

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

République algérienne démocratique et populaire

Ministère de L'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحي جيجل

Faculté: des Sciences de la Nature et de
La vie

Département : Biologie Moléculaire et
Cellulaire



كلية علم الطبيعة والحياة

قسم : البيولوجيا الجزيئية والخلوية

Mémoire de Master

Filière : Sciences biologique

Option : Biologie Moléculaire et Cellulaire

Thème

**Contribution à l'étude de la génotoxicité de la
Doxorubicine et sa réversion de la *Pistacia lentiscus L.***

Membres de Jury:

Présidente: Dr. RUIBEH HASSIBA

Examineur : Dr.BENSSAME MOFIDA

Encadrant : Dr .BENGHEDOUAR LAMIA

Présenté par :

BOUACH DJOWEYDA

SADOU AICHA

Année Universitaire 2022-2023

Remerciements

➤ *Merci à mon Seigneur Tout-Puissant pour sa bienveillance et merci et louange à lui pour son succès et sa gratitude de m'avoir donné l'énergie et la santé pour terminer mes études.*

J'adresse mes sincères remerciements à mon père et ma mère qui m'ont aidé et encouragé à continuer le chemin de la connaissance, en particulier mon père en terminant mes études de premier cycle.

J'adresse également mes sincères remerciements à mes sœurs : NASSIMA et HAKIMA et à mes frères ABD ARRAHMEN, HOSSEYN et KRIMO pour leur soutien psychologique à mon égard et pour m'avoir toujours soutenu.

A celle qui m'a fait l'honneur d'encadrer mon mémoire de fin d'études, Dr. BEN GHUEDOUAR LAMIA, avec ses conseils scientifiques, ainsi que mes sincères remerciements et ma reconnaissance à ZAITER KARIMA, qui chaque fois que le désespoir apparaissait dans mon âme, elle semait l'espoir en moi, et à DJOUHAR NACHIDA, qui m'a beaucoup aidé, ainsi qu'au enseignant NIMOUR RABEH.

à tous mes amis pour avoir prié pour ma réussite et m'avoir encouragé à chaque pas que je fais jusqu'à la dernière étape.

Dédicace



➤ Je remercie «**Dieu**» Tout-Puissant pour son succès et son aide dans la réussite de cette recherche.

-À celui qui m'a donné tout ce qu'il avait pour réaliser mes espoirs, à celui qui m'a poussé à réaliser ce que je voulais, à celui qui a assuré mon éducation au prix de grands sacrifices, à « **mon père** » qui est cher à mon cœur, que Dieu prolonge sa vie et que Dieu le récompense de la meilleure récompense.

-À celle qui m'a donné toute la tendresse et a prié pour ma réussite, « **ma mère** » que Dieu prolonge sa vie et que Dieu la récompense de la meilleure récompense.

-Je dédie également le fruit de mes efforts à mes sœurs : **NASSIMA** et **HAKIMA**, ainsi qu'à mes frères **ABD ARRAHMEN**, **HOSSEYN** et **KRIMO**, qui ont apporté du bonheur dans mon cœur.

-Au professeur distingué, **Dr. BEN GHUEDOUAR LAMIA**, ainsi qu'aux professeurs du Département de biologie moléculaire et cellulaire, je dédie cet humble ouvrage à tous **mes amis**.

(BOUACH DJOWEYDA).

Dédicaces



➤ Je remercie **Dieu** Tout-Puissant, Très Miséricordieux, qui m'a motivé à accomplir cet humble travail.

-je remercie infiniment **mes parents** qui m'ont encouragé et aidé à atteindre cette étape de formation.

-Je dédie cet humble travail à mon mari **FATEH**, qui est toujours resté à mes côtés pendant les moments difficiles de ma vie.

-Je dédie cet humble ouvrage à mon père, **TOUNSSI**.ma Méré **NOWARA**, qui m'a accompagné dans les moments les plus difficiles de ce long parcours éducatif.

-À mes frères **MUHAMMED, HAROUN, YASSMIN, ALI, OMAR** et **SAMIR**. À l'amour de ma vie, mon fils **ACIL**.

-À tous mes amis, **KAWTHAR, AIDA, RAHMA, OMAIMA, YASMIN, CHOCHO, SABER**, à mon partenaire **BOUACH DJOWEYDA**

(SADOU AICHA).

Remerciement

Dédicace

Introduction générale..... 1

Chapitre I: Généralités sur la génotoxicité.

I.1. Définition	4
I.2. Les agents génotoxiques.....	4
I.2.1. Agents chimiques.....	4
I.2.2. Agents physiques.....	5
I.2.3. Agents biologiques.....	5
I.3. Mécanismes génotoxiques.....	5
I.3.1. Actions génotoxiques directes.....	6
I.3.2. Actions génotoxiques indirectes.....	7
I.4. Lésions génotoxiques	7
I.4.1. Lésions primaires.....	7
I.4.1.1. Les mutations.....	8
a. Les mutations géniques.....	8
b. Mutation chromosomiques.....	9
I.5. Les tests de génotoxicité.....	10
I.5.1. Le test d'Ames	11
I.5.1.1. Historique et principe du test.....	11
I.5.1.2. Les avantages et les inconvénients du test d'Ames.....	12
A/Avantage.....	12
B/Inconvénients	12
I.5.2. Test des comètes.....	12
I.5.2.1. Historique et principe du test.....	12
I.5.2.2. Avantages et limites.....	13
I.5.3. Tests cytogénétiques	13
I.5.3.1. Test d'aberration chromosomique.....	14
A/Avantages	14
B/ inconvénients	14
I.5.3.2. Test de micronoyau :.....	14
I.5.3.2.1. Historique et principe	14
I.5.3.2.2. Avantages et inconvénients	16
A/Avantages	16
B/ inconvénients.....	16

Chapitre II: Généralité sur le cancer

II.1.Introduction	18
II.2. Qu'est-ce que le cancer ?.....	18
II.3. Caractères généraux des cellules cancéreuses.....	19
II.4.Les causes du cancer	20
II.5.Facteurs activateurs de la cancérogenèse	21
II.6.Types de cancer.....	22
II.6.1.Les carcinomes.....	22
II.6.2.Les leucémies	22
II.6.3.Les lymphomes et les myélomes multiples.....	22
II.6.4.Les sarcomes	22
II.7.Les traitements des cancers	22
II.7.1.La chirurgie	22
II.7.2.La radiothérapie	23
II.7.3.Les traitements médicaux	23
II.8.Classification des médicaments anticancéreux	23
A/Classification selon le mécanisme d'action.....	23
B/ Les médicaments formant des adduits covalents avec l'ADN (alkylants).....	24
C/Les médicaments induisant ou stabilisant des coupures de l'ADN	25
D/Les antimétabolites	25
E/ Les médicaments interagissant avec la tubuline (poisons du fuseau)	25
F/Les inhibiteurs de la tyrosine kinase.....	25
G/ Les cytokines	26
H/Les anticorps monoclonaux	26
I/Les autres cytotoxiques	26
II.9. La classification des anticancéreux selon CIRC.....	26
II.10.La Doxorubicine.....	27
II.10.1.Généralité sur la doxorubicine	27
II.10.2..Définition Doxorubicine (Adriamycine (ADR)	28
II.10.3.Propriétés physico-chimiques de la doxorubicine	30
II.10.4.Mécanisme d'action de la doxorubicine.....	30
II.10.4.1..Interaction dans la molécule d'ADN.....	31
II.10.4.2.Inhibition de l'enzyme topo-isomérase II	31
II.10.4.3 :Action pro-apoptotique des anthracyclines	31
II.10.4.4 :La formation de radicaux libres	31
II.10.4.5 :Interaction avec les membranes plasmiques	31
II.11.Génotoxicité de la Doxorubicine	32

Chapitre 03:Pistacia lentiscus

III 1.Généralité.....	34
III.2. DéfinitionLePistachierlentisque(PistacialentiscusL)	34
III.3. Répartition géographique.....	34
III.4. Systématique et nom commun	34
III.5. Botanique.....	35
III.5.1. Description morphologique.....	35
III.6. Propriétés biologiques et pharmacologiques	36
III.7. Principaux métabolites secondaires isolés de l'espèce	37
III.8. Etude phytochimique des différents produits de P lentiscus.....	37
III.8.1 :Fruits	37
III.8.2 :Feuilles.....	37
III.8.3 :Résine	37
III.9 :.Utilisation du Lentisque en médecine et enpharmacologie	37
III.10 :produits et dérivés à base de p.lentiscus	38
III.11 :Effets thérapeutiques et activité biologique de Pistacialentiscus(L)	39
III.12 :Données toxicologiques de Pistacia lentiscus(L).....	39
III.13 :Activité antioxydante de Pistacia Lentiscus.....	40
Conclusion.....	42
Références bibliographique.....	43

Fig 01 : Actions génotoxiques directes et indirectes	5
Fig02 : Les différents types de lésions primaires de l'ADN	7
Fig03 : Différents types de mutations géniques.....	8
Fig04 : Insertion chromosomique	9
Fig05 : Délétion chromosomique	10
Fig06 : Inversion chromosomique	10
Fig07 : Principe d'application du test d'Ames.....	11
Fig08 : Aspects des comètes en fonction de l'importance de la fragmentation del'ADN	13
Fig09 : Schématisation de la formation des micronoyaux	15
Fig10 : Progression de la cellule normale en cellules cancéreuse	19
Fig11 : Les caractéristiques des cellules cancéreuses	20
Fig12 : Causes des cancers	21
Fig13 : Cycle cellulaire et anticancéreux	24.
Fig14 : Mécanisme de toxicité cellulaire et structure moléculaire de la doxorubicine	28
Fig15 : Schéma des différentes voies enzymatiques menant à la formation des radicaux libres à partir de la doxorubicine	29
Fig16 : Mécanisme d'action de la doxorubicine.....	32
Fig17 : Arbuste de P. lentiscus (L.....	35
Fig18 : Fleurs [A], Fruits rouges [B], noirs [C] et mastic [D] de P. lentiscus (L).....	36
Fig19 :Mastic de Chios	40

Liste de tableaux

Tableau 1:Noms vernaculaires de Pistacia lentiscus34

Liste des abréviations

ADN :Acide Désoxy Ribonucléique.

UV :Ultra Violette.

ROS :Reactive Oxygens Species.

OMS :Organisation Mondiale de la Sante.

CAT : Capacité Antioxydante Totale.

CIRC :Centre International recherche Cancer

DOX :Doxorobucine.

ADR :Adriamycine.

ALDH :Aldéhyde DésHydrogénase

ACS: Aberrations Chromosomiques.

ADR: ADRIamycine.

O₂: superoxyde

NADH: Nicotinamide Adenine dinucleotide.

NADPH-Nicotinamide Adenine Dinucleotide phosphate.

Top II: Topoisomerase II.

FDA:Good and Drug Administrations.

OH⁻: Hydroxyle.

IARC:International Agency for Research on Cancer.

CIRC: Centre International Recherche Cancer.

Introduction Générale

Le cancer représente un phénomène tout à fait particulier dans le domaine de la santé. (Bakr RO. 2014).

Les principales stratégies de traitement du cancer comprennent la chimiothérapie, la radiothérapie et la chirurgie, et dans certains cas, les stratégies conjointes ont donné les meilleurs résultats pour améliorer la survie au cancer. Donc la chimiothérapie est l'un des principaux traitements de cette maladie soit à visée curative ou adjuvante ou néo-adjuvante. Mais quel que soit le type de stratégie choisie, la réalité est que les chimiothérapies sont des médicaments à marge thérapeutique étroite, fortement toxique et avec des effets indésirables potentiellement graves (Guneidy et al., 2020).

En effet, la chimiothérapie anticancéreuse occupe une place considérable dans le traitement des cancers. Elle est basée sur l'administration de médicaments dits «cytotoxiques» qui vont détruire les cellules tumorales. Ces médicaments peuvent agir sur différents processus impliqués dans la multiplication des cellules (Mohan et al., 2010 ; Pothier, 2010).

La doxorubicine (DOX) fait partie des protocoles de chimiothérapie qui est grandement utilisée en clinique pour le traitement de plusieurs types de cancer dont les leucémies, les lymphomes ainsi que pour des tumeurs solides. Elle est considérée comme une molécule de référence (Andrieu,1999). Cependant, sa toxicité envers les cellules normales et le manque de spécificité provoquent un grand nombre d'effets indésirables qui peuvent être fatales (Tigrine, 2018).

Les effets antitumoraux comprennent des mécanismes liés aux dommages à l'ADN et à la production de radicaux libres. La Doxorubicine est largement utilisée dans l'arsenal thérapeutique actuel, et son utilisation en chimiothérapie est assez restreinte en raison de sa toxicité multiple. De plus, les anticancéreux se sont révélés mutagènes, cancérigènes et génotoxiques (Mohan et al., 2010 ; Pothier, 2010).

L'hépatotoxicité médicamenteuse peut survenir par formation de radicaux libres et la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO), qui peuvent causer des dommages oxydatifs aux organes. De plus, l'activation de la réponse inflammatoire a été trouvée dans la cardiotoxicité induite par la doxorubicine. Certaines études ont confirmé que les ERO dérivés de la Dox peuvent ajuster le signal du suppresseur de tumeur P53 (P53), libère le cytochrome c et active la Caspase-3 pour favoriser l'apoptose. Par conséquent, l'inhibition simultanée de l'oxydation, le stress oxydatif, l'inflammation et l'apoptose devraient être efficaces dans le traitement de l'hépatotoxicité induite par la Dox (Song et al., 2019).

Selon les statistiques de 2003 de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), 80% de la population mondiale a recours aux médecines traditionnelles pour satisfaire des besoins en soins de santé primaire. D'ailleurs la pharmacopée humaine est riche d'un répertoire de pas moins de 20000 espèces dont 50% est utilisée en industrie pharmaceutique (Anonyme, 2011).

Malgré la découverte de nouveaux composés en chimie de synthèse, les ressources

naturelles sont toujours les principaux fournisseurs de nouveaux médicaments et de nouvelles phytothérapie, notamment pour les produits riches structures chimiques. On assiste donc à un renouvellement de la en polyphénols, en particulier en flavonoïdes, qui présentent des propriétés antioxydantes biologiques intéressantes (Georgiev et al., 2014 ; Kurek-Górecka et al., 2014).

Parmi les plantes médicinales riches en ces molécules prometteuses de grade thérapeutique on trouve *Pistacia Lentiscus* L. Cette plante est considérée comme un remède efficace pour le traitement des ulcères, l'hypertension, la toux, les maux de gorge, l'eczéma, les calculs rénaux et la jaunisse. Plusieurs travaux de recherche ont montré la richesse de *Pistacia Lentiscus*.L en molécules bioactives. Cette plante est une source de composés polyphénoliques, dont nous citons les flavonoïdes (Djedia, 2017).

Chapitre I: Généralités sur la génotoxicité.

I. La génotoxicité :

I.1. Définition : La toxicologie génétique est une discipline qui vise à détecter des agents chimiques ou physiques interagissant (directement ou non) avec l'ADN des cellules somatiques et/ou germinales et qui, en l'absence de réparation fidèle sont susceptibles de provoquer des mutations géniques et/ou chromosomiques (Thybaud et al., 2007). Ces mutations géniques et chromosomiques sont susceptibles d'initier un processus cancérogène lorsqu'elles ont lieu sur des cellules somatiques.

En cas d'atteinte des cellules germinales, l'effet génotoxique risque d'entraîner une toxicité vis à -vis de la reproduction (reprotoxicité) et/ou un risque théorique de transmission des mutations à la descendance (Meek et al., 2003).

I.2. Les agents génotoxiques :

Les agents génotoxiques peuvent être classés de différentes manières, Ils peuvent être des agents génotoxiques direct qui présentent généralement les molécules intrinsèquement réactives qui n'exigent pas une activation métabolique par des enzymes cellulaires pour interagir de manière covalente avec l'ADN. Tel que : les moutardes à l'azote, ou indirect qui nécessitent une activation métabolique par des enzymes cellulaires pour former les espèces carcinogènes ultimes qui se lient de manière covalente à l'ADN comme le benzol [a] pyrène.

