

TLEMCEN
N° d'ordre :



République Algérienne Démocratique et Popu



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE de TLEMCEN
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de
l'Univers

Département de Biologie
Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée et d'Immunologie, W 041 41 00

MEMOIRE

Présenté par
Fella ROSTANE

En vue de l'obtention du

Grade de Master
Spécialité Immunologie
Thème

Effet de la metformine et du sélénium sur la production des cytokines
par le monocyte issu de la leucémie lymphoblastique aiguë T

Soutenu le 18 juillet 2019:

Sous la direction du Professeur Mourad ARIBI

Président	SMAHI Mohammed Chemseddine	MCA	Université de Tlemcen
Encadreur	ARIBI Mourad	Professeur	Université de Tlemcen
Examinatrice	ELMEZOUAR Chahrazede	MAA	Université de Tlemcen
Examinatrice	BRAHAMI Nabila	MCB	Université de Tlemcen

Année universitaire 2018/2019

TLEMCEN
N° d'ordre:



République Algérienne Démocratique et Populaire



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE de TLEMCEN
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de
l'Univers

Département de Biologie
Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée et d'Immunologie, **W 041 41 00**

MEMOIRE

Présenté par
Fella ROSTANE

En vue de l'obtention du

Grade de Master
Spécialité Immunologie
Thème

**Effet de la metformine et du sélénium sur la production des cytokines
par le monocyte issu de la leucémie lymphoblastique aiguë T**

Soutenu le 18 juillet 2019:

Sous la direction du Professeur Mourad ARIBI

Président	SMAHI Mohammed Chemseddine	MCA	Université de Tlemcen
Encadreur	ARIBI Mourad	Professeur	Université de Tlemcen
Examinatrice	ELMEZOUAR Chahrazede	MAA	Université de Tlemcen
Examinatrice	BRAHAMI Nabila	MCB	Université de Tlemcen

Année universitaire 2018/2019

Résumé

Introduction : Les biguanides notamment la metformine (Met), a fait l'objet de recherche très intense sur le cancer. Aussi, le sélénite de sodium (Ss) pourrait immunomoduler les activités des cellules mononuclées, telles que les monocytes-macrophage. Comprendre les changements des niveaux des cytokines produites par les monocytes traités, avec la Met et/ou le Ss au cours de la leucémie aiguë lymphoblastique T (LAL-T) pourrait être d'une importance capitale pour le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques.

Objectif : Déterminer le rôle de la Met combiné ou non au Ss dans le cadre d'une étude mécanistique, *ex vivo* sur le profile cytokinique des monocytes issu de LAL-T.

But : Montrer que la Met et le Ss pourrait immunomoduler l'activité du monocyte vers un profil tueur, anti-tumoral dans LAL-T.

Matériels et méthodes : Des monocytes, isolés à partir du sang périphérique du patient atteint de LAL-T, ont été mis en culture et traité par la Met seul ou en combinaison avec le Ss.

Résultat : la Met a induit une augmentation hautement significative de la production de l'interleukine 1 beta (IL-1 β), tandis qu'aucune différence significative n'a été observée par l'interféron-gamma (IFN- γ), le *tumor necrosis factor-alpha* (TNF α), IL-6 et IL-10. De même le traitement du monocyte par le Ss seul ou en association avec la Met n'as pas induit un changement de maniéré significative de l'ensemble des cytokines.

Conclusion : la Met agirait spécifiquement sur l'expression de l'IL-1 β monocyttaire au cours de la LAL-T. Ainsi, le Ss s'avèrerait avoir un effet notable sur l'action de la MET durant cette pathologie.

Mots clé : cytokines, leucémie aigue lymphoblastique T, monocytes, metformine, sélénite de sodium.

Abstract

Introduction: The biguanides including metformin (Met), has been the subject of very intense research on cancer. Also, sodium selenite (Ss) could immunomodulate the activities of mononuclear cells, such as monocyte-macrophage. Understanding the changes in cytokine levels produced by treated monocytes, with Met and / or Ss during acute lymphoblastic leukemia T (LAL-T) could be of paramount importance for the development of new therapeutic strategies.

Objective: To determine the role of Met combined or not with Ss in a mechanistic ex vivo study, on the cytokine profile of monocytes derived from acute lymphoblastic leukemia T.

Aim: To show that Met and Ss could immunomodulate monocyte activity towards a killer, anti-tumor profile in acute lymphoblastic leukemia T.

MATERIALS AND METHODS: Monocytes, isolated from the peripheral blood of the patient with T-cell acute lymphoblastic leukemia, were cultured and treated with Met alone or in combination with Ss.

Result: Met induced a highly significant increase in interleukin 1 beta (IL-1 β) production, whereas no significant difference was observed with interferon-gamma (IFN-gamma), tumor necrosis factor-alpha (TNF α), IL-6 and IL-10. Similarly, treatment of monocyte with Ss alone or in combination with Met did not induce a significant change in all cytokines.

Conclusion: Met would specifically act on the expression of IL-1 β produced by monocyte during LAL-T. Thus, Ss would have a significant effect on the action of MET during this pathology.

Key words: cytokines, acute lymphoblastic leukemia T, monocytes, metformin, sodium selenite.

ملخص

مقدمة: مركبات البيجونيدي بما في ذلك الميتفورمين (Met) ، موضوع بحث مكثف للغاية في مجال السرطان. وأيضاً ،يستطيع سيلينييت الصوديوم (Ss) تحويل مناعياً أنشطة الخلايا وحيدات النواة ، مثل وحيدات النواة البالعة. إن فهم التغيرات في مستويات السيتوكينات التي تنتجها وحيدات النواة المعالجة بMet و / أو Ss خلال سرطان الدم الليمفاوي الحاد LAL-T يمكن أن يكون ذا أهمية قصوى لتطوير استراتيجيات علاجية جديدة.

الغاية من الدراسة: تحديد دور Met مجتمعة أو لا مع Ss في اطار دراسة ميكانيكية خارج الجسم الحي على الملف السيتوكيني لوحيدات النواة المستمدة من سرطان الدم الليمفاوي الحاد T.

الهدف: لإظهار أن Met و Ss يمكن لهما ان يعدلان مناعياً نشاط وحيدات النواة نحو صورة قاتلة ومضادة للورم في سرطان الدم الليمفاوي الحاد T.

المواد والطرق: تم زراعة وعزل وحيدات النواة المستمدة من الدم المحيطي لمريض مصاب بسرطان الدم الليمفاوي الحاد للخلايا T، وبعد ذلك عالجنها بالميتفورمين وحدها أو بالاشتراك مع سيلينييت الصوديوم.

النتيجة: تسبب Met في حدوث زيادة كبيرة في إنتاج $IL-1\beta$ في حين لم يلاحظ أي اختلاف كبير مع (TNF α ، IL-6 و IL-10) وبالمثل ، فإن علاج وحيدات النواة مع Ss فقط أو بالاشتراك مع Met لم يحدث تغييراً كبيراً في جميع السيتوكينات. الخلاصة: سوف يعمل Met على وجه التحديد على التعبير عن $IL-1\beta$ خلال LAL-T. وبالتالي، فإن Ss يكون له تأثير كبير على عمل MET خلال هذه الأمراض.

الكلمات المفتاحية: أحاديات النواة، السيتوكينات، سرطان الدم الليمفاوي الحاد T، سيلينيوم، ميتفورمين.

Remerciements

A l'occasion de la soutenance de mes travaux de mon projet de master Immunologie, je tiens à exprimer toute ma gratitude envers tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Seul, on ne peut rien. C'est pour cela que je désire remercier tout particulièrement :

Un grand merci à mon Encadreur et responsable du master immunologie Monsieur le Professeur Mourad ARIBI ; merci m'avoir fait l'honneur de diriger ce travail de Mémoire et de m'avoir ouvert les portes de votre laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée et Immunologie, et bien sûr pour toutes les connaissances et conseils que vous avez partagé avec nous. Que ce travail soit le témoignage de ma reconnaissance et de mon profond respect.

Je ne pourrai passer sous silence de la grande générosité de Zeyneb HADJIDJ ; Membre du laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée et Immunologie, avec ses précieux conseils son dévouement sa disponibilité et bien sûr sa patience, Merci de m'avoir guidé tout au long de ce projet, Les mots ne me suffisent pas pour exprimer ma gratitude envers toi et à quel point j'ai apprécié ton aide. Je te souhaite beaucoup de réussite.

Sans oublier Rabia MESSALI je tiens à vous exprimer mes sincères remerciements pour vos conseils et votre aide précieuse avec votre gaieté. Et biensure Ilyes et Nidel avec qui j'ai tous partager ses derniers mois.

Je dédie ce travail modeste à:

Mes très chers parents qui m'ont soutenu tout au long de mes études sans eux je ne serai jamais arrivé ou j'en suis.

Mon très chère mari qui m'a aidé et soutenu pendant mes études et m'a supporté dans les moments les plus difficiles.

Mon frère et mes sœurs qui m'ont encouragé et aidé moralement.

Tous ceux qui, d'une manière ou d'une autre, m'ont aidé à atteindre cet objectif

Table des matières

Résumé	ii
Abstract	iii
ملخص	iv
Avant-propos	v
Table des matières	vi
Liste des figures	ix
Liste des abréviations	xi
Introduction	
Chapitre 1. Revue de la littérature	1
1. Leucémie aigue lymphoblastique T et immunité anti-tumorale	1
1.1. Leucémie aigue	1
1.1.1. Epidémiologie	1
1.1.2. Classification de la LAL	1
1.1.2.1. LAL de la lignée B	2
1.1.2.2. LAL de la lignée T	2
1.2. Leucémie aigue lymphoblastique T	2
1.2.1. Physiopathologie	2
1.2.1.1. L'oncogenèse des LAL T	2
1.2.2. Classification de la LAL T	3
1.2.3. Les symptômes de la LAL-T	3
1.2.3.1. Les symptômes généraux	3
1.2.3.2. Les symptômes tumoraux	3
1.2.4. Diagnostic de la LAL-T	4

1.2.4.1. diagnostic biologique	4
1.3. Immunité anti-tumoral	4
1.3.1. Monocyte	4
1.3.1.1. Monocytopoïèse	4
1.3.1.2. Aspect morphologique	5
1.3.1.2.1. Dans le sang	5
1.3.1.2.2. Dans la moelle osseuse	6
1.3.1.2.3. En pathologie tumorale	6
1.3.1.3. Sous-populations	6
1.3.1.4. La sécrétion de cytokines	8
1.3.1.4.1. Interleukine-1 β	8
1.3.1.4.2. Tumor Nécroses Factor-alpha	9
1.3.1.4.3. Interleukine-6	10
1.3.1.4.4. Interféron gamma	11
1.3.1.4.5. Interleukine-10	12
1.3.1.5. Monocytes et cancer	13
1.3.2. Metformine	15
1.3.2.1. Définition	15
1.3.2.2. Metformine et cancer	15
1.3.2.2.1. Effet de la metformine sur le microenvironnement tumoral	15
1.3.2.2.2. Mode d'action de la metformine	16
1.3.2.2.3. Effet préventif de la metformine sur le développement tumoral	17
1.3.2.2.4. Effet de la metformine sur les monocytes	17
1.3.3. Sélénium	17
1.3.3.1. Les formes biologiques principales du sélénium	17
1.3.3.2. Sélénium et système immunitaire	17

1.3.3.3. Sélénium et cancer	19
Chapitre2. Matériels et méthodes	20
2.1. study design	20
2.2. Isolation des PBMC	21
2.3. Enumération des PBMCs sur cellule de Malassez	21
2.4. Culture cellulaire	22
2.5. Dosage des cytokines par ELISA	23
CHAPITRE 3. Résultats et interprétations	25
3.1. Interleukine-1 β	25
3.2. Interleukine-6	26
3.3. Interleukine-10	27
3.4. Tumor necrosis factor α TNF α	28
3.5. Interféron gamma IFN- γ	29
Chapitre 4. Discussion	30
Chapitre 5. Conclusion	33
Chapitre 6. Bibliographie	34

Liste des figures

Figure 1.1. Nomenclature des monocytes dans le sang.

Figure 1.2. Illustration schématique de la modulation de l'IL-1 β dans le microenvironnement tumoral pour favoriser la carcinogénèse.

Figure 1.3. Représentation schématique des différentes étapes menant à la biosynthèse et au relargage du TNF alpha par les monocytes suite à une activation par le LPS.

Figure 1.4. Production et effets de l'IL-6.

Figure 1.5. Voie de signalisation de l'IFN- γ .

Figure 1.6. Propriétés immunosuppressives et anti-inflammatoires de l'IL-10.

Figure 1.7. Les monocytes dans le microenvironnement tumoral.

Figure 1.8. Le recrutement des monocytes classiques et leur différenciation en macrophages associés aux métastases.

Figure 1.9. Mécanismes d'action de la metformine pour inhiber le cancer.

Figure 1.10. Effets de la consommation de Se sur la différenciation des lymphocytes T CD4⁺.

Figure 2.1. Schéma récapitulatif de la partie matériel et méthodes.

Figure 2.2. : énumération des PBMCs sur cellules de Malassez

Figure 2.3. Distribution de 150 μ L Dans une plaque de 96 puits

Figure 2.4. Monocytes observés par microscope inversé

Figure 2.5. Conditions de culture cellulaire

Figure 2.6. Matériel utilisé pour le dosage des cytokines par ELISA

Figure 3.1. Effet de Met et Ss sur la production d'IL-1 β par monocytes de la LAL-T. Les niveaux d'IL-1 β étaient mesurés en utilisant un dosage ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay)

Figure 3.2. Effet de Met et Ss sur la production d'IL-6 par monocytes de la LAL-T. Les niveaux d'IL-1 β étaient mesurés en utilisant un dosage ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay)

Figure 3.3.1. Effet de Met et Ss sur la production d'IL-10 par monocytes de la LAL-T. Les niveaux d'IL-1 β étaient mesurés en utilisant un dosage ELISA.

Figure 3.4.1. Effet de Met et Ss sur la production de TNF α par monocytes de la LAL-T. Les niveaux d'IL-1 β étaient mesurés en utilisant un dosage ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay)

Figure 3.5. Effet de Met et Ss sur la production de IFN- γ par monocytes de la LAL-T. Les niveaux d'IL-1 β étaient mesurés en utilisant un dosage ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay)

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique.

Ag : Anti gène.

AMP : adénosine monophosphate.

AMPC : Adénosine monophosphate cyclique.

AMPK : activated protein kinase.

ATM : ataxia telangiectasia mutated.

CD : cluster de différenciation.

CFU-GEMM : Colony Forming Unit Granulocytaire, Erythroblastique, Mégacaryocytaire et Monocytaire.

CFU-GM: Colony Forming Unit Granulocytaire, Monocytaire.

CMH : complexe majeur d'histocompatibilité.

EDTA : Ethylène diamine tétra acétique.

ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay.

Fab: fragment anti gène baiding.

FC: fragment cristallisable.

Flt3-L: Fms-like tyrosine kinase 3.

FNS : Numération de la Formule Sanguine.

G-CSF: Granulocyte-colony-stimulating factor.

GM-CSF: Facteur stimulant les colonies de granulocytes et de macrophages.

GPI : Glycosyl phosphatidyl inositol.

HLA: Human leukocyte antigen.

IFN : interféron.

Ig: Immunoglobuline.

IL: Interleukine.

iNOS : Oxyde nitrique synthase.

LA : leucémie aigüe.

LAL : leucémie aigue lymphoblastique.

LAM : leucémie aigüe myéloïde.

MAMs: metastasis-associated macrophages.

MCP-1: Monocyte chemotactic protein 1.

MDSC: myeloid-derived suppressor cells.

Met: Metformine.

MO: Monocytes.

mtor: mechanistic target of rapamycin - auparavant mammalian target of rapamycin.

N/C: rapport noyau/cytoplasm.

NF- κ B : nuclear factor-kappa B.

NK : Natural killer.

OCT1: transporteur de cations organiques 1.

OMS: Organisation mondiale de la Santé.

PBMCs: peripheral blood mononuclear cells.

PBS: phosphate buffered saline.

PD1: Programmed cell death 1.

PDL1: Programmed death-ligand 1SCF: Stem Cell Factor.

PNN: Polynucléaires neutrophils.

Src: Société Radio-Canada.

Ss: sélénite de sodium.

SVF : Le sérum de veau fœtal.

TGF beta: Transforming growth factor.

TMB: Tetramethyl benzidine.

TNF: Tumor necrosis factor.

VEGF: Vascular endothelial growth factor.

WB: wash buffer

Introduction

La LAL-T représente entre 10 et 15% des hémopathies malignes avec un taux d'incidence standardisé à la population mondiale inférieur à 6/100 000 habitants/an (Doumbia et al., 2016). Récemment, les données obtenues à partir de nombreuses études ont démontré le rôle de système immunitaire dans LAL-T (Vardiman et al., 2009). Ce rôle est caractérisé par une ambivalence, de sorte que le système immunitaire peut non seulement éradiquer les cellules malignes mais aussi favoriser la progression tumorale (von Au et al., 2016), par la sélection clonale des cellules cancéreuses (Mohme et al., 2017) et la création d'un microenvironnement pro-tumoral et immunosuppresseur (Plitas et al., 2016).

