

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 يحيى - جيجل -  
Université Mohammed Seddik Ben Yahia – Jijel-

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département : Biologie Moléculaire et  
Cellulaire



كلية علوم الطبيعة والحياة  
قسم البيولوجيا الخلوية والجزيئية

### Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme : **Master Académique en Biologie**

**Option : Pharmacologie Expérimentale**

### *Thème*

**Évaluation du profil de stress oxydatif hépatique au cours d'une exposition aux Métallophthalocyanines chez le rat ayant un cancer pulmonaire induit par le Benzo(a)pyrène.**

#### Membres du Jury :

Présidente : M<sup>me</sup> BOUHAFS. L

Examineur : M<sup>me</sup> MEZAHM. T

Encadreur : Dr. BENGEOUDOUAR. L

#### Présenté par :

BOUKRIKA Khawla

TAOUTAOU Ibtissam

TITAH Asma

**Année Universitaire : 2016-2017**

Numéro d'ordre:.....

## **REMERCIEMENTS**

*Nos remerciement les plus sincère et les plus chaleureux à dieu tous puissant qui a inséré dans nos coeur la patience et le courage nous permettrons ainsi de réaliser ce travail.*

*Nos remerciements à L'encadreur **Benguedouer Lamia** d'avoir bien dirigé ce travail par ses conseils, sa documentation, sa compréhension, sa patience et ses encouragements.*

*Un grand merci au professeur **Lahouel Mesbah** d'avoir nous accueillies dans ton laboratoire avec un grand coeur.*

*Un merci chaleureux aux membres de jury **Mezahem Tassaadit** et **Bouhafs Leila** pour avoir accepté d'évaluer ce travail et pour leurs corrections qui sont permis d'améliorer ce manuscrit.*

*Notre remerciement s'adresse également à monsieur **Bousdjira Yahia** pour son soutien technique et moral. De manière générale, merci à tous l'équipe de laboratoire de département de la Biologie Moléculaire et Cellulaire pour leur soutien.*

*Enfin, nous remercions infiniment **nos famille, nos amis** qui ont été là dans les bons comme dans les mauvaises moments, pour leur soutien inestimable et leur accompagnement jusqu'au jour de la soutenance.*

**Sommaire**

**Liste des abréviations**

**Liste des figures**

**Liste des tableaux**

**Introduction** ..... .01

**Partie bibliographique**

**Chapitre I : Généralités sur le cancer pulmonaire**

I.1. Cancer pulmonaire. .... 02

I.2. Classification des tumeurs broncho-pulmonaires ..... 03

I.2.1. Les différents types histologiques de cancers broncho-pulmonaires :

I.2.1.1. Les carcinomes épidermoïdes ..... 04

I.2.1.2. Les adénocarcinomes ..... 04

I.2.1.3. Les carcinomes à grandes cellules ..... 05

I.2.2. Les cancers broncho-pulmonaires à petites cellules .....05

I.2.3. Facteurs de risque ..... 05

I.2.4. Le Benzo(a)pyrène B(a)P ..... 07

I.2.4.1. Structure ..... .08

I.2.4.2. Propriétés physicochimiques de B(a)P ..... 08

I.2.4.3. Toxicité de B(a)P chez l'animal (Génotoxicité et Cancérogènes)..... 08

I.2.4.3.1. Génotoxicité ..... 08

I.2.4.3.1. Cancérogènes ..... 09

I.2.4.4. Toxicité de B(a)P chez l'homme. .... 10

I.2.4.5. Métabolisme de B(a)P ..... 10

**Chapitre II. La thérapie photodynamique (PDT)**

II.1. La thérapie photodynamique (PDT) .....	12
II.1.1. Historique de la thérapie photodynamique (PDT) .....	12
II.1.2. Définition de thérapie photodynamique .....	12
II.1.2.1. Principe .....	13
II.1.2.2. Principaux facteurs influençant l'efficacité de la thérapie photodynamique .....	14
II.1.2.3. Générations des photosensibilisateurs .....	17
II.1.2.4. Mécanisme d'action .....	18
II.2. Les métallophthalocyanines (MPCs) .....	19
II.2.1. Généralités. ....	19
II.2.2. Définition et application .....	19
II. 2.1.2 .Les métallophthalocyanines de zinc .....	20
II.2.1.2 .1. Structure .....	20
II. 2.1.2 .1. Administration .....	20
II.2.1.2.2. Pénétration et localisation cellulaire .....	21
II.2.1.2 .3. Mécanisme d'action... ..	21
II.2.1.2.4. Propriétés pharmacocinétique.....	21
II.2.1.2.5. Les métallophthalocyanines de zinc sulfonées .....	22
II.3. Stress oxydatif .....	23
II.3.1. Les espèces réactives de l'oxygène (EROs) .....	23
II.3.2. Les mécanismes antioxydants .....	24
II.3.3. Les systèmes antioxydants enzymatiques .....	24
II.3.4. Principaux antioxydants endogènes non enzymatiques.....	26
II.3.4.1. Glutathion réduit (GSH) .....	26
II.3.4.2. L'acide urique.....	26

II.3.4.3. Les antioxydants exogènes .....27

**Partie pratique**

**I. Matériel et Méthodes**

**I.1 .Matériel** ..... 28

I.1.1.Entretien des animaux ..... 28

I.1.2. Modèle expérimental ..... 28

I.1.3. Prélèvement des foies..... 29

I.3.Evaluation des paramètres de stress oxydatif ..... 30

I.3.1. Préparation de la fraction cytosolique du foie ..... 30

I.3.2.Dosage du glutathion (GSH)..... 30

I.3.3.Dosage du MDA ..... 31

I.3.4. Mesure de l'activité enzymatique de la catalase..... 31

I.3.5.Mesure de l'activité de la Glutathion S-transférase (GST) ..... 32

I.3.6.Analyse statistique ..... 33

**II. Résultats et discussion**

II.1.Variation du taux de GSH . ..... 34

II.2 .Variation du taux de MDA ..... 36

II.3.Variation de l'activité de catalase ..... 37

II.4.Variation de l'activité de GST..... 38

**Conclusion**.....40

**Références bibliographiques**.....41

**Annexe**

**Résumé**



**Liste des abréviations**

- PDT** : Thérapie photodynamique.
- CAT** : Catalase.
- GSH** : Glutathion.
- MDA** : Malondialdehyde.
- GST** : Glutathion s-transférase.
- MPCs** : Metallophthalocyanines.
- B (a)P** : Benzo (a) pyrène .
- 1O<sub>2</sub>**: Oxygène singulet.
- BSA**: Bovin Serum Albumin.
- CDNB**: Chlorodinitrobenzène.
- Cox**: Cyclo-oxygénase.
- CYPs**: Famille cytochrome P.
- DTNB** : Acide 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzèoique.
- EOA** : Espèces oxygénées activées.
- GPx** : Glutathion peroxydase.
- GR** : Glutathion réductase.
- GSSG**: Glutathion oxydé.
- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : Peroxyde d'hydrogène.
- HAP**: Hydrocarbures aromatiques polycycliques.
- NAD<sup>+</sup>** : Nicotinamide adénine dinucléotide oxydé.
- NADPH<sup>o</sup>**: NADPH oxydase.
- NADPH, H<sup>+</sup>**: Nicotinamide adénine.
- NO<sup>o</sup>** : Monoxyde d'azote.
- NO<sup>o</sup> 2**: Dioxyde d'azote.
- SOD** : Superoxyde dismutase.
- NOS** : Nitric oxyde synthase.
- O<sub>2</sub><sup>-</sup>** : Anion superoxyde .
- TBA**: Acide thiobarbituric acétique.
- TBRAS**: Thiobarbituric acide-reactive substances.

**TCA:** Trichloroacide acétique.

**TNB:** Acide thiobarbiturique.

**CYP450 :** Cytochrome P450.

**PS:** photosensibilisateurs.

**ADN :** acide désoxyribonucléique.

**ZnPcs :** Les métallophthalocyanines de zinc sulfonées.

**LPO :** Peroxydation lipidique.

---

<b>Liste des figures et tableaux</b>	<b>N° page</b>
<b>Figure 01</b> : Processus multi-étape du développement d'un cancer .....	03
<b>Figure 02</b> : structure chimique du benzo [a]pyrène (cancérogène) .....	08
<b>Figure 03</b> : Principales voies de métabolisation du B(a)P .....	11
<b>Figure 04</b> : Principe de la thérapie photodynamique.....	14
<b>Figure 05</b> : diagramme de Jablonski et réaction photochimique de type I et II .....	18
<b>Figure 06</b> : Structure des MPCs. (a) phthalocyanine non métallée, (b) phthalocyanine métallée ou M : méta .....	20
<b>Figure 07</b> : Schéma d'une métallophthalocyanine de zinc non substituée.....	20
<b>Figure 08</b> : Aperçu des espèces oxygénées activées (EOA) dérivant de l'oxygène et systèmes de protection permettant de limiter l'effet toxique de ces espèces. GSH : glutathion, Cl <sup>-</sup> : anion chlorure ; MPO : myéloperoxydase, SOD: superoxyde dismutase, Se-GPx : glutathion peroxydase séléno-dépendante .....	24
<b>Figure 09</b> : Le protocole de traitement par les MPCs .....	29
<b>Figure 10</b> : Réaction d'Ellman. ....	30
<b>Figure 11</b> : La variation de taux en GSH dans le foie des rats des groupes expérimentaux. Chaque valeur est exprimée au moyen ± écart type.....	34
<b>Figure 12</b> : variation de taux en MDA dans le foie des rats des groupes expérimentaux. Chaque valeur est exprimée au moyen ± écart type.....	36
<b>Figure 13</b> : La variation de l'activité de CAT dans le foie des rats des groupes expérimentaux. Chaque valeur est exprimée au moyen ± écart type.....	37
<b>Figure 14</b> : La variation de l'activité de GST dans le foie des rats des groupes expérimentaux. Chaque valeur est exprimée au moyen ± écart type.....	38
<b>Tableau 01</b> : propriétés physico-chimiques du Benzo(a)pyrène.....	08

## Chapitre I : Généralités sur le cancer pulmonaire

### I.1. Cancer pulmonaire

Le cancer du poumon est en nette progression en Algérie depuis les années 1980; on note une augmentation de 50 % de 1986 à 2000. Actuellement, toutes les données d'incidence disponibles sont établies à partir des registres du cancer mis en place au centre, à l'Est, et à l'ouest du pays et des données de l'enquête nationale sur l'incidence et la prévalence des cancers. En 2002 il a été estimé 22 772 nouveaux cas de cancers diagnostiqués (Hammouda et *al.*, 2002). le cancer du poumon occupe la première place chez l'homme avec 1681 cas, Il représente 12.3 % de l'ensemble des cancers masculins (Hammouda et *al.*, 2002) , il occupe la troisième position ; après celui du sein et du colorectum chez les deux sexes confondus avec 1921 cas, représentant 6.6 % de l'ensemble des cancers (Hammouda et *al.*,2002). Il occupe la première position pour les trois registres du cancer 2004(oran, sétif, alger) (A.Nehal et *al.*, 2004).

Chez l'homme les cancers liés au tabagisme (cancers du poumon et de la vessie) et les cancers digestifs (cancers colorectaux et de l'estomac) dominent la pathologie masculine, constituant à eux seuls 44.5 % des cancers masculins (Hammouda et *al.*, 2002).

Au service d'onco-radiothérapie du CHU de Constantine, durant la période (2005-2007), les cancers du poumon représentaient 5 % du recrutement total. Les cancers bronchiques non à petites cellules représentent 84 % des cancers bronchiques. Les formes localement avancés ou métastatiques représentent 80% (Boudaoud ,2009).

Les cancers broncho-pulmonaires comme tous les types de cancers épithéliaux, se développent selon un processus multi-étapes (Baldi et *al.*, 2008 ): initiation, promotion, progression (Adeline, 2009) :

**I.1. 1.Initiation** : Cette étape correspond à la formation d'une lésion au niveau de l'ADN générée par une substance génotoxique endogène ou exogène. Si ces lésions ne sont pas réparées, ou si la réparation est fautive, elles conduisent à la formation d'une mutation, transmise aux cellules filles lors du cycle cellulaire suivant. Les conséquences des mutations dépendent des gènes touchés. La plupart des mutations touchent des régions non codantes de l'ADN, n'entraînant aucune conséquence biologique pour l'individu. Les gènes clés de la cancérogénèse aboutissant à la transformation cellulaire si mutés sont de 2 types :

**I.1. 1.1.les proto-oncogènes** : activables en oncogène par mutation : Ce sont des gènes associés au contrôle positif du cycle cellulaire, codant pour des facteurs de croissance cellulaire, des protéines de transduction ou encore des récepteurs membranaires (ex : RAS, ERB, MYC) (Adeline, 2009).

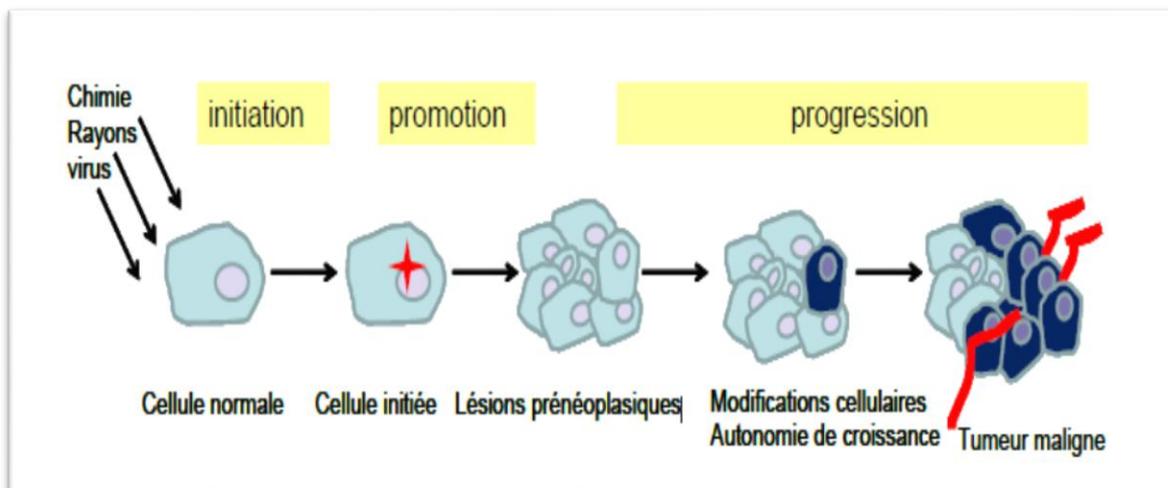
**I.1. 1.2.Les gènes suppresseurs de tumeurs** : qui ont un rôle dans le contrôle et la régulation de la prolifération cellulaire ainsi que dans la réparation et la stabilisation du génome (Adeline, 2009).

Ces gènes codent pour des protéines ayant un rôle dans l'arrêt du cycle cellulaire afin de permettre les éventuelles réparations de l'ADN, mais aussi dans l'apoptose et également des protéines de la réparation (ex : p53, p21) (Adeline, 2009).

**I.1. 2.Promotion** : les cellules initiées vont se multiplier de façon clonale entraînant une accumulation des mutations. Ceci se fait sous l'action d'un agent dit promoteur (Adeline, 2009).

**I.1. 3.Progression** :

Cette étape se caractérise également par des mécanismes d'invasion tumorale, de capacités métastatiques et un mécanisme d'angiogénèse permettant d'irriguer la tumeur (Adeline, 2009).



**Figure 01** : Processus multi-étape du développement d'un cancer (Adeline, 2009).

## **I.2. Classification des tumeurs broncho-pulmonaires**

La classification de 2004 de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) distingue différents types histologiques de cancers broncho-pulmonaires : les carcinomes épidermoïdes, les adénocarcinomes, les carcinomes à grandes cellules et les carcinomes à petites cellules.

Les cancers broncho-pulmonaires non à petites cellules et les cancers broncho-pulmonaires à petites cellules (CBPPC) diffèrent par leur rapidité d'évolution et les modalités thérapeutiques utilisées. Les CBPNPC représentent environ 85% des cas alors que les CBPPC, les plus agressifs, touchent environ 15% des patients (Travis et *al.*, 2004).

## **I.2. 1. Les différents types histologiques de cancers broncho-pulmonaires**

### **I.2. 1. 1. Les carcinomes épidermoïdes**

Plus de 90% des carcinomes épidermoïdes atteignent des fumeurs. Chez ces patients, des lésions pré-néoplasiques précèdent généralement l'installation d'un carcinome épidermoïdes puis d'un carcinome infiltrant. Plusieurs étapes se succèdent sous l'effet des carcinogènes du tabac. La transformation d'une cellule épithéliale bronchique conduit à une hyperplasie, une métaplasie malpighienne puis une dysplasie. L'épithélium cilié et pseudostratifié devient ainsi pavimenteux et pluristratifié. Histologiquement, les carcinomes épidermoïdes infiltrants se caractérisent par l'existence de jonctions intercellulaires et d'une kératinisation (Collins et *al.*, 2007). Demeurant le plus fréquent en France, avec 40% des cas de cancers broncho-pulmonaires, le carcinome épidermoïde se localise préférentiellement dans une bronche lobaire ou segmentaire. Il se présente souvent sous la forme d'une tumeur végétante, proximale dans les 2/3 des cas, et est fréquemment associé à une pneumonie obstructive.

Lorsque la tumeur est périphérique, une nécrose centrale est habituelle. Elle présente souvent une extension locale agressive. Il semblerait que l'association de ce type de cancer avec la consommation de tabac brun et celle de cigarettes sans filtre soit plus marquée.

En immunohistochimie, le marquage des cytokératines de haut poids moléculaire et de l'EGF-R (*Epidermal Growth Factor Receptor*) est fréquemment positif (Travis et *al.*, 2004).

### **I.2. 1. 2. Les adénocarcinomes**

Les adénocarcinomes représentent 30% des cas de cancers broncho-pulmonaires en Europe et leur incidence en France augmente régulièrement pour atteindre 50% des cas. Ces adénocarcinomes sont hétérogènes et sont ainsi divisés en plusieurs sous-types histologiques, acineux, papillaire, bronchiolo-alvéolaire solide avec production de mucines, le plus fréquent étant la forme mixte qui associe ces différents sous-types (Travis et *al.*, 2004).

L'adénocarcinome est le plus souvent une tumeur périphérique qui se localise dans les régions sous-pleurales, entraînant des lésions non visibles à l'endoscopie. L'augmentation de sa fréquence serait expliquée par l'usage de tabac blond et surtout par l'utilisation de filtres.

En microscopie électronique, les cellules des adénocarcinomes, larges avec un noyau très irrégulier, possèdent à leur surface des microvillosités. Elles se caractérisent également par un réticulum endoplasmique et un appareil de Golgi relativement abondant et des granules sécrétoires.

En immunohistochimie, le marquage de l'antigène carcino-embryonnaire est le plus souvent positif de même que celui des cytokératines de faible poids moléculaire (Travis et *al.*, 2004). Une partie des adénocarcinomes pulmonaires présente une mutation du gène *Kras*.

### **I.2.1.3. Les carcinomes à grandes cellules**

Le carcinome à grandes cellules ou carcinome indifférencié à grandes cellules, de pronostic sombre, est une prolifération maligne indifférenciée de cellules à cytoplasme large, à noyau très atypique, ne présentant pas de différenciation squameuse ou glandulaire. Ce groupe représente environ 10% des cancers bronchiques, et comprend les carcinomes à grandes cellules avec des cellules géantes, les carcinomes à cellules fusiformes et les carcinomes endocrines à grandes cellules (Travis et *al.*, 2004).

### **I.2.2. Les cancers broncho-pulmonaires à petites cellules**

Le cancer broncho-pulmonaire à petites cellules (15% des cas) est une tumeur endocrine indifférenciée qui se localise généralement dans les voies aériennes proximales. La plupart des patients atteints d'un CBPPC sont des fumeurs. L'accumulation des mutations conduit à une perte d'activité des gènes suppresseurs de tumeur, notamment *p53* et *RB*, une très forte résistance à l'apoptose et une importante activité télomérase. Dans la majorité des cas, la tumeur est mal limitée et envahit très précocement les relais ganglionnaires hilaires et médiastinaux de même que les vaisseaux sanguins et lymphatiques. L'activité mitotique est très élevée et les tumeurs sont souvent très nécrotiques (Guillaume, 2009).