Un agent génotoxique est un agent chimique ou un autre agent qui endommage l'ADN cellulaire, entraînant des mutations ou un cancer (Saks et al., 2017).

Il existe certains agents où l'action peut être directe et indirecte, on cite : les ROS et les radiations ionisantes (Robert, 2004). Comme Ils peuvent être endogènes (métabolisme oxydatif mitochondrial, et l'activation des cellules inflammatoires, exemple : les ROS (Erkekoglu et al., 2014), comme ils peuvent être exogènes (agents physiques ou chimiques ou biologiques) (Lucy et al., 2014).

I.2.1. Agents chimiques :

Ce sont des mutagènes électrophiles qui établissent une liaison covalente avec un site nucléophile d'une base d'ADN. Parmi les sites nucléophiles, les azotes aromatiques, les groupements hydroxyles et carbonyles de bases constitutives d'ADN qui constituent les cibles privilégiées des agents chimiques génotoxiques (Benhacine et Sahil, 2016), On distingue :

-Les analogues d'acide nucléique (Jean et al., 2000 ; Poštulka et al., 2017).

-Les agents intercalaires (Rogers et al., 1982).

- Les modificateurs de bases : tel que les agents alkylants (Benhacine et Sahil,2016) et les moutardes à l'azote (Lucy H et al., 2014).

I.2.2.Agents physiques :

Les agents physiques sont principalement les radiations ionisantes hautement énergétiques telles que les rayons X ou gamma et les radiations non ionisantes comme la lumière ultraviolette. Ces agents peuvent induire des mutations variables (Dégremont et Cachot, 2009).

I.2.3.Agents biologiques:

Les mutagènes biologiques sont des virus tels que les rétrovirus (sida), les Filoviridae (Virus d'Ebola). Leur génotoxicité peut aboutir à la cancérogenèse (Dégremont et Cachot, 2009).

I.3.Mécanismes génotoxiques :

La définition de la génotoxicité selon le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC, 1993) inclut à la fois des effets directs et indirectes sur l'ADN. La génotoxicité précède ainsi la mutagenicité mais la plupart des lésions génotoxiques sont réparées et ne sont jamais exprimées sous la forme de mutations. (Avery et al.,1944). (Figure 01).

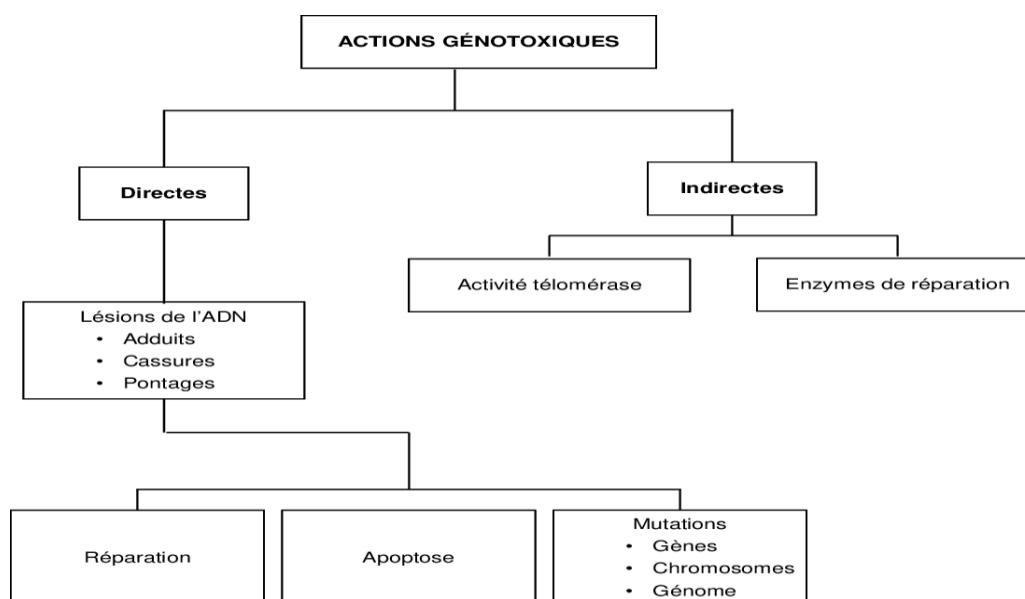


Figure 01 : Actions génotoxiques directes et indirectes. (Mateuca et al.,2006).

I.3.1. Actions génotoxiques directes :

L'ADN, découvert en 1871 par le biologiste suisse Friedrich Miescher, a pour principales fonctions de stocker et transmettre l'information génétique (Avery et al., 1944). L'ADN est une macromolécule biologique à laquelle sont attribuées des structures primaires, secondaire et tertiaire. Il apparaît que la séquence en nucléotides (structure primaire), la configuration et la situation des nucléotides au sein de la double hélice, ou de Transcription, sous forme de chromatine ou de chromosome : structure tertiaire) jouent un rôle considérable dans la survenue des lésions puis des mutations éventuelles. En effet, l'accessibilité des sites nucléophiles de l'ADN aux attaques électrophiles des agents génotoxiques et la mise en œuvre des systèmes de réparation de l'ADN varie considérablement (structure secondaire) et l'état sous lequel se trouve la molécule d'ADN (en cours de réplication) d'une situation à l'autre. L'ADN est soumis à de multiples attaques inévitables, de la part du milieu intracellulaire et de l'environnement provoquant la formation de plusieurs milliers de lésions par jour et par cellule (bases modifiées, sites abasiques, cassures simples ou double brins, pontage ADN-protéines...). L'exposition à des agents chimiques ou physiques est susceptible d'initier toute une cascade d'événements toxiques (Shugart et al., 1992) à commencer par les lésions primaires de l'ADN. L'ADN est chimiquement modifié : on observe soit des ruptures de liaisons covalentes qui, lorsqu'elles se situent sur le désoxyribose peuvent conduire à des cassures de brins, soit l'établissement de liaisons covalentes conduisant à des adduits, à des alkylations de bases, à des pontages ADN-ADN intra- ou inter-brin par exemple. La survie de la cellule est assurée dans la majorité des cas par l'action des mécanismes de réparation de l'ADN qui éliminent les lésions avant qu'elles ne soient engagées dans des processus comme la réplication ou la transcription. Ils assurent le maintien de la molécule d'ADN et en conséquence la stabilité de l'information génétique. Lorsque la réparation est absente ou incomplète, et selon la nature des lésions, la cellule va mourir ou bien muter.

On distingue les mutations concernant une à quelques paires de bases, qualifiées de mutations géniques, et les mutations chromosomiques ou génomiques concernant le plus souvent des dizaines de kilo bases, voire des bras de chromosomes entiers.

Comme décrit précédemment, des mutations dans la séquence des gènes qui gouvernent le cycle cellulaire peuvent conférer aux cellules la propriété de proliférer de manière incontrôlée et finalement aboutir au cancer.

I.3.2. Actions génotoxiques indirectes :

Les agents génotoxiques peuvent exercer leur action délétère par interaction directe avec l'ADN, mais également de manière indirecte (Mateuca et al., 2006). Les agents génotoxiques indirects induisent principalement des mutations chromosomiques de nombre en agissant, non pas avec l'ADN, mais avec les structures cellulaires impliquées dans la disjonction, la ségrégation et la migration de chromatides au cours de la division cellulaire.

Les agents génotoxiques indirects peuvent également exercer leur action délétère en se liant à des protéines impliquées dans le maintien de l'intégrité du génome telles que les tubulines, les enzymes de réparation de l'ADN, les protéines impliquées dans le contrôle du cycle cellulaire.

1.4.Lésions génotoxiques

1.4.1.Lésions primaires

Les lésions primaires à l'ADN représentent le premier stade consécutivement à l'action d'un agent génotoxique, ces lésions représentent un ensemble de cassures monocaténaire et double brin dans le squelette de l'ADN, des liaisons entre des bases d'ADN ou entre des bases d'ADN et des protéines, modifications de bases. Par exemple, les rayonnements ionisants tels que les rayons X, rayons gamma, produisent de l'ADN simple brin et double brin des pauses et une large gamme de dommages de base. Les produits chimiques peuvent produire des altérations de l'ADN soit directement (réactif avec l'ADN) en tant qu'adduits ou indirectement par intercalation d'un agent chimique entre les paires de bases (par exemple, 9-aminoacridine) (Gupta, 2016) (figure 2).

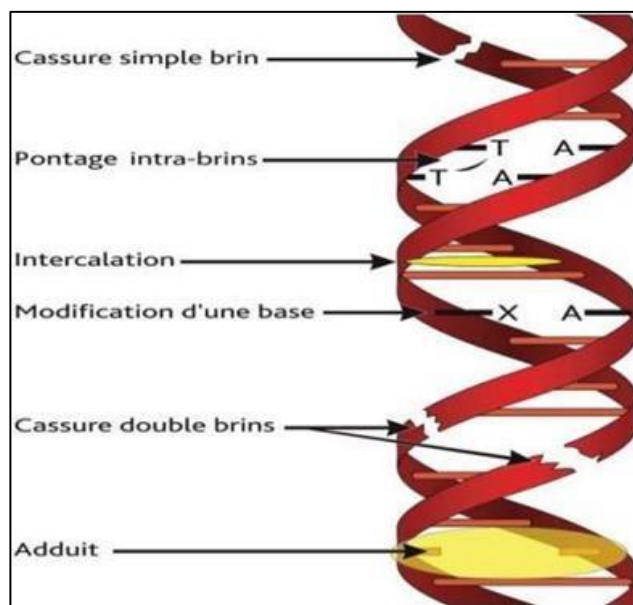


Figure 02 : Les différents types de lésions primaires de l'ADN (Dégremont et Cachot, 2009).

I.4.1.1. Les mutations :

Une mutation est une modification héréditaire qui apparaît dans les séquences de nucléotide d'un chromosome (Dajoz, 2012). La mutagenèse peut résulter des altérations du matériel génétique et notamment pour ce qui concerne les lésions de l'ADN, de défaillance, héréditaire surtout, acquise parfois, des systèmes cellulaires constitutifs de réparation qui peuvent alors être inefficaces ou réaliser une réparation fautive ce qui laisse en place une mutation germinale, génique ou chromosomique (Botta, 2013). C'est une altération de la séquence nucléotidique de l'ADN qui sert soit à l'arrêt de la synthèse d'une protéine, ou la modifier produisant ainsi une protéine inactive. La substitution est la mutation génique la plus fréquente, qui consiste à remplacer un nucléotide par un autre (Kahn et al., 2012).

L'addition d'une base unique (insertion) ou la perte d'une base (délétion) unique font aussi partie de ce type de mutations illustrées.

a. Les mutations géniques

Elles peuvent résulter de substitutions de paires de bases de transitions (substitution d'une base purique par une autre base purique ou substitution d'une base pyrimidine par une autre base pyrimidine), ou transversions (inversion entre une base purique et pyrimidine) et de décalage du sens de lecture (frameshift). Les substitutions de paires de bases donneront lieu à des mutations ponctuelles. En revanche, le décalage du cadre de lecture, qui est dû à l'insertion ou la délétion d'une ou plusieurs paires nucléotidiques, aura pour effet possible de modifier un gène ou un groupe de gènes, pouvant ensuite modifier l'expression et la régulation de nombreux autres gènes, mais surtout aboutir à des protéines plus ou moins tronquées, non fonctionnelles. Ces mutations sont provoquées par des agents génotoxiques suite à des erreurs de réplication ou de réparation des dommages engendrés (Graillot, 2012)

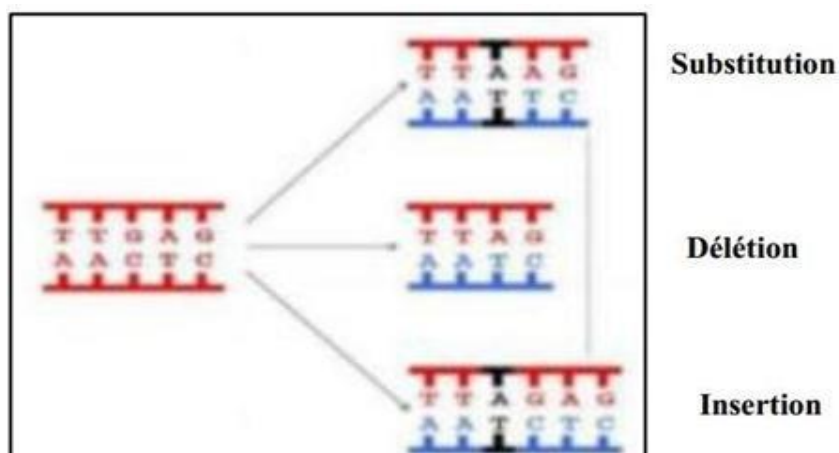


Figure 03: Différents types de mutations géniques (Hanna, 2015).

b. Mutations chromosomiques

Est un ensemble des évènements de réarrangements de génome au cours duquel un génome voit son organisation générale modifiée par les aberrations du nombre de chromosomes (aneuploïdie) et les aberrations de structure (délétion ou l'addition de fragments chromosomiques, ou par l'échange des fragments entre chromosomes non homologues et à la duplication ou à l'inversion d'un segment chromosomique) (Sobreira et al., 2011).

Ces dernières sont détaillées ci-dessous :

- **Addition :**

Correspond à une section d'un fragment d'un premier chromosome et son insertion dans un autre chromosome (Benhacine et Sahil, 2016) (figure 4).

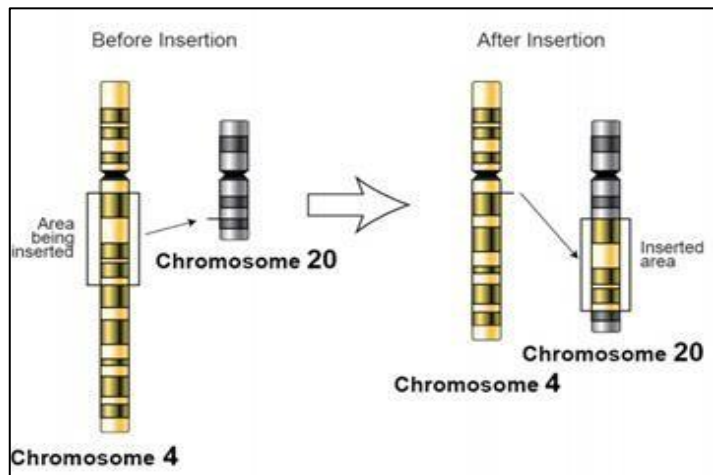
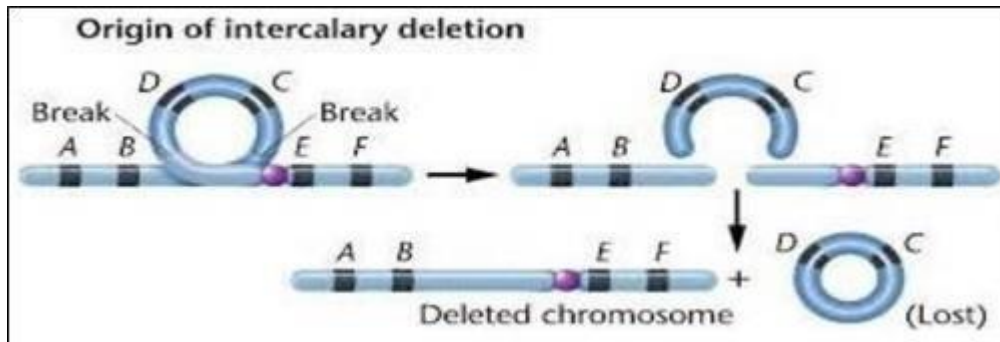


Figure04 : Insertion chromosomique (Iengar, 2012).

- **Délétion :**

Correspond à l'élimination d'un segment de chromosome, et qui peut survenir sur n'importe quel chromosome et au niveau de n'importe quelle portion du chromosome (Benhacine et



Sahil, 2016) (figure 5).

Figure 05 : Délétion chromosomique (Iengar, 2012)

- **Duplication :**

La duplication ou dédoublement d'un segment d'un chromosome et sa réinsertion dans le même chromosome (Nagarathna et al., 2013) (figure 6).