Les monocytes sont une population hétérogène des cellules mononucléaires sanguines, impliquées dans la réponse inflammatoire (Rahman et al., 2017) et le maintien de l'homéostasie tissulaire (Hadadi et al., 2016). Ces cellules représentent 10% des cellules immunitaires infiltrant les LAL-T (Gingras et al., 2015). Selon leurs polarisations, leurs types (sous ensemble) ainsi que les conditions présentes dans le microenvironnement tumorale les monocytes peuvent soit inhiber (Ziegler-Heitbrock et al., 2010) soit favoriser la prolifération tumorale (Noy and Pollard, 2014) ; par la sécrétion des cytokines pro-inflammatoire et Anti-inflammatoire tel que l'Interleukine-1 β , *Tumor Nécroses Factor-alpha*, l'Interleukine-6, l'Interféron gamma et l'Interleukine-10.

Le Se un oglio élément largement présent dans la nature. Grace à son action antioxydante, le Se pourrait jouer un rôle protecteur au cours des phénomène physiologique et le développement de certaine maladie tel que le cancer (Vinceti et al., 2017).

La Met, un diméthylbiguanide de synthèse, est utilisée pour la première fois en 1958, et est aujourd'hui considérée comme le médicament de premier choix pour le traitement du diabète de type 2 utilisé par environ 125 millions de personnes dans le monde (Triggle and Ding, 2017). Des progrès récents ont révélé que ce médicament, en plus de son action hypoglycémiant, pourrait être prometteur pour cibler spécifiquement les différences métaboliques entre la signalisation métabolique normale et anormale. Elle exerce son effet anti-tumorale soit indirectement, en interférant avec les voies de signalisation de l'insuline ou directement sur les cellules tumorales, par divers voies de signalisation dépendantes ou non de l'AMPK ; Les connaissances acquises en disséquant les principaux mécanismes par lesquels la Met agit peuvent nous aider à développer de nouveaux traitements (Pernicova and Korbonits, 2014).

L'objectif de notre étude est de déterminer le rôle de la Met combiné ou non au Ss dans le cadre d'une étude mécanistique, *ex vivo* sur le profile cytokinique des monocytes issu de LAL-T, avec le but de montrer que la Met et le Ss pourrait immunomoduler l'activité du monocyte vers un profil tueur, anti-tumoral dans LAL-T.

Chapitre 1

Revue de littérature

1. Leucémie aigue lymphoblastique T et immunité anti-tumorale

1.1. Leucémie aigue

Les leucémies aiguës (LA) constituent un groupe hétérogène d'hémopathies malignes caractérisées d'une infiltration et une prolifération dans la moelle osseuse, le sang et les tissus, de cellules hématopoïétiques immatures que l'on appelle les blastes. Il s'agit d'une maladie grave qui entraîne la mort en quelques semaines en l'absence de traitement (Vardiman et al. 2009)(Jean-Marc, 2015). Ils représentent entre 10 et 15% des hémopathies malignes avec un taux d'incidence standardisé à la population mondiale inférieur à 6/100 000 habitants/an (Dolumbia et al. 2016) et un âge de survenue qui varie selon le type de leucémie (Vardiman et al., 2009) Chez l'enfant, les leucémies aiguës myéloïdes (LAM) sont rares et surviennent avant l'âge de 2 ans ou après 15 ans. À l'inverse, La leucémie aiguë lymphoblastique (LAL) est le cancer le plus fréquent chez les enfants et représente environ un quart de tous les cancers chez les sujets de moins de 15 ans (Torpy et al., 2009) et elle est aussi environ 5 fois plus prédominant que la LAM (Vardiman et al., 2009).

1.1.1. Epidémiologie

Les (LAL) sont nettement plus fréquentes chez l'enfant par rapport à l'adulte. Elles Représentent 80% des L.A et restent la forme la plus fréquente des cancers de l'enfant (30-35% des cancers en pédiatrie).

Il faut distinguer les LAL de la lignée B de celles de la lignée T.

1.1.2. Classification de la LAL

Il existe actuellement deux types de classifications pour les LAL : La classification FAB et la classification OMS.

La classification FAB est de moins en moins utilisée. Elle classait les LAL en trois types : LAL 1, LAL 2, et LAL 3 en fonction de la morphologie des blastes (Jean-Marc, 2015).

La classification OMS différencie deux types de LAL : LAL B et LAL T en fonction des caractéristiques cytologiques et cytochimiques retrouvés sur les blastes. La classification OMS est la plus utilisée (Jean-Marc, 2015).

1.1.2.1. LAL de la lignée B

Chez l'enfant, les LAL de la lignée B sont prédominantes (80%). Leur pic de Fréquence se situe entre 2 et 5 ans, surtout dans les pays occidentaux. L'incidence globale des LAL varie selon les pays ; l'incidence la plus élevée est Observée dans les populations hispaniques (Costa-Rica et Los Agnelés) (5,94 et 5,02 respectivement), et l'incidence la plus basse en Afrique Noire (1,18 à 1,61 pour 105 enfants de moins de 15 ans). Les LAL sont moins fréquentes chez les enfants américains de race noire par rapport à ceux de race blanche(Pui et al., 2015).

1.1.2.2. LAL de la lignée T :

Les LAL-T prédominent chez des enfants plus âgés, à l'adolescence ou chez les Préadolescents et restent rares avant 5ans. La sex-ratio atteint 4 pour les LAL-T (Il est de 1,2 pour les LAL-B)(Pui et al., 2015).

1.2. Leucémie aigue lymphoblastique T

1.2.1. Physiopathologie

Les LAL T représentent environ 15 % de toutes les leucémies avec des variations de fréquence en fonction de l'âge et une prédominance chez les adolescents. De 10 à 15% des LAL de l'enfant, l'incidence chez l'enfant est plus élevée chez le garçon avec un sexe ratio de 3:1 (Graux et al., 2006).

Les LAL T sont dues à la transformation oncogénique de précurseurs hématopoïétiques de la lignée lymphoïde T. Elles correspondent à des proliférations clonales malignes développées à partir des précurseurs thymiques (Graux et al., 2006).

1.2.1.1. L'oncogénèse des LAL T

L'oncogénèse des LAL T et le développement physiologique lymphoïde T sont liés, en particulier en ce qui concerne les mécanismes de régulation des recombinaisons somatiques, à l'origine de la mise en place d'un récepteur T à l'antigène (TCR) (Aifantis et al., 2008). De nombreux signaux de prolifération et/ou d'apoptose physiologiques sont de ce fait impliqués dans la leucémogénèse des LAL T(Pui et al., 2015).

Les stades de blocage de maturation des LAL T reproduisent les différentes étapes de maturation thymique humaine (Asnafi, 2004). A partir de l'analyse des réarrangements des loci des TCRs, l'expression de la chaîne du TCR β en intra cytoplasmique et l'expression du TCR $\gamma\delta$ ou $\alpha\beta$ à la surface des cellules blastiques, les LAL T se scindent en trois groupes : les

LAL T immatures, les LAL T pré- $\alpha\beta$ et les LAL T matures (Asnafi, 2004). Les LAL-T immatures présentent les caractéristiques des précurseurs thymiques immatures non-T restreints. Elles comportent 4 sous-groupes, correspondant à l'ordre physiologique des réarrangement successifs des TCRs: les IM0, les IM δ , les IM γ et les Im β (Asnafi et al., 2003).

Les LAL T pré $\alpha\beta$ ont effectué des réarrangements complets du TCR δ et du TCR β mais n'ont pas commencé à réarranger le locus du TCR α (Van Vlierberghe and Ferrando, 2012). Les blastes expriment de ce fait un pré-TCR (Score et al., 2010). Les LAL T matures ont réarrangé le TCR δ , le TCR γ et le TCR β de façon incomplète et expriment le complexe CD3/TCR $\gamma\delta$ ou CD3/TCR $\alpha\beta$. Les LAL T de l'adulte présentent souvent un blocage de maturation plus immature que celles de l'enfant.

1.2.2. Classification de la LAL T

La classification des LAL T repose sur des critères morphologiques, sur l'expression d'antigènes de différenciation spécifiques de la lignée lymphoïde T et sur l'étude des réarrangements des TCR. L'expression du CD3 cytoplasmique ou membranaire est nécessaire et suffisante pour affirmer l'appartenance des blastes à la lignée lymphoïde T (Dombia et al., 2016). Le groupe européen de caractérisation immunologique des leucémies (EGIL) a établi une classification immunologique en fonction des stades de différenciation thymique, laquelle n'est toutefois pas tout-à-fait précise pour définir le stade d'arrêt de maturation et a peu d'impact thérapeutique (Bene et al., 1995).

1.2.3. Les symptome de la LAL-T

1.2.3.1. Les symptômes généraux

- Une asthénie produite essentiellement par l'anémie.
- Une anorexie
- Un amaigrissement
- La fièvre
- Des douleurs osseuses ou articulaires que l'on observe chez un tiers des malades, Particulièrement chez les enfants.

1.2.3.2. Les symptômes tumoraux (Torpy et al., 2009)

- Une hypertrophie des organes hématopoïétiques (adénopathies et splénomégalie) ou une hépatomégalie se voient surtout dans les LAL (Torpy et al., 2009).
- Il existe aussi des localisations particulières, d'emblée ou au cours de l'évolution, parfois sous forme de rechutes isolées :

Localisations méningées responsables de céphalées, de paralysies des nerfs périphériques.

Localisations cutanées sous forme de leucémides (LA monoblastiques) (Torpy et al., 2009).

Localisations osseuses, responsables de douleurs (LAL de l'enfant surtout) prédominant aux diaphyses proximales.

Atteinte testiculaire dans les LAL, essentiellement chez l'enfant (Torpy et al., 2009).

- L'hyperleucocytose n'a de traduction clinique que quand elle est majeure (> 100 G/l), s'accompagnant d'un syndrome de leucostase dans les capillaires pulmonaires et cérébraux. Les signes sont représentés au niveau pulmonaire par une hypoxie réfractaire parfois sévère avec détresse respiratoire et au niveau cérébral par des troubles de conscience voire un coma ou des convulsions.

1.2.4. Diagnostic de la LAL-T

1.2.4.1. diagnostic biologique repose essentiellement sur :

- Hémogramme et frottis sanguin.
- Myélogramme.
- Immunophénotypage.
- Cytogénétique.
- Génétique moléculaire et DNA microarrays.

1.3. Immunité anti-tumoral

Immunité anti cancer consiste à étudier les relations entre une tumeur et le système immunitaire de l'hôte, afin de concevoir des traitements anticancéreux capables d'exploiter la puissance potentielle d'une réaction immunitaire dirigée contre la tumeur. Ce domaine est au carrefour de divers domaines de la biologie nécessitant une compréhension particulière ainsi qu'une approche intégrée des connaissances : l'étude du micro-environnement tumoral, des différentes sous-populations de leucocytes présents dans une zone tumorale à un stade déterminé, des facteurs de transcription activés chez ces diverses cellules, des sous-types tumoraux pouvant influencer la réponse immune (Riella et al., 2012).

1.3.1. Monocyte

Les monocytes sont un type de leucocytes ou de globules blancs. Ils sont le type le plus important de leucocytes et peuvent se différencier en macrophages et en cellules dendritiques de la lignée myéloïde. En tant que partie intégrante du système immunitaire inné, les monocytes influencent également le processus d'immunité adaptative (Swirski et al., 2009).

1.3.1.1. Monocytopoïèse

S'effectue dans la moelle osseuse : La cellule souche hématopoïétique se différencie en cellule souche myéloïde, correspondant au progéniteur commun CFU-GEMM (Colony Forming Unit Granulocytaire, Erythroblastique, Mégacaryocytaire et Monocytaire) sous l'influence de diverses cytokines (SCF, Flt3-L, GM-CSF, IL-3). Ultérieurement, la stimulation

par l'IL-3 et le GM-CSF (Granulocyte Monocyte - CSF) oriente la différenciation du progéniteur commun myéloïde en progéniteur granulo-monocytaire CFU-GM (Nichols et al., 1971).

L'action du G-CSF stimule ensuite la différenciation en CFU-G (progéniteur de la lignée neutrophile), alors que l'action combinée du G-CSF et du M-CSF oriente la différenciation en progéniteur CFU-M puis en précurseur monocytaire (Patel et al., 2019).

Cinétique : Durée de la différenciation des CFU-GM en monocytes sanguins = environ 5-7 j (soit 2-3 j de moins que pour produire des PNN).

Le monocyte médullaire réside 1 j dans la MO, puis migre dans le sang périphérique où il est présent 1-3 j (3/4 des monocytes du compartiment vasculaire sont marginés), avant de migrer par diapédèse active au travers des parois vasculaires pour se localiser dans les divers tissus de l'organisme (Patel et al., 2019).

1.3.1.2. Aspect morphologique

1.3.1.2.1. Dans le sang on trouve 2 catégories de monocytes, matures et immatures

Monocyte mature :

- Grande cellule : 20 – 25 µm de diamètre, arrondie ou quadrangulaire, avec rapport N/C = 0,5 à 0,6.
- Noyau allongé en ruban, « serpentiforme » ou « réniforme », avec pincements moins intenses que dans le noyau des PNN : les "lobes nucléaires" sont moins nettement individualisés (lobulé/indenté). Chromatine de couleur violacée, plus finement dessinée que celle du PNN, sans nucléole visible (Hofer et al., 2015).
- Cytoplasme gris avec texture floconneuse et quelques granulations azurophiles très fines (= difficiles à individualiser, correspondant à « une fine poussière de granulations »). Des vacuoles cytoplasmiques sont parfois visibles (Hofer et al., 2015).

Monocyte immature (appelé parfois monocyte médullaire) :

- Grande taille ressemble au monocyte mature mais souvent un peu plus petit.
- Noyau "convoluté", formé de 2 ou 3 masses arrondies. Chromatine et texture chromatiniennes id. Monocyte mature; pas de nucléole net (Imhof et al., 2016).
- Cytoplasme gris-bleu, parfois des granulations azurophiles.
- Nombre = 0.2 – 1 G/L (adulte). Jusqu'à 1.2 G/L chez le nourrisson.
- La majorité sont des monocytes matures, mêlés de quelques immatures (Imhof et al., 2016).

1.3.1.2.2. Dans la moelle osseuse :

Une égalité des monocytes matures et immatures. Également un petit nombre de cellules de morphologie intermédiaire entre le monocyte immature et le promyélocyte (mais pauvre en granulations).

1.3.1.2.3. En pathologie tumorale :

Pro monocyte :

- Silhouette de "monocyte" mais noyau avec repli(s).
- Grande taille: 20 - 30 µm.
- Noyau : convoluté, mais la chromatine est fine; il existe un (ou deux) repli(s) du noyau sur lui-même (convoluté/indenté) (Collison et al. 2015).

Monoblaste:

- Aspect de grand blaste à noyau arrondi ;
- Grande taille: 20 - 30 µm.
- Noyau arrondi ou ovalaire, avec chromatine fine, souvent un volumineux nucléole unique (subcentral)(Collison et al., 2015).

1.3.1.3. Sous-populations

Il existe trois sous-classes de monocytes dans le sang humain en fonction de leurs récepteurs phénotypiques: (Ziegler-Heitbrock et al., 2010)

Le monocyte classique est caractérisée par une expression de niveau élevé du CD14 récepteur de surface cellulaire (CD14 ++ CD16 - monocyte) ;

Dédiés à la phagocytose, peu ou pas de fonction dans l'inflammation.

Le monocyte non classique présente un faible niveau d'expression de CD14 et une co-expression supplémentaire du récepteur CD16 (monocyte CD14 + CD16 ++) ;

Pas ou peu de fonction phagocytaire; essentiellement un rôle dans la réponse inflammatoire.

Le monocyte intermédiaire avec un niveau d'expression élevé de CD14 et un niveau d'expression faible de CD16 (monocytes CD14 ++ CD16 +) ;

Monocytes transitionnels entre les 2 précédents : ils ont les deux fonctions (phagocytose et inflammation).

On retrouve les Ag suivants sur les monocytes :

- Antigène pan leucocytaire CD45.
- Antigènes myéloïdes CD33 et CD13, ainsi que le CD11b.

- Récepteurs pour le Fc des Ig G (CD64 = FC gamma RI, CD32 = Fc gamma RII, CD16 = Fc gamma RIII), des IgE (CD23) (Li et al., 2018).
- Récepteurs de fractions du complément.
- Autres molécules exprimées : HLA-DR, CD38, CD163, diverses molécules d'adhésion dont le CD4(Li et al., 2018).
- CD36, Co exprimé sur les plaquettes et les érythroblastes.
- Antigène monocytaire:CD14, protéine à ancre GPI, et récepteur du Lipopolysaccharide (LPS) (Lastrucci et al., 2015).

