DIAGNOSTIC

Localisation : Adénopathies superficielles (1), ORL (amygdales ou cavum) (2), tube digestif (3),
mésentère (4), médiastin (5), rate (6), moelle osseuse (7), foie (8), nasal (9), Autres viscères
(10)..... | ____ |

Type de lymphome :

Stade Ann. Arbore (AA) :..... | ____ |

Rechute à distance : oui(1), non(2) | ____ |

Localisation :

G. TRAITEMENT

Chimiothérapie (1), Autogreffe de moelle (2), Immunothérapie (3), Radiothérapie (4),

Chirurgie (5), Antinéoplasique (6)..... | ____ |

Type de protocole chimio thérapeutique (combinaison de traitement) :.....

.....

Date : | _ | _ | _ |

H. EXAMENS BIOLOGIQUES COMPLEMENTAIRES

Numération formule sanguin

Électrophorèse des protéines sériques

LDH

CRP.....

β2-microglobuline

Annexes

Hémoglobine

Ionogramme

Créatinine, Uricémie

Phosphatases alcalines.....

NLR.....

Sérologie virale (VIH, Hépatite C)

Date :

Signature du Patient/Parent/Tuteur

Annexe 2

CONSENTEMENT ÉCLAIRÉ

M (Mme) :

Né (e) le : à

Demeurant à :

J'autorise le Pr Aribi et la Doctorante Zahzeh :

1. à me recruter en tant que patient (e) éligible dans leur étude sur les lymphomes,
2. à effectuer des prélèvements sanguins périphériques,
3. à prendre toutes les photographies sur ma personne nécessaires à leur étude,
4. à publier les résultats obtenus et diffuser les photographies prises dans le cadre de leur travail.

Signature du patient/parent/tuteur

Tlemcen/SBA, le.....

Lu et approuvé

Relationship between NADPH and Th1/Th2 ratio in patients with non-Hodgkin lymphoma who have been exposed to pesticides

Meriem Rabia Zahzeh¹
Bouchra Loukidi¹
Warda Meziane¹
Mustapha Haddouche^{1,2}
Naima Mesli^{1,3}
Zahia Zouaoui⁴
Mourad Aribi¹

¹Laboratory of Applied Molecular Biology and Immunology,

²Department of Medicine, University of Tlemcen, Tlemcen, Algeria;

³Department of Clinical Haematology, Tlemcen Medical Centre University, Tlemcen, Algeria; ⁴Department of Clinical Haematology, Sidi Bel-Abbès Medical Centre University, Sidi Bel-Abbès, Algeria

Abstract: The effect of pesticides on nicotinamide adenine dinucleotide phosphate hydrogen (NADPH), including its level and relationship with the T helper 1 (Th1)/Th2 ratio, in patients suffering from non-Hodgkin lymphoma (NHL) was investigated. One hundred newly diagnosed patients with aggressive NHL (53 men, 47 women) and 40 healthy age-, sex-, and body mass index-matched controls (23 men, 17 women), exposed or not to pesticides, were recruited for a cross-sectional study conducted at the Clinical Hematology Departments of Tlemcen and Sidi Bel-Abbès University Medical Centers in the northwest of Algeria. NADPH levels were significantly increased in patients compared with controls; and in exposed patients compared with those not exposed, and controls (one-way analysis of variance; $P=0.000$). Albumin, glutathione peroxidase, superoxide dismutase, catalase activity, and oxygen radical absorbance capacity levels were significantly decreased in patients compared with in the control group. Oxygen radical absorbance capacity levels were significantly decreased in exposed patients compared with in unexposed patients; however, malondialdehyde levels were significantly increased in exposed patients when compared with controls and unexposed patients. Protein carbonyl and xanthine oxidase levels were significantly increased in exposed patients compared with controls; meanwhile, there were no significant differences between the two patient groups or between unexposed patients and controls. The Th1/Th2 ratio was significantly decreased in patients when compared with controls; the neutrophil-to-lymphocyte ratio was significantly increased (for both comparisons, $P<0.001$). In addition, NADPH was strongly associated with NHL (Mantel-Haenszel common odds ratio estimate =5.55; 95% confidence interval, 2.22–13.88; $P=0.000$). Moreover, NADPH levels were significantly negatively related to the Th1/Th2 ratio, either in exposed patients or in unexposed patients (respectively, $r=-0.498$ [$P=0.004$] and $r=-0.327$ [$P=0.006$]). In conclusion, pesticide exposure was strongly associated with NADPH alteration in NHL. The relationship between NADPH and Th1/Th2 ratio should focus on new therapeutic strategies for the disease.

Keywords: non-Hodgkin lymphoma, pesticides, NADPH, Th1/Th2 ratio

Introduction

Non-Hodgkin lymphoma (NHL) includes several lymphoproliferative malignant diseases with different clinical and histological appearances. It can be present in various ways that are difficult to diagnose. NHL frequency has increased during the last 30 years.¹ It is the fifth most common malignancy in the world and accounts for 5% of deaths related to cancer.² In the majority of NHL cases, the cause has not been identified, although several factors have been involved in their pathogenesis, such as chronic antigenic stimulation, virus, immunosuppression, genetic, endogenous, and occupational factors, including pesticides.³ A strong association between pesticides and

Correspondence: Mourad Aribi
Laboratory of Applied Molecular Biology and Immunology, Imama-Mansourah, Rocade #2, Department of Biology, University of Tlemcen, 13000 Tlemcen, Algeria
Tel +213 0 556 281 751
Fax +213 0 4091 1082
Email m_aribi@mail.univ-tlemcen.dz

NHL has been previously reported.⁴ Recently, a French study has shown a relationship between occupational exposure to pesticides and the acquisition of a chromosomal abnormality known to cause the disease development.⁵

Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate hydrogen (NADPH) is the reduced form of nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADP), a coenzyme composed of ribosyl nicotinamide 5'-phosphate (NMN) coupled by pyrophosphate linkage to the 5'-phosphate adenosine 2',5'-bisphosphate. NADPH should be considered to be of major importance in the mitochondrial compartment. It fulfills this task both by scavenging toxic free radicals and repairing biomolecule-derived radicals, while serving as an electron carrier in numerous reactions.⁶

NADPH is mainly produced by four enzymes in mammalian cells: 6-phosphogluconate dehydrogenase, phosphogluconate dehydrogenase, malic enzyme, and cytoplasmic isocitrate dehydrogenase. Detoxification of reactive oxygen species (ROS) involves glutathione, which must be constantly regenerated by glutathione reductase. Thanks to this reaction, NADPH has been suggested to act as an indirectly operating antioxidant, and thus maintain the antioxidative power of glutathione.⁶ NADPH is known to play a vital role in energy metabolism and antioxidation. The antioxidant system depends on the production of NADPH for proper function.