- **Inversion :**

Une inversion est une cassure d'un fragment de chromosome, sa rotation de 180° du fragment et son réintégration dans le même chromosome (Dutta et al., 2016) (figure 6).

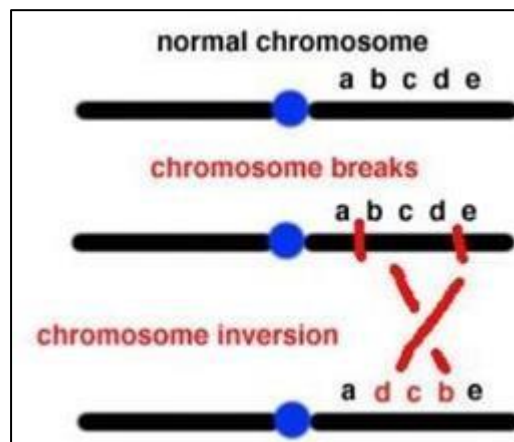


Figure 06 : Inversion chromosomique (Benhacine et Sahil, 2016)

I.5. Les tests de génotoxicité :

Un grand nombre de tests ont été développés pour essayer d'obtenir des résultats plus rapides et à moindre coût. Ils sont basés sur le pouvoir mutagène des produits initiateurs. L'effet observé consiste dans la recherche des lésions d'ADN (formation d'adduits, rupture des brins d'ADN, réparation enzymatique), des mutations et des lésions chromosomiques (aberration, échange, formation de micronoyaux).

Les différentes méthodes actuellement employées détectent :

- ✓ L'activité mutagène dans les milieux biologiques : test d'Ames.
- ✓ Les modifications cytogénétiques dans les cellules humaines :
- ✓ Les aberrations chromosomiques.
- ✓ La recherche de micronoyaux.
- ✓ Les échanges de chromatides-sœurs.
- ✓ Test des comètes.

La formation de liaisons sur l'ADN ou sur les protéines (adduits) où on distingue les adduits à l'ADN, les adduits aux protéines et les adduits à l'hémoglobine.

I.5.1. Le test d'Ames :

I.5.1.1. Historique et principe du test :

Le test de mutation inverse bactérienne a été développé au début des années 70 par Bruce Ames et son équipe, le test d'Ames consiste à examiner si une substance chimique ou un agent physique est capable d'induire des mutations spécifiques chez différentes souches de *Salmonella typhimurium* (Flamand et al., 2001). Les souches utilisées sont porteuses d'une mutation dans un des gènes gouvernant la synthèse de l'acide aminé histidine. Cette mutation His⁻ rend les souches incapables de pousser sur un milieu sans histidine. Avec une fréquence très faible, ces mutations His⁻ reversent spontanément vers His⁺ et donc les cellules retrouvent leur capacité à pousser sur un milieu dépourvu d'histidine (Fardel et al., 2009)

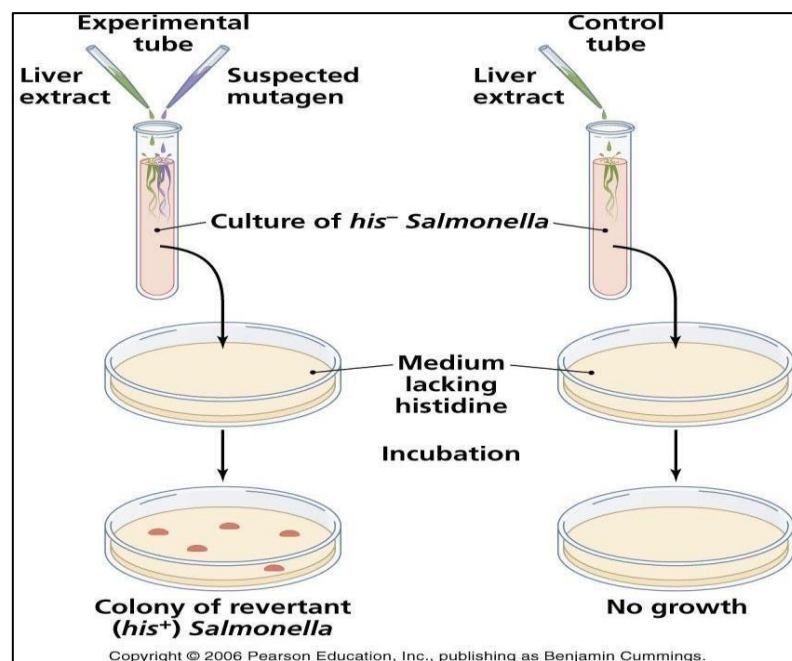


Figure 07: Principe d'application du test d'Ames (Science Policy, 2015)

I.5.1.2. Les avantages et les inconvénients du test d'Ames :

A/Avantage :

- Il est moins cher par rapport à d'autres tests
- Permet d'obtenir des résultats, la combinaison de fraction S9 au test d'Ames permet de déterminer les métabolites génotoxiques (Pillco et Eduardo, 2014).
- il est applicable à l'étude du pouvoir mutagène de produits chimiques ou de mélanges, mais aussi de fluides biologiques telles que les urines chez les sujets exposés (Fardel et al., 2009).

B/Inconvénients :

- un test bactérien, pouvant rendre en théorie critiquable l'extrapolation à des cellules humaines
- Son utilisation pour la biosurveillance des sujets exposés ne témoigne cependant pas d'une génotoxicité (pas d'effet précoce génotoxique) dans un délai très court. (Fardel et al., 2009).

I.5.2. Test des comètes :

I.5.2.1. Historique et principe du test :

Contenant l'ADN fragmenté ayant migré, constituant la queue de la comète (Michel, 2011). (Figure 08). L'idée originale de ce test revient à Rydberg et Johânsen en 1978, Ce furent les premiers à quantifier les dommages primaires à l'ADN, notamment les cassures de l'ADN, qui représentent un des dommages à forte probabilité d'apparition après exposition à des agents mutagènes sur les cellules de mammifères lysées et incluses dans l'agarose. Par Marquage à l'acridine orange (Lemière, 2014), les dommages double brin à l'ADN ont été mesurées à l'aide d'un photomètre en rapportant à la quantité d'ADN double brin (fluorescent en vert) à la quantité d'ADN simple brin (fluorescent en orange). C'est en 1984, que le premier test de comète impliquant une électrophorèse sur micro gel en condition neutre fut développé. Ce test est basé sur le principe de la charge négative portée par l'ADN qui, sous influence du courant de migration, se déplace vers l'anode. La présence de cassures permet à l'ADN de migrer et le noyau prend donc la forme d'une comète. On distingue une partie contenant de l'ADN non endommagé, appelée tête de la comète et une partie plus allongée (Moche, 2015). (figure 08).

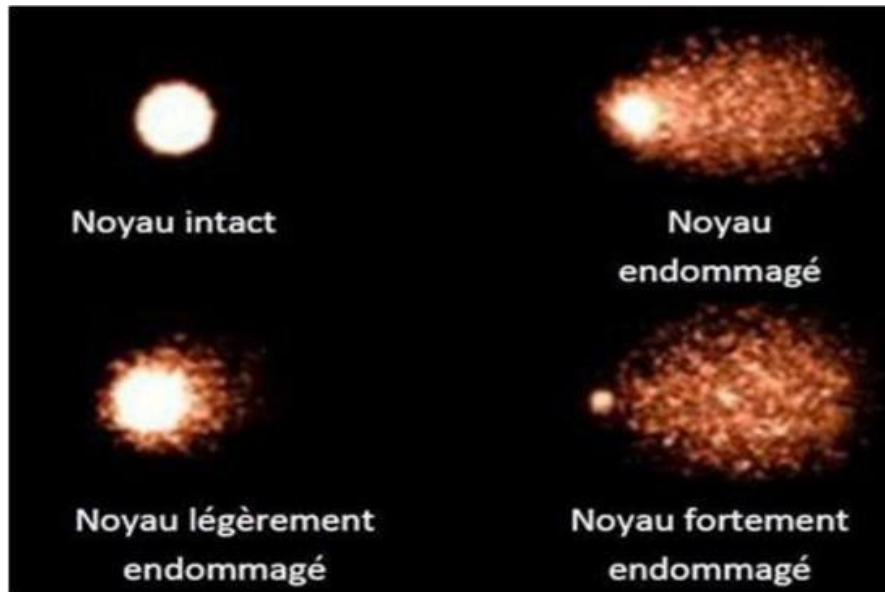


Figure 08 : Aspects des comètes en fonction de l'importance de la fragmentation de l'ADN (Moche, 2015)

A/Avantages et limites

-Le test de comète est simple, rapide et visuel, c'est une approche cellule par cellule. Il peut évaluer les dommages oxydatifs à l'ADN, et reste un test de faible coût et facile à manipuler qui peut être employé pour la surveillance des sujets exposés à un génotoxique, il est applicable à toutes les cellules nucléées et nécessite peu de cellules. Il permet la détection des cassures simple et double brin et des sites alcali labiles (Fardel et al., 2009 ; Michel et al., 2011; Bernard., 2013).

Cependant, il y a des limites, les informations recueillies sont sur des cellules isolées. C'est un outil qui ne recherche pas les aspects fondamentaux des dommages à l'ADN ni la réponse de la cellule à ces dommages et peut avoir des cassures supplémentaires induites par les rayons lumineux, donc ce test nécessite un travail en absence de lumière. La dissociation cellulaire provoquant d'éventuelles altérations supplémentaires de l'ADN et entraînant un biais de la mesure par une augmentation du taux de cassures à l'ADN. L'absence de standardisation du protocole et de l'expression du taux de cassures à l'ADN rendant difficile la comparaison des résultats entre les laboratoires. Il ne peut pas détecter les effets aneugènes qui peuvent être un mécanisme possible de la cancérogénicité (Michel,2011 ;Bernard, 2013; Lemièrè, 2014).

I.5.3.Tests cytogénétiques :

Il s'agit de tests basés sur l'étude des dommages chromosomiques et/ou chromatiniens

entraînées par l'exposition aux génotoxiques (Muranli et al., 2015). Parmi les tests cytogénétiques les plus répandus dans le domaine pharmaceutique sont les tests d'aberration chromosomique et micronoyau.

I.5.3.1. Test d'aberration chromosomique :

Les aberrations chromosomiques sont caractérisées par le changement soit dans le nombre total de chromosomes (Khanna et Sharma, 2013), (aneuploïdie qui peut correspondre à une augmentation du nombre de chromosomes appelée hyperploïdie ou au contraire à une diminution du nombre de chromosomes appelée hypoploïdie) (Fardel et al., 2009) ou de la structure chromosomique (délétion, translocation, inversion) qui se produisent en raison de l'exposition au traitement chimique (Khanna et Sharma, 2013). Les cellules analysées peuvent notamment être des lymphocytes isolés de sujets humains ou d'animaux (exposés *in vivo* à des substances chimiques ou préparations) ou des cellules de lignée ou des lymphocytes exposés *in vitro* aux génotoxiques (Fardel et al., 2009).

I.5.3.1.1. Avantages et limites :

A/Avantage :

Ce test indique des dommages stables, et représente un biomarqueur d'effet précoce (Eslava, 2004). Il est applicable à l'évaluation d'une exposition cumulée, avec une approche cellule par cellule. Permettant ainsi la détection de tout type d'atteinte chromosomique (Fardel et al., 2009).

B/Limite

Il requiert une culture cellulaire et l'étude du personnel exposé avec obligatoirement l'analyse de comparaison du groupe de sujets exposés à un groupe de sujets témoins non exposés exigeant un prélèvement cellulaire (Fardel et al., 2009).

I.5.3.2. Test de micronoyau :

I.5.3.2.1. Historique et principe :

Le micronoyau a été reconnu à la fin du 19^{ème} siècle lorsque Howell et Jolly ont trouvé de petites inclusions dans le sang prélevé sur des chats et des rats. Les petites inclusions, appelées corps de Howell-Jolly, sont également observées dans les érythrocytes du sang périphérique de patients atteints d'anémie sévère. C'est la première description du micronoyau lui-même. Jusqu'au milieu des années 1970, Des modifications ont été

introduites par Fenech et Moley en utilisant la cytochalasine B et maintenant la méthode est largement utilisée pour la surveillance humaine (Hayashiet al., 2016).

Les micronoyaux, sont des structures de chromatine rondes et membranaires formés Pendant la division cellulaire en anaphase lorsqu'un fragment de chromosome acentrique ou un chromosome entier n'est pas incorporé dans l'un des noyaux des cellules filles. Ils sont faciles à identifier dans les érythrocytes de mammifères en raison de l'absence du noyau principal (Helen Cunny et Ernest Hodgson, 2004). Ces tests ont donc pour objet de détecter et quantifier ces micronoyaux, dans des cellules traitées *in vitro* par l'agent génotoxique ou provenant d'une exposition *in vivo* (Mateuca et al., 2006).

Ce test peut détecter les agents génotoxiques qui peuvent provoquer « aneuploïdie » par l'utilisation d'une technique d'hybridation *in-situ*, il s'agit de la technique « fish ». Utilisant des sondes marquées à l'aide d'un marqueur fluorescent « centromères ». Où la présence d'un centromère dans le micronoyau permet d'identifier l'effet aneugène de génotoxique (Laura et al., 2016).

Ce test des micronoyaux peut notamment être appliqué aux lymphocytes T en culture utilisés comme cellules-modèles : il consiste alors à dénombrer les micronoyaux présents dans les lymphocytes T binucléés obtenus par blocage de la division cytoplasmique par de la cytochalasine -B après une division nucléaire complète (figure 9) (Fardel et al., 2009).

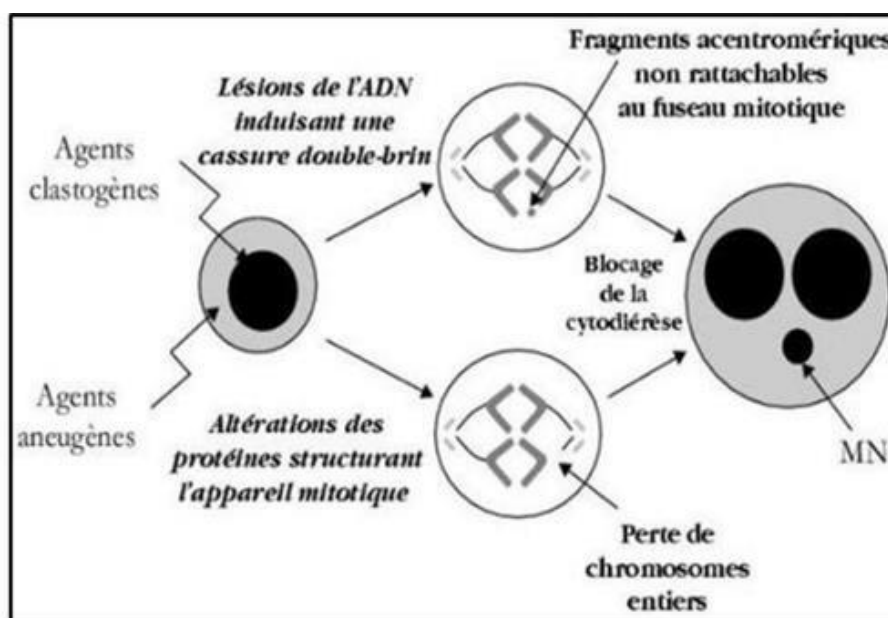


Figure 09 : Schématisation de la formation des micronoyaux (Darolles, 2010).

I.5.3.2.2. Avantages et inconvénients

A/Avantages :

Ce test indique des dommages stables et représente aussi un biomarqueur d'effet précoce. Il est utile pour évaluer une exposition récente. Et il est applicable à toutes les cellules-cibles. Il étudie la qualité du matériel génétique contenu dans le micronoyau (présence ou non d'un centromère) et peut être pratiqué directement sans culture cellulaire, il est facile à manipuler (Fardel et al., 2009 ; Eslava, 2004).

B/Limites :

Le test des micronoyaux ne détecte souvent pas tous problèmes de cytodierèse. Il requiert nécessairement un prélèvement cellulaire et présente de ce fait un certain caractère invasif (Fardel et al., 2009).

