

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 جيجل

UNIVERSITÉ de JIJEL

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie



كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم البيولوجيا الجزيئية و الخلوية

Mémoire de fin d'études

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

Option : Pharmacologie Expérimentale

Thème

Étude de l'effet de la propolis sur la toxicité hématologique induite par une polychimiothérapie anticancéreuse

Membres de Jury

Présidente : M^{me} ROUBAH Hassiba

Examinatrice : M^{elle} DERAÏ Elhadjela

Encadreur : Pr LAHOUEL Mesbah

Présenté par

BOUDJADAR Soulef

BELKEZEÏ Chahineze

BELAZ Sara

Année universitaire : 2014–2015

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Remerciements

Avant toute chose, nous remercions Dieu, le tout puissant pour nous avoir donné la force et la patience afin de réaliser ce modeste travail.

Un TRÈS GRAND merci pour notre encadreur Pr LAHOUEL Mesbah qui nous a fait l'honneur de veiller et diriger ce travail, pour avoir consacré du temps pour la correction de ce travail et pour ses conseils importants et pertinents donnés toute au cours de la réalisation de ce travail; et surtout pour nous avoir fait confiance et nous avoir accepté dans son laboratoire de recherche.

Nous tenons à présenter nos sincères remerciements aux membres du jury : la présidente M^{me} ROUIBAH Hassiba et l'examinatrice M^{elle} DERAÏ Elhadjela pour avoir accepté de nous consacrer une partie de leur temps, afin d'examiner et de juger notre travail.

Nous exprimons nos plus vifs remerciements à M^{me} LAARICHE Nesrine et M^{me} AZZOUZ Wassila pour leur aide lors de la réalisation pratique de notre travail.

Bien sûr, nous n'oublierons pas de remercier tous les ingénieurs du laboratoire de biologie pour leur sollicitude, encouragements et gentillesse en particulier M^{me} ZINE Houria.

Notre remerciements vont également à tous ceux et celles qui nous ont aidée de loin ou de près à réaliser ce travail.

Dédicace

Je dédie ce mémoire ;

À Mes parents :

Ma mère, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude ;

Mon père, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi ;

À ma très chère sœur Afaf et mes très chers frères Tareq, Oussama et Yasser ; qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité ;

À Besma et Fairouz ;

À mes très chères amies Chahineze et Sara, pour les bons moments qu'on passées ensemble durant toute la période de nos études ;

À tous les collègues de la promotion 2015 ;

À tous les personnes que j'aime et qui m'aiment.

Soulef

Dédicace

Au nom de dieu, j'ai commencé mes études et grâce à lui les termines par ce modeste travail sera dédié :

À ma très chère maman et mon très chère papa que je les aime et je les aimerai toujours et que dieu le tous puisant gardera pour moi une bougie qui s'éteindra jamais ;

À mes sœurs : Louisa, Nassima, Farida, Wided et surtout Nabila et Amira qui ma compagne tout la période de ce travail par ces aides précieux ;

À mes frère Ahcen et Abdelghani ;

À mon fiancé Mourad qui m'a aidé par sa patience ;

À mes chères amies copines et collègues Soulef et Sara pour les moments de joie et de peine qui nous avons partagé ensemble durant toute la période de nos études, sans oublié toute ses familles ;

À tous un grand merci ;

À moi-même.

Sommaire

CHAPITRE I : Introduction.....	1
---------------------------------------	----------

CHAPITRE II : Analyse bibliographique.....	2
---	----------

II.1. Le sang

II.1.1. Les composants sanguins.....	2
II.1.1.1. Le plasma.....	2
II.1.1.2. Les éléments figurés du sang.....	2
II.1.2. L'hématopoïèse.....	3

II.2. Le cancer du sein

II.2.1. Types histologiques du cancer du sein.....	5
II.2.1.1. Carcinome non infiltrant.....	5
II.2.1.2. Carcinome infiltrant.....	5
II.2.1.3. Les sarcomes.....	6
II.2.2. Gènes impliqués dans le cancer du sein.....	6
II.2.2.1. Les proto- oncogènes.....	6
II.2.2.2. Les gènes suppresseurs de tumeur.....	7
II.2.2.3. Gènes de prédisposition héréditaires.....	7

II.3. Mode d'action de la polychimiothérapie 5-fluorouracile, épirubicine et cyclophosphamide

II.3.1. Le 5-Fluorouracile.....	8
II.3.1.1. Métabolisme.....	8
II.3.1.2. Mode d'action.....	8
II.3.2. L'épirubicine.....	9
II.3.2.1. Métabolisme.....	10
II.3.2.2. Mode d'action.....	10
II.3.3. Le cyclophosphamide.....	11
II.3.3.1. Métabolisme.....	12
II.3.3.2. Mode d'action.....	12

II.4. Toxicité hématologique de la polychimiothérapie 5-fluorouracile, épirubicine et cyclophosphamide

II.4.1. Sur la numération sanguine.....	13
II.4.1.1. Toxicité hématologique du 5-Fluorouracile.....	13
II.4.1.2. Toxicité hématologique d'épirubicine.....	13
II.4.1.3. Toxicité hématologique du cyclophosphamide.....	13
II.4.1.4. Toxicité hématologique de la polychimiothérapie FEC.....	14
II.4.1.5. Conséquences de la toxicité hématologique sur les patientes.....	14
II.4.2. Sur les systèmes antioxydants.....	14

II.5. La propolis

II.5.1. Composition chimique de la propolis.....	16
II.5.2. Composition chimique de la propolis du Jijel.....	17
II.5.3. Activité antioxydant de la propolis.....	17
II.5.3.1. Effet piègeur des radicaux libres.....	17
II.5.3.2. Inhibition de certains enzymes.....	18
II.5.3.3. Chélation des ions métalliques.....	18
II.5.3.4. Inhibition de la peroxydation lipidique.....	18

CHAPITRE III : Matériel et méthodes.....19

III.1. Matériel.....	19
III.1.1. Matériel biologique et conditions d'hébergement.....	19
III.1.2. La propolis.....	19
III.1.3. Traitement des animaux.....	19
III.2. Méthodes.....	20
III.2.1. Prélèvements du sang.....	20
III.2.2. Réalisation de la FNS.....	20
III.2.3. Dosage du MDA dans le plasma.....	20
III.2.4. Dosage du GSH plasmatique.....	21
III.2.5. Mesure de l'activité enzymatique de la catalase plasmatique.....	22
III.2.6. Mesure de l'activité enzymatique de la SOD plasmatique.....	22
III.2.7. Analyse statistique des résultats.....	23

CHAPITRE IV : Résultats et discussion.....	24
IV.1. Effet de la polychimiothérapie FEC seule ou associée à la propolis sur les formules sanguines des rats.....	24
IV.2. Variations des concentrations du MDA dans le plasma.....	32
IV.3. Variations des taux des antioxydants dans le plasma.....	35
IV.3.1. Variations des concentrations plasmatiques du GSH.....	35
IV.3.2. Variations de l'activité enzymatiques de la catalase plasmatique.....	37
IV.3.3. Variations de l'activité enzymatique de la SOD plasmatique.....	38
Chapitre V : Conclusion.....	40
Références bibliographiques.....	41
Annexes.....	48

Liste des abréviations

μ : Micro	FNS : Formule et numération sanguine
5-FU : 5-Fluorouracile	Gpx : Glutathion peroxydase
ADN : Acide Désoxyribonucléique	GSH : Glutathion
ARNm : Acide ribonucléique messager	GSSG : Glutathion oxydé
ARNr : Acide ribonucléique ribosomale	H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène
ARNsn : Petit ARN nucléaire	HER2 : Human Epidermal Growth Factor Receptor-2
ATM : Ataxia Telangiectasia Mutated	KDa : Kilo dalton
BRCA 1 : Breast cancer 1	MCH : Mean corpuscular hemoglobin
BRCA 2 : Breast cancer 2	MCHC : Mean corpuscular hemoglobin concentration
CAT : Catalase	MCV : Mean corpuscular volume
CTX : Cyclophosphamide	MDA : Malondialdéhyde
DTNB : 5-5'-dithiobis(2-nitrobenzoïque)	NaCl : Chlorure de sodium
EDTA : Ethylène diamine tetracetic acid	NBT : Nitro blue Tetrazolium
EGF : Epidermal Growth Factor	P21 : Protéine 21
EGFR : Epidermal Growth Factor Receptor	P53 : Protéine 53
EPI : Epirubicine	
FEC :5-Fluorouracile,épirubicine, cyclophosphamide	
PH : Potentiel d'hydrogène	
PTEN : phosphate and tensin homolog	
ROS : Reactive oxygen species	
SDS : sodium dodecyl sulfate	
SOD : Superoxyde dismutase	
TBA : Thiobarbituric acid	
TGFα : Transforming Growth Factor α	
TNB : Thionitrobenzoïque	

I. Introduction

La chimiothérapie exerce plusieurs effets secondaires, dont l'atteinte hématologique est la plus fréquente. Les trois lignées sanguines peuvent être atteintes par les anticancéreux conduisant à la leucopénie, la thrombopénie et l'anémie, et même parfois à une aplasie médullaire globale (Touitou, 2007). En plus, beaucoup d'agents anticancéreux exercent leur action cytotoxique par des mécanismes radicalaires (Todorova et Dinev, 2010), induisant ainsi la génération d'un stress oxydatif.

D'autre part, plusieurs travaux ont montré l'effet antioxydant de la propolis (Benguedouar et al., 2008 ; Lahouel et al., 2010 ; Kebsa et al., 2014), elle est considérée comme un puissant piègeur des radicaux libres (Ozguner et al., 2005). La propolis s'oppose également à l'action toxique des anticancéreux au niveau des cellules souches hématopoïétiques (Lahouel et al., 2004).

Cependant, l'effet de la propolis sur la toxicité hématologique induite par une polychimiothérapie anticancéreuse constituée du cyclophosphamide, du 5-fluorouracile et d'epirubicine n'est pas connu. Cette hématotoxicité se présente par une diminution globale des cellules circulantes du sang, une diminution du taux des antioxydants avec une augmentation des produits de la peroxydation lipidique. Donc Est-ce que la propolis peut s'opposer l'attaque des cellules souches hématopoïétiques par le FEC? Est-ce que la propolis peut remplacer les systèmes antioxydants? Et si oui par quel mécanisme?

L'objectif de notre étude *in vivo*, est d'évaluer l'effet préventif de la propolis sur la toxicité hématologique induite par la polychimiothérapie FEC chez des rats males *Wistar Albinos*, et cela par :

- ✓ L'évaluation de la FNS ;
- ✓ Dosage des taux du MDA et du GSH dans le plasma ;
- ✓ Mesure de l'activité enzymatique de la CAT et de la SOD dans le plasma.

II. Analyse bibliographique

II.1. Le sang

Le sang est un tissu conjonctif fluide constitué d'un liquide complexe, le plasma, dans lequel des cellules diverses circulent en suspension, c'est un liquide rouge et épais, légèrement alcalin (pH entre 7.35 et 7.45) (Ramé et Therond, 2011). Le sang est le seul tissu liquide de l'organisme, il y a environ 5 litres du sang chez l'adulte et 250 ml chez le nouveau-né (Marieb, 2005).

II.1.1. Les composants sanguins

II.1.1.1. Le plasma

Le plasma est la partie liquide du sang dans laquelle sont suspendues les cellules sanguines. Il est de couleur jaune pâle et représente 55% du volume sanguin. Le plasma est composé de 90% d'eau. Les substances organiques les plus abondantes sont les protéines (7% du poids totale du plasma). Il transporte une faible quantité de gaz, ainsi que des hormones, des enzymes et des nutriments. Il transporte enfin des déchets métaboliques (urée, acide urique, etc.) et des produits résultants du métabolisme des hormones et des médicaments (Ramé et Therond, 2011).

II.1.1.2. Les éléments figurés du sang

A. Les érythrocytes

Les érythrocytes, aussi appelés globules rouges ou hématies, sont de petites cellules. Ils ont la forme de disques biconcaves (Marieb, 2005) de 7 à 8 μm de diamètre (Ramé et Therond, 2011), le nombre normal chez l'homme est de 4.5 à 6.5 millions/ mm^3 , chez la femme est de 4 à 5.5 millions/ mm^3 . Les érythrocytes contiennent de l'hémoglobine permettant le transport de l'oxygène et du dioxyde de carbone. L'hémoglobine est formée par quatre chaînes de globine polypeptidique possédant chacune une molécule d'hème contenant du fer (Mehta et Hoffbrand, 2003). Les érythrocytes se consacrent entièrement à leur tâche, qui est de transporter les gaz respiratoires (oxygène et gaz carbonique).

B. Les leucocytes

Les leucocytes (leukos : blanc), ou globules blancs, sont les seuls éléments figurés du sang possèdent un noyau et les organites habituels, le chiffre normal des leucocytes est compris entre 4000 et 10000/ mm^3 , on distingue deux catégories de leucocytes :

- ✚ **Les granulocytes ou les polynucléaires :** Dont les noyaux possèdent plusieurs lobes, ces cellules contiennent des granulations dans leur cytoplasme. Ils sont classés en trois groupes : les neutrophiles, les basophiles et les éosinophiles ;
- ✚ **Les agranulocytes :** Ce sont des cellules qui ne contiennent pas des granulations dans leur cytoplasme, ils sont classés en deux groupes : les monocytes et les lymphocytes (Marieb, 2005).

C. Les thrombocytes

Les plaquettes sont parfois appelées thrombocytes (thrombos : caillot); elles ne sont pas des cellules à proprement dit. Ce sont des fragments cytoplasmiques de cellules extraordinairement grosses appelées mégacaryocytes (Marieb, 2005), elles circulent pendant 6-8 jours et sont ensuite détruites dans la rate et dans le lit vasculaire pulmonaire (Ramé et Therond, 2011). Elles jouent un rôle fondamental dans les mécanismes d'arrêt des hémorragies. Lorsqu'un vaisseau est lésé, il se produit une adhésion et une agrégation des plaquettes au niveau de la blessure dans le but de former un bouchon appelé clou plaquettaire (Marieb, 2005).

II.1.2. L'hématopoïèse

Chez l'homme, l'hématopoïèse est assurée par la moelle osseuse. Elle comprend schématiquement trois stades. Le premier correspond à la formation de cellules souches pluripotentes (capables de donner naissance à n'importe quelle cellule sanguine) et autorenouvelables. Le deuxième correspond à la formation de progéniteurs, issus des cellules précédentes et se spécialisant progressivement dans une direction spécifique (polynucléaire, globule rouge, etc.). Enfin, le troisième est le stade de maturation, au cours duquel les cellules acquièrent progressivement la morphologie et les composants cellulaires de leur lignée. À la fin du processus de maturation, les cellules matures passent de la moelle osseuse vers le sang (Merthelsmann, 2011).

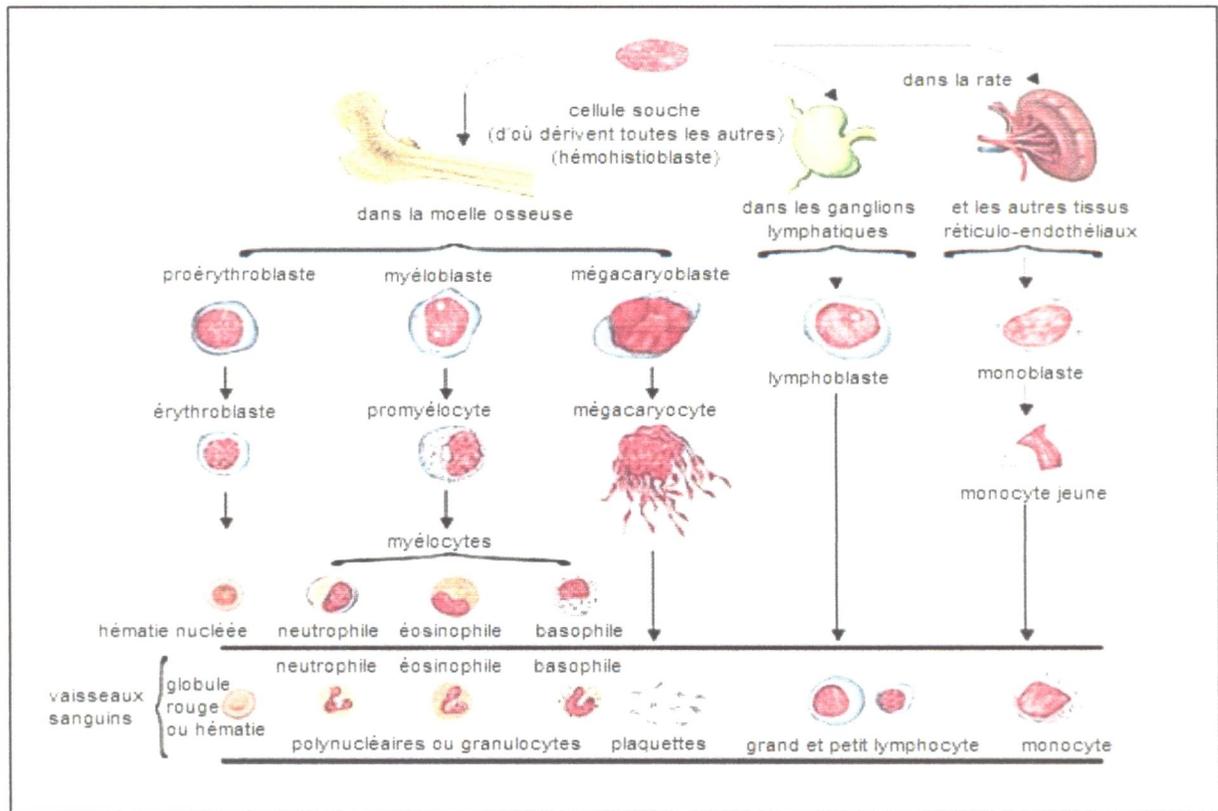


Figure 1 : Processus de l'hématopoïèse (Merthelmann, 2011)

II.2. Le cancer du sein

Le cancer du sein est une tumeur maligne qui peut se développer à partir de différents types de cellules constituant la glande mammaire (Benchimol, 2007). C'est le cancer le plus fréquent chez la femme (Duclos, 2009), près d'une femme sur huit sera touchée au cours de sa vie, avec plus de 40 000 nouveaux cas par an (Gonçalves et al., 2005). La tranche d'âge la plus touchée étant celle de 50 à 60 ans; seules 5 % des patientes ont moins de 35 ans lors du diagnostic. La grande majorité des cancers du sein sont «sporadiques», on distingue environ 10% de formes «héréditaires». L'induration ou la nodosité palpable, généralement indolore mais comme fixée à la peau, constitue généralement le symptôme le plus fréquent du cancer du sein. D'autres signes peuvent apparaître, tel que la rougeur ou la rétraction de la peau, la lésion du mamelon ou (rarement) l'écoulement sanguinolent (Goldhirsch et al., 2007).