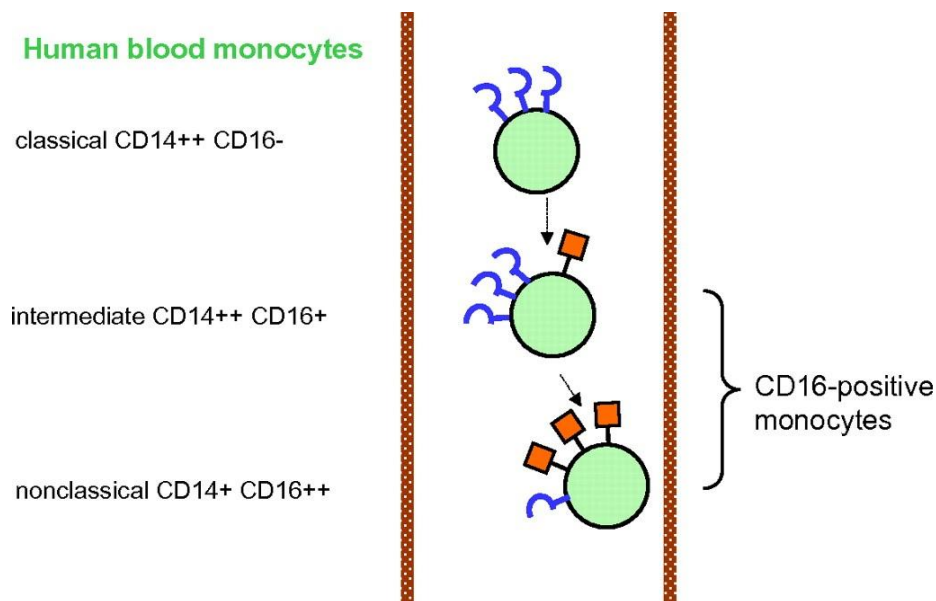


Figure 1.1. Nomenclature des monocytes dans le sang (Ziegler-Heitbrock et al., 2010).

Les 3 types de cellules sont représentés avec des symboles différents, qui représentent les marqueurs cruciaux des cellules respectives. Le crochet bleu indique CD14; drapeau carré rouge, CD16. Un nombre plus élevé d'un symbole donné indique une densité plus élevée d'un récepteur donné. Les flèches représentent la relation de développement. Cela n'indique pas nécessairement que le développement se produit réellement dans le compartiment du sang. La position des monocytes non classiques plus près de la paroi vasculaire indique que ces cellules se localisent préférentiellement dans le pool marginal, concept pris en charge par les données microscopiques intravitales de l'homologue de souris(Ziegler-Heitbrock et al., 2010).

1.3.1.4. La sécrétion de cytokines

Acteurs majeurs de la réponse immunitaire, inflammatoire et anti tumorale, les monocytes et macrophages peuvent synthétiser et sécréter de nombreux composants après stimulation :

- Chimio attractants : pour les neutrophiles, monocytes, lymphocytes T.
- Facteurs stimulant ou régulant la myélopoïèse : G-CSF, GM-CSF, M-CSF, Il-8, IL-1.
- TNF alpha: médiateur de la fièvre, anorexie, cachexie, état de choc, fuite capillaire; effet anti tumoral et inhibiteur de l'hématopoïèse(Aktas Cetin et al., 2017).
- IL-6 : cytokine stimulant la synthèse de protéines pro inflammatoires (également facteur de croissance indirect) ;
- Interférons : action antivirale et anti tumorale ;(Aktas Cetin et al., 2017).
- TGF bêta : limite les réponses immunes, stimule l'angiogenèse(Lastrucci et al., 2015).

Les cytokines sont les messagers chimiques de la communication intercellulaire. Elles jouent un rôle considérable dans le fonctionnement de tout le système immunitaire et au cours de l'inflammation.

1.3.1.4.1. Interleukine-1 β :

L'IL-1 β est un membre de la famille des cytokines de l'interleukine 1. Cette cytokine est produite par les monocytes et les macrophages activés sous forme de proprotéine, qui est transformée de manière protéolytique en sa forme active par la caspase 1(CASP1 / ICE).

Cette cytokine est un médiateur important de la réponse inflammatoire (pro-inflammatoire) et est impliquée dans diverses activités cellulaires, notamment la prolifération cellulaire, la différenciation et l'apoptose(Voronov and Apte, 2017).

- Agit sur le système nerveux central et déclenche la fièvre (entre autres symptômes).
- Favorise le recrutement des leucocytes sur le site de la lésion ou de l'infection.
- Amplifie la réponse des lymphocytes T et B.
- Favorise les fonctions des neutrophiles.
- Déclenche la production d'interleukine 6 et contribue à la synthèse des protéines de phase aiguë dans le foie.

L'IL-1 bêta s'est également avéré stimuler la production locale de facteurs chimiotactiques pour les leucocytes polymorphonucléaires (PMN) dans les tumeurs; Les PMN peuvent jouer un rôle important dans l'inhibition de la croissance tumorale (Lee et al., 2015).

D'autre part, d'autres études ont montré que l'IL-1 bêta favorise la croissance tumorale (Weichand et al., 2017).

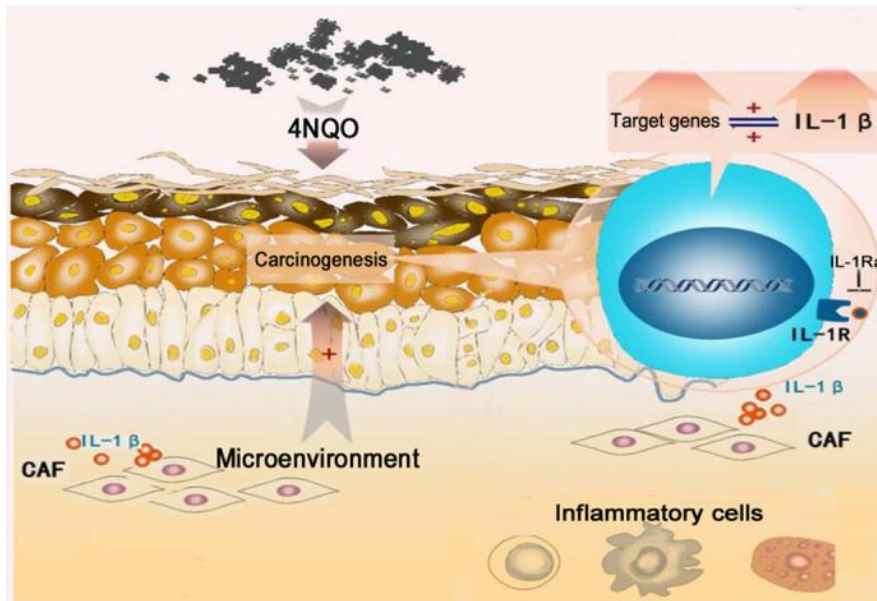


Figure 1.2. Illustration schématique de la modulation de l'IL-1 β dans le microenvironnement tumoral pour favoriser la carcinogénèse (Wu et al., 2016).

Sous stimulation cancérogène, IL-1 β est régulée positivement dans les compartiments épithéliaux et stromaux tels que les fibroblastes. Les signaux de paracrine de l'IL-1 β activent les voies d'expression des gènes dans les cellules voisines et inversement, créant ainsi un cycle de renforcement et générant un microenvironnement favorable à la tumeur pour la carcinogénèse orale.

1.3.1.4.2. Tumor Nécroses Factor-alpha :

Le TNF α est une cytokine pléiotrope pro inflammatoire produite par de nombreux types de cellules dans le corps. Cependant, les cellules de la lignée monocytaire, sont les principaux synthétiseurs du TNF α (Awad et al., 2015).

Il agit par l'intermédiaire de deux récepteurs transmembranaires: le récepteur du TNF 1 (TNFR1), également appelé p55 ou p60, et le récepteur du TNF 2 (TNFR2), également appelé p75 ou p80 et régulent positivement l'expression de la molécule 1 d'adhérence des cellules vasculaires (VCAM-1) sur l'endothélium sinusoidal hépatique (HSE) in vivo qui favorise le cancer adhésion cellulaire et métastases hépatiques (Ciebiera et al., 2018).

TNF-alpha joue un rôle central dans le développement de l'inflammation chronique. William Colley a observé pour la première fois l'activité du TNF vers 1900 chez des patients cancéreux rapporté dans (Yan et al., 2018). Des décennies plus tard, dans des modèles animaux, la

sécrétion de TNF était liée aux cellules tumorales mais pas à la destruction des cellules normales (Cao et al., 2017).

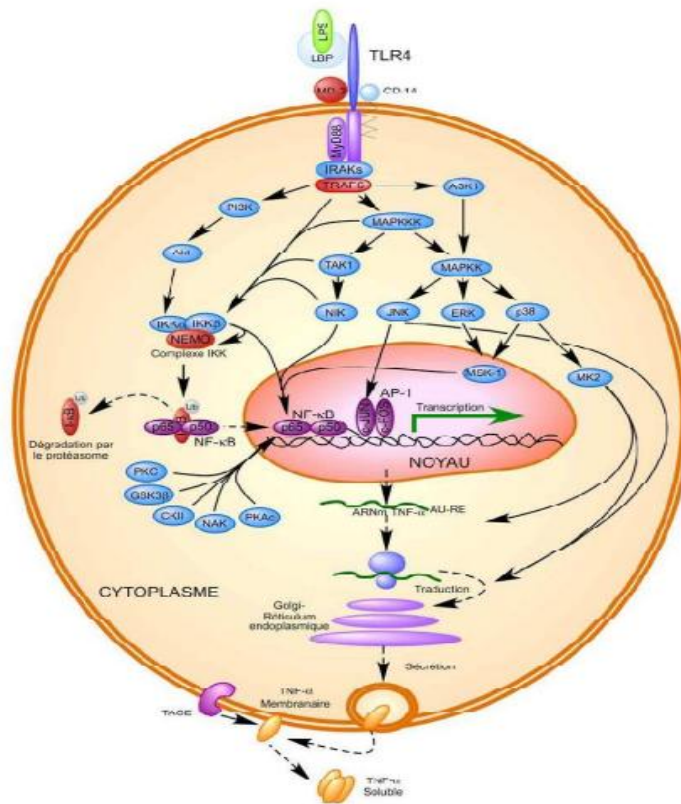


Figure 1.3. Représentation schématique des différentes étapes menant à la biosynthèse et au relargage du TNF alpha par les monocytes suite à une activation par le LPS (Hamid et al., 2016).

1.3.1.4.3. Interleukine-6 :

Une cytokine ubiquitaire pro-inflammatoire produite par de nombreux types cellulaires : monocytes (Hideshima et al., 2001).

L'IL-6 joue également un rôle important dans la réponse immunitaire acquise en stimulant la production d'anticorps et le développement des cellules T effectrices. De plus, l'IL-6 peut favoriser la différenciation ou la prolifération de plusieurs cellules non immunes. En raison de l'activité pléiotropique, une production continue et dérégulée d'IL-6 conduit à l'apparition ou au développement de diverses maladies (Tanaka et al., 2014).

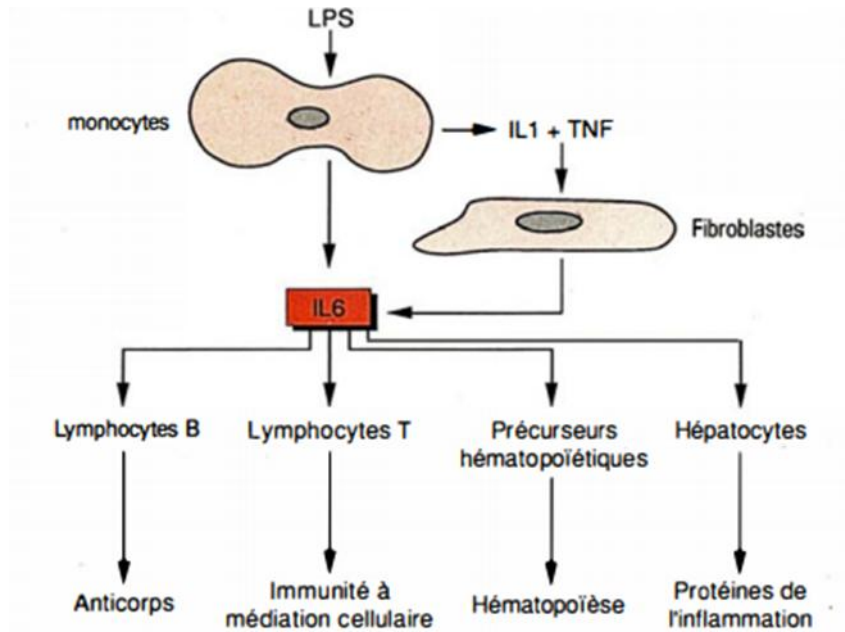


Figure 1.4. Production et effets de l'IL-6 (Nemeth et al., 2004).

L'IL-6 est produite par plusieurs types cellulaires, selon un processus comportant cascades et boucles d'amplification. Elle agit sur de multiples cibles, en synergie avec d'autres cytokines, différentes selon la cible.

1.3.1.4.4. Interféron gamma

IFN γ est une cytokine soluble dimérisée qui est le seul membre de la classe II des interférons (Gray and Goeddel, 1982).

C'est une cytokine essentielle à l'immunité innée et adaptative contre les infections. L'IFN γ possède des propriétés antivirales, immunorégulatrices et antitumorales. Il modifie la transcription de 30 gènes maximum, produisant diverses réponses physiologiques et cellulaires (Hu et al., 2008). Parmi les effets sont:

- Favorise l'activité des cellules NK
- Augmente la présentation antigénique et l'activité lysosomale des macrophages.
- Active la synthèse d'oxyde nitrique inducible (iNOS)
- Induit la production d'IgG2a et d'IgG3 à partir de cellules B plasmiques activées
- Force les cellules normales à augmenter l'expression des molécules du CMH I ainsi que du CMH II sur les cellules présentatrices d'antigène
- Favorise l'adhésion et la liaison requises pour la migration des leucocytes
- Induit l'expression de facteurs de défense intrinsèques.

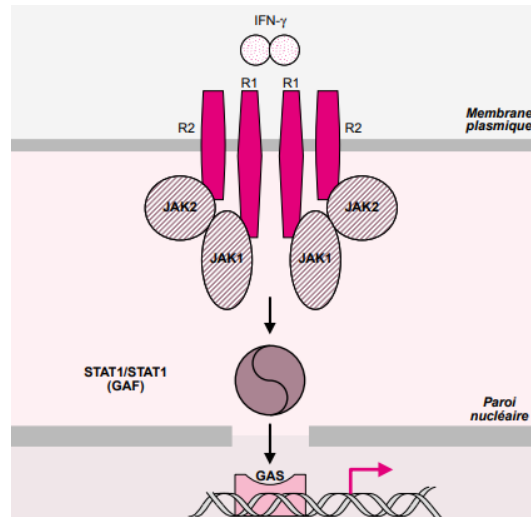


Figure 1.5. Voie de signalisation de l'IFN- γ (Dallagi et al., 2015).

La fixation de l'homodimère IFN- γ à son récepteur induit le rapprochement de deux kinases (JAK1/JAK2) constitutivement associées aux deux chaînes du récepteur. Ce rapprochement permet l'activation de ces kinases qui induisent la formation d'un homodimère STAT1 (complexe GAF) qui est transloqué dans le noyau cellulaire où il se fixe à un site spécifique (GAS), induisant la transcription génique.

1.3.1.4.5. Interleukine-10 :

L'Interleukine 10, parfois appelé CSIF est une protéine anti-inflammatoire produite par différentes cellules tel que les monocytes agissant en diminuant la réponse immunitaire (Kühn et al., 1993).

Par ailleurs, l'expression du gène et/ou la production d'IL-10 ont été mises en évidence dans divers types de tumeurs. Cela suggérerait que IL-10 pourrait, en favorisant l'échappement au système immunitaire, constituer une des étapes de la tumorigenèse (Williams et al., 2002).

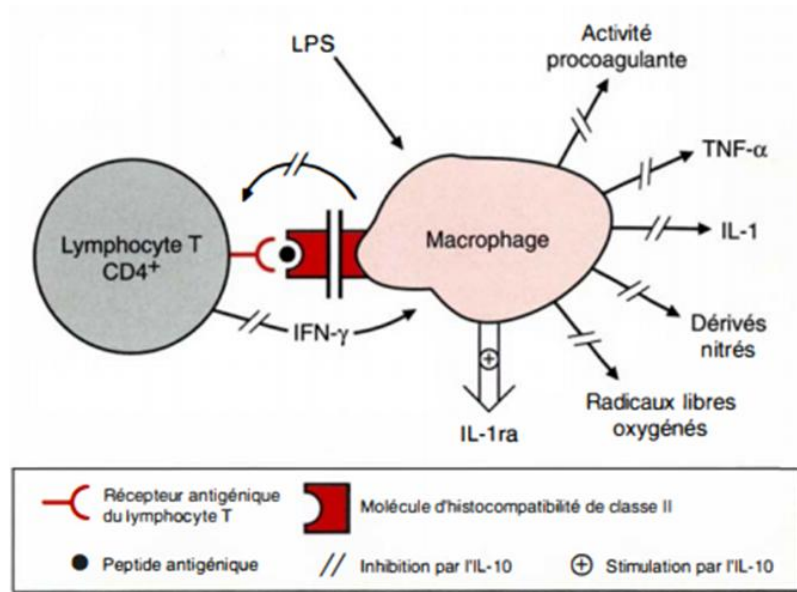


Figure 1.6. :Propriétés immunosuppressives et anti-inflammatoires de l'IL-10 (Rojas et al., 2017).