Les CBPPC sont constitués de cellules de petite taille, inférieure à 3 fois celle d'un lymphocyte, avec un rapport nucléo-cytoplasmique élevé, des limites cytoplasmiques mal définies et une chromatine finement granulaire sans nucléole visible. Les critères ultrastructuraux comme la présence de grains neurosécrétoires, sont très évocateurs. Les marqueurs immunohistochimiques les plus utilisés pour le diagnostic de CBPPC sont la chromogranine, spécifique du caractère endocrine, la synaptophysine et la protéine NCAM ou CD56 (Travis et *al.*, 2004).

## **I.3. Facteurs de risque**

### **I.3.1. Le tabac**

Depuis les années cinquante, il a été démontré formellement que le tabagisme était un facteur de risque indéniable de néoplasie pulmonaire (Wynder et *al.*, 1950). Il en est même le premier facteur de risque, quel que soit le type histologique, même s'il favorise davantage le développement de carcinomes épidermoïdes et d'adénocarcinomes à petites cellules. Il n'y a pas de seuil minimal de consommation en dessous duquel la consommation tabagique ne présenterait pas un facteur de risque de cancer du poumon (Fielding, 1988). On sait que l'élément déterminant pour le risque de carcinogénèse est plus la durée d'exposition au tabac que le nombre total de cigarettes fumées (Doll, 1978).

### **I.3.2.Facteurs professionnels**

- **L'exposition à l'amiante**

L'amiante a été utilisée de façon extensive pour ses propriétés isolantes et résistantes, dans la construction des maisons, des écoles et des bâtiments commerciaux, touchant ainsi une grande majorité de la population, à des taux néanmoins inférieurs à ceux des métiers à 2A1 un risque accru de développer un cancer du poumon chez les personnes exposées à l'amiante date de 1955 (Doll, 1978). Le risque de cancer du poumon associé à une exposition à l'amiante varie en fonction du degré d'exposition, du type de fibre et de la consommation tabagique concomitante. En effet, si le risque de cancer du poumon est 6 fois supérieur chez les personnes exposées à l'amiante seule, il est 59 fois supérieur chez les fumeurs exposés à l'amiante (Billelo, 2002).

#### **I.3.3.1.Le radon**

Le radon représente le second facteur de risque de cancer du poumon après le tabac (Samet *et al.*, 2009). Le radon est un gaz inerte produit par la désintégration de l'uranium. Il est présent dans les sols et les roches, il est capable de diffuser à travers la terre et de ce fait peut être présent à plus ou moins forte concentration dans les habitations. Le radon produit des dérivés radioactifs à durée de vie courte qui émettent des particules capables de détruire les épithéliums respiratoires (Billelo, 2002). Il existe une relation dose-réponse entre le degré d'exposition au radon et le risque de cancer du poumon. De plus, il existe une synergie entre l'exposition au radon et la consommation tabagique (Billelo, 2002).

#### **I.3.3.2.La pollution atmosphérique**

L'expertise collective de l'Inserm (Institut national de la santé et de la recherche médicale) et de l'Afsset (Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail) rendue publique en octobre 2008, a démontré que la pollution atmosphérique, d'origine automobile et industrielle, est un facteur, certes mineur comparé au tabac, mais qui pourrait favoriser le cancer pulmonaire. Cette pollution est due à des gaz, comme le dioxyde de soufre (SO<sub>2</sub>), le dioxyde d'azote (NO<sub>2</sub>), l'ozone (O<sub>3</sub>) et les fumées de diesel (Billelo, 2002).

#### **I.3.3.3.Comorbidités**

Comme Tockman l'a démontré en 1994, à consommation tabagique égale, les patients porteurs d'une broncho-pneumopathie chronique obstructive (BPCO) ont un risque relatif significativement plus important de développer un cancer du poumon, quel que soit le type histopathologique de celui-ci. Les fibroses et les cicatrices pulmonaires augmentent aussi le risque du cancer du poumon, particulièrement celui d'adénocarcinome (Frusch *et al.*, 2007).

### **I.1.2.3. Prédilection génétique**

La relation entre tabagisme et cancer du poumon est indiscutable. Mais, comme seuls 10 à 15 % des fumeurs réguliers et que des personnes n'ayant jamais fumé développeront cette pathologie, on pense qu'il existe une certaine sensibilité génétique aux agents cancérogènes environnementaux (Frusch et *al.*, 2007).

Quelques études se sont concentrées sur le polymorphisme génique au niveau des voies métaboliques d'activation des substances cancérogènes, des voies de détoxification et des mécanismes de réparation de l'ADN (Frusch et *al.*, 2007).

Pour se lier à l'ADN et induire des lésions géniques, les hydrocarbures polycycliques aromatiques (présents dans les cigarettes) doivent être métabolisés par des enzymes du cytochrome P450. Le CYP1A1 et le CYP2D6 font partie de celles-ci. Pour le CYP1A1, le polymorphisme MspI et une mutation au niveau du codon 462 de l'exon 7 du gène codant pour cette enzyme (cette dernière mutation appelée Ile462Val entraîne le remplacement de la valine par l'isoleucine à proximité du site protéique liant l'hème) étaient associés à un risque accru de développer un cancer du poumon. Les sujets porteurs du phénotype CYP2D6 métaboliser rapidement de la débrisoquine pourraient être à risque accru de développer une néoplasie pulmonaire, mais les résultats des études portant sur ce sujet sont contradictoires (Frusch et *al.*, 2007).

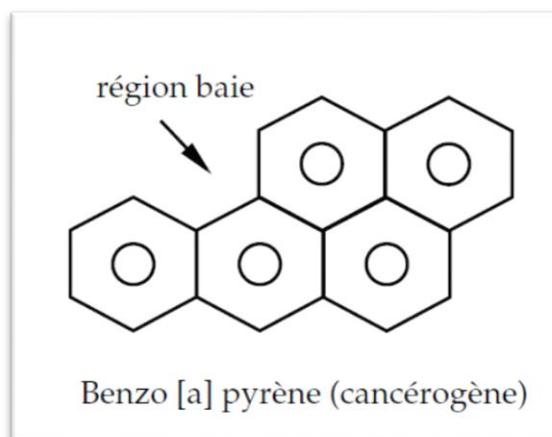
La glutathion S-transférase est une enzyme détoxifiant les métabolites réactifs des hydrocarbures aromatiques polycycliques (Frusch et *al.*, 2007). Certains polymorphismes géniques de cette enzyme ont été associés au cancer du poumon (Frusch et *al.*, 2007). Une méta-analyse a montré que les patients ne possédant pas l'allèle GSTM1 étaient plus à risque que ceux le possédant (Frusch et *al.*, 2007). La conjugaison de la présence de l'allèle CYP1A1 Ile462Val et de l'absence d'allèle GSTM1 augmenterait de quatre fois le risque de développer un cancer du poumon chez le sujet non-fumeur (Alberg et *al.*, 2005).

### **I.2. Le benzo(a)pyrène B(a)P**

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) sont des composés organiques constitués des carbones et des hydrogènes possédant deux ou plusieurs cycles benzéniques fusionnés, et sont générés lors de la combustion incomplète de la matière organique (Adeline, 2009). Parmi ces HAP, le benzo (a) pyrène serait le plus puissant cancérogène du tabac impliqué dans la cancérogénèse pulmonaire, générant des mutations médités d'une part par la formation d'adduit à l'ADN et d'autre part par le stress oxydatif cellulaire qui à son tour peut provoquer ou exacerber les lésions mutagènes (Adeline, 2009).

### I.2.1. Structure

Le benzopyrène ou benzo[a]pyrène est un composé de formule C<sub>20</sub>H<sub>12</sub>, Il est l'un des plus connus des HAP. C'est un polluant persistant préoccupant ; structurellement formé de cinq cycles fusionnés.



**Figure 02 :** Structure chimique du benzo [a]pyrène (Adeline, 2009).

### I.2.2 Propriétés physicochimiques de B(a)P

A température ambiante ordinaire, le b(a)p se présente sous forme de cristaux jaunes inodores. Il est très peu soluble dans l'eau mais solubles dans de nombreux solvants organiques (aromatiques, chlorés...) (Iars ,1973 ; 1990).

Le b(a)p est une substance stable jusqu'à des températures très élevées. En solution, il s'oxyde sous l'influence de la lumière, de l'air et de la chaleur (S.chem ; 1990).

Ses principales caractéristiques sont :

Masse molaire	2552.32
Température de fusion	175 °C
Température d'ébullition	475°C à la pression atmosphérique
Densité	1,351

### I.2.3.Toxicité de B(a)P chez l'animal (Génotoxicité et Cancérogènes)

#### I.2.3.1. Génotoxicité

Le BaP est classé cancérogène de groupe 1, c'est-à-dire avéré, par le Centre international de Recherche sur le Cancer. Il est impliqué entre autre chez les rats, souris et hamsters dans l'apparition

de tumeurs de l'estomac, l'œsophage, du larynx ou des poumons (Bae *et al.*, 2005; Goyal *et al.*, 2010; Tung *et al.*, 2014). La formation d'adduits à l'ADN est considérée comme une étape clé dans les phénomènes de cancer ; elle en serait l'un des événements initiateurs (Miller 1981; 1970). En effet, les adduits à l'ADN ont des effets mutagènes, carcinogènes et génotoxiques, induisant des cassures de l'ADN (Li *et al.*, 2007).

Ces adduits se forment entre autres par la liaison d'un métabolite réactif du BaP, le BPDE, sur les sites nucléophiles de l'ADN, notamment les sites des guanines (Li *et al.*, 2007).

### **I.2.3.2.Cancérogénèse**

Le benzo (a) pyrene est un cancérogène locale et systématique pour des nombreuses espèces animal par **voie inhalatoire**, oral, cutané, intrachéale par injection et par exposition transplacentaire.

Par **inhalation**, une exposition sur toute la durée de la vie induit, chez le hamster, une augmentation fonction de la dose du taux polypes, papillomes et carcinomes à cellules squameuses dans le tractus respiratoires supérieur (nez, larynx et trachée) et dans le tractus gastro-intestinal supérieur (pharynx, œsophage et pré-estomac).

Par **voie oral**, il induit des tumeurs de l'œsophage, du pré-estomac et d'estomac chez la souris, le rat, et le hamster. Des adénomes pulmonaires et des leucémies apparaissent chez la souris (250 ppm dans la nourriture pendant 40 j) et des tumeurs mammaires chez le rat (100 mg, une instillation intragastrique). Des papillomes sont observés après une seule dose orale ; cependant, plusieurs expositions sont nécessaires pour produire des carcinomes (Chen ; 1990).

Par **instillation intratrachéale**, il induit des tumeurs seul pulmonaires chez le rat, la souris et le singe et des tumeurs bronchiques chez le hamster (Wyrobeck *et al.*, 1983). L'incidence des tumeurs pulmonaires est augmentée par coexposition avec des particules (oxyde de fer ou de plomb) ou certains gaz (dioxyde de soufre).Les résultats équivoques par inhalation chez la souris et le hamster (Wyrobeck *et al.*, 1983).

Par **application cutanée**, il induit des tumeurs locales (papillomes et carcinomes) chez le rat, le lapin et la souris .Chez la souris, la dose minimale efficace est différente selon la souche (0 ,38 µg à plus de 94 µg par application). Les résultats sont moins nets chez le hamster et le cobaye (Chen; 1990).

Par **injection sous-cutanée**, il produites des sarcomes locaux chez la souris, le rat, le hamster, le cobaye et le singe. Chez le souriceau nouveau-né ; traité pendant les premiers jours de la vie, apparaissent des hépatomes et/ou des adénomes pulmonaires (Chen; 1990).

Par **voie transplacentaire**, il induit des tumeurs pulmonaires et hépatiques chez la souris Ha/ICR, des tumeurs hépatiques chez les souris A et C57bl, et chez le lapin (Wyrobeck *et al.*, 1983).

L'application de B(a)P sur la peau de la souris gestante pendant quatre générations induit la sensibilisation des petits aux effets cancérigènes du B(a)P (augmentation du taux d'apparition des papillomes et des carcinomes après application cutanée) (Iarc ; 1973 ).

Le B(a)P agit comme initiateur et comme promoteur ; une exposition continue ne serait pas nécessaire pour que les cellules initiées deviennent des tumeurs, cependant, la présence de B(a)P est nécessaire pour la progression vers le néoplasme (Chen; 1990).

Le cancérigène ultime serait le métabolite (+) -anti -benzopyrène -7,8-dihydrodiol-9,10-époxyde qui forme des adduits avec l'ADN (Chen; 1990).

#### **I.2.4.Toxicité de B(a)P chez l'homme**

Chez l'homme, les effets toxiques du B(a)P ont été étudiés à partir de mélanges d'HAP. Cependant, des cancers du poumon, des tumeurs de la peau et du scrotum sont observés chez les salariés de cokeries, de production d'aluminium, chez les ramoneurs, ainsi que chez les ouvriers effectuant des revêtements routiers (Chen; 1990).Quelle que soit la voie d'exposition, le B(a)P est rapidement distribué dans l'organisme en quelques minutes à quelques heures. Du fait de sa forte liposoluble, le B(a)P est stocké dans les glandes mammaires et les tissus riches en graisses. Il est ensuite relargué progressivement dans la circulation sanguine (Iars ;1983).

Le B(a)P et ses métabolites sont principalement éliminés dans les fèces (70-75%), seuls 4-12% étant éliminés par voie urinaire (Chen ; 1990).

#### **I.2.5.Métabolisme de B(a)P**

Le B(a)P est transformé en une vingtaine de métabolites oxydés et en un grand nombre de composés conjugué.

L'oxydation initiale est effectuée par une monooxygénase à cytochrome p450 (CYP).Cette enzyme microsomiale est présente dans tous les tissus de mammifères. Y compris la peau avec chez l'animal , le taux le plus élevé dans le foie (Brooks P, 1977) .L'époxyde hydrolase , contenue dans la fraction microsomiale de nombreux organes et tissus ( foie ,testicules ,ovaires ;poumons ,riens , peau ,intestins ,rate ,thymus ,cerveau et cœur) (Amdur ; Doll ,1996) hydrolyse les époxydes formés en dihydrodiols , qui sont oxydés à leur tour par une monooxygénase à cytochrome P450 en dihydrodiol-époxydes.

Chez le rat et la souris, les enzymes d'oxydation appartiennent à la famille des enzymes humains à cytochrome P450 différent de celles des rongeur : dans le foie et les poumons,

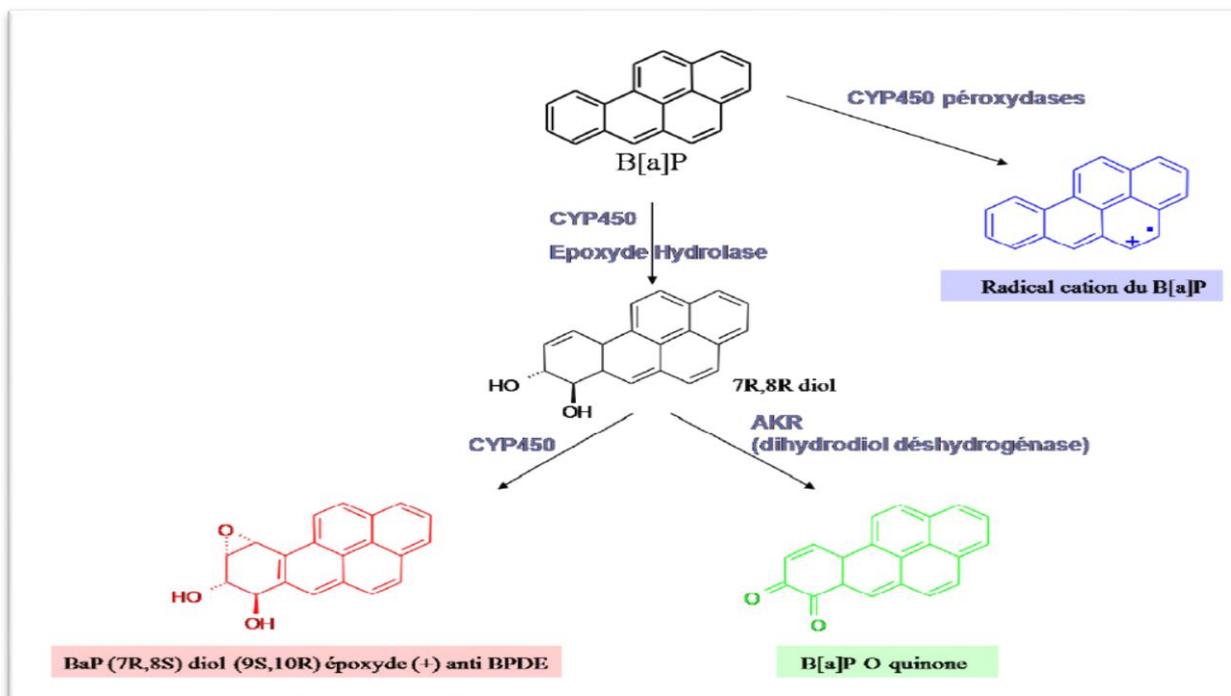
l'oxydation initiale est catalysée par CYP 1A1 puis, l'oxydation ultérieure est effectuée CYP 3A4 (Amdur et Doll ,1996).

Cependant, les métabolites formés in vitro, dans les cellules ou les explants tissulaires humains sont identiques à ceux formés chez l'animale (Iarc, 1973 ; 1983). Ces enzymes sont inductibles les HAP.

Le B(a) -7,8-dihydrodiol-9-10-époxyde, métabolite le plus réactif, se fixe de façon covalente aux macromolécules (désoxyguanoside l'ADN, acides diaminés de l'hémoglobine ou de l'albumine) pour former des adduits. La quantité d'adduits formés in vitro est la plus élevés chez l'homme puis, par ordre décroissant, le hamster ; le rat et la souris (Dybing ; Huitfedt, 1992). Chez le rat, après administration intra péritonéale, la quantité la plus importante d'adduits à l'ADN se trouve dans les poumons, elle est en corrélation avec la quantité d'adduits dans les leucocytes (Dybing ; Huitfedt, 199).

Les adduits à l'ADN son encore détectables 56 jours après la fin de l'exposition (Qusx, 1996).

Ils sont identiques chez l'homme, ils varient en quantité d'un individu à l'autre en fonction de la nourriture, des habitudes tabagiques et de la différence d'inductibilité enzymatique due au polymorphisme génétique (Qusx, 1996).



**Figure 03** : Principales voies de métabolisation du B(a)P (Amdur et Doll ,1996).

## **Chapitre II. La thérapie photodynamique (PDT)**

### **II.1. La thérapie photodynamique (PDT)**

#### **II.1.1. Historique de la thérapie photodynamique (PDT)**

Une des principales applications de l'interaction « lumière-vivant » concerne la thérapie photodynamique (PDT) comme traitement d'affections localisées en cancérologie et en ophtalmologie. (Stepp., 2003).

La première étude de la PDT a été décrite par Raab en 1897, où il décrit la mort de paramécies sous l'action de la lumière et en présence d'acridine orange (O, 1900). Les premiers essais cliniques avec l'éosine ont été réalisés par von Tappeiner et Jesionek en 1903, qui ont introduit le terme de «thérapie photodynamique» (Von Tappeiner et *al.*, 1904). En 1960, Lipson et *al.* déterminent les propriétés photodynamiques de l'hématoporphyrine (HpD) (Lipson et *al.*, 1960) et en 1972, Diamond et *al.* Démontrent que l'HpD, activée par la lumière blanche induit la régression d'un gliome expérimental chez le rat. (Diamond et *al.*, 1972). Les effets curatifs de la PDT ont également été obtenus sur un modèle de tumeur mammaire transplantée chez des souris sensibilisées à la fluorescéine (Dougherty et *al.*, 1974). L'application de la PDT pour le traitement des tumeurs vésicales a été réalisée pour la première fois par Kelly et Snell en 1975. (Kelly et *al.*, 1975). Ces derniers ont observé que l'action de la lumière en présence de l'HpD, induisait la destruction totale de tumeurs vésicales humaines transplantées chez des souris nude. Les études précliniques réalisées par Dougherty et *al.* ont révélé l'efficacité de la PDT dans le traitement de différents types de carcinomes humains (sein, colon, prostate, endomètre, mélanome malin, chondrosarcome, angiosarcome) (Dougherty et *al.*, 1978).

