

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère Supérieur de l'Enseignement et la Recherche Scientifique
Université de Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie et Physiologie Cellulaire
Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention d'un diplôme de Master
Option : Biologie Cellulaire et Moléculaire

Thème :

Influence de la chimiothérapie sur le statut oxydant –
antioxydant des enfants atteints de lymphomes

Travail réalisé au niveau de laboratoire de Biologie Cellulaire et Moléculaire ,
Cytokine – NO synthèse de l'univrsité USTHB

Présenté et soutenu le : 30/06/2018 par

El bahri Chaima

Lamari Dehbia

Devant le jury :

M ^{me} Sour Souad	MCB	Présidente .
M ^{me} Kanane Amel	MAA	Examinatrice .
M ^{me} Galleze Assia	MCB	Promotrice .
M ^{me} Eddaikra Atika	MAA	Co – promotrice.
Dr Saadi Leila	MCA	Responsable d'option BMC

2017/2018

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère Supérieur de l'Enseignement et la Recherche Scientifique
Université de Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie et Physiologie Cellulaire
Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention d'un diplôme de Master
Option : Biologie Cellulaire et Moléculaire

Thème :

Influence de la chimiothérapie sur le statut oxydant –
antioxydant des enfants atteints de lymphomes

Présenté et soutenu le : 30/06/2018 par

El bahri Chaima

Lamari Dehbia

Devant le jury :

M ^{me} Sour Souad	MCB	Présidente .
M ^{me} Kanane Amel	MAA	Examinatrice .
M ^{me} Galleze Assia	MCB	Promotrice .
M ^{me} Eddaikra Atika	MAA	Co – promotrice.
Dr Saadi Leila	MCA	Responsable d'option BMC

2017/2018

Remerciements :

Tout d'abord on remercie Dieu tout puissant de nous avoir donné la force, le courage et la persévérance pour mener à bien ce mémoire.

On remercie énormément notre promotrice Mme Galleze Assia . Maitre de conférences B à la faculté des Sciences biologiques à l'université des Sciences et de la Technologie Bab Ezzouar pour son aide précieuse qui nous a accompagnées tout au long de notre travail, pour ses valeureux conseils et sa disponibilité.

On tient à remercier tout particulièrement notre Co-promotrice Mme Eddaikra Atika. Maitre assistante A à la faculté des Sciences de la Nature et de la vie à l'université de Saad Dahleb de Blida nous lui témoignons notre gratitude pour sa patience et son soutien qui nous a été précieux afin de mener notre travail à bon port.

On tient à remercier chaleureusement «MadameSAADI L» MCA notre chef d'option et chef de département à l'Université de Blida 1, pour son soutien permanent ainsi que sa disponibilité pour l'achèvement de notre cursus universitaire et plus particulièrement pour la réalisation de ce travail.

Nos vifs remerciements vont à Mme Sour Souad de nous avoir fait l'honneur d'accepter de présider ce jury. Egalement à Mme Kanane Amel d'avoir accepté de faire partie du jury et d'examiner ce présent travail.

On remercie le chef de laboratoire biologie cellulaire et moléculaire Cytokines-NO synthase Pr Touil , de nous avoir bien accueillies au sein de son laboratoire

On remercie toute l'équipe du laboratoire pour leur accueil, leur respect et leur gentillesse.

On tient à exprimer nos sincères remerciements à tous les enseignants qui nous ont enseigné et qui par leurs compétences nous ont soutenu dans la poursuite de nos études.

On remercie nos familles respectives qui ont eu confiance en nous et qui ont toujours été présents, leur soutien était la raison majeure pour surmonter tous les obstacles. On les remercie énormément.

On remercie nos chers (e) : camarades et amis (e) pour leur soutien et leurs encouragements.

Au terme de ce mémoire, on tient à remercier toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à son élaboration.

Résumé :

Les lymphomes malins sont un groupe de cancers tissulaires lymphoïdes, ganglionnaires ou extra-ganglionnaires associés à la transformation néoplasique d'une cellule lymphocytaire. Ce groupe de tumeurs malignes hématologique présente une prédominance masculine. La maladie de Hodgkin et le lymphome non hodgkinien sont classiquement distingués. Le but de notre travail est d'identifier l'influence de la chimiothérapie sur le statut oxydatif chez les enfants atteints de lymphome en analysant certains paramètres du stress oxydatif (MDA, protéines carbonyles, catalase et glutathion). Le recrutement de l'ensemble des patients a été réalisé au niveau du service de pédiatrie B de l'hôpital de Beni Messous. L'étude a inclus 19 enfants atteints du lymphome de Hodgkin et 21 avec lymphome de Burkitt et 50 témoins dans le même groupe d'âge. Nos résultats montrent des niveaux élevés de marqueurs d'oxydation des malondialdéhydes et protéines carbonylées par rapport aux témoins, et des taux plus élevés en comparant les patients avant et après la chimiothérapie. En ce qui concerne le système de défense antioxydant, les patients ont de faibles niveaux de l'activité catalase, et glutathion réduit par rapport aux témoins et des niveaux inférieurs après la chimiothérapie. En conclusion, la plupart des agents chimiques utilisés dans la chimiothérapie des lymphomes malins ont des effets secondaires, ils sont considérés comme des générateurs de ROS et une cause majeure de déséquilibre du rapport oxydatif / état antioxydant.

Mots-clés : chimiothérapie, lymphome infantile, lymphome non hodgkinienne, maladie de Hodgkin, malondialdéhyde, protéines carbonylées, stress oxydatif.

Summary:

Malignant lymphomas are a group of lymphoid, ganglionic or extra-ganglionic tissue cancers associated with the neoplastic transformation of a lymphocyte cell. This group of malignant haematological tumors is predominantly male. Hodgkin's disease and non-Hodgkin's lymphoma are classically distinguished. The aim of our work is to identify the influence of chemotherapy on the oxidative status in children with lymphoma by analyzing some parameters of oxidative stress (MDA, protein carbonyls, catalase and glutathione). All patients were recruited at the pediatric B department of Beni Messous Hospital. The study included 19 children with Hodgkin's lymphoma and 21 with Burkitt's lymphoma and 50 controls in the same age group. Our results show high levels of oxidation markers of malondialdehydes and carbonylated proteins compared to controls, and higher rates by comparing patients before and after chemotherapy. With respect to the antioxidant defense system, patients have low levels of catalase activity, and reduced glutathione compared to controls and lower levels after chemotherapy. In conclusion, most of the chemical agents used in the chemotherapy of malignant lymphomas have side effects, they are considered as generators of ROS and a major cause of imbalance of the oxidative ratio / antioxidant state.

Keywords: chemotherapy, childhood lymphoma, non-Hodgkin lymphoma, Hodgkin's disease, malondialdehyde, carbonylated proteins, oxidative stress.

الملخص :

الأورام اللمفاوية الخبيثة عبارة عن مجموعة من سرطان الأنسجة اللمفاوية، العقدية أو خارج الأنسجة العقدية المرتبطة بالتحول الورمي للخلية اللمفاوية . هذه المجموعة تصيب غالبا الأطفال الذكور . تم تصنيف مرض هوكجين و المرض اللاهوجيني تقليديا .

الهدف من عملنا هو تحديد تأثير العلاج الكيميائي على حالة الأوكسدة لدى الأطفال المصابين باللمفوما (سرطان الغدد الليمفاوية هودجكين و ليمفوما اللاهوجكين) عن طريق تحليل بعض علامات الإجهاد التأكسدي (malondialdehyde , proteines carbonylées ، الكاتالاز و الجلوتاثيون) تم تجنيد كل المرضى لمصلحة طب الاطفال (ب) في مستشفى بني مسوس . الدراسة شملت 19 طفل مصاب باللمفوم الهوجكيني و 21 طفل مصاب باللمفوم اللاهوجكيني و 50 طفل سليم في نفس فئة الأعمار . نتائجنا أوضحت ارتفاع علامات أكسدة جزيئات بيولوجية protéine carbonylé و malondialdehyde بالنسبة للمجموعة (شاهد) ، و نتائج مرتفعة مقارنة بين قبل و بعد العلاج الكيميائي . فيما يخص نظام الدفاع المضاد للأوكسدة : المرضى لهم مستوى منخفض في نشاط الكاتالاز و غلوتاثيون بالنسبة للشهود و مستوى منخفض بعد العلاج . و في الأخير معظم العناصر الكيميائية المستعملة في العلاج الكيميائي في أمراض السرطان اللمفاوية لهم آثار جانبية : فهم يعتبروا مصدر ROS و سبب رئيسي في اختلال نظام نسبة الأوكسدة / المضاد للأوكسدة.

كلمات مفتاحية : العلاج الكيميائي ، ليمفوما الأطفال ، مرض هوكجين ، مرض لاهوجيني، مالونديالديهيد ، بروتينات مؤكسدة ،

Liste des abréviations :

ABVD	Adriamycin Blenoxane Velbe et DTIC
ADN	Acide Desoxyribo Nucléique
CAT	Catalase
CAF	Carcinome Associé au Fibroblaste
CHOP	Cyclophosphamide Hydroxyadriamycine Oncovin et Prednison
CLP	Common Lymphoid progenitor
COPDAC	Cyclophosphamide Vincristine Prednisone et Dacarbazine
COPP	Cyclophosphamide vincristine prednisone et Chlorhydrate de procarbazine
Ctt1	Cytoplasmic catalase T
EBV	Epstein-Barr Virus
EMT	Epithelial – Mesenchymal Transition
ETP	Early Thymic progenitor.
HIV	Human Immunodeficiency Virus
H pylori	Helicobacter pylori
HTLV	Human T-lymphotropic virus
Ig	Immunoglobuline
GPx	Glutathion Peroxydase
LH	Lymphome Hodgkinien

LNH	Lymphome non Hodgkinien
LLC	Leucémie lymphocytaire chronique
MDA	Malondialdehyde
MOPP	Méchlorométhine Oncovin Procarbazine et Prédnisolone
NADH	dihyronicitineamide Adénine Dinucléotide
NK	Natural Killer
O₂⁻	Anion Superoxyde
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
PUFA	Polyunsaturated Fatty Acid
RAG 1/2	recombination activating gene
ROS	Reactive Oxygen Species
SNC	Système Nerveux Central
TBARS	Thiobarbituric acid reactive substances
TGF-β	transforming growth factor β
SOD	Super Oxyde Dismutase

Glossaire :

- **Adénopathie :** c'est-à-dire l'apparition à sa surface d'une tumeur de taille supérieure à 1 cm de diamètre ; néanmoins, on parle plus spécifiquement d'adénopathie lorsque c'est un ganglion lymphatique qui est concerné et qu'il augmente de volume (il devient alors palpable).
- **Agent alkylant :** il forme des liaisons covalentes avec les nucléotides de la chaîne d'ADN et inhibe la réplication.
- **L'anneau de Waldeyer :** Zone annulaire de tissu lymphoïde formée par les amygdales palatines et laryngées avec les follicules lymphatiques adjacents.
- **Antioxydants :** sont des molécules qui empêchent l'oxydation de certaines substances chimiques.
- **Centre germinatif :** Zone d'un follicule d'un organe lymphoïde secondaire (rate, ganglion lymphatique) dans laquelle les lymphocytes B activés sont en prolifération intense.
- **Le CSH** est considéré comme la cellule souche adulte paradigmatique car il peut se différencier en tous les types de cellules sanguines. Les CSH sont rares - moins d'un CSH est présent par 5 10⁴ cellules dans la moelle osseuse - et leur nombre est strictement contrôlé par un équilibre entre la division cellulaire, la mort et la différenciation.
- **Cellule Popcorn :** cellules atypiques « lymphohistiocytaires », à noyau lobé au sein des follicules lymphoïdes en transformation. Ces cellules n'ont pas l'aspect morphologique des cellules de Reed Sternberg « diagnostiques ».
- **Cellule de Reed Sternberg :** Cellule tumorale géante signant la maladie de Hodgkin classique. Son cytoplasme est fortement chromophile, le noyau est énorme, typiquement bilobé, en «masque de carnaval» Son aspect est facile à identifier au sein d'un adénogramme ou d'une coupe histologique devant une volumineuse cellule de 30 à 100µm, à haut rapport nucléocytoplasmique.
- **Commutation de classe :** Est un processus qui lors de la maturation d'un lymphocyte B permet de changer l'isotype de l'immunoglobuline produites.
- **Diaphragme :**Le diaphragme est un muscle situé entre le thorax et l'abdomen. Il se contracte lors de l'inspiration et se décontracte lors de l'expiration.
- **Endémique :** Ce qui est particulier à une localité ou une région donnée.
- **Fibrose :** augmentation anormale de la quantité de tissu conjonctif fibreux dans un tissu ou un organe.

- **Follicule lymphoïde :** Sont de grosses formations arrondies de consistance dure, constituées d'éléments et de cellules réticulaires entassées appartenant au tissu lymphatique renferment des lymphocytes.
- **Ganglion lymphatique :** Les ganglions lymphatiques sont de petits organes arrondis, disséminés partout dans l'organisme sur le trajet de la circulation de la lymphe, la principale fonction des ganglions lymphatiques est de déclencher rapidement des réactions de défense en cas d'arrivée dans l'organisme d'agents extérieurs type virus ou bactéries.
- **Hémopathie :** L'hémopathie désigne les maladies du sang qui touchent les érythrocytes, les leucocytes et les plaquettes.
- **Les lymphocytes :** sont les principaux acteurs de la réponse immunitaire adaptative. Ils représentent 20% à 40% des globules blancs circulants et 99% des cellules de la lymphe. Les lymphocytes peuvent être largement subdivisés en trois grandes populations sur la base de différences fonctionnelles et phénotypiques : les lymphocytes B (cellules B), les lymphocytes T (cellules T) et les cellules tueuses naturelles (NK).
- **Le lymphocyte B (cellule B)** a dérivé sa désignation de lettre de son site de maturation, dans la bourse de Fabricius chez les oiseaux ; le nom s'est avéré être approprié, car la moelle osseuse est son principal site de maturation chez les humains, les souris et de nombreux autres mammifères. Les cellules B matures se distinguent nettement des autres lymphocytes et de toutes les autres cellules par leur synthèse et la présentation du récepteur des cellules B (BCR), une molécule d'immunoglobuline (anticorps) liée à la membrane qui se lie à l'antigène.
- **Les lymphocytes T :** (cellules T) tirent leur désignation de lettre de leur site de maturation dans le thymus. Comme la cellule B, la cellule T exprime un récepteur unique de liaison à l'antigène appelé le récepteur des cellules T. Cependant, contrairement aux anticorps membranaires sur les lymphocytes B, qui reconnaissent les antigènes solubles ou particuliers, les récepteurs des lymphocytes T ne reconnaissent que les fragments d'antigène traités (typiquement les peptides) liés aux protéines membranaires appelées molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (MHC).
- **Maladie nodale :** Un nodule est une formation anormale, arrondie, palpable dans ou sous la peau, qui peut être une tumeur bénigne ou maligne.
- **Médiastin :** est la région de la cage thoracique située entre les deux poumons contenant le cœur, l'œsophage, la trachée et les bronches souches.
- **La moelle osseuse** est un organe lymphoïde primaire qui favorise l'auto-renouvellement et la différenciation des cellules souches hématopoïétiques (CSH) en cellules sanguines matures. Bien que tous les os contiennent de la moelle, les os longs (fémur, humérus), les

os de la hanche (iléon) et le sternum ont tendance à être les sites les plus actifs de l'hématopoïèse. La moelle osseuse est non seulement responsable du développement et de la reconstitution des cellules sanguines, mais elle est également responsable du maintien du pool de cellules souches hématopoïétiques tout au long de la vie d'un vertébré adulte.