The T helper 1 (Th1)/Th2 balance is defined by the homeostatic control of the immune system through the secretion of various cytokines. Tumor immunity is usually mediated by cytotoxic T lymphocytes, whose activation and stimulation are supported by Th1-type cytokines, as most clinical studies support the finding of an abnormal Th1/Th2 ratio in patients with cancer.⁷ Alterations of Th1 or Th2 cytokine profiles are usually characterized by a decreased Th1/Th2 ratio and are described in virtually all tested patients with cancer, including those with NHL.⁸ Alterations of the Th1/Th2 ratio in patients with cancer is a common feature of a malignant process and could result from a malfunction in Th1 cells, activation of Th2 lymphocytes, or both phenomena.

Because NADPH has a role in a wide range of processes with potent antioxidant effects and because oxidative stress condition is high in malignant cells, we tried to demonstrate the relationship that may exist between NADPH and Th1/Th2 ratio in patients with NHL exposed to pesticides.

Materials and methods

Patients and subjects

One hundred newly diagnosed patients with aggressive NHL (53 men, 47 women) and 40 healthy age-, sex-, and body mass

index-matched controls (23 men, 17 women), exposed or not to pesticides, were recruited for a cross-sectional study conducted at the Clinical Hematology Departments of Tlemcen and Sidi Bel-Abbès University Medical Centers in the northwest of Algeria. The recruitment was made on the basis of a questionnaire. Participants exposed to pesticides (patients [n=32], age, 58.48±3.27 years; controls [n=20], age, 56.12±2.93 years) were selected from among farm workers to obtain a homogeneous population. Patients (n=68; age, 55.25±2.82 years) and controls (n=20; age, 56.6±3.1 years) not exposed to pesticides had no history of occupational or environmental exposure to pesticides. To minimize bias, the clinical and demographic characteristics, pesticide exposure, duration of exposure to pesticides, and access to care were the same in all groups studied. Patients and controls were randomly selected on the basis of eligibility criteria from a group of 264 subjects (172 patients and 92 controls). Of 124 participants who were excluded, 72 patients (19 exposed to pesticides and 53 not exposed to pesticides) were eliminated because they did not meet the eligibility criteria. Of 45 participants in the exposed control group, 21 were excluded because of ineligibility and four were eliminated because they refused to participate. Of 47 unexposed controls, 20 subjects were randomly selected among those who fulfilled the eligibility criteria and agreed to participate in this study. Clinical presentation and characteristics of patients were recorded at recruitment. Histological examination and immunohistochemical analysis were complemented by a full and thorough mandatory clinical examination coupled with both expansion and biological assessments. The main criterion for inclusion was patients with aggressive NHL exposed or not to pesticides. The main exclusion criteria were NHL associated with another type of cancer, family history of cancer, indolent lymphoma, a positive serology for HIV, hepatitis C virus, and autoimmunity. All patients provided signed informed consent. This work was approved by our local institutional ethics committee (CSF-SBA).

Samples

Blood samples were taken from the antecubital vein and collected in ethylenediaminetetraacetic acid or heparin or in dry tubes. NADPH was determined on serum. Assays relating to oxidative stress were made on plasma for total antioxidant capacity (ORAC, oxygen radical absorbance capacity), lipid peroxidation (malondialdehyde), antioxidant enzymes (superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and catalase; ethylenediaminetetraacetic acid), oxidative enzymes (xanthine oxidase), and oxidative protein (carbonyl protein; heparin). The cytokine levels were assayed on serum.

The neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) was determined from the whole blood. Lactate dehydrogenase (LDH) and alkaline phosphatase (ALP) were collected from the medical record for each individual.

Laboratory assays

NADPH assay

Serum NADPH levels were measured spectrophotometrically at 450 nm by enzyme-linked immunoassay (ELISA), using a commercial kit (NADP/NADPH Quantification Kit, Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA). NADP was decomposed to detect NADPH according to the manufacturer's instructions. Samples were deproteinized before use in an assay, using a 10 kDa spin filter. All measurements were performed in duplicate. Results were compared with the standard curve.

NLR

NLR was calculated using absolute neutrophil and lymphocyte counts recorded from total blood white cell count results within 24 hours after arrival to the hospital.

Interleukin 4 and Interferon-gamma assays and Th1/Th2 ratio

The serum interleukin 4 (IL-4) and interferon gamma (IFN-gamma) levels were measured by human Quantikine sandwich ELISA kits according to the instructions of the manufacturer (R&D Systems GmbH, Wiesbaden-Nordenstadt, Germany). Limits of detection were 8 pg/mL for IFN-gamma and 10 pg/mL for IL-4. The Th1/Th2 ratio was estimated from the IFN-gamma/IL-4 ratio.

Albumin assay

Serum albumin levels were carried out using a Sebia Hydragel Protein(e) K20 electrophoresis assay (Sebia, Evry, France).

Glutathione peroxidase assay

Glutathione peroxidase (GSH-Px) activity was measured according to the method of Paglia and Valentine, which relies on the spectrophotometric measurement at 340 nm from the oxidation of glutathione by cumenehydroperoxide.⁹

Superoxide dismutase assay

The assay of superoxide dismutase (SOD) was performed by a commercial kit (Randox Laboratories Ltd, Crumlin, United Kingdom). When SOD is found in the sample, it inhibits the production of formazan dye by the conversion of a superoxide radical to oxygen. This color is the result of the interaction between the salts of p-iodonitrotetrazolium [2-(4-iodophenyl)-3(4-nitrophenol)-5-phenyltetrazolium

chloride] and xanthine, as well as xanthine oxidase, to generate superoxide radicals. The SOD activity was then determined by spectrophotometry at 505 nm.

Catalase assay

Catalase activity (CAT) was measured spectrophotometrically at 240 nm by monitoring the disappearance of H₂O₂, as described.¹⁰

Total antioxidant capacity assay

Total antioxidant capacity (ORAC) was measured in plasma according to the KRL (Spiral/KIRIAL, Dijon, France) biological test, based on the hemolysis resulting from the attack of radicals.¹¹

Malondialdehyde assay

Analysis of lipid peroxidation was based on the determination of levels of malondialdehyde (MDA), using the thiobarbituric test. MDA react with thiobarbituric under high temperature and acidic conditions to give pink chromophores (MDA-TBA adduct) measured colorimetrically at 535 nm.¹²

Protein carbonyl assay

An ELISA was used to measure the concentrations of protein carbonyl on the basis of the detection of 2,4-dinitrophenylhydrazine by the specific antibody (Biocell carbonyl protein ELISA kit, ALX-850-312-KI01; AXXORA Deutschland GmbH, Lörrach, Germany).

Xanthine oxidase assay

The enzymatic oxidation was represented by the measurement of xanthine oxidase (XO). It was determined by the level of uric acid formation from xanthine at 293 nm, according to the method of Hashimoto, which is based on adding potassium 2,4-dihydroxy-6-carboxy-1,3,5-triazine (oxonate potassium) in the reaction system of the crude XO to obtain the same uric acid to be measured.¹³

Statistical analyses

Statistical analyses were performed by two-tailed Student's *t*-test or one-way analysis of variance (ANOVA) when appropriate. A nonparametric chi-square test was used to compare the sex frequencies. Bivariate correlation analysis was carried out using Pearson's or Spearman's correlation coefficients, appropriately. The association analysis was evaluated by odds ratio (OR) and corresponding 95% confidence interval (95% CI), using the 90th percentile in the unexposed to pesticides control group as cut-off levels. A pooled estimate of the common OR and its confidence interval was

obtained by the Mantel–Haenszel method. Statistical analyses were performed with SPSS software version 16.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). P values <0.05 were considered statistically significant.