#### **II.1.2. Définition de thérapie photodynamique**

La thérapie photodynamique (PDT) du cancer est un traitement non invasif de petites et superficielles tumeurs actuellement utilisées dans un certain nombre de pays (Pandey, 2000). La thérapie est basée sur l'administration systémique d'un photosensibilisateur de localisation de tumeurs suivi d'illumination à la lumière d'une longueur d'onde appropriée.

Les réactions photodynamiques résultantes donner naissance à de l'oxygène singulet ( $^1O_2$ ) et à d'autres espèces actives d'oxygène qui mènent la destruction du tumeur. L'efficacité de la PDT dépend du développement de nouveaux médicaments et la capacité de ces médicaments à s'accumuler sélectivement dans les tissus tumoraux en comparaison avec des tissus normaux. Plusieurs nouvelles

classes des photosensibilisateurs pour PDT ont atteint le stade des essais cliniques au cours des dernières années (Owens, 1980).

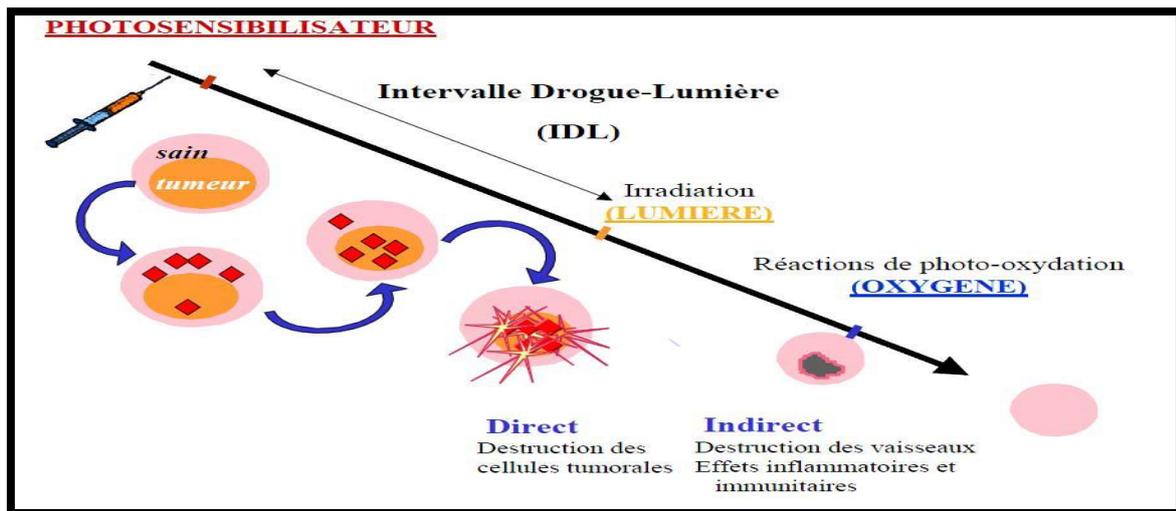
### **II.1.2.1.Principe**

La thérapie photodynamique (PDT) est basée sur l'activation par la lumière de molécules photoactivables préférentiellement retenues par les tissus néoplasiques. Sous l'effet d'une irradiation lumineuse à une longueur d'onde spécifique et en présence d'oxygène, ce PS génère des ERO ayant des effets cytotoxiques qui conduiront à la mort des cellules tumorales par nécrose ou apoptose (Agostinis et *al.*, 2011).

L'effet anti-tumorale de la PDT résulte à la fois de dommages directs au niveau des cellules tumorales, de dommages indirects caractérisés par l'altération de la vascularisation tumorale et l'induction d'une réaction inflammatoire conduisant au développement d'une immunité systémique (Agostinis et *al.*, 2011). La contribution relative de chacun de ces mécanismes dépend principalement du type de PS utilisé, de l'intervalle de temps entre l'administration et l'exposition à la lumière conditionnant la localisation du PS dans la tumeur ou la vascularisation, et du degré de vascularisation de la tumeur (Agostinis et *al.*, 2011).

Dans le cas d'un traitement anticancéreux, le PS est administré, dans un premier temps, à un patient, le plus souvent par voie intraveineuse. Une fois dans le sang, le PS, en fonction de ses caractéristiques physico-chimiques, se lie à certaines protéines plasmatiques (lipoprotéine, albumine, globuline), qui l'acheminent vers les différents tissus. Dans un second temps, la tumeur est illuminée localement par une lumière dont la longueur d'onde correspond au maximum d'absorption de la molécule photoactivable (Yu et *al.*, 2003). Cette étape s'effectue généralement par endoscopie lorsqu'il s'agit de traiter les tumeurs dans les organes creux. Un rayonnement laser est généralement utilisé, guidé jusqu'à la tumeur via une fibre optique et un diffuseur de lumière d'irradiation du PS en présence d'oxygène induit des réactions de photo-oxydation qui aboutissent à la destruction des cellules tumorales ciblées.

De délai entre l'administration et l'irradiation, pouvant aller de quelques minutes à plusieurs jours, est appelé Intervalle-Drogue-Lumière (IDL). Ce délai est fonction de la pharmacocinétique du PS et de l'application clinique. Il correspond à la durée nécessaire pour une localisation du PS en faveur de la tumeur par comparaison aux tissus sains (Dougherty et *al.*, 1998).



**Figure 04** : Principe de la thérapie photodynamique (Dougherty et *al.*, 1998).

### II.1.2.2. Principaux facteurs influençant l'efficacité de la thérapie photodynamique

L'activité photodynamique est influencée à différents niveaux individuellement ou collectivement par trois principaux acteurs : la lumière, l'O<sub>2</sub>, et le PS. Une thérapie efficace exige la présence de ces trois éléments essentiels dans toutes les régions ciblées et une seule déficience d'un de ces trois éléments empêche toute activité phototoxique.

#### II.1.2.2.1. La lumière

Une excitation efficace du PS nécessite une source lumineuse générant une quantité suffisante de photons d'une longueur d'onde adaptée aux spectres d'absorption électronique du PS. La phototoxicité dépend surtout du type de cellules cancéreuses, de la dose de lumière administrée et bien sûr de la localisation intracellulaire du PS.

La lumière est l'un des trois constituants essentiels de la PDT. De la simple lumière du jour jusqu'aux Lasers à longueur d'onde et puissance variables et précises, elle est le facteur déclencheur de la réaction de la thérapie. La sélectivité du traitement à la PDT peut être obtenue grâce à l'accumulation sélective du PS dans la tumeur, mais aussi par une illumination très ciblée sur le tissu voulu, évitant ainsi tout dommage inutile aux tissus sains environnant. Chaque agent requiert une longueur d'onde ( $\lambda$ ) et une intensité spécifiques. La longueur d'onde émise par les lumières d'excitation détermine la profondeur de pénétration sous-cutanée pour atteindre les cellules cancéreuses. La pénétration de la lumière ( $\delta$ ) dans les tissus est un élément limitant de la PDT. Elle est influencée par plusieurs facteurs : sa longueur d'onde, le type et la pigmentation du tissu, la dimension et la localisation de la tumeur ainsi que les caractéristiques d'absorption du PS. Les

sources de lumière utilisées sont soit des lampes, soit des Lasers ou des diodes électroluminescentes (Nowis et *al.*, 2005).

Le coefficient d'atténuation du tissu décrit la diminution exponentielle de l'intensité lumineuse en fonction de la distance parcourue. À titre d'exemple, la valeur de  $\delta$  dans un rétinoblastome (tumeur de rétine) est de 1,6 mm à 514 nm, et de 3,3 mm à 630 nm. Pour un tissu de mélanome de cellules B16, pigmenté,  $\delta$  a une valeur de 0,5 mm à 630 nm. Des valeurs sont publiées dans la littérature mais les techniques de détermination sont délicates et les résultats ne sont pas toujours cohérents. La zone allant de 620 à 800 nm est la seule à présenter une relation étroite entre la profondeur de pénétration de la lumière et la longueur d'onde de la source lumineuse incidente. Ainsi, à l'intérieur de cette fenêtre thérapeutique, plus la longueur d'onde est élevée et plus la lumière pénètre profondément dans les tissus (3-8 mm de 630 à 800 nm) (Nowis et *al.*, 2005).

À 600 nm, la forte capture des photons émis par l'hémoglobine limite fortement la pénétration de la lumière dans le tissu. Tandis qu'une lumière de longueur d'onde supérieure à 900 nm n'émet pas une énergie suffisante permettant la production de l' $^1O_2$  (Agostinis et *al.*, 2011).

#### **II.1.2.2.2.L'oxygène**

L' $O_2$  est indispensable au déclenchement de la réaction phototoxique. L'efficacité de la PDT est proportionnelle à la pression partielle de l' $O_2$  ( $pO_2$ ) et est complètement abolie en son absence (Henderson et *al.*, 1998). Plusieurs facteurs influencent la  $[O_2]$  dans les tissus comme la vascularisation, les caractéristiques du tissu, l'hétérogénéité et le métabolisme cellulaire (Nowis, Dominika et *al.*, 2000). La  $pO_2$  diminue en fonction de l'éloignement du réseau capillaire et augmente avec le nombre de vaisseaux sanguins. La  $pO_2$  dans les tissus humains est largement inférieure à celle de l'air que nous respirons. En effet, si la  $pO_2$  est de 15% au niveau des alvéoles pulmonaires, elle n'est que de 4% dans le foie, de 3% au niveau de la moelle osseuse et peut descendre jusqu'à 0,025% au centre d'une tumeur (Ebbesen et *al.*, 2000). La  $[O_2]$  varie en fonction de l'emplacement de la tumeur, donc une tumeur rénale est généralement moins oxygénée qu'une tumeur pulmonaire. L'hypoxie se définit comme une  $[O_2]$  inférieure aux valeurs physiologiques et qui ne permet pas de satisfaire aux besoins des tissus. L'hypoxie se situe à une  $pO_2 < 0,5\%$  (Lewis et *al.*, 1999).

L'oxygénation tissulaire est essentielle dans la réussite de la PDT. Des cellules hypoxiques, dont l'oxygène est inférieur à 5%, sont résistantes à la PDT. (Macdonald et *al.*, 2003).

### **II.1.2.2.3. L'oxygène singulet**

L'oxygène singulet, qui est l'agent cytotoxique prédominant en PDT, est une espèce très réactive dont la durée de vie varie de 10 à 100 ns dans les solvants organiques, et est réduite à 2  $\mu$ s dans les milieux aqueux. Son activité est donc limitée à un volume sphérique relativement confiné, pas plus large que l'épaisseur d'une membrane cellulaire (cible importante en PDT) (Macdonald et al., 2003).

La capacité à produire de l'oxygène singulet est une quantité déterminée empiriquement que l'on appelle le rendement quantique de l'oxygène singulet. Il correspond au nombre de molécules d'oxygène singulet formées par nombre de photons absorbés (Macdonald et al., 2003).

### **II.1.2.2.4. Les photosensibilisateurs**

On peut définir la photosensibilisation comme le processus suivant lequel un changement photochimique ou photophysique se manifeste au niveau d'une entité moléculaire, comme conséquence de l'absorption initiale de radiations par une autre entité moléculaire appelée agent photosensibilisant ou photosensibilisateur (Vincent, 2010).

Les PS sont des molécules absorbant la lumière à une longueur d'onde ( $\lambda$ ) qui leur est spécifique et qui sont capables de la transformer en énergie utile. Lors de la PDT, cette énergie participe à la production d'agents létaux cytotoxiques (Sharman, 1999).

Les molécules utilisées en PDT doivent idéalement présenter les caractéristiques suivantes: (Giulio, 1996).

#### **II.1.2.2.4.1. Physico-chimiques**

- grand coefficient d'extinction molaire dans le rouge ou le proche à l'infrarouge.
- faible tendance à l'agrégation en milieu aqueux.
- stabilité en présence de protéines.
- longue durée de vie de l'état triplet.
- fort rendement de génération d' $^1O_2$  et/ou de transferts d'électrons aux molécules du substrat.
- relative stabilité sous flux lumineux.
- forte absorption entre 620 et 800 nm (fenêtre thérapeutique).

#### **II.1.2.2.4.2. Pharmacologiques :**

- sélectivité vis-à-vis des tissus tumoraux (captation et rétention).

- haute clairance.
- faible toxicité systémique et courte photosensibilisation cutanée induite (Karrer et *al.*, 1999).

#### **II.1.2.2.4.3. Photothérapeutiques :**

- haute phototoxicité.
- absence de potentiel mutagène sous irradiation lumineuse.

#### **II.1.2.3. Générations des photosensibilisateurs :**

Il existe de nombreux photosensibilisateurs d'origine naturelle ou synthétique. Ceux utilisés en PDT sont facilement différenciables selon leur origine tétrapyrrolique ou nontétrapyrrolique (Connor et *al.*, 2009):

- les photosensibilisateurs non tétrapyrroliques (e.g. les psoralènes, le bleu de méthylène, l'hypéricine).
- les photosensibilisateurs tétrapyrroliques, dont la structure est basée sur celle de la porphyrine :
  - de 1ère génération: les molécules d'origine naturelle.
  - de 2ème génération: les molécules de synthèse.
  - de 3ème génération: les molécules vectorisées.

Les photosensibilisateurs de 1 ère génération les premières molécules utilisées en clinique ont été l'hématoporphyrine (Hp) et ses dérivés purifiés (HpD), comme le Photofrin. Ces composés de première génération présentent néanmoins plusieurs inconvénients majeurs. Leur faible sélectivité tumorale associée à une clairance lente induit une photosensibilisation cutanée de plusieurs semaines. Leur faible absorption dans le rouge rend difficile le traitement des tumeurs profondes. (Konan et *al.*, 2002).

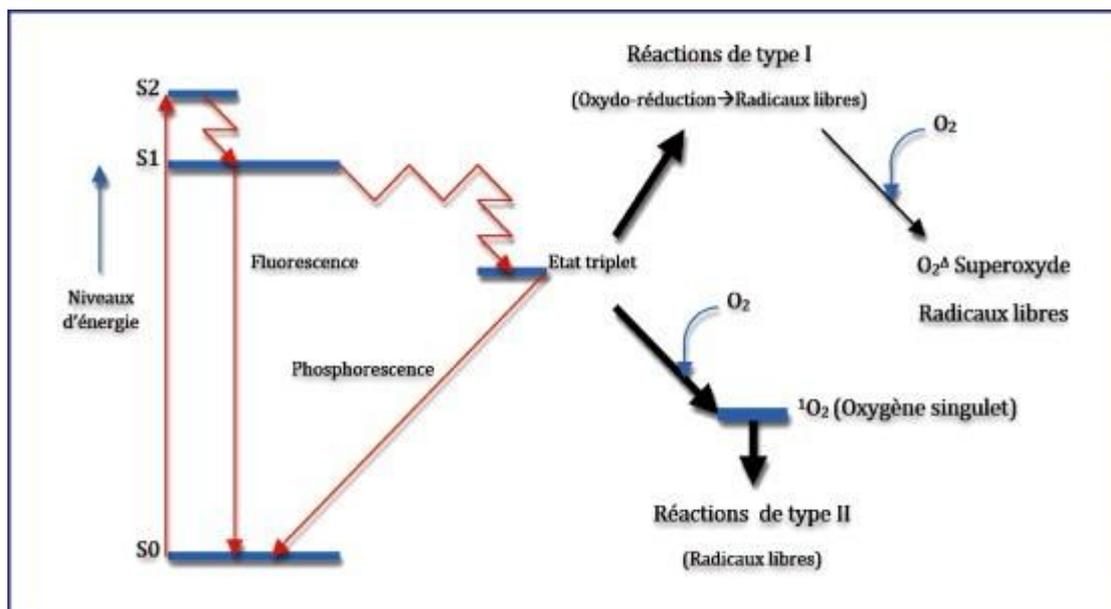
Les PS de 2ème génération: Ces composés synthétiques ou semi-synthétiques (comme par exemple, le Foscan! ou m-THPC, les phtalocyanines et les phéophorbides) ont été produits dans le but de dépasser les limites des PS de première génération. Ceux-ci possèdent un fort coefficient d'extinction molaire tout en gardant une longueur d'onde d'activation dans la fenêtre du rouge (650-800 nm), un haut rendement de production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et une clairance rapide. Tous ces PS dérivent d'une structure tétrapyrrolique de type chlrorrine ou phtalocyanine à laquelle peuvent être ajoutés des substituants. (Mitra et *al.*, 2005 ).

Les photosensibilisateurs de 3ème génération sont des PS de deuxième génération modifiés de manière à favoriser leur accumulation préférentielle dans le tissu tumoral. Ces modifications, se traduisent par l'addition de divers groupements chimiques (acides aminés, sucres, protéines, polymères, hydrates de carbone), par le couplage à des anticorps spécifiques ou l'inclusion du PS dans des vecteurs (liposomes, micelles, nanoparticules) (Pegaz et *al.*, 2006).

### **II.1.2.3.Mécanisme d'action**

Le principe photophysique de la PDT est illustré par le diagramme de Jablonski (Figure 05). Après administration du PS, l'exposition de la tumeur à une lumière de type laser de longueur d'onde spécifique, va provoquer la photo-activation du photosensibilisateur, définie par le changement d'état), le photosensibilisateur acquiert de l'énergie et passe de celui-ci. Par absorption de la lumière (h d'un état fondamental  $S_0$  à un état excité  $S_2$  de courte durée de vie qui va être stabilisé par conversion interne au niveau d'excitation singulet le plus bas  $S_1$ . Cet état étant très instable ( $10^{-9}$  s), il va rapidement laisser place à un état intermédiaire dit «triplet» (T1) par passage inter-système. Dans son état triplet de durée de vie plus longue ( $10^{-6}$  à 1s en fonction de son environnement), le

photosensibilisateur est un agent très réactif pouvant intervenir dans deux types de réaction photochimique (Figure 05): la réaction photochimique de type I: cette réaction implique l'interaction directe du PS à l'état excité triplet avec les substrats biologiques se trouvant à proximité. Elle se traduit par la formation d'ERO et de radicaux libres comme le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), l'anion superoxyde ( $O_2^-$ ) et le radical hydroxyle ( $\cdot OH$ ), reconnus comme de puissants oxydants d'une grande variété de biomolécules. La réaction photochimique de type II : le PS à l'état triplet réagit avec l'oxygène moléculaire ( $3O_2$ ) conduisant à la formation d'une espèce particulièrement réactive de l'oxygène, l'oxygène singulet ( $1O_2$ ). De par sa forte réactivité l'oxygène singulet réagit avec un grand nombre de substrats biologiques provoquant des dommages oxydatifs aboutissant à la mort cellulaire. Les réactions de type I et de type II peuvent se produire simultanément. Cependant, la réaction de type II apparaît majoritairement en PDT antitumorale. La cytotoxicité induite par la PDT est donc principalement le résultat de phénomènes d'oxydation entraînant la dégradation des acides aminés (histidine, tryptophane, méthionine), et des lipides composant les membranes cellulaires et les mitochondries (cholestérol, phospholipides) (Dougherty *et al.*, 1978; Pegaz *et al.*, 2006).



**Figure 05** : diagramme de Jablonski et réaction photochimique de type I et II (Dougherty et *al.*, 1978; Pegaz et *al.*, 2006).

## II.2. Les métallophthalocyanines (MPCs)

### II.2.1. Généralités

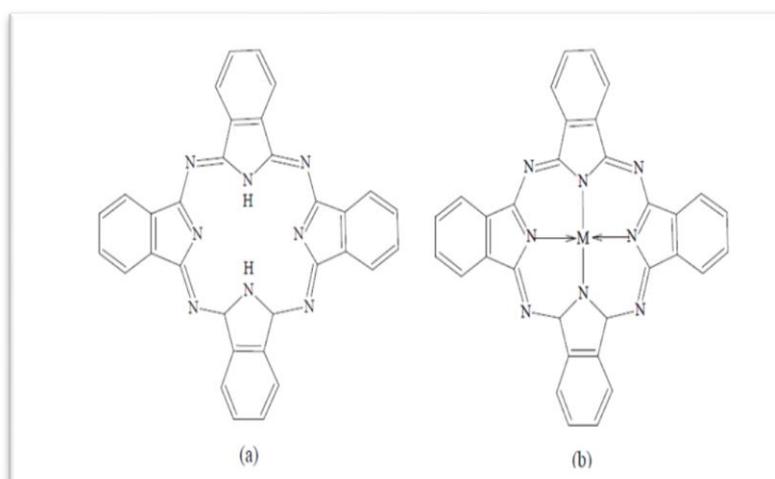
Les phthalocyanines sont sans doute les systèmes chromophores les plus étudiés depuis le début du 20<sup>ème</sup> siècle. H<sub>2</sub>Pc est le premier composé de structure macrocyclique de type phthalocyanine découvert accidentellement par Braun et Tcherniak (Braun et *al.*, 1907). La « découverte officielle » des phthalocyanines a eu lieu par hasard dans une entreprise produisant des peintures en Ecosse (Scottish Dyes). Dans cette entreprise, le procédé de synthèse de phthalimide utilisait la réaction entre l'anhydride phthalique et l'ammoniaque dans des récipients en fer. Au lieu d'obtenir un solide blanc (phthalimide), un produit cristallin, bleu, très stable qui contenait du fer été isolé. Linstead a entrepris plusieurs expériences sur des composés de type MPCs et c'est lui qui leur a donné le nom de métallophthalocyanines (Linstead et *al.*, 1934).