II.2.1. Types histologiques du cancer du sein

Il existe différents types de cancer du sein. Les plus fréquents 95% se développent à partir des cellules des canaux (cancer canalaire) et des lobules (cancer lobulaire). On les appelle des adénocarcinomes. D'autres plus rares (1%) se développent à partir du tissu conjonctif de la glande mammaire ou à partir d'une tumeur bénigne préexistante, on les appelle des sarcomes (Barillot, 2000). On distingue deux situations du point de vue de l'invasion :

II.2.1.1. Carcinome non infiltrant

Ils sont soit canaux soit lobulaires, et présentent tous les critères cytologiques de la malignité, sans dépasser la membrane basale ni infiltrer le tissu conjonctif sous-jacent. Ils n'ont pas de risque métastatique (Keen et Davidson, 2003).

- ❖ **Carcinome canalaire *in situ* (CCIS):** Représente environ 5% des cancers du sein.
- ❖ **Carcinome lobulaire *in situ* (CLIS):** Représente environ 1% des cancers du sein.

II.2.1.2. Carcinome infiltrant

Les cellules cancéreuses acquièrent une mobilité qui leur permet de se détacher de leur emplacement d'origine et d'infiltrer dans les tissus voisins (Keen et Davidson, 2003).

- ❖ **Carcinome canalaire infiltrant (CCI):** Représente environ 75% des cancers du sein.
- ❖ **Carcinome lobulaire infiltrant (CLI):** Représente environ 2% des cancers du sein.

II.2.1.3. Les sarcomes

Les sarcomes du sein sont rares, et représentent seulement 1% de l'ensemble des types histologiques des cancers mammaires. Ces tumeurs peuvent naître à partir du contingent mésenchymateux d'une tumeur bénigne préexistante (Contesso et al., 1984).

II.2.2. Gènes impliqués dans le cancer du sein

II.2.2.1. Les proto- oncogènes

A. Le gène HER2

Le gène HER2/neu ou ERBB2 qu'est un proto-oncogène localisé sur le bras long du chromosome 17 est retrouvé amplifié dans environ 20-30% des cancers du sein invasives. Cette protéine appartient à la famille des récepteurs à l'EGF. Ces protéines constituent des récepteurs membranaires chargés de transmettre via leur activité tyrosine kinase intracellulaire des signaux extracellulaires et de contrôler notamment des mécanismes cellulaires essentiels au maintien de l'homéostasie du tissu épithélial. ERBB2 ne possède pas de ligand connu, mais il s'associe aux autres membres de la famille EGFR sous forme d'hétérodimères (Gonçalves et al., 2005). Dans les cancers du sein, l'activation de l'oncogène HER2 n'est pas due à une mutation ponctuelle, mais à une amplification génique, dont la conséquence est la stimulation de sa transcription, donc une surexpression de l'ARNm menant à une augmentation du nombre de récepteur (protéine HER2) à la surface de la cellule (Monge, 2006).

B. C-myc

Le proto-oncogène C-myc est également impliqué dans le cancer du sein, il fait partie de la famille des protéines à activité nucléaire. Les gènes myc regroupent 3 différents membres : C-myc, N-myc, et L-myc, seul c-myc est altéré dans le cancer du sein. En situation physiologique, son rôle principal est de promouvoir la réplication cellulaire en engageant les cellules quiescentes dans le cycle cellulaire en réponse à différents signaux extra cellulaire, il joue un rôle critique dans la transition G0→ G1 et le point de restriction (Pescarlo et al, 2001). L'oncogène C-myc est le premier oncogène dont on a décrit l'amplification dans les cancers du sein. La protéine C-myc est surexprimée dans 50 à 100% des cas de cancer du sein, il a été associée à l'agressivité tumorale (Liao et Dickson, 2000).

C. Gènes Ras

Les mutations des protéines Ras sont communes à beaucoup de cancers et observées dans 30 à 80 % des cancers du sein. Les protéines Ras interviennent dans le relais des signaux des récepteurs à activité tyrosine kinase vers le noyau pour stimuler la prolifération ou la différenciation cellulaire. Ils semblent avoir un rôle dans la régulation de nombreux gènes impliqués dans la réplication, mais aussi dans les différentes étapes de la progression tumorales, notamment, le produit du gène Ras a un effet sur la transcription des gènes c-fos et c-jun, de l'oncogène c-myc, des gènes de la collagénases et également sur l'expression des facteurs de croissance tel que le TGF α (Jauzein, 2006).

II.2.2.2. Les gènes suppresseurs de tumeur

A. Le gène P53

La mutation du P53 est observée dans environ 20 à 30% des cas du cancer du sein (Keen et Davidson, 2003). Le gène p53 est localisé sur le chromosome 17, La protéine p53 arrête le cycle cellulaire en G1 en activant le gène p21/WAF1 qui code pour une protéine inhibitrice, la p21, qui empêche la phosphorylation de la protéine RB, acteur essentiel de la progression du cycle cellulaire à la phase G1. En outre, p53 peut induire l'apoptose par différentes voies Bax, Noxa, Puma, Fas, etc (Rebucci et Lansiaux, 2009).

B. Le gène RB

Le gène suppresseur des tumeurs RB1 est localisé sur le chromosome 13. Il code pour une protéine impliquée dans le contrôle du cycle cellulaire et dans la transcription des proto-oncogènes c-fos ou c-myc, ce qui détermine l'entrée dans la phase S du cycle cellulaire. Le mécanisme est la phosphorylation variable de la protéine RB. Selon l'hypo- ou l'hyper-phosphorylation de la protéine RB, on observe le blocage en G1 ou la progression dans le cycle. Le gène RB n'est cependant directement en cause que dans une fraction beaucoup plus faible des cancers du sein (7 à 37% selon les études), qu'il s'agisse de perte d'hétérozygotie (LOH) ou toute autre altération susceptible de bloquer son expression (Varley, 1999).

II.2.2.3. Gènes de prédisposition héréditaires

Une grande partie des formes héréditaires du cancer du sein sont liées à des mutations germinales de l'un de ces deux gènes suppresseurs de tumeurs, BRCA1 et BRCA2 (Gonçalves et al., 2005).

II.3. Mode d'action de la polychimiothérapie 5-fluorouracile, épirubicine et cyclophosphamide

On regroupe sous le terme de chimiothérapie anticancéreuse un ensemble de médicaments qui ont en commun le pouvoir de provoquer la mort des cellules cancéreuses en ciblant leur ADN, la chimiothérapie combinée ou polychimiothérapie se caractérise par une association entre différentes molécules dans le but d'anticiper les résistances au traitement anticancéreux (Buxeraud et al., 2014)

II.3.1. Le 5-Fluorouracile

Le 5-Fluorouracile appartient à la classe des anti-métabolites de type anti-pyrimidique (Lecomte, 2008), il s'agit d'un analogue d'uracile contenant un atome du fluor en position C₅ à la place d'hydrogène (Longley et al., 2003). On l'administre en perfusion veineuse très lente dans les cancers du sein (Touitou, 2007).

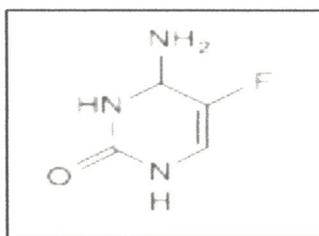


Figure 2: Structure chimique du 5-Fluorouracile (Merthelsmann et al., 2011)

II.3.1.1. Métabolisme

L'activité pharmacologique du 5-Fluorouracile nécessite au préalable un métabolisme intracellulaire (Lecomte, 2008). Le 5-Fluorouracile entre rapidement dans la cellule en utilisant le mécanisme du transport facilitée comme l'uracile. À l'intérieur de la cellule, le 5-Fluorouracile est convertie en trois métabolites actives essentielles : le fluorodeoxyuridine monophosphate (FdUMP), le fluorodeoxyuridine triphosphate (FdUTP) et le fluorouridine triphosphate (FUTP) (Longley et al, 2003).

II.3.1.2. Mode d'action

Le 5-Fluorouracile agit en phase S du cycle cellulaire, en inhibant la thymidylate synthétase par le FdUMP et l'inhibition de la synthèse de l'ARN par le FUTP (Merthelsmann et al., 2011).

A. Inhibition de la thymidylate synthétase

La thymidylate synthétase catalyse la méthylation du deoxyuridine monophosphate (dUMP) au deoxythymidine monophosphate (dTMP) par la réduction du 5,10-méthyltetrahydrofolate (CH₂THF) comme donneur du méthyl. La thymidylate synthétase est une protéine de 36KDa fonctionne en dimer, les deux sous unités contiennent un site de fixation pour le nucléotide et un site de fixation pour le CH₂THF. Le FdUMP se lie au site de fixation du nucléotide (Longley et al., 2003) pour laquelle il a une affinité mille fois supérieure à celle du substrat naturel le dUMP (Cohen et Jacquot, 2008) formant ainsi un complexe ternaire stable avec l'enzyme et le CH₂THF, ce qui bloque la fixation des dUMP et donc l'inhibition de la synthèse du dTMP (Longley et al., 2003). Et comme la thymidylate synthétase constitue la seule voie de synthèse de la thymidine, la synthèse de l'acide ribonucléique est arrêtée et la mort cellulaire survient par carence en thymine (Cohen et Jacquot, 2008).

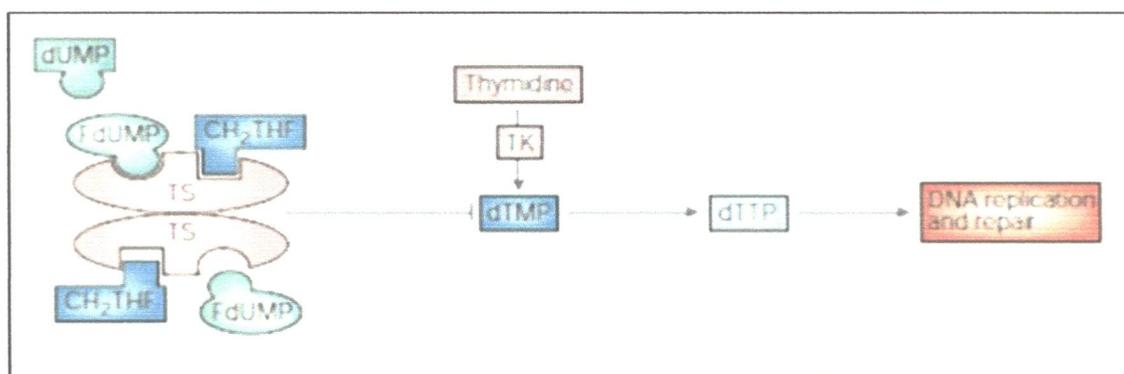


Figure 3 : Mécanisme d'inhibition de la thymidylate synthétase par le 5-FU (Longley et al., 2003)

B. Inhibition de la synthèse de l'ARN

Le FUTP est incorporé extensivement dans l'ARN, l'incorporation de ce pseudouridine dans l'ARN (ARNr, ARNt ou l'ARNsn) provoque un arrêt de sa synthèse et de son fonction ce qui altère le métabolisme et la viabilité cellulaire (Longley et al., 2003). Le 5-FU est également capable d'être incorporé dans l'ADN (Bernades-Genisson, 2003).

II.3.2. L'épirubicine

L'épirubicine appartient au groupe des antibiotiques anthracyclines, anciennement appelé intercalant, classé parmi les anti-topoisomérase II, et présente sous la forme d'une solution pour

perfusion (Buxeraud, 2008). L'épirubicine est un stéréoisomère du doxorubicine, la seule différence entre la structure de l'épirubicine et celle de la doxorubicine est au niveau de l'orientation du groupement hydroxyle situé sur l'atome du carbone quatre du sucre hexopyranosyle (Tjuljandin et al., 1990).

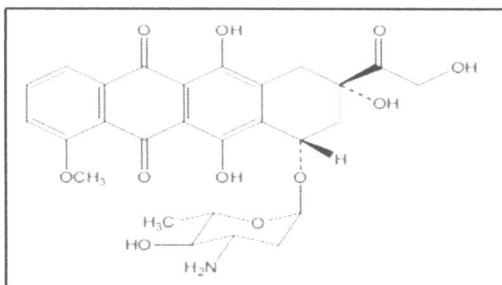


Figure 4 : Structure chimique de l'épirubicine (Buxeraud, 2008)

II.3.2.1. Métabolisme

L'épirubicine est métabolisé principalement par le foie, ces principaux métabolites sont : le glucuronide d'épirubicine, l'aglycones et l'épirubicinole (Twelves et al., 1992).

II.3.2.2. Mode d'action

L'épirubicine agit en phases S/G2 du cycle cellulaire (Merthelsmann et al., 2011), il agit selon trois mécanismes :

A. Intercalation dans l'ADN

Les anthracyclines se lient de façon non covalente aux doubles-brins de l'ADN pour former un complexe ADN-anthracycline. Les interactions dans ce complexe sont de deux ordres, hydrophobes et électrostatiques. Les interactions électrostatiques impliquent d'une part, le groupe amine chargé positivement en C_{3'} de la daunosamine des anthracyclines, et d'autre part le groupe phosphate chargé négativement de l'ADN. Les interactions hydrophobes impliquent la structure anthraquinone des anthracyclines, par l'intermédiaire des cycles aromatiques B, C et D, et les paires de bases de l'ADN (Priebe et Perez Soler, 1993).

B. Production des radicaux libres

Tous les anthracyclines dans l'usage clinique sont des anthraquinones (Mross et al., 2006). Ils sont modifiés par une réduction à un électron en semiquinone ou à deux électrons en dérivés

Dihydroquinone (Prat et al., 1994). Le radical libre semi quinone cède son électron à l'oxygène conduisant à la formation de l'anion superoxide, ce dernier à pH neutre subir une dismutation qui donne lieu à la formation du peroxyde d'hydrogène et d'oxygène, cette réaction peut être catalysée par le superoxide dismutase, le peroxyde d'hydrogène subit ensuite un clivage réductif pour donner le radical hydroxyle qui est un radical très réactif et très destructif (Mross et al., 2006). Les radicaux hydroxyles ou anions superoxydes peuvent initier un cycle de peroxydation lipidique des membranes cellulaires. Ces espèces radicalaires éliminent l'hydrogène des acides gras insaturés pour produire des radicaux libres d'acide gras. Ces derniers réagissent avec l'oxygène moléculaire pour générer des radicaux peroxydes d'acides gras. D'une part l'extraction d'un proton d'une molécule d'acide gras permet de former un peroxyde lipidique, et d'autre part, de générer un nouveau cycle de peroxydation lipidique (Prat et al., 1994).

C. Inhibition de la topoisomérase II

Les topoisomérases II induisent des cassures doubles brins transitoires de l'ADN afin de permettre à un segment de l'ADN de passer à travers un autre. Leur fonction est essentielle durant la réplication, la transcription, la suppression des recombinaisons, la ségrégation et la condensation des chromosomes. Les anthracyclines en s'intercalant à l'ADN stabilisent le complexe transitoire du clivage [ADN-enzyme] et empêchent de façon réversible la relégation des brins. L'inhibition de cette enzyme provoque un arrêt du cycle cellulaire en G2/M, puis des aberrations chromosomiques, des échanges entre chromatides sœurs et la mort cellulaire (Tewey et al., 1984)).

II.3.3. Le cyclophosphamide

Le cyclophosphamide appartient à la classe des agents alkylants de la famille des mutardes à l'azote, il est administré per os ou par voie intraveineuse dans le traitement des cancers du sein (Touitou, 2007).