Chapitre II: **Généralité sur** **le cancer**

II.1. Introduction

Le cancer n'est pas une maladie nouvelle. En fait, elle est aussi ancienne que l'humanité. En effet, des traces de cancer ont été trouvées dans des momies égyptiennes. Toutefois, ce n'est que depuis une cinquantaine d'années que le cancer est devenu une des principales causes de décès.

Avant les années 1900, la médecine n'était pas toujours efficace. Aussi, les gens mouraient de toutes sortes de maladies qu'on peut guérir facilement de nos jours. On n'a qu'à penser à certaines épidémies qui ont tué des millions de gens dans l'histoire (la peste, la varéole, le typhus, le choléra, la grippe espagnole et la tuberculose). Toutes ces maladies tuaient tellement de gens que le cancer était une maladie rare et peu fréquente.

Au début des années 1900, il n'y avait qu'une personne sur vingt qui mourait du cancer. C'est à cette époque que la médecine a fait trois grandes découvertes qui ont permis aux populations de vivre beaucoup plus : l'amélioration de l'hygiène, la vaccination, et les antibiotiques (Marcotte et Ouimet, 2008). Malgré toutes les méthodes et les techniques mises en œuvres pour combattre le cancer, ce dernier reste la maladie la plus meurtrière (13% de décès en 2008 environ 7.6 millions et va dépasser 13.1 millions en 2030 d'après l'OMS).

II.2. Qu'est ce que le cancer ?

Multiplication incontrôlée et dissémination dans le corps de formes anormales de cellules du patient lui-même; une perte de contrôle de la prolifération, dédifférenciation et perte de fonction, capacités invasives et métastases.

Le Cancer est une maladie génétique et auto-adaptative (mutations, amplification, translocation, ...). Suite à l'action de carcinogènes (chimiques ou viraux). C'est l'activation de proto-oncogènes en oncogènes , généralement régulant la prolifération cellulaire exemple: ras

- inactivation de gènes suppresseurs de tumeur ou de « stabilité génomique », généralement régulant l'apoptose (p53) .Conférant aux cellules transformées des avantages en termes de prolifération et de survie.

Le Cancer est une maladie génétique auto-adaptative. Angiogenèse (formation de nouveaux vaisseaux sanguins). Adaptation métabolique (Switch glycolytique ou effet Warburg) Permet de s'adapter à l'hypoxie/ischémie respectivement : en favorisant un apport nouveau en

nutriments et oxygène. En dépendant moins de la respiration mitochondriale.

(Page et al., 1997).

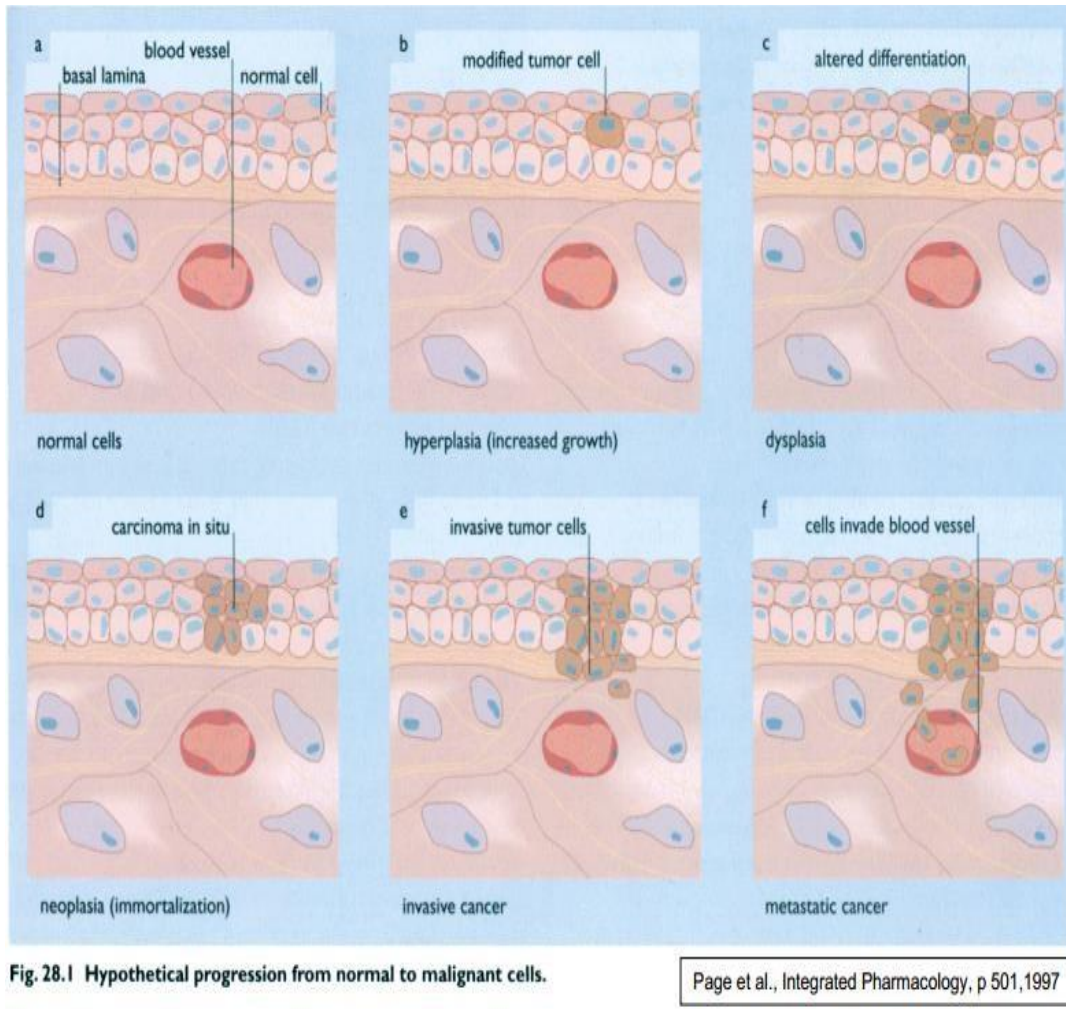


Figure 10 : Progression de la cellule normale en cellules cancéreuse (Page et al., 1997)

II.3.Caractères généraux des cellules cancéreuses

Les cellules cancéreuses se caractérisent toutes par une résistance accrue à la mort cellulaire, une insensibilité envers les signaux antiprolifératifs, un échappement de la destruction par le système immunitaire, ainsi qu'une prolifération illimitée et chaotique indépendante des signaux de prolifération. Elles sont capables de créer de nouveaux vaisseaux sanguins et induire l'angiogenèse et migrer pour toucher d'autres organes et former des métastases. Ceci est dû principalement à l'instabilité génomique menant entre autres à une dérégulation des métabolismes énergétiques (Hanahan et al., 2011), (Figure 10).

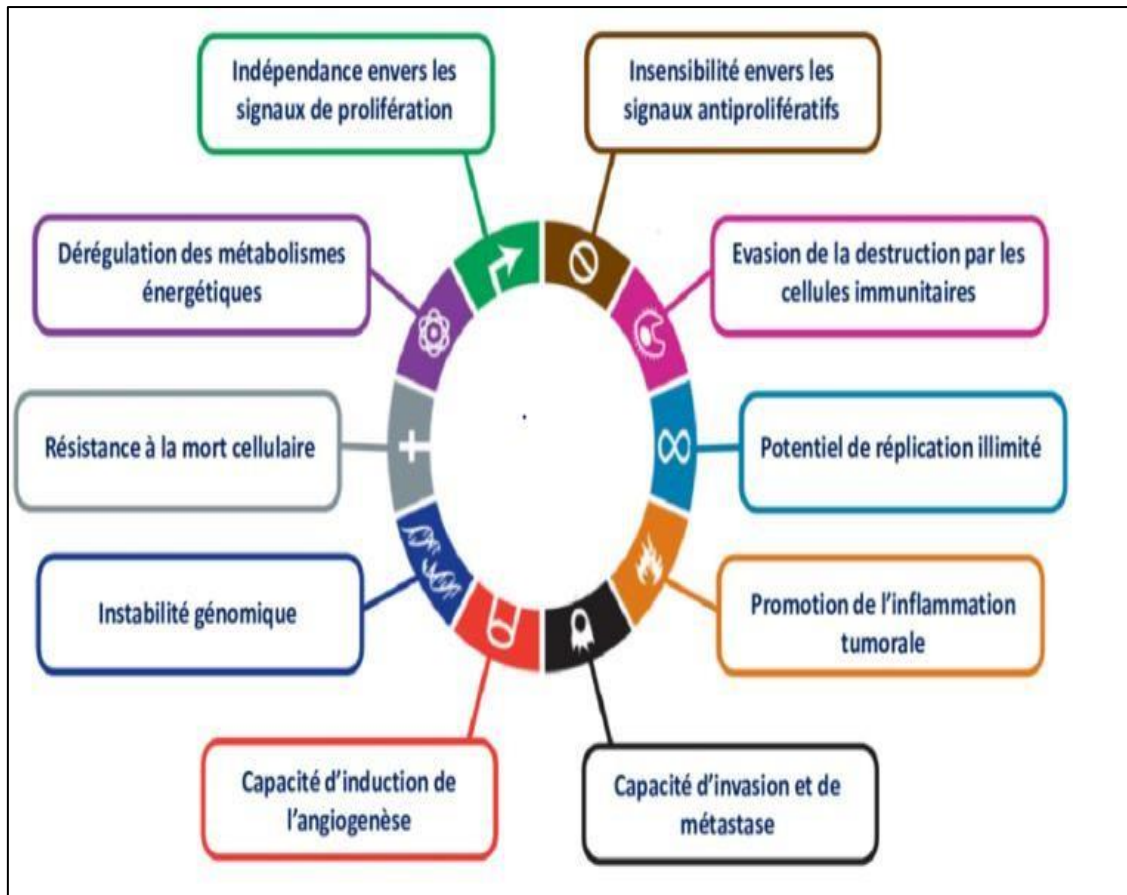


Figure 11 : Les caractéristiques des cellules cancéreuses (Hanahan et al. ,2011).

II.4. Les causes du cancer :

Les causes des cancers sont multiples et ne sont pas toutes encore vérifiées. Néanmoins, on peut affirmer que certaines personnes peuvent présenter des prédispositions au cancer. En effet, il existe plusieurs facteurs de risque qui peuvent être classés en risques endogènes et risques exogènes : Le tabac : 20% des cas de cancers. L'alimentation, le surpoids et l'obésité : 10.8% des cas. L'alcool : 8% des cas. Les infections virales et bactériennes : 4% des cas. Les expositions professionnelles : 3.6% des cas. L'exposition aux UV : 3.1%. Les radiations ionisantes : 1.9% des cas. Une activité physique insuffisante : 0.9% des cas. Certaines hormones : 0.8% des cas. Le manque d'allaitement : 0.5%. La pollution de l'air extérieur : 0.4%. L'arsenic et le benzène : 0.1%.

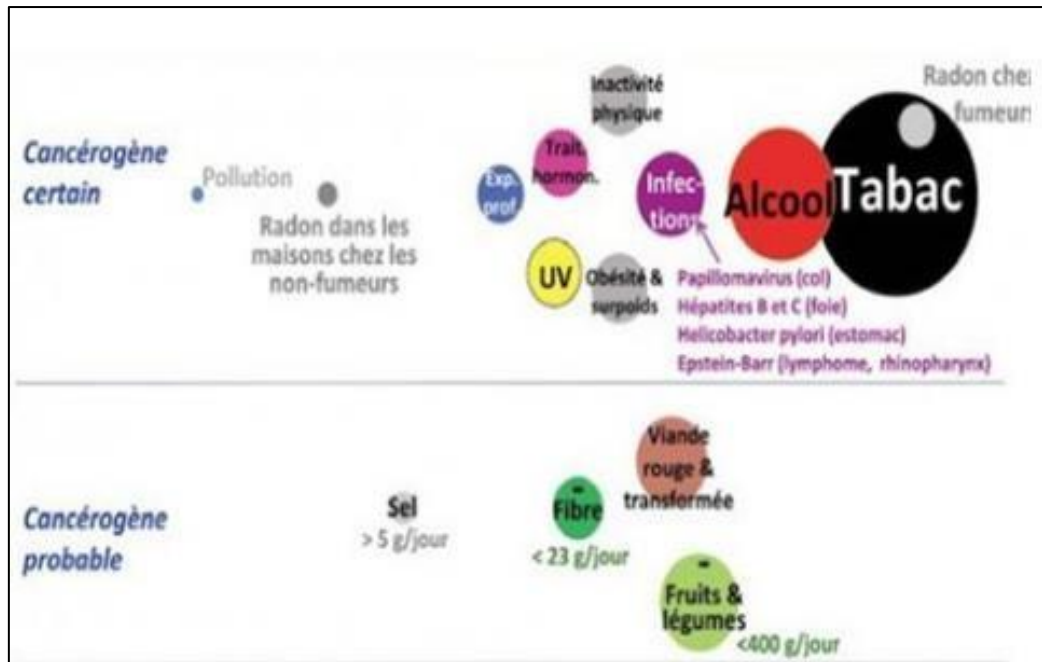


Figure 12: Causes du cancer (France, 2015).

II.5. Facteurs activateurs de la cancérogenèse :

Les facteurs carcinogènes qui augmentent le risque de cancer sont multiples :

- Les carcinogènes chimiques, comme les produits chimiques environnementaux (Figure 12) (Jeffrey et al., 2018), l'amiante et le Cadmium (Sultandyo, 2010).
- Les carcinogènes physiques, comme les rayonnements UV solaires ou artificiels, les radiations ionisantes, les rayons X, la radioactivité (Royal et al., 2008 ; Yakymenko et al., 2010).
- Les carcinogènes biologiques, comme les parasites (*Schistosoma haematobium*) (Khurana et al., 2005) ; et les virus tels que le VHB, le VHC, le virus du papillome humain (VPH) (Tsai et al., 1997), et le virus d'Epstein-Barr (EBV) (Zur Hausen, 2006).

II.6.Types de cancer

Le cancer peut être nommé en fonction de la partie du corps où il a pris naissance, comme le cancer du sein, du poumon ou de la prostate. Il existe aussi plusieurs types de cancers, qui sont déterminés en fonction de l'histologie, autrement dit la nature du tissu dans lequel ils se développent. On distingue :

II.6.1.Les carcinomes

Ce sont les types de cancers les plus fréquents. Ils peuvent prendre naissance dans la peau ou les tissus qui tapissent ou couvrent les organes internes, comme les intestins, le col de l'utérus, les poumons, les reins, les seins, les ovaires ou la prostate (Bouchard, 2005).

II.6.2.Les leucémies

Ce sont des cancers qui prennent naissance dans le tissu hématopoïétique comme la moelle osseuse (Vaubourdalle, 2007).

II.6.3.Les lymphomes et les myélomes multiples

Ce sont des cancers qui prennent naissance dans les cellules du système immunitaire. Les lymphomes sont des cancers du système lymphatique (la rate, les ganglions lymphatiques et les vaisseaux lymphatiques). Le myélome multiple est un cancer des cellules plasmatiques (Bouchard, 2005).

II.6.4.Les sarcomes

Ce sont des cancers qui prennent naissance dans les muscles, la graisse, les vaisseaux sanguins, les os, le cartilage et d'autres tissus conjonctifs ou de soutien (Janssen, 2012).

II.7.Les traitements des cancers :

Le but du traitement d'un cancer est d'obtenir la guérison.si la guérison n'est pas possible, le traitement cherche à arrêter l'évolution le plus longtemps possible et de permettre au malade de mener une vie aussi proche de la normale que possible atténuant les symptômes de la maladie.

II.7.1.La chirurgie :ablation chirurgicale de la tumeur et, éventuellement, de ses (Extensions Les cancers sont fréquemment traitées par la chirurgie. Elle impose souvent d'enlever non seulement la tumeur ou l'organe atteint, mais aussi une marge de tissus sains autour

de la tumeur ainsi que les ganglions voisins. Cette exérèse* large, destinée à ne laisser localement aucune cellule cancéreuse, est la condition essentielle de la guérison.