### II.2.2. Définition et application

Les MPCs trouvent des applications comme colorants (Tsutomu et *al.*, 2007) dans les peintures, les encres, les textiles ou bien comme agents de blanchiment pour les lessives (Rabion et *al.*, 2006). Les MPCs sont également rencontrées dans le domaine médical comme agents photosensibilisateurs pour le traitement du cancer (Holzle et *al.*, 1985).

Les métallophthalocyanines (MPCs) sont des complexes macrocycliques aromatiques. (Ouemega et *al.*, 2011).

Les MPCs sont des complexes possédant un métal central (alcalins, alcalino-terreux, aluminium, métaux de transition) lié à un ligand phthalocyanine. La formule développée est présentée sur la Figure 4. Le système moléculaire est constitué de quatre unités isoindole connectées par quatre atomes d'azote qui forment ensemble un anneau contenant une alternance de 16 atomes de carbone et d'azote. Le métal d'une MPC est au centre d'une structure macrocyclique ce qui rend le complexe insoluble dans la plupart des solvants organiques. La structure moléculaire des MPCs est très proche des pigments naturels comme la chlorophylle dérivée de la porphyrine. Les MPCs ont un caractère aromatique dû à la délocalisation de 18 électrons  $\pi$  sur l'ensemble de la molécule. La conjugaison des cycles aromatiques confère aux MPCs une très haute stabilité notamment vis-à-vis des acides, des bases et de la température. Ces composés sont classés comme non dangereux (Japan Chemical Industry Ecology-Toxicity & Information Centre. 1995).

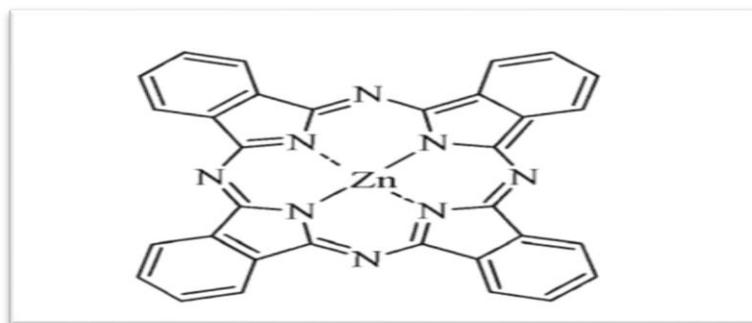


**Figure 06 :** Structure des MPCs. (a) phthalocyanine non métallée, (b) phthalocyanine métallée ou M : métal. (Ouemega et al., 2011).

## II. 2.1.2 .Les métallophthalocyanines de zinc

### II.2.1.2 .1. Structure

Les métallophthalocyanines de zinc (ZnPcs) incorporent au centre du macrocycle un ion zinc ( $Zn^{2+}$ ) et peuvent être substituées ou non (fig.07). Le zinc ne permet pas l'insertion de ligands axiaux. Les ZnPcs sont hydrophobes.



**Figure 07** : Schéma d'une métallophthalocyanine de zinc non substituée. (Rodal et *al.*, 1998).

### II. 2.1.2 .1. Administration

Compte tenu de leur lipophile, il est nécessaire d'administrer les ZnPcs à l'aide de liposomes, qui favorisent leur insertion dans les lipoprotéines. Les ZnPcs s'associent à la partie lipidique des lipoprotéines (Rodal et *al.*, 1998). Ces liposomes peuvent aussi être liés à des lipoprotéines (LDL ou HDL) (Fahr et *al.*, 2008) .

### II.2.1.2.2. Pénétration et localisation cellulaire

Les ZnPcs pénètrent dans les cellules par un mécanisme de diffusion facilitée, dépendant de la température, et nécessitant une énergie d'activation de 30 *KJ/mol* (un mécanisme actif nécessite environ 100 *KJ/mol*). L'endocytose n'est pas impliquée dans la pénétration des ZnPcs. Cette pénétration cellulaire peut se faire, pour les Pcs complexées aux lipoprotéines, par les récepteurs aux LDL. La ZnPc quitte alors les LDL pour passer la membrane plasmique (fig.07) (Rodal et *al.*, 1998). Les principales cibles des ZnPcs sont les structures membranaires. On les retrouve dans les membranes des lysosomes ou des mitochondries, ainsi que dans les mitochondries et l'appareil de Golgi (Rodal et *al.*, 1998) .

### II.2.1.2.3. Mécanisme d'action

Les ZnPcs induisent principalement des dommages directs sur les systèmes membranaires des cellules malignes (Jori et *al.*, 1998). Par ailleurs, les ZnPcs entraînent des dommages vasculaires indirects par action sur l'endothélium, ainsi que le relargage d'enzymes à partir des lysosomes par rupture des membranes des cellules photosensibilisées : hydrolases acides, cathepsine, ~-Nacétyl-D-glucosaminidase qui participent aussi à la mort cellulaire (Ruck et *al.*, 1996).

Différents organites sont impliqués dans les étapes initiales du processus photochimique. Quelques signes caractéristiques de l'apoptose apparaissent dans certaines cellules, mais la mort par apoptose reste négligeable par rapport au phénomène direct de nécrose. Au bout de 24 heures après un traitement photodynamique par ZnPcs délivrées dans des liposomes de DPPC ou solubilisées

dans le Cremophor, on observe une désorganisation totale des tissus tumoraux, les bordures cellulaires ne sont plus définies et les membranes cytoplasmiques se rompent (Jori et *al.*, 1998) .

Comme tout PS utilisé en PDT, les ZnPcs agissent par formation d'oxygène singulet ( $\langle Dv = 0,4$  dans un tampon salin phosphate), mais les ZnPcs photo-réagissent aussi par transfert d'électrons (mécanismes de type 1) (Hadjur et *al.*, 1997).

#### **II.2.1.2.4. Propriétés pharmacocinétiques**

Une concentration maximale en ZnPcs dans les tumeurs est observée au bout de 24 heures après administration intraveineuse. Les ZnPcs sont accumulées en grande quantité dans le foie comme la plupart des PS hydrophobes (Jori et *al.*, 1998). Elles sont éliminées par la bile. L'élimination totale des ZnPcs se fait après environ une semaine (Visona et *al.*, 2000). Les ZnPcs agrégées sont éliminées plus lentement de l'organisme que les formes monomériques (Fahr et *al.*, 2008 ).

Les effets secondaires observés sur le lapin à haute dose sont une photosensibilisation et une dépression respiratoire (Visona et *al.*, 2000).

L'administration par liposome de DPPC ou en solution dans le Cremophor n'a pas d'influence sur la biodisponibilité des ZnPcs. En revanche, on note des variations de la clairance sérique, entraînant une persistance éventuelle de la photosensibilisation cutanée (Jori et *al.*, 1998).

L'environnement biologique a une influence sur l'agrégation des ZnPcs. Une étude *in vitro* menée sur les cellules d'hépatome de souris MHI34 montre que les ZnPcs étudiées sont préférentiellement sous forme monomérique dans les cellules tumorales, et sous forme agrégée dans la peau, atténuant ainsi les effets indésirables de type photosensibilisation. Les cellules tumorales, compte tenu de leur activité métabolique accrue, contiennent beaucoup plus de LDL que les cellules saines. Ces cellules tumorales, de par leur caractère hydrophobe, sont donc favorables à la présence des ZnPcs sous forme monomérique (Tabata et *al.*, 2000).

#### **II.2.1.2.5. Les métallophthalocyanines de zinc sulfonées**

Des membres de la famille de PC métallisés ont été utilisés pour étudier leurs activités photothérapeutiques dans diverses lignées de cellules cancéreuses. Une métallophthalocyanine sulfonée mélangée avec le zinc comme atome central (ZnPcS) est entrée avec succès dans les cellules et localisée dans les organelles vitales, y compris les mitochondries, les lysosomes et l'appareil de Golgi. Les composés ZnPcS ont la capacité d'absorber la lumière à une longueur d'onde de 680 nm et ont montré des activités photodynamiques, des lésions néoplasiques et de bons résultats thérapeutiques dans les cellules du poumon, du côlon et du cancer du sein (Manoto et *al.*,2012, Mfouo-Tynga, et *al.*,2012). Les effets des activités photothérapeutiques de ZnPcS dans les cellules cancéreuses du poumon comprennent un changement de la morphologie cellulaire, une diminution de la viabilité cellulaire et de la prolifération, une augmentation de la cytotoxicité et d'autres indices de dommages cellulaires. La lumière activée ZnPcS a entraîné une augmentation de la production de ROS à la fois monocouche et multicellulaire tumeur sphéroïde modèles de cancer du poumon Manoto, S.L et al .,2013).

Le ZnPcS a été testée sur des fibroblastes pulmonaires de hamster chinois V-79 *in vitro* et sur des cellules de tumeur mammaire de souris EMT-6 implantées dans des souris Balb/c. Il en résulte que les dérivés les moins sulfonés, et notamment ZnPcS2, sont les plus phototoxiques (Brasseur et *al.*, 1988). Cependant, dans le cadre de la recherche *in vitro*, il est plus facile, pour des raisons de solubilisation avant utilisation, de travailler avec les molécules les plus hydrophiles. Ainsi, les ZnPcS les moins sulfonées et donc les plus hydrophobes sont peu utilisées en recherche *in vitro* même si elles semblent les plus efficaces.

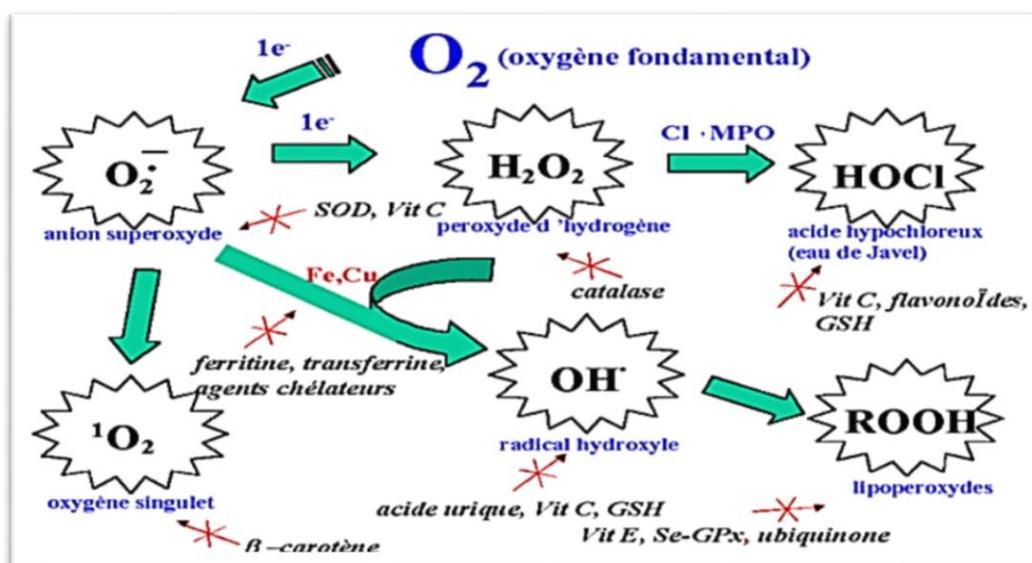
La recherche sur les métallophthalocyanines de ZnPc sulfonées aboutit aujourd'hui à des composés amphiphiles. L'adjonction de substituants naphthoxy sulfonés permet d'augmenter le caractère lipophile de ces molécules, et permet par ailleurs d'empêcher l'agrégation de ces ZnPcS, compte tenu de l'encombrement stérique de ces substituants. Cette ZnPc substituée par quatre groupements sulfonaphthoxy possède un rendement quantique de production d'oxygène singulet supérieur de 25% à celui des hématorporphyrines, et agit sur les tissus malins par des mécanismes de type I et de type II. De plus, sa faible agrégation en solution et son caractère amphiphile lui confèrent une bonne pénétration cellulaire (Swei et *al.*, 2006).

### II.3. Stress oxydatif

Le stress oxydatif se définit comme étant un déséquilibre profond de la balance entre les pro-oxydants et les antioxydants en faveur des premiers, ce qui conduit à des dégâts cellulaires irréversibles. La réduction univalente de l'oxygène résulte dans la formation d'espèces oxygénées activées (EOA) dont font partie les radicaux libres. Toutes ces espèces sont potentiellement toxiques pour l'organisme car elles peuvent inactiver des protéines, induire des cassures au sein de l'acide désoxyribonucléique (ADN) avec, comme conséquence, une altération du message génétique, dégrader les sucres, oxyder les lipoprotéines et initier des processus de peroxydation lipidique au sein de la membrane cellulaire en s'attaquant aux acides gras polyinsaturés. En situation normale, les EOA sont produites en permanence par notre organisme (rôle physiologique) mais un système efficace de défenses antioxydants (vitamines, enzymes, oligoéléments...) permet de réguler cette production afin de prévenir tout dégât cellulaire excessif (Pincemail et *al.*, 1999).

#### II.3.1. Les espèces réactives de l'oxygène (EROs)

Les espèces réactives de l'oxygène sont produites d'une manière accrue lorsque la régulation du métabolisme de l'oxygène est perturbée (stress oxydant). Ces dernières sont formées en tant que sous-produit naturel du métabolisme normal de l'oxygène et ont un rôle important dans la signalisation cellulaire. Paradoxalement, Ces espèces deviennent «pathologiques» lorsqu'elles sont formés en grandes quantités, Cette production radicalaire est dommageable si elle est prolongée ou incontrôlée, dépassant les capacités de neutralisation et donne lieu au stress oxydant (Favier, 2003).



**Figure 08 :** Aperçu des espèces oxygénées activées (EOA) dérivant de l'oxygène et systèmes de protection permettant de limiter l'effet toxique de ces espèces. GSH : glutathion,  $Cl^-$  : anion chlorure

; MPO : myéloperoxydase, SOD: superoxyde dismutase, Se-GPx : glutathion peroxydase sélénodépendante (Pincemail et *al.*, 1999).

### **II.3.2. Les mécanismes antioxydants**

Peut être considérée comme antioxydante une molécule qui, étant présente en une faible concentration par rapport à celle d'un substrat oxydable, retarde ou empêche significativement l'oxydation de ce substrat (Halliwell et Whiteman, 2004). Les systèmes antioxydants sont de deux types, soit des molécules qui captent rapidement les ERO, soit des systèmes enzymatiques catalysant la conversion des molécules prooxydantes (Salvayre et *al.*, 2013).

Les principaux systèmes antioxydants comprennent les enzymes antioxydantes tels que les superoxydes dismutases, la catalase et plusieurs formes de peroxydases à glutathion, et les antioxydants non enzymatiques tels que la transferrine, l'albumine, la vitamine C, la vitamine E, le glutathion et l'acide urique (Menon et *al.*, 2007 ; Tessier et *al.*, 2008 ; Suryanarayana et *al.*, 2007 ; Krzystek-Korpacka M et *al.*, 2011) .

### **II.3.3. Les systèmes antioxydants enzymatiques**

Ce sont des enzymes douées d'activité antioxydante qui leur permet de diminuer la quantité des ROS dans la cellule en présence de leurs co-facteurs. Parmi ces enzymes on cite :

Les superoxydes dismutases (SOD), constituent la première ligne de défense contre le stress oxydatif. Ce sont des métalloprotéines qui catalysent la dismutation de l'anion superoxyde en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Ce dernier étant moins réactif et il pourra être pris en charge par des enzymes à activité peroxydase. La SOD a besoin d'oligoéléments pour fonctionner correctement et dans la nature permet de distinguer trois isoformes de la SOD (Fridovich, 1995) ; la CuZn-SOD présente dans le cytosol, la SOD à Manganèse située dans les mitochondries et une forme CuZn-SOD extracellulaire.



La catalase est principalement localisée dans les peroxysomes et dans les érythrocytes.

La glutathion peroxydase (GPx) est la plus importante enzyme neutralisante de l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> chez les mammifères. Elle est formée de quatre tétramères contenant chacune des atomes de sélénium incorporés dans une molécule de sélénocystéine. Elle assure la réduction du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en eau, des hydroperoxydes organiques (ROOH) en alcools (ROH), et des espèces radicalaires en espèces non radicalaires en utilisant comme donneur d'électrons le glutathion réduit (GSH).



Les molécules de GSSG ainsi obtenues sont réduites par le glutathion réductase à l'aide du co-facteur NADPH sous forme réduite (NADPH, H<sup>+</sup>). La GPx est présente dans les liquides extracellulaires, et dans les cellules au niveau du cytosol, dans mitochondries et des membranes (Comhair, 2002). La GR est également localisé dans le cytosol et les mitochondries.

Les thiorédoxines peroxydase (Prx) ont été découvertes récemment et leur activité antioxydante a fait l'objet de plusieurs travaux. Les Prx sont des enzymes à activité antioxydante intrinsèque comme toutes les protéines à groupement thiol (-SH). Elles réduisent l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, le peroxy-nitrite et de nombreux hydroperoxydes en utilisant la thiorédoxine comme donneur d'électrons. Elles sont présentes dans le cytosol, les mitochondries, les peroxysomes associés au noyau et aux membranes (Wood, 2003).

Les Glutathion-S-transférases (GST) représentent une famille d'enzymes multifonctionnelles essentiellement cytosoliques. Ce sont des enzymes de détoxification glutathion dépendante, qui catalysent la conjugaison du GSH de nombreux substrats (Perrin, 2007).

### **II.3.4. Principaux antioxydants endogènes non enzymatiques**

#### **II.3.4.1. Glutathion réduit (GSH)**

Le glutathion (GSH) est un tripeptide (acide glutamique-cystéine-glycine) connu par son puissant pouvoir antioxydant (Menon et Goswami, 2007 ; Douris et *al.*, 2009).

Le glutathion est principalement synthétisé par le foie et représente le premier système de défense antioxydant non enzymatique des cellules. Il intervient dans la synthèse d'importantes macromolécules et avec la glutathion peroxydase dans la protection contre les EAO (Yu et *al.*, 2003).

Le GSH est très abondant dans le cytosol, dans le noyau et dans la mitochondrie où il est l'antioxydant soluble majeur de ces compartiments cellulaires (Masella et *al.*, 2005). La forme réduite du glutathion est le GSH et la forme oxydée est le glutathion désulfure (GSSG).

Un environnement oxydatif entraîne une modification rapide des groupements thiols des protéines (protéine-SH). Des réactions d'oxydation aboutissent à des acides sulféniques (protéine-SOH) et à des radicaux thiyls (protéine-S•). Ces produits partiellement oxydés réagissent avec le GSH et forment des protéines S-glutathiolées (protéine-SSG) (Valko et *al.*, 2006). Ces protéines-SSG entrent dans le cycle du GSH ou elles sont réduites, par la glutathion réductase, la

glutarédoxine et la thiorédoxine, en groupements thiols protéiques (protéine-SH). Cependant, si le processus d'oxydation des groupements thiols n'est pas piégé par le GSH, on assiste à la formation irréversible d'acides sulfiniques (protéine-SO<sub>2</sub>H) et d'acides sulfoniques (protéine-SO<sub>3</sub>H) (Valko et al., 2007).

#### **II.3.4.2. L'acide urique**

L'acide urique comme produit final du métabolisme des purines, augmente dans le plasma lors d'efforts physiques intenses (Baillie et al., 2007). Il a été proposé comme un des meilleurs antioxydants du plasma *in vivo*, où il pourrait contribuer à 35-60% de la capacité antioxydante totale (Finaud et al., 2006 ; Johnson et al., 2009). L'acide urique peut être oxydé en différents produits (Hellsten et al., 2001), puis est régénéré par la vitamine C (Vasconcelos et al., 2007). Il subsiste certains doutes quant à une réelle fonctionnalité antioxydante de l'acide urique, dont l'augmentation peut aussi bien avoir des conséquences pro que antioxydantes (Baillie et al., 2007 ; Gersch et al., 2009 ; Johnson et al., 2009).