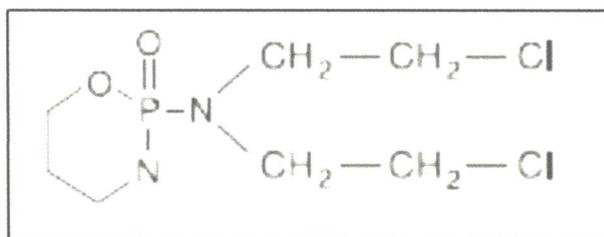


Figure 5 : Structure chimique du cyclophosphamide (Merthelsmann et al., 2011)

II.3.3.1. Métabolisme

Le cyclophosphamide est un prodrogue inactive qui nécessite une activation enzymatique pour libérer la mutarde phosphoramidate active (Emadi et al., 2009). Le foie est le site majeur d'activation du cyclophosphamide, approximativement 70-80% de la dose administrée est activée par le cytochrome P450, ce dernier induit une hydroxylation du cyclophosphamide ce qui génère le 4-hydroxyphosphoramidate, qu'est en équilibre avec son tautomère l'aldophosphamide (Emadi et al., 2009), le nom 4-hydroxycyclophosphamide est généralement utilisé pour désigner les deux composés. L'hydroxycyclophosphamide diffuse des hépatocytes vers le sang et distribué ainsi vers tous le corps, il diffuse ensuite rapidement et facilement dans les cellules, ce métabolite n'exerce pas elle-même un effet cytotoxique, c'est un métabolite instable et se décompose spontanément en mutarde phosphoramidate (métabolite actif) et acrolein (métabolite toxique) (Kummar et Kuttan, 2005).

II.3.3.2. Mode d'action

Le cyclophosphamide agit en phase S du cycle cellulaire (Merthelsmann et al., 2011), La mutarde phosphoramidate subit une déphosphoramidation en mutarde à l'azote (McDiarmid et al., 1991). Les effets cytotoxiques du cyclophosphamide sont généralement considérés comme étant le résultat de la formation d'une réticulation de l'ADN à travers une liaison covalente par les groupes alkyle hautement réactifs des moutardes à l'azote alkylants (Zhang et al, 2005). A pH alcalin ou neutre, la moutarde à l'azote est convertie chimiquement en ion de carbonium par des ions imonium. Les ions de carbonium réagissent avec le N₇ des résidus guanine dans l'ADN afin de former une liaison covalente. Le second bras de la moutarde phosphoramidate peut réagir avec un second fragment de guanine dans un support en face de l'ADN ou dans la même position pour former des liaisons de réticulation (Springer et al., 1998). Après la formation de la réticulation, les cellules vont subir une apoptose initiée par altération de l'ADN, modulation du cycle cellulaire, ainsi que d'autres effets antiprolifératifs (Bhatia et al., 1995).

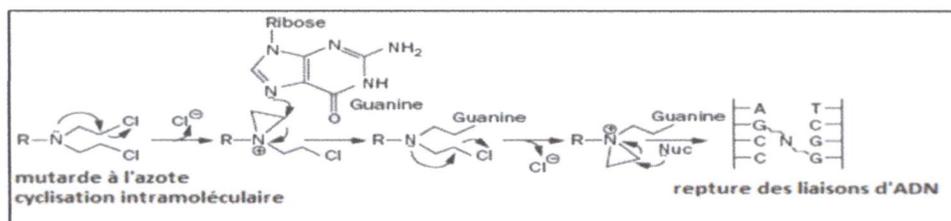


Figure 6 : Mécanisme d'alkylation de l'ADN par le cyclophosphamide (Emadi et al., 2009)

II.4. Toxicité hématologique de la polychimiothérapie 5-fluorouracile, épirubicine et cyclophosphamide

Les anticancéreux s'attaquent aux cellules en division rapide. Leur spécificité à l'égard des cellules cancéreuses n'est pas totale. De ce fait ces substances s'attaquent aussi aux tissus dont les cellules se renouvellent rapidement comme les cellules du système hématopoïétique. La toxicité hématologique est due à un effet de la chimiothérapie sur les cellules de la moelle osseuse chargées de renouveler les cellules sanguines circulantes : globules blancs, globules rouges et plaquettes (Cohen et Jacquot, 2008).

II.4.1. Sur la numération sanguine

II.4.1.1. Toxicité hématologique du 5-Fluorouracile

Il a été montré que le 5-fluorouracile inhibe la prolifération des progénitures hématopoïétiques chez les rats, conduisant ainsi à une thrombopénie, leucopénie avec une réduction significative du nombre des lymphocytes et des neutrophiles, une réticulopénie, une anémie avec une réduction d'hémoglobine, d'hématocrite et du Volume globulaire moyen (Kojima et al., 2003). L'administration hebdomadaire du 5-Fluorouracile en bolus intraveineuse provoque généralement une leucopénie et une thrombopénie, tandis que l'administration intraveineuse continue produit plus communément moins la myélosuppression (Dissio et al., 1988).

II.4.1.2. Toxicité hématologique d'épirubicine

La myélosuppression est une toxicité commune de tous les anthracyclines (Mross et al., 2006), la toxicité de l'épirubicine sur les cellules souches hématopoïétiques est significativement inférieur à celle de la doxorubicine. L'épirubicine induit la leucopénie et la thrombopénie (Merthelsmann et al., 2011).

II.4.1.3. Toxicité hématologique du cyclophosphamide

La myélosuppression est l'effet toxique le plus connu du cyclophosphamide (Emadi et al., 2009), elle est induite principalement par l'altération de la prolifération des progénitures hématopoïétiques et la maturité des cellules issues, provoque ainsi une diminution du nombre des cellules périphériques du sang (Fishman et al., 2001). Le cyclophosphamide entraîne une réduction significative du nombre des leucocytes circulantes (Lahouel et al., 2004; Sheeja et Kuttan, 2006;

El-Naggar et al., 2014) et en particulier des lymphocytes (Patra et al., 2012). Chez les humains, après une administration intraveineuse d'une dose unique du cyclophosphamide, le nombre des leucocytes commencent à tomber par le sixième jour, atteignent le minimum entre le neuvième et le douzième jour et commencer à récupérer par le quinzième jour, la réduction des plaquettes produit uniquement à des doses élevées (Bergsagel et al., 1968).

II.4.1.4. Toxicité hématologique de la polychimiothérapie FEC

La chimiothérapie par le protocole FEC (5-fluorouracile, épirubicine et cyclophosphamide) est largement utilisée pour le traitement des cancers du sein. Les doses standards sont 600/60/6000mg/m² pour le 5-fluorouracile, l'épirubicine et le cyclophosphamide respectivement (Sandstrom et al., 2006). Ce protocole de chimiothérapie induit une myelosuppression (Sitzia et Dikken, 1997) conduisant à une leucopénie, neutropénie, anémie et thrombopénie chez les patientes atteintes d'un cancer du sein (Abe et al., 2013). Ce traitement s'administre par voie intraveineuse, en cure de 3 heures environ, généralement séparés par trois semaines, pour permettre une récupération contre la myélosuppression et la leucopénie produites (Sanchez-Suarez et al., 2008).

II.4.1.5. Conséquences de la toxicité hématologique sur les patientes

L'anémie peut entraîner un mauvais transport de l'oxygène par le sang. La pâleur, la fatigue, les palpitations cardiaques, l'essoufflement et les vertiges constituent les principaux signes d'alarme de l'anémie (Buxeraud et al., 2014). La leucopénie constitue un réel danger pour les patients; d'une part par leur exposition immédiate à des risques infectieux et d'autre part l'effet rebond qui apparaît une semaine après la leucopénie par la mobilisation excessive de cellules souches peut provoquer un tarissement à long terme (Lahouel et al., 2004). La thrombopénie est responsable d'un risque d'hémorragie surtout si le taux des plaquettes est inférieur à 20 000/mm³ (Alexandre et al., 2009).

II.4.2. Sur les systèmes antioxydants

La chimiothérapie est associée par la génération d'un stress oxydatif, qui provoque plus tard une déplétion du taux des antioxydants (Alexieva et al., 2010). Chez les patients qui reçoivent une chimiothérapie, le stress oxydatif est évident par une augmentation dans le plasma des produits de la peroxydation lipidique, une diminution de la capacité totale du piégeage du radical peroxy et une diminution des antioxydants vitamine C, vitamine E, β -carotène (Kasapović et al., 2010), GSH, GPx, sélénium et zinc (Alexieva et al., 2010).

A. Le 5-fluorouracile

Les radicaux libres comme le peroxyde d'hydrogène et les radicaux superoxydes entrent dans le mécanisme anticancéreux du 5-fluorouracile, et ils sont responsables de ces effets secondaires. Le traitement par le 5-fluorouracile augmente la peroxydation lipidique dans le plasma et diminue les taux de la vitamine A, la vitamine E et du β -carotène plasmatique (Koçer et Naziroğlu, 2013).

B. L'épirubicine

L'épirubicine induit une élévation significative du taux des radicaux libres dans le plasma (Zhang et al., 2012), associée à une diminution de la capacité des défenses antioxydants (Cadeddu et al., 2010).

C. Le cyclophosphamide

Le cyclophosphamide induit une diminution des taux des antioxydants non enzymatiques dans le plasma : glutathion, vitamine E, vitamine C et ceruloplasmine, et une augmentation du taux du MDA plasmatique (Senthilkumar et al., 2006), cela due à l'acrolein formé lors de la dégradation du 4-hydroxycyclophosphamide en mutarde phosphoramidate, qu'est un aldéhyde très réactif, il induit la formation des ROS et augmente la peroxydation lipidique provoque ainsi l'augmentation du taux du MDA. Le glutathion qu'est un des antioxydants cellulaires non enzymatiques protège la cellule contre les ROS générés par l'acrolein (Sheeja et Kuttan, 2006), ce dernier provoque ainsi une déplétion du glutathion cellulaire par la création d'une conjugaison avec ce dernier (Nafees et al., 2015), et excrété ensuite dans les urines sous forme d'acide 3-hydroxypropylmercapturic (Alarcon, 1976).

II.5. La propolis

La propolis du grec pro : devant, à l'entrée de et polis : cité (Bankova et al., 2000) et qu'on appelle aussi la colle d'abeille est le nom générique de la substance résineuse récoltée par les abeilles (*Apis mellifera* L) à partir de différents végétaux (Burdock ; 1997 ; Silici et Kutluca, 2005)



Figure 7 : Aspect de la propolis au sein de la ruche

Cette substance résineuse est présente sur les bourgeons, jeunes rameaux, blessures de certains arbres et arbustes prévue pour les protéger contre les attaques des micro-organismes mais aussi des insectes (un effet répulsif), les abeilles récoltent cette résine et la mélangeant à de la cire et à des enzymes sécrétées par leur système glandulaire (Cardinault et al., 2012) afin de le utiliser pour colmater la ruche et assurer son étanchéité (Ghedira et al., 2009).

II.5.1. Composition chimique de la propolis

La composition chimique de la propolis est très complexe, plus de 300 composés ont été identifiés dans différents échantillons de la propolis (Silici et Kutluca., 2005). Il existe des différences significatives de composition entre les propolis en fonction de la zone géographique de la ruche, des végétaux présents sur cette zone géographique, de la disponibilité des végétaux et de l'espèce de l'abeille (Bankova et al., 2000). De manière générale, la propolis est constituée de 50 à 55 % de résines et baumes, de 30 % de cires et acides gras, de 10 % d'huiles essentielles, de 5 % de pollen et de 5 % de substances organiques et minérales (Burdock, 1997; Kosalec et al., 2004; Ghedira et al., 2009; Cardinault et al., 2012).

II.5.2. Composition chimique de la propolis du Jijel

L'analyse de la composition chimique de la propolis algérienne récoltée de la région de Kaous de Jijel a permis de déduire qu'elle est constituée majoritairement de trois classes de polyphénols : les flavonoïdes, les chalcones : dihydrochalcone et les acides phénoliques : dérivés des acides hydrocinamiques (Alyane et al., 2008; Lahouel et al., 2010). Les flavonoïdes constituent la grande proportion de cette composition (Alyane et al., 2008; Rouibah et al., 2008; Kessa et al., 2014), avec une concentration totale de 370 mg (Alyane et al., 2008; Lahouel et al., 2010). Les flavonoïdes les plus identifiés dans l'extrait éthanolique de la propolis de la région de Jijel sont : le pinostobine chalcone, pinocembrine, galangin, flavanon, naringenin (flavanon) et flavone (chrysin et tectochrysin) (Lahouel et al., 2010).

II.5.3. Activité antioxydante de la propolis

Plusieurs études *in vivo* et *in vitro* ont montrés l'effet piègeur des radicaux libres et antioxydant de la propolis (Jaiswal et al., 1997; Kang et al., 2009), des études ont montrés que l'activité antioxydant de la propolis était positivement corrélée avec son contenu en polyphénols (Gregoris et Stevanato, 2010). Les flavonoïdes ont de puissantes activités antioxydantes (Brandi, 1992), ils peuvent exercer cette activité selon différents mécanismes :

II.5.3.1. Effet piègeur des radicaux libres

Les flavonoïdes exercent un excellent effet piègeur des ROS (Van Acker et al., 1996), ils sont capables d'inactiver et de stabiliser les radicaux libres oxydants comme le superoxyde, le peroxyde, l'alkoxyde grâce à leur groupement hydroxyle (C_3-OH) fortement réactif, et cela par le transfert d'atome d'hydrogène selon la réaction suivante (Ghedira, 2005) :



Où R^\bullet représente l'anion superoxyde, le peroxyde, l'alkoxyde et l'hydroxyle. Le radical flavonoxy ($FL-O^\bullet$) peut réagir avec un autre radical pour former une structure quinone stable.

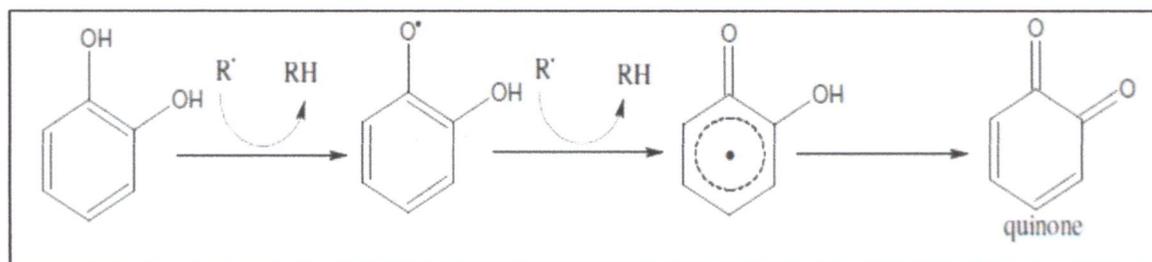


Figure 8 : Piégeage des ROS (R') par les flavonoïdes (Marfak, 2003)

II.5.3.2. Inhibition de certains enzymes

Les enzymes directement impliquées dans le stress oxydant et pouvant être inhibées par les flavonoïdes sont la glutathione S-transférase, les lipoxygénases, les cyclooxygénases, la xanthine oxydase, et les nitrique oxyde synthases (NOS), les modes d'inhibition peuvent être différents selon le flavonoïde et l'enzyme étudiés (Fiorucci, 2006).

II.5.3.3. Chélation des ions métalliques

Les flavonoïdes sont considérés comme de bons chélateurs des ions métalliques (Van Acker et al., 1996). Les ions du fer (Fe^{2+}) et du cuivre (Cu^+) peuvent en réagissant avec le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) conduire à la formation du radical hydroxyle (OH^\cdot) très agressif pour les structures cellulaires selon la réaction dite du Fenton (Tessier et Marconnet, 1995) :



Les flavonoïdes sont connus pour leur capacité à former des complexes stables en particulier avec le fer et le cuivre, ils sont alors capables d'inhiber la réaction du Fenton et ainsi la production des ROS (Fiorucci, 2006).

II.5.3.4. Inhibition de la peroxydation lipidique

Les flavonoïdes préviennent efficacement la peroxydation lipidique puisqu'ils peuvent réagir avec la plupart des radicaux libres susceptibles d'arracher un hydrogène sur le groupement CH_2 situé entre les deux doubles liaisons des acides gras polyinsaturés, ce qui est un élément important pour la protection des membranes cellulaires et qui complète les systèmes enzymatiques de défense cellulaire (Milane, 2004). De plus, Les flavonoïdes sont considérés comme de puissants inhibiteurs de l'oxydation des lipoprotéines de faible densité (DE Whalley et al., 1990).

III. Matériel et méthodes

III.1. Matériel

III.1.1. Matériel biologique et conditions d'hébergement

Dans notre étude *in vivo*, nous avons choisi des rats *wistar albinos* mâles adultes comme matériel biologique, provenant de l'institut Pasteur (Alger), pesant entre 120 et 200 g à leur arrivée au laboratoire.

Le nombre de rats utilisés dans notre étude est 30 rats, dès leur réception, ces rats sont placés aléatoirement en deux cages standards, de quinze rats chaque un et numérotés de 1 à 30.

Les animaux ont été logés dans des conditions environnementales contrôlées, ils sont acclimatés pendant une semaine aux conditions d'hébergement, avec un accès libre à la nourriture (croquettes) et à l'eau et un entretien deux fois par semaine. L'animalerie est maintenue à une température ambiante (22-25 °C), une hygrométrie de 60 % et un cycle lumière/obscurité de 12h-12h.

III.1.2. La propolis

La propolis que nous avons utilisée dans notre travail, est sous forme d'une poudre jaune. Quatre concentrations (25, 7,5, 5 et 2,5 mg/kg) de la propolis ont été préparées et cela par la dissolution de la poudre de la propolis dans un centième d'éthanol puis dans l'eau distillée.