- **Mutation somatique** : Une mutation somatique, qui affecte un gène d'une cellule somatique disparaît avec l'individu porteur ; une mutation germinale peut être transmise à sa descendance.
- **Nécrose** : est le terme utilisé pour la mort cellulaire non –apoptotique et accidentelle.
- **Néoplasie** : Est un développement anormale des cellules qui prolifèrent sans bénéficier d'une fonction ni d'une structure utile à l'organisme
- **Oncogène** : tout gène cellulaire, appelé proto-oncogène susceptible de devenir par suite d'une modification qualitative et quantitative un gène transformant capable de conférer le phénotype cancéreux à une cellule normale.
- **Les organes lymphoïdes primaires** : ce sont le lieu de production développement et la sélection des lymphocytes. Le thymus et la moelle osseuse sont les deux organes lymphoïdes primaires. Dans les organes lymphoïdes primaires, les lymphocytes T et B :
 - se différencient à partir des progéniteurs lymphoïdes ;
 - prolifèrent ;
 - sont sélectionnés.
- **Les organes lymphoïdes secondaires** sont le lieu d'activation des lymphocytes naïfs, et donc le point de départ de la réponse immunitaire adaptative.

On distingue des organes lymphoïdes secondaires bien structurés, comme la rate et les ganglions lymphatiques, et des tissus lymphoïdes, accumulations de cellules lymphoïdes non encapsulées dans un organe, comme les tissus lymphoïdes associés aux muqueuses.
- **Phénotype TdT** : L'ADN polymérase terminale désoxynucléotidyl transférase (TdT) est un marqueur utile des cellules lymphoïdes primitives, Ces cellules peuvent représenter un trafic de cellules progénitrices lymphoïde entre la moelle osseuse et le thymus,(il est possible que ces cellules sont des prothymocytes, dérivés de cellules hématopoïétiques de moelle osseuse et destiné au thymus.).
- **Population immunodéprimées** : L'immunodépression, ou déficit de l'immunité cellulaire, peut être définie comme l'incapacité de l'organisme à contrôler un agent infectieux qui est peu pathogène et n'induit qu'une infection asymptomatique ou bien aiguë et curable dans la population normale.

- **progéniteur myéloïde-érythroïde commun (CMP)**, qui donne lieu à tous les globules rouges (la lignée érythroïde), les granulocytes, les monocytes et les macrophages (la lignée myéloïde).
- **un progéniteur lymphoïde commun (CLP)**, ce qui provoque aux lymphocytes B, aux lymphocytes T et aux cellules NK.
- **Radical libre** : Espèce chimique possédant un électron non apparié.
- **Réplication d'ADN** : désigne un phénomène qui a lieu lors de la division cellulaire au cours duquel une molécule d'ADN parent se produit en deux molécules d'ADN fille identiques.
- **Le thymus** : est situé en avant du cœur, il involue à l'adolescence. C'est un organe entouré d'une capsule conjonctive et bilobé, chaque lobe est divisé en lobules. Dans les lobules, on distingue deux régions :

Le cortex, la partie externe des lobules, qui contient les cellules lymphoïdes T immatures (appelés thymocytes) et en prolifération,

La médulla, sous le cortex, qui contient des cellules T plus matures.

Sommaire :

Introduction :	1
1. Les lymphomes malins :	3
2. Le système lymphatique :	3
3. Le développement des LB:	4
3.1. Développement des LB :	4
4. Les lymphomes.....	5
4.1. Définition des lymphomes.....	5
4.2. Classification des lymphomes	5
4.2.1. La maladie de Hodgkin	5
a. La maladie de Hodgkin nodulaire à prédominance lymphocytaire.....	6
b. La maladie de Hodgkin classique.....	6
4.2.2. Lymphome non Hodgkinien	7
a. Lymphome de Burkitt.....	8
b. Lymphome lymphoblastique B.....	9
c. Lymphome diffus à grandes cellules B	9
d. Lymphome à grandes cellules anaplasiques	9
5. Classification de stades des lymphomes :	10
a. Lymphome hodgkinien :	10
b. Lymphome non hodgkinien :	12
6. Chimiothérapie :	12
7. Stress oxydatif , statut oxydant ,anti oxydant.....	15
7.1. Systèmes de défense antioxydants	16
7.1.1. Superoxyde dismutase (SOD, EC 1.15.1.1) :	16
7.1.2. Catalase (CAT, EC 1.11.1.6) :	17
7.1.3. Glutathione peroxidases (GPx, EC 1.11.1.9) :	17
8. Les conséquences de stress oxydatif :	17
8.1. la peroxydation lipidique :	17
8.2. Oxydation protéique :	19
II. Matériel et méthode :	21
II.1. Patients étudiés.....	21
II.2. Population témoin.....	21
II.3. Dosages des marqueurs du stress oxydant	22

II.3.1.	Dosage du Malondialdehyde (MDA)	22
II.3.2.	Dosage des protéines carbonylées (PC)	22
II.3.3.	Détermination de l'activité de la catalase (CAT)	22
II.3.4.	Dosage du glutathion(GSH)	23
III.	Description de la population :	24
III.1.1.	répartition des enfants atteints de lymphome selon le sexe :.....	24
III.2.	Evaluation des paramètres de stress oxydatif :.....	25
III.2.1.	paramètre de MDA chez les enfants atteints de lymphome et les témoins : 25	
III.2.2.	paramètre de PC chez les enfants atteints de lymphome et les témoins :.....	26
III.2.3.	paramètre de la catalase chez les enfants atteints de lymphome et les témoins : 27	
III.2.4.	paramètre de la GSH chez les enfants atteints de lymphome et les témoins : 28	
	Discussion :	29
	Conclusion et perspective :.....	33
	Références bibliographiques :	35

Liste des figures :

Figure 1 :stades de maturation de lymphocytes.....	4
Figure 2 : : Développement de cellules B et sous-ensembles de cellules B	5
Figure 3 : Maladie de Hodgkin nodulaire à prédominance lymphocytaire X 1000.....	6
Figure 4 : Maladie de Hodgkin scléro-nodulaire X 400	7
Figure 5 : Lymphome hodgkinien à cellularité mixte X 400.....	8
Figure 6 : Lymphome hodgkinien à cellularité mixte X 400.....	8
Figure 7 : Lymphome de Burkitt X 1000.....	9
Figure 8 :Lymphome hodgkinien à déplétion lymphocytaire X 400	9
Figure 9 : Lymphome lymphoblastique B X 400 (Medeiros, 2013)..	11
Figure 10 : Lymphome diffus à grandes cellules B X 1000.	11
Figure 11 : Lymphome à grandes cellules anaplasiques X 500	11
Figure 12 Voie du métabolisme du cyclophosphamide catalysé par le cytochrome P450.....	14
Figure 13 Origine des espèces réactives de l'oxygène. Les quatre étapes de la réduction de l'oxygène et la formation des intermédiaires partiellement réduits	15
Figure 14 : modèle d'un équilibre entre les pro-oxydants et les antioxydants..	16
Figure 15 : Principales sources de radicaux libres dans le corps et les conséquences des dommages causés par les radicaux libres	18
Figure 16 : oxydation protéique	20
Figure 17 : représentation des sujets selon l'état de santé	24
Figure 18 : représentation des enfants atteints de LH selon le sexe	24
Figure 19 : représentation des enfants atteints de LNH selon le sexe.....	24
Figure 20 : Taux plasmatiques du MDA chez les patients et les témoins	25
Figure 21:Le taux de PC chez les patients et les témoins.....	26
Figure 22 : l'activité de CAT chez les patients et les témoins.....	27
Figure 23 : Teneurs plasmatiques en Glutathion chez les enfants atteints de (LH et LNH) et témoins avant et après chimiothérapie	28

Liste des tableaux :

Tableau 1 : les différents stades de lymphome de hodgkin.....	10
Tableau 2 : les différents stades de lymphome non hodgkinien.....	12
Tableau 3: le nombre et le moyen d'âge des population d'étude	21
Tableau 4 : taux plasmatique de MDA chez les patients et les témoins	25
Tableau 5 : le taux de PC chez les patients et les témoins	26
Tableau 6 : l'activité de CAT chez les patients de et les Témoin.....	27
Tableau 7 : les taux de GSH chez les témoins et les patients.....	28

Introduction :

Les lymphomes malins constituent un groupe hétérogène de prolifération lymphoïde ganglionnaire ou extra-ganglionnaire, lié à la transformation néoplasique d'une cellule lymphocytaire. Ils représentent la troisième cause du cancer chez l'enfant après les leucémies et les tumeurs cérébrales, avec une prédominance masculine. L'intérêt particulier porté aux lymphomes est dû à l'augmentation de leur incidence, à une meilleure connaissance de leur développement et aux progrès thérapeutiques permettant une guérison dans un certain nombre de cas. Deux formes sont distinguées, la maladie de Hodgkin et les lymphomes malins non hodgkiniens. La maladie de Hodgkin se produit plus fréquemment chez les adolescents. Deux formes sont distinguées, la maladie de Hodgkin classique qui se caractérise par la présence de cellules anormales de Hodgkin et/ou de Reed Sternberg et la maladie de Hodgkin à prédominance lymphocytaire (Jona et al., 2013). Le lymphome malin non hodgkinien est la forme la plus courante chez les enfants entre 0-5ans. Les principaux types chez l'enfant sont le lymphome de Burkitt (LB), le lymphome lymphoblastique (LL) et le lymphome à larges cellules (LLC) (Marcotte et al., 2014, Costas et al., 2014).

Chez l'enfant, les lymphomes se distinguent de ceux de l'adulte par leur agressivité, leur caractère diffus, leur haut grade de malignité, une croissance tumorale très rapide, une localisation extra-ganglionnaire fréquente ainsi qu'une chimiosensibilité plus importante associée à un très bon pronostic sous réserve de polychimiothérapies intensives (Shankland, 2012).

Cependant, ces agents chimiothérapeutiques, utilisés pour détruire les cellules cancéreuses ou pour empêcher leur croissance, provoquent la formation de radicaux libres en raison de leur activité métabolique et leur efficacité peut être due à une augmentation des espèces réactives de l'oxygène. La production excessive de ces radicaux libres contribue au stress oxydatif par une série de réactions en chaîne et affecte diverses macromolécules cellulaires comme les lipides, les protéines et l'ADN (Crohnset al., 2009). En effet, les réactions de peroxydations libèrent différents aldéhydes toxiques dont le malondialdéhyde. L'attaque des phospholipides membranaires par ces aldéhydes provoquent des dépôts de lipides oxydés dans les vaisseaux et les tissus âgés et la genèse de dérivés carcinogènes (Delattre, 2003). De plus, les modifications oxydatives des protéines se traduisent par l'oxydation de la chaîne polypeptidique conduisant à une fragmentation des protéines et l'apparition des groupements carbonyles (Blandin et al. 2006).

Dans le cadre de suivi thérapeutique nous avons étudié dans notre travail :

- l'influence de la chimiothérapie sur le statut oxydant-antioxydant des enfants atteints de lymphomes malins par l'évaluation des différents paramètres du stress oxydant à savoir le malondialdéhyde, les protéines carbonylées, la catalase et le glutathion

Recherche bibliographique

1. Les lymphomes malins :

Les lymphomes malins sont des proliférations malignes des tissus lymphoïdes ; ce sont des tumeurs du système immunitaire B ou T. De nombreuses études effectuées ces deux dernières décennies indiquent une tendance à l'augmentation de l'incidence des lymphomes (surtout les lymphomes non hodgkiniens [LNH]) dans le monde. (Bosly A, 1997 ; Baris D 2000)

Parmi les facteurs qui avaient été évoqués dans l'étiopathogénie des lymphomes, figurent en premier lieu les agents infectieux, l'immunodépression sévère et l'exposition professionnelle ou environnementale (Adamson P , Merhi M 2007) dans les pays développés et des causes infectieuses virales notamment (VIH, EBV, HTLV-1), parasitaires (paludismes) ou bactériennes (*Helicobacter pylori* : *H pylori*) dans les pays en développement (Parkin DM 2003).

Les lymphomes sont hétérogènes au niveau clinique, morphologique et moléculaire et ont des caractéristiques qui se chevauchent. Des études mécanistes ont montré que les lymphomes sont entraînés ou affectés par des altérations génétiques anormales, une régulation épigénétique désordonnée, une activation de la voie aberrante et des interactions complexes tumeur-microenvironnement. (Hanahan D2011 , Shaffer AL 2012 , Scott DW2014)

En Algérie, les caractéristiques épidémiologiques et les facteurs étiopathogéniques des lymphomes sont encore mal connus. (Zeggai.S *et al.*, 2013)

2. Le système lymphatique :

Le système lymphatique est constitué principalement de cellules appelées lymphocytes. Il existe deux principaux types de lymphocytes: les lymphocytes B (cellules B): les cellules B produisent des protéines appelées anticorps pour aider à protéger le corps des germes (bactéries et virus). Les lymphocytes T (cellules T): Il existe plusieurs types de lymphocytes T. Certaines cellules T détruisent les germes ou les cellules anormales dans le corps. D'autres cellules T aident à stimuler ou ralentir l'activité des autres cellules du système immunitaire.

Tous les lymphocytes passent par des stades de maturation complexes au cours desquels ils expriment les récepteurs antigéniques et acquièrent les caractéristiques fonctionnelles et phénotypiques des cellules matures . Les sites anatomiques où se produisent les étapes majeures du développement lymphocytaire sont appelés les organes lymphoïdes générateurs (ou primaires ou centraux). Ceux-ci incluent la moelle osseuse, où les précurseurs de tous les lymphocytes se développent et les cellules B mûrissent, et le

thymus, où les cellules T mûrissent. (Abbas .A 2017)

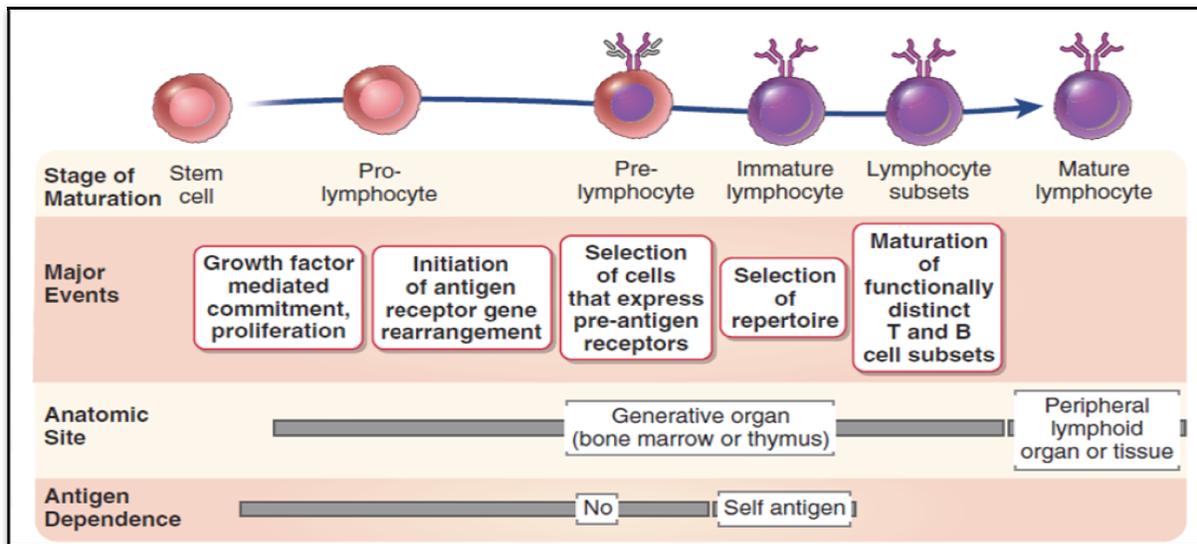


Figure 1 :stades de maturation de lymphocytes (Abbas et al ., 2017)

3. Le développement des LB:

3.1. Développement des LB :

Les premières étapes du développement des cellules B se déroulent dans des microenvironnements complexes créés par les cellules stromales de la moelle osseuse connues sous le nom de «niches» d'où proviennent les stimuli et les facteurs nécessaires pour initier une série de signaux cellulaires. Ceux-ci, à leur tour, activent des facteurs de transcription qui induisent, ou répriment, l'expression de différents gènes cibles qui modulent la survie, la prolifération et la différenciation cellulaire. L'interleukine 7 (IL-7) est essentielle au développement des cellules B et est produite par les cellules du stroma. Ainsi, et comme le montre la figure 2, le développement des cellules B débute à partir d'une CSH. Cela se transforme en un ELP et, ensuite, devient un CLP dont est dérivé, d'une part, les cellules tueuses naturelles (NK) et les cellules dendritiques (DC) et, d'autre part, progéniteur lymphoïde commun -2 (CLP-2), qui est responsable de la lignée des cellules B. Ceci est considéré comme le premier stade des cellules B immatures (Nagasawa T.2006 ; Kurosaki T 2010 et Pieper K *et al.* , 2013).