II.7.2.La radiothérapie:

Les « diverses sources et modalités de rayonnement traitement par rayons » représentent un moyen classique du traitement local et régional des cancers.

Actuellement, plus de la moitié des malades bénéficie d'un traitement par irradiation*, isolée Ou méthodes de traitement. Ce choix dépend de la localisation et du stade de l'associée à d'autres lésions ainsi que de l'état général du malade. méthodes de traitement. Ce choix dépend de la localisation et du stade de l'associée à d'autres lésions ainsi que de l'état général du malade.

II.7.3.Les traitements médicaux :

Chimiothérapie, hormonothérapie, traitements ciblés, Ont efficaces en tant que traitement local ou loco La chirurgie et l'irradiation. Immunothérapie régional. Chimiothérapie l'hormonothérapie et les traitements ciblés permettent de s'attaquer aux Cellules disséminées dans l'organisme. Ces traitements sont indispensables pour agir les tumeursinséminées dans l'organisme, et utiles pour réduire le risque de rechute après in d'emblée Traitement locorégional.

II.8.Classification des médicaments anticancéreux :

A/Classification selon le mécanisme d'action

La classification la plus courante des molécules anticancéreuses se fait selon leur mécanisme d'action (CNHIM 2004). On distingue deux grands types d'anticancéreux selon la phase du cycle cellulaire à laquelle ils interviennent :

- Les anticancéreux indépendants des phases du cycle cellulaire dont l'action n'est pas dépendante d'une phase du cycle cellulaire mais apparaît lors de la phase de repos.
- Les anticancéreux dépendants d'une phase du cycle cellulaire (phase S ou phase M) qui ne peuvent, du fait de leur mode d'action, n'intervenir qu'à une phase précise du cycle.

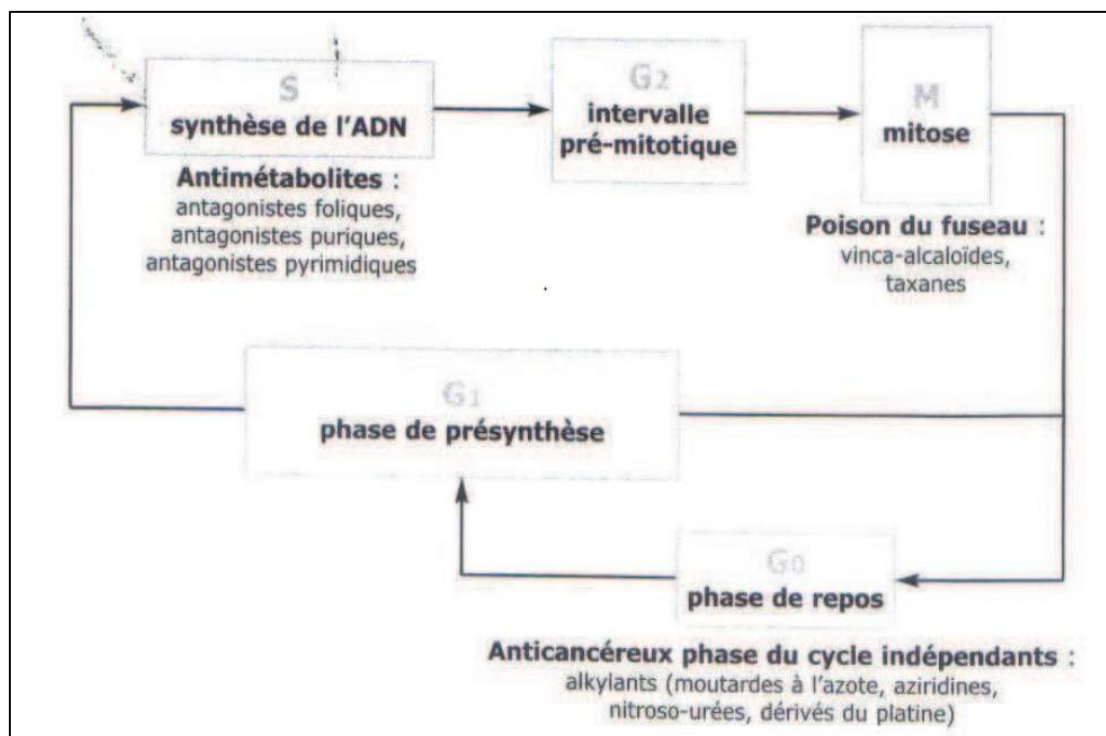


Figure 13 : Cycle cellulaire et anticancéreux. (CNHIM, 2004).

B/Les médicaments formant des adduits covalents avec l'ADN (alkylants)

Ces médicaments sont responsables de l'ajout d'un adduit (groupement alkyle) sur des sites nucléophiles de l'ADN (bases puriques et pyrimidiques) et des protéines, induisant ainsi la mort cellulaire. Selon le nombre de bases impliquées dans l'adduit, les alkylants peuvent être monofonctionnels (une seule base touchée) ou bi-fonctionnels (deux bases touchées), ils peuvent être également intra-brin (les deux bases touchées sont situées sur le même brin) ou inter-brin (les deux brins sont touchés). Il peut également y avoir formation d'un adduit

protéine-ADN. L'ADN alkylé ne peut plus être répliqué ni transcrit d'où la mort cellulaire. Cette famille regroupe les moutardes à l'azote, les aziridines, les nitroso-urées, les dérivés du platine, et d'autres alkylants.

C/Les médicaments induisant ou stabilisant des coupures de l'ADN

L'induction ou la stabilisation d'une coupure de l'ADN est considérée par la cellule comme un événement létal car la structure spatiale de l'ADN est modifiée et la réplication de l'ADN est alors impossible d'où une perturbation de la multiplication des cellules. Parmi cette famille, on distingue les inhibiteurs de l'ADN topoisomérase de type I et les inhibiteurs de l'ADN topoisomérase de type II, ces derniers étant représentés par les anthracyclines, les épipodophylotoxines et d'autres inhibiteurs de l'ADN topo isomérase de type II.

D/Les antimétabolites :

Les médicaments inhibant la synthèse de l'ADN. Certains antimétabolites sont des analogues structuraux de composés essentiels à la synthèse des acides nucléiques telles les bases puriques et pyrimidiques (auxquelles ils se substituent inhibant ainsi la synthèse de l'ADN) Les autres sont des molécules qui interfèrent avec des enzymes indispensables à la synthèse de l'ADN. Se distinguent notamment les antagonistes foliques, les antagonistes puriques, les antagonistes pyrimidiques.

D/Les médicaments interagissant avec la tubuline (poisons du fuseau)

En empêchant la polymérisation ou la dépolymérisation des microtubules, les poisons du fuseau inhibent la mitose (ils sont phase M dépendants). Cette famille est composée des inhibiteurs de la polymérisation de la tubuline ou vinca alcaloïdes et des inhibiteurs de la dépolymérisation de la tubuline ou taxanes.

E/Les inhibiteurs de la tyrosine kinase

Molécules qui inhibent les récepteurs membranaires à activité tyrosine kinase, ayant un rôle sur la croissance, la différenciation et le métabolisme cellulaire, qui sont maintenus en activité dans les cellules cancéreuses quel que soit l'état de maturité cellulaire, cette dérégulation étant à l'origine de la cancérisation.

F/Les cytokines

Les cytokines sont des glycoprotéines intervenant dans les défenses de l'organisme, elles sont également impliquées dans le développement et la régulation du système immunitaire. Ce sont également des substances employées pour stimuler la formation des cellules sanguines dans la moelle osseuse. Ces glycoprotéines agissent spécifiquement par l'intermédiaire de récepteurs disposés à la surface des cellules.

G/Les médicaments de l'hormonothérapie

Ceux-ci agissent par blocage des récepteurs hormonaux (s'ils sont présents, c'est-à-dire dans les cancers hormono-sensibles comme certains cancers du sein et de la prostate). Ces médicaments peuvent être des anti-oestrogènes, des analogues de la LH-RH, des analogues de la somatostatine, des progestatifs, des inhibiteurs de l'aromatase, des estrogènes ou des antagonistes des glucocorticoïdes.

H/Les anticorps monoclonaux

Ces médicaments sont dirigés contre des cibles antigéniques portées sélectivement par les cellules tumorales.

I/Les autres cytotoxiques

Il existe d'autres cytotoxiques comme la L-asparaginase qui inhibe la synthèse protéique en provoquant une carence en asparagine, la mitoguazone de mécanisme inconnu, la trétinoïne induisant la différenciation de certaines cellules tumorales en cellules matures.

II.9.La classification des anticancéreux selon CIRC :

La classification (Anatomique, Thérapeutique et Chimique) établie par l'OMS permet de classer les différentes molécules pharmaceutiques selon l'organe sur lequel ils agissent et/ou leurs caractéristiques thérapeutiques et chimiques. A chaque médicament correspond un code ATC de forme $XYXXYY$ (X étant des lettres et Y des chiffres).

Les médicaments sont ainsi classés en 5 niveaux :

- Le premier niveau, L pour les antinéoplasiques et immuno modulateurs.
- Le deuxième niveau, L01 pour les agents antinéoplasiques, L02 pour la thérapie endocrine, L03 pour les immunostimulants et L04 pour les agents immuno supprimeurs.

- Le troisième niveau, par exemple L01A pour les agents alkylants.
- Le quatrième niveau, par exemple L01AA pour les moutardes à l'azote.
- Et enfin le cinquième niveau, par exemple L01AA01 pour le cyclophosphamide.

II.9.1. La classification du CIRC :

Le CIRC qui est une agence de recherche sur le cancer de l'OMS basée à Lyon a établi un classement de différents agents selon leur degré de cancérogénicité. Il a ainsi défini quatre groupes selon le degré de cancérogénicité des agents considérés :

- **Groupe 1** : agent cancérogène (cancérogène certain ou avéré).
- **Groupe 2A** : agent probablement cancérogène.
- **Groupe 2B** : agent peut-être cancérogène (cancérogène possible).
- **Groupe 3** : agent inclassable quant à sa cancérogénicité.
- **Groupe 4** : agent probablement pas cancérogène.

Parmi les médicaments anticancéreux évalués par le CIRC, huit (azathioprine, chlorambucile, cyclophosphamide, étoposide en combinaison avec cisplatine et bléomycine, melphalan, sémostine, tamoxifène et thiotépa) ont été classés dans le groupe 1 ; huit (adriamycine, lomustine, carmustine, cisplatine, chlorozotocine, étoposide, procarbazine, téniposide) dans le groupe 2A et neuf (amsacrine, bléomycine, dacarbazine, daunomycine, méthylthio-uracile, melphalan, mitomycine C, mitoxantrone et thio-uracile) dans le groupe 2B.

II.10. La Doxorubicine

II.10.1. Généralité sur la doxorubicine

Les principaux traitements du cancer existants aujourd'hui sont la chirurgie, la radiothérapie, l'hormonothérapie, l'immunothérapie, les thérapies ciblées ainsi que la chimiothérapie, ils sont utilisés seuls ou associés entre eux.

La chimiothérapie comprend l'utilisation d'agents chimiques pour arrêter la croissance et éliminer les cellules cancéreuses, même à des emplacements éloignés de l'origine de la tumeur primaire. Parmi les agents chimio-thérapeutiques les plus utilisés en milieu clinique pour le traitement de formes variées de cancers, figurent les anthracyclines. Cette famille d'agents antitumoraux

regroupe de nombreuses molécules analogues. Parmi les anthracyclines les plus prescrits, jusqu'à ce jour, on retrouve la doxorubicine (DOX) (Chang et al., 2011 ; Shivani et al., 2014 ; Mauro et al., 2017).

II.10.2. Définition de la Doxorubicine ou Adriamycine (ADR) :

La doxorubicine est un médicament anticancéreux de la famille des anthracyclines. Produite tout naturellement par des actinobactéries de genre *Streptomyces*, elle a été isolée pour la première fois en 1960 et approuvée par la Food and Drug Administration (FDA) en 1974 (Hande, 1998; Minotti et al., 2004). Depuis, c'est le meilleur antinéoplasique connu et le plus utilisé, entre autres dans le traitement de cancers tels que les leucémies et les tumeurs solides (Mizutani et al., 2005). Son administration se fait par voie intraveineuse afin d'atteindre rapidement la tumeur sans être trop dégradée (Hande, 1998). Les demi-vies de la doxorubicine sont : de 8 à 25 minutes, de 1h30 à 10h et de 24h à 48h. La présence de la deuxième phase de demi-vie serait due au métabolisme du médicament au niveau du foie, en doxorubicinol, et la troisième phase serait attribuable au relâchement du médicament des sites de liaison dans les tissus (Tannock et Hill, 1998). La doxorubicine ainsi que ses métabolites seraient excrétés majoritairement par la bile. Cependant, 5% serait excrété par les voies urinaires ce qui expliquerait la coloration rouge de l'urine, soit la couleur de ce médicament, quelques jours après le traitement (Tannock et Hill, 1998).

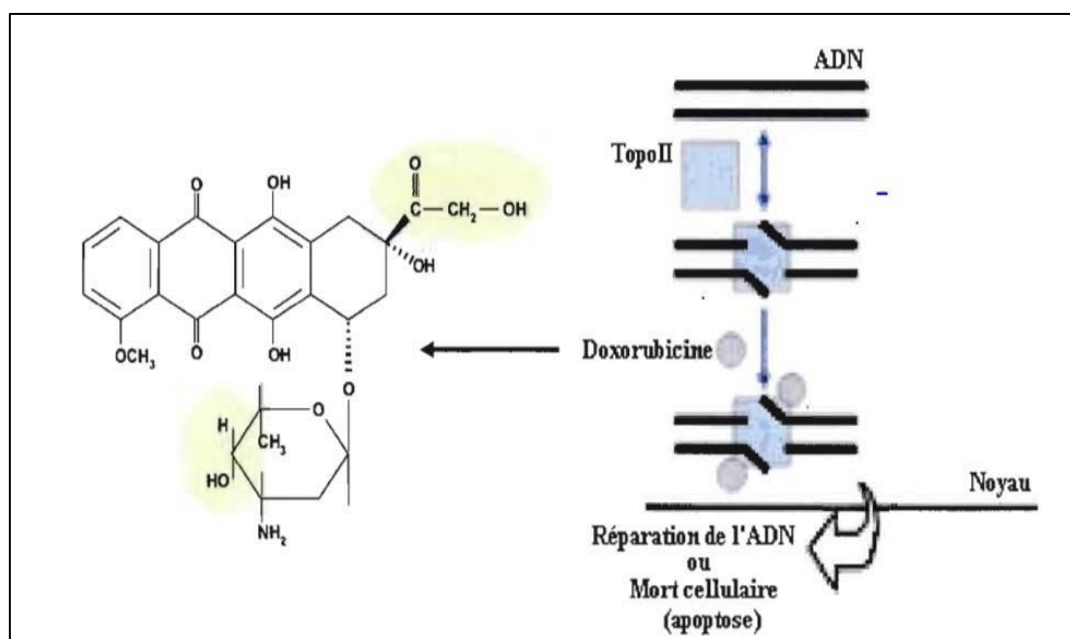


Figure 14: Mécanisme de toxicité cellulaire et structure moléculaire de la doxorubicine. (Hande, 1998 ; Tsuruo et al., 2003).

La stabilisation et l'inhibition de l'activité de l'enzyme topoisomérase II par la doxorubicine mène à l'arrêt du cycle cellulaire qui permet l'activation de la réparation de l'ADN ou la mort cellulaire par apoptose, si les dommages à l'ADN sont irréparables (Hande, 1998 ; Tsuruo et al., 2003). La doxorubicine agirait sur les cellules selon plusieurs modes d'action. Tout d'abord, Près de 99.8% de son accumulation se ferait au niveau du noyau chez des cellules sensibles à Cause de sa très grande affinité avec l'ADN (Cutts et Phillips, 1995). Sa structure plane (Figure 7), lui permettrait de s'insérer entre deux paires de bases azotées au niveau de la uanine du côté S' (S'-GCN) modifiant ainsi la structure de l'ADN (Cutts et Phillips, 1995 ; Hande, 1998 ; Iarussi et al., 2001). Cette modification inhiberait l'action de la topoisomérase II, qui est un enzyme nucléaire chargée de modifier l'ADN lors de la transcription, la réplication et la mitose (Potter et Rabinovitch, 2005). La stabilisation de l'enzyme par l'intercalation de la doxorubicine causerait l'arrêt du cycle cellulaire par activation de « check points », responsable d'activer la réparation de l'ADN ou si les dommages sont trop importants, d'activer la mort de la cellule par apoptose (Koivusalo et al. 2005; Potter et Rabinovitch, 2005). Finalement, les composés de dégradation de la doxorubicine entraîneraient la formation de radicaux libres tels que l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), et le radical hydroxyl ($\cdot OH$) (figure 07) (Singal et al., 1997). Ces radicaux libres endommageraient l'ADN, les protéines et les constituants des membranes cellulaires (Iarussi et al. 2001).