IL-10 inhibe plusieurs fonctions essentielles des macrophages : (1) l'activation des lymphocytes CD4+, auxquels ils présentent les antigènes sous forme de peptides logés dans une molécule d'histocompatibilité de classe II ; (2) la sécrétion de cytokines " inflammatoires " (IL-1, TNF-α) ; (3) la production de radicaux libres oxygénés et de dérivés nitrés ; (4) l'activation de la voie extrinsèque de la coagulation, liée à l'expression membranaire de thromboplastine.

1.3.1.5. Monocytes et cancer

Au cours du siècle dernier, il a été démontré que plusieurs agents chimioattractants peuvent réguler le recrutement de monocytes aux sites tumoraux (Lee et al., 2013). Le recrutement de ces cellules vers le site de la tumeur est influencé par plusieurs facteurs y compris les conditions de microenvironnement tumoral, les types des récepteurs exprimés par les monocytes et les chimiokines sécrétées par la cellule cancéreuse (Lee et al., 2013), une fois intégrés au microenvironnement tumoral, les monocytes se présentent sous forme des monocytes inflammatoires, monocytes exprimant le Tie-2 ou se différencient en macrophage type 1 (M1), macrophage de type 2 (M2) (Elliott et al., 2017).

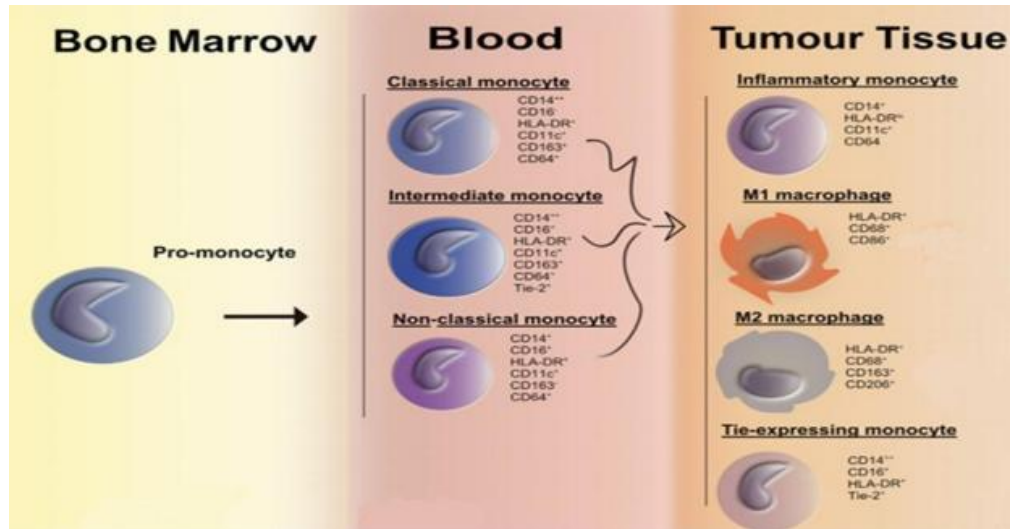


Figure 1.7. Les monocytes dans le microenvironnement tumoral

Le recrutement des monocytes vers le site de la tumeur est influencé par plusieurs facteurs y compris les conditions de microenvironnement tumoral, les types des récepteurs exprimés par les monocytes et les chimiokines sécrétées par la cellule cancéreuse (Lee et al., 2013), une fois intégrés au microenvironnement tumoral, les monocytes se présentent sous forme des monocytes inflammatoires, monocytes exprimant le Tie-2 ou se différencient en macrophage type1(M1), macrophage de type 2 (M2) (Elliott et al., 2017).

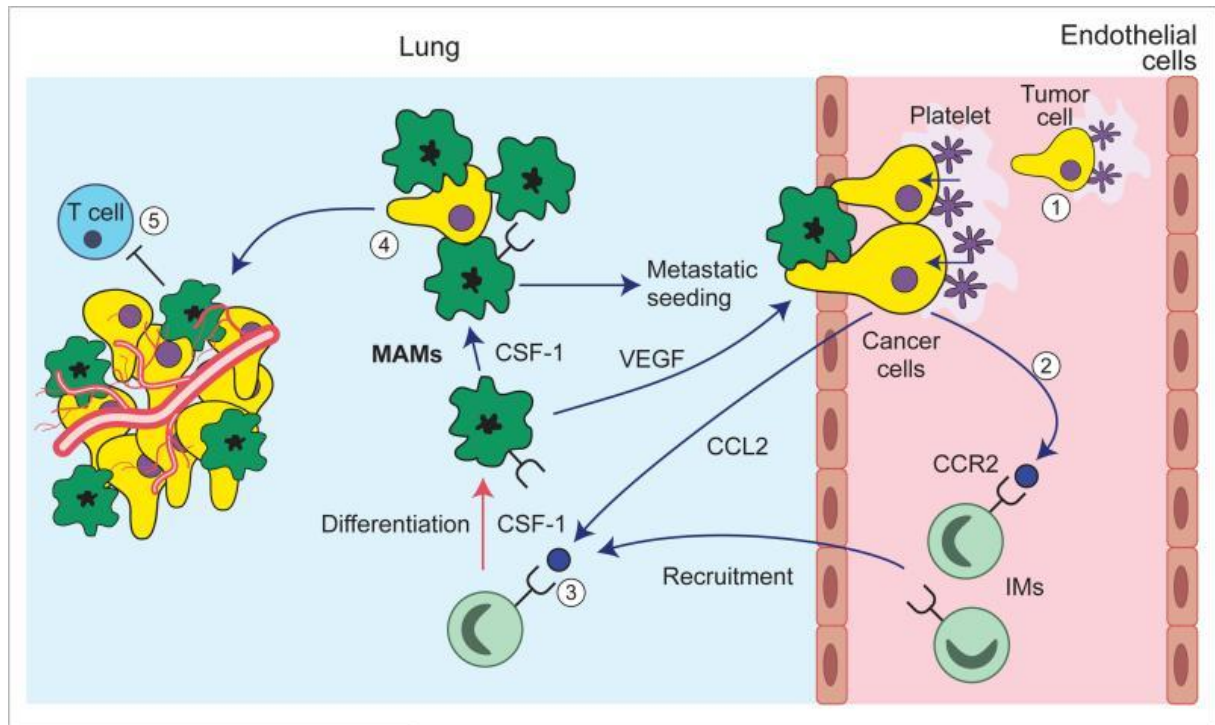


Figure 1.8. Le recrutement des monocytes classiques et leur différenciation en macrophages associés aux métastases (Noy and Pollard, 2014).

L'arrestation de cellules tumorales dans le système vasculaire des organes cibles par la formation de microclots (1) entraîne le recrutement, par l'intermédiaire de CCL2, de monocytes inflammatoires circulants exprimant CCR2 (2). Ces monocytes se différencient en macrophages associés à des métastases (MAM) qui médient une extravasation de cellules tumorales via le VEGF, ce qui augmente la perméabilité vasculaire (3). Les MAMS sous l'influence de CSF-1 favorisent également la survie des cellules tumorales (4) et une croissance persistante associée à l'angiogenèse et peuvent également empêcher la cytotoxicité des cellules T (5).

1.3.2. Metformine

1.3.2.1. Définition

L'histoire de la Met remonte au Moyen Âge en Europe avec l'utilisation du galéga officinal (*Galega officinalis*) nommé aussi « lilas français » ou « rue-des-chèvres » Met, 1,1-diméthylbiguanide hydrochloride. La Met fonctionne en partie en déclenchant l'activation de la protéine kinase (AMPK), ce qui conduit à une réduction de l'expression des enzymes de la gluconéogenèse dans les hépatocytes (Griss et al., 2015).

1.3.2.2. Metformine et cancer

Le diabète et le cancer sont des maladies courantes qui affectent considérablement la santé dans le monde entier. Plusieurs études épidémiologiques ont montré que les personnes atteintes de diabète couraient un risque significativement plus élevé de cancer (Chiang et al., 2017).

1.3.2.2.1. Effet de la metformine sur le microenvironnement tumoral

Des modifications du microenvironnement tumoral pourraient également participer aux effets bénéfiques de la Met. Il a été rapporté que la Met stimule la génération de cellules T mémoire CD8+, permettant une meilleure protection immunitaire antitumorale (Pearce et al., 2009). Une inhibition de l'angiogenèse tumorale par la Met a été évoquée par une réduction des taux circulants de PAI-1 (plasminogen activator inhibitor-1) et de VEGF (vascular endothelial growth factor) (Figure 3), mais des effets opposés ont été observés dans une autre étude avec une augmentation de la densité microvasculaire intratumorale des xénogreffes de cellules tumorales (Foretz and Viollet, 2014).

1.3.2.2.2. Mode d'action de la metformine

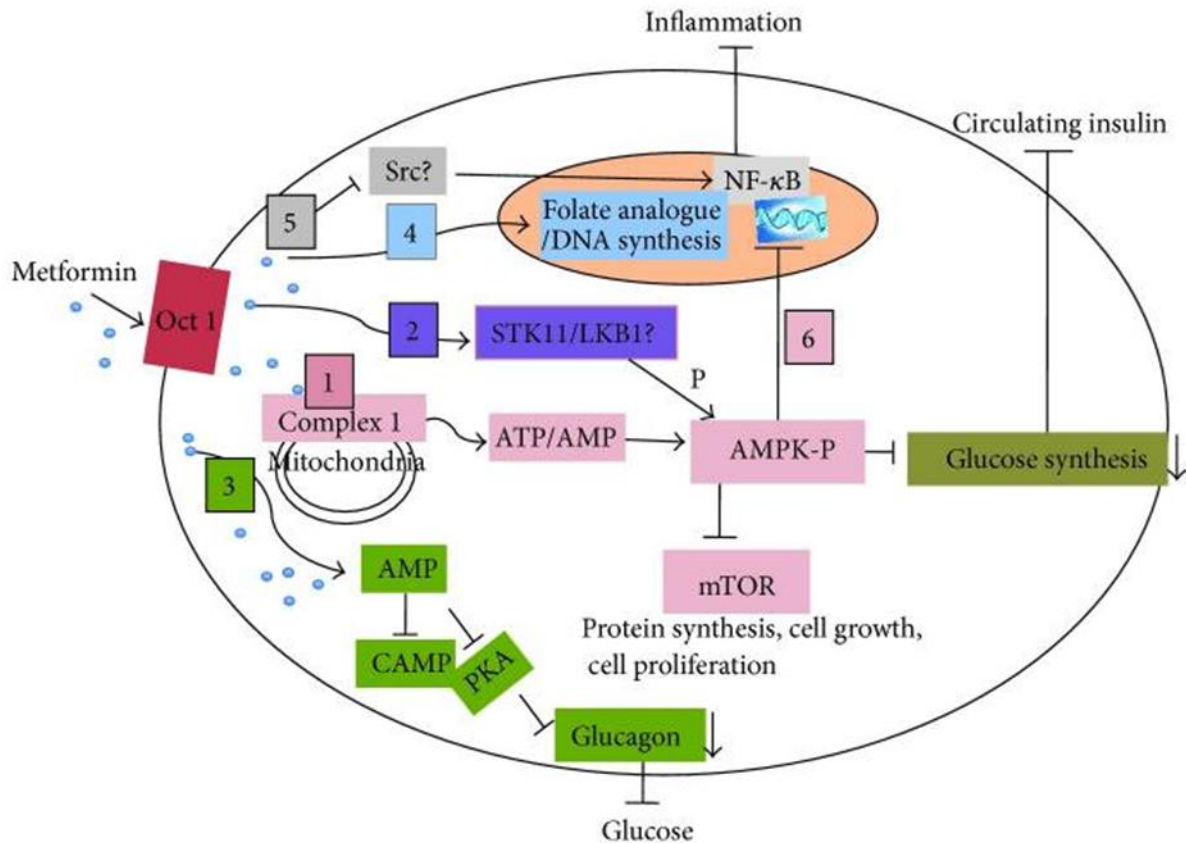


Figure 1.9. Mécanismes d'action de la metformine pour inhiber le cancer (Pernicova and Korbonts, 2014).

La Met perturbe les taux de glucose et d'insuline en circulation et réduit l'inflammation. Le transporteur de cations organiques (OCT1) intervient dans la première étape de la réponse cellulaire à la Met. **(1)** La Met active la voie de l'AMPK-P en inhibant le complexe 1 de la chaîne respiratoire mitochondriale. Cela conduit à l'inhibition de mTOR et donc à une perte de prolifération cellulaire et à une inhibition de la synthèse du glucose. **(2)** LKB1 peut agir comme intermédiaire de l'activation de l'AMPK. **(3)** La Met bloque les AMPc et PKA, qui à leur tour inhibent l'action du glucagon. **(4)** La Met agit comme un antifolate empêchant la réplication de l'ADN. **(5)** La Met induit une réponse anti-inflammatoire via la voie *NF-κB* médiée par *Src*. **(6)** L'action de la Met est impliquée à la fois dans l'inhibition indépendante et dépendante du processus d'angiogenèse liée à l'AMPK.

1.3.2.2.3. Effet préventif de la metformine sur le développement tumoral

La Met participe à la réponse aux dommages à l'ADN par une activation sélective de la protéine ATM (ataxia telangiectasia mutated), mais également en bloquant la production d'espèces réactives de l'oxygène induite par la transformation par l'oncogène Ras (Algire et al., 2012). Par ailleurs, la Met contribue à la prévention du développement tumoral par le contrôle de l'ontogenèse des cellules souches cancéreuses en ciblant la transition épithélio-mésenchymateuse et la différenciation de ces cellules (Cerezo et al., 2013).

1.3.2.2.4. Effet de la metformine sur les monocytes

- Induit l'expression de Hsp60 dans des cellules monocytes de THP-1 humaines.
- Inhibe la différenciation des monocytes en macrophages via l'inhibition de l'activation de STAT3 par l'AMPK

1.3.3. Sélénium

Le Ss est un oligoélément et un bioélément, mais à très faible dose. Il est toxique (voire très toxique sous certaines formes) à des concentrations à peine plus élevées que celles qui en font un oligoélément indispensable à la diète animale (Vinceti et al., 2017).

1.3.3.1. Les formes biologiques principales du sélénium

Dans l'organisme, le Ss est (principalement) représenté sous 3 formes: il peut être associé à des acides nucléiques (sélénobase), conjugué à des glucides ou des lipides, ou enfin retrouvé sous la forme d'acides aminés séléniés (sélénométhionine et sélénocystéine).

1.3.3.2. Sélénium et système immunitaire

De nombreuses études suggèrent qu'une déficience en Ss peut s'accompagner d'une immunodépression dont l'origine est vraisemblablement indissociable du fait que le Ss est retrouvé en grandes quantités dans différents tissus jouant un rôle important dans l'immunité, comme le foie ou le thymus (Spallholz et al., 1990). Par exemple, il a été décrit qu'une supplémentation en Ss, même chez des personnes saines, entraînait une augmentation de la prolifération des lymphocytes et de la sécrétion d'immunoglobulines (Arthur et al., 2003). Ce mécanisme semble être lié à la capacité du Ss à réguler l'expression de récepteurs de différentes cytokines. L'interaction entre les interleukines et leurs récepteurs sur les lymphocytes est capitale pour permettre leur expansion clonale et leur différenciation. Un autre exemple de l'influence du Ss dans le fonctionnement de cellules blanches concerne le cas des neutrophiles: leur nombre et leur prolifération ne sont pas tributaires du taux de Ss, mais une

chute de l'activité glutathion peroxydase cytosolique (GPx1) entraîne leur mort, suite à l'accumulation de radicaux libres oxygénés produits lorsqu'ils sont activés (Arthur et al., 2003).

En outre, il semblerait que les cellules du système immunitaire, qui présentent une activité sélénophosphate synthétase particulièrement importante auraient recours à la synthèse de nombreuses sélénoprotéines pour leur bon fonctionnement (Guimarães et al., 1996). L'une de ces sélénoprotéines correspond à la sélénoprotéine S, dont l'implication dans la réponse inflammatoire a été démontrée (Curran et al., 2005). En effet, des mutations dans son gène influent directement sur les taux de cytokines sécrétées telles IL-1 β , TNF- α ou IL-6. La suppression de l'expression de SePS par ARN interférence résulte dans la production et la sécrétion accrues de cytokines en réponse au stress oxydatif dans une lignée de macrophage. SePS serait en conséquence impliqué dans plusieurs pathologies complexes dont l'apparition est influencée par des phénomènes d'inflammation, tels les cancers, l'athérosclérose, le diabète ou la maladie d'Alzheimer (Vinceti et al., 2017).