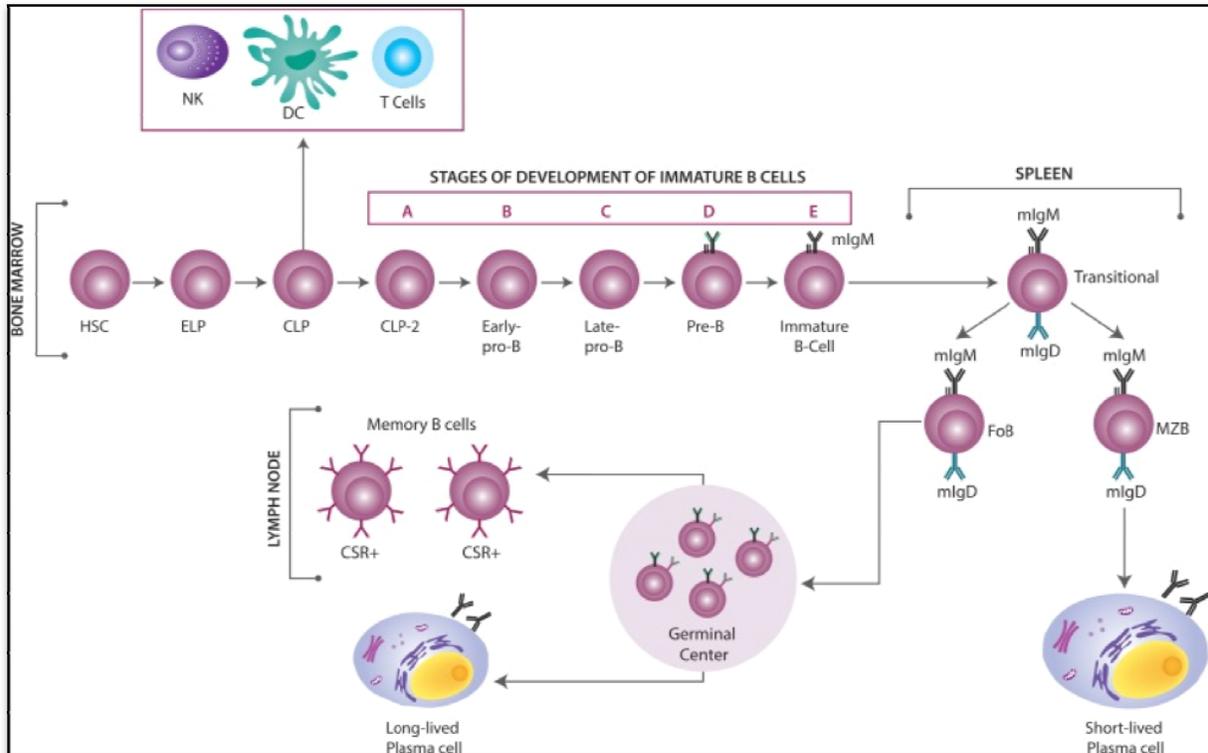


Figure 2 : : Développement de cellules B et sous-ensembles de cellules B B (Cano , R et al ., 2013)

4. Les lymphomes

4.1. Définition des lymphomes

Les lymphomes représentent un groupe de néoplasmes variés apparaissant le plus souvent dans les tissus lymphoïdes ganglionnaire ou extra ganglionnaire, liés à la transformation néoplasique de cellules lymphocytaires (Kuppers *et al.*, 2012). Il existe deux types de lymphomes : la maladie de Hodgkin et le lymphome non hodgkinien (Shankland, 2012).

4.2. Classification des lymphomes

4.2.1. La maladie de Hodgkin

C'est une affection maligne du tissu lymphatique, qui est initialement localisée à un ganglion ou un groupe ganglionnaire, et qui s'étend par voies lymphatique et sanguine aux ganglions contigus et aux tissus non lymphoïdes. C'est une entité bien individualisée dont l'élément pathognomonique est la mise en évidence de cellules de Hodgkin ou de Reed- Sternberg (RS), au sein d'un environnement de lymphocytes et parfois d'un granulome inflammatoire, associé à un degré variable de fibrose. L'organisation internationale de santé distingue deux grands types : la maladie de Hodgkin nodulaire à prédominance lymphocytaire et la maladie de Hodgkin classique (Jona *et al.*, 2013).

a. La maladie de Hodgkin nodulaire à prédominance lymphocytaire

La maladie de Hodgkin nodulaire à prédominance lymphocytaire (Figure 3) correspond à un lymphome B indolent dérivé d'une cellule B du centre germinatif et peut ressembler morphologiquement et phénotypiquement à la maladie de Hodgkin classique riche en lymphocytes, au lymphome à grandes cellules B riche en lymphocytes T et/ou en histiocytes. La distinction entre ces trois pathologies rares est basée sur l'immunophénotypage des cellules tumorales (Carbonnelle *et al.*, 2004 ; Piccaluga *et al.*, 2011).

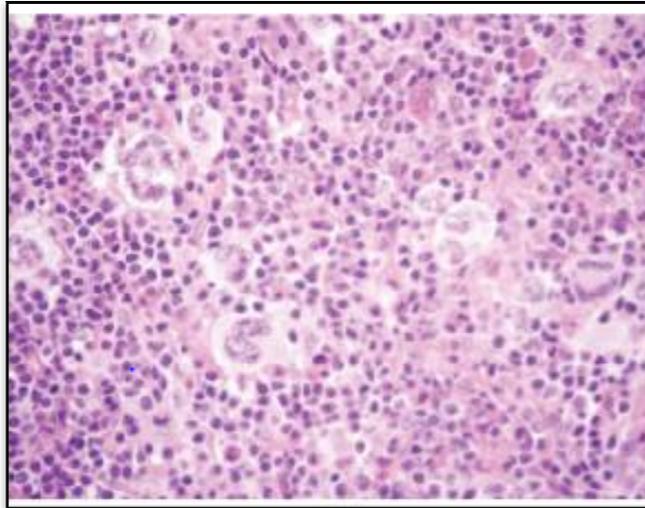


Figure 3 : Maladie de Hodgkin nodulaire à prédominance lymphocytaire X 1000 (Piccaluga et al., 2011).

b. La maladie de Hodgkin classique

La maladie de Hodgkin classique est divisée en 4 sous-types histologiques en fonction des données de l'examen anatomopathologique. - La maladie de Hodgkin scléro-nodulaire : est le sous-type le plus courant, la cellule HRS caractéristique est appelée cellule lacunaire (Figure 4). Comparées aux autres cellules HRS

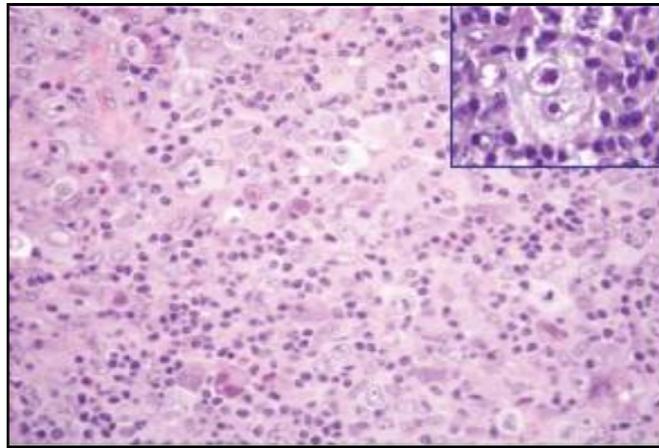


Figure 4 : Maladie de Hodgkin scléro-nodulaire X 400 (Piccaluga et al. , 2011) .

classiques, les cellules lacunaires ont des noyaux plus petits, moins de nucléoles proéminents, un cytoplasme plus abondant, et ont tendance à se grouper en amas (Piccaluga *et al.* , 2011).

- La maladie de Hodgkin riche en lymphocytes : représente 20 à 25 % des cas et se caractérise par une population cellulaire polymorphe, constituée d'une majorité de petits lymphocytes T qui forment des rosettes autour des cellules tumorales associées aux plasmocytes et aux polynucléaires éosinophiles (Figure 5) (Mani, 2009 , Piccaluga *et al.* , 2011).

La maladie de Hodgkin à cellularité mixte : représente environ 15 à 25 % des cas et se caractérise par une croissance diffuse avec un emplacement para-cortical fréquent . Les plasmocytes, histiocytes, épithéloïdes, polynucléaires éosinophiles et les lymphocytes T (CD3+, CD57-) formant des rosettes autour des cellules néoplasiques (Figure 6) (Piccaluga *et al.*, 2011).

- La maladie de Hodgkin à déplétion lymphocytaire : se caractérise par un degré marqué d'une fibrose de réticuline entourant les cellules individuelles avec un petit nombre de petits lymphocytes, d'où la déplétion des lymphocytes (Figure 7) (Piccaluga *et al.* , 2011) .

4.2.2. Lymphome non Hodgkinien

Les lymphomes non hodgkiniens sont des néoplasies développées à partir des cellules lymphocytaires B ou T et entraînant une hypertrophie des organes lymphoïdes et non lymphoïdes (Truong *et al.*, 2012). Leur classification repose sur l'aspect morphologique du ganglion envahi, l'aspect cytologique des cellules tumorales, le phénotype immunologique des cellules tumorales et les données complémentaires issues des études cytogénétiques. Les principaux types chez l'enfant sont le lymphome de Burkitt, lymphoblastique et à larges cellules (Costas *et al.*, 2014 , Marcotte *et al.*, 2014).

a. Lymphome de Burkitt

Le lymphome de Burkitt représente entre 40 à 50 % des LMNH chez l'enfant. La cellule d'origine est une cellule B germinative centrofolliculaire. Ce lymphome présente une forme endémique en Afrique équatoriale qui représente le premier lymphome des enfants ayant entre 4 et 7 ans avec une prédominance masculine, une forme sporadique à travers le Monde chez les enfants et les jeunes adulte et enfin, un variant clinique atteint les malades du SIDA. Le lymphome de Burkitt présente des formes morphologiques différentes (lymphome de Burkitt classique, lymphome de Burkitt avec une différenciation plasmocytoïde).Le lymphome de Burkitt exprime une translocation chromosomique caractéristique, habituellement $t(8; 14)$, entraînant l'expression inappropriée de *c-myc*, un gène impliqué dans la prolifération cellulaire.(Masqué-Soler N et al,2015) (Deffenbacher KE *et al.*,2012) (Figure 8) (Medeiros, 2013).

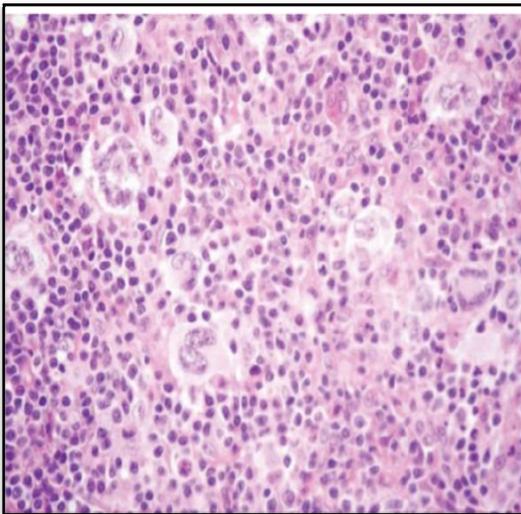


Figure 6 : Lymphome hodgkinien riche en lymphocytes X 400 (Piccaluga et al. , 2011).

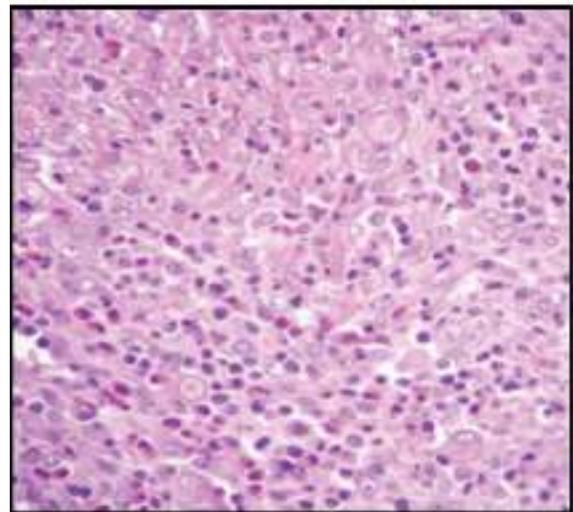


Figure 5 : Lymphome hodgkinien à cellularité mixte X 400 (Piccaluga et al. , 2011).

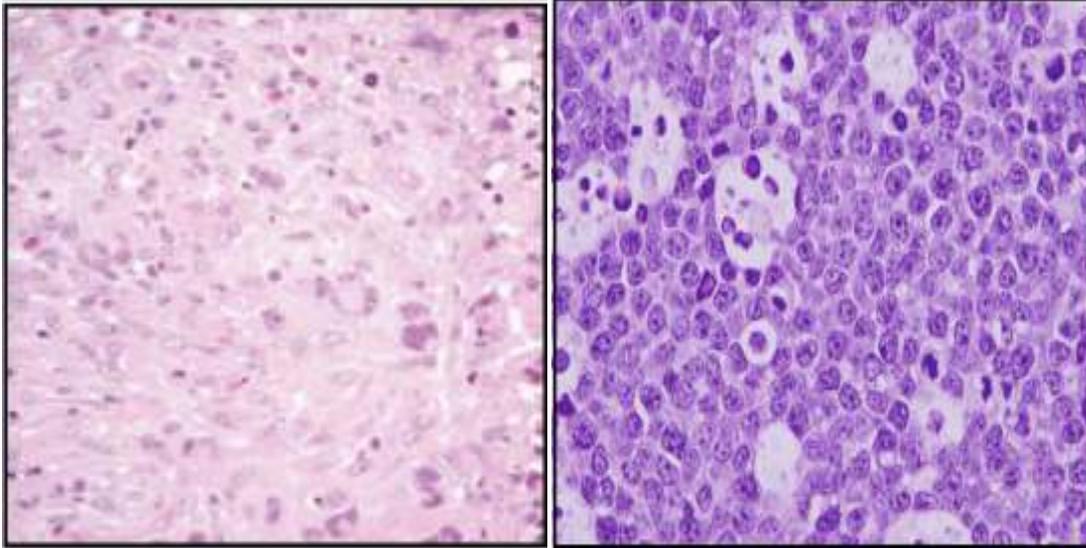


Figure 8 :Lymphome hodgkinien à déplétion lymphocytaire X 400 (Piccaluga et al. , 2011).

Figure 7 : Lymphome de Burkitt X 1000 (Medeiros, 2013).

b. Lymphome lymphoblastique B

Le lymphome lymphoblastique représente environ 25 % des cas de LMNH chez l'enfant. La maladie se développe dans la peau, la moelle osseuse, les tissus mous et les nœuds lymphatiques. Il se caractérise par la présence de deux types cellulaires, de petites cellules avec un cytoplasme peu abondant, une chromatine condensée, un nucléole peu distinct et de grandes cellules avec un cytoplasme modéré, une chromatine dispersée et de nombreux nucléoles proéminents. Des grains intracytoplasmiques azurophiles ainsi que des pseudopodes cytoplasmiques sont observés dans 10% des cas (Figure 9) (Brunning *et al.*, 2001).

c. Lymphome diffus à grandes cellules B

Le lymphome diffus à grandes cellules B représente environ 10 % des LMNH chez l'enfant. La cellule d'origine est la cellule B périphérique soit folliculaire ou post-folliculaire. Ce lymphome se développe dans les nœuds lymphatiques (60% des cas). Il se caractérise par une transformation de l'architecture de l'organe en un motif diffus (Figure 10) (Medeiros, 2013).

d. Lymphome à grandes cellules anaplasiques

Le lymphome anaplasique à grandes cellules représente environ 14 % des LMNH chez l'enfant. La cellule d'origine est un lymphocyte T cytotoxique. Il se développe dans les nœuds lymphatiques ainsi

que dans des sites extranodaux. Les cellules de grande taille sont caractérisées par un noyau en fer à cheval ou réniforme avec une région éosinophile près du noyau, une chromatine légèrement dispersée avec de nombreux nucléoles basophiles, un cytoplasme abondant, clair, basophile ou éosinophile (Figure 11) (Delsol *et al.*, 2001, Medeiros, 2013).