III.1.3. Traitement des animaux

Les 30 rats ont été divisés en six groupes de cinq rats chacun, ayant un poids homogène :

- **Groupe 1 (témoin)** : Animaux recevant 1ml du NaCl 0,9% par *voie orale* pendant 5 jours (5j₀).
- **Groupe 2** : Animaux recevant une dose unique du 5-fluorouracile 600 mg/m², d'épirubicine 80 mg/m² et du cyclophosphamide 600 mg/m² par *voie intrapéritonéale* à j₀.
- **Groupe 3** : Animaux recevant la propolis par *voie orale* à une dose de 25 mg/kg pendant 5 jours (5j₀) et une dose unique du 5-fluorouracile 600 mg/m², d'épirubicine 80 mg/m² et du cyclophosphamide 600 mg/m² par *voie intrapéritonéale* à j₀.

- **Groupe 4** : Animaux recevant la propolis par voie orale à une dose de 7,5 mg/kg pendant 5 jours (5j₀) et une dose unique du 5-fluorouracile 600 mg/m², d'épirubicine 80 mg/m² et du cyclophosphamide 600 mg/m² par voie intrapéritonéale à j₀.
- **Groupe 5** : Animaux recevant la propolis par voie orale à une dose de 5 mg/kg pendant 5 jours et une dose unique du 5-fluorouracile 600 mg/m², d'épirubicine 80 mg/m² et du cyclophosphamide 600 mg/m² par voie intrapéritonéale à j₀.
- **Groupe 6** : Animaux recevant la propolis par voie orale à une dose de 2,5 mg/kg pendant 5 jours et une dose unique du 5-fluorouracile 600 mg/m², d'épirubicine 80 mg/m² et du cyclophosphamide 600 mg/m² par voie intrapéritonéale à j₀.

III.2. Méthodes

III.2.1. Prélèvements du sang

Les prélèvements du sang des six groupes des rats sont effectués au moyen des tubes capillaires à partir d'une ponction au niveau du sinus rétro-orbitale de l'œil, ces prélèvements à lieu le :

- **J + 1** : Le lendemain du j₀ (jour de l'administration de la polychimiothérapie FEC);
- **J + 6** : Après 5 jours de l'administration de la polychimiothérapie;
- **J + 14** : Après 13 jours de l'administration de la polychimiothérapie;
- **J + 21** : Après 20 jours de l'administration de la polychimiothérapie.

III.2.2. Réalisation de la FNS

La réalisation de la numération sanguine des rats est effectuée à j+1, j+6 et j+14 au niveau de l'hôpital de Jijel. Le sang est récupéré dans des tubes contenant 200 µl d'EDTA, et agité immédiatement pour éviter la coagulation. L'hémogramme est réalisé à l'aide d'un coulter électronique (SWELAB, Autocounter 920E0).

III.2.3. Dosage du MDA dans le plasma

Le MDA est l'un des produits terminaux formés lors de l'oxydation des lipides membranaires par les radicaux libres.

Le dosage du MDA dans le plasma chez les rats a lieu le j+1, j+6 et j+21, le dosage du MDA est effectué par la méthode de Sudha et al., 2011. Le principe de cette méthode est le suivant : le MDA en présence de deux molécules du TBA et à chaud induit la formation d'un complexe rose absorbant à 532 nm et extractible par les solvants organiques comme le n- butanol.

Pour cela 1,5ml du TBA (0,8%) est ajouté à 1ml du plasma sanguin, puis 0,4ml (8,1%) du SDS et 1,5ml d'acide acétique sont ajoutés. La solution est complétée ensuite à 5ml par l'eau distillée, et placée au bain marie à 95°C pendant une heure. Après refroidissement, 1ml d'eau distillée et 5ml du mélange de n-butanol et de la pyridine (15:1, v/v) sont ajoutés, le mélange est agité par le vortex, et après une centrifugation à 4000 rpm pendant dix minutes, l'absorbance de la phase organique (la couche supérieur) est mesurée à 532nm contre un blanc.

Les concentrations du MDA dans le plasma sont déduites à partir d'une gamme étalon préparé dans les mêmes conditions en utilisant le tetraethoxypropane (son hydrolyse donne le MDA) et les résultats sont exprimés en nmol/ml (Annexe 1).

III.2.4. Dosage du GSH plasmatique

Le glutathion est l'un des antioxydants non enzymatiques, qui joue un rôle à divers niveaux dans la lutte contre le stress oxydatif.

Le dosage du GSH plasmatique chez les rats a lieu le j+1, j+6 et j+21, le sang prélevé dans des tubes héparinés est centrifugé à 3000 rpm pendant 10 minutes afin de récupérer le plasma sanguin, le dosage du GSH est effectué par la méthode de Goodarzi et al., 2014. Le principe de la réaction consiste à l'oxydation du GSH par le DTNB, ce qui libère l'acide thionitrobenzoïque (TNB) absorbant à 412nm.



Pour cela, 0,2ml du plasma sanguin est ajouté à 2,3ml du potassium tampon phosphate de 0,2M et pH= 7,6, ensuite 0,5ml du DTNB de 0,001M sont ajoutés, l'absorbance du produit de la réaction est mesurée après 5 minutes par le spectrophotomètre UV-visible (Shimadzu) à 412nm contre un blanc.

Les concentrations du GSH dans le plasma sont déduites à partir d'une gamme étalon de glutathion préparé dans les mêmes conditions que le dosage, et les résultats sont exprimés en $\mu\text{mol/ml}$ du plasma (Annexe 1).

III.2.5. Mesure de l'activité enzymatique de la catalase dans le plasma

La catalase est l'un des antioxydants enzymatiques, qui assure l'élimination du peroxyde d'hydrogène.

L'évaluation de l'activité enzymatique de la catalase chez les rats a lieu le j+14, le dosage est effectué par la méthode de Kumar et al., 2014. Le principe de cette méthode est basé sur la disparition de l'H₂O₂ en présence de la catalase.

Pour cela, 20µl du plasma est additionné à 980µl d'un mélange constitué du 50mM du potassium tampon phosphate, pH = 7 et du 10mM de H₂O₂, la lecture de l'absorbance est effectuée pendant 2 minutes à 412nm contre un blanc. L'activité enzymatique de la catalase est exprimée en unités/mg d'hémoglobine, de tel :

$$\text{UI/ mg d'hémoglobine} = (2,3033/T. \log A_1/A_2) / \text{mg d'hémoglobine}$$

III.2.6. Mesure de l'activité enzymatique de la SOD dans le plasma

Le superoxyde dismutase est l'un des antioxydants enzymatiques, elle assure l'élimination de l'anion superoxyde, et constitue ainsi la première ligne de défense contre le stress oxydatif.

L'évaluation de l'activité enzymatique de la SOD chez les rats a lieu le j+14, le dosage est effectué selon la méthode de Kumar et al., 2014. Le principe de cette méthode est le suivant : la SOD inhibe la réduction du nitroblu-tetrazolium (NBT) par l'anion superoxyde produit suite à la photoréaction de l'oxygène et de la riboflavine en présence d'un donneur d'électron comme la méthionine.

Pour cela, 20µl du plasma est additionné à 1,3µM de la riboflavine, 13mM de la méthionine, 63mM du NBT et 0,05M du carbonate de sodium, pH = 10,2, le volume est complété ensuite à 3ml par l'eau distillée, la solution est irradiée par la lumière blanche et la lecture de l'absorbance est effectuée à 560 nm contre un blanc. L'activité enzymatique de la SOD est exprimée en unités/mg d'hémoglobine, de tel :

$$\% \text{ d'inhibition} = [(\text{abs du blanc} - \text{abs de l'essai}) / \text{abs du control}] \cdot 100 / \text{mg d'hémoglobine}$$

III.2.7. Analyse statistique des résultats

Les résultats sont donnés sous forme de moyennes et d'écart-type ($M \pm SD$), l'évaluation statistique est effectuée en utilisant le test t de Student avec un risque d'erreur p tel que :

- ✓ $p > 0,05$ = la différence n'est pas significative ns*,#;
- ✓ $p < 0,05$ = la différence est significative *,# ;
- ✓ $p < 0,01$ = la différence est hautement significative **,### ;
- ✓ $p < 0,001$ = la différence est très hautement significative***,###.

VI.1. Effet de la polychimiothérapie FEC seule ou associée à la propolis sur les formules sanguines (FNS) des rats

VI.1.1. Chez le groupe traité par la polychimiothérapie seule

L'administration intrapéritonéale du cyclophosphamide, d'épirubicine et du 5-fluorouracile à une dose de 600,80 et 600 mg/m² respectivement, a provoquée des perturbations assez profondes dans les formules sanguines chez le groupe d'animaux recevant la polychimiothérapie seule.

Juste après 24 heures de l'administration de la polychimiothérapie, les taux des plaquettes et des globules blancs sont diminués de façons très hautement significative (684,8±130,75 contre 860,5±111,01 chez le témoin et 7,15±0,77 contre 11,15±2,47 chez le témoin respectivement), avec une réduction très hautement significative du taux des lymphocytes (52,9±3,39 contre 67,32±5,28 chez le témoin) et des granulocytes (19,1±4,39 contre 32,4±0,14 chez le témoin).

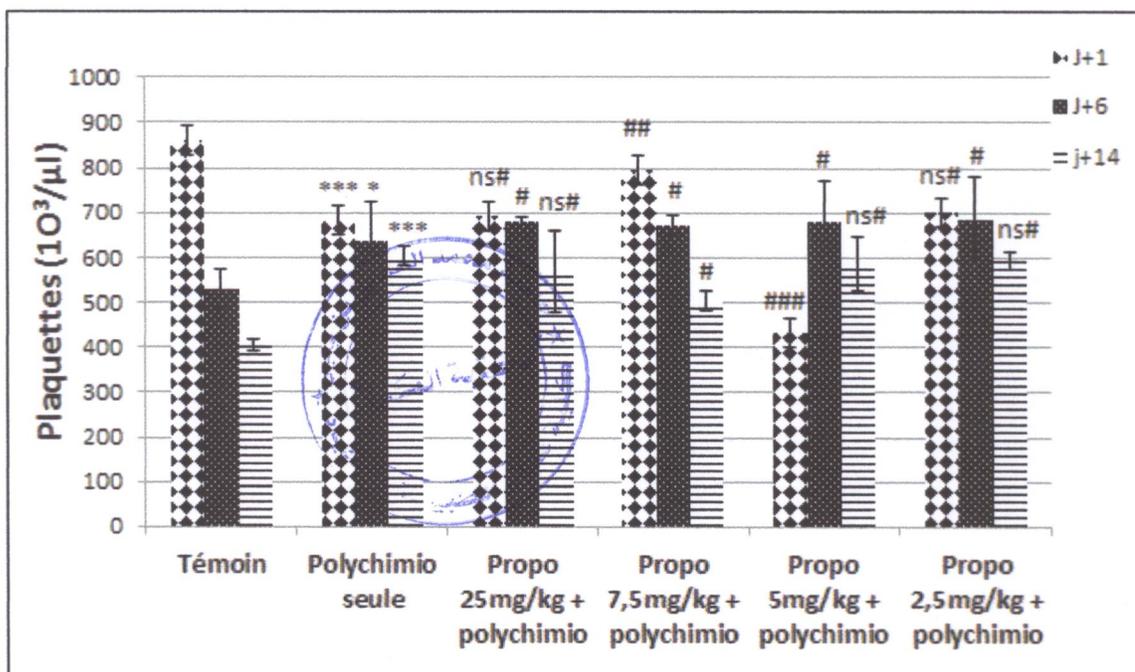


Figure 9 : Variations du nombre des plaquettes en fonction du temps après une dose unique du CTX 600 mg/m², EPI 80 mg/m² et du 5-FU 600 mg/m² seule ou associée à différentes doses de la propolis 25, 7,5, 5 et 2,5 mg/kg Les résultats sont présentés sous forme de moyenne ± écart-type. * indique une différence comparée au témoin, # indique une différence comparée au groupe de la polychimio seule. p > 0,05 = la différence n'est pas significative ns*,#; p < 0,05 = la différence est significative*.,#; p < 0,01 = la différence est hautement significative**.,###; p < 0,001 = la différence est très hautement significative***.,####.

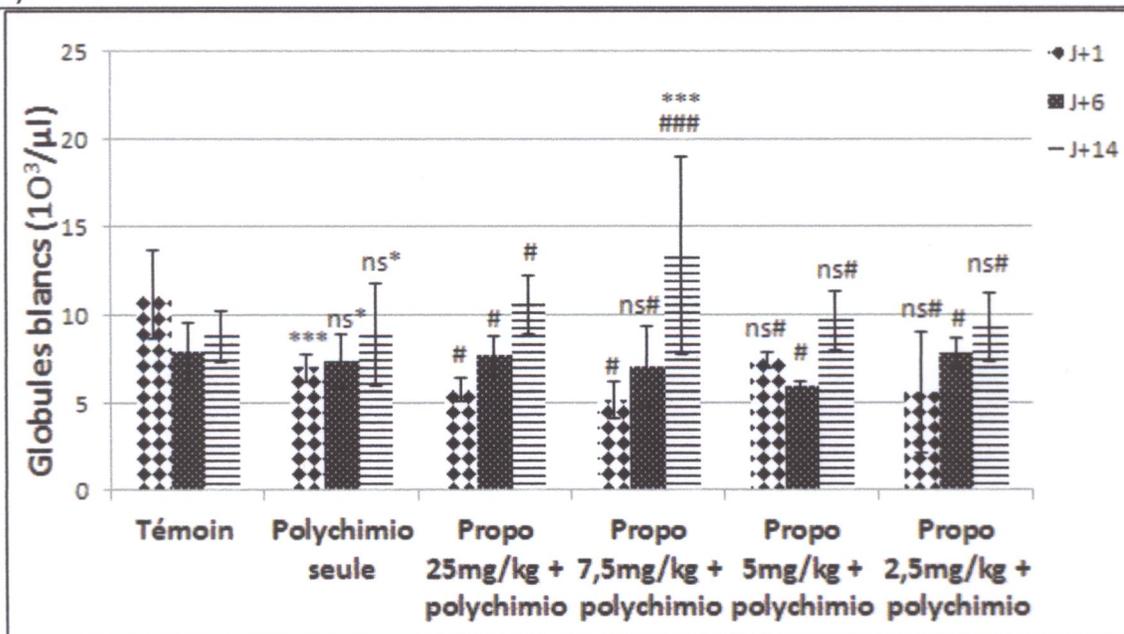


Figure 10 : Variations du nombre des globules blancs en fonction du temps après une dose unique du CTX 600 mg/m², EPI 80 mg/m² et du 5-FU 600 mg/m² seul ou associés à différentes doses de la propolis 25, 7,5, 5 et 2,5 mg/kg. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne ± écart-type. * indique une différence comparée au témoin, # indique une différence comparée au groupe de la polychimio seule. p > 0,05 = la différence n'est pas significative ns*,# ; p < 0,05 = la différence est significative* ,# ; p < 0,001 = la différence est très hautement significative***,###.

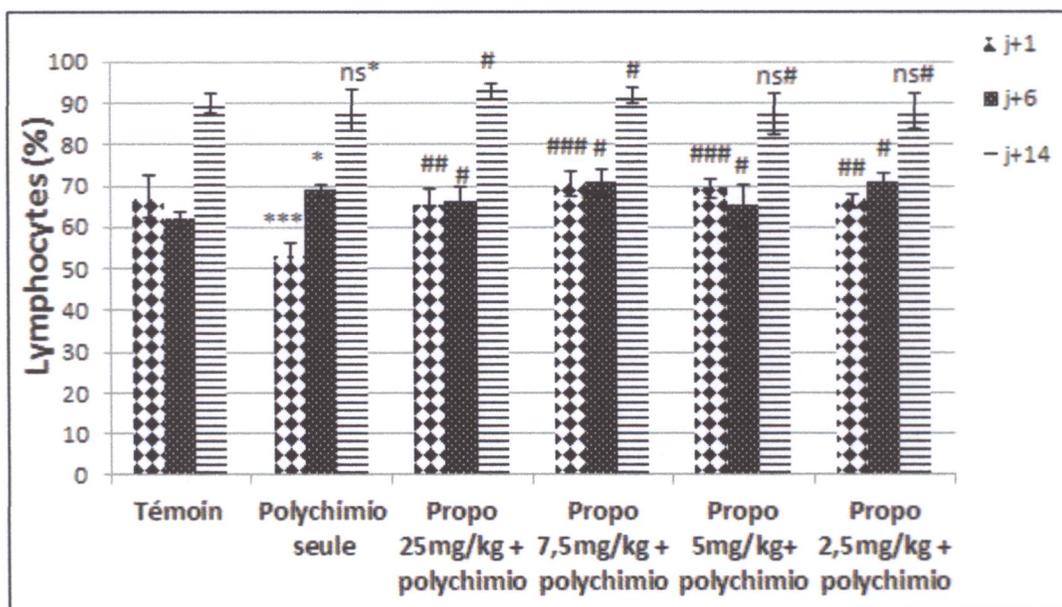


Figure 11 : Variations du nombre des lymphocytes en fonction du temps après une dose unique du CTX 600 mg/m², EPI 80 mg/m² et du 5-FU 600 mg/m² seul ou associée à différentes doses de la propolis 25, 7,5, 5 et 2,5 mg/kg. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne ± écart-type. * indique une différence comparée au témoin, # indique une différence comparée au groupe de la polychimio seule. p > 0,05 = la différence n'est pas significative ns*,# ; p < 0,05 = la différence est significative* ,# ; p < 0,01 = la différence est hautement significative** ,## ; p < 0,001 = la différence est très hautement significative***,###.