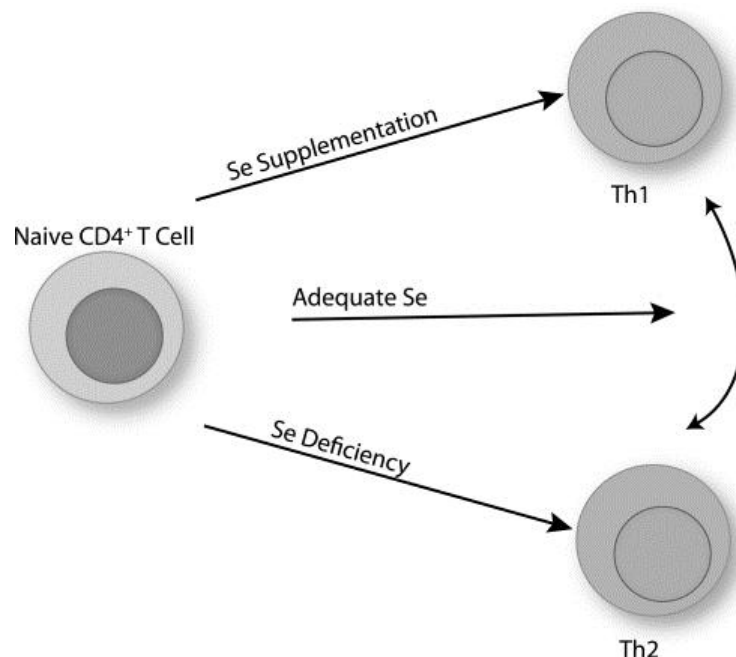


Figure 1.10. Effets de la consommation de Se sur la différenciation des lymphocytes T CD4 + (Huang et al., 2012).

Des niveaux adéquats d'ingestion de Se ne biaisent pas la différenciation des cellules T et la différenciation de T helper (Th) 1 par rapport à Th2 est largement déterminée par les signaux fournis par la cellule présentatrice de l'antigène ou cytokine milieu. Par exemple, les cellules T CD4 + activées dans un environnement pro-Th1 ou dans un environnement pro-Th2 peuvent se différencier en cellules Th1 ou Th2. La supplémentation en Se renforce les signaux du TCR et oriente la différenciation vers un phénotype Th1. En revanche, une carence en Se conduit

à des signaux de TCR bas et à une différenciation en biais vers des états d'activation abaissés avec un biais vers un phénotype Th2.

1.3.3.3. Sélénium et cancer

Depuis les années 70, de nombreuses études épidémiologiques ont permis de mettre en évidence une relation inverse entre les apports de Ss et l'incidence de cancers (Clark et al., 1991). Les mécanismes de ce phénomène sont toutefois mal connus, et plusieurs hypothèses ont été avancées: la première d'entre elles suggère que le Ss, ou certaines sélénoprotéines, pourraient entraîner l'arrêt de la croissance tumorale. Une autre hypothèse serait que les effets du Ss aient lieu en amont de la tumorigenèse, dans la prévention de l'apparition de mutations délétères, grâce aux mécanismes de protection contre les agressions oxydantes mutagènes de l'ADN (Zhuo and Diamond, 2009). Des approches expérimentales diverses plaident en faveur de l'une ou l'autre de ces hypothèses, et les connaissances de plus en plus précises de la fonction de certaines sélénoprotéines permettent également de contribuer à une meilleure compréhension des phénomènes mis en jeu. Les GPx sont, par exemple, des protéines qui contribuent à protéger l'ADN contre les dommages oxydatifs, en détoxifiant différents peroxydes. Récemment, il a été montré qu'une chute de l'activité de ces enzymes ou du taux de composés séléniés de faible poids moléculaire provoquait une augmentation de la susceptibilité au cancer du côlon (Hatfield et al., 2009). Certains variants de la GPx1 ont été associés à une fréquence plus importante de cancers du sein ou du côlon (Hu et al., 2005). Les TrxR ont des effets contradictoires sur le développement tumoral. En effet, leur activité catalytique permet de lutter contre les radicaux libres oxygénés, directement ou par l'intermédiaire de cascades de signalisation cellulaire, empêchant ainsi les dommages oxydatifs (Sun et al., 1999). Cependant, l'activité des TrxR peut devenir défavorable car elles permettent l'alimentation en désoxyribonucléotides des cellules en prolifération, dont la synthèse dépend du système Trx (Biaglow and Miller, 2005).

Objectif : Déterminer le rôle de la Met combiné ou non au Ss dans le cadre d'une étude mécanistique, *ex vivo* sur le profile cytokinique des monocytes issu de LAL-T.

But : Montrer que la Met et le Ss pourrait immunomoduler l'activité du monocyte vers un profil tueur, anti-tumoral dans LAL-T.

CHAPITRE 2. Matériels et méthodes

2.6. study design

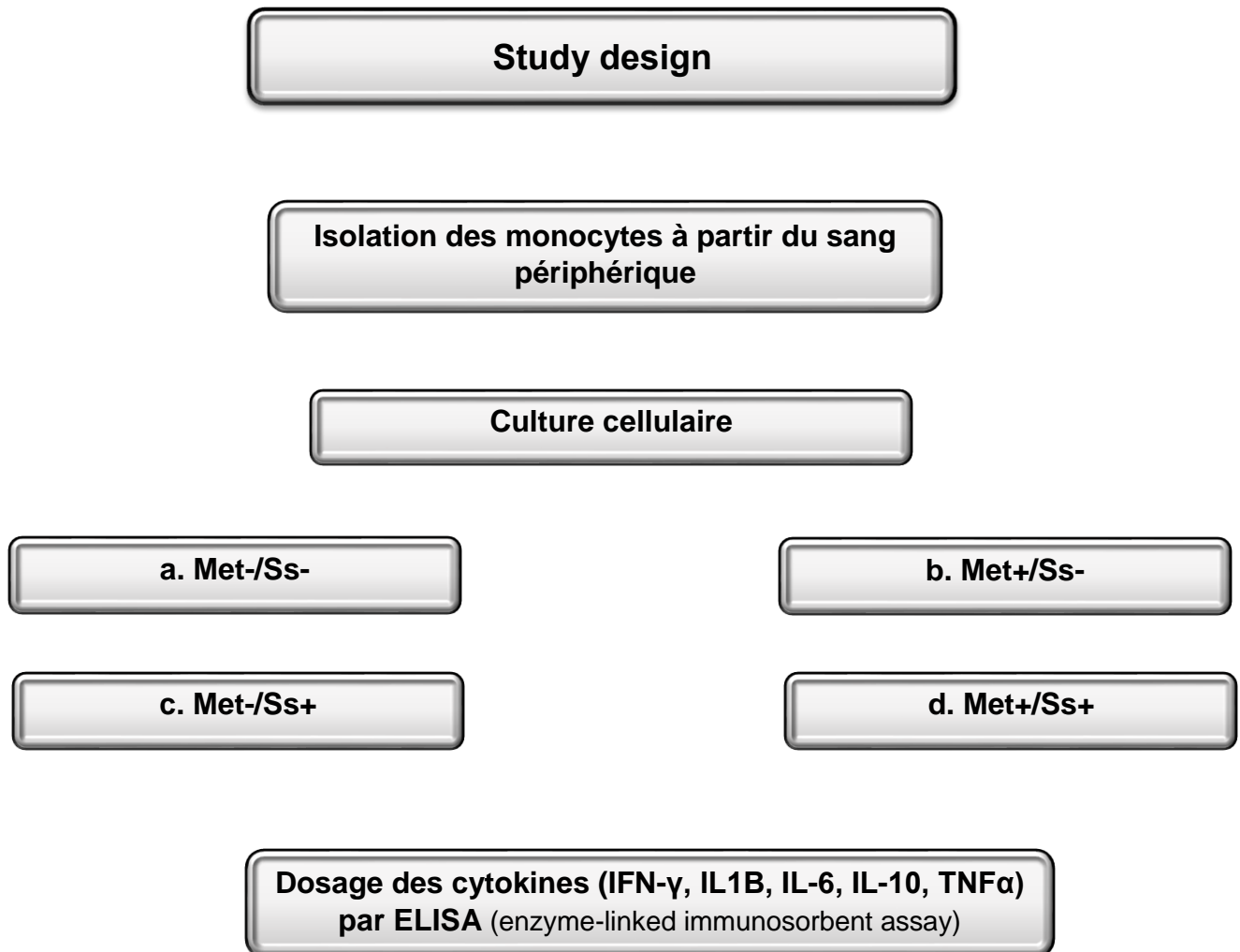


Figure 2.1. Schéma récapitulatif de la partie matériel et méthodes.

L'objectif principal de ce travail est d'étudier l'effet *ex-vivo* de la Met et du Ss sur les cytokines sécrétées par les monocytes isolés à partir des cellules mononuclées du sang périphérique PBMC (peripheral blood mononuclear cells) au cours de la LAL-T.

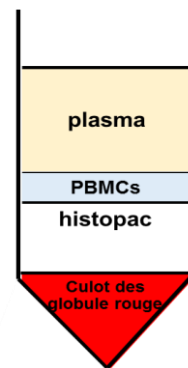
Le matériel et les méthodes utilisées dans notre étude sont cités ci-dessous :

2.7. Isolation des PBMC

Un prélèvement de sang périphérique a été réalisé dans des tubes EDTA (vacutainer), à partir d'une patiente, âgée de 14ans, atteinte d'une LAL-T admise au niveau du Service de Pédiatrie du Centre Hospitalo-Universitaire de Tlemcen. Par la suite, les PBMC ont été isolées à partir du sang récupéré :

6mL de sang dilué à $\frac{1}{2}$ dans le PBS ont été déposés sur 3mL d'histopaque et centrifugés à 400g pendant 30min. Les PBMC ont été directement collectées par micropipette dans l'interface entre l'histopaque et le plasma et lavés trois fois en ajoutant 9mL de PBS et réalisant une centrifugation de 10 min à 700g.

Les cellules du sang périphérique (PBMC) ainsi récoltées et lavées ont été suspendues dans 1mL du milieu de culture complet et énumérées sur cellule de Malassez.



2.8. Énumération des PBMCs sur cellule de Malassez

- 5 μ l de suspension cellulaire + 5 μ L du bleu de trypan
- Après énumération, nous avons obtenus 2.4×10^6 PBMC/ml, soit approximativement 2.4×10^5 de monocytes

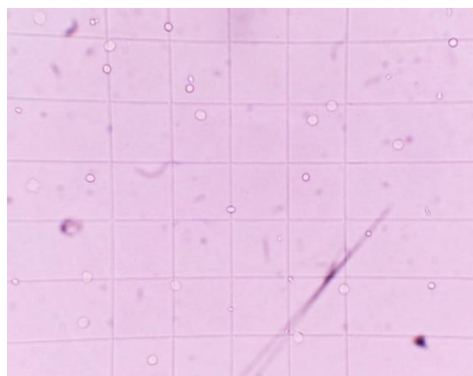


Figure 2.2: énumération des PBMCs sur cellules de Malassez

Nous avons ajusté la concentration de la suspension cellulaire à 1.2×10^6 Cellule/mL pour remplir 12 puits par 2×10^5 PBMC/puits. Pour cela, Nous avons déposé 150 μ L de la suspension cellulaire dans chaque puits.

2.9. Culture cellulaire

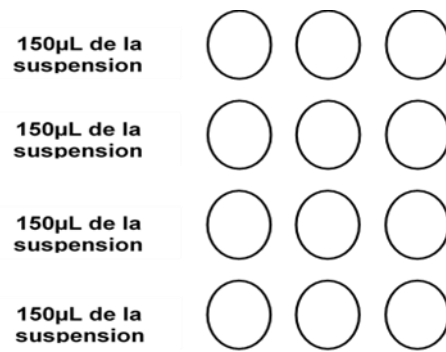


Figure 2.3. Distribution de 150µL Dans une plaque de 96 puits

Les cellules ont été incubées pendant 1h pour l'adhérence des monocytes. L'adhérence des monocytes a été vérifiée par microscope inversé.



Figure 2.4. Monocytes observés par microscope inversé

Après l'adhérence des monocytes, nous avons éliminé le surnageant et ajouté 200 µL de MEM complet avec ou sans Met et Ss soit : 5ng/ml de Ss et 1µM de Met. La distribution des échantillons est indiquée dans la figure 2.4.



Figure 2.5. Conditions de culture cellulaire

- Incubation a 37°C 5% CO₂ pendant 24h
- Récupération des surnageant
- Pour le dosage des cytokines, les surnageant ont été conservés à -80°C.

Préparation du milieu de culture complet

- Pour préparer 15mL de milieu d'un milieu de culture contenant 1µg/mL de LPS des antibiotique Pénicilline et Streptomycine et 5% SVF, nous avons utilisé la formule suivante :
- 13.95 mL de MEM
- 750 µL SVF
- 150µL de Pénicilline/Streptomycine
- 150µL de L-Glutamine à 29.23 mg/ml

Préparation du bleu de trypan à 0.4%

- 40mg de bleu de trypan +10ml d'eau destilé

2.10. Dosage des cytokines par ELISA

Le kit Sigma Aldrich a été utilisé pour le dosage des cytokines (IFN- γ , IL1B, IL-6, IL-10, TNF α) sécréter par les monocytes de la leucémie aigue lymphoblastique. Les réactifs et les échantillons ont été apportés à température ambiante (18–25 °C) avant utilisation.



Figure 2.6. Matériel utilisé pour le dosage des cytokines par ELISA

Les échantillons ont été dilués à $\frac{1}{2}$ (50 μ l de tampon de dilution + 50 μ l de surnageant) et déposés dans les micro-puits précotés avec les anticorps primaires. Les plaques ont été couvertes et incubés pendant 2h30min à une température ambiante sous agitation.

Les échantillons ont été lavés 4 fois avec 300 μ l de wash buffer avec une pipette multicanaux. Le liquide a été complètement éliminé à chaque fois.

100 μ l d'anticorps secondaires de détection ont été ajouté à chaque puits et incubés pendant 1 heure à température ambiante avec agitation. Après lavage, 100 μ l de solution de HRP-Streptavidine ont été ajouté et incubés pendant 45 minutes à température ambiante. Un dernier lavage a été effectué et 100 μ l de réactif ELISA colorimétrique TMB (Item H) ont été incorporés à chaque puits et incubés pendant 30 minutes à température ambiante dans le noir avec agitation douce. 50 μ l de solution d'arrêt ont été ensuite ajoutés dans chaque puits. Enfin une lecture à 450 nm a été immédiatement réalisée.

CHAPITRE 3. Résultats et interprétations

Dans cette étude, nous avons examiné l'effet de la Met et du Ss sur les cytokines sécrétées par les monocytes de la LAL-T.

3.6. Interleukine-1 β

D'après les résultats présentés dans la figure 3.1, On constate que les taux de IL-1 β présentent des variations statistiquement significatives dans les monocytes cultivés dans différentes conditions en présence ou en absence de la Met ou du sélénium (Met-/Ss-, Met+/Ss-, Met-/Ss+, Met+,Ss+) ($P > 0.05$ par le test ANOVA), cependant on remarque une augmentation hautement significative du taux de IL-1 β dans le groupe des monocytes traitées par la Met seul par rapport aux autres groupes

Met-/Ss+ Met+/Ss- $P=0.0011$;

Met+/Ss- Met-/Ss+ $P=0.0013$;

Met+/Ss- Met+/Ss+ $P=0.0061$;

($p = 0.0006$ par le test t de student) .

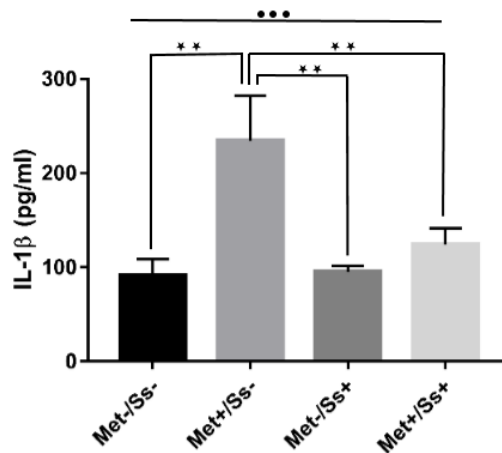


Figure 3.1.1. Effet de Met et Ss sur la production d'IL-1 β par monocytes de la LAL-T. Les niveaux d'IL-1 β étaient mesurés en utilisant un dosage ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay)

IL-1 β : interleukine 1 bêta, Met: metformine, Ss: sélénite de sodium, LAL-T: leucémie aigue lymphoblastique T, Met- / Ss-: contrôles des monocytes non traitées, Met + / Ss-: monocytes traités avec la Met seule, Met- / Ss +: monocytes traitées avec du Ss seule, Met + / Ss +: monocytes traitées à la fois par la Met et par Ss.

*** $p < 0.001$ selon le test d'Annova. ** $p < 0,01$ selon le test de Kruskal-Wallis avec comparaisons par paires utilisant l'approche de DunnBonferroni. Les résultats sont présentés sous forme de valeurs moyennes avec des valeurs standard.