Results

The clinical and demographic characteristics of patients and controls are shown in Table 1.

As indicated, age, sex, and body mass index were not different between the two patient groups and between patients and controls (for all comparisons, $P>0.05$). LDH and ALP levels were significantly increased in exposed and unexposed patients compared with controls (for the two comparisons, $P<0.05$); they were similar in both patient groups (respectively, $P=0.944$ and $P=0.841$). In addition, NLR levels were significantly increased in patients compared with controls and in exposed patients compared with those not exposed and in controls (one-way ANOVA, $P<0.01$).

The serum levels of NADPH and IFN- γ , IL-4, and Th1/Th2 ratio are shown in Figures 1 and 2, respectively.

Serum NADPH levels were significantly increased in patients compared with controls and in exposed patients compared with those not exposed and in controls (one-way ANOVA; $P=0.000$). IFN- γ and the Th1/Th2 ratio were significantly decreased in patients when compared with controls; IL-4 was significantly increased (for all comparisons, one-way ANOVA; $P=0.000$).

As indicated in Table 2, albumin, GSH-Px, SOD, CAT, and ORAC levels were significantly decreased in patients compared with controls. ORAC levels were significantly decreased in exposed compared with in unexposed patients ($P=0.039$). However, MDA levels were significantly increased in exposed patients when compared with controls and unexposed patients (one-way ANOVA; $P=0.000$). Protein carbonyl and XO levels were significantly increased in exposed patients compared with controls (comparison not

Table 1 Clinical and demographic characteristics of patients with NHL

Variables	Controls n=40		Patients n=100		P^b
	Exposed controls n=20	Not exposed controls n=20	Exposed patients n=32	Not exposed patients n=68	
Age (year)	56.12 \pm 2.93	56.6 \pm 3.1	58.48 \pm 3.27	55.25 \pm 2.82	0.901
P^a	0.911		0.492		
Sex (M/F)	12/8	11/9	18/14	35/33	0.911
P^a	0.749		0.817		
BMI (kg/m ²)	22.84 \pm 0.64	22.45 \pm 0.55	22.53 \pm 0.76	22.2 \pm 0.5	0.920
P^a	0.647		0.713		
LDH (U/L)	208.73 \pm 57.29	194.42 \pm 59.74	498.72 \pm 75.77	489.24 \pm 84.61	0.049
P^a	0.865		0.944		
ALP (U/100 mL)	87.25 \pm 13.41	83.57 \pm 14.13	136.54 \pm 16.54	132.71 \pm 10.47	0.021
P^a	0.850		0.841		
NLR	1.82 \pm 0.09	1.76 \pm 0.06	2.34 \pm 0.03	2.16 \pm 0.06	0.000
P^a	0.582		0.000		
NHL type	–				
B-cell NHL	–		84.38	86.76	–
P^a	–		0.748		
T-cell NHL	–		15.63	13.24	–
P^a	–		0.748		
Clinical stage	–				
CS I (%)	–		40.63	42.65	–
P^a	–		0.848		
CS II (%)	–		21.88	20.59	–
P^a	–		0.883		
CS III (%)	–		25	22.06	–
P^a	–		0.744		
CS IV (%)	–		12.5	14.71	–
P^a	–		0.767		

Notes: $P<0.05$ was considered statistically significant. Data are presented as mean \pm standard error. Student's t -test; P^a : exposed controls versus not exposed controls or exposed patients versus not exposed patients, one-way ANOVA; P^b : comparison between the four groups.

Abbreviations: ALP, alkaline phosphatase; ANOVA, analysis of variance; BMI, body mass index; CS, clinical stage; F, female; LDH, lactate dehydrogenase; M, male; NHL, non-Hodgkin lymphoma.

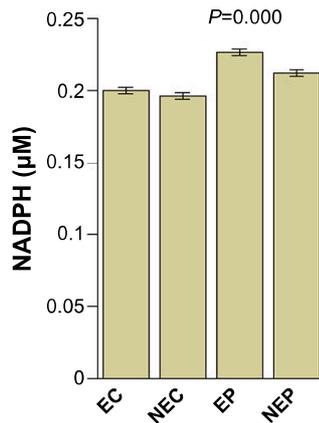


Figure 1 Mean levels of serum NADPH.

Abbreviations: NADPH, nicotinamide adenine dinucleotide phosphate hydrogen; EC, exposed controls; NEC, unexposed controls; EP, exposed patients; NEP, unexposed patients.

shown); there were no significant differences between the two patient groups or between unexposed patients and controls (for all comparisons, $P > 0.05$).

We report in Figure 3 that NADPH was strongly associated with NHL, either in patients exposed or unexposed to pesticides (respectively, OR = 6.63 [95% CI, 1.91–23; $P = 0.002$]; OR = 4.75 [95% CI, 1.27–17.72; $P = 0.014$]; Mantel–Haenszel common OR estimate = 5.55 [95% CI, 2.22–13.88; $P = 0.000$]).

As shown in Figure 4, NADPH levels were significantly negatively related to the Th1/Th2 ratio, either in patients who have been exposed or not to pesticides (respectively, $r = -0.498$, $P = 0.004$; and $r = -0.327$; $P = 0.006$).

Discussion

One of the main biomarker indicators of the cancer process is the increased levels of ALP (EC 3.1.3.1), an enzyme that can be found at particularly high levels in the blood when

bone-forming cells are very active. Its elevation is also observed in solid cancer metastasis, as with colorectal cancer.¹⁴ Our results are in agreement with those reporting an increase in ALP levels in patients with NHL or malignant cancer.^{15,16} ALP can also serve as a useful prognostic marker for malignant tumors,¹⁷ perhaps, given its role in removing phosphate groups from many kinds of molecules, including nucleotides.

The NLR has been recently reported to be a new potential predictor of systemic inflammation that is associated with outcome in different cancer types. Its elevation has also been demonstrated to be a poor prognostic factor in multiple types of malignancies, especially solid tumors.¹⁸ This ratio is used in cancer patients to compare the inflammatory response by counting neutrophils and evaluation of host immunity by counting lymphocytes. The increased level of NLR observed in the current study is consistent with other results.¹⁹ Nevertheless, to our best knowledge, we show for the first time the highest increase in NLR levels in patients with NHL exposed to pesticides.

The link between cancer and altered metabolism has previously been suggested as a common feature of cancerous tissues, such as the Warburg effect.²⁰ A key molecule produced as a result of altered cancer metabolism is NADPH. This molecule is used in protective mechanisms against oxidative stress and ROS that are produced during rapid cell proliferation. However, to our best knowledge, there have been no studies that correlate NADPH to NHL. For our part, we have revealed a strong association between NADPH and NHL, either in patients exposed or not to pesticides; nevertheless, the association in patients exposed to pesticides was more significant compared with those not exposed to pesticides.