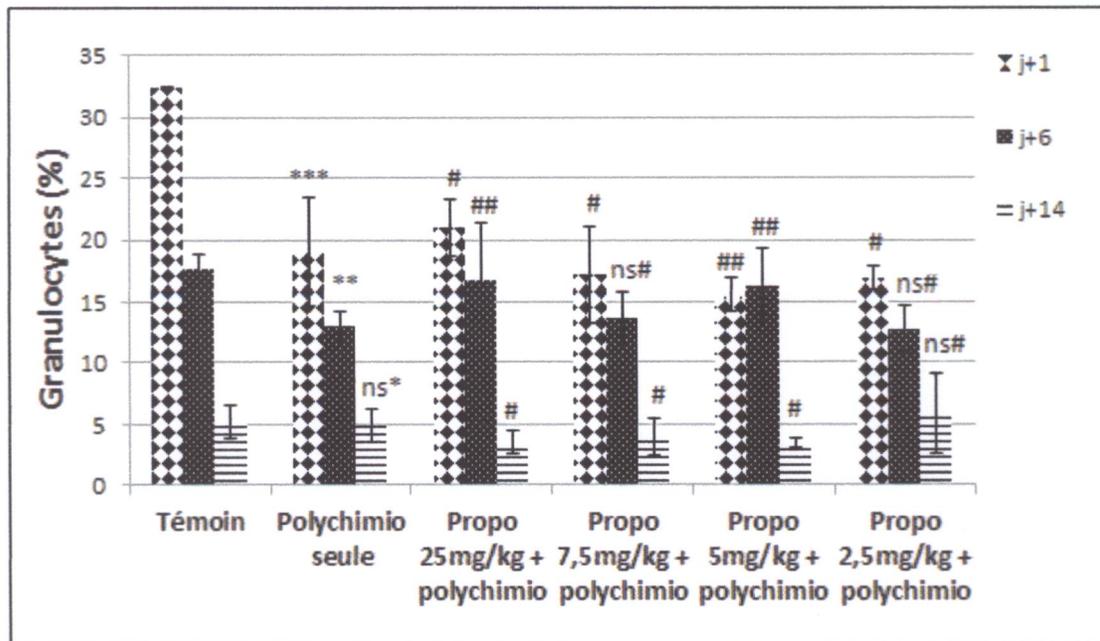


Figure 12 : Variations du nombre des granulocytes en fonction du temps après une dose unique du CTX 600 mg/m², EPI 80 mg/m² et du 5-FU 600 mg/m² seule ou associée à différentes doses de la propolis 25, 7,5, 5 et 2,5 mg/kg. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne ± écart-type. * indique une différence comparée au témoin, # indique une différence comparée au groupe de la polychimio seule. p > 0,05 = la différence n'est pas significative ns*,# ; p < 0,05 = la différence est significative*,# ; p < 0,01 = la différence est hautement significative**,,### ; p < 0,001 = la différence est très hautement significative***,,###.

D'autre part, l'anémie apparaisse de façon moins prononcée que la thrombopénie et la leucopénie, la polychimiothérapie FEC entraîne une diminution significative (p < 0,05) du taux des globules rouges, d'hémoglobine et d'hématocrite. Tandis que la polychimiothérapie n'entraîne pas une diminution significative (P > 0,05) du taux du MCV du MCH et du MCHC par rapport au groupe témoin.

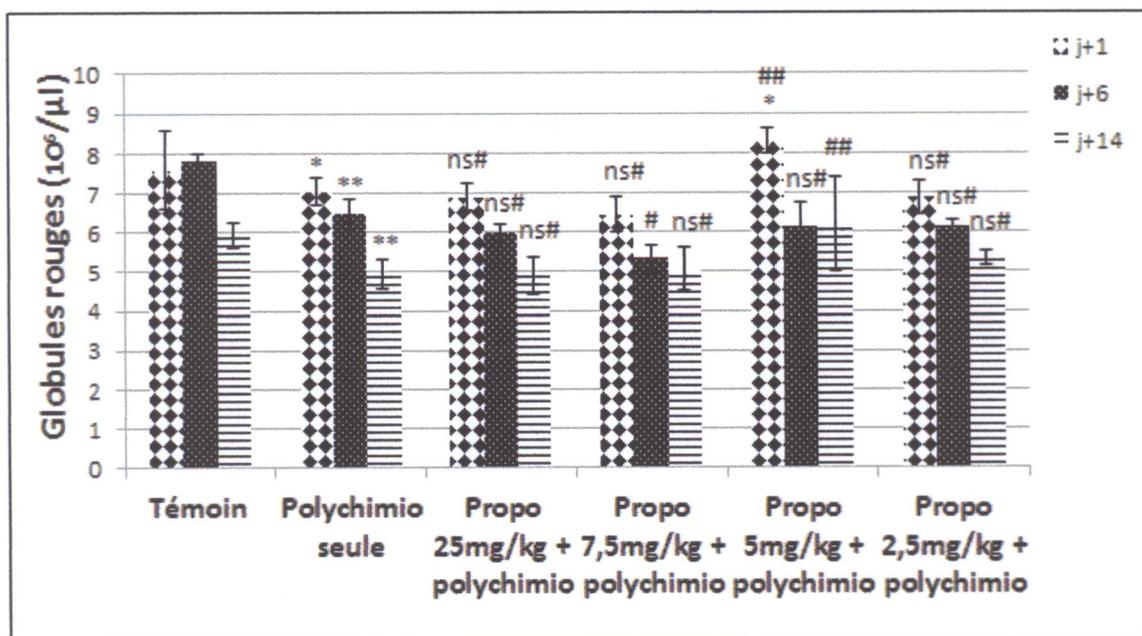


Figure 13 : Variations du nombre des globules rouges en fonction du temps après une dose unique du CTX 600 mg/m², EPI 80 mg/m² et du 5-FU 600 mg/m² seule ou associée à différentes doses de la propolis 25, 7,5, 5 et 2,5mg/kg. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne ± écart-type. * indique une différence comparée au témoin, # indique une différence comparée au groupe de la polychimio seule. p > 0,05 = la différence n'est pas significative ns*,# ; p < 0,05 = la différence est significative*.,# ; p < 0,01 = la différence est hautement significative**.,##.

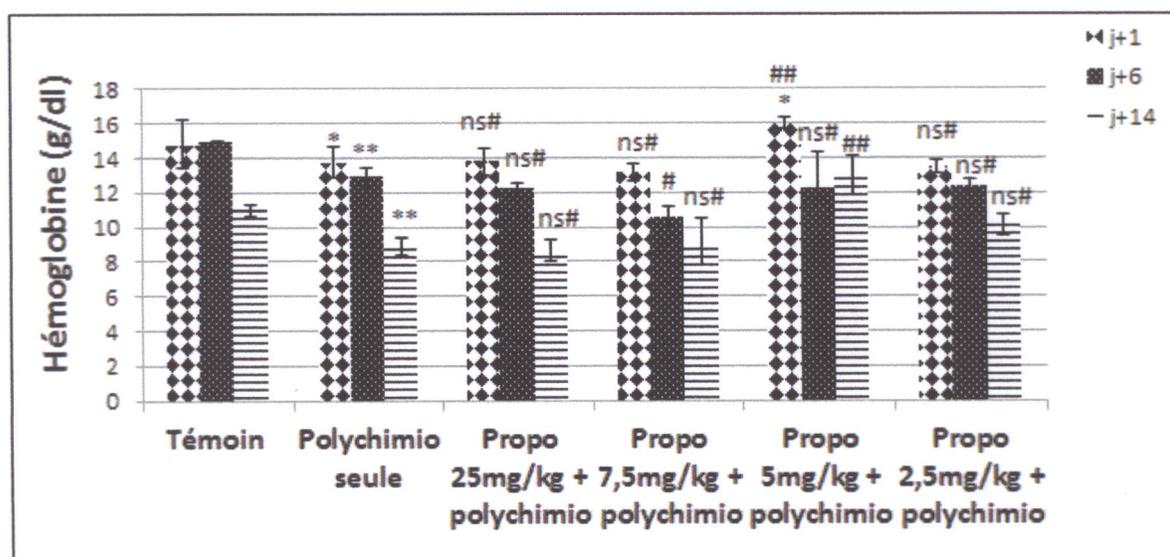


Figure 14 : Variations d'hémoglobine en fonction du temps après une dose unique du CTX 600 mg/m², EPI 80 mg/m² et du 5-FU 600 mg/m² seule ou associée à différentes doses de la propolis 25, 7,5, 5 et 2,5 mg/kg. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne ± écart-type. * indique une différence comparée au témoin, # indique une différence comparée au groupe de la polychimio seule. p > 0,05 = la différence n'est pas significative ns*,# ; p < 0,05 = la différence est significative*.,# ; p < 0,01 = la différence est hautement significative**.,##.

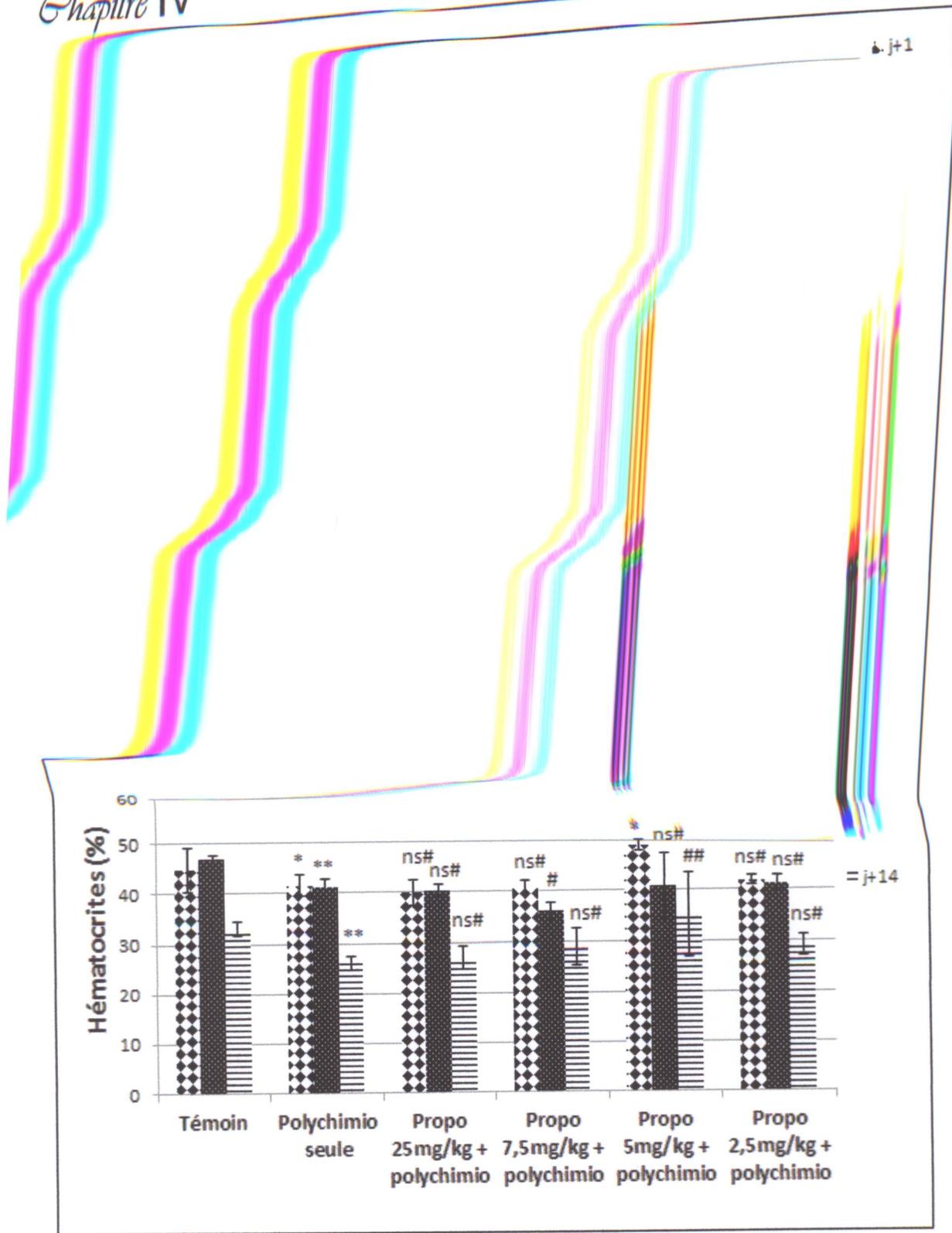


Figure 15 : Variations d'hématocrite en fonction du temps après une dose unique du CTX 600 mg/m², EPI 80 mg/m² et du 5-FU 600 mg/m² seule ou associée à différentes doses de la propolis 25, 7,5, 5 et 2,5 mg/kg. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne ± écart-type. * indique une différence comparée au témoin, # indique une différence comparée au groupe de la polychimio seule. p > 0,05 = la différence n'est pas significative ns*,# ; p < 0,05 = la différence est significative*.,# ; p < 0,01 = la différence est hautement significative*.,##.

Tableau 2 : Variations du MCH en fonction du temps après une dose unique du CTX 600 mg/m², EPI 80 mg/m² et du 5-FU 600 mg/m² seule ou associée à différentes doses de la propolis 25, 7,5, 5 et 2,5 mg/kg.

	Témoin	Polychimio seule	Propo 25mg/kg + polychimio	Propo 7,5mg/kg + polychimio	Propo 5mg/kg + polychimio	Propo 2,5mg/kg + polychimio
J+1	19,55±0,77	19,52±0,40 ns*	19,98±0,29 ns#	20,45±0,63 ns#	19,3±0,9 ns#	19,7±1,25 ns#
J+6	19,15±0,63	19,9±0,42 ns*	20,6±0,28 ns#	19,96±1,74 ns#	20,05±1,34 ns#	20,33±0,23 ns#
J+14	18,5±0,89	17,95±0,59 ns*	17,77±0,78 ns#	18,1±2,11 ns#	16,55±1,34 #	18,96±0,82 ns#

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne ± écart-type. * indique une différence comparée au témoin, # indique une différence comparée au groupe de la polychimio seule. p > 0,05 = la différence n'est pas significative ns*,# ; p < 0,05 = la différence est significative*#.

Tableau 3 : Variations du MCHC en fonction du temps après une dose unique du CTX 600 mg/m², EPI 80 mg/m² et du 5-FU 600 mg/m² seule ou associée à différentes doses de la propolis 25, 7,5, 5 et 2,5 mg/kg.

	Témoin	Polychimio seule	Propo 25mg/kg + polychimio	Propo 7,5mg/kg + polychimio	Propo 5mg/kg + polychimio	Propo 2,5mg/kg + polychimio
J+1	33±0,14	33,14±0,69 ns*	32,16±0,32 ns#	32,25±0,07 ns#	32,6±0,8 ns#	32,33±0,75 ns#
J+6	31,8±0,7	31,25±0,07 ns*	30,55±0,07 ns#	29,5±0,36 ns#	30,1±0,14 ns#	30,2±0,26 ns#
J+14	33,2±1,43	31,67±0,17 ns*	32,12±1,71 ns#	31,66±2,14 ns#	29,4±3,67 #	31,88±0,46 ns#

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne ± écart-type. * indique une différence comparée au témoin, # indique une différence comparée au groupe de la polychimio seule. p > 0,05 = la différence n'est pas significative ns*,# ; p < 0,05 = la différence est significative*#.

Après cinq jours de l'administration de la polychimiothérapie FEC, le taux des plaquettes et des lymphocytes augmente de façon significative ($639 \pm 86,26$ contre $530,5 \pm 142,12$ chez le groupe témoin et $68,9 \pm 7,91$ contre $61,9 \pm 1,41$ chez le groupe témoin respectivement), tandis que le taux des granulocytes diminue de façon hautement significative ($13,05 \pm 1,2$ contre $17,65 \pm 1,2$ chez le témoin).

Le taux des globules rouges, d'hémoglobine et d'hématocrite diminue de façon hautement significative ($P < 0,01$) à J+6, tandis que la polychimiothérapie n'entraîne pas une diminution significative ($P > 0,05$) du taux du MCV du MCH et du MCHC.

Après quatorze jours de l'administration de la polychimiothérapie, le taux des plaquettes augmente de façon très hautement significatives ($603 \pm 209,59$ contre $405 \pm 103,2$ chez le témoin), par ailleurs, la polychimiothérapie FEC n'entraîne pas une différence significative ($P > 0,05$) du taux des globules blancs, des lymphocytes et des granulocytes par rapport au groupe témoin.

Le taux des globules rouges, d'hémoglobine et d'hématocrite diminue de façon hautement significative ($P < 0,01$) à J+14, tandis que la polychimiothérapie n'entraîne pas une diminution significative ($P > 0,05$) du taux du MCV du MCH et du MCHC.

Nos résultats sont en accord avec Sitzia et Dikken, 1997, qui rapportent que la polychimiothérapie FEC induit une myelosuppression et avec ceux de Abe et al., 2013.

La thrombopénie et la leucopénie observés chez le groupe traité par la polychimiothérapie seule peuvent être traduits par l'effet de ces médicaments anticancéreux sur les cellules souches hématopoïétiques au sein de la moelle osseuse chargées de renouveler les cellules sanguines circulantes : globules blancs, globules rouges et plaquettes (Alexandre et al., 2009). Les cellules de la moelle osseuse sont connus pour leurs prolifération rapide, et comme tous les anticancéreux inhibent les divisions cellulaires des cellules saines comme des cellules cancéreuses (Touitou, 2007), et s'attaquent en particulier aux tissus dont les cellules se renouvellent rapidement comme les cellules du système hématopoïétique (Cohen et Jacquot, 2008), la polychimiothérapie FEC induite la diminution du nombre des plaquettes et des globules blancs.