3.7. Interleukine-6

D'après les résultats présentés dans la figure 3.2, on constate que les taux de IL-6 ne présentent pas de variations statistiquement significatives dans les monocytes cultivés dans différentes conditions en présence ou en absence de la Met ou du sélénium (Met-/Ss-, Met+/Ss-, Met-/Ss+, Met+/Ss+) ($P > 0.05$ par le test ANOVA), cependant on remarque une augmentation non significative du taux de IL-6 dans le groupe des monocytes traités, par rapport au groupe contrôle ($p = 0.344$ par le test t de Student).

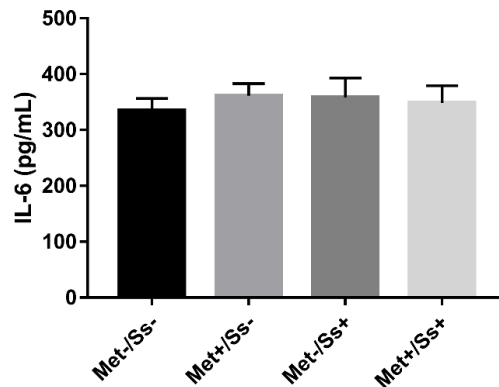


Figure 3.2. Effet de Met et Ss sur la production d'IL-6 par monocytes de la LAL-T. Les niveaux d'IL-6 étaient mesurés en utilisant un dosage ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay)

IL-6: interleukine 6, Met: metformine, Ss: sélénite de sodium, LAL-T: leucémie aigue lymphoblastique T, Met- / Ss-: contrôles des monocytes non traités, Met + / Ss-: monocytes traités avec la Met seule, Met- / Ss +: monocytes traités avec du sodium sélénite seule, Met + / Ss +: monocytes traités à la fois par la Met et par Ss.

3.8. Interleukine-10

D'après le résultat présentés dans la figure 3.3 ,On constate que les taux de IL-10 ne présentent pas de variations statistiquement significatives dans les monocytes cultivés dans différentes condition en présence ou en absence de la Met ou du Ss (Met-/Ss-, Met+/Ss-, Met- / Ss+, Met+,Ss+) ($P > 0.05$ par le test ANOVA), ($p=0.9808$ par le test t de student) .

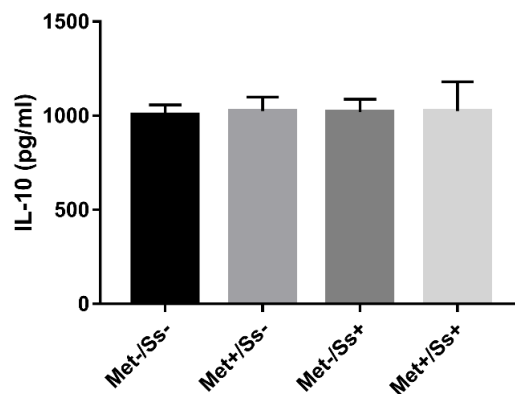


Figure 3.3.1. Effet de Met et Ss sur la production d'IL-10 par monocytes de la LAL-T. Les niveaux d'IL-10 étaient mesurés en utilisant un dosage ELISA.

IL-10: interleukine10, Met: metformine, Ss: sélénite de sodium, LAL-T: leucémie aigue lymphoblastique T, Met- / Ss-: contrôles des monocytes non traitées, Met + / Ss-: monocytes traités avec la Met seule, Met- / Ss +: monocytes traitées avec du sodium sélénite seule, Met + / Ss +: monocytes traitées à la fois par la Met et par Ss.

3.9. Tumor necrosis factor α TNF α

D'après le résultat présenté dans la figure 3.4 ,On constate que les taux de TNF α ne présentent pas de variations statistiquement significatives dans les monocytes cultivés dans différentes condition en présence ou en absence de la Met ou du selenium (Met-/Ss-, Met+/Ss-, Met-/ Ss+, Met+,Ss+) ($P > 0.05$ par le test ANOVA), cependant on remarque une augmentation non significative du taux de TNF α dans le groupe des monocytes traitées par la Met seul, par rapport aux autre groupes ($p = 0.4905$ par le test t de student) .

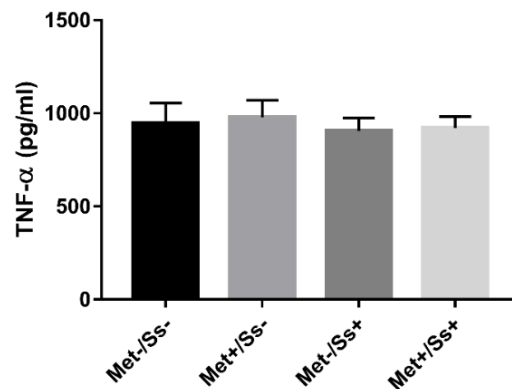


Figure 3.4.1. Effet de Met et Ss sur la production de TNF α par monocytes de la LAL-T. Les niveaux de TNF α étaient mesurés en utilisant un dosage ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay)

TNF α : Tumor necrosis factor α , Met: metformine, Ss: sélénite de sodium, LAL-T: leucémie aigue lymphoblastique T, Met- / Ss-: contrôles des monocytes non traitées, Met + / Ss-: monocytes traités avec la Met seule, Met- / Ss +: monocytes traitées avec du sodium sélénite seule, Met + / Ss +: monocytes traitées à la fois par la Met et par Ss.

3.10. Interféron gamma *IFN-γ*

D'après le résultat présenté dans la figure 3.5, On constate que les taux de *IFN-γ* ne présentent pas de variations statistiquement significatives dans les monocytes cultivés dans différentes conditions en présence ou en absence de la Met ou du sélénium (Met-/Ss-, Met+/Ss-, Met-/Ss+, Met+,Ss+) ($P > 0.05$ par le test ANOVA), cependant on remarque une augmentation non significative du taux de *IFN-γ* dans le groupe des monocytes traitées par le Ss seul, par rapport aux autres groupes ($p = 0.335$ par le test *t* de student).

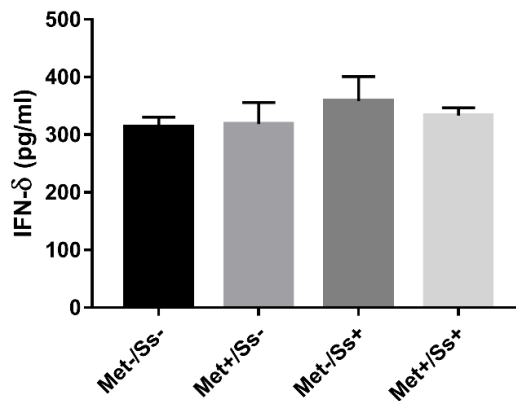


Figure 3.5. Effet de Met et Ss sur la production de *IFN-γ* par monocytes de la LAL-T. Les niveaux de l'*IFN-γ* étaient mesurés en utilisant un dosage ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay)

IFN-γ: Interféron gamma, Met: metformine, Ss: sélénite de sodium, LAL-T: leucémie aigue lymphoblastique T, Met- / Ss-: contrôles des monocytes non traitées, Met + / Ss-: monocytes traités avec la Met seule, Met- / Ss +: monocytes traitées avec du sodium sélénite seule, Met + / Ss +: monocytes traitées à la fois par la Met et par S

Chapitre 4. Discussion

Les monocytes sont un type de leucocytes qui combattent certaines infections et aident d'autres globules blancs à éliminer les tissus endommagés ou morts, à détruire les cellules cancéreuses et à réguler la réponse immunitaire contre des substances étrangères. Les cytokines sont des protéines modulantes ou glycoprotéine libérée par les cellules immunitaires ou d'autres cellules en réponse à divers stimuli. Les cytokines pro-inflammatoires favorisent l'inflammation en activant les macrophages et d'autres cellules immunitaires, tandis que les cytokines anti-inflammatoires inhibent l'inflammation excessive et maintiennent l'homéostasie. L'équilibre immunitaire est régulé par un antagonisme entre les cytokines pro-inflammatoires et anti-inflammatoires.

La Met (1, 1-diméthylbiguanide) est un médicament qui est très connu pour son effet anti-hyperglycémiques (Hundal et al., 2000) mais il a aussi un effet anti-cancéreux qui est l'objet de notre étude.(Hundal and Inzucchi, 2003).Le Ss est un oligoélément nécessaire au bon fonctionnement du système immunitaire, en particulier les fonctions des monocytes, macrophages et de certaines autres cellules immunologiques (Kiremidjian-Schumacher and Roy, 1998)(Hoffmann, 2007)

Dans cette étude nous avons étudié l'effet de la Met et du Ss seuls ou combinés sur la production des cytokines pro-inflammatoire par les monocytes issus de la LAL-T.

Nous avons observé que le traitement des monocytes issus de patients atteints de LAL-T avec ou sans Met et Ss n'avais aucun effet sur la sécrétion des cytokines TNF α , IL-6, *IFN*- γ .

Le TNF α , IL-6, *IFN*- γ sont des cytokines pro inflammatoire produite par de nombreux types de cellules dans le corps. Cependant, les cellules de la lignée monocyttaire, sont les principaux synthétiseurs.(Awad et al., 2015).

Plusieurs approches ont été entreprises dans le but d'étudier le rôle de la Met dans diverses pathologies et sur différentes cellules tels que les monocytes et les macrophages. Si le rôle bénéfique de la Met a été démontré dans le diabète de type 2 (Pernicova and Korbonits, 2014) ainsi les tumeurs solides (Ceacareanu et al., 2017) ce n'est pas le cas des autres tumeurs tel que la LAL-T, ou le rôle reste très ambiguë. En revanche il existe d'autre étude qui ont montré que la Met pourrait atténuer du moins en partie les réponses inflammatoire grâce a une diminution significative, soit une suppression total de la sécrétion de TNF α ** p <0,01 (Hyun et al., 2013) par l'inhibition de la voie ERK1 / 2-Egr-1 dans les monocytes humains sein.(Arai et al., 2010).

Par ailleurs d'autres études ont démontré une différence non significative de la sécrétion des cytokines pro-inflammatoire tel que L'IL-6 et *IFN-γ* dans les macrophages issu des patients diabétique obèses et cela avec ou sans Met.(Hyun et al., 2013). et ceci c'est répéter dans diverses pathologies et aussi chez des patients sain, c'est ce qui est a été démontré dans notre études ou la Met n'a pas eu un effet significatif sur la sécrétion des cytokines pro-inflammatoire TNF α , IL-6, *IFN-γ* sécrété par les monocytes issu de la LAL-T.

Alors que pour le Ss dans divers études il a été démontré qu'il a des propriétés anti-inflammatoires qui affecte l'expression des cytokines.(Karavelioglu et al., 2015)

Plusieurs approches ont prouvé que les cytokines pro-inflammatoires telles que TNF α , *IFN-γ* sont surproduits en présence de Ss chez les animaux diabétiques.(Zeng et al., 2009) la dose pharmacologique du Ss peut supprimer les expressions de l'ARNm des cytokines pro-inflammatoire.

En outre dans d'autres études parallèles ils ont remarqué une augmentation significative de TNF α , IL-6 avec un $P < 0.05$ chez les porcs traiter par le Ss in vivo en comparaison avec

Par contre dans notre étude le Ss n'a eu aucun effet sur le taux de sécrétion des cytokines pro-inflammatoire TNF α , IL-6, *IFN-γ* par les monocytes issu de la LAL-T.

Alors que pour les résultats de la sécrétion de les cytokines pro-inflammatoire TNF α , IL-6, *IFN-γ* par les monocytes issus de la LAL-T traiter par la combinaison entre la Met et le Ss sont non significatifs.

L'interleukine-1 β (IL-1 β) est une puissante cytokine pro-inflammatoire cruciale pour la réponse de l'hôte à la défense contre les infections et les lésions. C'est également le mieux caractérisé et le plus étudié des 11 membres de la famille IL-1.(Thornberry et al., 1992) Il est produit et sécrété par divers types de cellules en grande majorité par les monocytes et les macrophages.(Dinarello, 1996)(Ward et al., 2010)

Dans notre étude, nous avons observé que le traitement des monocytes de la LAL-T avec Met a régulé positivement la production d'IL-1 β avec un $p = 0.0006$ Dans la littérature l'effet de la Met sur la sécrétion d'IL-1 β reste encore équivoque, en effet plusieurs études ont démontré une diminution significative de la sécrétion de cette cytokine en présence de la Met dans les macrophage activé par LPS chez des patients sain (Kelly et al., 2015a) alors que d'autres études n'ont pas trouvé de différence significative dans la macrophage de patient sain.(Meziane et al., 2019)

Concernant les monocytes traités par le Ss aucune différence significative a été observée lors de la sécrétion d'IL-1 β chez les patients atteint de la LAL-T. Par contre dans une autre étude ou ils ont cherché l'effet du Ss sur la sécrétion d'IL-1 β du macrophage issu de patients sain et leurs résultats étaient que le Ss régulais positivement la production d'IL-1 β .(Meziane et al., 2019)

Cette différence de sécrétion de l'IL-1 β dans notre étude et la littérature pourrait s'expliqué par le fait que le type de cellules étudié dans notre recherche c'est les monocytes issu de la LAL-T et que la plus part des autres études se sont focaliser sur les macrophages sachant que les monocytes humains libère 22 fois plus d'IL-1 β par cellules que les macrophages.(Ward et al., 2010) d'où l'intérêt de cibler les monocytes pour évaluer le taux de sécrétion d'IL-1 β .

La combinaison entre la Met et le Ss sur l'effet de la sécrétion de l'IL-1 β par les monocytes issu de la LAL-T a donné des résultats non significatifs ; ceci suggère que le Ss pourrait avoir un effet suppressive sur la Met. D'autres études confirment que la combinaison des deux drogues n'a pas eu d'effet sur la sécrétion de l'IL-1 β .(Meziane et al., 2019)

L'IL-10 c'est une cytokine anti-inflammatoire produite par de nombreuses cellules notamment les monocytes.(Rojas et al., 2017) Il supprime la fonction des macrophages et inhibe les cytokines pro-inflammatoire Met ires telles que l'IFN- γ , le TNF- α et l'IL-1 β .(Barry et al., 2016)

Dans notre étude la Met n'as pas eu d'effet significatif sur la sécrétion de l'IL-10 par les monocytes issu de la LAL-T et c'est similaire au résultat récemment réalisée sur des patients atteints d'une tuberculose et diabète de type 2 ou ces derniers ont été traité par la Met avec un résultat ou le niveau de sécrétion de l'IL-10 avant et après le traitement est identique avec un $p > 0.005$.(Dian Novita, 2018)

On outre d'autres études ont été réalisées sur les obeses diabétiques pour déterminer le taux des cytokines anti-inflammatoires plus précisément IL-10 sécréter par les macrophages et ils ont remarqué une augmentation significative en présence de la Met.(Hyun et al., 2013) cette dernière a aussi stimulé l'induction de la cytokine anti-inflammatoire IL-10 en réponse au LPS dans les macrophages activés par le (LPS).(Kelly et al., 2015b)

Le Ss a des effets anti-inflammatoires qui affectent l'expression des cytokines.(Karavelioglu et al., 2015) qui n'est pas notre cas dans cette étude le Ss n'a pas eu d'effet significatifs su la sécrétion de l'IL-10 par les monocytes issu de la LAL-T. Par ailleurs dans une autre étude ils ont remarqué une diminution de maniéré significative la dose d'expression de l'ARNm et de la protéine IL-10 dans les lymphocytes splénique des porcelets exposé au deoxynivalenol.

La combinaison entre la Met et le Ss sur l'effet de la sécrétion de l'IL-10 par les monocytes issu de la LAL-T a donné des résultats non significatifs.

Chapitre 5. Conclusion et perspectives

Ce travail m'a permis de déterminer le rôle de la Met combiné ou non au Ss dans le cadre d'une étude mécanistique, *ex vivo* sur le profile cytokinique des monocytes issu de LAL-T, bien que ils ont déjà montré leur effet bénéfique de la Met et du Ss dans divers pathologies mais dans le cas de la LAL-T notre étude reste la pionnière dans ce type de cancer. Dans cette étude, la Met agirait spécifiquement sur l'expression de l'IL-1 β monocytaire au cours de la LAL-T. Ainsi, le Ss s'avèrerait avoir un effet notable sur l'action de la Met durant cette pathologie.

En perspectives nos études sont nécessaires pour connaitre le mécanisme d'action de la Met sur les monocytes et les cellules tumorales en générale. Des études mécanistique supplémentaires sont nécessaires pour connaitre et comprendre l'effet de la Met et du Ss sur le microenvironnement tumoral des patients atteints de LAL-T et le devenir des monocytes provenant de patients atteints de leucémie aiguë et le co-cultiver avec des cellules cancéreuses tel que la lignée cellulaire immortalisée de leucémie aiguë lymphoblastique T (JURKAT) serait aussi intéressant pour mieux comprendre les mécanismes d'interaction cellulaire.