#### **II.3.4.3. Les antioxydants exogènes**

Les ROS peuvent être produits par des agents physiques comme les rayonnements (rayons ionisants X, gamma, ou des rayons ultraviolets) capables de produire des anions superoxyde ou de l'oxygène singulet après activation de photosensibilisants (Ghazi, 2011).

L'ingestion d'alcool est suivie de la formation de radicaux libres selon divers mécanismes impliquant principalement la xanthine oxydase et l'aldéhyde oxydase qui peuvent oxyder le métabolite principal de l'éthanol, l'acétaldéhyde, avec production de superoxyde. L'éthanol stimule également la production d'anion superoxyde par induction de la transcription des NADPH oxydase, NADPH cytochrome réductase et du cytochrome P 450 (Milane, 2004).

Des toxiques tels que le monoxyde d'azote (NO°) et le dioxyde d'azote (NO°<sub>2</sub>), présents dans notre environnement (goudron, tabac, polluants industriels...etc.), participent à la genèse de radicaux libres. Ils sont responsables d'une auto-oxydation des acides gras polyinsaturés des alvéoles pulmonaires. Le NO° et le NO°<sub>2</sub> peuvent aussi réagir avec l'anion superoxyde et le peroxyde d'hydrogène produit par les macrophages au niveau des alvéoles pulmonaires pour former de puissant oxydant ; le peroxyde d'azote (ONOO°) et le radical OH° (Pincemail et al., 1998).

Une large variété de xénobiotiques (toxines, pesticides et herbicides) et médicaments (antibiotiques et anticancéreux) peuvent contribuer à la production des EOA qui se forment comme produits de leur métabolisme *in vivo* (Martínez -Cayuela, 1995).



## I. Matériel et Méthodes

### I.1 .Matériel

#### I.1.1.Entretien des animaux

Les animaux utilisés au cours de cette étude sont des rats Wistar Albinos males pesant environ 200 g provenant de l'institut pasteur, Alger (Algérie). Après une mise en quarantaines de 10 jours, les animaux ont été conservés dans des conditions standard d'élevage avec une température de 20-25°C, hygrométrie de 60% et un cycle jours-nuit 12 /12h, et avec accès libre à l'alimentation et à l'eau.

#### I.1.2. Modèle expérimental

La présente étude a été réalisée sur un modèle expérimental de cancer pulmonaire

les animaux sont repartis en deux grandes groupes ;le premier groupe (n=13) a servi à l'induction tumorale par le B(a)P administré en dose unique de 100mg/kg dissous dans l'huile d'olive par voie intra-péritonéale (Venkatraman M et *al.*, 2009) , après 14 semaines, un rat a été sacrifié le poumon a été fixé dans le formol et soumis à un examen histologique(annexe.7) au niveau du laboratoire d'anatomopathologie de l'hôpital de Jijel.

L'analyse histologique ayant confirmé la présence des nodules pulmonaires. Nous avons répartis les animaux traités par B(a)P en deux groupes (n=6), un des deux groupes a reçu un traitement par les MPCs en IV et l'autre le véhicule (DMSO à 10% dans l'eau physiologique)

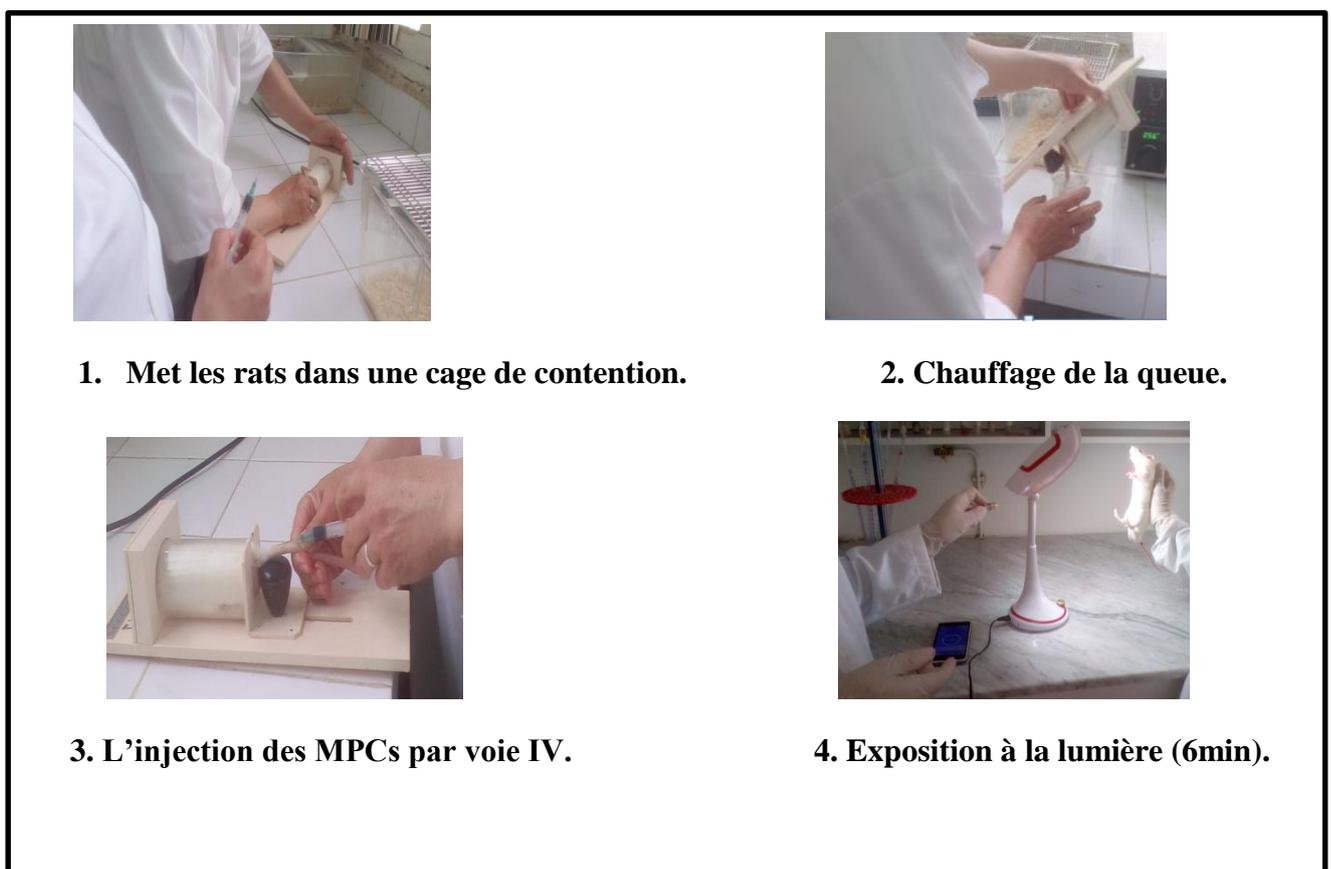
**Le groupe 1 :** (témoins n= 6) a servi de témoin en recevant en IP 0,5 ml d'huile d'olive excipient de dissolution du benzo(a)pyrène et 0,2ml d'une solution saline (NaCl à 0.9%) de DMSO à 10% par voie intraveineuse.

**Le groupe 2 :** (traités par MPCs seule n= 3) les animaux ont reçu une dose de 2mg/kg de Métallophthalocyanines dissoutes dans une solution saline (NaCl à 0.9%) de DMSO à 10% par voie intraveineuse quatorze semaines après l'induction tumorale.

**Le groupe 3 :** (traités par B(a)P seul n= 3) regroupent les animaux recevant une dose unique de benzo(a)pyrène de 100 mg/Kg dissout dans l'huile d'olive et administrée par voie intrapéritonéale.

**Le groupe 4:** (traités par B(a)P associé au MPCs (n=3) regroupent les animaux recevant une dose unique de benzo(a)pyrène de 100 mg/Kg dissout dans l'huile d'olive et administré par voie intrapéritonéale suivi par une dose de 2 mg/kg des métallophthalocyanines dissout dans une solution saline (NaCl à 0.9%) de DMSO à 10% par voie intraveineuse après 14 semaines de l'induction tumorale.

Après 12h de traitement nous avons exposés les rats entiers à la lumière à l'aide d'une lampe de 2.5w /cm<sup>2</sup> pendant 6 min. Après irradiation, les rats ont été placés dans une pièce sombre et après 5 jours les rats ont été sacrifiés (Huang et *al.*, 2001).



**Figure 09 :** Le protocole de traitement par les MPCs

### **I.1.3.Prélèvement des foies**

Tous les animaux ont été sacrifiés après anesthésie par le chloroforme le 5<sup>ème</sup> jours de traitement par les métallophthalocyanines correspondant à une durée totale d'étude de 15 semaines.

Après le sacrifice, chaque foie a été collecté, lavé à plusieurs reprises dans le NaCl 9‰. Les foies sont stockés à - 20 °C jusqu'à leur utilisation ultérieure pour les mesures tissulaires.

## I.2. Evaluation des paramètres de stress oxydatif

### I.2.1. Préparation de la fraction cytosolique du foie

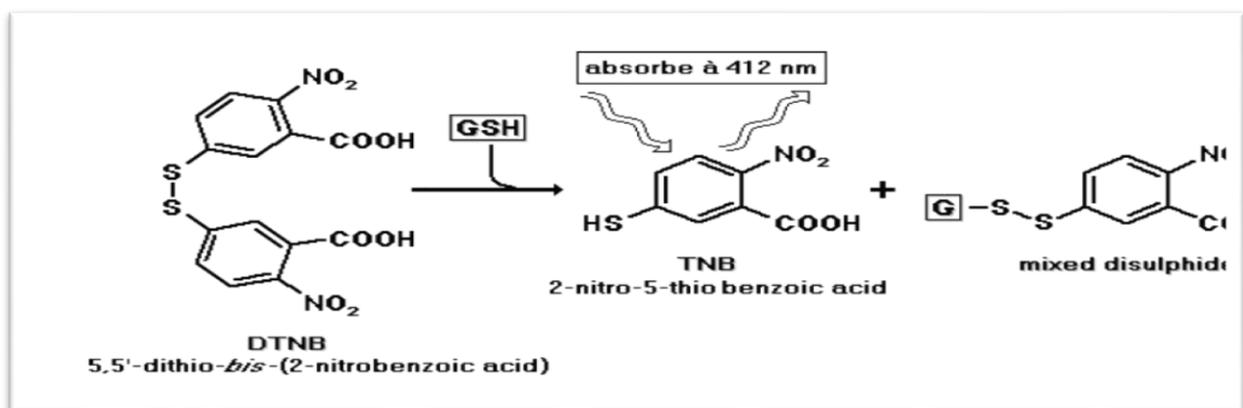
Pour préparer la fraction cytosolique, nous suivons la méthode décrite par Iqbal et al. , 2003.

Pour cela 1g de foie est prélevé et directement plongé dans trois volumes de tampon phosphate (0,1M pH 7,4) contenant de KCL 1,17% .Après découpage en morceaux on fait l'homogénéisation à l'aide d'un broyeur de DOUNCE, l'homogénat est centrifugé 2000 rpm pendant 15 min à 4°C pour éliminer les débris nucléaires, le surnageant est centrifugé 9600 rpm pendant 30 min à 4°C. Le surnageant ainsi obtenu est utilisé comme source enzymatique cytosolique.

### I.2.2. Dosage du glutathion (GSH)

Pour le dosage du glutathion, la méthode colorimétrique par le réactif d'Ellman (DTNB) est la plus utilisée (Ellman, 1959).

Les thiols (-SH) réagissent avec la molécule de DTNB, par rupture de pont disulfure pour donner le 2-nitro-5-thiobenzoate (TNB-), qui s'ionise au TNB-2 dans l'eau à pH neutre et alcalin. Cet ion de TNB-2 a une couleur jaune.



**Figure10** : Réaction d'Ellman(Ellman, 1959).

Le dosage consiste en l'adjonction de 25µl de surnageant, dilués dans 5 ml de tampon phosphate (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0,1 M ; pH = 8). À 1,5 ml de ce mélange, 10µl de DTNB (0,01 M) sont additionnés ; une couleur jaune se développe après 15 min d'incubation. La lecture de la densité optique est effectuée à 412 nm (JENWAY 7315 Spectrophotometer), contre un blanc préparé dans les mêmes conditions avec le tampon phosphate.

Les concentrations sont exprimées en millimoles de glutathion/gramme de tissu (foie). Elles sont déduites à partir d'une gamme étalon de glutathion (Annexe2) préparée dans les mêmes conditions que le dosage.

### **I.2.3. Dosage du MDA**

Le Malondialdéhyde est l'un des produits terminaux formés lors de la peroxydation lipidique. mais il existe d'autres entités radicalaires, qui peuvent également se former au cours de la peroxydation lipidique. Ces entités sont connues sous le nom TBARS (Thio Barbituric Acid Reactive substances). Le test de TBARS est le plus couramment utilisé pour déterminer indirectement la peroxydation lipidique, en mesurant le taux du MDA (Ohkawa *et al.*, 1979).

Le MDA est mesuré en utilisant la réaction de deux molécules d'acide Thiobarbiturique avec une molécule d'MDA à chaud en milieu acide pour former un adduit de couleur rose absorbant à 530 nm et extractible par les solvants organiques comme le n-butanol. A 0,5 ml TCA 20% et 1ml du TBA 0,67% (0,67% dans le NaOH) sont ajoutés 0,5 ml de la fraction cytosolique. Le mélange est chauffé à 100°C pendant 15 minutes, il est ensuite refroidi puis additionné de 4 ml de n-butanol et centrifugé à 3000 rpm pendant 15 minutes. La densité optique est déterminée sur le surnageant au spectrophotomètre à 530 nm (Ohkawa *et al.*, 1979).

Les concentrations du MDA est obtenu a partir d'une gamme d'étalon préparée dans les mêmes conditions en utilisant le tétraéthoxypropane (TEP) qui donne le MDA après leur hydrolyse.

Les concentrations du MDA sont calculées selon la formule suivant :

$$[\text{MDA } \mu\text{M/g}] = \text{DO} / 0,0184$$

### **I.2.4. Mesure de l'activité enzymatique de la catalase**

L'activité de la catalase est déterminée par la méthode de Claiborne (1971). Le principe est basé sur la disparition de l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en présence de la source enzymatique à 25°C. La cuve de mesure contient un volume final de 1,475 ml, 1,45 de tampon phosphate (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.1 M, pH 7.4), et le peroxyde d'hydrogène (0.019 M), 0.025 ml de la fraction cytosolique dilué 1/10<sup>ème</sup>. La lecture de la DO est effectuée à 240 nm chaque minute pendant 3 minutes. Le blanc est préparé dans les mêmes conditions sans source enzymatique.

L'activité enzymatique de la catalase est exprimée en UI/min/mg de protéines :

$$\text{Activité spécifique de la Catalase} = (2.303/T \times \log \text{DO}_0 / \text{DO}_t) / [\text{protéines}]$$

Les résultats sont exprimés en unité UI/mg de protéines totales.

Avec :

T= Durée de la mesure (min).

DO<sub>0</sub>= Densité optique à l'instant t<sub>0</sub>.

DO<sub>t</sub>= Densité optique à l'instant t.

[Protéines] : concentration des protéines (mg/ml).

### **I.2.5. Mesure de l'activité de la Glutathion S-transférase (GST)**

L'activité de la GST a été évaluée selon la méthode de Habig et collaborateurs de 1974. Elle consiste à fournir à l'enzyme un substrat .en général du chlorodinitrobenzène(CDNB) qui réagit facilement avec de nombreuses formes de GST et de glutathion.

Un mélange de 1,7 ml de tampon phosphate ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 0.1M, pH6.5) et de 100  $\mu\text{l}$  de CDNB (20 Mm) a été préparé, et a été incubé à 37 C pendant 10 min. La réaction est déclenchée par l'addition à ce mélange de 100  $\mu\text{l}$  de solution de GSH 20 mM et 100 $\mu\text{l}$ de fraction cytosolique dilué 1/100<sup>ème</sup> au temp zéro (Habig et *al.*,1974).

L'augmentation de l'absorbance à 340 nm est enregistrée pendant 5 minutes avec une minute d'intervalle contre un blanc préparé dans les mêmes conditions avec le tampon phosphate .

. L'activité spécifique est définie comme étant l'unité d'activité enzymatique par mgdeprotéinesmesurées par la méthode de Bradford. Une unité d'activité enzymatique est définiecomme étant la quantité d'enzyme catalysant la formation de 1 $\mu\text{mol}$  de complexe par minute [constante d'extinction molaire du complexe formé  $\epsilon = 9.6 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ] (Habiget*al.*,1974).

L'activité spécifique de la GST ( $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$  de protéines) est calculée par la relation suivante :

$$\text{GST activité } (\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg de protéines}) = \left( \frac{\Delta \text{Absb}340}{\text{min test}} \times \frac{Vt}{Vez} \times \frac{1}{9,6} \times \frac{1}{F} \right) / [\text{Protéines}]$$

Sachant que :  $\Delta\text{Absb}340/\text{min test}$  : différence de l'absorbance ;

$Vt$  : volume total de la cuve (ml) ;

$Vez$  : volume de la fraction cytosolique ajouté (ml) ;

F : facteur de dilution ;

[Protéines] : concentration des protéines (mg/ml) évaluée par la méthode de Bradford.

### **I.3. Dosage des protéines totales**

Les protéines totales sont dosées par la méthode de Bradford (1976). Cette méthode est basée sur le changement de coloration du réactif de Bradford, le bleu brillant de Coomassie, qui développe en présence des protéines une coloration bleue quantifiable à 595 nm. Et dont l'intensité est proportionnelle à la quantité des protéines présentes dans l'échantillon (Bradford, 1976).

La fraction cytosolique est au préalable diluée au 1/10<sup>ème</sup> dans l'eau distillée. 25µl d'échantillon dilué sont ensuite ajoutés à 1 ml du réactif de Bradford (BBC). Après agitation la réaction se produit à T° ambiante pendant cinq minutes puis l'absorbance est lue à 595 nm.

Les résultats sont déterminés à partir d'une droite d'étalonnage de protéines standards obtenus avec l'albumine sérique bovine (BSA) [0,031-1 mg/ml] et sont exprimés en mg/ml(Annexe1) (Bradford, 1976).

#### **I.3.6. Analyse statistique**

Les résultats sont donnés sous forme de moyennes et d'écart-types. L'évaluation statistique est effectuée en utilisant le test de Student (T). La valeur trouvée par le calcul de T peut affirmer que les populations sont différentes par rapport au témoin négatif avec un risque d'erreur « p » tel que :

- $P > 0.05$  (ns) : la différence n'est pas significative.
- $0.05 > P > 0.01$  (\*) : la différence est significative.
- $P < 0.01$  (\*\*) : la différence est hautement significative.
- $P < 0.001$  (\*\*\*) : la différence est très hautement significative.

Le calcul statistique est réalisé par : EXCEL 7.0 (microsoft, USA).