Chez le groupe traité par la polychimiothérapie FEC seule, il n'est à pas une forte réduction du taux des globules rouges, puisque selon la lignée cellulaire, la toxicité hématologique se manifeste à différents moments. Les globules blancs sont principalement affectés du fait de leur prolifération cellulaire et de leur courte durée de vie. C'est ensuite au tour des plaquettes, puis des globules rouges d'être affectés. L'effet sur les globules rouges étant surtout cumulatif, il apparaît souvent après plusieurs cycles de chimiothérapie (Letarte, 2012).

VI.1.2. Chez les groupes prétraités par la propolis

Les groupes d'animaux prétraités par la propolis pendant 5 jours et à différentes doses (25, 7,5, 5 et 2,5 mg/kg) montrent des formules sanguines mieux que le groupe d'animaux recevant la polychimiothérapie seule.

L'administration préalable de la propolis nous a permis d'éviter la thrombopénie et la leucopénie constatée chez les animaux traités par les médicaments anticancéreux, nos résultats sont en accord avec Suzuki et al., 2002 ; Lahouel et al., 2004 ; El-Naggar et al., 2014.

Juste après 24h de l'administration de la polychimiothérapie FEC, le taux des plaquettes est augmenté de façon hautement significative chez le groupe prétraité par la dose 7,5 mg/kg et diminué de façon très hautement significative chez le groupe prétraité par la dose 5 mg/kg par rapport au groupe recevant la polychimiothérapie seule, nous avons constaté chez ce groupe la mort d'un rat.

Le taux des globules blancs est diminué significativement ($P < 0,05$) chez les groupes prétraités par la propolis à des doses 25 et 7,5 mg/kg. Par ailleurs, le taux des lymphocytes est augmenté de façons hautement significatives chez les groupes prétraités par les doses 25 et 2,5 mg/kg, et augmenté de façon très hautement significative chez les groupes prétraités par les doses 7,5 et 5 mg/kg comparé au groupe traité par les anticancéreux seuls.

Le taux des granulocytes est augmenté significativement chez le groupe prétraité par la dose 25 mg/kg, diminué significativement chez les groupes prétraités par les doses 7,5, et 2,5 mg/kg et diminué de façon hautement significative chez le groupe prétraité par la dose 5 mg/kg par rapport au groupe recevant la polychimiothérapie seule.

Les doses 25, 7,5 et 2,5 mg/kg de la propolis n'entraînent pas des différences significatives du taux des globules rouges, d'hémoglobine et d'hématocrite chez les rats, tandis que la propolis à la dose de 5 mg/kg augmente de façon hautement significative le taux des globules rouges, d'hémoglobine et d'hématocrite par rapport au groupe recevant les anticancéreux seuls.

Après cinq jours de l'administration de la polychimiothérapie, le taux des plaquettes est augmenté significativement chez tous les groupes prétraités par la propolis. Par contre, le taux des globules blancs est augmenté significativement chez les groupes prétraités par la dose 25 et 2,5 mg/kg et diminué significativement chez le groupe prétraité par la dose 5 mg/kg. Par ailleurs le taux des lymphocytes est diminué significativement chez les groupes prétraités par la dose 25 et 5 mg/kg et augmente significativement chez les groupes prétraités par la dose 7,5 et 2,5 mg/kg. D'autre part, le taux des granulocytes est augmenté de façon hautement significative chez les

groupes prétraités par les doses 25 et 5 mg/kg par rapport au groupe traité par la polychimiothérapie seule. Chez le groupe prétraité par la dose 7,5 mg/kg, le taux des globules rouges, d'hémoglobine et d'hématocrite est diminué significativement ($p < 0,05$), tandis que le MCV augmente de façon hautement significative chez tous les groupes prétraités par la propolis par rapport au groupe recevant la polychimiothérapie seule. Nous avons constaté la mort d'un rat appartenant au groupe recevant la propolis à 25 mg/kg après une semaine de l'administration de la polychimiothérapie.

Après quatorze jours, le taux des plaquettes est diminué significativement chez le groupe prétraité par la dose 7,5 mg/kg. Tandis que, le taux des globules blancs est augmenté de façon très hautement significative chez le groupe prétraité par la dose 7,5 mg/kg et significativement chez le groupe prétraité par la dose 25 mg/kg. Par ailleurs, le taux des lymphocytes est augmenté significativement chez les groupes prétraités par les doses 25 et 7,5 mg/kg. Par contre, le taux des granulocytes est diminué significativement chez les groupes prétraités par les doses 25, 7,5 et 5 mg/kg comparé au groupe recevant les anticancéreux seuls.

Le taux des globules rouges, d'hémoglobine et d'hématocrite augmente de façon hautement significative ($p < 0,01$) chez le groupe prétraité par la dose 5 mg/kg.

Les flavonoïdes de la propolis de Jijel constitue la grande proportion de sa composition (Alyane et al., 2008 ; Rouibah et al., 2008 ; Kebsa et al., 2014), C'est ainsi qu' il nous semble probable qu' ils s'opposent à l'action toxique des métabolites réactifs des médicaments étudiés au niveau des cellules souches hématopoïétiques et en maintenant la régulation entre les différents progéniteurs érythroblastique, granulomonocytaire et mégacaryocytaire (Lahouel et al., 2004). De ce fait l'administration de la propolis a exercé un effet préventif contre la leucopénie et la thrombopénie constaté chez les animaux traités par la polychimiothérapie seule. Selon El-Naggar et al., 2014, la propolis agit comme un immunostimulant et augmente la capacité du système immunitaire, en augmentant le nombre des leucocytes et des lymphocytes circulantes.

VI.2. Variation des concentrations du MDA dans le plasma

L'effet de la polychimiothérapie sur la peroxydation lipidique est illustré par la figure (16). À j+1, nous avons constaté une augmentation très hautement significative du taux du MDA ($15,71 \pm 1,86$ nmole/ml du plasma contre $7,73 \pm 0,28$ nmole/ml chez le témoin) chez le groupe traité par la polychimiothérapie seule. En revanche, le taux du MDA est diminué de façon très hautement significative ($6,91 \pm 0,28$ nmole/ml du plasma contre $15,71$ nmole/ml chez le groupe recevant la polychimiothérapie seule) chez le groupe prétraité par la dose 25 mg/kg et diminué significativement chez le groupe prétraité par la dose 7,5 mg/kg.

À j+6, chez le groupe traité par la polychimiothérapie seule, le taux du MDA est augmenté de façon très hautement significative ($25,11 \pm 0,48$ nmole/ml du plasma contre $7 \pm 0,65$ nmole/ml chez le groupe témoin). Par contre chez tous les groupes prétraités par la propolis le taux du MDA est diminué de façon très hautement significative ($p < 0,001$) comparé au groupe recevant la polychimiothérapie seule. Le prétraitement des rats par la propolis à la dose 25 mg/kg a diminué le taux du MDA de façon hautement significative ($p < 0,01$) par rapport au groupe témoin.

À j+21, chez le groupe traité par la polychimiothérapie seule le taux du MDA est augmenté de façon très hautement significative ($14,27$ nmole/ml du plasma contre $7,2$ nmole/ml chez le groupe témoin). Par ailleurs chez le groupe prétraité par la dose 25 mg/kg le taux du MDA est diminué de façon très hautement significative ($4,47$ nmole/ml du plasma contre $14,27$ nmole/ml chez le groupe recevant la polychimiothérapie seule) et diminué de façon hautement significative chez le groupe prétraité par la dose 7,5 mg/kg. Le prétraitement des rats par la propolis à la dose 25 mg/kg a diminué le taux du MDA de façon hautement significative ($p < 0,01$) par rapport au groupe témoin.

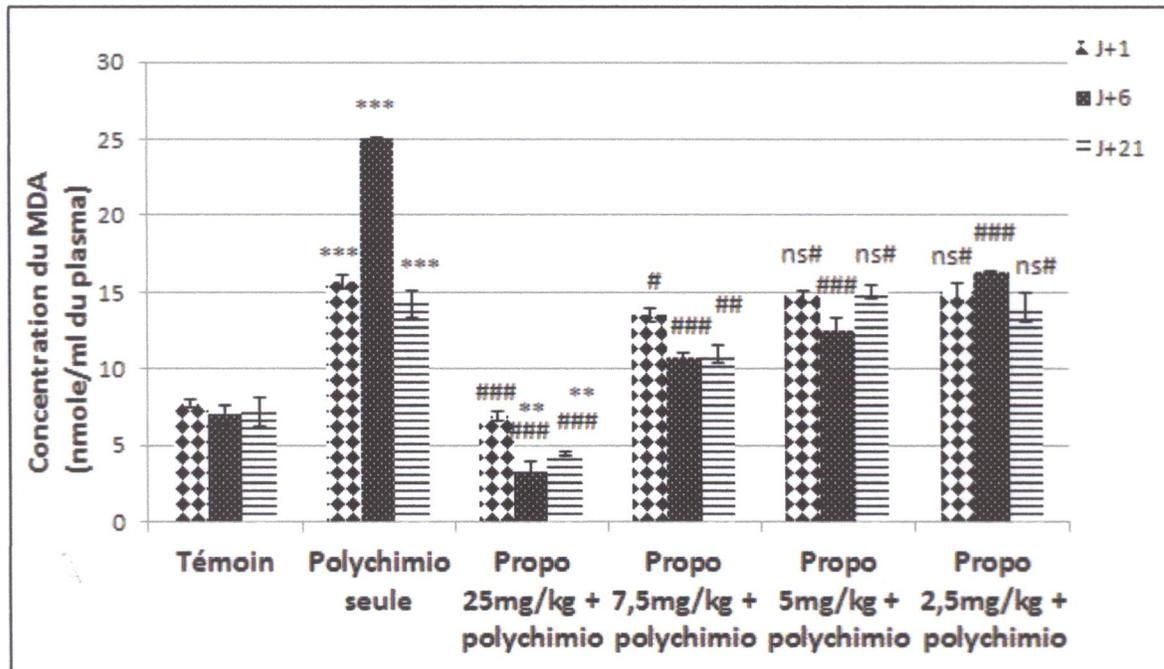


Figure 16 : Variations du taux du MDA dans le plasma en fonction du temps après une dose unique du CTX 600 mg/m^2 , EPI 80 mg/m^2 et du 5-FU 600 mg/m^2 seule ou associée à différentes doses de la propolis 25, 7,5, 5 et 2,5 mg/kg. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm écart-type. * indique une différence comparée au témoin, # indique une différence comparée au groupe de la polychimio seule. $p > 0,05$ = la différence n'est pas significative ns*,# ; $p < 0,05$ = la différence est significative*,# ; $p < 0,01$ = la différence est hautement significative**.,### ; $p < 0,001$ = la différence est très hautement significative***.,####.

Il a été montré que tous les médicaments antinéoplasiques sont responsables de la génération d'un stress oxydatif, à cause de l'induction de l'apoptose des cellules cancéreuses. Les anthracyclines provoquent la génération la plus intensive des ROS (Kasapovic, 2010). Le radical libre semi quinone produit lors de la réduction à un électron de l'épirubicine, cède son électron à l'oxygène moléculaire conduisant à la formation de l'anion superoxyde, ce dernier subit une dismutation qui donne lieu à la formation du peroxyde d'hydrogène et d'oxygène, le peroxyde d'hydrogène subit ensuite un clivage réductrice pour donner le radical hydroxyle (Mross et al., 2006).

D'autre part, l'acrolein formé lors de la dégradation du 4-hydroxycyclophosphamide au mutarde phosphoramidate, qu'est un aldéhyde très réactif induit lui-même la formation des ROS (Sheeja et Kuttan, 2006).

De même, Les radicaux libres comme le peroxyde d'hydrogène et les radicaux superoxydes entrent dans le mécanisme anticancéreux du 5-fluorouracile (Koçer et Nazıroğlu, 2013).

Les lipides constituent une cible privilégiée de ces espèces radicalaires, ils éliminent l'hydrogène des acides gras insaturés pour produire des radicaux libres d'acide gras. Ces derniers réagissent avec l'oxygène moléculaire pour générer des radicaux peroxydes d'acides gras. D'une part l'extraction d'un proton d'une molécule d'acide gras permet de former un peroxyde lipidique, et d'autre part, de générer un nouveau cycle de la peroxydation lipidique (Prat et al., 1994).

Les radicaux libres formés par l'épirubicine, le cyclophosphamide et le 5-fluorouracile lors de la chimiothérapie, vont provoquer la peroxydation lipidique des cellules souches hématopoïétiques, celle-ci provoque une augmentation croissante de la perméabilité des membranes cellulaires induisant une altération irréversible des propriétés fonctionnelles des cellules, pouvant aller jusqu'à la lyse complète (Milane, 2004), ce qui provoque une diminution significative du nombre des cellules périphériques du sang. Par ailleurs, les membranes des érythrocytes sont susceptibles d'être attaqués par les radicaux libres formés à cause de leur grande teneur en acides lipiques polyinsaturés, par conséquent les ROS vont détruire ces membranes et provoquent ainsi la lyse des érythrocytes (Senthilkumar et al., 2006).

D'après les résultats de notre étude, l'administration orale et pendant cinq jours de la propolis préviennent efficacement la peroxydation lipidique induite par la polychimiothérapie FEC. Ces résultats sont en accord avec ceux de Benguedouar et al., 2008, qui rapportent que la propolis

inhibe la peroxydation lipidique causée par la doxorubicine et la vinblastine. Les flavonoïdes de la propolis peuvent réagir avec la plupart des radicaux libres susceptibles d'arracher un hydrogène sur le groupement CH_2 situé entre les deux doubles liaisons des acides gras polyinsaturés, ce qui est un élément important pour la protection des membranes cellulaires (Milane, 2004). Cela est traduit par la réduction significative du taux plasmatique du MDA chez les groupes prétraités par la propolis.

VI.3. Variation des taux des antioxydants dans le plasma

VI.3.1. Variation des concentrations plasmatiques en GSH

Les résultats de l'étude de l'influence de la polychimiothérapie FEC seule ou associée à la propolis à différentes doses (25, 7,5, 5 et 2,5 mg/kg) sur les taux plasmatiques du glutathion sont présentés dans la figure (17).

Nous constatons qu'après 24 heures de l'administration de la polychimiothérapie, une diminution très hautement significative du taux du GSH chez le groupe d'animaux recevant la polychimiothérapie seule ($0,13 \pm 0,22$ $\mu\text{mole/ml}$ du plasma contre $0,97 \pm 0,08$ $\mu\text{mole/ml}$ chez le témoin), par ailleurs, il augmente significativement chez le groupe prétraité par la propolis à la dose de 25 mg/kg et augmente de façon hautement significative chez le groupe prétraité par la dose de 7,5 mg/kg.

Après cinq jours, le taux du glutathion chez les rats recevant la polychimiothérapie seule reste diminué par rapport à celui des témoins ($0,69 \pm 0,22$ $\mu\text{mole/ml}$ du plasma contre $0,93 \pm 0,43$ $\mu\text{mole/ml}$ chez le témoin). Cependant, il se trouve augmenté de façon très hautement significative chez les groupes d'animaux prétraités par la propolis à la dose de 25 et 7,5 mg/kg, de façon hautement significative chez le groupe prétraité par la dose 5 mg/kg et significativement chez le groupe prétraité par la dose 2,5 mg/kg par rapport au groupe recevant la polychimiothérapie seule. Les doses 25 et 7,5 mg/kg augmentent de façon très hautement significative ($P < 0,001$) le taux du GSH dans le plasma par rapport au groupe témoin.

Après vingtaine jours, le taux du glutathion des rats prétraités par la propolis diminue par rapport à j+6 mais reste augmenté de façon très hautement significative chez les groupes prétraités par les doses 25 et 7,5 mg/kg par rapport au groupe recevant la polychimiothérapie seule.

Chez le groupe traité par les anticancéreux seuls, le taux du glutathion reste toujours diminuer de façon hautement significative ($p < 0,01$) par rapport au groupe témoin.