Chapitre 6. Références bibliographiques**A**

Aifantis, Iannis, Elizabeth Raetz, et Silvia Buonamici. 2008. « Molecular Pathogenesis of T-Cell Leukaemia and Lymphoma ». *Nature Reviews. Immunology* 8(5):380-90.

Aktas Cetin, Esin, Leyla Pur Ozyigit, Yusuf Metin Gelmez, Erkan Cakir, Ahmet Hakan Gedik, et Gunnur Deniz. 2017. « CD163 Levels, pro- and Anti-Inflammatory Cytokine Secretion of Monocytes in Children with Pulmonary Tuberculosis ». *Pediatric Pulmonology* 52(5):675-83.

Algire, Carolyn, Olga Moiseeva, Xavier Deschênes-Simard, Lilian Amrein, Luca Petruccelli, Elena Birman, Benoit Viollet, Gerardo Ferbeyre, et Michael N. Pollak. 2012. « Metformin Reduces Endogenous Reactive Oxygen Species and Associated DNA Damage ». *Cancer Prevention Research (Philadelphia, Pa.)* 5(4):536-43.

Arai, Masatoku, Mitsuhiro Uchiba, Hidefumi Komura, Yuichiro Mizuochi, Naoaki Harada, et Kenji Okajima. 2010. « Metformin, an Antidiabetic Agent, Suppresses the Production of Tumor Necrosis Factor and Tissue Factor by Inhibiting Early Growth Response Factor-1 Expression in Human Monocytes in Vitro ». *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 334(1):206-13.

Arthur, John R., Roderick C. McKenzie, et Geoffrey J. Beckett. 2003. « Selenium in the Immune System ». *The Journal of Nutrition* 133(5 Suppl 1):1457S-9S.

Asnafi, V. 2004. « Age-Related Phenotypic and Oncogenic Differences in T-Cell Acute Lymphoblastic Leukemias May Reflect Thymic Atrophy ». *Blood* 104(13):4173-80.

Asnafi, Vahid, Kheira Beldjord, Emmanuelle Boulanger, Béatrice Comba, Patricia Le Tutour, Marie-Hélène Estienne, Frédéric Davi, Judith Landman-Parker, Pierre Quartier, Agnès Buzyn, Eric Delabesse, Françoise Valensi, et Elizabeth Macintyre. 2003. « Analysis of TCR, PT Alpha,

and RAG-1 in T-Acute Lymphoblastic Leukemias Improves Understanding of Early Human T-Lymphoid Lineage Commitment ». *Blood* 101(7):2693-2703.

von Au, Alexandra, Eva Milloth, Ingo Diel, Stefan Stefanovic, Andre Hennigs, Markus Wallwiener, Joerg Heil, Michael Golatta, Joachim Rom, Christof Sohn, Andreas Schneeweiss, Florian Schuetz, et Christoph Domschke. 2016. « Intravenous Pamidronate versus Oral and Intravenous Clodronate in Bone Metastatic Breast Cancer: A Randomized, Open-Label, Non-Inferiority Phase III Trial ». *OncoTargets and Therapy* 9:4173-80.

Awad, Alaa S., Hanning You, Ting Gao, Timothy K. Cooper, Sergei A. Nedospasov, Jean Vacher, Patrick F. Wilkinson, Francis X. Farrell, et W. Brian Reeves. 2015. « Macrophage-Derived Tumor Necrosis Factor- α Mediates Diabetic Renal Injury ». *Kidney International* 88(4):722-33.

B

Barry, Julianne C., Soroush Shakibakho, Cody Durrer, Svetlana Simtchouk, Kamaldeep K. Jawanda, Sylvia T. Cheung, Alice L. Mui, et Jonathan P. Little. 2016. « Hyporesponsiveness to the Anti-Inflammatory Action of Interleukin-10 in Type 2 Diabetes ». *Scientific Reports* 6(1).

Bene, M. C., G. Castoldi, W. Knapp, W. D. Ludwig, E. Matutes, A. Orfao, et M. B. van't Veer. 1995. « Proposals for the Immunological Classification of Acute Leukemias. European Group for the Immunological Characterization of Leukemias (EGIL) ». *Leukemia* 9(10):1783-86.

Biaglow, John E. et Richard A. Miller. 2005. « The Thioredoxin Reductase/Thioredoxin System: Novel Redox Targets for Cancer Therapy ». *Cancer Biology & Therapy* 4(1):6-13.

C

Cao, Yixuan, Ineke D. C. Jansen, Sara Sprangers, Teun J. de Vries, et Vincent Everts. 2017. « TNF- α Has Both Stimulatory and Inhibitory Effects on Mouse Monocyte-Derived Osteoclastogenesis ». *Journal of Cellular Physiology* 232(12):3273-85.

Ceacareanu, Alice C., George K. Nimako, et Zachary A. P. Wintrob. 2017. « Missing the Benefit of Metformin in Acute Myeloid Leukemia: A Problem of Contrast? » *Journal of Research in Pharmacy Practice* 6(3):145-50.

Cerezo, Michaël, Mélanie Tichet, Patricia Abbe, Mickaël Ohanna, Abdelali Lehraiki, Florian Rouaud, Maryline Allegra, Damien Giacchero, Philippe Bahadoran, Corine Bertolotto, Sophie Tartare-Deckert, Robert Ballotti, et Stéphane Rocchi. 2013. « Metformin Blocks Melanoma Invasion and Metastasis Development in AMPK/P53-Dependent Manner ». *Molecular Cancer Therapeutics* 12(8):1605-15.

Chiang, Chi-Fu, Ting-Ting Chao, Yu-Fu Su, Chia-Chen Hsu, Chu-Yen Chien, Kuo-Chou Chiu, Shine-Gwo Shiah, Chien-Hsing Lee, Shyun-Yeu Liu, et Yi-Shing Shieh. 2017. « Metformin-Treated Cancer Cells Modulate Macrophage Polarization through AMPK-NF-KB Signaling ». *Oncotarget* 8(13):20706-18.

Ciebiera, Michał, Marta Włodarczyk, Magdalena Zgliczyńska, Krzysztof Łukaszuk, Błażej Męczekalski, Christopher Kobierzycki, Tomasz Łoziński, et Grzegorz Jakiel. 2018. « The Role of Tumor Necrosis Factor α in the Biology of Uterine Fibroids and the Related Symptoms ». *International Journal of Molecular Sciences* 19(12).

Clark, L. C., K. P. Cantor, et W. H. Allaway. 1991. « Selenium in Forage Crops and Cancer Mortality in U.S. Counties ». *Archives of Environmental Health* 46(1):37-42.

Collison, Joanna L., Leo M. Carlin, Martin Eichmann, Frederic Geissmann, et Mark Peakman. 2015. « Heterogeneity in the Locomotory Behavior of Human Monocyte Subsets over Human Vascular Endothelium In Vitro ». *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 195(3):1162-70.

Curran, Joanne E., Jeremy B. M. Jowett, Kate S. Elliott, Yuan Gao, Kristi Gluschenko, Jianmin Wang, Dalia M. Abel Azim, Guowen Cai, Michael C. Mahaney, Anthony G. Comuzzie, Thomas D. Dyer, Ken R. Walder, Paul Zimmet, Jean W. MacCluer, Greg R. Collier, Ahmed H. Kissebah,

et John Blangero. 2005. « Genetic Variation in Selenoprotein S Influences Inflammatory Response ». *Nature Genetics* 37(11):1234-41.

D

Dallagi, Angham, Julie Girouard, Jovane Hamelin-Morrisette, Rachel Dadzie, Laetitia Laurent, Cathy Vaillancourt, Julie Lafond, Christian Carrier, et Carlos Reyes-Moreno. 2015. « The Activating Effect of IFN- γ on Monocytes/Macrophages Is Regulated by the LIF-Trophoblast-IL-10 Axis via Stat1 Inhibition and Stat3 Activation ». *Cellular & Molecular Immunology* 12(3):326-41.

Dian Novita, Bernadette. 2018. « Metformin Associated Interleukin-10 Affected Insulin Sensitivity and Anti-Tuberculosis Result in Type 2 Diabetes with Tuberculosis Coinfection: A Case Report ». *Journal of Clinical Respiratory Diseases and Care* 04(02).

Dinarelo, C. A. 1996. « Biologic Basis for Interleukin-1 in Disease ». *Blood* 87(6):2095-2147.

Doumbia, Mariam, Jean Uwingabiye, Aboubacar Bissan, Razine Rachid, Souad Benkirane, et Azlarab Masrar. 2016. « Aspects Épidémiologiques, Cliniques, Cytologiques et Immunophénotypiques Des Leucémies Aiguës Chez Les Enfants: Expérience Du Laboratoire d'hématologie Du Centre Hospitalier Universitaire IBN Sina ». *Pan African Medical Journal* 23.

E

Elliott, Louise A., Glen A. Doherty, Kieran Sheahan, et Elizabeth J. Ryan. 2017. « Human Tumor-Infiltrating Myeloid Cells: Phenotypic and Functional Diversity ». *Frontiers in Immunology* 8:86.

G

Gingras, Isabelle, Hatem A. Azim, Michail Ignatiadis, et Christos Sotiriou. 2015. « Immunology and Breast Cancer: Toward a New Way of Understanding Breast Cancer and Developing

Novel Therapeutic Strategies ». *Clinical Advances in Hematology & Oncology: H&O* 13(6):372-82.

Graux, C., J. Cools, L. Michaux, P. Vandenberghe, et A. Hagemeijer. 2006. « Cytogenetics and Molecular Genetics of T-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia: From Thymocyte to Lymphoblast ». *Leukemia* 20(9):1496-1510.

Gray, P. W. et D. V. Goeddel. 1982. « Structure of the Human Immune Interferon Gene ». *Nature* 298(5877):859-63.

Griss, Takla, Emma E. Vincent, Robert Egnatchik, Jocelyn Chen, Eric H. Ma, Brandon Faubert, Benoit Viollet, Ralph J. DeBerardinis, et Russell G. Jones. 2015. « Metformin Antagonizes Cancer Cell Proliferation by Suppressing Mitochondrial-Dependent Biosynthesis ». *PLoS Biology* 13(12):e1002309.

Guimarães, M. J., D. Peterson, A. Vicari, B. G. Cocks, N. G. Copeland, D. J. Gilbert, N. A. Jenkins, D. A. Ferrick, R. A. Kastelein, J. F. Bazan, et A. Zlotnik. 1996. « Identification of a Novel SelD Homolog from Eukaryotes, Bacteria, and Archaea: Is There an Autoregulatory Mechanism in Selenocysteine Metabolism? » *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 93(26):15086-91.

H

Hadadi, Eva, Biyan Zhang, Kajus Baidžajevs, Nurhashikin Yusof, Kia Joo Puan, Siew Min Ong, Wei Hseun Yeap, Olaf Rotzschke, Endre Kiss-Toth, Heather Wilson, et Siew Cheng Wong. 2016. « Differential IL-1 β Secretion by Monocyte Subsets Is Regulated by Hsp27 through Modulating mRNA Stability ». *Scientific Reports* 6:39035.

Hamid, Tariq, Yuanyuan Xu, Mohamed Ameen Ismahil, Qianhong Li, Steven P. Jones, Aruni Bhatnagar, Roberto Bolli, et Sumanth D. Prabhu. 2016. « TNF Receptor Signaling Inhibits Cardiomyogenic Differentiation of Cardiac Stem Cells and Promotes a Neuroadrenergic-like Fate ». *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology* 311(5):H1189-1201.

Hatfield, Dolph L., Min-Hyuk Yoo, Bradley A. Carlson, et Vadim N. Gladyshev. 2009. « Selenoproteins That Function in Cancer Prevention and Promotion ». *Biochimica Et Biophysica Acta* 1790(11):1541-45.

Hideshima, Teru, Noriaki Nakamura, Dharminder Chauhan, et Kenneth C. Anderson. 2001. « Biologic Sequelae of Interleukin-6 Induced PI3-K/Akt Signaling in Multiple Myeloma ». *Oncogene* 20(42):5991-6000.

Hofer, Thomas P., Adam M. Zawada, Marion Frankenberger, Kerstin Skokann, Anna A. Satzl, Wolfgang Gesierich, Madeleine Schuberth, Johannes Levin, Adrian Danek, Björn Rotter, Gunnar H. Heine, et Loems Ziegler-Heitbrock. 2015. « Slan-Defined Subsets of CD16-Positive Monocytes: Impact of Granulomatous Inflammation and M-CSF Receptor Mutation ». *Blood* 126(24):2601-10.

Hoffmann, Peter R. 2007. « Mechanisms by Which Selenium Influences Immune Responses ». *Archivum Immunologiae Et Therapiae Experimentalis* 55(5):289-97.

Hu, Xiaoyu, Soumya D. Chakravarty, et Lionel B. Ivashkiv. 2008. « Regulation of Interferon and Toll-like Receptor Signaling during Macrophage Activation by Opposing Feedforward and Feedback Inhibition Mechanisms ». *Immunological Reviews* 226:41-56.

Hu, Yajun, Richard V. Benya, Robert E. Carroll, et Alan M. Diamond. 2005. « Allelic Loss of the Gene for the GPX1 Selenium-Containing Protein Is a Common Event in Cancer ». *The Journal of Nutrition* 135(12 Suppl):3021S-3024S.

Huang, Zhi, Aaron H. Rose, et Peter R. Hoffmann. 2012. « The Role of Selenium in Inflammation and Immunity: From Molecular Mechanisms to Therapeutic Opportunities ». *Antioxidants & Redox Signaling* 16(7):705-43.

Hundal, Ripudaman S. et Silvio E. Inzucchi. 2003. « Metformin: New Understandings, New Uses ». *Drugs* 63(18):1879-94.

Hundal, Ripudaman S., Martin Krssak, Sylvie Dufour, Didier Laurent, Vincent Lebon, Visvanathan Chandramouli, Silvio E. Inzucchi, William C. Schumann, Kitt F. Petersen, Bernard R. Landau, et Gerald I. Shulman. 2000. « Mechanism by Which Metformin Reduces Glucose Production in Type 2 Diabetes ». *Diabetes* 49(12):2063-69.

Hyun, Bobae, Seulmee Shin, Aeri Lee, Sungwon Lee, Youngcheon Song, Nam-Joo Ha, Kyung-Hea Cho, et Kyungjae Kim. 2013. « Metformin Down-Regulates TNF- α Secretion via Suppression of Scavenger Receptors in Macrophages ». *Immune Network* 13(4):123-32.

I

Imhof, Beat A., Stephane Jemelin, Romain Ballet, Christian Vesin, Marc Schapira, Melis Karaca, et Yalin Emre. 2016. « CCN1/CYR61-Mediated Meticulous Patrolling by Ly6Clow Monocytes Fuels Vascular Inflammation ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 113(33):E4847-4856.

J

Jean-Marc, Mr Chillon. 2015. « La leucémie aiguë lymphoblastique chez l'enfant: Physiopathologie, états actuels des traitements et perspectives d'avenir ». 85.

K

Karavelioglu, Ergun, Mehmet Gazi Boyaci, Nejdet Simsek, Mehmet Akif Sonmez, Rabia Koc, Mustafa Karademir, Mustafa Guven, et Olcay Eser. 2015. « Selenium protects cerebral cells by cisplatin induced neurotoxicity ». *Acta Cirurgica Brasileira* 30(6):394-400.

Kelly, Beth, Gillian M. Tannahill, Michael P. Murphy, et Luke A. J. O'Neill. 2015. « Metformin Inhibits the Production of Reactive Oxygen Species from NADH:Ubiquinone Oxidoreductase to Limit Induction of Interleukin-1 β (IL-1 β) and Boosts Interleukin-10 (IL-10) in Lipopolysaccharide (LPS)-Activated Macrophages ». *Journal of Biological Chemistry* 290(33):20348-59.

Kiremidjian-Schumacher, L. et M. Roy. 1998. « Selenium and Immune Function ». *Zeitschrift Fur Ernährungswissenschaft* 37 Suppl 1:50-56.

Kühn, R., J. Löhler, D. Rennick, K. Rajewsky, et W. Müller. 1993. « Interleukin-10-Deficient Mice Develop Chronic Enterocolitis ». *Cell* 75(2):263-74.

L

Lastrucci, Claire, Alan Bénard, Luciana Balboa, Karine Pingris, Shanti Souriant, Renaud Poincloux, Talal Al Saati, Voahangy Rasolofo, Pablo González-Montaner, Sandra Inwentarz, Eduardo Jose Moraña, Ivanela Kondova, Frank A. W. Verreck, Maria del Carmen Sasiain, Olivier Neyrolles, Isabelle Maridonneau-Parini, Geanncarlo Lugo-Villarino, et Céline Cougoule. 2015. « Tuberculosis Is Associated with Expansion of a Motile, Permissive and Immunomodulatory CD16(+) Monocyte Population via the IL-10/STAT3 Axis ». *Cell Research* 25(12):1333-51.