To maintain a continuous and rapid cell division, cancer cells use a very large amount of energy, required for the

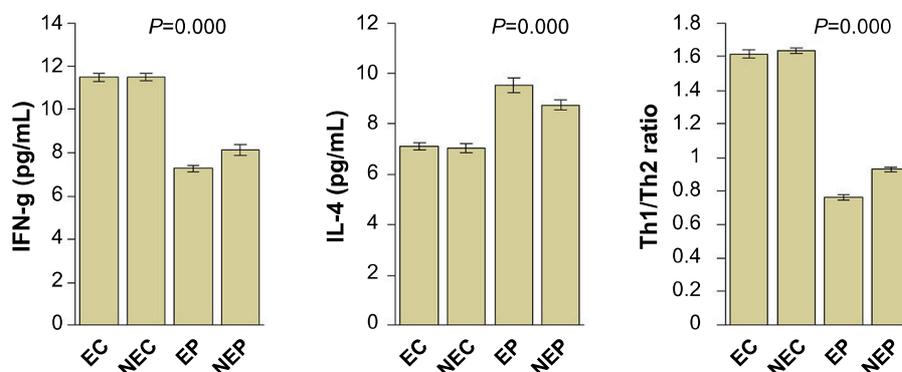


Figure 2 Circulating levels of IFN-g and IL-4, and Th1/Th2 ratio.

Abbreviations: IFN-g, interferon-gamma; IL, interleukin; EC, exposed controls; NEC, unexposed controls; EP, exposed patients; NEP, unexposed patients; Th, T helper.

Table 2 Oxidative stress biomarkers in patients with NHL and controls

Variable	Controls n=40		Patients n=100		P ^b
	Exposed controls n=20	Not exposed controls n=20	Exposed patients n=32	Not exposed patients n=68	
Albumin (g/L)	34.85±0.75	35.69±0.68	28.22±0.61	29.43±0.5	0.000
P ^a	0.412		0.153		
GSH-Px (IU/mL)	1.83±0.1	1.77±0.08	1.51±0.08	1.58±0.06	0.038
P ^a	0.644		0.516		
SOD (U/mL)	84.68±1.12	83.97±1.19	78.16±1.3	80.25±1.05	0.006
P ^a	0.666		0.242		
CAT (IU/mL)	22,101.29±402.27	22,153.66±392.95	20,774.32±438.71	20,645.94±336.22	0.023
P ^a	0.926		0.543		
ORAC (AU)	2.25±0.08	2.42±0.06	1.66±0.06	1.82±0.04	0.000
P ^a	0.099		0.039		
MDA (μmol/L)	2.37±0.07	2.32±0.08	2.88±0.07	2.71±0.05	0.000
P ^a	0.641		0.047		
PC (nmol/mg protein)	0.18±0.05	0.15±0.04	0.25±0.03	0.22±0.02	0.189
P ^a	0.640		0.395		
XO (mIU/mL)	0.34±0.04	0.31±0.05	0.46±0.03	0.43±0.03	0.044
P ^a	0.638		0.476		

Notes: P<0.05 was considered statistically significant. Data are presented as mean ± standard error. Student's t-test; P^a: exposed controls versus not exposed controls or exposed patients versus not exposed patients, one-way ANOVA; P^b: comparison between the four groups.

Abbreviations: ANOVA, analysis of variance; CAT, catalase; GSH-Px, glutathione peroxidase; MDA, malondialdehyde; NHL, non-Hodgkin lymphoma; ORAC, oxygen radical absorbance capacity/total antioxidant capacity; PC, protein carbonyl; SOD, superoxide dismutase; XO, xanthine oxidase.

biosynthesis of macromolecules (nucleotides, proteins, and lipids). The energy used for cell division, but also for the metastatic process and tightened maintenance of appropriate cellular redox, is provided mainly by glycolysis, which results in the formation of nucleotides, lactate, and ATP.²¹

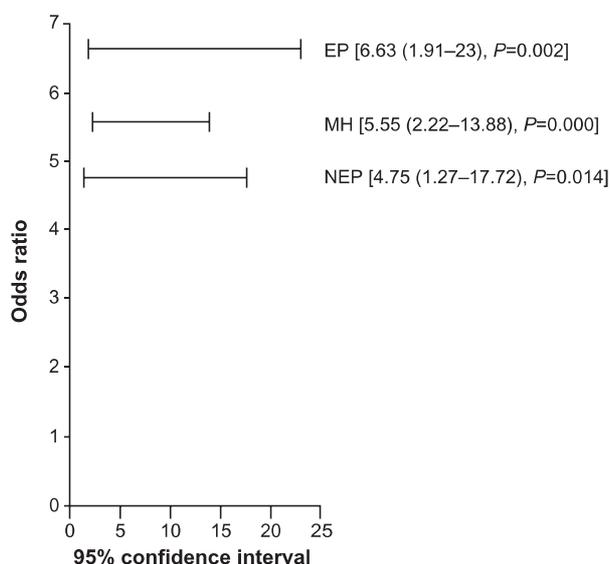


Figure 3 Association analysis of NADPH with non-Hodgkin lymphoma among patients exposed or not to pesticides.

Abbreviations: EP, exposed patients; NEP, unexposed patients; MH, Mantel-Haenszel common odds ratio estimate; NADPH, nicotinamide adenine dinucleotide phosphate hydrogen.

The persistence of cell division is provided by a variety of molecular mechanisms, including the Warburg effect. Otto Warburg reported that cancer cells depend on glycolysis to predominantly produce energy, even with the presence of oxygen at normal concentrations, leading to the production of high levels of lactate.²⁰ Unlike normal cells that produce energy from mitochondrial oxidative phosphorylation, without production of lactate, the Warburg effect leads to the production of huge amounts of lactate, which contributes to the phenomenon of microenvironmental acidosis.²¹ This effect is regulated by the PI3K, hypoxia-inducible factor, p53, avian myelocytomatosis virus oncogene cellular homolog (protooncogene homologous to myelocytomatosis virus, MYC) and 5' adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK) B1 pathways. To the fact that the production of ATP through glycolysis is faster than by oxidative phosphorylation, cancer cells adopt mechanisms for absorbing abnormally high quantities of glucose to respond to increased requirements of energy, biosynthesis, and redox.²²

The lactate produced in cancer cells by the Warburg effect, as a result of enhanced aerobic glycolysis, is provided from the conversion of pyruvate with LDH.²³ It is extruded through the extracellular space, via the monocarboxylate transporter 1 in endothelial cells,²⁴ to the aerobic populations of cancer cells, where it may be used to power the Krebs cycle to produce energy.²⁵ Lactate activates proinflammatory pathways²⁶ and

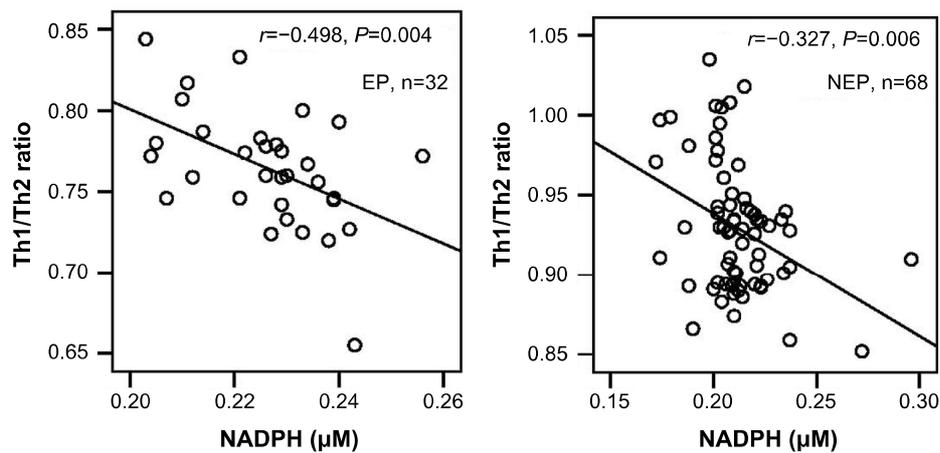


Figure 4 Relationship between NADPH and Th1/Th2 ratio in patients with NHL.