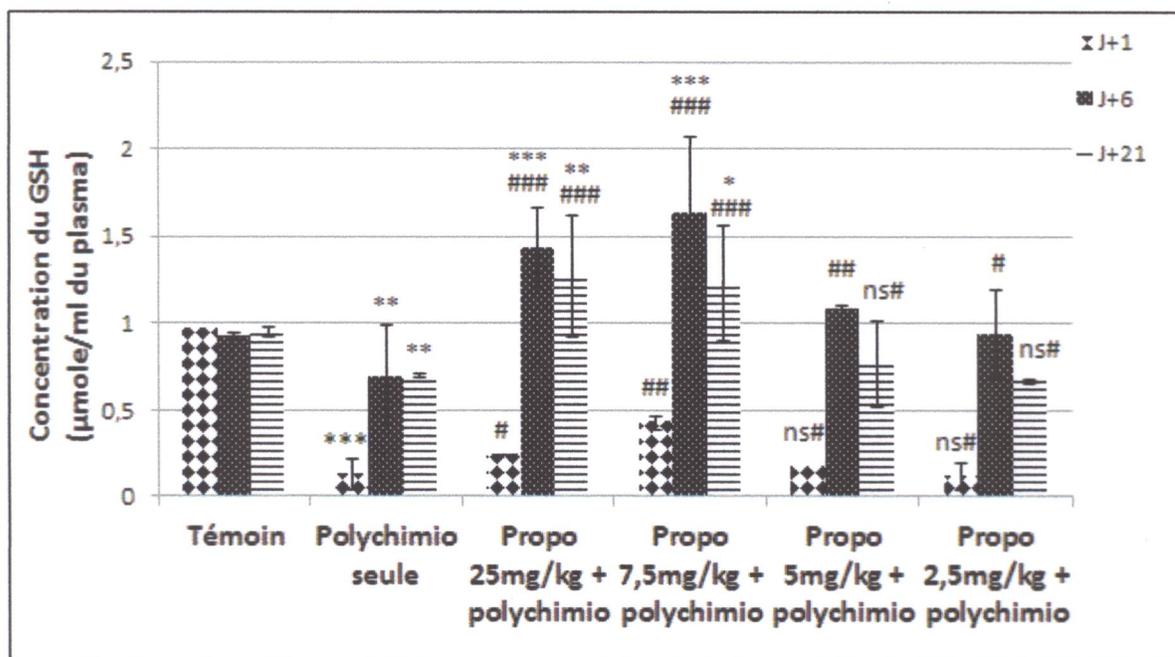


Figure 17 : Variations du taux de glutathion plasmatique en fonction du temps après une dose unique du CTX 600 mg/m², EPI 80 mg/m² et du 5-FU 600 mg/m² seule ou associée à différentes doses de la propolis 25, 7,5, 5 et 2,5 mg/kg. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne ± écart-type. * indique une différence comparée au témoin, # indique une différence comparée au groupe de la polychimio seule. p > 0,05 = la différence n'est pas significative ns*,# ; p < 0,05 = la différence est significative*,# ; p < 0,01 = la différence est hautement significative**,,### ; p < 0,001 = la différence est très hautement significative***,###.

La diminution du taux du GSH dans le plasma chez le groupe traité par la polychimiothérapie seule peut être due à l'utilisation intense du GSH pour la détoxification des radicaux libres produits (Sheeja et Kuttan, 2006). Par ailleurs, il a été clairement démontré que l'acrolein formé lors du métabolisme du cyclophosphamide induit la création d'une conjugaison avec le GSH, conduisant ainsi à la déplétion de ce dernier (Nafees et al., 2015)

Chez les groupes prétraités par la propolis à différentes doses, les flavonoïdes de la propolis augmente la production du GSH. La maintenance du niveau du GSH dans le plasma peut être due à l'effet neutralisant de la propolis sur les radicaux libres ou l'augmentation de la synthèse du GSH par les composés bioactifs de la propolis (Kebisa et al., 2014). Les flavonoïdes sont donc capables d'empêcher la chute du GSH et stimulent sa régénération à partir de GSSG suite à la neutralisation des ROS, de ce fait le taux du GSH plasmatique augmente chez les groupes prétraités par la propolis. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus dans l'étude de l'activité antioxydante des

flavonoïdes extraits de la propolis dans le cas de l'hépatotoxicité induite par le cyclophosphamide et la vinblastine (Lahouel et al., 2004).

VI.3.2. Variation de l'activité enzymatique de la catalase plasmatique

La figure (18) montre que l'administration du cyclophosphamide, d'épirubicine et du 5-fluorouracile provoque une diminution très hautement significative ($P < 0,001$) de l'activité enzymatique de la catalase chez le groupe traité par les anticancéreux seuls comparé au groupe normal.

Par ailleurs, le prétraitement des animaux par la propolis à la dose de 25, 7,5 et 2,5 mg/kg a augmenté de façon très hautement significative l'activité enzymatique de la catalase, tandis que, la dose 5 mg/kg n'entraîne pas une augmentation significative ($P > 0,05$) de l'activité enzymatique de la catalase par rapport au groupe recevant la polychimiothérapie seule.

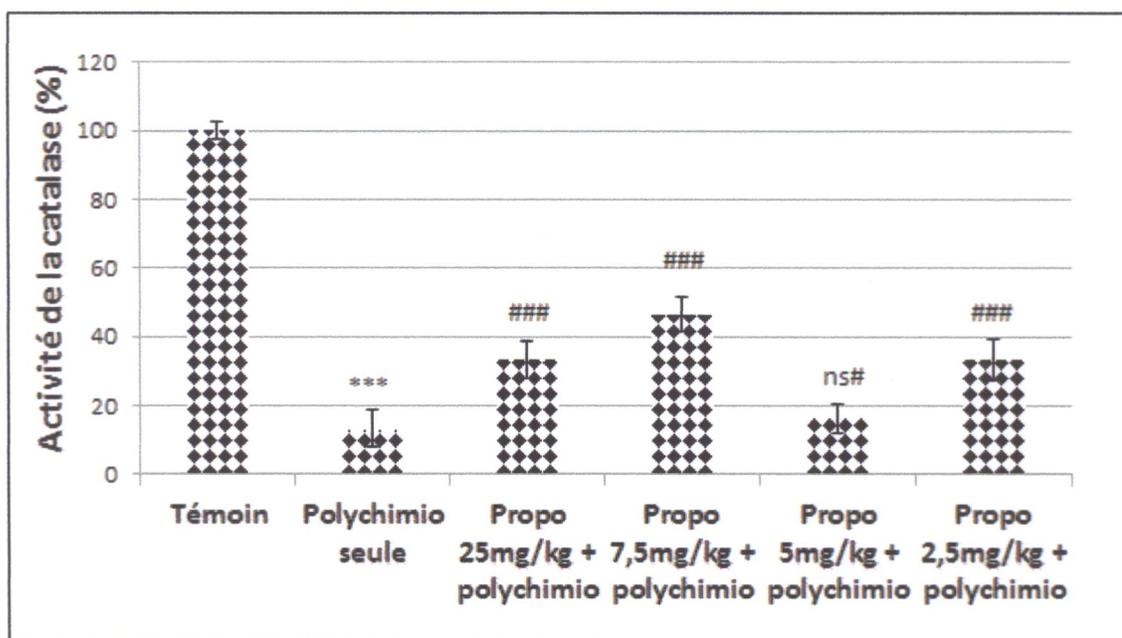


Figure 18 : Variations de l'activité enzymatique de la catalase dans le plasma à J+14 après une dose unique du CTX 600 mg/m², EPI 80 mg/m² et du 5-FU 600 mg/m² seule ou associée à différentes doses de la propolis 25, 7,5, 5 et 2,5 mg/kg. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne ± écart-type. * indique une différence comparée au témoin, # indique une différence comparée au groupe de la polychimio seule. $p > 0,05$ = la différence n'est pas significative ns*,# ; $p < 0,001$ = la différence est très hautement significative***,###.

La catalase est l'un des antioxydants enzymatiques, elle existe en forte concentration dans le foie et les globules rouges. Elle agit en synergie avec la SOD puisque son rôle est d'accélérer la dismutation du peroxyde d'hydrogène en H₂O et en O₂ moléculaire (Marfak, 2003). La réduction de l'activité enzymatique de la catalase dans le plasma chez le groupe traité par la polychimiothérapie seule peut être due à la production excessive du H₂O₂ par les anticancéreux (Messaadia., 2004).

Dans cette présente étude, les résultats ont montré clairement une élévation significative de l'activité enzymatique de la catalase dans le plasma chez les groupes prétraités par la propolis. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus dans l'étude de l'effet de la propolis dans le cas de l'hépatotoxicité induite par la doxorubicine (Kebsa et al., 2014).

Comme nous l'avons vu au début de notre étude, les flavonoïdes (Fl-OH) sont capables de réduire les radicaux libres oxydants par transfert d'hydrogène, le radical flavonoxy (FL-O[•]) résultant peut réagir avec un autre radical pour former une structure quinone stable. En outre, le radical flavonoxy peut interagir avec l'oxygène pour donner une quinone et un anion superoxyde, cette réaction est responsable d'un effet prooxydant indésirable des flavonoïdes (Marfak, 2003).

VI.3.3. Variation de l'activité enzymatique de la SOD plasmatique

La polychimiothérapie FEC entraîne une diminution très hautement significative ($P < 0,001$) de l'activité enzymatique de la SOD chez le groupe traité par les anticancéreux seuls par rapport au groupe témoin. Cependant, l'activité enzymatique de la SOD est augmentée lorsque les animaux subissent un prétraitement par la propolis. La dose 25 mg/kg de la propolis entraîne une augmentation significative de l'activité enzymatique de la SOD, tandis que les doses 7,5, 5 et 2,5 mg/kg entraînent une augmentation très hautement significative ($p < 0,001$) de l'activité enzymatique de la SOD par rapport au groupe recevant la polychimiothérapie seule.

Par rapport au groupe témoin, la dose 7,5 mg /kg de la propolis entraîne une augmentation très hautement significative de l'activité enzymatique de la SOD, tandis que la dose 2,5 mg /kg entraîne une augmentation significative ($P < 0,05$).

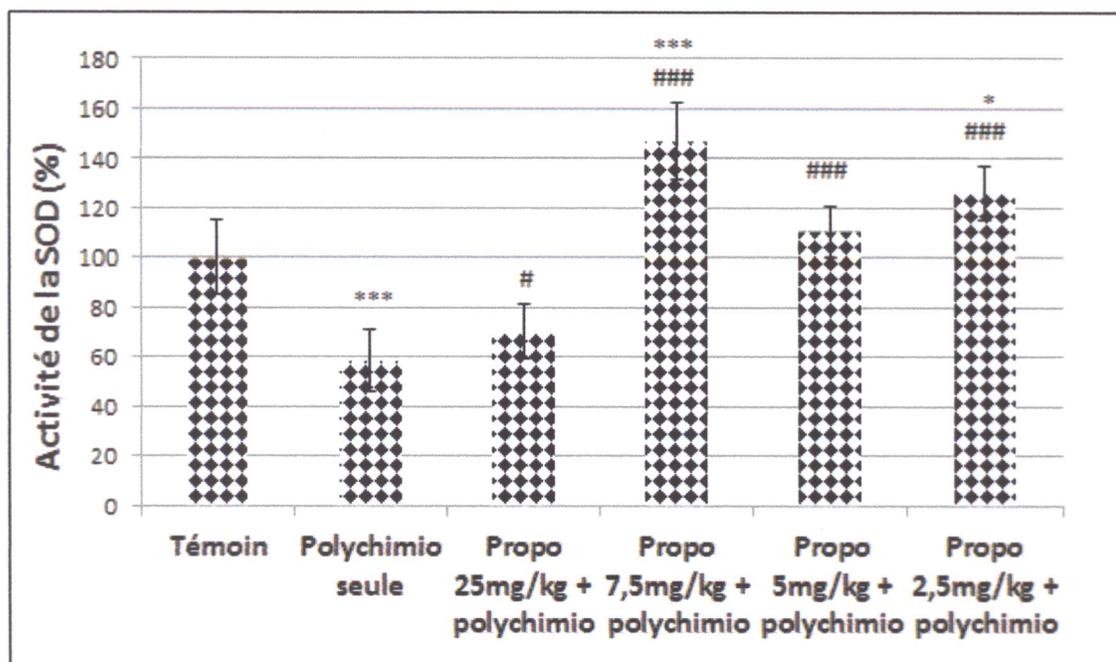


Figure 19 : Variations de l'activité enzymatique de la SOD dans le plasma à J+14 après une dose unique du CTX 600 mg/m², EPI 80 mg/m² et du 5-FU 600 mg/m² seule ou associée à différentes doses de la propolis 25, 7,5, 5 et 2,5 mg/kg. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne ± écart-type. * indique une différence comparée au témoin, # indique une différence comparée au groupe de la polychimio seule. p < 0,05 = la différence est significative*#; p < 0,001 = la différence est très hautement significative***,###.

Comme l'indique son nom, le superoxyde dismutase, qui existe sous différentes formes, est une enzyme qui accélère la dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène et oxygène (Marfak, 2003).

La réduction significative de l'activité enzymatique de la SOD dans le plasma chez le groupe traité par la polychimiotherapie seule peut expliquer une production intensive de l'anion suproxyde suite au traitement des animaux par les médicaments anticancéreux, qui dépasse largement les capacités disponibles de la SOD à éliminer l'anion superoxyde. Par contre, le prétraitement des animaux par la propolis atténue complètement ces effets puisque les taux de la SOD reviennent à la normale. Ces résultats expliquent la propriété antioxydante des flavonoïdes démontrés dans plusieurs travaux (Jaiswal et al., 1997; Benguedouar et al., 2008; Lahouel et al., 2010; Kebsa et al., 2014).

V. Conclusion



Dans la présente étude, l'évidence de la toxicité hématologique de la polychimiothérapie constituée du cyclophosphamide, d'épirubicine et du 5-fluorouracile est confirmée. Ces médicaments anticancéreux entraînent des perturbations assez profondes dans les formules sanguines chez les rats, se traduisent par une leucopénie et une thrombopénie très sévère, ainsi qu'une augmentation accrue de la production du MDA dans le plasma, et un effondrement du système antioxydant que ce soit enzymatique (SOD et CAT) ou non enzymatique (GSH).

L'administration préventive de la propolis jouent un rôle chémoprotecteur vis-à-vis l'attaque des cellules souches hématopoïétiques au sein de la moelle osseuse par les anticancéreux, ainsi que l'épuisement des systèmes antioxydants. En effet, la leucopénie et la thrombopénie se trouve entièrement corrigée. De même, le statut redox dans le plasma est maintenue à son équilibre en normalisant le taux des antioxydants GSH, SOD et CAT chez les rats prétraités par la propolis ce qui empêche la lipoperoxydation excessive.

Il ressort clairement de notre étude, que la propolis exerce par leur pouvoir piègeur et antioxydant un effet préventif contre la toxicité hématologique causée par la polychimiothérapie FEC.

Les résultats obtenus de notre présente étude sont très considérables et laissent un grand espoir pour l'avenir, et cela afin de limiter la toxicité hématologique induite par la chimiothérapie chez les patientes, ce qui mérite d'être démontré par d'autres études complémentaires et approfondies pour élucider certaines zones d'ombres et en expliquer les mécanismes.

En effet, des études sur des rats ou bien des souris femelles porteuses d'un cancer du sein sont nécessaires. Aussi bien, d'étudier l'effet de la propolis lors de plusieurs cycles de la polychimiothérapie FEC, c'est-à-dire d'élargir la durée de l'étude au-delà de 21 jours dans le but d'élucider réellement la chimiothérapie.

Références bibliographiques

- Abe, H., Mori, T., Kawai, Y., Cho, H., Kubota, Y., Umeda, T., & Tani, T. Feasibility and toxicity of docetaxel before or after fluorouracil, epirubicin and cyclophosphamide as adjuvant chemotherapy for early breast cancer. *International journal of clinical oncology*, 2013; 18(3) : 487-491.
- Alyane, M., Kebsa, L. B., Boussenane, H. N., Rouibah, H., & Lahouel, M. Cardioprotective effects and mechanism of action of polyphenols extracted from propolis against doxorubicin toxicity. *Pak J Pharm Sci*, 2008; 21(3) : 201-9.
- Bankova, V., de Castro, S., & Marcucci, M. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie*, 2000; 31(1) : 3-16.
- Barillot I. Comprendre le cancer du sein non métastatique. *Centre George-Francois Leclerc Dijon*, 2000 ; (14) : 45-47.
- Benchimol D., *Cancer de la glande mammaire*. Paris : Masson ; 2007.
- Benguedouar, L., Boussenane, H. N., Kebsa, W., Alyane, M., Rouibah, H., & Lahouel, M. Efficiency of propolis extract against mitochondrial stress induced by antineoplastic agents (doxorubicin and vinblastin) in rats. *Indian journal of experimental biology*, 2008; 46(2) : 112.
- Bergsagel, D., Robertson, G., & Hasselback, R. Effect of cyclophosphamide on advanced lung cancer and the hematological toxicity of large, intermittent intravenous doses. *Canadian Medical Association Journal*, 1968; 98(11) : 532.
- Bernades-Guenisson, V. *Médicaments antitumoraux et perspectives dans le traitement des cancers*. Paris : Lavoisier; 2003.
- Bhatia, U., Danishefsky, K., Traganos, F., Darzynkiewicz, Z. Induction of apoptosis and cell cycle-specific change in expression of p53 in normal lymphocytes and MOLT-4 leukemic cells by nitrogen mustard. *Clin. Cancer. Res*, 1995; (1):873-880.
- Bistra Alexieva, T., & Nikolova, E. Free radicals, antioxidants and cancer chemotherapy. *Acta Med Kinki Univ Vol*, 2010; 35(2) : 57-65.
- Brandi, M. Flavonoids: biochemical effects and therapeutic applications. *Bone and Mineral*, 1992; (19) : 3-14.
- Burdock, G. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis. *Food and Chemical toxicology*, 1998; 36(4) : 347-363.
- Buxeraud J. Epirubicine. *Actualités pharmaceutiques hospitalières*, 2008; 14 : 35.
- Cadeddu, C., Piras, A., Mantovani, G., Deidda, M., Dessì, M., Madeddu, C., & Mercurio, G. Protective effects of the angiotensin II receptor blocker telmisartan on epirubicin-induced inflammation, oxidative stress, and early ventricular impairment. *American heart journal*, 2010; 160(3) : 487.
- Cardinault, N., Cayeux, M. O., & Du Sert, P. La propolis: origine, composition et propriétés. *Phytothérapie*, 2012; 10(5) : 298-304.