5. Classification de stades des lymphomes :

Le stade est déterminé par l'évidence anatomique de la maladie en utilisant la tomодensitométrie conjointement avec l'imagerie fonctionnelle.

a. Lymphome hodgkinien :

Table 1 : les différents stades de lymphome de hodgkin. (Edge SB, et al., 2010)

Stade I	Implication d'un seul site lymphatique (c.-à-d. Région nodale, anneau de Waldeyer, thymus ou rate)
Stade II	Implication de deux ou plusieurs régions des ganglions lymphatiques du même côté du diaphragme
Stade III	Implication des régions des ganglions lymphatiques des deux côtés du diaphragme
Stade IV	Implication diffuse ou disséminée d'un ou de plusieurs organes extralymphatiques, avec ou sans atteinte ganglionnaire associée Le stade IV comprend toute atteinte du foie ou de la moelle osseuse, des poumons (autres que par extension directe d'un autre site) ou du liquide céphalo-rachidien.

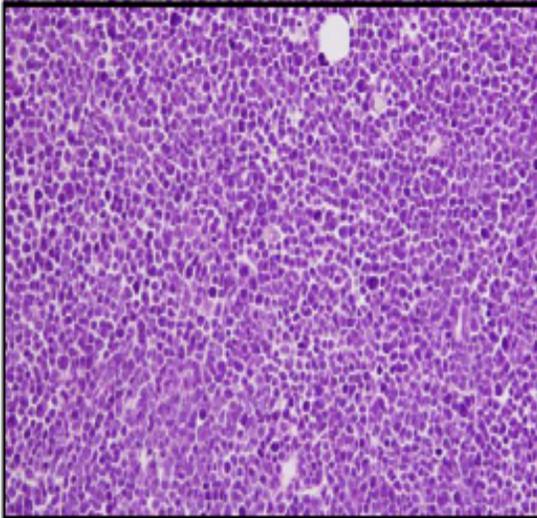


Figure 9 : Lymphome lymphoblastique B X 400 (Medeiros, 2013).

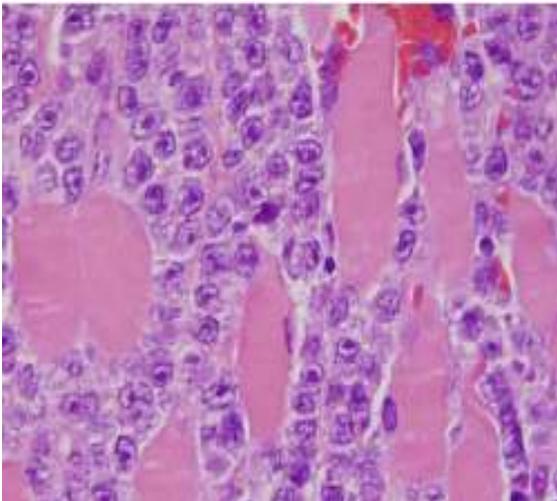


Figure 10 : Lymphome diffus à grandes cellules B X 1000 (Medeiros, 2013).

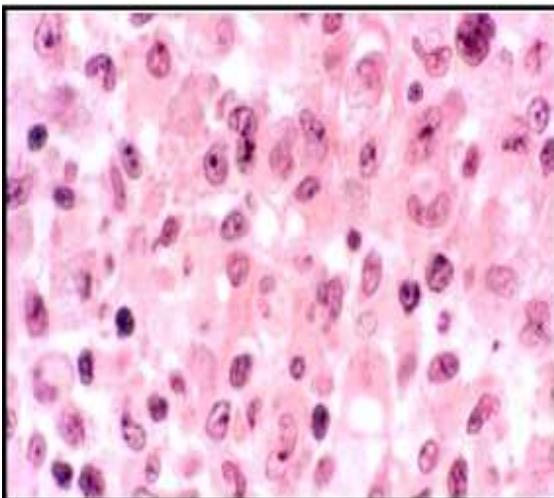


Figure 11 : Lymphome à grandes cellules anaplasiques X 500 (Medeiros, 2013).

b. Lymphome non hodgkinien :

Table 2 : les différents stades de lymphome non hodgkinien. (Salzburg J et al., 2007)

Stade I	Dans le LNH infantile de stade I , une seule tumeur ou zone nodale est impliquée, à l'exclusion de l'abdomen et du médiastin
Stade II	Dans le LNH infantile de stade II , l'extension de la maladie est limitée à une seule tumeur avec atteinte ganglionnaire régionale, deux ou plusieurs tumeurs ou zones nodales impliquées d'un côté du diaphragme, ou une tumeur primitive du tractus gastro-intestinal (complètement réséquée) avec ou sans envahissement ganglionnaire
Stade III	Dans le LNH infantile de stade III, des tumeurs ou des zones ganglionnaires impliquées se produisent des deux côtés du diaphragme. Le stade III du LNH comprend également toute maladie intrathoracique primaire (médiastinale, pleurale ou thymique), une maladie intra-abdominale primaire étendue ou toute tumeur paraspinale ou épidurale.
Stade IV	Dans le LNH infantile de stade IV, les tumeurs impliquent la moelle osseuse et / ou le SNC, indépendamment des autres sites d'implication.

6. Chimiothérapie :

La chimiothérapie est administrée par cycles qui comprennent une période de traitement suivie d'une période de repos pour donner au corps le temps de récupérer. En général, chaque cycle dure plusieurs semaines.

La chimiothérapie (parfois avec d'autres médicaments) est le traitement principal pour tous les enfants atteints de LNH, car elle peut atteindre toutes les parties du corps et tuer les cellules lymphomateuses où qu'elles se trouvent. Même si le lymphome semble se limiter à un seul ganglion lymphatique enflé, le LNH chez un enfant s'est souvent propagé au moment du diagnostic. Les cellules de lymphome sont probablement dans d'autres organes, mais ceux-ci sont trop petits pour être ressentis par le médecin ou vus sur des tests d'imagerie.

La chimiothérapie pour le lymphome de Hodgkin classique (cHL) combine plusieurs médicaments parce que différents médicaments détruisent les cellules cancéreuses de différentes façons. Les combinaisons utilisées pour traiter la cHL sont souvent désignées par des abréviations : **ABVD** et **BEACOPP**. (American Cancer Society)

✓ **cyclophosphamide :**

Le cyclophosphamide reste l'un des médicaments cytotoxiques les plus largement utilisés et est actuellement utilisé dans le traitement de nombreux cancers chez l'adulte et chez l'enfant. (Razzaque Ahmed. A et Shiril M .1984) Le cyclophosphamide est un promédicament inactif qui nécessite une activation enzymatique et chimique pour libérer la moutarde phosphoramidate active. L'hydroxylation sur le cycle oxazaphosphorine par le système hépatique du cytochrome P450 génère du 4-hydroxycyclophosphamide, qui coexiste avec son tautomère, l'aldophosphamide. Ces précurseurs de transport instables se diffusent librement dans les cellules, où l'aldophosphamide est décomposé en deux composés, la moutarde phosphoramidate et l'acroléine.6 La phosphoramidate moutarde produit les liaisons croisées interstrands et intratrands responsables des propriétés cytotoxiques du cyclophosphamide, tandis que l'acroléine est la cause de la cystite hémorragique, l'un des principaux effets toxiques du cyclophosphamide. (Emadi, A. *et al.* , 2009)

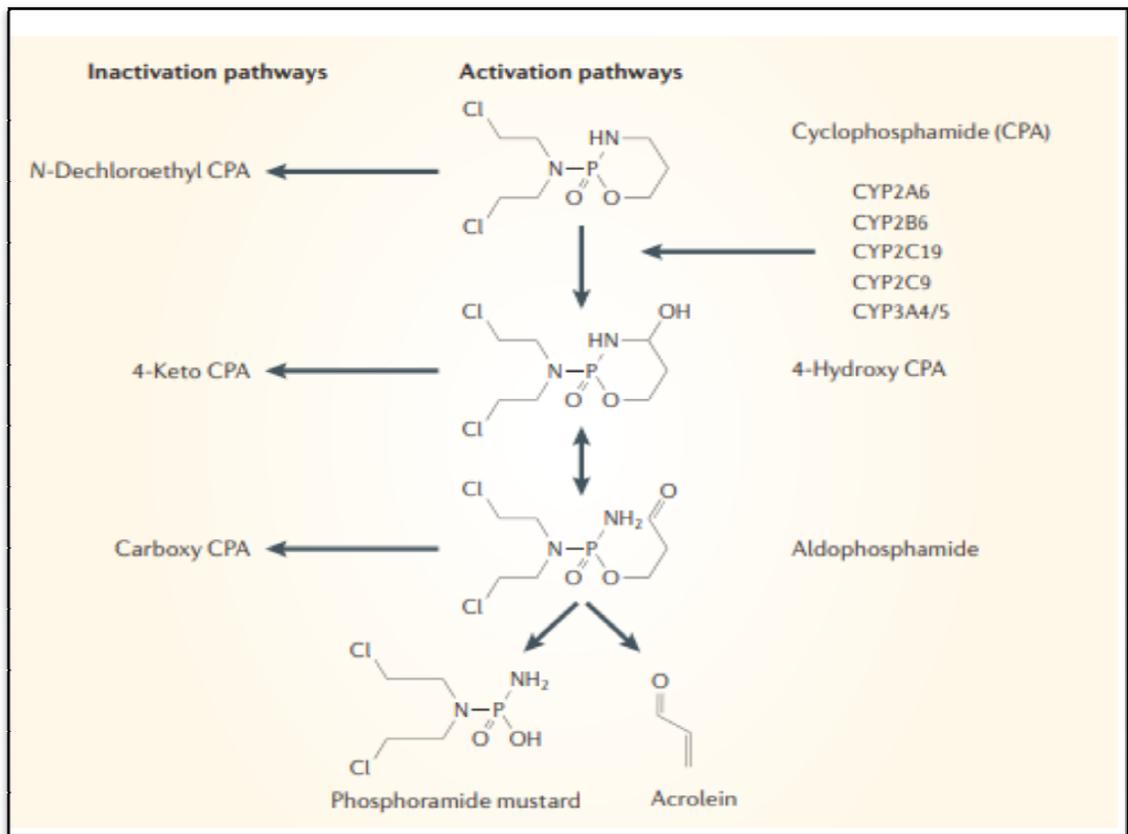


Figure 12 : Voie du métabolisme du cyclophosphamide catalysé par le cytochrome P450. (Stearns et al., 2006)

Les agents alkylants exercent leur activité immunosuppressive en inhibant la réplication de l'ADN nucléaire. L'alkylation de N7 de la guanine dans l'ADN peut conduire à un mauvais codage, à la destruction de la structure cyclique purine de la guanine, ou à la dépurination et à la réticulation de l'ADN ou au blocage de la réplication. (Sartorelli AC, Johns DJ. 1957)

La thérapie à base de cyclophosphamide est largement utilisée pour les lymphomes et elle est souvent curative pour les LNH agressifs, le lymphome de Burkitt étant particulièrement sensible. Bien que les schémas thérapeutiques modernes utilisent une chimiothérapie intensive à base de cyclophosphamide, dans les années 1960, des rémissions complètes durables ont été signalées après une seule cure de cyclophosphamide. RCHoP (rituximab, cyclophosphamide, doxorubicine, vincristine et prednisone) reste le traitement le plus couramment utilisé pour le lymphome non hodgkinien agressif, avec des taux de guérison de 30-40%. Beaucoup de nouvelles combinaisons de médicaments à base de cyclophosphamide ont été développées pour le LNH agressif, mais aucune ne s'est révélée supérieure à CHoP. (Emadi.A *et al.*, 2009)

7. Stress oxydatif , statut oxydant ,anti oxydant

Le stress oxydatif est défini comme un déséquilibre entre la production de radicaux libres et de métabolites réactifs, appelés oxydants ou espèces réactives de l'oxygène (ROS), et leur élimination par des mécanismes protecteurs, appelés antioxydants. Ce déséquilibre conduit à endommager des biomolécules et des cellules importantes, avec un impact potentiel sur l'organisme entier (Durackova, Z. 2010). Les ROS sont le produit d'un métabolisme cellulaire normal et jouent un rôle vital dans la stimulation des voies de signalisation dans les cellules végétales et animales en réponse aux changements des conditions environnementales intracellulaires et extracellulaires. (Jabs, T. 1999) La plupart des ROS sont générés dans les cellules par la chaîne respiratoire mitochondriale (Poyton, R. O *et al.* , 2009)

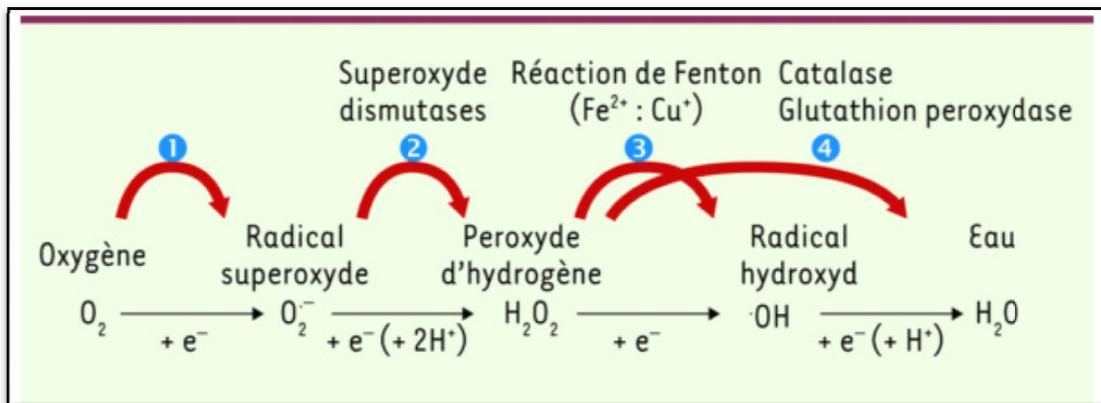


Figure 13 Origine des espèces réactives de l'oxygène. Les quatre étapes de la réduction de l'oxygène et la formation des intermédiaires partiellement réduits(Migdal C et SerresM , 2011)

Les ROS sont instables chimiquement et exposent de temps de demi vie ($t_{1/2}$) entre nano-seconde (10^{-9}) et quelque seconde (7s) . (Henkel, M et Solmon,M . 2018)

Le stress oxydatif se traduit par l'accumulation de produits d'oxydation des biomolécules (lipides, protéines, acides nucléiques) au niveau plasmatique et au niveau cellulaire, ce qui permet d'évaluer ce stress oxydant par la détermination de ces produits d'oxydation.