Abbreviations: EP, exposed patients; NEP, unexposed patients; Th, T helper; NADPH, nicotinamide adenine dinucleotide phosphate hydrogen; NHL, non-Hodgkin lymphoma.

enhances angiogenesis, which is essential for cancer growth and metastasis.²⁴ Higher circulating LDH in cancer patients may be a result of increased damaged cells in response to many conditions, such as tissue injury, necrosis, hypoxia, and hemolysis.²⁷ Our study is consistent with recent results.^{28,29}

During the rapid proliferation, cancer cells displayed increased ROS.³⁰ Cells can use their reactivity beneficially in many processes. Thus, a useful level of ROS is maintained within the cell by means of a balance between the production of a free radicals system (XO), antioxidant systems (SOD, GSH-Px, CAT, protein carbonyl, albumin), and ORAC. CAT reduces peroxides, GSH-Px protects cells against free radicals, and SOD catalyzes the conversion of two superoxide anions into a molecule of hydrogen peroxide (H_2O_2) and oxygen.³¹ In our study, we observed an imbalance between the oxidants and antioxidants shifted toward the oxidant side in patients with NHL. Recent studies have shown increased oxidative stress in hematologic malignancies,^{32,33} nevertheless, little is known about oxidative stress biomarkers in NHL. During oxidative stress, ROS can induce increased production of byproduct mutagenic reagents, such as MDA. Our results are thus consistent with previously reported observations.³⁴ In addition, it was shown that the overall antioxidant capacity, as measured by ORAC, decreases in patients with hematologic malignancies, especially in patients with NHL,³⁵ which corroborates our results. Moreover, the increased levels of MDA and the decreased levels of ORAC were significantly pronounced in patients exposed to pesticides compared with those not exposed. Therefore, it has been reported that oxidative stress can be induced by pesticides, either by overproduction of free radicals or by alteration in antioxidant defense mechanisms.³⁶

Interestingly, high levels of ROS can cause damage to macromolecules, which can induce apoptosis and senescence.²² For this reason, cancer cells adapt to metabolic changes that may affect the redox balance. Thus, unlike normal cells, cancer cells produce large quantities of NADH, H^+ , which is consumed in an LDH step of glycolysis reaction in favor of the Warburg effect, with the aim of energy gain through oxidation to form three ATP molecules per each NADH, H^+ .²¹ In addition, these cells are able to extend beyond the Warburg effect as a result of an altered metabolism to meet its needs for macromolecule building blocks and maintenance of redox balance. Therefore, the NADPH can be generated by the cancer cells to act as a powerful antioxidant against ROS.³⁷ This coenzyme is produced in two separate steps in the hexose monophosphate (HMP) shunt pathway.³⁸ These data are consistent with our findings regarding the increased levels of NADPH in patients compared with controls. In our study, we also observed that the levels of oxidative stress biomarkers and NADPH are much more increased in patients exposed to pesticides compared with in those not exposed to pesticides and in control subjects. We therefore suggest that the increase in ROS levels generated by rapid cell proliferation and environmental toxicity would be continuously monitored by the production of NADPH.

Our results regarding the decrease in IFN- γ levels and the increase of those of IL-4 shifted toward a decrease in the Th1/Th2 ratio. It has been reported that IFN- γ is important for control of tumor growth and invasion and has been implicated in several cancers.³⁹ In addition, it has previously been shown that the increase in levels of IL-4 is involved in tumor development.⁴⁰ IL-4 can block the activation of natural killer cells and reduces the antigen

formation of tumor cells to escape cytoimmunity against tumor growth.⁴¹ Moreover, imbalance in the ratio of Th1/Th2 could play an important role in the etiology of NHL and its major subtypes.⁴² Although correlation does not imply causation, the negative relationship highlighted in the current study between NADPH and Th1/Th2 ratio would be in favor of an increased immunosuppressive effect of IL-4 on Th1 cells. A cause-and-effect relationship involving IL-4 and a pentose phosphate pathway required to generate NADPH has already been demonstrated in the mechanisms of macrophage polarization.⁴³ In addition, it has previously been shown that IL-4 mediates B-cell survival by increasing glucose transport and glycolysis in B cells through Stat6-dependent upregulation of Bcl-xL.⁴⁴ It was proven later that poly(ADP-ribose)polymerase 14, a member of the B aggressive lymphoma family of macrodomain-containing poly(ADP-ribose)polymerases, is needed to achieve full prosurvival signaling by IL-4 in B cells.⁴⁵ In addition, IL-4 may be important in promoting glucose uptake and metabolism, which can be metabolized by the pentose phosphate pathway and required to promote T-cell proliferation and survival.⁴⁶ Finally, the negative relationship between NADPH and Th1/Th2 ratio would also be in favor of lower antitumor effects of IFN- γ .⁴⁷ Therefore, it has been recently reported that NK cell IFN-gamma production could be directly related to mammalian target of rapamycin complex 1 and glycolysis.⁴⁸ Moreover, it has been shown that lactic acid dramatically impairs IFN- γ production in human cytotoxic T lymphocytes and number of IFN- γ -positive cells measured by flow cytometry.⁴⁹

Conclusion

In conclusion, our results demonstrate for the first time that pesticide exposure was strongly associated with NADPH alteration in NHL. The examination of the relationship between NADPH and the Th1/Th2 ratio should focus on new therapeutic strategies to prevent the appearance of the disease. In addition, treatment strategies should also take into account exposure to pesticides as an important risk factor for disease development and adapt care and monitoring of patients.

Acknowledgments

We are grateful to the patients and subjects for their participation and are especially thankful to all the staff of the Clinical Haematology Departments of Tlemcen and Sidi Bel-Abbès Medical Centre University for their help during this study. We also thank Fethi Borsali (Faculty of Medicine, University

of Tlemcen), for help with the statistical analysis, and Julian Ian Mitchell (University of Portsmouth, United Kingdom), who assisted in the proofreading of the manuscript.

Disclosure

The authors report no conflicts of interest in this work.