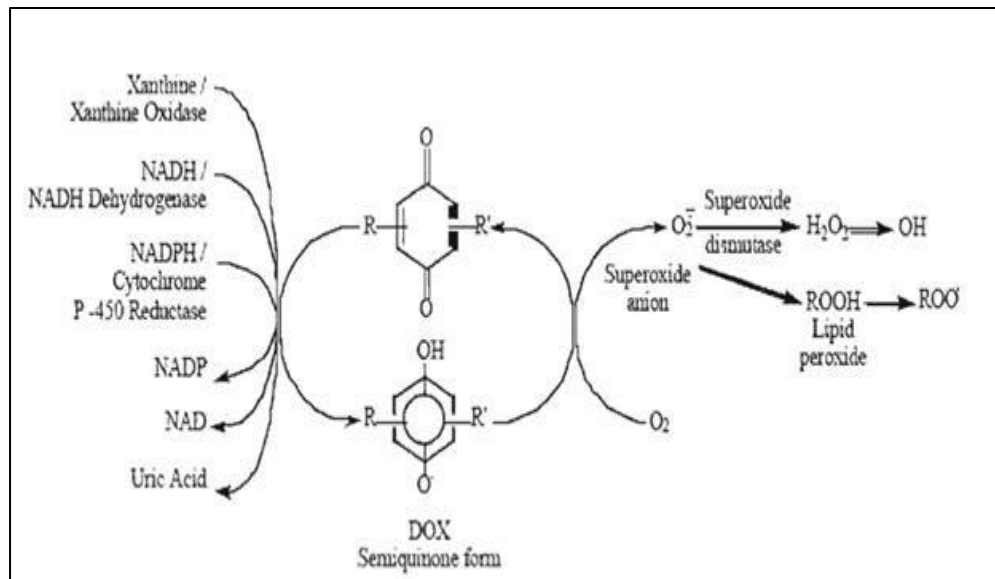


Figure 15: Schéma des différentes voies enzymatiques menant à la formation des radicaux libres à partir de la doxorubicine.(Iarussi et al., 2001).

La forme quinone est la forme initiale de la doxorubicine et peut être réduite en forme semiquinone par le gain d'un électron. Cette réduction peut être générée par des enzymes réductases telles que la xanthine oxydase, la NADH déhydrogénase et la NADPH cytochrome P-450 réductase. L'électron perdu par la semiquinone de la doxorubicine lors de son oxydation peut être transféré à une molécule d'oxygène (O_2) pour former l'anion superoxyde (O_2^-) qui sera également oxydé par la superoxyde dismutase pour former du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). A ce stade, le H_2O_2 peut entraîner la formation de radicaux hydroxylé ($^{\bullet}OH$), un des radicaux libres les plus réactifs et destructifs, mais peut aussi être éliminé par la catalase et la glutathion peroxydase (Iarussi et al., 2001).

II.10.3. Propriétés physico-chimiques de la doxorubicine

La doxorubicine est le sel d'acide chlorhydrique d'un aminoside. Elle contient deux noyaux adjacents, de quinone et d'hydroquinone, qui leur permet de fonctionner comme accepteur et donneur d'électrons. Ils sont responsables aussi de sa couleur rouge intense, de sa fluorescence et de sa capacité à chélater les ions métalliques. Il est presque inodore et dont le point de fusion est de 205 °C. La doxorubicine est soluble dans l'eau et les alcools dilués (Minotti G. et al, 2004).

II.10.4. Mécanisme d'action de la doxorubicine

La doxorubicine est un antibiotique cytotoxique anthracyclique. Elle exerce ses effets anticancéreux et toxiques selon plusieurs mécanismes dont l'intercalation à l'ADN, l'inhibition de la topoisomérase II, l'inhibition de la synthèse d'ADN, la formation de radicaux libres et l'interaction avec les membranes plasmiques (Mazavet, 2016).

II.10.4.1. Interaction dans la molécule d'ADN

Les anthracyclines se lient de façon covalente aux doubles-brins de l'ADN pour former un complexe (ADN-anthracycline). Ces liaisons se font principalement sur les résidus guanine de l'ADN et sont réversibles. Leur structure multicyclique plane leur permet de former des adduits ou ponts (crosslink) en s'interposant entre deux paires de bases adjacentes dans la double hélice et d'y contracter des liaisons hydrophobes et électrostatiques. En s'intercalant dans l'ADN, les anthracyclines inhibent la réplication, la transcription et donc la synthèse protéique (Szulawska et Czyz, 2006).

II.10.4.2. Inhibition de l'enzyme topo-isomérase II

La doxorubicine se relie avec le topo-isomérase II par des liaisons covalentes stables (irréversibles) formant ainsi le complexe topo-isomérase II -ADN-DOXO qui inhibe l'enzyme topo-isomérase II ce qui entraîne des ruptures de brins d'ADN et induit l'apoptose inhibition de la synthèse d'ADN. (Andrieu et al., 1999).

II.10.4.3. Action pro-apoptotique des anthracyclines

Elle est en partie initiée par une voie de signalisation impliquant la protéine P53. La p53 se fixe sur l'ADN, y active la transcription du gène Bax (médiateur pro-apoptotique), qui induit la libération du cytochrome c par ouverture des pores mitochondriaux, et inhibe celle du gène Bcl-xL (médiateur anti apoptotique). Donc l'inhibition de la synthèse d'ADN (Minotti et al. 2004).

II.10.4.4. La formation de radicaux libres

La réduction enzymatique des anthracyclines générera des semiquinones de radicaux libres, qui à leur tour conduisent à des groupes hydroxyles de radicaux libres (Cosima, 2002). Ces radicaux libres endommageraient l'ADN, les protéines et les constituants des membranes cellulaires (Iarussi et al. 2001).

II.10.4.5. Interaction avec les membranes plasmiques

La doxorubicine et les anthracyclines en général possèdent une très forte affinité pour les lipides membranaires à travers lesquels elles diffusent passivement. Elles s'associent directement avec les phospholipides par interactions ionique. La présence d'anthracyclines au sein de la bicouche lipidique peut altérer la structure et la fonction membranaire en modifiant les interactions lipides-

lipides et lipides-protéines, notamment les protéines membranaires impliquées dans les voies de signalisation cellulaires. La doxorubicine peut ainsi exercer son action cytotoxique (Lubgan et al. 2006).

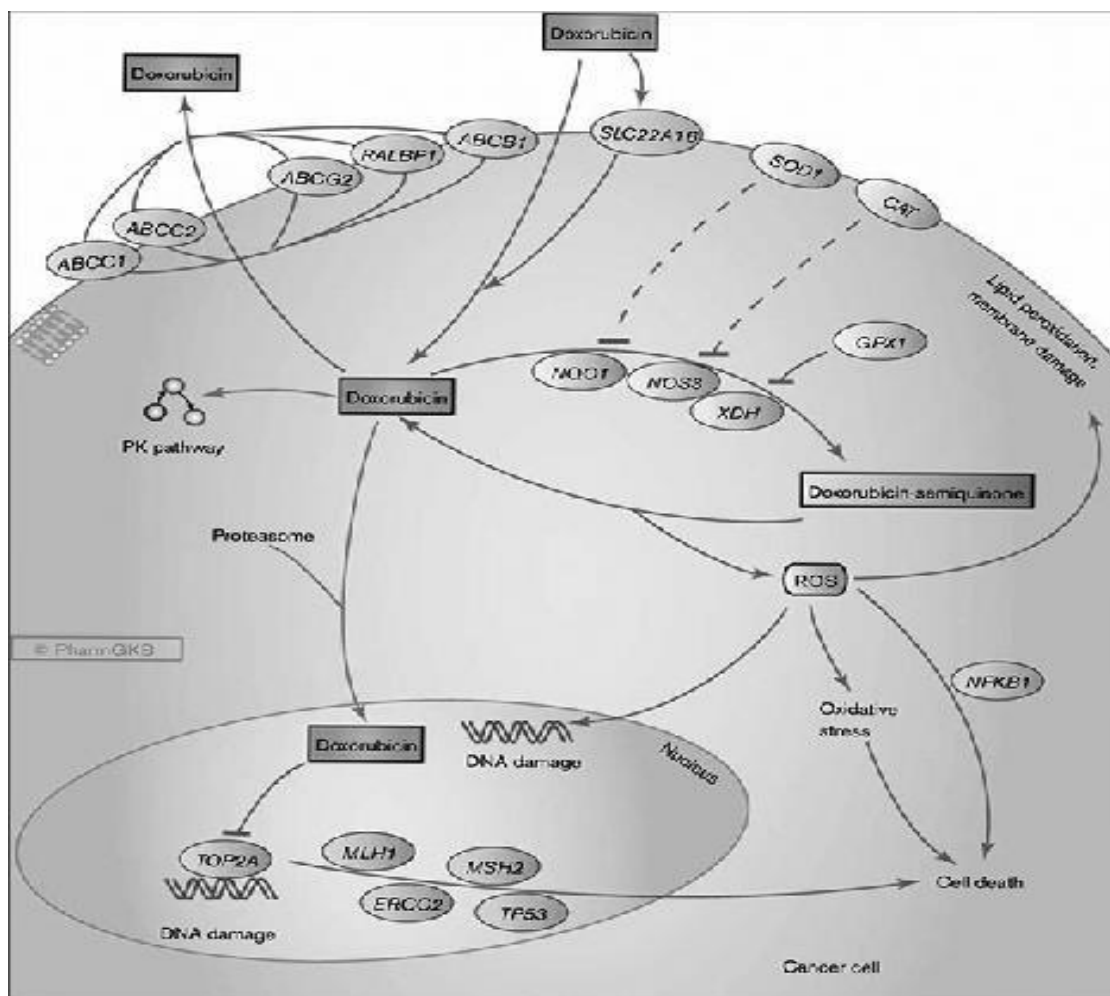


Figure16: Mécanisme d'action de la doxorubicine (JDrug Target,1996).

II.11.Génotoxicité de la Doxorubicine

La doxorubicine est utilisée pour traiter divers types de cancers, notamment le cancer du sein, le cancer de l'ovaire, le lymphome hodgkinien, et d'autres formes de cancer. Cependant, la doxorubicine présente des effets secondaires importants, notamment des effets génotoxiques.

La génotoxicité se réfère à la capacité d'une substance à endommager l'ADN et à causer des mutations génétiques, ce qui peut potentiellement augmenter le risque de développement de cancer ou d'autres maladies génétiques. La doxorubicine est génotoxique en raison de son mécanisme d'action, qui implique l'interférence avec la réplication de l'ADN et la formation de radicaux libres. Ces radicaux libres peuvent causer des cassures de l'ADN et d'autres types de

dommages génétiques.

Les effets génotoxiques de la doxorubicine sont l'une des raisons pour lesquelles elle peut causer des effets secondaires graves, notamment des problèmes cardiaques, une toxicité hépatique et des réactions cutanées. De plus, l'effet génotoxique de la doxorubicine est l'une des raisons pour lesquelles elle est utilisée avec précaution et sous la surveillance étroite d'un médecin. Les patients traités avec de la doxorubicine sont généralement surveillés de près pour détecter tout signe de dommage génétique ou d'autres complications liées au traitement.

Bien que la doxorubicine puisse causer des dommages génétiques, son utilisation est justifiée dans de nombreux cas de cancer en raison de son efficacité dans la suppression de la croissance des cellules cancéreuses. Les médecins doivent peser les avantages potentiels de la chimiothérapie à la doxorubicine par rapport aux risques pour chaque patient, et des stratégies de traitement sont souvent mises en place pour minimiser les effets secondaires tout en maximisant les avantages du traitement contre le cancer.

Dans une étude de comparaison de la doxorubicine au cisplatine qui est un anticancéreux également, largement utilisés en cancérologie pour leurs propriétés antitumorales ces deux anticancéreux sont également connus pour être mutagènes. Dans la recherche d'un génotoxique de référence, la cytotoxicité et la mutagénicité de la doxorubicine et du cisplatine ont été étudiées par le test des micronoyaux et le test des aberrations chromosomiques. Les résultats montrent que la doxorubicine et le cisplatine sont deux molécules génotoxiques susceptibles d'être employées comme témoin positif pour ces deux tests. La doxorubicine a été retenue comme témoin positif pour ces deux tests de mutagenèse, puisque son pouvoir clastogène semble moins corrélé à la cytotoxicité que celui du cisplatine. Une étude de la variabilité individuelle de réponse in vitro à la doxorubicine a été effectuée chez des sujets sains et des patients atteints de cancer, afin d'approcher la notion de réceptivité et de sensibilité individuelle à ce génotoxique..(Duffault et al., 1998).

Chapitre III :
la plante Pistacia
lentiscus L

III.1. Généralité

Le nom *Pistacia lentiscus* donné à cette plante lui vient de mot latin " pistakia" constitue une altération du mot "foustak", nom arabe de l'espèce principale, et *Lentiscus*, vient du mot latin "lentiscus" nom de l'arbre au mastic (Garnier et al., 1961).

Tableau 1: Noms vernaculaires de *Pistacia lentiscus* (Cheraft, 2011).

Langue	Noms
Berbère	Tidekth, Amadagh
Arabe	Edharw, Sareys
Français	Arbre au mastic, Pistachier lentisque, Restringe, Lentisque d'Espagne
Anglais	Mastic ou mastick tree
Espagnol	Lentisco, charneca comun
Allemand	Mastix baum
Italien	Lentischio, sondrio

III.2. Définition Le Pistachier lentisque (*Pistacia lentiscus* L.) :

Le pistachier lentisque est un arbuste connu et exploité depuis des milliers d'années par les habitants méditerranéens, cependant voici quelques appellations du lentisque à des langues différentes (S.N.P.N., 1893 ; Midani, 2018)

III.3. Répartition géographique :

Le lentisque est une espèce circumméditerranéenne. En Algérie il se trouve le long des régions côtières, tout au long du Tell et dans les zones forestières (Boukeloua, 2009).

III.4. Systématique et nom commun :

Le pistachier lentisque appartient à la systématiquebotanique suivante (Lichtfouse, 2020) :

Règne : Plantae

Embranchement : Spermatophytes Classe :

Magnoliopsida

Ordre : Sapindales. Famille :

Anacardiaceae.Genre : *Pistacia*.L

Espèce : *Pistacia lentiscus* (boukeloua, 2009).

III.5.Description morphologique :

Pistacia lentiscus (L.) est un arbrisseau de 1 à 3 mètres (Fig. 17), à forte odeur résineuse (Coste, 1937 ; Rodríguez-Pérez et al.,2013). Il se distingue des autres pistachiers par des feuilles composées paripennées, qui se terminent par une paire de folioles, tandis que celles des autres pistachiers se terminent par une seule foliole. Les feuilles sont caduques, vertes en hiver.L'Écorce est rougeâtre sur les jeunes branches et vire au gris avec le temps. Quand l'écorce est incisée, la plante laisse s'écouler une résine irritante non colorée à odeur forte (figure 17).



Figure 17 : Arbuste de *P. lentiscus* (L.) (Belfadel, 2009) .