Les marqueurs de stress oxydant doivent pouvoir être mesurés en tant qu'indicateurs de processus biologiques physiologiques, de processus pathologiques ou de réponses pharmacologiques à une intervention thérapeutique. Il s'agit généralement de biomolécules dont la structure chimique a été modifiée par les ROS et éventuellement par les espèces réactives de l'azote (ERN), on parle alors de stress nitrosant. Ces marqueurs doivent pouvoir être utilisés pour apprécier de façon fiable l'état d'oxydation chez l'Homme, afin de permettre d'élucider les mécanismes physiopathologiques d'une attaque oxydante et d'orienter éventuellement vers le choix d'un traitement dans les stades précoces d'une maladie (Michel .F *et al.* , 2008)

7.1. Systèmes de défense antioxydants

Parce que les radicaux ont la capacité de réagir de façon indiscriminée conduisant à endommager presque n'importe quel composant cellulaire, une gamme étendue de défenses antioxydantes, endogènes et exogènes, sont présentes pour protéger les composants cellulaires des dommages induits par les radicaux libres. Ceux-ci peuvent être divisés en trois groupes principaux: les enzymes antioxydantes : catalase (CAT) , glutathion (GPx) , superoxyde dismutase (SOD) ..., les antioxydants de rupture de chaîne, et les protéines liant les métaux de transition (Reuter.S.et al . , 2010)

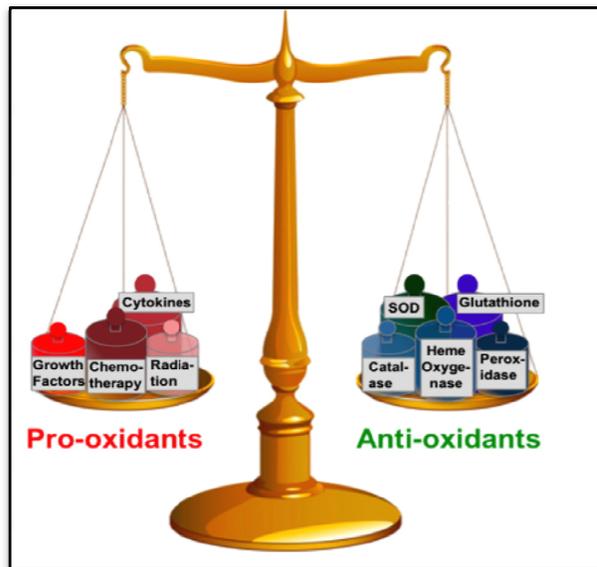


Figure 14 : modèle d'un équilibre entre les pro-oxydants et les antioxydants.. (Reuter, 2010)

La SOD , la CAT et la GPx sont des enzymes antioxydantes qui jouent non seulement un rôle fondamental mais indispensable dans la capacité protectrice antioxydante des systèmes biologiques contre les attaques radicalaires. (Ighodaro.O.M et Akinloye.O.A. 2017)

7.1.1. Superoxyde dismutase (SOD, EC 1.15.1.1) :

est la première enzyme de détoxification et le plus puissant antioxydant de la cellule. C'est une enzyme antioxydante endogène importante qui agit comme un composant du système de défense de première ligne contre les ROS . Il catalyse la dismutation de deux molécules d'anion superoxyde (O_2^-) en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et en oxygène moléculaire (O_2), rendant ainsi l' O_2^- potentiellement dangereux moins dangereux. La SOD est une métalloenzyme et nécessite donc un cofacteur métallique pour son activité.(Fridovich I. 1995. Dringen R *et al.*, 2005) Sur la base du type d'ion métallique requis comme cofacteur par SOD, diverses formes de l'enzyme existent. Les ions métalliques normalement liés à

la SOD sont le fer (Fe), le zinc (Zn), le cuivre (Cu) et le manganèse (Mn). A cet égard, les SOD sont classées en trois formes et comprennent (i) Fe-SOD qui est communément trouvée dans les procaryotes et les chloroplastes de certaines plantes (ii) Mn-SOD qui est présente dans les procaryotes et les mitochondries des eucaryotes et (iii) Cu / Zn-SOD est prédominant chez les eucaryotes et plus distribué, localisé essentiellement dans le cytosol mais aussi dans les chloroplastes et les peroxysomes. (Gill SS, Tuteja N. 2010 ; Karuppanapandian T et al., 2011)

7.1.2. Catalase (CAT, EC 1.11.1.6) :

la CAT est une protéine tétramérique de 240 kilodaltons (kDa) avec quatre sous-unités similaires et est codée par cartographie du gène *ctt1* au chromosome 11 . Chaque sous-unité polypeptidique est de 60 kDa et contient une seule ferriprotoporphyrine (Radi R *et al.* , 1991 ; Surai PF. 2006) . La CAT est une enzyme antioxydante courante présente presque dans tous les tissus vivants qui utilisent l'oxygène. L'enzyme utilise le Fe ou le Mn comme cofacteur et catalyse la dégradation ou la réduction du H₂O₂ en eau et O₂, complétant ainsi le processus de détoxification imité par SOD (Marklund SL. 1984 ; Chelikani P et al ., 2004) . la CAT est très efficace ; il peut détruire des millions de molécules de H₂O₂ en une seconde (Radi R *et al.* , 1991) . La déficience ou la mutation de l'enzyme a été liée à diverses conditions et anomalies de la maladie.(Góth L, Rass P, Páy A. 2004)

7.1.3. Glutathione peroxidases (GPx, EC 1.11.1.9) :

La glutathion peroxydase (GPx) est une enzyme intracellulaire importante qui détruit les peroxydes d'hydrogène (H₂O₂) dans l'eau; et les peroxydes lipidiques à leurs alcools correspondants principalement dans les mitochondries et parfois dans le cytosol (Góth L, Rass P, Páy A. 2004) .La plupart du temps, son activité dépend d'un cofacteur de micronutriments connu sous le nom de sélénium. Pour cette raison, GPX est souvent appelé une sélénocystéine peroxydase. L'enzyme joue un rôle plus crucial d'inhiber le processus de peroxydation des lipides, et protège donc les cellules contre le stress oxydatif.(Gill SS, Tuteja N.2010)

Selon Morón et Cortázar, il y a au moins huit enzymes GPx chez l'Homme, GPx1-GPx8. Les gènes GPx 1-8 sont cartographiés aux chromosomes 3, 14, 5, 19, 6, 6, 1 et 5 respectivement. (Morón ÚM, Castilla-Cortázar I. 2012)

8. Les conséquences de stress oxydatif :

8.1. la peroxydation lipidique :

La peroxydation lipidique est la dégradation oxydative des lipides. Ce processus comporte trois phases, à savoir les phases d'initiation, de propagation et de terminaison. Dans la phase d'initiation, les

ROS attaquent les atomes de carbone adjacents aux doubles liaisons dans les PUFA. Cette réaction crée une molécule en un radical lipidique, qui est stabilisé par la délocalisation de l'électron libre dans des structures dites de résonance, qui sont énergétiquement plus stables que les ROS initiateurs. Les radicaux lipidiques, à leur tour, sont instables et réagissent spontanément avec O_2 pour former des peroxydes lipidiques. Ces radicaux peroxydes lipidiques réagissent avec les lipides voisins dans une réaction en chaîne dite radicale, propageant ainsi le processus de dégradation des lipides. À leur tour, ces peroxydes lipidiques nouvellement créés réagissent avec l'oxygène pour former encore plus de peroxydes lipidiques. Ainsi, de nombreuses molécules lipidiques sont endommagées par un seul radical initiateur conduisant à l'oxydation de près de 60% des PUFA présents dans la membrane plasmique.

Quand un radical réagit avec un autre radical, les deux électrons libres forment une liaison covalente résultant en un non-radical, terminant ainsi la propagation de la réaction en chaîne radicalaire. Cette terminaison a lieu lorsqu'une concentration suffisamment élevée de radicaux lipidiques est disponible. En plus des processus de propagation et de terminaison décrits de la peroxydation lipidique, les molécules lipidiques sont également décomposées en un certain nombre de sous-produits carbonyle stables tels que le malondialdéhyde et les 4-hydroxy-2-alcénals tels que le 4-hydroxy-nonénel. Le malondialdéhyde est hautement mutagène et le 4-hydroxy-nonénel est génotoxique (Ayala ,A *et al* .,2014)

- **Le malondialdéhyde (MDA)** est largement utilisé comme marqueur de la peroxydation des acides gras $\omega 3$ et $\omega 6$, mesurée par la détermination chimique des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS)), ce dernier fournit une perspective incomplète, car le MDA dérive de la décomposition de certains produits de peroxydation lipidique seulement et n'est ni le seul produit final, ni celui de la seule peroxydation lipidique (Halliwell, B and Whiteman, M. 2004)

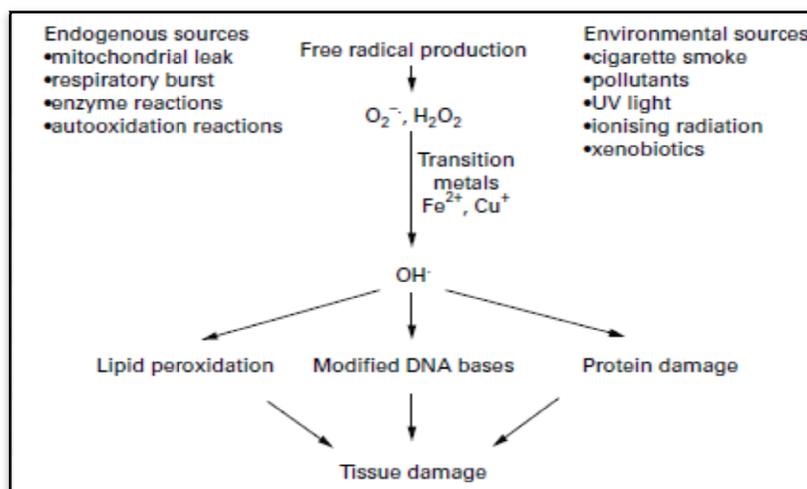


Figure 15 : Principales sources de radicaux libres dans le corps et les conséquences des dommages causés par les radicaux libres.(Young , 2001)

8.2. Oxydation protéique :

Les protéines sont bien connues pour être parmi les principales cibles de ROS (Davies MJ.2016.) Les ROS comprenant le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), le radical hydroxyle (HO), le radical anion superoxyde (O_2^-) et l'acide hypochloreux (HOCl) sont des molécules hautement réactives qui peuvent endommager les protéines, affectant finalement leurs structures et leurs fonctions. Ces ROS peuvent entraîner des modifications chimiques des chaînes latérales des résidus d'acides aminés, la conversion des protéines en dérivés hautement sensibles à la dégradation protéolytique, la formation de liaisons protéine-protéine et la fragmentation des protéines résultant de l'oxydation du squelette protéinique. (Stadtman ER and Levine RL. 2003)

Par conséquent, les dommages oxydatifs à une structure protéique pourraient conduire à une perte plus ou moins prononcée de sa fonction biochimique. Il existe des preuves convaincantes que des protéines endommagées par oxydation avec une structure spatiale et une fonction altérées s'accumulent au cours du vieillissement, du stress oxydatif et de diverses maladies (Reuter.S.*et al.* , 2010) .

- Les protéines carbonylées constituent les marqueurs les plus couramment utilisés de l'oxydation des protéines (Baraibar *et al.*, 2013). La modification oxydative est provoquée par l'oxydation directe de chaînes latérales d'acide aminé de la proline (Pro), l'arginine (Arg), la lysine (Lys) et la thréonine (Thr) ou par voies de la R-amidation de glutamine (Gln) et asparagine (Asn). La carbonylation des protéines peut également être formé par une réaction indirecte des produits de lipoperoxydation de cystéine (Cys) et l'histidine (His) et les résidus. La carbonylation des protéines est une modification oxydative stable qui affecte l'abondance, la structure et la fonction des protéines (López-Vidal *et al.*, 2016).

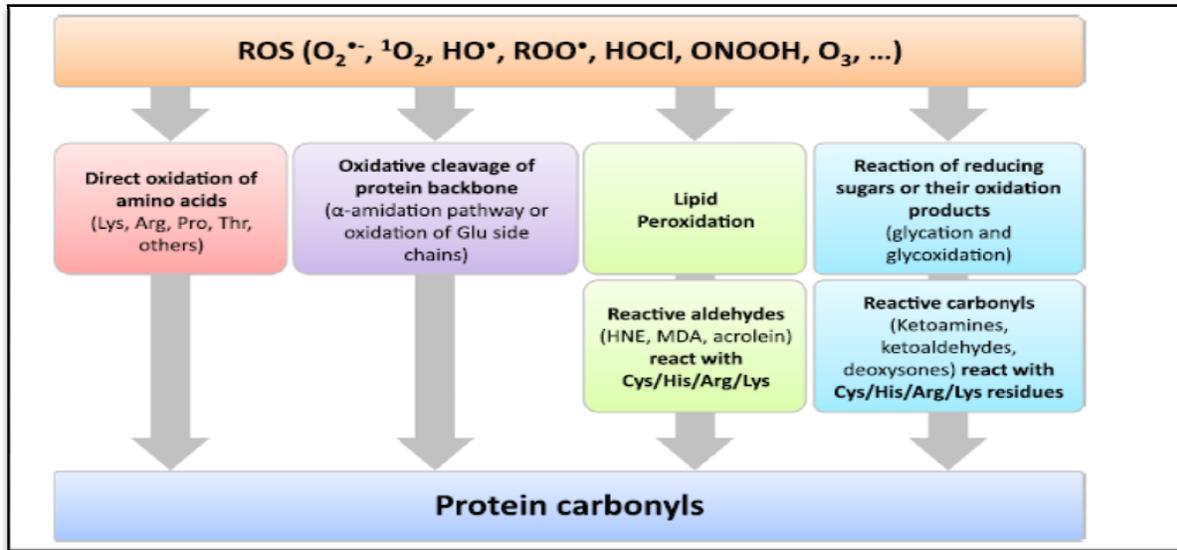


Figure 16 : oxydation protéique (Weber D et al., 2015)

II. Matériel et méthode :

Dans le cadre du projet de fin d'étude pour obtention d'un master II, nous avons réalisé une étude traitant le dosage des marqueurs de stress oxydatif.

L'objectif principal de cette étude est d'évaluer le taux de marqueurs de peroxydation lipidique oxydation protéique et le dosage des antioxydants chez des enfants atteints de lymphome ; et secondairement comparer ses taux avec celui des individus sains, et d'un autre coté essayer de voir l'effet de la chimiothérapie sur le statut oxydant-antioxydant.

L'étude a été faite au sein de laboratoire de biologie cellulaire et moléculaire – cytokine et NO synthèse, au sein de faculté de biologie de l'université de Science et Technologie de Bab Ezzouar.

Les prélèvements sanguins sont effectués au service de pédiatrie de l'hôpital Beni Messous d'Alger, sur une période de 2 mois en allant du mois de mars jusqu'au mai.

II.1. Patients étudiés

La présente étude a porté sur 40 enfants atteints de lymphomes malins (21 lymphomes de Burkitt et 19 maladie de Hodgkin) dont la tranche d'âge varie de 4 ans à 17 ans. Le recrutement de l'ensemble des patients a été réalisé au niveau du service de pédiatrie B de l'hôpital de Beni Messous . Les prélèvements sanguins ont été réalisés, après établissement du consentement écrit et éclairé, par ponction veineuse dans un tube héparine.

II.2. Population témoin

La population témoin est composée de 50 sujets sains non apparentés, dont la tranche d'âge varie de 7ans à 16ans. Elle ne présentant aucune maladie chronique ou auto-immune et sans antécédents personnel et familial.

Tableau 03 : nombre et l'âge moyen des populations d'étude .

	Patients	Contrôles
Nombre	40	50
Age moyen	12	11

II.3. Dosages des marqueurs du stress oxydant

II.3.1. Dosage du Malondialdehyde (MDA)

• Principe

Le dosage du MDA, produit de la peroxydation lipidique, repose sur la formation, en milieu acide et chaud (100°C), entre une molécule de MDA et deux molécules d'acide thiobarbiturique (TBA) d'un pigment coloré absorbant à 530 nm et extractible par les solvants organiques comme le butanol (Buege et Aust, 1978).

a. Mode opératoire

Un volume de 100µl de plasma est mélangé à une solution constituée de 200 µl d'acide thiobarbiturique à 20% et 600 µl d'acide-ortho-phosphorique à 1%. Le mélange est incubé pendant 1h dans un bain marie à 95°C, suivi d'un refroidissement dans de la glace pour arrêter la réaction. Ensuite, un volume de 900 µl de butanol est ajouté pour l'extraction du complexe MDA-TBA. L'ensemble est centrifugé à 900 g pendant 10 minutes. L'absorbance est déterminée sur le surnageant à 532nm. La concentration de TBARS est calculée en utilisant le coefficient d'extinction molaire ($1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), et est exprimée en µmol/l.