References

1. Vilchez RA, Madden CR, Kozinetz CA, et al. Association between simian virus 40 and non-Hodgkin lymphoma. *Lancet*. 2002;359(9309): 817–823.
2. Chatenoud L, Bach JF. *Immunology*. Paris: Flammarion Medicine-Sciences; 2008.
3. von Stackelberg K. A systematic review of carcinogenic outcomes and potential mechanisms from exposure to 2,4-D and MCPA in the environment. *J Toxicol*. 2013;2013:371610.
4. Boccolini PM, Boccolini CS, Chrisman JR, et al. Pesticide use and non-Hodgkin's lymphoma mortality in Brazil. *Int J Hyg Environ Health*. 2013;216(4):461–466.
5. Agopian J, Navarro JM, Gac AC, et al. Agricultural pesticide exposure and the molecular connection to lymphomagenesis. *J Exp Med*. 2009;206(7):1473–1483.
6. Kirsch M, De Groot H. NAD(P)H, a directly operating antioxidant? *FASEB J*. 2001;15(9):1569–1574.
7. Sato M, Goto S, Kaneko R, Ito M, Sato S, Takeuchi S. Impaired production of Th1 cytokines and increased frequency of Th2 subsets in PBMC from advanced cancer patients. *Anticancer Res*. 1998;18(5D): 3951–3955.
8. Cortes J, Kurzrock R. Interleukin-10 in non-Hodgkin's lymphoma. *Leuk Lymphoma*. 1997;26(3–4):251–259.
9. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med*. 1967;70(1):158–169.
10. Aebi H. Catalase. In: Bergmeyer HU, editor. *Methods of Enzymatic Analysis*. New York: Academic Press; 1974:673–684.
11. Blache D, Durand P, Prost M, Loreau N. (+)-Catechin inhibits platelet hyperactivity induced by an acute iron load in vivo. *Free Radic Biol Med*. 2002;33(12):1670–1680.
12. Nourooz-Zadeh J, Tajaddini-Sarmadi J, Ling KL, Wolff SP. Low-density lipoprotein is the major carrier of lipid hydroperoxides in plasma. Relevance to determination of total plasma lipid hydroperoxide concentrations. *Biochem J*. 1996;313(Pt 3):781–786.
13. Hashimoto S. A new spectrophotometric assay method of xanthine oxidase in crude tissue homogenate. *Anal Biochem*. 1974;62(2):426–435.
14. Saif MW, Alexander D, Wicox CM. Serum Alkaline Phosphatase Level as a Prognostic Tool in Colorectal Cancer: A Study of 105 patients. *J Appl Res*. 2005;5(1):88–95.
15. Kittivorapart J, Chinthammitr Y. Incidence and risk factors of bone marrow involvement by non-Hodgkin lymphoma. *J Med Assoc Thai*. 2011;94(Suppl 1):S239–S245.
16. Tardivon AA, Vanel D, Munck JN, Bosq J. Magnetic resonance imaging of the bone marrow in lymphomas and leukemias. *Leuk Lymphoma*. 1997;25(1–2):55–68.
17. Yu MC, Chan KM, Lee CF, et al. Alkaline phosphatase: does it have a role in predicting hepatocellular carcinoma recurrence? *J Gastrointest Surg*. 2011;15(8):1440–1449.
18. Chen C, Sun P, Dai QS, Weng HW, Li HP, Ye S. The Glasgow Prognostic Score predicts poor survival in cisplatin-based treated patients with metastatic nasopharyngeal carcinoma. *PLoS One*. 2014; 9(11): e112581.
19. Porrata LF, Ristow K, Habermann T, Inwards DJ, Micallef IN, Markovic SN. Predicting survival for diffuse large B-cell lymphoma patients using baseline neutrophil/lymphocyte ratio. *Am J Hematol*. 2010;85(11):896–899.

20. Warburg O. On the origin of cancer cells. *Science*. 1956;123(3191): 309–314.
21. El Sayed SM, Mahmoud AA, El Sawy SA, et al. Warburg effect increases steady-state ROS condition in cancer cells through decreasing their antioxidant capacities (anticancer effects of 3-bromopyruvate through antagonizing Warburg effect). *Med Hypotheses*. 2013;81(5):866–870.
22. Cairns RA, Harris IS, Mak TW. Regulation of cancer cell metabolism. *Nat Rev Cancer*. 2011;11(2):85–95.
23. Colen CB, Shen Y, Ghoddoussi F, et al. Metabolic targeting of lactate efflux by malignant glioma inhibits invasiveness and induces necrosis: an in vivo study. *Neoplasia*. 2011;13(7):620–632.
24. Végran F, Boidot R, Michiels C, Sonveaux P, Feron O. Lactate influx through the endothelial cell monocarboxylate transporter MCT1 supports an NF- κ B/IL-8 pathway that drives tumor angiogenesis. *Cancer Res*. 2011;71(7):2550–2560.
25. Semenza GL. Tumor metabolism: cancer cells give and take lactate. *J Clin Invest*. 2008;118(12):3835–3837.
26. Shime H, Yabu M, Akazawa T, et al. Tumor-secreted lactic acid promotes IL-23/IL-17 proinflammatory pathway. *J Immunol*. 2008;180(11): 7175–7183.
27. Armstrong AJ, George DJ, Halabi S. Serum lactate dehydrogenase predicts for overall survival benefit in patients with metastatic renal cell carcinoma treated with inhibition of mammalian target of rapamycin. *J Clin Oncol*. 2012;30(27):3402–3407.
28. Koukourakis MI, Kontomanolis E, Giatromanolaki A, Sivridis E, Liberis V. Serum and tissue LDH levels in patients with breast/gynaecological cancer and benign diseases. *Gynecol Obstet Invest*. 2009;67(3): 162–168.
29. Abdelrazik N, Fouda M, Zaghoul MH, Abbas D. Serum level of intercellular adhesion molecule-1 in children with malignant lymphoma. *Med Princ Pract*. 2008;17(3):233–238.
30. Aykin-Burns N, Ahmad IM, Zhu Y, Oberley LW, Spitz DR. Increased levels of superoxide and H₂O₂ mediate the differential susceptibility of cancer cells versus normal cells to glucose deprivation. *Biochem J*. 2009;418(1):29–37.
31. Trachootham D, Lu W, Ogasawara MA, Nilsa RD, Huang P. Redox regulation of cell survival. *Antioxid Redox Signal*. 2008;10(8): 1343–1374.
32. Pasanen AK, Kuitunen H, Haapasari KM, et al. Expression and prognostic evaluation of oxidative stress markers in an immunohistochemical study of B-cell derived lymphomas. *Leuk Lymphoma*. 2012;53(4): 624–631.
33. Akinlolu A, Akingbola T, Salau B. Lipid peroxidation in Nigerians affected with haematological malignancies. *Afr J Med Med Sci*. 2012;41(Suppl):145–148.
34. Eissa LA, Esmael MI. Relevance of some serum biomarkers (E cadherin, GAGs and MDA in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Pak J Pharm Sci*. 2008;21(1):29–35.
35. Holtan SG, O'Connor HM, Fredericksen ZS, et al. Food-frequency questionnaire-based estimates of total antioxidant capacity and risk of non-Hodgkin lymphoma. *Int J Cancer*. 2012;131(5):1158–1168.
36. Meccad AA, Ahmed MH, ElHalwagy MEA, Afify MMM. A study on oxidative stress biomarkers and immunomodulatory effects of pesticides in pesticide-sprayers. *Egyptian J Forensic Sci*. 2011;1(2):93–98.
37. Le A, Cooper CR, Gouw AM, et al. Inhibition of lactate dehydrogenase A induces oxidative stress and inhibits tumor progression. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107(5):2037–2042.
38. Mayes PA, Bender DA. Overview of metabolism. In: Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW, editors. *Harper's Illustrated Biochemistry*. 26th ed. New York: Lange Medical Books; 2003: 122–237.
39. Hayashi T, Horiuchi A, Sano K, et al. Potential role of LMP2 as tumor-suppressor defines new targets for uterine leiomyosarcoma therapy. *Sci Rep*. 2011;1:180.
40. Mellgren K, Hedegaard CJ, Schmiegelow K, Müller K. Plasma cytokine profiles at diagnosis in pediatric patients with non-hodgkin lymphoma. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2012;34(4):271–275.
41. Shi H, Li W. Inhibitory effects of human lactoferrin on U14 cervical carcinoma through upregulation of the immune response. *Oncol Lett*. 2014;7(3):820–826.
42. Lan Q, Zheng T, Rothman N, et al. Cytokine polymorphisms in the Th1/Th2 pathway and susceptibility to non-Hodgkin lymphoma. *Blood*. 2006;107(10):4101–4108.
43. Haschemi A, Kosma P, Gille L, et al. The sedoheptulose kinase CARKL directs macrophage polarization through control of glucose metabolism. *Cell Metab*. 2012;15(6):813–826.
44. Dufort FJ, Bleiman BF, Gumina MR, et al. Cutting edge: IL-4-mediated protection of primary B lymphocytes from apoptosis via Stat6-dependent regulation of glycolytic metabolism. *J Immunol*. 2007;179(8): 4953–4957.
45. Cho SH, Ahn AK, Bhargava P, et al. Glycolytic rate and lymphomagenesis depend on PARP14, an ADP ribosyltransferase of the B aggressive lymphoma (BAL) family. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108(38): 15972–15977.
46. Maciver NJ, Jacobs SR, Wieman HL, Wofford JA, Coloff JL, Rathmell JC. Glucose metabolism in lymphocytes is a regulated process with significant effects on immune cell function and survival. *J Leukoc Biol*. 2008;84(4):949–957.
47. Ikeda H, Old LJ, Schreiber RD. The roles of IFN gamma in protection against tumor development and cancer immunoediting. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2002;13(2):95–109.
48. Donnelly RP, Loftus RM, Keating SE, et al. mTORC1-dependent metabolic reprogramming is a prerequisite for NK cell effector function. *J Immunol*. 2014;193(9):4477–4484.
49. Fischer K, Hoffmann P, Voelkl S, et al. Inhibitory effect of tumor cell-derived lactic acid on human T cells. *Blood*. 2007;109(9):3812–3819.