## II. Résultats et discussion

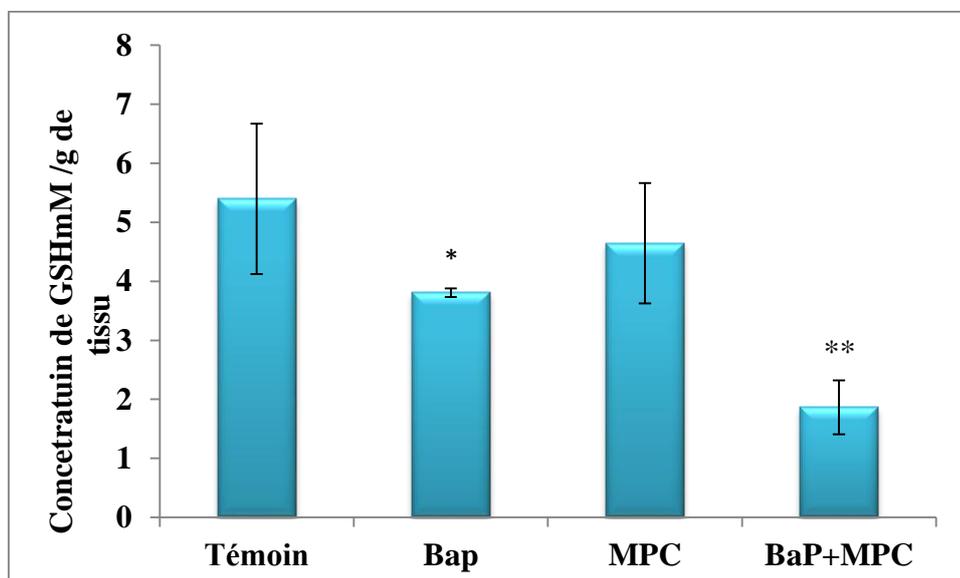
Le but de notre travail est de déterminer le statut oxydatif hépatique après traitement par les métallophthalocyanines dans le cas d'un cancer pulmonaire induit par B(a)P, pour cela nous avons d'abord induit le cancer pulmonaire chez les rats wistar albinos par une injection intrapéritonéale unique de 100 mg/kg de B(a)P. Après 14 semaines nous avons traité les animaux par une injection intraveineuse de métallophthalocyanines à la dose unique de 2mg/kg. A la fin de traitement, les animaux ont été sacrifiés et les paramètres de stress oxydatif sont évalués. .

Afin de déterminer le statut oxydatif hépatique, quatre paramètres ont été évalués. Les résultats du dosage de glutathion cellulaires, des activités enzymatiques de catalase et GST, ainsi que le taux du MDA dans le tissu hépatique des groupes témoins et expérimentaux sont présentés dans les figures 11, 12, 13, 14.

Les résultats obtenus montrent que les animaux atteints du cancer du poumon et les animaux traités par les métallophthalocyanines montrent une baisse dans les antioxydants enzymatiques (catalase, GST). Une augmentation dans les antioxydants non enzymatiques (GSH) et de la peroxydation lipidique (MDA).

### II.1. Variation du taux de GSH

Les résultats des Variations du taux de GSH sont illustrés par la figure 11 ci-dessous.



**Figure 11 :** La variation de taux en GSH dans le foie des rats des groupes expérimentaux. Chaque valeur est exprimée en moyenne  $\pm$  écart type. Test T de Student (comparaison par rapport au contrôle  $P < 0,05$  : significatif (\*),  $P < 0,01$  : hautement significatif (\*\*), et  $P < 0,001$  : Très hautement significative (\*\*\*)).

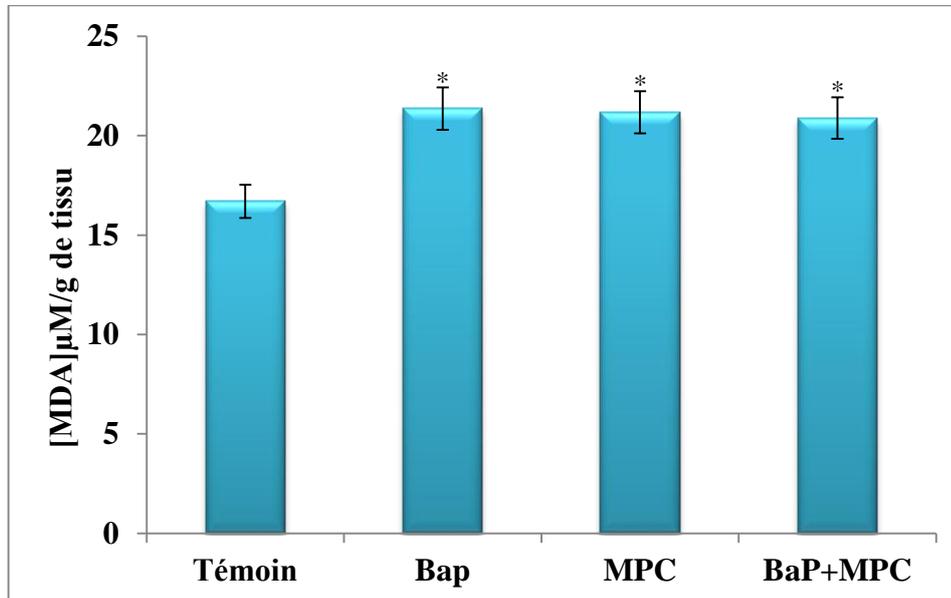
Ces résultats montrent que la concentration hépatique en GSH diminuée est chez les rats traités par les metallothiopyanines seul ( $4,645 \pm 1,022$  mM/g de tissu) que chez les rats témoins ( $5,397 \pm 1,27$  mM/g de tissu). Ceci peut être expliqué par le fait que les métallothiopyanines entrer dans la réaction de conjugaison du GSH. L'évaluation du taux de GSH sous l'effet de d'un traitement par les MPCs a été mise en évidence in vitro chez les cellules cancéreuses .Selon Krajewska et *al.*,2003 .Le phtalocyanine au zinc (ZnPc) a diminué viabilité cellulaire et la concentration de GSH dans les cellules cancéreuses d'ovaires de Hamster(CHO K1)(étude in vitro) .Ces résultats sont d'accord avec nos résultats.

Une diminution significative du taux de GSH hépatique chez les rats traités par B(a)P ( $3,807 \pm 0,072$  Mm/g de tissu) ceci par comparaison avec le lot témoin. Le GSH est un élément crucial du mécanisme de défense antioxydant, fonctionne comme un capteur direct es radicaux libres réactifs ainsi que la source non protéine de thiol la plus abondante. Il a plusieurs rôles physiologiques vitaux comme la détoxification des xénobiotiques. Le transport des acides aminés (Lin and Yabg, 2007). La déplétion de GSH est certainement due à sa consommation lors des réactions de conjugaison avec les métabolites du B(a)p. Les produits de la peroxydation lipidique et le peroxyde d'hydrogène (Rahman and Mac Nee, 1999).

Concernant les rats ayant reçu une association de B(a)P +MPCs , on note une diminution très significative ( $P < 0.05$ ) ( $1,863 \pm 0,458$  m/g de tissu).vis à vis aux groupes témoin.Cette diminution de la réserve en GSH est peut être due à un effet pro-oxydant du traitement par les métallothiopyanines. Ceci a été témoigné dans l'étude de Daicoviciu (2008). et aussi l'effet pro-oxydant de benzo(a)pyrène (Rajat et *al.*,2007).

## II.2 .Variation du taux de MDA

Les résultats des Variations du taux de MDA sont illustrés par la figure 11 ci-dessous



**Figure 12 :** variation de taux en MDA dans le foie des rats des groupes expérimentaux. Chaque valeur est exprimée au moyen  $\pm$  écart type.  $P < 0,05$  : significatif (\*),  $P < 0,01$  : très significatif (\*\*) et  $P < 0,001$  : Très hautement significative (\*\*\*) .

Nous avons constaté une augmentation significative ( $p < 0,05$ ) de taux de MDA chez les rats traités par B(a)P ( $21,385 \pm 0,567 \mu\text{M/g}$  de tissu) par rapport aux rats témoins ( $16,702 \pm 13,003 \mu\text{M/g}$  de tissu) .La peroxydation lipidique est reconnue comme une réaction extrêmement importante dans les processus physiologique et toxicologique. Les hydroperoxydes lipidiques formés par l'attaque des radicaux libres générés par B(a)P sur les résidus d'acides gras polyinsaturés des phospholipides produit finalement un malondialdéhyde mutagène et cancérigène (Sethilathan et *al.*, 2006).

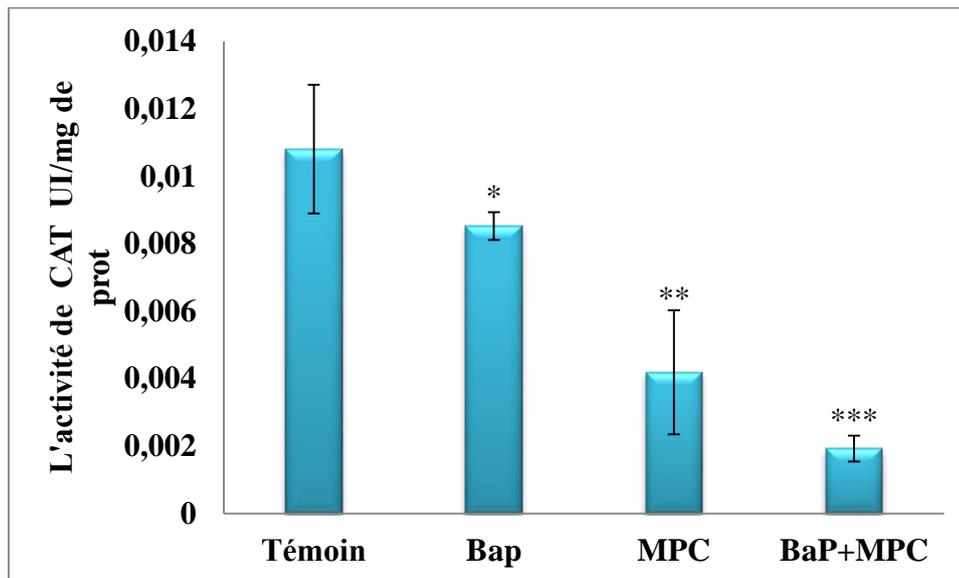
Des études ont montré que l'administration de B(a)p provoque un stress oxydant relèvé par l'augmentation du MDA qui est un marqueur de peroxydation lipidique (Valko et *al.*, 2006).

Le groupe d'animaux qui recevait les MPCs ( $21,177 \pm 1,927 \mu\text{M/g}$  de tissu) présente une augmentation de taux du MDA à celui observé chez le groupe d'animaux témoin, aussi il a été enregistré chez les rats traités par l'association B(a)P + MPCs ( $20,887 \pm 2,372 \mu\text{M/g}$  de tissu).

Cette augmentation peut s'expliquer par l'effet peroxydant des metallophthalocyanines par leur mécanisme photochimique qui permet la formation des radicaux libres et l'oxygène singulet (Wel et *al.*, 2006). et aussi l'effet pro-oxydant de benzo(a)pyrène (Rajat et *al.*, 2007).

### II.3.Variation de l'activité de catalase

Les résultats des Variations de l'activité de CAT sont illustrés par la figure12 ci-dessous.



**Figure 13 :**La variation de l'activité de CAT dans le foie des rats des groupes expérimentaux.

Chaque valeur est exprimée au moyen  $\pm$  écart type.  $P < 0,05$  : significatif (\*),  $P < 0,01$  : très significatif (\*\*) et  $P < 0,001$  : Très hautement significative (\*\*\*).

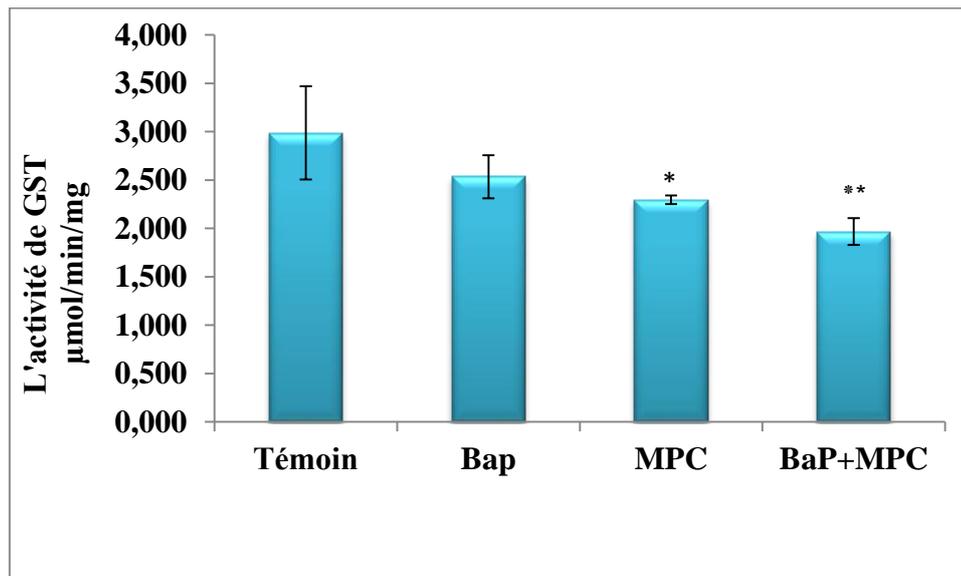
L'activité enzymatique de la CAT hépatique montre une diminution significatif ( $P < 0,05$ ) concernant les rats traités par B(a)p seul ( $0,008 \pm 0,0004$  UI/mg de protéines) par rapport au groupe témoin ( $0,010 \pm 0,001$  UI/mg de protéines). La catalase est une enzyme du système antioxydant, sa fonction est de catalyser la dégradation du peroxyde d'hydrogène génère au cours de stress oxydatif et limiter les effets des molécules oxydantes dans les tissus, aussi joue un rôle dans la défense contre les dommages oxydatifs cellulaires comme piéger des radicaux libres (Gutteridge , 1995) . La diminution de l'activité enzymatique peut refléter une réduction de la capacité des mitochondries et des microsomes d'éliminer le  $H_2O_2$  produit en réponse au B(a)P (Lehucher-Michel et *al.*,2001).Ce qui explique sa diminution dans le groupe d'animaux traités par le B(a)P en comparaison avec les animaux du groupe témoin.

Nous avons relevé une diminution très significatif ( $P < 0,01$  ) de l'activité enzymatique chez les rats traités par métallophthalocyanine seul ( $0,004 \pm 0,001$  UI/mg de protéines) en comparaison avec le groupe témoin, cette diminution due a l'effet peroxydant des métallophthalocyanines par leur mécanisme photochimique qui permet la formation des radicaux libre comme le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), l'anion superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ ) et le radicale hydroxyle ( $\cdot OH$ ) et l'oxygène singulet par la réaction de type I et type II (Doughertyetal.,1978 ; Pegazetal., 2006).

On remarque une diminution très hautement significative ( $P < 0.001$ ) de CAT chez le lot traité par B(a)P+ MPCs ( $0,011 \pm 0,016$ ) Ceci par comparaison avec le lot témoin. Cette diminution est en relation avec l'effet pro-oxydant des métallophthalocyanines (Wel *et al.*, 2006). et aussi l'effet pro-oxydant de benzo(a)pyrène (Rajat *et al.*, 2007).

#### II.4. Variation de l'activité de GST

Les résultats des Variations de l'activité de GST sont illustrés par la figure 13 ci-dessous.



**Figure 14 :** La variation de l'activité de GST dans le foie des rats des groupes expérimentaux.

Chaque valeur est exprimée au moyen  $\pm$  écart type.  $P < 0,05$  : significatif (\*),  $P < 0,01$  : très significatif (\*\*) et  $P < 0.001$  : Très hautement significative (\*\*\*) .

L'activité enzymatique de la GST hépatique montre une diminution chez les rats ayant reçu B(a)p seul ( $2,534 \pm 0,224$  UI/mg de protéines) par rapport au groupe témoin ( $2,987 \pm 0,482$ ). La GST protège contre les dommages oxydatifs exercés par le B(a)P en induisant la conjugaison de ses métabolites avec le GSH, elle représente une voie importante de détoxification (Rajat *et al.*, 2007). Ce qui explique sa diminution dans le groupe d'animaux traités par le B(a)P en comparaison avec les animaux du groupe témoin.

Le traitement les métallophthalocyanines seul ( $0,298 \pm 0,045$  UI/mg de protéines) par induit une diminution significative ( $p < 0,05$ ) de l'activité de la GST hépatique en comparaison avec le groupe témoin, cette diminution due à l'effet peroxydant des métallophthalocyanines par leur mécanisme photochimique qui permet la formation des radicaux libre et l'oxygène singulet (Wel *et al.*, 2006). et aussi l'effet pro-oxydant de benzo(a)pyrène (Rajat *et al.*, 2007).

On remarque une diminution très significative ( $P < 0.01$ ) de CAT chez le lot traité par B(a)P+ MPCs ( $1,969 \pm 0,139$ ) Ceci par comparaison avec le lot témoin. Cette diminution est en relation avec l'effet pro-oxydant des métallophthalocyanines (Wel et *al.*, 2006).et aussi l'effet pro-oxydant de benzo(a)pyrène (Rajat et *al.* , 2007).

Nos résultats montre que le traitement par les métallophthalocyanines au cours d'un cancer pulmonaire induite une toxicité hépatique ceci exprimé par le stress oxydatif hépatique qui a été évalué au cours de notre étude.

Ce stress oxydatifs hépatique est dû à l'activation des métallophthalocyanines au niveau de foie par l'exposition de la partie abdominale des rats à la lumière pendant 6 min. Ceci le point négatif de notre étude.

### **Conclusion**

L'objectif de notre recherche était de caractériser le niveau du stress oxydatif induit dans la cellule cancéreuse et cellules saines traitée par les métallophthalocyanines.

Dans un premier temps, nous avons pu déterminer que le B(a)P a été capable de générer un stress oxydatif, qui peut être impliqué en moins partiellement dans l'induction du cancer pulmonaire obtenue dans notre étude expérimentale où les cellules cancéreuses présentaient une baisse des antioxydants enzymatiques et non enzymatiques, ainsi qu'une augmentation de la peroxydation lipidique, qui sont révélateurs d'un stress oxydatif.

Le traitement par les métallophthalocyanines (un anticancéreux utilisé dans la thérapie photodynamique pour le traitement du cancer pulmonaire) a montré une présence du stress oxydatif hépatique intense marqué par une augmentation de la peroxydation lipidique et une diminution des paramètres antioxydants, alors que l'administration de la propolis au cours de cette chimiothérapie a été traduit par un changement des marqueurs du stress oxydatif traduit par une diminution significatif de la peroxydation lipidique couplée avec une augmentation significatif des antioxydants enzymatiques et non enzymatiques.

En somme, le traitement par les Métallophthalocyanines à 2mg/Kg induit une toxicité hépatique dans le cas d'un cancer pulmonaire induit par le Benz(a)pyrène.

## Références Bibliographiques

### A

Agostinis P et al. Photodynamic therapy of cancer: An update. *CA: A Cancer Journal for Clinicians* (2011); 61(4): 250-281.

Alberg A.J., Brock M.V., Samet J.M. Epidemiology of lung cancer: looking to the future. *J clin oncol* (2005); 23:3175-3185.

Amdur M.o., Doll J., Klassen D.C. Casarret and Doull's toxicology, 5<sup>ème</sup> èd. New York; McGraw-Hill (1996).

### B

Baillie J.K., Bates M.G.D., Thompson A.A.R., Waring W.S., Partridge R.W., Schnopp M.F., Simpson A., Gulliver-Sloan F., Maxwell S.R.J., Webb D.J. Lowland Subjects Exposed to High Altitude Plasma Antioxidant Capacity in Healthy Endogenous Urate Production Augments. *Chest*; 131: 1473-8.

Boudaoud K . Traitement en radio-chimiothérapie concomitante des cancers bronchiques non à petites cellules (CBNPC) localement avancés. Thèse pour l'obtention du diplôme de doctorat en médecine(2009).

Bradford M.M. A Rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantities of Protein utilizing the principal of Protein-Dye binding. *Anal Biochem* (1976); 72: 248-254.

Brooks P. Mutagenicity of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Mutation. Research* (1977):257-284.

Brasseur N., Ali H., Langlos R., Van Lier IE. Biological activities of Phthalocyanines-IX. Photosensibilization of V-79 chinese hamster cells and EMT-6 mouse mammary tumor by selectively sulfonated zinc phthalocyanines. *Photochem. Photobiol*, (1988); 47:705-711.

Buege J.A., Aust S.D. Microsomal lipid peroxidation In Biomembrane (Part C: biological oxidation). *Methods in Enzymology*, Fleisher S.F and Packer L (Eds). *London Academic Press* (1978); 52: 302-309.

### C

Chen C.W., Chu M.L. Dose-response analysis of ingested benzo(a)pyrene (CAS n° 50-32-8). Washington: EPA. *Office of research and development* (1991); 600/ 92/045: 31.

Claireborn A. Catalase activity, In: Greenwald R.A (Ed), *CRC handbook of methods for Oxygen radical research*. *CRC Press, Boca Raton* (1985); FL: 283-284.

Collins L. G., Haines C., Perkel R. & Enck R. E. Lung cancer: diagnosis and management. *Am Fam Physician* (2007); 75: 56-63.

Comhair S.A., Erzurum S.C. Antioxidant responses to oxidant-mediated lung diseases. *Am J*

*Physiol Lung Cell Mol Physiol* (2002); 283(2): 246-55.