II.3.2. Dosage des protéines carbonylées (PC)

• Principe

Les protéines carbonylées placentaires, marqueurs de l'oxydation protéique, sont mesurées par la réaction au 2-4 dinitrophénylhydrazine (DNPH) qui aboutit à la formation de la dinitrophénylhydrazine colorée (Levine *et al.*, 1990).

a. Mode opératoire

Un volume de 200µl DNPH (10mM, 0,5M H₃PO₄) est incubé avec 200µl du plasma pendant 10 minutes. Puis un volume de 100µl de NaOH (6M) est ajouté et le mélange est incubé pendant 10 minutes. La densité optique est déterminée par spectrophotométrie à 450 nm et la concentration des groupements carbonylés est calculée à l'aide du coefficient d'extinction de $22 \text{ mmol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ (Mesquita *et al.*, 2014).

II.3.3. Détermination de l'activité de la catalase (CAT)

- **Principe**

La catalase dégrade le **peroxyde d'hydrogène (H₂O₂)** en eau et dioxygène. La décomposition du peroxyde d'hydrogène conduit à une diminution de l'absorption de la solution de H₂O₂ en fonction du temps. Une unité de catalase est définie comme la quantité d'enzyme qui dégrade une μmole d'H₂O₂ en O₂ et H₂O par minute (Aebi, 1974).

- a.Mode opératoire**

Un volume de 50 μl de plasma est ajouté à un mélange contenant 950μl de tampon phosphate à 0,5% et 500μl de H₂O₂ à 0,3%. L'absorbance est déterminée à 240nm chaque 30 secondes. Les concentrations de protéines ont été mesurées par spectrophotométrie en utilisant la méthode de Bradford. L'activité enzymatique est exprimée en U/mg de protéine.

II.3.4. Dosage du glutathion(GSH)

- **Principe**

Le dosage du glutathion réduit (GSH) est réalisé par la méthode du réactif d'Ellman qui consiste à couper la molécule d'acide 5,5 dithiodis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par le GSH, ce qui libère des dérivés thiols aromatiques colorés représenté par l'acide thionitrobenzoïque (TNB).Le TNB présente une absorbance à 412nm avec un coefficient d'extinction de 13.6 mmol⁻¹.L.cm⁻¹ (Ellman, 1959).

- a. Mode opératoire**

Un volume de 50μl du DTNB est ajouté à un volume de 50μl du plasma et 100μl de tampon PBS.Le mélange est incubé pendant 20 minutes à l'obscurité et la densité optique est déterminée à 412 nm.

II.4 . Analyse statistique :

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne ± écart type. Après analyse de la variance, la comparaison des moyennes entre (témoins et patients / patients avant et après chimiothérapie) est réalisée par le test« t » de Student pour les différents paramètres. Les différences sont considérées significatives à * P < 0.01 ; et hautement significatives à **** P < 0 ,0001 Tous les calculs sont réalisés grâce à un logiciel Prism 7.

III. Description de la population :

Rappelons que notre étude est portée sur 40 patients atteints de lymphome malins : 19 atteints de lymphome Hodgkinien et 21 lymphome non Hodgkinien et 50 sujets témoins seins de toutes pathologies.

Rappelons que dans ce travail, nous nous sommes intéressés à rechercher l'effet de la chimiothérapie sur le statut oxydant- anti oxydant.

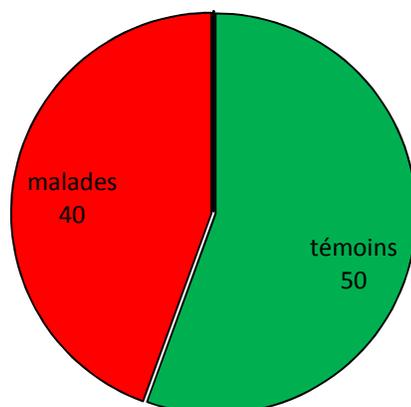


Figure 17 : représentation des sujets selon l'état de santé

III.1.1. répartition des enfants atteints de lymphome selon le sexe :

Ces représentations nous ont permis de constater une prédominance masculine avec 15 garçons (71%) versus 6 filles (29%) pour le groupe de LNH , aussi une prédominance masculine avec 14 garçons (74%) versus 5 filles (26%) pour le groupe de LH .

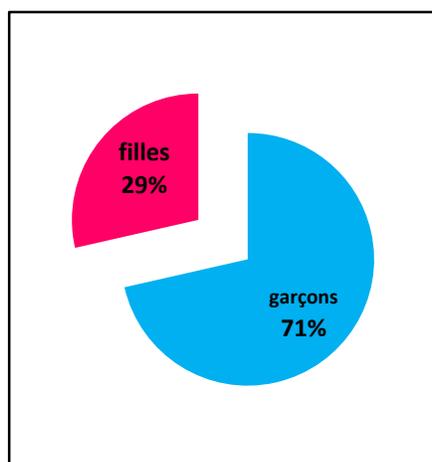


Figure 19 : représentation des enfants atteints de LNH selon le sexe

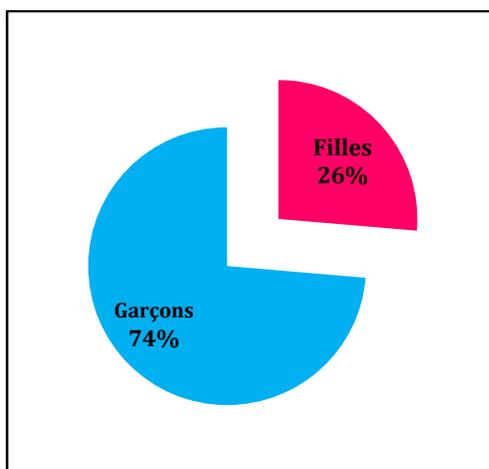


Figure 18 : représentation des enfants atteints de LH selon le sexe

III.2. Evaluation des paramètres de stress oxydatif :

III.2.1. paramètre de MDA chez les enfants atteints de lymphome et les témoins :

les taux plasmatiques de MDA sont élevés chez les patients par rapport aux témoins. Ces taux présentent une différence hautement significative avant et après chimiothérapie ($p < 0.0001$) .

Tableau 4 : taux plasmatique de MDA chez les patients et les témoins .

Parametre	Témoins (n=50)	LNH (n=21)		LH (n= 19)	
		Avant chimiothérapie	Après chimiothérapie	Avant chimiothérapie	Après chimiothérapie
MDA (μmol)	0,49 \pm 0,25	3,98 \pm 1,80	6,20 \pm 2,17	5,30 \pm 2,27	7,99 \pm 2,32

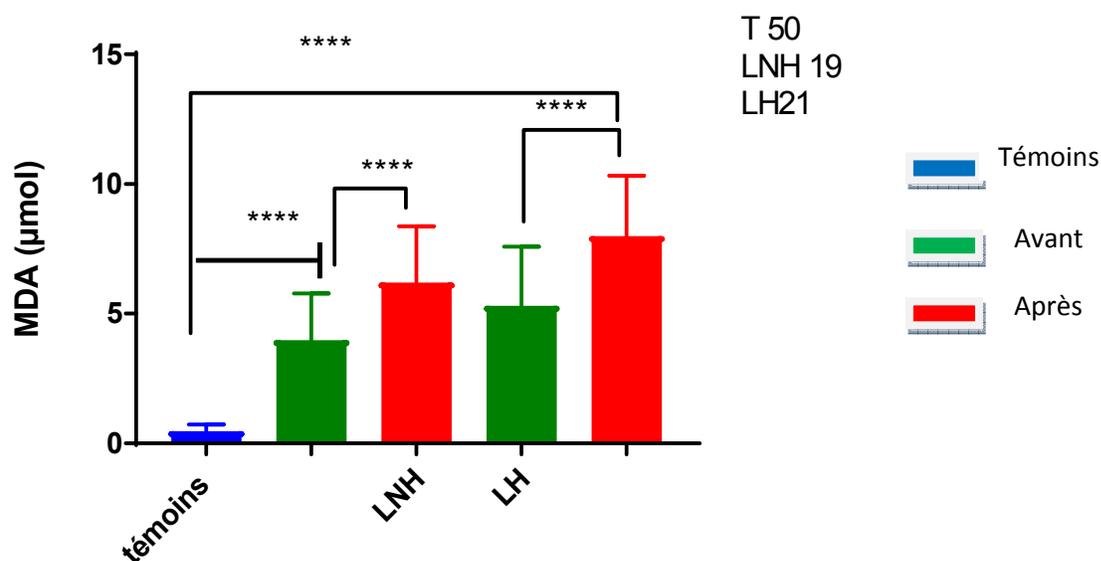


Figure 20 : Taux plasmatiques du MDA chez les patients et les témoins

III.2.2. paramètre de PC chez les enfants atteints de lymphome et les témoins :

Les taux plasmatique des protéines carbonylées sont résumés dans le tableau 5 . L'analyse des résultats montre que ce taux est élevé chez les patients par rapport aux témoins. Ce taux présente une différence hautement significative avant et après chimiothérapie ($p < 0,0001$) (Figures 21)

Tableau 5 : le taux de PC chez les patients et les témoins

paramètre	Témoins (N = 50)	LNH (N=21)		LH (N=19)	
		Avant chimiothérapie	Après chimiothérapie	Avant chimiothérapie	Après chimiothérapie
PC	1.70 ± 0.84	3.28 ± 1.77	5.02 ± 2.35	2.74 ± 1.39	4.58 ± 1.72

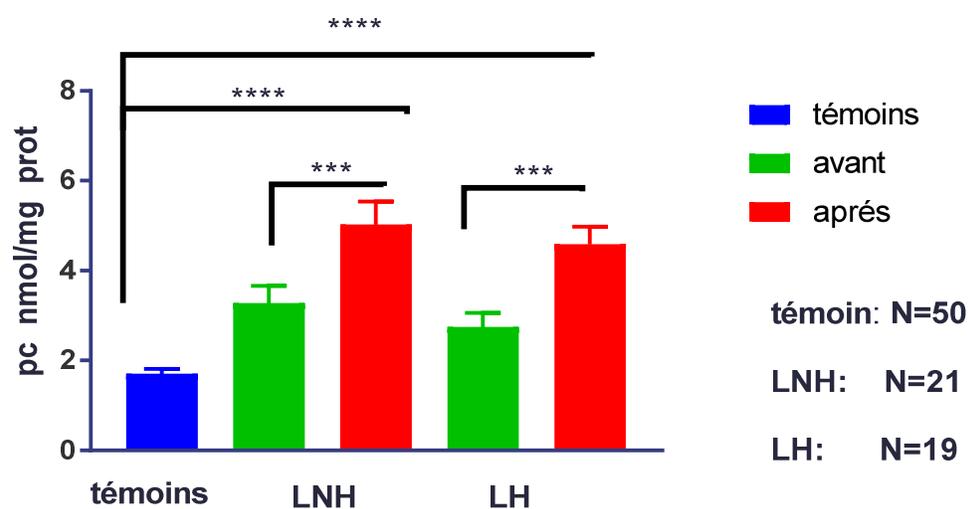


Figure 21: Le taux de PC chez les patients et les témoins.

III.2.3. paramètre de la catalase chez les enfants atteints de lymphome et les témoins :

Les résultats de l'activité de la catalase sont résumés dans le tableau 6 .

L'analyse des résultats montre une diminution de l'activité de catalase chez les enfants atteints de lymphome comparés aux témoins. Cette activité est plus faible après la chimiothérapie des deux types de lymphomes LH et LMNH avec une différence hautement significative*($p < 0.0001$). (Figure22)

Tableau 6 : l'activité de CAT chez les patients de et les Témoin

paramètre	Témoins (N=50)	LNH (N=21)		LH (N=19)	
		Avant chimiothérapie	Après chimiothérapie	Avant chimiothérapie	Après chimiothérapie
CAT	0.57 ± 0.25	0.17 ± 0.05	0.01 ± 0.003	0.20 ± 0.09	0.04 ± 0.007

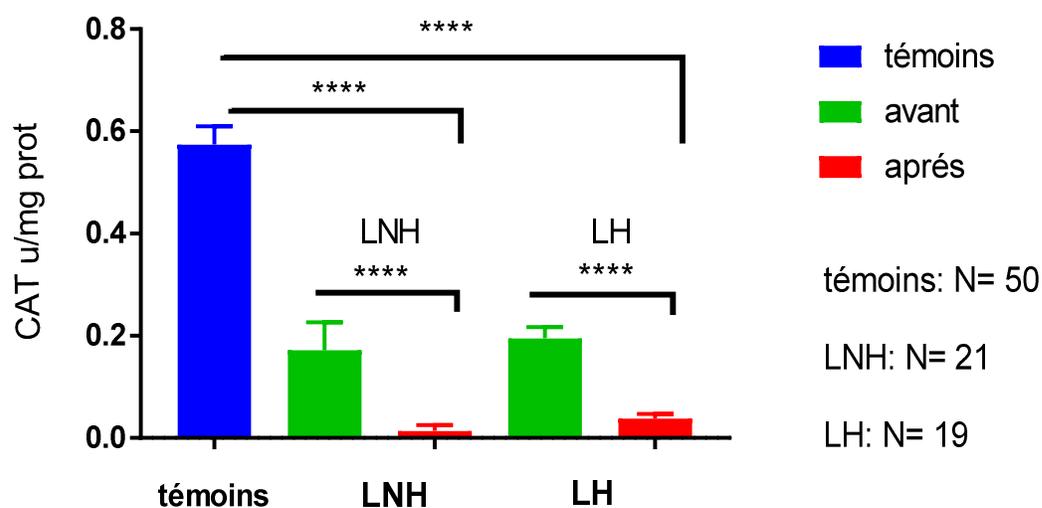


Figure 22 : l'activité de CAT chez les patients et les témoins

III.2.4. paramètre de la GSH chez les enfants atteints de lymphome et les témoins :

Les résultats du glutathion sont résumés dans le tableau 7.

L'analyse des résultats montre que ce taux est diminué chez les patients LH et LMNH par rapport aux témoins avec une différence hautement significative ($p < 0.0001$) (figu23)

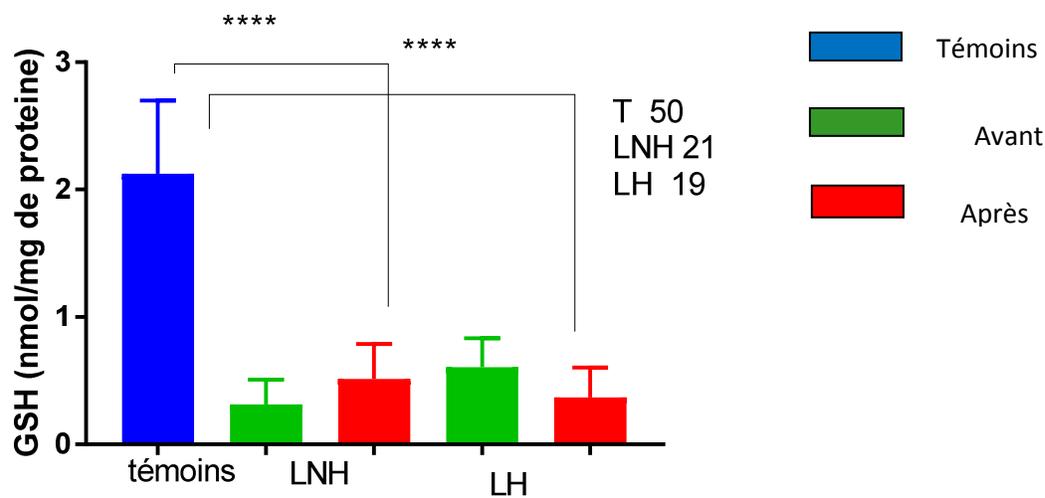


Figure 23 : Teneurs plasmatiques en Glutathion chez les enfants atteints de (LH et LNH) et témoins avant et après chimiothérapie

Tableau 7 : les taux de GSH chez les témoins et les patients

paramètre	Témoins (N=50)	LNH (N=21)		LH (N=19)	
		Avant chimiothérapie	Après chimiothérapie	Avant chimiothérapie	Après chimiothérapie
GSH	2,12 ± 0,58	0,31 ± 0,20	0,51 ± 0,27	0,61 ± 0,23	0,37 ± 0,23

Discussion :

Le lymphome est un cancer des lymphocytes matures qui touche les organes lymphoïdes primaires, y compris les ganglions lymphatiques, la rate du foie de la moelle osseuse ainsi que divers agrégats lymphoïdes dans d'autres organes tels que le tractus intestinal, les poumons et la peau. Le lymphome peut survenir dans n'importe quel organe, comme cela se reflète dans les divers sous-types de lymphomes (Zain J et Kwak L 2017)

Plusieurs études montrent que les niveaux d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) sont finement régulés dans la cellule et peuvent agir en tant que «seconds messagers» en réponse à divers stimuli. Dans les cellules épithéliales tumorales, les ROS s'accumulent anormalement et induisent des cascades de signalisation qui induisent le phénotype oncogénique.