Lee, Chia-Huei, Jeffrey Shu-Ming Chang, Shih-Han Syu, Thian-Sze Wong, Jimmy Yu-Wai Chan, Ya-Chu Tang, Zhi-Ping Yang, Wen-Chan Yang, Chiung-Tong Chen, Shao-Chun Lu, Pei-Hua Tang, Tzu-Ching Yang, Pei-Yi Chu, Jenn-Ren Hsiao, et Ko-Jiunn Liu. 2015. « IL-1 β Promotes Malignant Transformation and Tumor Aggressiveness in Oral Cancer ». *Journal of Cellular Physiology* 230(4):875-84.

Lee, Heon-Woo, Hyun-Jung Choi, Sang-Jun Ha, Kyung-Tae Lee, et Young-Guen Kwon. 2013. « Recruitment of Monocytes/Macrophages in Different Tumor Microenvironments ». *Biochimica Et Biophysica Acta* 1835(2):170-79.

Li, XiaoHua, Na Du, Guang Xu, Peng Zhang, Rongjing Dang, Yanfang Jiang, et Kaiyu Zhang. 2018. « Expression of CD206 and CD163 on Intermediate CD14⁺⁺CD16⁺ Monocytes Are Increased in Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome and Are Correlated with Disease Severity ». *Virus Research* 253:92-102.

M

Meziane, Warda, Zineb Mekkaoui, Ismahane Hai, Kamila Kacimi, Khaira Djilali, Chafia Touil-Boukoffa, Gérard Lefranc, Anne Fernandez, Ned Lamb, Franck Mennechet, et Mourad Aribi. 2019. « Combination of Metformin with Sodium Selenite Induces a Functional Phenotypic Switch of Human GM-CSF Monocyte-Derived Macrophages ». *International Immunopharmacology* 73:212-24.

Mohme, Malte, Sabine Riethdorf, et Klaus Pantel. 2017. « Circulating and Disseminated Tumour Cells - Mechanisms of Immune Surveillance and Escape ». *Nature Reviews. Clinical Oncology* 14(3):155-67.

N

Nemeth, Elizabeta, Seth Rivera, Victoria Gabayan, Charlotte Keller, Sarah Taudorf, Bente K. Pedersen, et Tomas Ganz. 2004. « IL-6 Mediates Hypoferremia of Inflammation by Inducing the Synthesis of the Iron Regulatory Hormone Hepcidin ». *Journal of Clinical Investigation* 113(9):1271-76.

Nichols, B. A., D. F. Bainton, et M. G. Farquhar. 1971. « Differentiation of Monocytes. Origin, Nature, and Fate of Their Azurophil Granules ». *The Journal of Cell Biology* 50(2):498-515.

Noy, Roy et Jeffrey W. Pollard. 2014. « Tumor-Associated Macrophages: From Mechanisms to Therapy ». *Immunity* 41(1):49-61.

P

Patel, Rajvi, Ateaya Lima, Christopher Burke, et Mark Hoffman. 2019. « Monocytopenia in Clozapine-Induced Agranulocytosis: Insights into Pathophysiology and Treatment ». *BMJ Case Reports* 12(1).

Pearce, Erika L., Matthew C. Walsh, Pedro J. Cejas, Gretchen M. Harms, Hao Shen, Li-San Wang, Russell G. Jones, et Yongwon Choi. 2009. « Enhancing CD8 T-Cell Memory by Modulating Fatty Acid Metabolism ». *Nature* 460(7251):103-7.

Pernicova, Ida et Márta Korbonits. 2014. « Metformin--Mode of Action and Clinical Implications for Diabetes and Cancer ». *Nature Reviews. Endocrinology* 10(3):143-56.

Plitas, George, Catherine Konopacki, Kenmin Wu, Paula D. Bos, Monica Morrow, Ekaterina V. Putintseva, Dmitriy M. Chudakov, et Alexander Y. Rudensky. 2016. « Regulatory T Cells Exhibit Distinct Features in Human Breast Cancer ». *Immunity* 45(5):1122-34.

Pui, Ching-Hon, Jun J. Yang, Stephen P. Hunger, Rob Pieters, Martin Schrappe, Andrea Biondi, Ajay Vora, André Baruchel, Lewis B. Silverman, Kjeld Schmiegelow, Gabriele Escherich, Keizo Horibe, Yves C. M. Benoit, Shai Izraeli, Allen Eng Juh Yeoh, Der-Cherng Liang, James R. Downing, William E. Evans, Mary V. Relling, et Charles G. Mullighan. 2015. « Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia: Progress Through Collaboration ». *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 33(27):2938-48.

R

Rahman, Mohammed Shamim, Andrew J. Murphy, et Kevin J. Woollard. 2017. « Effects of Dyslipidaemia on Monocyte Production and Function in Cardiovascular Disease ». *Nature Reviews. Cardiology* 14(7):387-400.

Riella, L. V., A. M. Paterson, A. H. Sharpe, et A. Chandraker. 2012. « Role of the PD-1 Pathway in the Immune Response ». *American Journal of Transplantation: Official Journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons* 12(10):2575-87.

Rojas, José M., Miguel Avia, Verónica Martín, et Noemí Sevilla. 2017. « IL-10: A Multifunctional Cytokine in Viral Infections ». *Journal of Immunology Research* 2017:6104054.

S

Score, J., M. J. Calasanz, O. Ottman, F. Pane, R. F. Yeh, M. A. Sobrinho-Simões, S. Kreil, D. Ward, C. Hidalgo-Curtis, J. V. Melo, J. Wiemels, B. Nadel, N. C. P. Cross, et F. H. Grand.

2010. « Analysis of Genomic Breakpoints in P190 and P210 BCR-ABL Indicate Distinct Mechanisms of Formation ». *Leukemia* 24(10):1742-50.

Spallholz, J. E., L. M. Boylan, et H. S. Larsen. 1990. « Advances in Understanding Selenium's Role in the Immune System ». *Annals of the New York Academy of Sciences* 587:123-39.

Sun, Q. A., Y. Wu, F. Zappacosta, K. T. Jeang, B. J. Lee, D. L. Hatfield, et V. N. Gladyshev. 1999. « Redox Regulation of Cell Signaling by Selenocysteine in Mammalian Thioredoxin Reductases ». *The Journal of Biological Chemistry* 274(35):24522-30.

Swirski, Filip K., Matthias Nahrendorf, Martin Etzrodt, Moritz Wildgruber, Virna Cortez-Retamozo, Peter Panizzi, Jose-Luiz Figueiredo, Rainer H. Kohler, Aleksey Chudnovskiy, Peter Waterman, Elena Aikawa, Thorsten R. Mempel, Peter Libby, Ralph Weissleder, et Mikael J. Pittet. 2009. « Identification of Splenic Reservoir Monocytes and Their Deployment to Inflammatory Sites ». *Science (New York, N.Y.)* 325(5940):612-16.

T

Tanaka, Toshio, Masashi Narazaki, et Tadimitsu Kishimoto. 2014. « IL-6 in Inflammation, Immunity, and Disease ». *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 6(10):a016295.

Thornberry, N. A., H. G. Bull, J. R. Calaycay, K. T. Chapman, A. D. Howard, M. J. Kostura, D. K. Miller, S. M. Molineaux, J. R. Weidner, et J. Aunins. 1992. « A Novel Heterodimeric Cysteine Protease Is Required for Interleukin-1 Beta Processing in Monocytes ». *Nature* 356(6372):768-74.

Torpy, Janet M., Cassio Lynn, et Richard M. Glass. 2009. « JAMA Patient Page. Acute Lymphoblastic Leukemia ». *JAMA* 301(4):452.

Triggle, C. R. et H. Ding. 2017. « Metformin Is Not Just an Antihyperglycaemic Drug but Also Has Protective Effects on the Vascular Endothelium ». *Acta Physiologica (Oxford, England)* 219(1):138-51.

V

Van Vlierberghe, Pieter et Adolfo Ferrando. 2012. « The Molecular Basis of T Cell Acute Lymphoblastic Leukemia ». *The Journal of Clinical Investigation* 122(10):3398-3406.

Vardiman, J. W., J. Thiele, D. A. Arber, R. D. Brunning, M. J. Borowitz, A. Porwit, N. L. Harris, M. M. Le Beau, E. Hellstrom-Lindberg, A. Tefferi, et C. D. Bloomfield. 2009. « The 2008 Revision of the World Health Organization (WHO) Classification of Myeloid Neoplasms and Acute Leukemia: Rationale and Important Changes ». *Blood* 114(5):937-51.

Vinceti, Marco, Tommaso Filippini, Silvia Cilloni, et Catherine M. Crespi. 2017. « The Epidemiology of Selenium and Human Cancer ». *Advances in Cancer Research* 136:1-48.

Voronov, Elena et Ron N. Apte. 2017. « Targeting the Tumor Microenvironment by Intervention in Interleukin-1 Biology ». *Current Pharmaceutical Design* 23(32):4893-4905.

W

Ward, Jon R., Peter W. West, Mark P. Ariaans, Lisa C. Parker, Sheila E. Francis, David C. Crossman, Ian Sabroe, et Heather L. Wilson. 2010. « Temporal Interleukin-1beta Secretion from Primary Human Peripheral Blood Monocytes by P2X7-Independent and P2X7-Dependent Mechanisms ». *The Journal of Biological Chemistry* 285(30):23147-58.

Weichand, Benjamin, Rüdiger Popp, Sarah Dziumbila, Javier Mora, Elisabeth Strack, Eiman Elwakeel, Ann-Christin Frank, Klaus Scholich, Sandra Pierre, Shahzad N. Syed, Catherine Olesch, Julia Ringleb, Bilge Ören, Claudia Döring, Rajkumar Savai, Michaela Jung, Andreas von Knethen, Bodo Levkau, Ingrid Fleming, Andreas Weigert, et Bernhard Brüne. 2017. « S1PR1 on Tumor-Associated Macrophages Promotes Lymphangiogenesis and Metastasis via NLRP3/IL-1 β ». *The Journal of Experimental Medicine* 214(9):2695-2713.

Williams, Lynn, Gabor Jarai, Alexandra Smith, et Peter Finan. 2002. « IL-10 Expression Profiling in Human Monocytes ». *Journal of Leukocyte Biology* 72(4):800-809.

Wu, Tong, Yun Hong, Lihua Jia, Jie Wu, Juan Xia, Juan Wang, Qinchao Hu, et Bin Cheng. 2016. « Modulation of IL-1 β Reprogrammes the Tumor Microenvironment to Interrupt Oral Carcinogenesis ». *Scientific Reports* 6:20208.

Y

Yan, Li, Dejin Zheng, et Ren-He Xu. 2018. « Critical Role of Tumor Necrosis Factor Signaling in Mesenchymal Stem Cell-Based Therapy for Autoimmune and Inflammatory Diseases ». *Frontiers in Immunology* 9:1658.

Z

Zeng, Jinhong, Jun Zhou, et Kaixun Huang. 2009. « Effect of Selenium on Pancreatic Proinflammatory Cytokines in Streptozotocin-Induced Diabetic Mice ». *The Journal of Nutritional Biochemistry* 20(7):530-36.

Zhuo, Pin et Alan M. Diamond. 2009. « Molecular Mechanisms by Which Selenoproteins Affect Cancer Risk and Progression ». *Biochimica Et Biophysica Acta* 1790(11):1546-54.

Ziegler-Heitbrock, L., P. Ancuta, S. Crowe, M. Dalod, V. Grau, D. N. Hart, P. J. M. Leenen, Y. J. Liu, G. MacPherson, G. J. Randolph, J. Scherberich, J. Schmitz, K. Shortman, S. Sozzani, H. Strobl, M. Zembala, J. M. Austyn, et M. B. Lutz. 2010. « Nomenclature of Monocytes and Dendritic Cells in Blood ». *Blood* 116(16):e74-80.

Effet de la metformine et du sélénium sur la production des cytokines par le monocyte issu de la leucémie lymphoblastique aiguë T

Résumé

Introduction : Les biguanides notamment la metformine (Met), a fait l'objet de recherche très intense sur le cancer. Aussi, le sélénite de sodium (Ss) pourrait immunomoduler les activités des cellules mononuclées, telles que les monocytes-macrophage. Comprendre les changements des niveaux des cytokines produites par les monocytes traités, avec la Met et/ou le Ss au cours de la leucémie aiguë lymphoblastique T (LAL-T) pourrait être d'une importance capitale pour le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques.

Objectif : Déterminer le rôle de la Met combiné ou non au Ss dans le cadre d'une étude mécanistique, ex vivo sur le profil cytokinique des monocytes issu de la leucémie aiguë lymphoblastique T.

But : Montrer que la Met et le Ss pourrait immunomoduler l'activité du monocyte vers un profil tueur, anti-tumoral dans la leucémie aiguë lymphoblastique T.

Matériels et méthodes : Des monocytes, isolés à partir du sang périphérique du patient atteint de la leucémie aiguë lymphoblastique T, ont été mis en culture et traité par la Met seul ou en combinaison avec le Ss.

Résultat : la Met a induit une augmentation hautement significative de la production de l'interleukine 1 beta (IL-1 β), tandis qu'aucune différence significative n'a été observée par l'interféron-gamma (IFN- γ), le tumor necrosis factor-alpha (TNF α), IL-6 et IL-10. De même le traitement du monocyte par le Ss seul ou en association avec la Met n'as pas induit un changement de manière significative de l'ensemble des cytokines.

Conclusion : la Met agirait spécifiquement sur l'expression de l'IL-1 β monocyttaire au cours de la LAL-T. Ainsi, le Ss s'avèrerait avoir un effet notable sur l'action de la MET durant cette pathologie.

Mots clé : cytokines, leucémie aigue lymphoblastique T, monocytes, metformine, sélénite de sodium.

Abstract

Introduction: The biguanides including metformin (Met), has been the subject of very intense research on cancer. Also, sodium selenite (Ss) could immunomodulate the activities of mononuclear cells, such as monocyte-macrophage. Understanding the changes in cytokine levels produced by treated monocytes, with Met and / or Ss during acute lymphoblastic leukemia T (LAL-T) could be of paramount importance for the development of new therapeutic strategies. **Objective:** To determine the role of Met combined or not with Ss in a mechanistic ex vivo study, on the cytokine profile of monocytes derived from acute lymphoblastic leukemia T.

Aim: To show that Met and Ss could immunomodulate monocyte activity towards a killer, anti-tumor profile in acute lymphoblastic leukemia T.

MATERIALS AND METHODS: Monocytes, isolated from the peripheral blood of the patient with T-cell acute lymphoblastic leukemia, were cultured and treated with Met alone or in combination with Ss.

Result: Met induced a highly significant increase in interleukin 1 beta (IL-1 β) production, whereas no significant difference was observed with interferon-gamma (IFN-gamma), tumor necrosis factor-alpha (TNF α), IL-6 and IL-10. Similarly, treatment of monocyte with Ss alone or in combination with Met did not induce a significant change in all cytokines.

Conclusion: Met would specifically act on the expression of IL-1 β produced by monocyte during LAL-T. Thus, Ss would have a significant effect on the action of MET during this pathology.

Key words: cytokines, acute lymphoblastic leukemia T, monocytes, metformin, sodium selenite.

ملخص

مقدمة: مركبات البيجونيدي بما في ذلك الميتفورمين (Met) ، موضوع بحث مكثف للغاية في مجال السرطان. وأيضاً، يستطيع سيلينيت الصوديوم (Ss) تحوير مناعياً أنشطة الخلايا وحيدات النواة ، مثل وحيدات النواة البالعة. إن فهم التغيرات في مستويات السيتوكينات التي تنتجها وحيدات النواة المعالجة بـ Met و / أو Ss خلال سرطان الدم الليمفاوي الحاد LAL-T يمكن أن يكون ذا أهمية قصوى لتطوير استراتيجيات علاجية جديدة.

الغاية من الدراسة: تحديد دور Met مجتمعة أو لا مع Ss في اطار دراسة ميكانيكية خارج الجسم الحي على الملف السيتوكيني لوحيدات النواة المستمدة من سرطان الدم الليمفاوي الحاد T.

الهدف: لإظهار أن Met و Ss يمكن لهما ان يعدلان مناعياً نشاط وحيدات النواة نحو صورة قاتلة ومضادة للورم في سرطان الدم الليمفاوي الحاد T. المواد والطرق: تم زراعة وعزل وحيدات النواة المستمدة من الدم المحيطي لمريض مصاب بسرطان الدم الليمفاوي الحاد للخلايا T ، وبعد ذلك عالجها بالميتفورمين وحدها أو بالاشتراك مع سيلينيت الصوديوم.

النتيجة: تسبب Met في حدوث زيادة كبيرة في إنتاج IL-1 beta في حين لم يلاحظ أي اختلاف كبير مع (TNF α ، IL-6 و IL-10). وبالمثل ، فإن علاج وحيدات النواة مع Ss فقط أو بالاشتراك مع Met لم يحدث تغييراً كبيراً في جميع السيتوكينات.

الخلاصة: سوف يعمل Met على وجه التحديد على التعبير عن IL-1 β خلال LAL-T. وبالتالي، فإن Ss يكون له تأثير كبير على عمل MET خلال هذه الأمراض.

الكلمات المفتاحية: أحاديات النواة، السيتوكينات، سرطان الدم الليمفاوي الحاد T، سيلينيوم، ميتفورمين.