Les branches sont tortueuses et pressées et forment une masse serrée (Fig.16). Les feuilles sont persistantes, composées, possédant un nombre pair de folioles (4 à 10)d'un vert sombre, elliptiques, obtuses, luisantes en dessus, glabres, coriaces et dont le pétiole est bordé d'une aile verte (Fig.18A). Les fleurs unisexuées d'environ 3 mm de large se présentent sous forme de grappe. Ellesont très aromatiques et forment des racèmes de petite taille à l'aisselle des feuilles. Les fleurs femelles sont vertes jaunâtre et les fleurs males sont rouge foncé (Fig. 18A).

Le fruit est une baie globuleuse de 2 à 3 mm, monosperme. Le fruit est d'abord rouge devenant brunâtre à sa maturité en automne (Fig.18B et C). Le mastic : L'incision du tronc de cet arbuste fait écouler un suc résineux nommé mastic qui, une fois distillé, fournit une essence employée en parfumerie (Fig 18D).



Figure 18 : Fleurs [A], Fruits rouges [B], noirs [C] et mastic [D] de *P. lentiscus* (L.) (Bendouissa, 2004).

III.6. Propriétés biologiques et pharmacologiques :

Les études expérimentales effectuées sur cette plante ont mis en évidence différentes activités biologiques et pharmacologiques. Une activité anti-ulcéreuse du *Pistacia lentiscus* a été signalée par plusieurs auteurs (Al-Saidet al., 1986) tels que l'effet antifongique (Ali-Shtayeh et al., 1999), antibactérien (Iauk L., 1996), anti-ulcéreux duodénal (Al-Said et al., 1986) et hépatoprotecteur (Janakat S. et AlMerie H., 2002). En médecine traditionnelle, on utilise la résine de pistachier lentisque afin de combattre les ulcères d'estomac. Son efficacité contre la bactérie *Helicobacter pylori* a en effet été confirmée. Cette méthode consiste à éliminer la bactérie *H. pylori* par mastication de résine du pistachier lentisque, comme une gomme à odeur prononcée. L'huile de lentisque est souvent utilisée en médecine comme astringent, expectorant, et cicatrisant. (Seigue A., 1985). Selon Baudoux D. (2003) et d'autres auteurs, les huiles essentielles de lentisque sont utilisées pour leurs effets pharmacologiques tant que décongestionnant veineux-lymphatique et antispasmodique (Yahya M., 1992, Iserin P., 2001, Grosjean N., 2007 et Baudoux D., 2003).

III.7.Principaux métabolites secondaires isolés de l'espèce :

La chimie de la plante est relativement peu étudiée. La plante est connue pour contenir une huile essentielle et fixe (Grosjean N., 2007), une huile grasse (Charef et al, 2008), des tanins condensés et hydrolysables (Abbas M., Boudriche D., 2007), des glycosides flavonoïques (Vaya et J. ; Mahmood S., 2006), des anthocyanes (Longo et al, 2007), une résine « mastic de chio » (Leonti et al, 2001), et des triterpènes (Atmani et al, 2002). De la résine extraite du tronc et des tiges de Pistacia lentiscus ont été isolé une huile essentielle, riche en monoterpènes en quantité majoritaire, des monoterpénols et des sesquiterpènes en quantité moyenne, et des esters terpéniques en quantité mineure. (Baudoux D., 2003 et Grosjean N., 2007) Des feuilles de Pistacia lentiscus ont été isolés des tanins proanthocyanidiques et galliques, des glycosides flavonoïdes et des anthocyanes, et des dérivés à noyau gallique et quinique (Longo et al, 2007).

III.8. Etude phytochimique des différents produits de P lentiscus :

III.8.1. Fruits : Les fruits de P. lentiscus présentent une très forte teneur en acides gras monoinsaturés (Trabelsi et al., 2012). Et une très forte teneur en anthocyanes, leucoanthocyanes, tannins totaux, tannins galliques, flavonoïdes, glucosides et amidon. Avec une présence modérée des mucilages et une absence totale des saponosides, des sénosides, des quinones libres, des coumarines, des irridoïdes et des alcaloïdes. (Arab et al., 2014)

III.8.2. Feuilles : Les analyses révèlent une très forte teneur des feuilles en leucoanthocyanes, en saponosides, en sénosides, en alcaloïdes et en tannins totaux et une teneur moyenne en glucosides. (Arab et al., 2014)

III.8.3. Résine : La résine présente cinq constituants majeurs solubles dans l'éthanol : α -pinène (40%), β pinène (1,5%), β -myrcène (9%), le limonène (1,0%), et β -caryophyllène (5%). (Koutsoudaki et al., 2005)

III.9. Utilisations du Lentisque en médecine et en pharmacologie

Les intérêts du lentisque sont nombreux, il est exploité pour la résine qu'il secrète dans ses tiges, ses feuilles, son bois et ses fruits pour des usages alimentaires, domestiques ou médicaux.

En médecine, le mastic est utilisé comme antidiarrhéique pour les enfants, antiscorbutique ainsi que sous forme de cataplasme ou pour faire des fumigations et pour le traitement dentaire pour l'occlusion des dents cariées. La margarine de ses fruits est efficace pour chasser les gaz de l'hémoglobine. Les feuilles sont utilisées comme anti-inflammatoire, antibactérien, antifongique, antipyrétique, hépatoprotective, expectorante et cicatrisant (Villar et al., 1987). Egalement, les fruits

mûrs du lentisque sont très efficaces pour le traitement des maladies de l'estomac et les infections respiratoires (Arab et al., 2014). La gomme est utilisée pour la fabrication des parfums et l'huile essentielle est utilisée dans la fabrication du savon et la préparation des produits de beauté. Tandis que l'huile embaumée est utilisée à l'éclairage.

III.10.Produits et dérivés à base de P. lentiscus :

D'après Seigue A. (1985), les principaux produits dérivés du P. lentiscus et leur utilisation sont décrites.

- Bois : pour sa robustesse et la finesse de sa texture, le bois de cette espèce est très apprécié en ébénisterie.
- Résine : Des branches et du tronc exsude naturellement ou par incision une résine jaune claire fortement aromatique qui durcit au contact de l'air qui est appelée mastic ou gomme mastic d'où son nom commun d'arbre à mastic, généralement la production est d'environ 4 à 5 kilos par arbuste. Cette résine est produite à grande échelle dans de vastes plantations dans la région d'Emporio et Mesta, qui est d'ailleurs appelée "mastihohoria" qui se traduit par villages à mastic, d'où le nom commercial répandu de « Mastic de Chio ». Ce dernier entre dans la confection d'eau-de-vie et de liqueurs, aromatiser certaines confitures, confectionner des pâtes ou des gommes à mâcher parfumées ou pastilles qui furent les douceurs favorites des sultans de l'empire ottoman et des femmes du Moyen-Orient. Cette pâte à mâcher au parfum subtil était aussi consommée telle quelle car elle avait entre autre la propriété de purifier l'haleine, blanchir les dents et traiter les problèmes de gingivites. Aujourd'hui encore le mastic est employé dans l'industrie agro-alimentaire évidemment comme agent masticatoire, dans l'industrie photographique et dans les soins dentaires (dans les amalgames). Depuis la plus haute antiquité le Mastic de Chio était réputé dans toute la méditerranée orientale pour traiter les affections pulmonaires.
- Essence de Mastic: après distillation du mastic est récupérée une essence qui entre dans la confection de parfums, produits cosmétologiques et pharmaceutiques, de vernis de grande qualité recherché par les peintres œuvrant à la peinture à l'huile et aussi dans l'industrie photographique.
- Essence des feuilles et rameaux : de ces parties est extraite une huile essentielle qui est utilisée en aromathérapie et phytothérapie pour ses propriétés décongestionnantes, prescrite aussi pour traiter les problèmes veineux dont les hémorroïdes.
- Huile de lentisque : du fruit comestible est extraite une huile qui autrefois était couramment utilisée pour l'alimentation, l'éclairage et elle entre aussi dans la confection de savons.

L'huile est produite à l'Est de l'Algérie, dans les zones notamment côtière (El Milia, Skikda), où l'espèce abonde. Un procédé traditionnel est utilisé à cet effet : Les fruits atteignent leur maturité vers la fin d'été début de l'automne. Les baies prennent alors une coloration noire au lieu du rouge. Les baies sont récoltées à la main, macérées dans de l'eau chaude et puis écrasées à l'aide d'une presse. Des baies s'excellent un liquide épais de couleur jaune vert. L'huile est récupérée par décantation.

III.11.Effets thérapeutiques et activité biologique de *Pistacia lentiscus* (L.) :

Les extraits des feuilles de *P. lentiscus* ont une puissante activité antiradicalaire (Arab et al. 2014 ; Krimat et al.,2014) et antibactérienne (Benrokia et Aouar ., 2015 ; Bammou et al.,2015).

L'activité antibactérienne de l'huile extraite du mastic de *P. lentiscus* est très élevée contre *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* (Koutsoudaki et al., 2005). Cette huile a aussi une activité antibactérienne sélective contre *Porphyromonas gingivalis* et *Prevotella melaninogenica* et une activité anti plaque sur les dents en inhibant la croissance antibactérienne dans la salive (Sakagami et al., 2009).

Les extraits des feuilles du pistachier lentisque *in vivo* et *in vitro*, révèlent une activité anti-inflammatoire (Giner-Larza et al., 2001 ; Maxia et al., 2001 ; Gardeli et al., 2008 ; Remila et al., 2015 ; Ait Idir et Bouyoucef, 2017), notamment de l'inflammation intestinale et de la goutte (Al-Said et al., 1986).

L'huile essentielle et les différents extraits des feuilles de *P. lentiscus* ont indiqué un effet inhibiteur significatif sur la mutagénicité *in vitro* (Douissa et al., 2005 ; Haydar et al., 2005).

III.12.Données toxicologiques de *Pistacia lentiscus* (L.) :

La gomme mastic provoque une toxicité aiguë, une irritation de la peau et une phototoxicité chez les animaux et les humains (Spott et coll, 1970 ; Keynan et coll, 1987 ; Keynan et coll, 1997 ; Ford et coll, 1992). Par contre, l'huile essentielles des feuilles de *P. lentiscus*, administrée par voie orale est dépourvue de toxicité aiguë chez les souris (Medjekane, 2017).



Figure 19 : Mastic de Chios (gastronomiac.com)

Après distillation du mastic, il est récupéré une essence qui entre dans la confection de parfums, produits cosmétologiques et pharmaceutiques, de vernis de grande qualité recherché par les peintres œuvrant à la peinture à l'huile et aussi dans l'industrie photographique (Boukeloua, 2009).

-De petit fruit noir comestible est extraite une huile qui autrefois était couramment utilisée pour l'alimentation, l'éclairage et elle entrait aussi dans la confection de savons. En Algérie l'huile est produite à l'Est du pays, notamment dans les zones côtières (El Milia, Skikda), où l'espèce est abondante (Boukeloua, 2009).

-L'huile essentielle de lentisque pistachier est obtenue par distillation par entraînement des branches et fleurs. Le rendement est très faible avec 100 kg de plante pour seulement 15 g d'huile essentielle, d'où son prix élevé (Cardena, 2016). Son usage est très vaste surtout en médecine, notamment comme un antioxydant, antimutagène et anti-inflammatoire naturel (Chekir-Ghedira et al., 2006). Utilisée aussi pour lutter contre les hémorroïdes et les problèmes circulatoires comme les varices et le bourdonnement d'oreilles (Cardena, 2016).

III.13. Activité antioxydante de Pistacia Lentiscus

Les différentes études menées sur les effets protecteurs des polyphénols dans ces contextes pathologiques ont montré que ceux-ci diminuaient les marqueurs de l'inflammation et agissaient sur de nombreuses cibles moléculaires au centre des voies de signalisation de l'inflammation (Lenoir L., 2011). Certains flavonoïdes sont de puissants inhibiteurs de la production des prostaglandines, des molécules pro inflammatoires très actives. Cet effet serait dû à la réduction du métabolisme de l'acide arachidonique par l'inhibition de la lipooxygénase, de la cyclooxygénase et de la

phospholipase A2 (Manthey et al., 2000)

La plante *pistacia lentiscus L* a montré sur le plan phytochimique des teneurs en polyphénols dans les feuilles et les fruits présentant ainsi des activités antioxydantes potentielles

la composition phytochimique de la plante *Pistacia lentiscus L* (*partie aérienne*) se caractérise par la présence de flavonoïde (Romani et al., 2002 ; Gardeli et al., 2008 ; Bhourri et al., 2010). Plusieurs travaux ont montré que ces substances bioactives présentent une action protectrice contre le stress oxydatif induit par la doxorubicine. Cette dernière est un agent pro-oxydant et induit des dommages oxydatifs à l'ADN, l'effet pro oxydant de la Doxorubicine sur le tissu hépatique par exemple a montré une diminution des activités enzymatiques et non enzymatique du système de cytoprotection (Romani et al., 2002 ; Gardeli et al., 2008 ; Bhourri et al., 2010). Ces effets délétères de la doxorubicine contribuent à l'apparition de plusieurs effets secondaires au cours d'une chimiothérapie. Les produits antioxydants d'origine végétale ou animale (propolis) accompagnant la chimiothérapie ont montré des effets protecteurs notables dans les différents tissus de l'organisme (cœur, foie, rein,...) (Benguedouar et al., 2008, Rouibah et al., 2009). L'étude autour de la plante *Pistacia Lentiscus L* a réunit des arguments mettant en exergue ses pouvoirs antiradicalaires (test au DPPH) in vitro et antioxydants in vivo (modèle de toxicité et génotoxicité hépatique) (Benguedouar et al., 2019).

L'étude de Boudaghdagh et al., (2022) a montré, en utilisant le test du micronoyau chez la souris, que l'huile fixe de fruits du pistachier lentisque a permit de réduire la génotoxicité de la doxorubicine. La protection de l'ADN par ce produit naturel peut participer à la prévention des effets délétères de la doxorubicine encore utilisée dans différents protocoles de chimiothérapie anticancéreuse.

Conclusion

Conclusion :

La doxorubicine est une des molécules les plus efficaces utilisée en chimiothérapie dans de nombreux types de cancers. Malgré l'efficacité marquée du de la doxorubicine ce médicament son application clinique est limitée en raison de ses effets indésirables tels que la cardiotoxicité, l'hépatotoxicité et la génotoxicité.

Au cours de la présente étude, nous avons évalué l'effet protecteur de l'huile de fruits de Pistacia lentiscus L contre la génotoxicité induite par le médicament anticancéreux (la doxorubicine). En effet, cette plante est connue comme source très riche en métabolites secondaires auxquels reviennent ses activités biologiques et son utilisation dans divers domaines notamment pharmaceutiques et industriels (Hemma et al., 2018).

Cependant,l'efficacité de ces traitements est variable par conséquence de moyens de potentialiser les traitements conventionnels ainsi que de nouvelles stratégies doivent etre développés. (Fischer et al. 2007).

Références bibliographiques

Références bibliographiques :

Ali-Shtayeh M.S., Abu Ghdeib S.I. (1999). Antifungal Activity of Plant Extracts Against Dermatophytes, *Mycoses*;42(11-12):665-72. PubMed PMID:10680445.

Al-Said M.S., Ageel A.M., Parmar N.S., Tariq M. (1986). Evaluation of mastic, a Cru de Drug obtained from *Pistacia lentiscus* for Gastric and Duodenal Anti-ulcer Activity, *Ethnopharmacol*;15(3):271-8. PubMed PMID:3724207

Andrieu-Abadie N., Levade T., Laurent G., Hatem S., Mercadier J. (1999). L-carnitine prevents doxorubicin-induced apoptosis of cardiac myocytes: role of inhibition of ceramide generation.

Ansari S.h., Nahida, Siddiqui A.N. (2012). *Pistacia Lentiscus*: A review on phytochemistry and pharmacological properties, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*, 4:16-20.

Arab K., Bouchenak O et Yahiaoui K. (2014). Etude phytochimique et évaluation de l'activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle et des composés phénoliques du pistachier lentisque (*Pistacia lentiscus* L.). *Journal of Fundamentals Applied Sciences*. 6(1) : 79-93.

Arab K., Bouchenak O., Yahiaoui K. (2014). Phytochemical study and evaluation of the antimicrobial and antioxidant activity of essential oils and phenolic compounds of *pistacia lentiscus* L. *Journal of Fundam Appl. Sci.* 6(1), 77-9.