Les cellules cancéreuses souffrent du manque d'O₂, en raison de l'absence de néo-vascularisation. Dans cette situation, le facteur inductible de l'hypoxie (HIF) est stabilisé et induit une série de cascades de signalisation qui permettent aux cellules tumorales de survivre et proliférer, cela par un changement métabolique, qui favorise le déplacement de la phosphorylation oxydative vers la glycolyse aérobie (effet Warburg). (Gentric *et al.*, 2017)

En effet, il a été démontré que l'hypoxie est intimement associée à la production de ROS mitochondriale, principalement par le complexe III, dans les premières phases de la croissance tumorale ou le taux glycolytique élevé induit une quantité excessive de glycérol-3-phosphate qui est oxydée dans une réaction dépendante du FAD, médiée par la glycérol-3-phosphate déshydrogénase 2, qui augmente la production de ROS. (Ana Costa *et al.*, 2013)

✚ Ces EOR vont réagir sur plusieurs plans pour à la fin avoir un rôle positif sur la prolifération tumorale :

Dans l'activation des TAM ou il a été montré récemment que la production de ROS est importante pour M2 (phénotype anti-inflammatoire des macrophage.), qui secrète des cytokines et des facteurs immunosuppresseurs pour donner une suppression des réponses anti tumorales. (Storz *et al.*, 2005).

Dans l'activation des CAF ou la libération de ROS à partir de cellules tumorales favorise la conversion des fibroblastes en myofibroblastes dans divers types de tumeurs par des facteurs de croissance β (TGF- β) et CXCL12 (SDF-1) / CXCR4. (Erez et al, 2010)

en effet les ROS sont impliqués dans la reprogrammation métabolique des cellules cancéreuses et des CAF, ce qui permet une adaptation au stress oxydatif qui favorise finalement la tumorigenèse et la chimiorésistance. (Murphy MP, 2009)

Le stress oxydatif peut causer la cancérogenèse en mutant l'ADN nucléaire ou mitochondrial, ou en causant des dommages structuraux aux lipides intracellulaires et aux protéines. (Benz C .C and Yau C 2008)

En parallèle de nos travaux sur la croissance tumorale, nous nous sommes intéressés à l'effet de la chimiothérapie sur le système anti oxydant des enfants atteints de lymphome, ou l'équilibre métabolique et le taux élevé de production des ROS favorise également la résistance aux traitements, y compris non seulement la chimiothérapie conventionnelle ou la radiothérapie mais aussi les immunothérapies les plus récentes et innovantes. (Gentric *et al.*,2017)

D'autre part les agents chimiques et les constituants utilisés dans la chimiothérapie des lymphomes eux même peuvent avoir des effets secondaires et sur tout un effet néfaste sur le statut oxydant (générateurs de ROS et de dommages à l'ADN) .On citerons la molécule de cyclophosphamide qui est un agent alkylisant qui agit sur l'ADN.

L'ADN est le support de l'information génétique il est très sensible, ou n'importe modification sur sa chaîne peut induire des mutations, ces agents alkylisants peuvent causer des altérations sur des gènes responsables de la régulation de statut oxydant, dans ce cas-là la chimiothérapie va être une cause de production des ROS et le déséquilibre de système antioxydant.(Arora *et al.* , 2013).

La peroxydation des lipides est largement reconnue comme étant impliquée dans la pathogenèse de plusieurs maladies humaines, dont le cancer (Halliwell B, Gutteridge JMC.2000) . La mesure du taux de malondialdéhyde (MDA) dans le sérum fournit un indice in vivo approprié de peroxydation lipidique et représente un biomarqueur non invasif du stress oxydatif souvent utilisé cliniquement pour étudier les conditions physiologiques et pathologiques médiées par les radicaux (Meagher EA, and FitzGerald GA2000)

En ce qui concerne les taux sériques de MDA , nos résultats concordent avec ceux de Guven et al., montrant des concentrations de MDA significativement plus élevées chez les sérums de patients HL comparés aux donneurs sains . De plus, une forte concentration de MDA est associée avec un dérèglement du système antioxydant (c.-à-d. de faibles niveaux de sélénium, de zinc et d'activité glutathion peroxydase dans HL) (Morabito *et al.*, 2004) .le stress oxydatif était significativement plus élevé que chez les témoins en raison de l'effet de la chimiothérapie .Imad a constaté une augmentation très significative du MDA et

une réduction du TAS (état antioxydant total) dans le sérum des patients atteints de lymphome malin avant et un mois après le début de la chimiothérapie comparé aux contrôles et a conclu que les patients atteints de lymphome malin présentaient un stress oxydatif élevé pendant le traitement cytotoxique comme se manifeste par une augmentation du taux sérique de MDA et une réduction de TSA (Imad A. J. Thanoon 2007) . Abou-Seif et al ont rapporté que le taux sérique de MDA et la fragilité osmotique des globules rouges chez les patients atteints de lymphome malin étaient plus élevés avant et après le traitement comparativement au groupe témoin (Abou-Seif MA *et al* ., 2005) . Gadjeva et al ont rapporté que les taux de MDA plasmatique étaient significativement plus élevés chez les patients traités par cyclophosphamide, vincristine, prednisolone (CVP) ou adriamycine, bléomycine, vinblastine et dacarbazine (ABVD), par rapport au groupe témoin et ont conclu qu'après la polychimiothérapie, le stress oxydatif et le déséquilibre des systèmes enzymatiques antioxydants progressaient significativement chez les patients atteints d'une maladie hématologique lympho-proliférative (Gadjeva D *et al* ., 2005) .Hossam et al qui ont conclu que le niveau de MDA était élevé chez les patients NHL et HL, avant et après traitement, par rapport à celui des témoins (Houssam D. 2012)

En plus de participation des espèces oxygénées réactifs dans le statut prolifératif des cellules cancéreuses sont aussi responsable de déférentes altérations biologiques. Dans le cancer ,la production accu des ROS conduit à une augmentation des marqueurs de stress oxydatif comme les marqueurs de l'oxydation protéique,ou Les protéines peuvent subir l'action directe des ERO suivant ces étapes,: 1. Modifications oxydatives réversibles : formation de disulfures, d'acide sulfénique et de méthionine sulfoxyde résultant de l'oxydation des chaînes latérales des résidus cystéine et méthionine, les plus sensibles à l'oxydation. 2. Formation de réticulations intra- et inter-moléculaires et/ou fragmentation des chaînes polypeptidiques par oxydation du squelette carboné de la protéine. 3. Fragmentation de la chaîne carbonée par oxydation d'un résidu glutamyl ou par α - amidation et oxydation directe de chaînes latérales de résidus sensibles (lysine, arginine, proline, thréonine) conduisant à la formation de groupes carbonylés sur la protéine Ce qui est en parfait accord avec nos résultats. (Sena,Chandel, 2012) (Baraibar,M.A *et al* .,2013)

Nos résultats montrent un taux élevé de ce produit de l'oxydation protéique par le biais des protéines carbonylées chez les patients des deux types de lymphome (lymphome de burkitt et lymphome de hodgkin) comparé aux témoins et cela confère les résultats de (Morabito, Cristianien 2004).et (England,K.*et al* .,2004)

Nos résultats montrent une augmentation de taux de protéines carbonylées chez les enfants atteints des deux types des lymphomes après la chimiothérapie et il en va de même pour les travaux de kaya et keskin en 2005.

Le changement métabolique et l'excès de production des ROS Dans les cellules cancéreuses aura un effet aussi sur le système de défense et les enzymes anti oxydants, en effet le taux des enzymes anti oxydant dans le cancer est faible ce qui confirme nos résultats.

Nos résultats montrent une diminution de taux de catalase qui est une oxydoréductase hémique qui catalyse la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et dioxygène, chez les patients atteints des deux types de lymphome par rapport aux témoins et cela confère les résultats de (Bur, Haapasaarien 2014).

Les résultats de notre étude sur les enfants atteints de lymphome ont montré un faible taux de catalase après la chimiothérapie, Ces résultats suggèrent que la chimiothérapie détruit l'équilibre de statut oxydant / antioxydant dans le corps, qui peut à son tour contribuer à des effets indésirables et une malignité secondaires et cela confère les résultats de kaya et keskin en 2005.

Le GSH (glutathion, γ -glutamyl-cystéinyl-glycine), un tripeptide essentiel à la protection cellulaire contre le stress oxydatif, fait l'objet de plusieurs études en stress oxydatif (Sies H. 1986.2015)

Harris et al a suggéré que GSH semble essentiel pour l'initiation du cancer, mais, à des stades plus avancés de la progression tumorale, peut devenir dispensable potentiellement en raison de la compensation d'autres voies antioxydantes (Harris IS *et al.*, 2015)

Le GSH dans les cellules cancéreuses est particulièrement pertinent dans la régulation des mécanismes cancérogènes : résistance multi-médicamenteuse et radiologique, sensibilité à certaines cytokines ; Synthèse d'ADN ; prolifération et diffusion cellulaires ; agression liée au microenvironnement tumoral ; l'évasion de l'apoptose ; et la capacité de colonisation (José M *et al.* , 2015)

Dans une étude comparant les taux sériques de MDA, de GSH-Px et de SOD chez 20 patients masculins récemment diagnostiqués avec 30 lymphomes Hodgkiniens, Guven et al ont montré que les lymphomes de Hodgkin présentaient des taux significativement plus faibles de GSH-Px. (Guven *et al.* , 2000.)

Un faible niveau de GSH résulte de l'accumulation des ROS (Yariktas M, Doner F, Dogru H, Yasan H, Delibas N. 2003)

Ils ont suggéré qu'une augmentation des niveaux de MDA - un produit de la rupture du radical d'oxygène libre - contribue au développement de la tumeur maligne. Des concentrations élevées de superoxyde et de peroxyde d'hydrogène peuvent augmenter l'activité de la SOD dans les tissus cancéreux (kaya 2005)

Conclusion et perspective :

Les lymphomes sont issus de précurseurs matures des lymphocytes (post-médullaires pour les LB et post-thymiques pour les LT), les distinguant des leucémies lymphoïdes aiguës issues de précurseurs immatures. Les lymphomes touchent principalement les organes lymphoïdes : ganglions, rate, thymus, tissus lymphoïdes associés aux muqueuses (MALT), mais peuvent également avoir d'autres localisations (formes cutanées). Le lymphome hodgkinien et le lymphome non hodgkinien sont les deux types majeures des lymphomes.

Chez l'enfant le lymphome non hodgkinien est beaucoup plus fréquent que le lymphome hodgkinien avec une prédominance masculine.

De multiples facteurs étiologiques sont impliqués dans la pathogénie des lymphomes comprennent :

- ✓ Les facteurs génétiques représentés souvent par les translocations chromosomiques et les mutations somatiques.
- ✓ Les infections virales : soit la transformation directe du lymphocyte par un agent infectieux via l'expression d'oncogène (EBV, HTLV-1) ; soit la stimulation antigénique chronique du lymphocyte par un agent infectieux persistant (VHC).
- ✓ Les déficits immunitaires (VIH ou immunodéficience post-transplantation).

La découverte de ces facteurs étiologiques a permis deux avancées majeures. D'une part, elles offraient un outil diagnostique pour la pratique clinique. D'autre part, elles permettaient de mieux comprendre les mécanismes de lymphomagenèse.

Des améliorations spectaculaires dans la survie ont été obtenues pour les enfants et les adolescents atteints de cancer, la mortalité par cancer infantile a diminué de plus de 50%. De nouvelles stratégies utilisant la chimiothérapie et le rayonnement à faible dose ont été développées. Ou environ 90% à 95% des enfants atteints de lymphome peuvent être guéris.

Dans les cellules épithéliales tumorales, les ROS s'accumulent anormalement et induisent des cascades de signalisation qui induisent le phénotype oncogénique.

La production accrue des ROS conduit à une augmentation des marqueurs de stress oxydatif comme les produits de peroxydation lipidique (MDA) et les produits d'oxydation protéique (PC).

Ils auront aussi un effet sur le système de défense en diminuant l'activité des enzymes anti oxydants comme la catalase et la glutathion.

La chimiothérapie adaptée dans les lymphomes malins ont des effets secondaires dans l'apparition des cancers secondaires, ils sont aussi considérés comme des générateurs de ROS ce qui va renforcer l'augmentation des molécules oxydantes et la diminution d'activité anti oxydante.

Afin de compléter cette étude, il serait intéressant :

- D'administrer un traitement complémentaire (médecine nutritionnelle) souhaitable pour le lymphome qui a un effet préférable sur les cellules tumorales sans provoquant des effets secondaires sur les cellules.
- D'évaluer les risques secondaires des chimiothérapies, une étude impliquant un suivi à long terme et un plus grand nombre de patients est nécessaire.

Références bibliographiques :

A :

- ADAMSON, P, BRAY, F, COSTANTINI, A S *et al.* Time trends in the registration of Hodgkin and non-Hodgkin lymphomas in Europe. *European Journal of Cancer*, 2007, vol. 43, no 2, p. 391-401.
- Abbas A , K . Lichtman , A et Pillai , S .CELLULAR AND MOLECULAR IMMUNOLOGY.2017. ELSEVIER . Philadelphia . Ed 09. 47
- AEBI, Hugo. Catalase. In : *Methods of Enzymatic Analysis (Second Edition), Volume 2.* 1974. p. 673-684.
- AKA, Peter, KAWIRA, Esther, MASALU, Nestory, *et al.* Incidence and trends in Burkitt lymphoma in northern Tanzania from 2000 to 2009. *Pediatric blood & cancer*, 2012, vol. 59, no 7, p. 1234-1238.

- American Cancer Society
 1. Treating Non-Hodgkin Lymphoma in Children.

<https://www.cancer.org/cancer/childhood-non-hodgkin-lymphoma.html>

2. Treating Hodgkin Lymphoma in Children

<https://www.cancer.org/cancer/hodgkin-lymphoma/treating/hodgkin-disease-in-children.html>

- COSTA, Ana, SCHOLER-DAHIREL, Alix, et MECHTA-GRIGORIOU, Fatima. The role of reactive oxygen species and metabolism on cancer cells and their microenvironment. In : *Seminars in cancer biology.* Academic Press, 2014. p. 23-32.
- ARORA, Sumit, BHARDWAJ, Arun, SINGH, Seema, *et al.* An undesired effect of chemotherapy: gemcitabine promotes pancreatic cancer cell invasiveness through ROS-dependent, NF- κ B-and HIF-1 α -mediated upregulation of CXCR4. *Journal of Biological Chemistry*, 2013, p. jbc. M113. 484576.

- AYALA, Antonio, MUÑOZ, Mario F., et ARGÜELLES, Sandro. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2014, vol. 2014.

B :

- BARAIBAR, Martin A., LADOUCE, Romain, et FRIGUET, Bertrand. Proteomic quantification and identification of carbonylated proteins upon oxidative stress and during cellular aging. *Journal of proteomics*, 2013, vol. 92, p. 63-70.
- BARIS, Dalsu et ZAHM, Shelia Hoar. Epidemiology of lymphomas. *Current opinion in oncology*, 2000, vol. 12, no 5, p. 383-394.
- BARIS, Dalsu et ZAHM, Shelia Hoar. Epidemiology of lymphomas. *Current opinion in oncology*, 2000, vol. 12, no 5, p. 383-394.
- Brunning RD, Borowitz M, Matutes E, Head D, Flandrin G, Swerdlow SH, Bennett JM. Precursor B lymphoblastic leukaemia / lymphoblastic lymphoma (precursor B-cell acute lymphoblastic leukaemia). In Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW. World Health Organization Classification of tumours. Pathology and genetics of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. 2001. IARC Press: Lyon. 111-114 p
- **Buege JA, Aust DS.** Methods Enzymol. 1978. 52 :302-310
- BUR, Hamid, HAAPASAARI, Kirsi-Maria, TURPEENNIEMI-HUJANEN, Taina, *et al.* Oxidative stress markers and mitochondrial antioxidant enzyme expression are increased in aggressive Hodgkin lymphomas. *Histopathology*, 2014, vol. 65, no 3, p. 319-327.