Journal of Blood Medicine

Publish your work in this journal

The Journal of Blood Medicine is an international, peer-reviewed, open access, online journal publishing laboratory, experimental and clinical aspects of all topics pertaining to blood based medicine including but not limited to: Transfusion Medicine; Blood collection, Donor issues, Transmittable diseases, and Blood banking logistics; Immunohematology; Artificial and alternative

Submit your manuscript here: <http://www.dovepress.com/journal-of-blood-medicine-journal>

Dovepress

blood based therapeutics; Hematology; Biotechnology/nanotechnology of blood related medicine; Legal aspects of blood medicine; Historical perspectives. The manuscript management system is completely online and includes a very quick and fair peer-review system. Visit <http://www.dovepress.com/testimonials.php> to read real quotes from published authors.

Publications et communications

Publications

Publication dans la revue « Journal of Blood Medicine » intitulé: « Relationship between NADPH and Th1/Th2 ratio in patients with non-Hodgkin lymphoma who have been exposed exposed to pesticides » (Mars 2015).

Publication dans la revue « Frontiers » intitulé: « Relationship between selenium intake and inflammatory markers in newly-diagnosed patients with B-cell non-Hodgkin lymphoma » (Août 2013).

Publication dans la revue « Antropo » intitulé : « Evaluation du statut martial chez des enfants âgés de 3 à 5 ans à Sidi Bel Abbés (Ouest Algérien) » (2013).

Publication dans la revue « Nutrition et Santé » intitulé : « Lait maternel, parasites intestinaux, affections chez des nourrissons à Sidi Bel Abbes » (décembre 2012).

Publication dans la revue « Antropo » intitulé : « Paramètres biochimiques chez une population d'enfants âgés de 0 à 3 ans à Sidi Bel Abbés (Ouest Algérien) » (2012).

Publication dans la revue « Médecine du Maghreb » intitulé : « Influence de l'allaitement maternel sur certains parasites intestinaux et quelques pathologies chez des enfants de moins de deux ans admis au CHU de Sidi Bel Abbés » (avril 2011).

Publication dans la revue « Antropo » intitulé : « Mesures anthropométriques chez une population d'enfants âgés de 0 à 3 ans à Sidi Bel Abbés (Ouest Algérien) » (juin 2011).

Communications

Neuvième rencontre pédiatrique de Tlemcen, 21 et 22 mai 2015 à Tlemcen (Algérie). Intitulé de la communication : « Evaluation du statut martial chez des enfants âgés de 3 à 5 ans à Sidi Bel Abbes.

5^{ème} congrès de Biologie Médicale et Médecine de laboratoire, 18 et 19 mai 2015 à Alger (Algérie). Intitulés des communications acceptées : « Variations des taux de cytokines chez des patients atteints de lymphome non-Hodgkinien (Ouest algérien) » et « Dérégulation de la balance oxydant/antioxydant au cours du lymphome non-Hodgkinien ».

1^{ère} Journée Nationale de la Société Algérienne de Nutrition, 16 octobre 2014 à Oran (Algérie). Intitulé de la communication : « Caractéristiques anthropométriques d'une population d'enfants d'âge préscolaire admis au CHU de Sidi Bel Abbes ».

Publications et communications

X^{es} JICC Oncogériatrie, 10-12 octobre 2014 à Constantine (Algérie). Intitulé de la communication : « Lymphome non Hodgkinien et personnes âgées ».

IFCC WorldLab Istanbul, 22-26 juin 2014 à Istanbul (Turquie), Intitulée de la communication acceptée : « Selenium impacts on inflammatory markers in patients with B-cell Non-Hodgkin Lymphoma ».

La journée mondiale du lait, 1 juin 2014 à Sidi Bel Abbes (Algérie). Intitulé de la communication : « Effet protecteur du lait maternel vis-à-vis des parasites intestinaux et des affections chez des nourrissons à Sidi Bel Abbes ».

IX^{ème} Journées Internationales de Cancérologie de Constantine, 11-13 octobre 2013 à Constantine (Algérie). Intitulés des communications acceptées : « Effets de la consommation du Sélénium sur des marqueurs inflammatoires chez des patients atteints de lymphome non-Hodgkinien à cellules B » et « Evaluation du statut nutritionnel et prise en charge des femmes atteintes d'un cancer du sein ».