Arab K., Bouchenak O., Yahiaoui K. (2014). Etude phytochimique et evaluation de

Avery OT., Macleod CM., McCarty M. (1944). Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types: induction of transformation by a desoxyribonucleic acid fraction isolated from pneumococcus type III. *J. Exp. Med.* 79, 137-158.

Bakr RO. (2014). Microscopical and Phytochemical Investigation of Egyptian *Artemisia judaica* L. var. *Sinaitica* Thunberg and its Free Radical Scavenging Activity. *Pharmacognosy. International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research.* (6) : 698-703

Bammou M., Daoudi A., Slimani I., Najem M., Bouiamrine E. H., Ibijbijen J., Nassiri L. (2015). Valorisation du lentisque «*Pistacia lentiscus* L. » : Étude et caractérisation botanique, Screening phytochimique et pouvoir antibactérien. *Journal of Applied Biosciences.* 86, 7966-7975.

Belfadel F.Z., 2009. - Huile de fruits de *Pistacia lentiscus* Caractéristiques physico-chimiques effets biologiques (effet cicatrisant chez le rat). mémoire de magister en chimie organique, option phytochimie. p : 8.

- Belfadel F. Z., (2009).** Huile de fruits de Pistacia lentiscus Caractéristiques physicochimiques et effets biologiques. Mémoire présenté pour obtenir le diplôme de Magister en chimie organique, Université Mentouri Constantine, 139p.
- Benrokia H., Aouar K., (2015).** Etude de l'activité Antibactérienne des extraits de Pistacia lentiscus. Mémoire de Master, Université Djilali Bounaama Khemis Miliana, Algérie, 83 p.
- Bernard Fabien., (2013),** Intérêts et validation de marqueurs précoces de génotoxicité environnementale (Doctoral dissertation), Ecotoxicologie, université de Lille 1.
- Botta A., (2013).** Relations entre génotoxicité, mutagenèse et cancérogenèse. l'Environnement IPMdSd (ed) Journées Nationales de Santé au Travail dans le BTP. Service Hospitalo-universitaire de Médecine et Santé au Travail, Marseille, France 9-13p.
- Boukeloua A. (2009).** Caractérisation botanique et chimique et évaluation pharmacotoxicologique d'une préparation topique à base d'huile de Pistacia lentiscus L. (anacardiaceae). (Doctoral dissertation, Université Frères Mentouri-Constantine 1).
- Boukeloua A., (2009).** Caractérisation botanique et chimique et évaluation pharmacotoxicologique d'une préparation topique à base d'huile de Pistacia Lentiscus L. (anacardiaceae), Thèse d'obtention du diplôme de Magister, 108p.
- Cardenas J., (2017).** Huile essentielle de lentisque pistachier, doctissimo.fr [en ligne], <https://www.doctissimo.fr/sante/aromatherapie/guide-huiles-essentielles/huile-essentielle-de-lentisque-pistachier> (consulté le 05/09/2020).
- Chaabani E., (2020).** Eco-extraction et valorisation des métabolites primaires et secondaires des différentes parties de Pistacia lentiscus, Thèse d'obtention du diplôme de doctorat, 134p.
- Coste H., (1937).** Flore descriptive et illustrée de la France de la Corse et des contrées
- Djedja S., Tilla M., Sanlaville D. (2017).** Anomalies chromosomiques. Journal de Pédiatrie et de Puériculture. (30): 249-270.
- Fardel, O., Vernhet, L., Jung, A. V., Legrand-Lorans, A., & Nouvel, V., (2009),** Utilisation des tests de génotoxicité pour la surveillance de l'exposition des travailleurs dans l'industrie du traitement et recyclage des déchets. In Journée de restitution RECORD.
- Fischer K., Hoffmann P., Voelkl N., Meidenbauer J., Ammer M., Edinger E., Gottfried S., Schwars G., Rothe S., (2007).** Inhibitory effect of tumor cell-derived lactic acid on human T CELL, 109PP. 3812-3819.

Flamand, N., Meunier, J. R., Meunier, P. A., & Agapakis-Caussé, C, 2001, Mini mutagenicity **Giner-Larza E.M., Manez S., Recio M.C., Giner-Pons R., Prieto J.M., Cerda- Nicolas M., (2001).** Oleanolic acid, a triterpene from *Pistacia*, inhibits leukotriene synthesis and has anti-inflammatory activity. *European Journal of Pharmacology*. 428, 137-143.

Graillet V., (2012). Appréciation quantitative de l'exposition alimentaire à des mélanges de pesticides et mécanismes de génotoxicité. Université Toulouse III-Paul Sabatier. P: 37.

Hamdi Y.A., (1982). Application of nitrogen fixing systems in soil improvement and management, Volume 49 : 188 p.

Hemma R., Belhadj S., Ouahchia C et Saidi F. (2018). Antioxidant activity of *Pistacia lentiscus* methanolic extracts. *Revue Agrobiologia*. 8(1) : 845–852.

Janakat S., Al-Merie (2002). Evaluation of Hepatoprotective Effect of *Pistacia lentiscus*, *Phillyrealatifolia* and *Nicotiana glauca*, *Ethnopharmacol* ; 83(1-2):135-8.

Khan K., Ansari L., Honey A., (2012). Induction of mutations in *Cichorium intybus* L. by base analogue 6-aminopurine (6-AP) and their detection with random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis. *African Journal of Biotechnology*, 11(56) : 11901-11906. DOI: 10.5897/AJB11.2158

Khanna, N., Sharma, S., (2013). *Allium Cepa* Root Chromosomal Aberration Assay: A Review. *ijpbr* 1. <https://doi.org/10.30750/ijpbr.1.3.15>. **Leme, D.M., Marin-Morales, M.A., 2009.** *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research* 68(2), 71–81.

Koutsoudaki C., Krsek M., Rodger A., (2005). Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil and the gum of *Pistacia lentiscus* var. *Chia*. *J. Agric Food Chem.* 53, (20) : 7681-7685.

Kurek G., Soluk-Tekkeşin M., Olgaç V., Doğru-Abbasoğlu S., Türkoğlu Ü et Uysal M. (2014). Effect of olive leaf extract treatment on doxorubicin-induced cardiac, hepatic and renal toxicity in rats. *Pathophysiology*. 22(2) : 117-123.

Lemière S. (2004). Intérêt du test des Comètes pour l'évaluation de la génotoxicité environnementale (Doctoral dissertation). Toxicologie de l'Environnement, Université de Metz.

Lemière Sébastien., (2004), Intérêt du test des Comètes pour l'évaluation de la génotoxicité environnementale (Doctoral dissertation), Toxicologie de l'Environnement, Université de Metz. limitrophes. Second Tirage, Paris-Librairie des Sciences et des Arts.

Mateuca R., Lombert N., Aka PV., Decordier L., Kirch-Volder M. (2006). Chromosomal changes induction methods and applicability in human biomonitoring. *Biochimie* 88, 1515-1531.

Meek, M. E., Bucher, J. R., Cohen, S. M., Dellarco, V., Hill, R. N., Lehman -McKeeman, L. D., ... & Patton, D. E., (2003), A framework for human relevance analysis of information on carcinogenic modes of action. *Critical reviews in toxicology*, 33(6), 591-653.

Michel Cécile, (2011), Biomarqueurs de génotoxicité chez *Dreissena polymorpha* : indicateurs de la pression chimique urbaine et variabilité naturelle des lésions de l'ADN, l'activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle et des composés phénoliques du pistachier lentisque (*Pistacia lentiscus* L.). *J. Fundment. Appl. Sci.* 6,(1):79-93. Ecotoxicologie, Université Pierre et Marie Curie.

Midani M., (2018). Caractérisation biochimique des feuilles de *Pistacia Lentiscus* L., Mémoire d'obtention du diplôme de Master, 81p.

Perez-Mendoza J., Throne J-E., Maghirang E-B., Dowell F-E., Baker J-E., (2005). Insect fragments in flour: relationship to lesser grain borer (Coleoptera: Bostrichidae) infestation level in wheat and rapid detection using near-infrared spectroscopy. *Journal of Economic Entomology*. 98(6), 282-291.

Pillco Araceli et Eduardo de la Peña, (2014). Genotoxicity Assays. In : Le María Sierra et Isabel Gaivão, 2014, *Genotoxicity and DNA Repair A Practical Approach*, Humana, New York,

Pothier N., Joseph C., Corcoran GB et S. D. Ray. 2010. "Silymarin modulates doxorubicin induced oxidative stress, Bcl-xL and p53 expression while preventing apoptotic and necrotic cell death in the liver." *Toxicology and Applied Pharmacology*. (245), no. 2, pp. 143-152.

Rodriguez-Amaya D.B., (2001). A guide to carotenoid analysis in foods. *International Life Sciences Institute press*, 1-71.

Sakagami H., Kishino K., Kobayashi M., Hashimoto K., Iida S., Shimetani A., Satoh K., (2009). Selective antibacterial and apoptosis-modulating activities of mastic. *In vivo*. 23(2), 215-223.

Saks Mohamed, Sabita Upreti, Rajendra SV* and Raman Dang, (2017), Genotoxicity: Mechanisms, Testing Guidelines and Methods, *Glob J Pharmaceu Sci* ; 1(5)

Sbay H., (2008). Le caroubier au Maroc un arbre d'avenir, Centre de recherche forestière, 51p.

Seigue A., (1985).La Forêt Circummé diterranéenne et ses Problèmes, Maisonneuve & Larose, 222(7),137- 139

Seigue A., (1985).La Forêt Circumméditerranéenne et ses Problèmes, Maisonneuve & Larose, pp22-27,pp137- 139.

Song p., IliskovicT., Li et Kumar D. 2019. Adriamycin cardiomyopathy: pathophysiology and prevention. The faseb Journal. 11(12) : 931-936.

Spott D.A., Shelley W.B.,(1970). Exanthem due to contact allergen (benzoin) absorbed throughskin.JAMA.214,1881-1882.MedjekaneM.,2017.Prévalence de l'infection à Helico bacterpylori et soninhi bitionpardes molecules bioactives. Thèse de doctorat.Université de Chlef. 222p.

Thybaud, V., Aardema M., Clements J., Dearfield K., Galloway S., Hayashi M., Ohyama W.,(2007).Strategy for genotoxicity testing: hazard identification and risk assessment in relation to in vitro testing. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 627(1), 41-58.

Trabelsi H.,Cherifo A.,Sakouhi F.,Villeneuve P.,Renaud J.,Barouh N.,Boukhchi na S.,MayerP.,(2012).Fattyacids,4desmethylsterols,andtriterpenealcoholsfromTunisianlentisc(Pistacia lentiscus)fruits.Eur.J.Lipid.Sci.Technol,114,PP.968–973.

Zeiger Errol.,(2013). Gene Mutation Assays. In : Dhawan, A., & Bajpayee, M, 2013,Genotoxicity Assessment Methods and Protocols,Humana,New York,

Résumé

La doxorubicine est utilisée pour traiter différents types de cancer (y compris le cancer du sein, le cancer des ovaires et d'autres formes de cancer). Cependant, la doxorubicine a des effets secondaires importants, notamment des effets génotoxiques. La doxorubicine est génotoxique en raison de son mécanisme d'action, qui consiste à interférer avec la réplication de l'ADN et la formation de radicaux libres. Ces radicaux libres peuvent provoquer des cassures de l'ADN et d'autres types de dommages génétiques.

Les effets génotoxiques de la doxorubicine sont l'une des raisons pour lesquelles elle peut provoquer des effets secondaires graves, notamment des problèmes cardiaques, une toxicité hépatique et des réactions cutanées. De plus, l'effet génotoxique de la doxorubicine est une des raisons de son utilisation avec prudence et sous étroite surveillance médicale.

Bien que la doxorubicine puisse causer des dommages génétiques, son utilisation est justifiée dans de nombreux cas de cancer en raison de son efficacité à supprimer la croissance des cellules cancéreuses. Des stratégies de traitement sont souvent mises en œuvre pour réduire les effets secondaires, comme l'utilisation d'après-plantes pour prévenir les effets secondaires résultant de l'utilisation du médicament Doxorubicine, nous mentionnons la plante Pistacia lentiscus, dont la composition chimique est caractérisée par la présence de flavonoïdes. De nombreuses études ont montré que ces substances biologiquement actives ont un effet protecteur contre le stress oxydatif provoqué par la doxorubicine. Il joue un rôle efficace dans la prévention des effets nocifs de la doxorubicine, encore utilisée dans de nombreux protocoles de chimiothérapie anticancéreuse.

Mots clés : Doxorubicine, Cancer, Génotoxique, Toxicité Hépatique, Pistacia Lentiscus, Chimiothérapie Anticancéreuse.

Abstract

Doxorubicin is used to treat different types of cancer (including breast cancer, ovarian cancer, and other forms of cancer). However, doxorubicin has significant side effects, including genotoxic effects. Doxorubicin is genotoxic because of its mechanism of action, which involves interfering with DNA replication and free radical formation. These free radicals can cause DNA breaks and other types of gene damage.

The genotoxic effects of doxorubicin are one reason it can cause serious side effects, including heart problems, liver toxicity, and skin reactions. In addition, the genotoxic effect of doxorubicin is one of the reasons for its use with caution and under close medical supervision.

Although doxorubicin can cause genetic damage, its use is justified in many cancer cases due to its effectiveness in suppressing the growth of cancer cells. Treatment strategies are often implemented to reduce side effects, such as using after plants to prevent side effects resulting from the use of the drug. Doxorubicin, we mention the plant Pistacia lentiscus, whose chemical composition is characterized by the presence of flavonoids. Many studies have shown that these biologically active substances have a protective effect against oxidative stress caused by

doxorubicin. It plays an effective role in preventing the harmful effects of doxorubicin, which is still used in many anti-cancer chemotherapy protocols .

Keywords: Doxorubicin,Cancer,Genotoxic,Liver Toxicity,Pistacia Lentiscus,Cancer Chemotherapy.

ملخص :

يستخدم دوكسوروبيسين لعلاج أنواع مختلفة من السرطان (بما في ذلك سرطان الثدي وسرطان المبيض وأشكال أخرى من السرطان). ومع ذلك، دوكسوروبيسين له آثار جانبية كبيرة، بما في ذلك الآثار السامة للجينات. دوكسوروبيسين سام للجينات بسبب آلية عمله، وهي التدخل في تكرار الحمض النووي وتكوين الجذور الحرة. هذه الجذور الحرة يمكن أن تسبب تكسر الحمض النووي وأنواع أخرى من الضرر الجيني. تعد التأثيرات السمية الجينية للدوكسوروبيسين أحد الأسباب التي تجعله يسبب آثارًا جانبية خطيرة، بما في ذلك مشاكل القلب وسمية الكبد وتفاعلات الجلد وبالإضافة إلى ذلك، فإن التأثير السمي للجينات للدوكسوروبيسين هو أحد أسباب استخدامه بحذر وتحت إشراف طبي دقيق.

على الرغم من أن دوكسوروبيسين يمكن أن يسبب ضررًا وراثيًا، إلا أن استخدامه مبرر في العديد من حالات السرطان بسبب فعاليته في قمع نمو الخلايا السرطانية. غالبًا ما يتم تنفيذ استراتيجيات العلاج لتقليل الآثار الجانبية، مثل استخدام منتجات ما بعد الأعشاب لمنع الآثار الجانبية الناتجة عن الاستخدام. ومن عقار دوكسوروبيسين نذكر نبات *Pistacia lentiscus* الذي يتميز تركيبه الكيميائي بوجود مركبات الفلافونويد. وقد أظهرت العديد من الدراسات أن هذه المواد النشطة بيولوجيًا لها تأثير وقائي ضد الإجهاد التأكسدي الناجم عن دوكسوروبيسين. وهو يلعب دورًا فعالًا في منع الآثار الضارة للدوكسوروبيسين، الذي لا يزال يستخدم في العديد من بروتوكولات العلاج الكيميائي للسرطان.

الكلمات المفتاحية: دوكسوروبيسين، السرطان، السمية الجينية، السمية الكبدية، الفستق العدسي، العلاج الكيميائي المضاد للسرطان.