C :

- **Campbell BA, Voss N, Pickles T, et al.** La radiothérapie nodale impliquée comme un composant de la thérapie de combinaison pour le lymphome de Hodgkin à un stade limité : une question de taille de champ, 2008. *J Clin Oncol* 26 (32): 5170-4.
- **Cano ,R . Luz , E et Lopera H . Damaris E .** Introduction to T and B lymphocyte . 2013
- CARBONNELLE, Amélie, DELARUE, Richard, CANIONI, Danielle, *et al.* La maladie de Hodgkin nodulaire à prédominance lymphocytaire et ses diagnostics différentiels. In : *Annales de Pathologie*. Elsevier Masson, 2004. p. 136-148.

- **Charpentier AM, Friedman DL, Wolden S, et al.** Analyse factorielle prédictive de la radiothérapie adaptée à la réponse pour le lymphome hodgkinien pédiatrique sensible à la chimiothérapie : analyse du groupe d'oncologie pédiatrique AHOD 0031,2016 . *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 96 (5): 943-950.
- COSTAS, Laura, DE SANJOSÉ, Silvia, et INFANTE-RIVARD, Claire. Reproductive factors and non-Hodgkin lymphoma: a systematic review. *Critical reviews in oncology/hematology*, 2014, vol. 92, no 3, p. 181-193.
- CROHNS, Marika, SAARELAINEN, Seppo, ERHOLA, Marina, et al. Impact of radiotherapy and chemotherapy on biomarkers of oxidative DNA damage in lung cancer patients. *Clinical biochemistry*, 2009, vol. 42, no 10-11, p. 1082-1090.

D :

- **Deffenbacher KE, Iqbal J, Sanger W, et al.** Distinctions moléculaires entre les lymphomes non hodgkiniens à cellules B adultes et pédiatriques adultes identifiés par le profilage génomique.2012. *Sang* 119 (16): 3757-66.
- DELATTRE, Jacques, DURAND, Geneviève, et JARDILLIER, Jean-Claude. *Biochimie pathologique: aspects moléculaires et cellulaires*. Médecine-Sciences, 2003.
- **Delsol G, Ralfkiaer R, Stein H, Wright D, Jaffe ES.** Anaplastic large cell lymphoma. In Jaffe E.S., Harris N.L., Stein H., Vardiman J.W. World Health Organization Classification of tumours. Pathology and genetics of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues.2001. IARC. Press: Lyon. 230-235 p.
- ĎURAČKOVÁ, Zdeňka. Some current insights into oxidative stress. *Physiological Research*, 2010, vol. 59, no 4.

E :

- EDGE, Stephen B., AMERICAN JOINT COMMITTEE ON CANCER, et al. *AJCC cancer staging handbook: from the AJCC cancer staging manual*. New York : Springer, 2010.
- EMADI, Ashkan, JONES, Richard J., et BRODSKY, Robert A. Cyclophosphamide and cancer: golden anniversary. *Nature reviews Clinical oncology*, 2009, vol. 6, no 11, p. 638.

- ENGLAND, K., O'DRISCOLL, C., et COTTER, T. G. Carbonylation of glycolytic proteins is a key response to drug-induced oxidative stress and apoptosis. *Cell death and differentiation*, 2004, vol. 11, no 3, p. 252.
- EREZ, Neta, TRUITT, Morgan, OLSON, Peter, *et al.* Cancer-associated fibroblasts are activated in incipient neoplasia to orchestrate tumor-promoting inflammation in an NF- κ B-dependent manner. *Cancer cell*, 2010, vol. 17, no 2, p. 135-147.

G :

- GENTRIC, Géraldine, MIEULET, Virginie, et MECHTA-GRIGORIOU, Fatima. Heterogeneity in cancer metabolism: new concepts in an old field. *Antioxidants & redox signaling*, 2017, vol. 26, no 9, p. 462-485.
- GILLES,S. Lymphome malins hodgkiniens et non hdgkiniens.2010.Biochimie.france :v13.
- GÓTH, László, RASS, Péter, et PÁY, Anikó. Catalase enzyme mutations and their association with diseases. *Molecular Diagnosis*, 2004, vol. 8, no 3, p. 141-149.

H :

- HALLIWELL, Barry et WHITEMAN, Matthew. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean?. *British journal of pharmacology*, 2004, vol. 142, no 2, p. 231-255.
- HANAHAN, Douglas et WEINBERG, Robert A. Hallmarks of cancer: the next generation. *cell*, 2011, vol. 144, no 5, p. 646-674.
- HARRIS, Isaac S., TRELOAR, Aislinn E., INOUE, Satoshi, *et al.* Glutathione and thioredoxin antioxidant pathways synergize to drive cancer initiation and progression. *Cancer cell*, 2015, vol. 27, no 2, p. 211-222.
- Henkel, M et Solmon,M . Chapter11 Oxydative stress. A Clinician's Guide to Sperm DNA and Chromatin Damage . 2018

I :

- IGHODARO, O. M. et AKINLOYE, O. A. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine*, 2017.

J :

- JONA, Adam, SZODORAY, Peter, et ILLÉS, Arpad. Immunologic pathomechanism of Hodgkin's lymphoma. *Experimental hematology*, 2013, vol. 41, no 12, p. 995-1004.

K :

- KAPLAN, Lawrence D. Human herpesvirus-8: Kaposi sarcoma, multicentric Castleman disease, and primary effusion lymphoma. *ASH Education Program Book*, 2013, vol. 2013, no 1, p. 103-108.
- KARUPPANAPANDIAN, Thirupathi, MOON, Jun-Cheol, KIM, Changsoo, *et al.* Reactive oxygen species in plants: their generation, signal transduction, and scavenging mechanisms. *Australian Journal of Crop Science*, 2011, vol. 5, no 6, p. 709.
- Kharazmi E, Fallah M, E Pukkala, *et al.* Risque de lymphome de Hodgkin classique familial par la relation, l'histologie, l'âge et le sexe : une étude conjointe de cinq pays nordiques.2015. *Sang* 126 (17): 1990-5.
- KÜPPERS, Ralf. B cells under influence: transformation of B cells by Epstein–Barr virus. *Nature Reviews Immunology*, 2003, vol. 3, no 10, p. 801.

L :

- LEVINE, Rodney L., GARLAND, Donita, OLIVER, Cynthia N., *et al.* [49] Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. In : *Methods in enzymology*. Academic Press, 1990. p. 464-478.
- LÓPEZ-VIDAL, O., CAMEJO, D., RIVERA-CABRERA, F., *et al.* Mitochondrial ascorbate–glutathione cycle and proteomic analysis of carbonylated proteins during tomato (*Solanum lycopersicum*) fruit ripening. *Food chemistry*, 2016, vol. 194, p. 1064-1072.

M :

- Mann G, Attarbaschi A, Burkhardt B, *et al.* Les caractéristiques cliniques et les résultats du traitement des nourrissons atteints de lymphome non hodgkinien. 2007. *Br J Haematol* 139 (3): 443-9.
- MANI, Haresh et JAFFE, Elaine S. Hodgkin lymphoma: an update on its biology with new insights into classification. *Clinical Lymphoma and Myeloma*, 2009, vol. 9, no 3, p. 206-216.
- MARCOTTE, Erin L., RITZ, Beate, COCKBURN, Myles, *et al.* Birth characteristics and risk of lymphoma in young children. *Cancer epidemiology*, 2014, vol. 38, no 1, p. 48-55.
- MARKLUND, Stefan L. Extracellular superoxide dismutase and other superoxide dismutase isoenzymes in tissues from nine mammalian species. *Biochemical Journal*, 1984, vol. 222, no 3, p. 649-655.
- Masqué-Soler N, Szczepanowski M, Kohler CW, *et al.* Les caractéristiques cliniques et pathologiques du lymphome de Burkitt montrant l'expression de BCL2 - une analyse incluant l'expression des gènes dans le tissu inclus en paraffine fixé au formol. 2015. *Br J Haematol* 171 (4): 501-8.

- Mauz-Körholz C, Metzger ML, Kelly KM, *et al.* Lymphome pédiatrique de Hodgkin. 2015. *J Clin Oncol* 33 (27): 2975-85.
- MEDEIROS, L. Jeffrey. Pathology of Non-Hodgkin's and Hodgkin's Lymphomas. In : *Neoplastic Diseases of the Blood*. Springer, New York, NY, 2013. p. 867-918.

- Merhi M, Raynal H, Cahuzac E, *et al.* Occupational exposure to pesticides and risk of hematopoietic cancers: metaanalysis of case-control studies. 2007. *Cancer Causes Control* 18(10): 1209-26.
- MICHEL, F., BONNEFONT-ROUSSELOT, D., MAS, E., *et al.* Biomarqueurs de la peroxydation lipidique: aspects analytiques. In : *Annales de biologie clinique*. 2008. p. 605-620.
- MIGDAL, Camille et SERRES, Mireille. Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *M/S Revues*, 2011.

- Morabito F, Cristani M, *et al.* Peroxydation des lipides et oxydation des protéines chez les patients atteints de lymphome de Hodgkin. 2004. *Médiateurs de l'inflammation* [2004 Dec; 13 (5-6): 381-3].

- MORÓN, Úrsula Muñoz et CASTILLA-CORTÁZAR, Inma. Protection Against Oxidative Stress and “IGF-I Deficiency Conditions”. In : *Antioxidant Enzyme*. InTech, 2012.

N :

- NAGEL, D., VINCENDEAU, M., EITELHUBER, A. C., *et al.* Mechanisms and consequences of constitutive NF- κ B activation in B-cell lymphoid malignancies. *Oncogene*, 2014, vol. 33, no 50, p. 5655.

P :

- Parkin DM, Ferlay J, Hamdi-Chérif M, *et al* Cancer in Africa: epidemiology and prevention.2003. IARC Scientific Publications no 153 Lyon, France, pp 321–35.
- PICCALUGA, Pier Paolo, AGOSTINELLI, Claudio, GAZZOLA, Anna, *et al.* Pathobiology of Hodgkin lymphoma. *Advances in hematology*, 2011, vol. 2011.
- Poirel HA, Le Caire MS, Heerema NA, *et al.* Des anomalies cytogénétiques spécifiques sont associées à un résultat significativement inférieur chez les enfants et les adolescents atteints de lymphome non hodgkinien mature à cellules B: résultats de l'étude internationale FAB / LMB 96.2009. *Leucémie* 23 (2): 323-31, 2009
- POYTON, Robert O., BALL, Kerri A., et CASTELLO, Pablo R. Mitochondrial generation of free radicals and hypoxic signaling. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 2009, vol. 20, no 7, p. 332-340.

R :

- RADI, Rafael, TURRENS, Julio F., CHANG, Ling Y., *et al.* Detection of catalase in rat heart mitochondria. *Journal of Biological Chemistry*, 1991, vol. 266, no 32, p. 22028-22034.
- Razzaque Ahmed. A et Shiril M . Cyclophosphamide(Cytosan[®]). A review relevant pharmacology and clinical uses.1984

- Reuter , S , Gupata , S ,*et al* . Oxydative stress , inflammation and cancer : how are they linked ? 2010 . Free radical biology and medicine , vol 49, no 11 , p 1603-1616
- RIBRAG, V., CAMARA-CLAYETTE, V., BOSQ, J., *et al*. Lymphomes de BURKITT. *Encycl Med Chir (Editions scientifiques et Médicales Elsevier SAS, Paris, tous droits reserves) Hématologie*, 2012, p. 13-016.
- Ries GAL, Harkins D, M Krapcho, *et al*. Examen des statistiques du cancer SEER, 1975-2003.2006. Bethesda, Md : Institut national du cancer.
- ROULLAND, Sandrine, KELLY, Rachel S., MORGADO, Ester, *et al*. t (14; 18) Translocation: A predictive blood biomarker for follicular lymphoma. *Journal of Clinical Oncology*, 2014, vol. 32, no 13, p. 1347-1355.

S :

- SALZBURG, Janina, BURKHARDT, Birgit, ZIMMERMANN, Martin, *et al*. Prevalence, clinical pattern, and outcome of CNS involvement in childhood and adolescent non-Hodgkin's lymphoma differ by non-Hodgkin's lymphoma subtype: a Berlin-Frankfurt-Munster Group Report. *Journal of clinical oncology*, 2007, vol. 25, no 25, p. 3915-3922.
- **Sartorelli AC , Johns DJ**. Antineoplastic and immunosuppressive agents . In Handbook of experimental pharmacologie 195 . New York.. Springer-verlag. Vol 38.
- SCOTT, David W. et GASCOYNE, Randy D. The tumour microenvironment in B cell lymphomas. *Nature Reviews Cancer*, 2014, vol. 14, no 8, p. 517.
- SENA, Laura A. et CHANDEL, Navdeep S. Physiological roles of mitochondrial reactive oxygen species. *Molecular cell*, 2012, vol. 48, no 2, p. 158-167.
- SHAFFER III, Arthur L., YOUNG, Ryan M., et STAUDT, Louis M. Pathogenesis of human B cell lymphomas. *Annual review of immunology*, 2012, vol. 30, p. 565-610.
- SHANKLAND, Kate R., ARMITAGE, James O., et HANCOCK, Barry W. Non-hodgkin lymphoma. *The Lancet*, 2012, vol. 380, no 9844, p. 848-857.

- Smith MA, Altekruise SF, Adamson PC, *et al.* Déclin de la mortalité par cancer de l'enfance et de l'adolescence.2014. *Cancer* 120 (16): 2497-506 .
- STADTMAN, E. R. et LEVINE, R. L. Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins. *Amino acids*, 2003, vol. 25, no 3-4, p. 207-218.
- STEARNS, Vered, SCHNEIDER, Bryan, HENRY, N. Lynn, *et al.* Breast cancer treatment and ovarian failure: risk factors and emerging genetic determinants. *Nature Reviews Cancer*, 2006, vol. 6, no 11, p. 886.
- STORZ, Peter, *et al.* Reactive oxygen species in tumor progression. *Front Biosci*, 2005, vol. 10, no 1-3, p. 1881-1896.
- SUNGALEE, Stéphanie, MAMESSIER, Emilie, MORGADO, Ester, *et al.* Germinal center reentries of BCL2-overexpressing B cells drive follicular lymphoma progression. *The Journal of clinical investigation*, 2014, vol. 124, no 12, p. 5337-5351.

T :

Therond P. Dommage crée aux biomolécules (lipids;proteins;AND) par le stress oxydant. 2006. *Annales pharmaceutiques françaises*. 64 :383-389.

U :

Untanu RV, Retour J, Appel B, et al. Variant histologie, IgD et CD30 expression dans le lymphome de Hodgkin lymphocytaire nodulaire prédominant à faible risque pédiatrique : Un rapport du Groupe d'oncologie pour enfants.2018. *Cancer du sang de Pediatr* 65 (1).

W :

- WEBER, Daniela, DAVIES, Michael J., et GRUNE, Tilman. Determination of protein carbonyls in plasma, cell extracts, tissue homogenates, isolated proteins: focus on sample preparation and derivatization conditions. *Redox biology*, 2015, vol. 5, p. 367-380.

- Wolfromm A, Delarue R. Actualités thérapeutiques dans les lymphomes.2017. Rev Med Interne.

Y :

- Yanik EL, Shiels MS, Smith JM, *et al.* Contribution des transplantés d'organes solides au fardeau du lymphome non hodgkinien chez les enfants aux États-Unis.2017.Cancer 123 (23): 4663-4671.
- Yariktas M, Doner F, Dogru H, Yasan H, Delibas N. The role of free oxygen radicals on the development of otitis media with effusion. 2003. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 68:889-894.

Z :

Zeggai.S et al. Profil histioépidémiologique des lymphomes des adultes dans l'Ouest algérien : à propos de 1544 cas .2013 . J Afr . Cancer (2013), 5.127-132 .