5^{ème} journées de la Société Marocaine d'Immunologie, 7 et 8 octobre 2013 à Rabat (Maroc). Intitulé de la communication : « Impacts du sélénium sur des marqueurs inflammatoires chez des patients atteints de lymphome non-Hodgkinien nouvellement diagnostiqués ».

20th IFCC-EFLM European Congress of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EuroMedLab) et 45th congress of the Italian Society of Clinical Biochemistry and Clinical Molecular Biology (SIBioC), 19-23 mai 2013 à Milan (Italie). Intitulé de la communication : « Changes in total protein during a lymphoproliferative syndrome ».

11^{èmes} Journées Scientifiques de la Société Tunisienne d'Immunologie, 9-11 Mai 2013 à Monastir (Tunisie). Intitulée de la communication acceptée : « Effets de la consommation du Sélénium sur des marqueurs inflammatoires chez des patients atteints de lymphome non-Hodgkinien à cellules B ».

Premier congrès international de la société algérienne de nutrition les 5 et 6 décembre 2012 à Oran (Algérie). Attestation de participation. Intitulé de la communication : « Lait maternel, parasites intestinaux, affections chez des nourrissons à Sidi Bel Abbes ».

Publications et communications

The first joint meeting of the French Societies for Cell Biology and Developmental Biology, 16-19 octobre 2012 à Montpellier (France). Attestation de participation. Intitulé de la communication: « Variations in rates of C-reactive protein in patients with non-Hodgkin lymphoma ».

Premières journées de cardiologie et de chirurgie cardiovasculaire le 14, 15 et 16 septembre 2012 à Sidi Bel Abbés (Algérie). Attestation de participation. Intitulé de la communication : « Diminution des taux de la vitamine C chez des patients atteints de lymphome non-Hodgkinien ».

3^{ème} congrès de la société algérienne de biologie clinique le 18, 19 et 20 octobre 2011 à Alger (Algérie). Attestation de participation. Intitulé de la communication : « Mesures anthropométriques chez une population d'enfants âgés de 0 à 3 ans à Sidi Bel Abbas ».

3^{ème} congrès de la société algérienne de biologie clinique le 18, 19 et 20 octobre 2011 à Alger (Algérie). Attestation de participation. Intitulé de la communication : « Défenses anti-oxydantes et lymphome non-Hodgkinien ».

3^{ème} congrès de la société algérienne de biologie clinique le 18, 19 et 20 octobre 2011 à Alger (Algérie). Attestation de participation. Intitulé de la communication : « Variations des taux de protéines totales au cours du lymphome non-Hodgkinien ».

VII journées internationales de cancérologie de Constantine (Algérie) le 14, 15 et 16 octobre 2011. Attestation de participation. Intitulé de la communication : « Rôles de l'âge, du sexe, de la consanguinité et des variations protéiques au cours ou dans l'apparition d'un lymphome non-Hodgkinien ».

VII journées internationales de cancérologie de Constantine (Algérie) le 14, 15 et 16 octobre 2011. Attestation de participation. Intitulé de la communication : « Défenses anti-oxydantes et lymphome non-Hodgkinien ».

Le premier workshop d'immunologie « Anticorps monoclonaux : immunodétection et immunotechnologie » au niveau du laboratoire de Biologie moléculaire appliquée et d'immunologie Tlemcen (Algérie) les 2 et 3 mai 2011. Attestation de participation. Intitulé de la communication : « C-reactive protein levels in patients with Non-Hodgkin Lymphoma ».

The first meeting of medical oncology in Annaba (Algérie) le 8-9 avril 2011. Attestation de

Publications et communications

participation. Intitulé de la communication : « Protéine C réactive et lymphome non-Hodgkinien ».

Résumé

Introduction. Le lymphome non-Hodgkinien (LNH) est un syndrome lymphoprolifératif. L'apparition du LNH a été corrélée positivement à une exposition aux pesticides dans de nombreuses études, en effet, les pesticides ont un rôle dans la lymphomagenèse et conditionnent l'évolution des LNH ainsi que le pronostic du patients. Le lien entre les pathologies cancéreuses et l'altération du métabolisme a déjà été suggéré comme une caractéristique commune des tissus cancéreux. Les cellules cancéreuses dépendent de la glycolyse pour produire de l'énergie, même en présence d'oxygène à des concentrations normales, c'est l'effet Warburg.

Objectif. L'effet des pesticides sur le nicotinamide adénine dinucléotide phosphate hydrogène (NADPH) et l'altération du métabolisme « effet Warburg » ainsi que sa relation avec le rapport Th1/Th2 ont été évalué chez des patients souffrant de LNH.

Matériels et méthodes. 100 patients nouvellement diagnostiqués avec un LNH agressif (53 hommes, 47 femmes) et 40 contrôles (23 hommes, 17 femmes), exposés ou non aux pesticides, ont été recrutés pour une étude cas-témoin, menée au niveau des Services d'Hématologie des Centres Hospitaliers et Universitaires de Tlemcen et de Sidi Bel-Abbès.

Résultats. Les niveaux de NADPH ont été significativement élevés chez les patients par rapport aux contrôles; et chez les patients exposés aux pesticides (PE) par rapport aux non exposés (PNE) et aux contrôles (analyse unidirectionnelle de la variance, $p=0,000$). L'albumine, la glutathion peroxydase, la superoxyde dismutase, l'activité de catalase, et la capacité antioxydante totale (ORAC) ont été significativement diminués chez les patients en comparaison avec les contrôles, avec des niveaux de l'ORAC significativement diminués chez les PE par rapport aux PNE; cependant, les niveaux de malondialdéhyde ont été significativement augmentés chez les PE par rapport aux contrôles et aux PNE. Les taux de protéines carbonylées et de xanthine oxydase ont été significativement élevés chez les PE par rapport aux contrôles; alors qu'aucune différence significative n'a été observée entre les deux groupes de patients ou entre les PNE et les contrôles. Le rapport Th1/Th2 a été significativement diminué chez les patients par rapport aux contrôles; alors que le rapport neutrophiles sur lymphocytes a été significativement élevé (pour les deux comparaisons, $P<0,001$). En outre, le NADPH a été fortement associé au LNH (Odds ratio commun de Mantel-Haenszel = 5,55; intervalle de confiance 95% 2,22-13,88; $P= 0,000$). Aussi, les niveaux de NADPH ont été corrélés négativement au rapport Th1/Th2, soit chez les PE ou chez les PNE (respectivement, $r=-0,498$ [$P=0,004$] et $r=-0,327$ [$p=0,006$]).

Conclusions. L'exposition aux pesticides a été fortement associée à l'altération du métabolisme « effet Warburg » et des taux de NADPH au cours du LNH. La relation entre le NADPH et le rapport Th1/Th2 devrait être au centre des nouvelles stratégies thérapeutiques contre la maladie.

Mots clés. Lymphome non hodgkinien, pesticides, effet Warburg, NADPH, rapport Th1/Th2.