## D

Doll R, Peto R. Cigarette smoking and bronchial carcinoma: dose and time relationships among regular smokers and lifelong non smokers. *J Epidemiol Commun Health* (1978); 32:303-313.

Douris P.C., Elokda A.S., Handrakis J.P., Principal S., Rondo E., Bovell J., Coughlin W.P, Mastroianni C.N., Wong M.J., Zimmerman T. Martial art training enhances the glutathione antioxidant system in middle-aged adults. *J Strength Cond Res* (2009); 23(5): 1518-23.

Dybing E., Huitfeldt H.S .Species differences in carcinogen metabolism and interspecies extrapolation-In:VainioH et al.(èds).Mechanisms of carcinogenesis in risk identification. Lyon: IARC (1992):501 -522.

Diamond I, Granelli S.G., McDonagh A. F et al. Photodynamic therapy of malignant tumours. *Lancet* (1972; 2: 1175.

Dougherty T. J., Gomer C. J., Henderson B. W., Jori G., Kessel D., Korbélik M., Moan J., Peng Q. *Journal of the National Cancer Institute* (1998); 90 :889-905.

Dougherty T. J. Activated dyes as antitumor agents. *J Natl Cancer Inst* (1974); 52: 1333

Dougherty T. J., Kaufman J. E., Goldfarb A. et al. Photoradiation therapy for the treatment of malignant tumors. *Cancer Res* (1978); 38: 2628.

Dougherty T.J. et al. Photoradiation therapy for the treatment of malignant tumors. *Cancer Res* (1978); 38(8): 2628-35.

## E

Ellman G.L . Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophysics* (1959); 82: 70-77.

## F

Fahr A., Vanhppgevest P., May S., Bergstrand N., Leighm L.S. Transfer of lipophilic drugs between liposomal membranes and biological interfaces: consequences for drug delivery *Eur. J. Pharm. Sei* (2005); 26: 251-265.

Favier A. Le stress oxydant : intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'Actualité chimique* (2003); 207: 108-115.

Fielding J.E., Phenow K.J. Health effects of involuntary smoking. *N Engl j Med* (1988); 319, 1452-1460.

Finaud J., Scislowski V., Lac G., Durand D., Vidalin H., Robert A., Filaire E. Antioxidant Status and Oxidative Stress in Professional Rugby Players Evolution Throughout a Season. *Int J Sports Med* (2006); 27:87-9

Fridovich I. Superoxide radical and superoxide dismutases. *Annu Rev Biochem* (1995); 64: 97-112.

Frusch N., Bosquée L., Louis R. Le cancer du poumon Epidémiologie et facteurs étiologiques. *Rev Med Liege* (2007); 62: 9: 548-553

## G

Gersch C., Pali S.P., Imaram W., Kim K.M., Karumanchi S.A., Angerhofer A., Johnson R.J., Henderson G.N. Reactions of peroxynitrite with uric acid of reactive intermediates, alkylated products and triuret, and in vivo production of triuret under conditions of oxidative stress. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* (2009); 28:118–149.

Ghazi S. Détermination par méthodes in vitro de l'efficacité des différents systèmes photoprotecteurs (vêtements, verres, produits solaires). *Thèse de Doctorat de l'Université de Nantes* (2011); 38: 67-68.

Giulio Jori. Perspectives in Photodynamic Therapy. *Journal of Photochemistry and Photobiology Biology* (November 1996); 36: 87-93.

Gutteridge J.M. Lipid peroxydation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem* (1995); 41:1819-1828.

Guillaume GAUD. UNIVERSITÉ FRANÇOIS - RABELAIS DE TOURS, 11 Février 2009.

## H

Habig W.H., Pabst M.J. & Jacoby W.B. Glutathion-S- transferase. The first enzymatic step in mercapturing acid formation. *J Biol Chem* (1974); 249(22): 7130-7139.

Hadjur C., Wagnieres G., Ihringer F., Monnier P., Vanderbergh H. Production of the free radicals 'O<sub>2</sub>- and 'OH by irradiation of the sensitizer zinc(II) phthalocyanine *Photobiol. B: Biol* (1997); 38:192-202.

Halliwell B., Whiteman M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean. *Brazilian Journal of Pharmacology* (2004); 142(2): 231-55.

Hellsten Y., Svensson M., Sjödin B., Smith S., Christensen A., Richter E.A., Bangsbo J. Allantoin formation and urate and glutathione exchange in human muscle during submaximal exercise. *Free Radic Biol Med* (2001); 31(11): 1313-22.

Henderson B. W., Dougherty T. J. How does photodynamic therapy work. *Photochemistry and Photobiology* (1992); 55: 45-57.

Holzle G., Miotto M., Reinert G., Polony R. US Patent 4497741 (1985) to CIBA GEIGY.-  
Guillaume GAUD, UNIVERSITÉ FRANÇOIS - RABELAIS DE TOURS, 11 Février 2009 .-  
Halliwell, B Antioxidant defence mechanisms: from the beginning to the end (of the beginning). *Free Radic Res* (1999); 31: 261-72.

## I

Iarc monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals toman :polycyclic aromatic hydrocarbons Lyon:IARC (1973); 3:91-136,(1983);32:211 -224,(1983); 92 (à parattre).

Iqbal M., Som D.S., Okazaki Y., Fujisawa M. & Okada S. Dietary supplementation of curcumin enhances antioxidant and phase II metabolising enzymes in male mice: possible role in protection against chemical carcinogenesis and toxicity. *Pharmacol Toxicol*,(2003); 92(1): 33-38.

## J

Jean Trédaniel. *Le Cancer du Poumon* .Paris Masson (2004) ; 1 : 11.

Johnson R .J., Sautin Y .Y., Oliver W.J., Roncal C., Mu W., Gabriela Sanchez-Lozada L ., Rodriguez-Iturbe B., Nakagawa T., Benner SA. Lessons for comparative physiology: could uric acid represent a physiologic alarm signal gone awry in western society. *J Comp Physiol B* (2009); 179(1): 67-76.

Joirg ., Fabris C. Relative contributions of apoptosis and random necrosis in tumour response to photodynamic therapy: effect of the chemical structure of Zn (II) - Phthalocyanines  
*Photochem. Photobiol. B: Biol* (1998); 43: 181-185.

## K

Karim-Kos H.E., de Vries E., Soerjomataram, I., Lemmens, V., Siesling, S., and Coebergh, J.W. Recent trends of cancer in Europe: a combined approach of incidence, survival and mortality for 17 cancer sites since the 1990s. *Eur J Cancer* (2008); 44: 1345-1389.

Karrer S et al. Photodynamic inactivation of staphylococci with 5-aminolaevulinic acid or photofrin. *Lasers med sciences* (1999); 14: 54-61.

Kelly J. F., SnellM. E., Berenbaum M.C. Photodynamic destruction of human bladder carcinoma. *Br J Cancer* (1975); 31: 237.

Konan Y.N., Gurny R., and Allemann E. State of the art in the delivery of photosensitizers for photodynamic therapy. *J PhotochemPhotobiol B* (2002); 66(2): 89-106.

Kirschvink N., Moffarts B and Lekerx P. The oxidant, antioxidant equilibrium in horses. *J.The veter* ( 2008); 177: 178-191.

Krajewska E., Ph D., Bryszewska M., Ph.D, and Chapman I.V., Ph D., FRSC., Chem C. The Influence of Depleted Glutathione Levels on the Photodynamic Action of Zinc Phthalocyanine in CHO K1 Cells. *Journal of Clinical LaserMedicine & Surgery* (2003); 21: 185–191.

Krzystek-Korpaczka M., Patryk E., Kustrzeba-Wojcicka I., Chrzanowska J., Gamian A., Noczynska A. The effect of a one-year weight reduction program on serum uric acid in overweight/obese children and adolescents. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* (2011); 49: 915-21.

## L

Lehucher –Michel M.P., Lesgads J.F., Delubac O .,Stocher P., Durand P and Post. Oxidative Stress and human disease.Curent Knowledge and perspectives for prevention .*Presse Med* (2001); 30:1076-1081.

Lewis J. S et al. Macrophage responses to hypoxia: relevance to disease mechanisms. *Journal of Leukocyte Biology* (December 1999); 66: 889-900.

Li R.W., Douglas T.D., Maiyoh G.K., Adeli K., Theriault A.G. Green tea leaf extract improves lipid and glucose homeostasis in a fructose-fed insulin-resistant hamster model. *Journal of Ethnopharmacology* (2007); 104: 24-31.

Lin and Yang M.S. Benzo(a)pyrene-induced elevation of GSH level protects against oxidative stress and enhances xenobiotic detoxification in human HepG2 cells. *Toxicology* (2007); 235:1-10.

Lipson, R. L., Baldes, E. J.The photodynamic properties of a particular hematoporphyrin derivative. *Arch Dermatol* (1960); 82: 508.

## M

Macdonald I.R., Dougherty T. I Basic principles of photodynamic therapy I. *Porphyrins Phthalocyanines* (2001); 5:105-129.

Manoto S.L., Houreld, N.N., Abrahamse, H. Phototoxic effect of photodynamic therapy on lung cancer cells grown as a monolayer and three dimensional multicellular spheroids. *Lasers Surg. Med.* (2013); 45: 186–194.

Martinez-Cayuella M. Oxygen free radicals and human disease. *Biochimie* (1995); 77(3): 147- 161.

Masella R., Di Benedetto R., Vari R., Filesi C., Giovannini C. Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *J. Nutr. Biochem* (2005); 16: 577-586.

Menon S.G., Goswami P.C. A redox cycle within the cell cycle: ring in the old with the new. *Oncogene*(2007) ; 26:1101-9.

Mfouo-Tynga, I., Houreld N.N., Abrahamse H. The primary subcellular localization of Zinc phthalocyanine and its cellular impact on viability, proliferation and structure of breast cancer cells (MCF-7). *J. Photochem. Photobiol. B* (2012); 120: 171–176.

Milane H. La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres ; études et applications thérapeutiques. Thèse du Doctorat en Sciences de l'Université Louis Pasteur (2004): 155.

Mitra S, Foster TH. Photophysical parameters, photosensitizer retention and tissue optical properties completely account for the higher photodynamic efficacy of mesotetrahydroxyphenyl-chlorin vs Photofrin. *Photochem Photobio*(2005); 81: 849-859.

## N

Nehal A., Kaced N., Idder Laib C., Lebib A., Alloula R., Haddar M. Cancers du poumon et de la plèvre d'origine professionnelle(2004).

Nowis ., Dominika et al. The influence of photodynamic therapy on the immune response. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* (2000); 2:283- 298.

Nowis D. et al. Direct tumor damage mechanisms of photodynamic therapy. *Acta Biochim* (2005); 52(2): 92.

## O

O'Connor A.E., Gallagher W.M., Byrne A.T. Porphyrin and nonporphyrin photosensitizers in oncology: preclinical and clinical advances in photodynamic therapy. *Photochem Photobiol* (2009); 85:1053-1074.

Ohkawa H., Ohishi N. & Yagi K. Assay of lipid peroxides in animal tissue by thiobarbituric reaction. *Analytical Biochemistry* (1979); 95(2): 351-358.

O., R. Untersuchungen über die Wirkung fluoreszierender Stoffe auf Infusorien. *Z Biol* (1900); 39: 16.

Owens J.W., Smith R., Robinson R. & Robins M. Photophysical properties of porphyrins, phthalocyanines and benzochlorins. *Inorganica Chimica Acta* (1998); 279: 226-23.

## P

Pandey R.K. Recent advances in photodynamic therapy. *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines* (2000); 4: 368-373.

Pernot M., Frochot C., Vanderesse R., Barberi-Heyob M. Targeting strategies in photodynamic therapy for cancer treatment, in: M. Hamblin, Mroz, P. (Eds.).

Perrin E. Drug dosing in older patients with chronic kidney disease. *Am Fam Physician* (2007); 76(12): 1766.

Peter Ebbesen et al. Hypoxia, Normoxia and Hyperoxia: Terminology for Medical in Vitro *Cell Biology* (2000); 39.

Pegaz B., et al. Photothrombic activity of m-THPC-loaded liposomal formulations: pre-clinical assessment on chick chorioallantoic membrane model. *Eur J Pharm Sci* (2006); 28(1-2): 134-40.

Pincemail J., Meurisse M., Limet R., Defraigne J.O. Fumée de cigarette: une source potentielle de production d'espèces oxygénées activées. *Medi Sphère* (1998); 78: 37-39.

Pincemail J., Meurisse M., Limet R. & Defraigne J.O. L'évaluation du stress oxydatif d'un individu : une réalité pour la médecine. *Vaisseaux, coeur, poumons* (1999); 4(5):1-7.

## Q

Qusx . Stacey NH-Formation and persistence of DNA adducts in different target tissues of Rats after multiple administration of benzo(a)pyrène. *Carcinogenesis* (1996); 17 (1):53 -59.

## R

Rahman I and MacNee W. Lung glutathione and oxidative stress: implications in cigarette smoke-induced airway disease. *Am J Physiol* (1999); 277:1067-1088.

Rajat K.D., Sarmistha B., Sudin B. Amelioration of benzo (a) pyrene-induced lung carcinogenesis in strain A mice by diphenylmethylselenocyanate. *Exp. Toxicol. Pathol* (2007); 58: 351-360.

Rodal G.H., Rodal S.V., Moan I, Berg K. Liposome-bound Zn (II)-phthalocyanine. Mechanisms for cellular uptake and photosensibilization *Photochem. Photobiol. B: Bio* (1998); 45:150-159.

Ruck A., Beck G., Bachor R., Akgun N., Gschwed M.H., Steiner R. Dynamic fluorescence changes during Al(III) phthalocyanine tetrasulphonate and lipophilic Zn(II) phthalocyanine administered in liposomes *Photochem. Photobiol. B: Biol*(1996); 36:127-133.

## S

Salvayre R., Auge N. & Nègre-Savayre A. Role de l'oxydation dans la genèse et la progression de l'athérosclérose. In l'athérosclérose : Physiopathologie, Diagnostics, Thérapeutique. *J.F., Toussaint, M.P., Jacob, L., Lagrost, J., Champman, Eds. Masson: Paris* (2013); 14: 269-290.

Senthilnathan P., Padmavathi R., Magesh V and Sakthisekaran D. Stabilization of membrane bound enzyme profiles and lipid peroxidation by *Withania somnifera* along with paclitaxel on benzo(a)pyrene induced experimental lung cancer. *Mol Cell Biochem*(2006); 929 :13-17

Sharman W.M. Photodynamic therapeutics: basic principles and clinical applications. *Drug Discover Today* (1999); 4: 507-517.

Status assessment of toxic chemicals.12. Polynuclear aromatic compounds.Cincinnati: *Environmental protection agency* (sept1977).

Suryanarayana P., Satyanarayana A., Balakrishna N., Uday Kumar P., Bhanuprakash Reddy G. Effect of turmeric and curcumin on oxidative stress and antioxidant enzymes in streptozotocin - induced diabetic rat. *Med Sci Monit* (2007); 13(12): 286-92.

## T

Tabata K., Fukushima K., Oda K., Okura 1. Selective aggregation of zinc phthalocyanines in the skin. *Porphyrins Phthalocyanines* (2000); 4: 278-284.

Tarantini A. Modulation de la genotoxicite des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) en melanges. Sciences du Vivant [q-bio]. Universite Joseph-Fourier - Grenoble I (2009). Fran\_cais.

Tessier D.M.A., Khalil L., Trottier T. Effects of vitamin C supplementation on antioxidants and lipid peroxidation markers in elderly subjects with type 2 diabetes. *Arch Gerontol Geriatr* (2008); 48: 67-72.

The condensed chemical dictionary. New York: Van Nostrand Reinhold company (1977): 99.

Travis K. Lung cancer screening for all.Not yet, panel says. *J Natl Cancer Inst* (2004); 96, 900-1.

Tockman M.S. Other host factors and lung cancer susceptibility.In samet J, éd Epidemiology of lung cancer. *Lung biology in Health and Disease* (1994); 74:397-412.

Tyczynski J.E., Bray F., Parkin D.M. Lung cancer in Europe in 2000: epidemiology, prevention and early detection. *Lancet oncol* (2003); 4:45-55.

## V

Valko M.C.J., Rhodes J., Moncol M., Izakovic M., Mazur L. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem. Biol. Interact* (2006); 160: 1-40.

Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T.D., Mazur M., Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* (2007); 39:44-84.

Vasconcelos S.M.L., Goulart M.O.F., Moura J.B.F., Manfredini V., Benfato M., Kubota L.T. Espécies reativas de oxigênio et de nitrogênio,antioxydants e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analiticoa para sua determinação. *Quim Nova*(2007) ; 30(5): 1323-38.\*

Venkatraman M., Konga D., Palaniyandi S.,Peramaiyan R. Dhanapal S. *In Vivo* Protective Effect of Crocetin on Benzo(a)pyrene-Induced Lung Cancer in Swiss Albino Mice. *Phytother. Res*(2009);23:533-539.

Vincent Morosini .Pour une amélioration de la thérapie photodynamique appliquée à la cancérologie : Potentialités des dendrimèrespoly (amidoamine) et des Quantum Dots CdTe adressés par l'acide folique. Sciences du Vivant. Université Henri Poincaré - Nancy I(2010).

Von Tappeiner, H. a. L. J.: Über die wirkung der photodynamischen (fluorescierenden) stoffre auf protozoen und enzyme. *Disch Arch Klin Med*(1904); 39: 427.

Visona A.,Angelini A., Gobbo S., Bonanome A.,Thiene G.,Pagnan A, Tonello D., Bonandini E.Jori G. Local photodynamic therapy with Zn(II)-phthalocyanine in an experimental model of intimal hyperplasia(2000);57:94-101.

## W

Wei S., Zhou J., Huang D., Wang X, Zhang B., Shen I Synthesis and Type I/Type II photosensitizing properties of a novel amphiphilic zinc phthalocyanine *Dyes Pigments*, (2006);71:61-67.

Wood Z.A., Schröder E., Robin Harris J. & Poole L.B. Structure, mechanism and regulation of peroxiredoxins. *Trends Biochem Sci*(2003); 28(1): 32-40.

Wynder E.L., Graham E.A. Tobacco smoking as a possible etiologic factor in bronchogenic carcinoma: a study of six hundred and eighty-four proved cases. *JAMA* (1950); 143: 329-346.

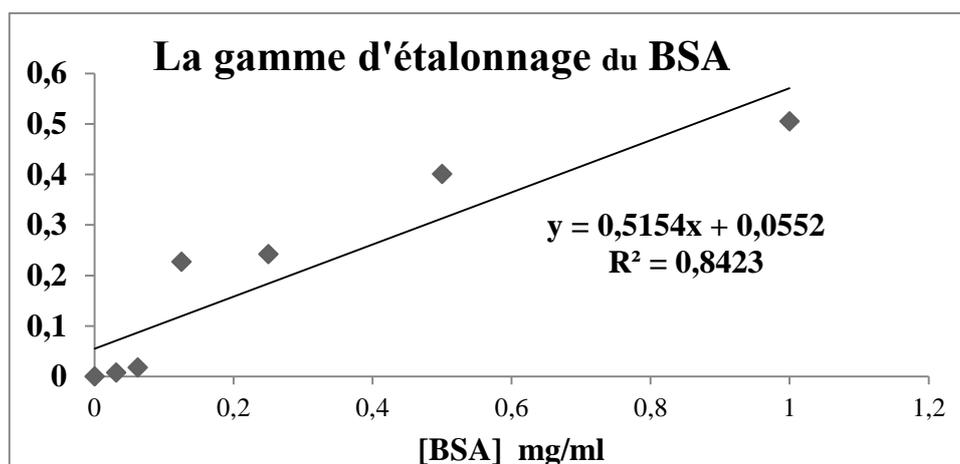
Wyrobeck A.J et al. An evaluation of the mouse sperm morphology test and other sperm tests in non human mammals. *Mutation Research* (1983); 115: 1-72.

## Y

- Yu H., Dickinson M., Chin Y.J, Kaufman B.N., Holben I., Geogdzhayev I, M.I. Mishchenko M.I. Annual cycle of global distributions of aerosol optical depth from integration of MODIS retrievals and GOCART model simulations. *J. Geophys. Res* (2003); 108: 10.
- Yu W., Qu L., Guo W., Peng X. *Chemistry of Materials* (2003); 15:2854-2860.

## Annexes

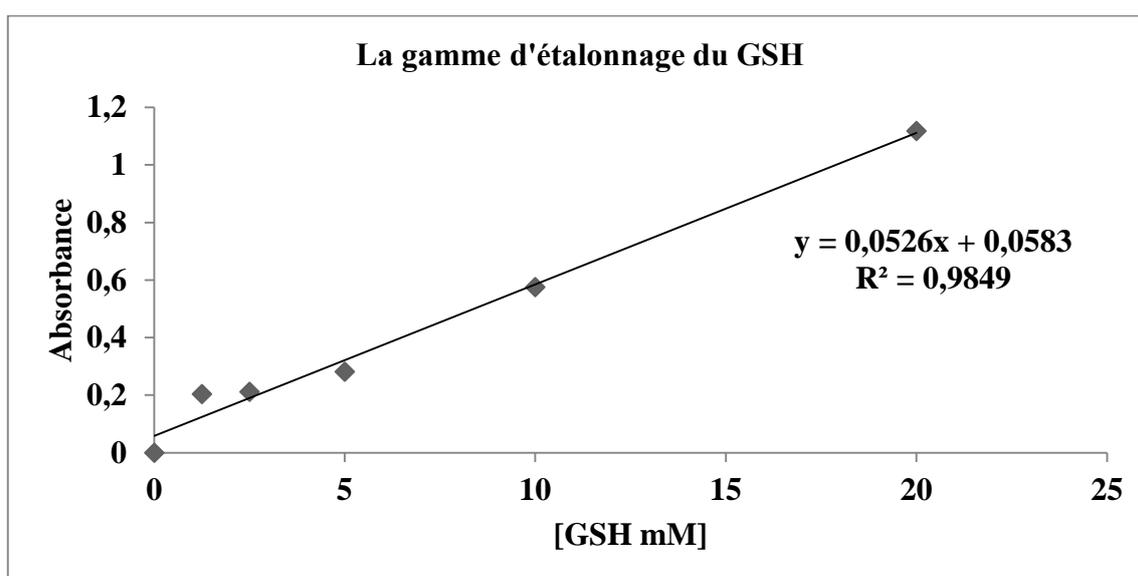
### Annexe 1. Courbe d'étalonnage du BSA.



[BSA] (mg/ml)	0,031	0,062	0,125	0,25	0,5	1	2
Moyenne	17,071197	16	18,071197	10,660194	17,40453	19,50161	7,5042
ESD	5,6505510	4,945780	1,4769199	5,3650243	7,690407	3,243958	5,4748

### Annexe 2. Courbe d'étalonnage du glutathion.

[GSH] mM	0	1,25	2,5	5	10	20
DO	0	0,204	0,211	0,281	0,575	1,118



## Annexes

### **Annexe 3. Variation des concentrations hépatique en glutathion.**

Lots	Témoins	B(a)P	MPCs	B + MPCs
[GSH] hépatique (mMoles/g)	4,596 ± 1,681	3,807 ± 0,072	4,645 ± 1,022	1,863 ± 0,458

### **Annexe 4. Variation du taux du MDA.**

Lots	Témoins	B(a)P	MPCs	B + MPC
Concentration µM/g de tissu (foie)	16 ,702 ± 13,003	21,358 ± 0,567	21,177 ± 1,927	20,887 ± 2,372

### **Annexe 5. Variation du taux du CAT hépatique.**

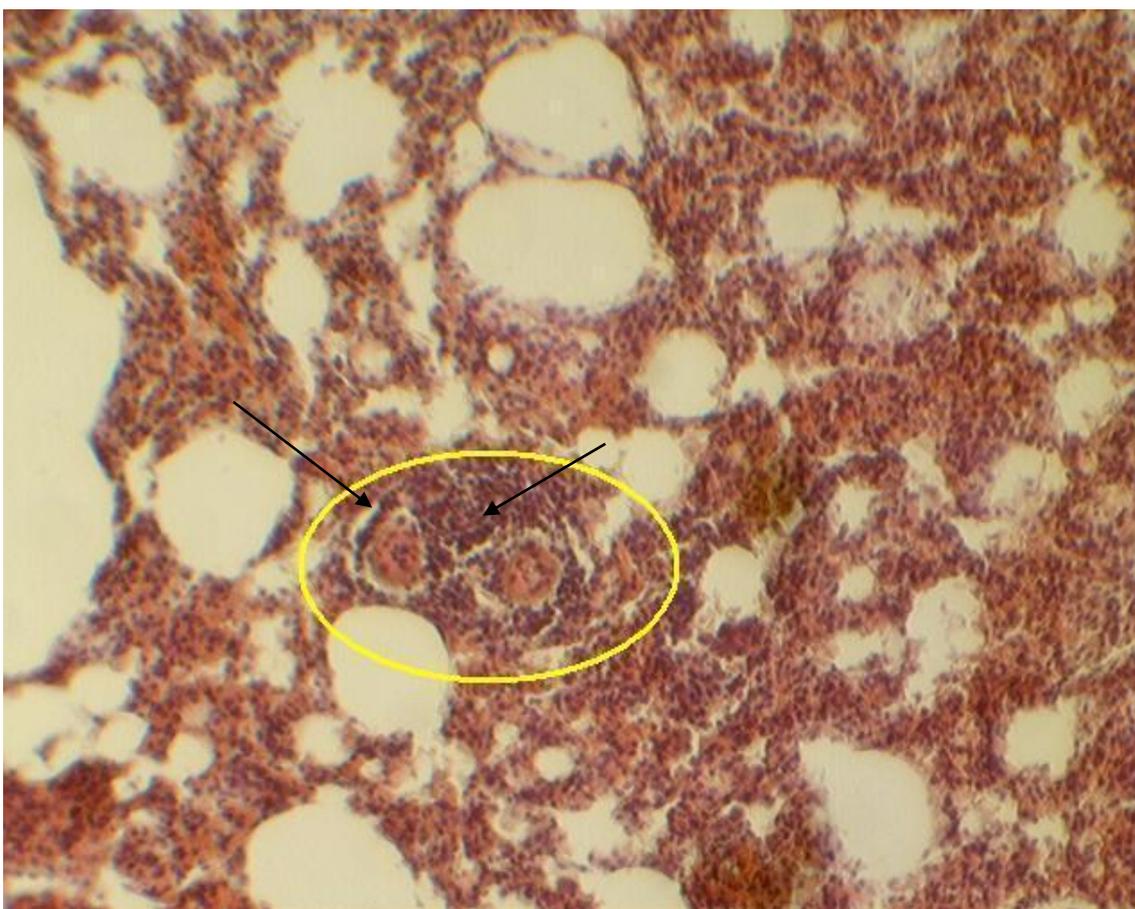
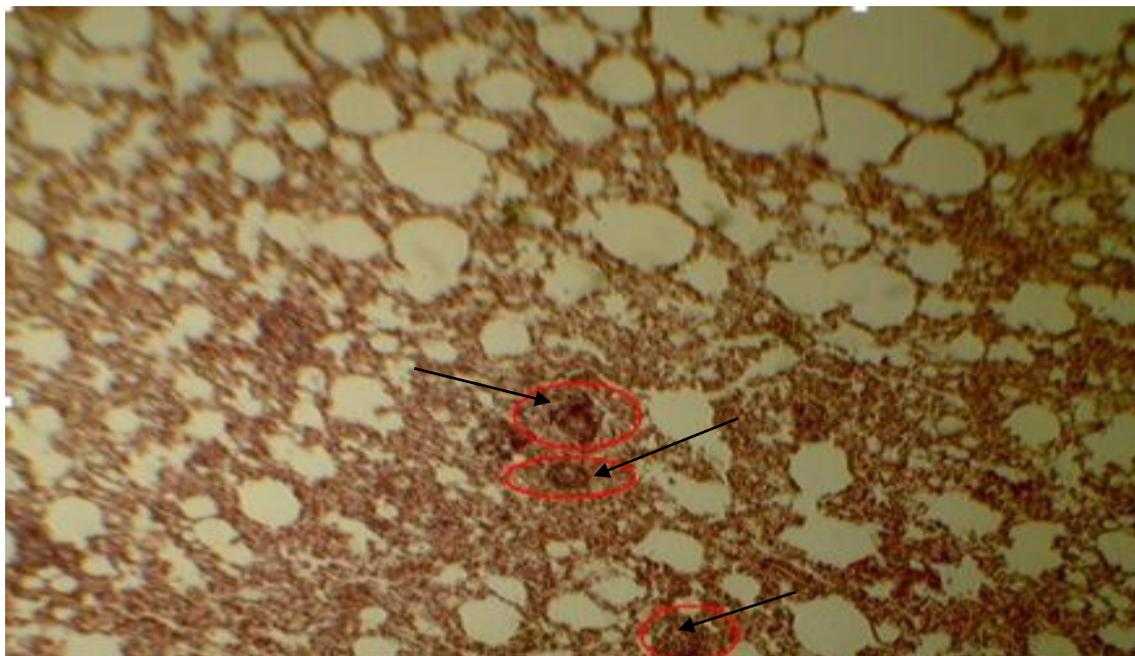
Lots	Témoins	B(a)P	MPCs	B+MPCs
[Protéines] hépatique (mg/ml)	17,071 ± 5,65	16 ± 4,945	18,071 ± 1,476	10 ,66 ± 5.365
Activité CAT hépatique UI/mg de protéines	0,010 ± 0,001	0,008 ± 0,0004	0,004 ± 0,001	0,011 ± 0,016

### **Annexe 6. Variation du taux du GST hépatique.**

Lots	Témoins	B(a)P	MPCs	B+MC
[Protéines] hépatique (mg/ml)	17,071 ± 5,65	16 ± 4,945	18,071 ± 1,476	10 ,66 ± 5.365
Activité GST hépatique UI/mg de protéines	2,987 ± 0,482	2,534 ± 0,224	0,298 ± 0,045	1,969 ± 0,139

Annexes

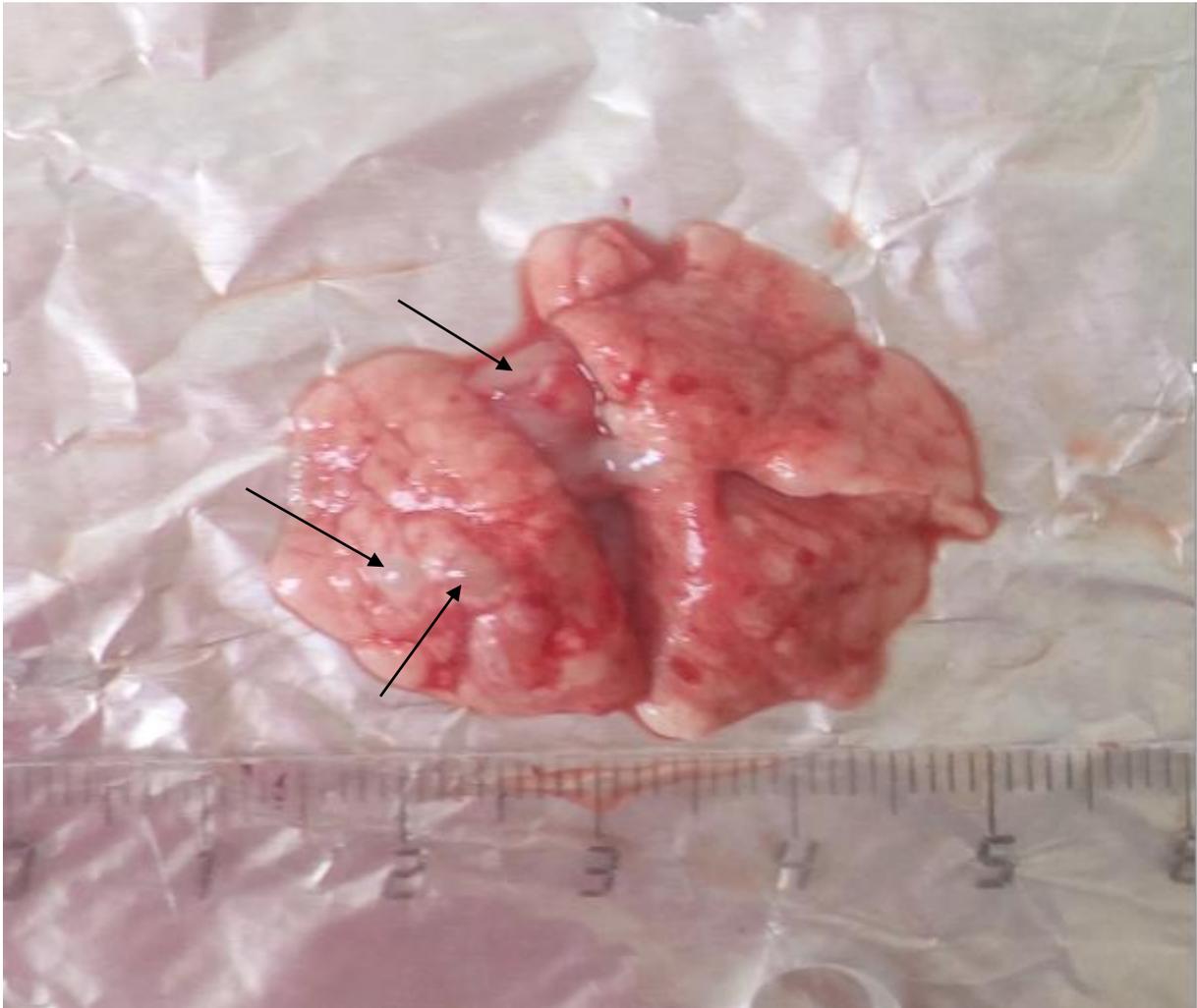
Annexe 7 .Examen histologique



Examen des coupes histologiques de groupe traité par le Benzo(a)pyrène observé au microscope x100. Les flèches noires désignent les foyers tumoraux.

## Annexes

### Annexe 8. Etude macroscopique



**Examen macroscopique de poumon du rat traité par le Benzo(a)pyrène. Les flèches noires désignent les nodules pulmonaire .**

<p><b>Présenté par :</b> BoukrikaKhaoula Taoutaoulbtissam Titah Asma</p>	<p><b>Encadreur :</b> Dr. BENGUEDOUAR. L <b>Date de soutenance :</b> 03/07/2017</p>
<p>Évaluation du profil de stress oxydatif hépatique au cours d'une exposition aux Métallophthalocyanineschez le rat ayant un cancer pulmonaire induit par le Benzo(a)pyrène</p>	
<p><b>Nature de diplôme : Master Académique en Biologie</b> <b>Option : Pharmacologie Expérimentale</b></p>	
<p><b>Résumé :</b> Les metallophthalocyanines sont des photosensibilisateurs utilisés dans la thérapie photodynamique. Ils sont considérés comme des anticancéreux dans le traitement du cancer pulmonaire. Au cours de la présente étude nous avons utilisé un modèle de cancérogénèse pulmonaire induite par le benzo(a)pyrène. Le profil de stress oxydatif au niveau du tissu hépatique au cours d'un traitement par les metallophthalocyanines a été évalué. Le B(a)P a été administré à une dose unique de 100 mg/kg en IP quatorze semaine avant le traitement par les metallophthalocyanines à une dose unique de 2 mg/kg en IV. Les estimations des antioxydants enzymatiques (CAT, GST) et non enzymatiques (GSH) ainsi que la peroxydation lipidique (MDA) ont été réalisées.Les MPCs ont diminué l'activité des paramètres enzymatiques et non enzymatiques et a augmente le MDA. En conclusion, nos résultats suggèrent que les métallophthalocyaninespourraient exercer une activité pro-oxydante et induire de manière significative le stress oxydatif hépatique.</p>	
<p><b>Mots clés :</b> metallophthalocyanines, benzo(a)pyrène, stress oxydatif, cancer de poumon, Hépatotoxicité</p>	
<p><b>Abstract:</b> Metallophthalocyanins are photosensitizers in photodynamic therapy which are considered anticancer drugs in the treatment of pulmonary cancer. In the present study we used a benzo (a) pyrene-induced pulmonary carcinogenesis model. The profile of oxidative stress in the hepatic tissue during treatment with metallophthalocyanins was evaluated. B (a) P was administered at a single dose of 100 mg / kg intraperitoneally fourteen weeks before treatment with metallophthalocyaninsgiven also at a single dose of 2 mg / kg intravenous sly. Estimates of enzymatic (CAT, GST) and non-enzymatic (GSH) antioxidants as well as lipid peroxidation (MDA) were performed. The MPCs decreased the activity of enzymatic and non-enzymatic parameters and increased MDA. In conclusion, our results suggest that metallophthalocyanines could exert pro-oxidative activity and significantly induce hepatic oxidative stress.</p>	
<p><b>Keys words:</b> metallophthalocyanins, benzo(a)pyrene, oxidative stress, lung cancer, hepatotoxicity</p>	
<p><b>المخلص:</b> الميتالوفتالوسيانين هي جزيئات حساسة للضوء تستعمل في العلاج الضوئي وتعتبر كمواد علاج مضادة لسرطان الرئة في هذه الدراسة استخدمنا البنزوبيران كعامل مسبب لسرطان الرئة عند الفئران من اجل تقييم سلوك التوتر الاكسدي أثناء العلاج بالميتالوفتالوسيانين . البنزوبيران حقن باطنيا بجرعة 100مغ/ كغ و الميتالوفتالوسيانين حقن وريديا بجرعة 2مغ/ كغ.قد تم تقييم مضادات الأوكسدة الإنزيمية( الكاتاليز و الجلوتاتيون س ترونسفيراز) و الغير إنزيمية ( الجلوتاتيون) و أيضا الدهيد ملونيك. الميتالوفتالوسيانين زاد بشكل فعال الدهيدملونيك و خفض من نشاط مضادات الأوكسدة الإنزيمية و الغير إنزيمية بشكل واضح. في الختام نتأجنا تشير أن الميتالوفتالوسيانين يمكن أن يسبب بشكل كبير التوتر الاكسدي الكبدي.</p>	
<p><b>الكلمات المفتاحية</b> الميتالوفتالوسيانين , البنزوبيران , التوتر الاكسدي , سرطان الرئة</p>	

## Introduction

Le cancer bronchique est un véritable problème de santé publique. Il représente 12.3% des nouveaux cas de cancer diagnostiqués chaque année. C'est le deuxième cancer chez l'homme et le quatrième chez la femme (Tyczynski et *al.*, 2003). De plus, le cancer bronchique est la première cause de mortalité par cancer dans le monde, malgré les progrès de la science, tant du point de vue diagnostique que thérapeutique, le taux de mortalité de ce cancer ne diminue que très faiblement. Ce mauvais pronostic est essentiellement dû à un diagnostic tardif, aux limites des traitements actuels et à un fort potentiel métastatique.

Divers sont les traitements utilisés dans la prise en charge des cancers pulmonaires : la chimiothérapie, la radiothérapie, la chirurgie. Malgré leur efficacité toutes ses techniques présentent de nombreux inconvénients. Cependant La thérapie photodynamique (PDT) est un traitement loco-régional pour des applications en dermatologie, ophtalmologie et en cancérologie. Son principe est basé sur l'association de l'oxygène, de la lumière et d'un photosensibilisateur ou PS (molécule photoactivable) non toxique à l'obscurité. Après son activation par la lumière, le photosensibilisateur transfère son énergie à l'oxygène moléculaire présent dans les tissus pour former des espèces réactives de l'oxygène (*l'oxygène singulet*) (Konan et *al.*, 2002).

Elles sont utilisées en thérapie photodynamique pour leur capacité à détruire les cellules cancéreuses via les mécanismes de photosensibilisation, il existe de nombreux PSs : des photosensibilisateurs de 1<sup>ère</sup>, 2<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup> génération. Parmi ces photosensibilisateurs de 2<sup>ème</sup> génération on distingue : les métallophthalocyanines qui sont un groupe des phthalocyanines.

Les métallophthalocyanines (MPCs) sont des complexes macrocycliques aromatiques (Konan et *al.*, 2002). Ces complexes sont également rencontrés dans le domaine médical comme agents photosensibilisateurs pour le traitement du cancer (Konan et *al.*, 2002).

Ce travail de fin de cycle révèle de la problématique de l'estimation des effets secondaires des métallophthalocyanines au niveau du foie au cours d'un cancer pulmonaire.

Pour atteindre cet objectif, nous nous sommes intéressés à l'évaluation de l'effet des métallophthalocyanines sur les paramètres de stress oxydatif hépatique.