- Cohen Y, Jacquot C. Pharmacologie. Paris : Masson; 2008.
- Conklin, K. Chemotherapy-associated oxidative stress: impact on chemotherapeutic effectiveness. *Integrative cancer therapies*, 2004; 3(4) : 294-300.
- Connors T, Cox P, Farmer P. Some studies on the active intermediates formed in the microsomal metabolism of cyclophosphamide and isophosphamide. *Biochem Pharmacol*, 1974; 23: 115-129.
- Contesso G., Boddaert A., Lacombe M., Bertin F., Trojani M. et Coindre J. Classification anatomo-pathologique des cancers du sein. *De marseille I Bordeaux Med*, 1984 ; 17 : 269-276.
- De Whalley, C., Rankin, S., Houlst, J., Jessup, W., & Leake, D. Flavonoids inhibit the oxidative modification of low density lipoproteins by macrophages. *Biochemical pharmacology*, 1990; 39(11) : 1743-1750.
- Dissio, R., Beavers, T., & Carpenter, J. Familial deficiency of dihydropyrimidine dehydrogenase. Biochemical basis for familial pyrimidinemia and severe 5-fluorouracil-induced toxicity. *Journal of Clinical Investigation*, 1988; 81(1) : 47.
- Duclos, M. Activité physique et cancer du sein et du côlon: l'activité physique basée sur les preuves scientifiques. *Science & sports*, 2009; 24(6) : 273-280.
- El-Naggar, S., Alm-Eldeen, A., Germoush, M., El-Boray, K., & Elgebaly, H. Ameliorative effect of propolis against cyclophosphamide-induced toxicity in mice. *Pharmaceutical biology*, 2014; 53(2) : 235-241.
- Emadi, A., Jones, R., & Brodsky, R. Cyclophosphamide and cancer: golden anniversary. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 2009; 6(11) : 638-647.
- Fishman P, Bar-yehuda S, Barer F. The adenosine receptor as a new target for cancer therapy and chemoprotection. *Exp Cell Res*, 2001; 269 : 230-6.
- Fiorucci, S. Activités biologiques de composés de la famille des flavonoïdes : Approches par des méthodes de chimie quantique et de dynamique moléculaire [thèse]. Université Nice-Sophia Antipolis ; 2006. P. 1- 211.
- Ghedira, K. Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 2005; 3(4) : 162-169.
- Ghedira, K., Goetz, P., & Le Jeune, R. Propolis. *Phytothérapie*, 2009; 7(2) : 100-105.
- Goldhirsch A. , Hans K., Agens W., Rohrer E. et Werner D. Le cancer du sein. Ligue suisse contre le cancer, 2007.
- Gonçalves, A., Viens, P., Sobol, H., Maraninchi, D., & Bertucci, F. Altérations moléculaires des cancers du sein: applications cliniques et nouveaux outils d'analyse. *La Revue de médecine interne*, 2005; 26(6) : 470-478.
- Goodarzi, Z., Karami, E., Ahmadizadeh, M., & Angali, K. The Effect of Simvastatin on Sodium Dichromate-Induced Oxidative Stress. *Jundishapur Journal of Health Sciences*, 2014; 6(4).

- Gregoris, E., & Stevanato, R. Correlations between polyphenolic composition and antioxidant activity of Venetian propolis. *Food and Chemical Toxicology*, 2010; 48(1) : 76-82.
- Jaiswal, A., Venugopal, R., Mucha, J., Carothers, A., & Grunberger, D. Caffeic acid phenethyl ester stimulates human antioxidant response element-mediated expression of the NAD (P) H: quinone oxidoreductase (NQO1) gene. *Cancer research*, 1997; 57(3) : 440-446.
- Jauzein F. Le multigénisme dans le cancer du sein. *Santé*, 2006; 44-46.
- Kang, M., Lee, H., Kim, M., Sung, M., Kwon, O., & Park, Y. Changes in lymphocyte DNA damage and antioxidant status after supplementing propolis to Korean smokers: A placebo-controlled, double-blind cross-over trial. *Korean Journal of Nutrition*, 2009; 42(5) : 442-452.
- Kasapović, J., Pejić, S., Stojiljković, V., Todorović, A., Radošević-Jelić, L., Saičić, Z. S., & Pajović, S. B. Antioxidant status and lipid peroxidation in the blood of breast cancer patients of different ages after chemotherapy with 5-fluorouracil, doxorubicin and cyclophosphamide. *Clinical biochemistry*, 2010; 43(16) : 1287-1293.
- Kebsa, W., Rouibah, H., & Lahouel, M. Polyphenolic fraction of Algerian propolis reverses doxorubicin induced oxidative stress in liver cells and mitochondria. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*, 2014; 27(6) : 1891-1897.
- Keen, J., & Davidson, N. The biology of breast carcinoma. *Cancer*, 2003; 97(3) : 825-833.
- Koçer, M., & Nazıroğlu, M. Effects of 5-fluorouracil on oxidative stress and calcium levels in the blood of patients with newly diagnosed colorectal cancer. *Biological trace element research*, 2013; 155(3) : 327-332.
- Kojima, S., Takaba, K., Kimoto, N., Takeda, T., Kakuni, M., Mizutani, M., & Hara, T. Protective effects of glutathione on 5-fluorouracil-induced myelosuppression in mice. *Archives of toxicology*, 2003; 77(5) : 285-290.
- Kosalec, I., Bakmaz, M., Pepeljnjak, S., & Vladimir-Knezevic, S. Quantitative analysis of the flavonoids in raw propolis from northern Croatia. *Acta pharmaceutica-zagreb-*, 2004; 54(1) : 65-72.
- Kumar, K., & Kuttan, R. Chemoprotective activity of an extract of *Phyllanthus amarus* against cyclophosphamide induced toxicity in mice. *Phytomedicine*, 2005; 12(6) : 494-500.
- Kumar, S., Sharma, P., Bansal, A., Sharma, P., & Aggarwal, K. Hypobaric hypoxia-mediated protein expression in plasma of susceptible & tolerant rats. *The Indian journal of medical research*, 2014; 140(6) : 756.
- Lahouel, M., Boulkour, S., Segueni, N., & Fillastre, J. P. Effet protecteur des flavonoïdes contre la toxicité de la vinblastine, du cyclophosphamide et du paracétamol par inhibition de la peroxydation lipidique et augmentation du glutathion hépatique. *Pathologie Biologie*, 2004; 52(6) : 314-322.

- Lahouel, M., Boutabet, K., Kebsa, W., & Alyane, M. Polyphenolic fractions of Algerian propolis reverses doxorubicin induced acute renal oxidative stress. *Afr J Pharm Pharmacol*, 2010; 4(10) : 712-720.
- Lecomte, T. 5-FU oral. *Post-U FMC HGE*, 2008; 113-22.
- Letarte, N. L'éducation thérapeutique d'un patient atteint de toxicité hématologique secondaire à une chimiothérapie. *Actualités pharmaceutiques*, 2012; 51(516) : 6-8.
- Liao, D., & Dickson, R. c-Myc in breast cancer. *Endocrine-related cancer*, 2000; 7(3) : 143-164.
- Longley, D., Harkin, D., & Johnston, P. 5-fluorouracil: mechanisms of action and clinical strategies. *Nature Reviews Cancer*, 2003; 3(5) : 330-338.
- Marfak, A. Radiolyse gamma des flavonoides. Étude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools : formation de depsides [thèse]; Université de Limogese; 2003. P. 1-199.
- Marieb, E. Anatomie et physiologie humaine. Paris : Pearson education ; 2005.
- McDiarmid, M., Iype, P., Kolodner, K., Jacobson-Kram, D., & Strickland, P. Evidence for acrolein-modified DNA in peripheral blood leukocytes of cancer patients treated with cyclophosphamide. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 1991; 248(1) : 93-99.
- Mehta, A., Hoffbrand, V. Hématologie. Paris : De Boeck; 2003.
- Merthelsmann, R, Engelhardt M, Berger D.P. Précis d'hématologie et d'oncologie. Paris : Springer ; 2011.
- Messaadia, A. L'effet protecteur d'un antioxydant naturel contre le stress oxydatif induit par le nitrate d'ammonium chez les rats [thèse]. Annaba : Université Badji Mokhtar; 2014. P. 1-134.
- Milane, H. La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques [thèse]. Strasbourg : Université Louis Pasteur; 2004. P. 1-268.
- Monge, M. Cancérologie et biologie. Paris : Masson; 2006.
- Mross, K., Massing, U., & Kratz, F. DNA-intercalators the anthracyclines. In *Drugs affecting growth of tumours*, 2006; 19-81.
- Nafees, S., Rashid, S., Ali, N., Hasan, S, & Sultana, S. Rutin ameliorates cyclophosphamide induced oxidative stress and inflammation in Wistar rats: Role of NFκB/MAPK pathway. *Chemico-biological interactions*, 2015; 231 : 98-107.
- Ozguner F, Armagan A, Koyu A, Caliskan S, Koylu H. A novel antioxidant agent caffeic acid phenethyl ester (CAPE) prevents shock wave-induced renal tubular oxidative stress. *Urol. Res*, 2005; 33: 239-243.

Références bibliographiques

- Patra, K., Bose, S., Sarkar, S., Rakshit, J., Jana, S., Mukherjee, A., & Bhattacharjee, S. Amelioration of cyclophosphamide induced myelosuppression and oxidative stress by cinnamic acid. *Chemico-biological interactions*, 2012; 195(3) : 231-239.
- Pescarolo, M., Bagnasco, L., Malacarne, D., Melchiori, A., Valente, P., Millo, E., & Parodi, S. A retro-inverso peptide homologous to helix 1 of c-Myc is a potent and specific inhibitor of proliferation in different cellular systems. *The FASEB Journal*, 2001; 15(1) : 31-33.
- Prat, w., Ruffon, R., Ensminger, W. et Maybaum, J. Principles of cancer chemotherapy., New York : Oxford University Press Inc ; 1994.
- Priebe, W. et Perez Soler, R. Design and tumor targeting of anthracyclines able to overcome multidrug resistance: a double-advantage approach. *Pharmacol The*, 1993; 60(2) : 215-34.
- Ramé, A., Théron, S. Anatomie et physiologie. Paris : Masson; 2011.
- Ramya, R., Prakash, S., & Sudha, S. Assessment of Serum Malondialdehyde in Oral Squamous Cell Carcinoma patients and its association with tobacco habits. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 2011; 10(10).
- Rebucci, M., & Lansiaux, A. Signalisation et développement tumoral. *Oncologie*, 2009; 11(3): 117-122.
- Rouibah, H., Benguedouar, L., Alyane, M., Boussenane, H. N., Kebsa, W., & Lahouel, M. The Effect of Propolis Extract Supplement on the Prevention of Heart and Vascular Disease Risk. *Saudi Society for Food and Nutrition*, 2008; 65-82.
- Sánchez-Suárez, P., Ostrosky-Wegman, P., Gallegos-Hernández, F., Penarroja-Flores, R., Toledo-García, J., Bravo, J. L., & Benítez-Bribiesca, L. DNA damage in peripheral blood lymphocytes in patients during combined chemotherapy for breast cancer. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 2008; 640(1) : 8-15.
- Sandström, M., Lindman, H., Nygren, P., Johansson, M., Bergh, J., & Karlsson, M. O. Population analysis of the pharmacokinetics and the haematological toxicity of the fluorouracil-epirubicin-cyclophosphamide regimen in breast cancer patients. *Cancer chemotherapy and pharmacology*, 2006; 58(2) : 143-156.
- Senthilkumar, S., Yogeeta, S. K., Subashini, R., & Devaki, T. Attenuation of cyclophosphamide induced toxicity by squalene in experimental rats. *Chemico-biological interactions*, 2006; 160(3) : 252-260.
- Sheeja, K., & Kuttan, G. Ameliorating effects of *Andrographis paniculata* extract against cyclophosphamide-induced toxicity in mice. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2006; 7(4) : 609-614.
- Silici, S., & Kutluca, S. Chemical composition and antibacterial activity of propolis collected by three different races of honeybees in the same region. *Journal of Ethnopharmacology*, 2005; 99(1) : 69-73.
- Sitzia, J., & Dikken, C. Survey of the incidence and severity of side-effects reported by patients receiving six cycles of FEC chemotherapy. *Journal of Cancer Nursing*, 1997; 1(2) : 61-73.

- Springer, J., Colvin, M., Colvin, O., Ludeman, S. Isophosphoramidate mustard and its mechanism of bisalkylation. *J. Org. Chem*, 1998; 63:7218–7222.
- Stoppa-Lyonnet, D., Gauthier-Villars, M., Coupier, I., & Andrieu, N. Diagnostic des patientes à risque de cancer du sein. *Cancer du sein*, 2006; 15-40.
- Sudha, S., Ramya, R., Parkash, S. Assessment of Serum Malondialdehyde in Oral Squamous Cell Carcinoma patients and its association with tobacco habits. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 2011; 10(10) : 1-3.
- Sulis, M., & Parsons, R. PTEN: from pathology to biology. *Trends in cell biology*, 2003; 13(9) : 478-483.
- Suzuki, I., Hayashi, I., Takaki, T., Groveman, D., & Fujimiya, Y. Antitumor and anticytopenic effects of aqueous extracts of propolis in combination with chemotherapeutic agents. *Cancer Biotherapy and Radiopharmaceuticals*, 2002; 17(5) : 553-562.
- Tessier, F., & Marconnet, P. Radicaux libres, systèmes antioxydants et exercice. *Science & sports*, 1995; 10(1) : 1-13.
- Tewey, K., Chen, G., Nelson, E. et Liu, I. Intercalative antitumor drugs interfere with the breakage-reunion reaction of mammalian DNA topoisomerase II. *J Biol Chem*, 1984 ; 259 (14) : 9182-7.
- Tidefelt, U., Sundman-Engberg, B., & Paul, C. Intracellular uptake and cytotoxic effect in vitro of doxorubicin and epirubicin in human leukemic and normal hematopoietic cells. *Cancer chemotherapy and pharmacology*, 1991; 29(1) : 7-12.
- Tjuljandin, S., Doig, R., Sobol, M., Watson, D., Sheridan, W., Morstyn, G., & Green, M. Pharmacokinetics and toxicity of two schedules of high dose epirubicin. *Cancer research*, 1990; 50(16) : 5095-5101.
- Todorova, I., & Dinev, D. Comparison of the intensity of oxidative stress during chemotherapy alone and chemotherapy combined with antioxidant therapy in spontaneous mammary tumours in dogs. *Revue Med Vet*, 2010; 161(1) : 43-48.
- Touitou, Y. Pharmacologie. Paris : Masson ; 2007.
- Twelves, C., Dobbs, N., Michael, Y., Summers, L., Gregory, W., Harper, P., & Richards, M. Clinical pharmacokinetics of epirubicin: the importance of liver biochemistry tests. *British journal of cancer*, 1992; 66(4) : 765.
- Vaeley J. The retinoblastome gene is frequently altered leading to loss of expression in primary breast tumors. *Oncogene*, 1999 ; 4 : 725-9.
- Van Acker, S., Tromp, M., Griffioen, D., Van Bennekom, W., Van Der Vijgh, W., & Bast, A. Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. *Free Radical Biology and Medicine*, 1996; 20(3) : 331-342.
- Vuillet-A-Ciles, H., Lagarde, A., & Buxeraud, J. La chimiothérapie cytotoxique. *Actualités Pharmaceutiques*, 2014; 53(540) : 16-24.

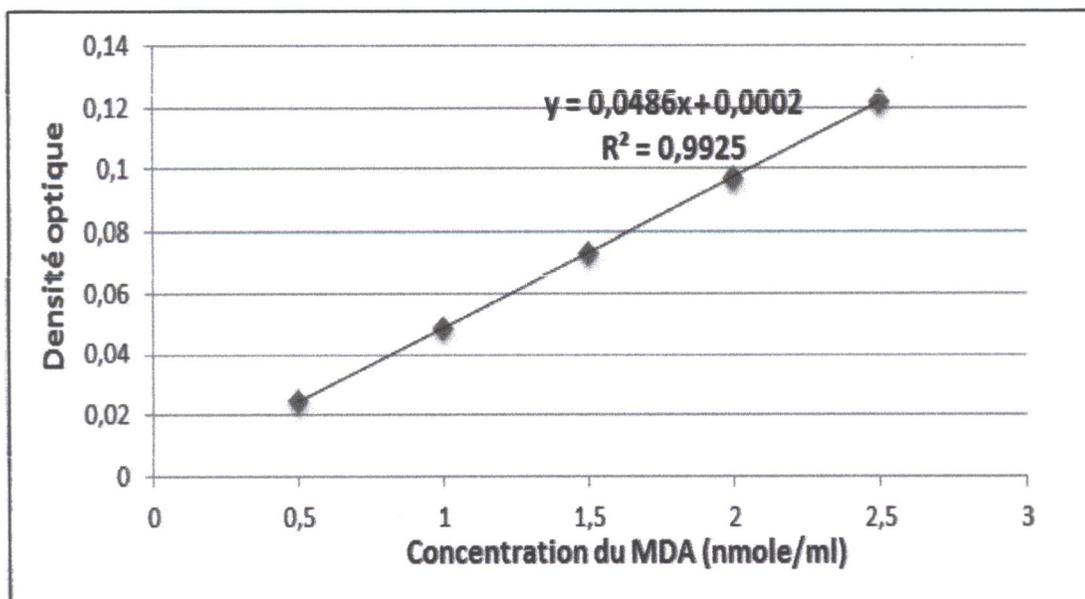
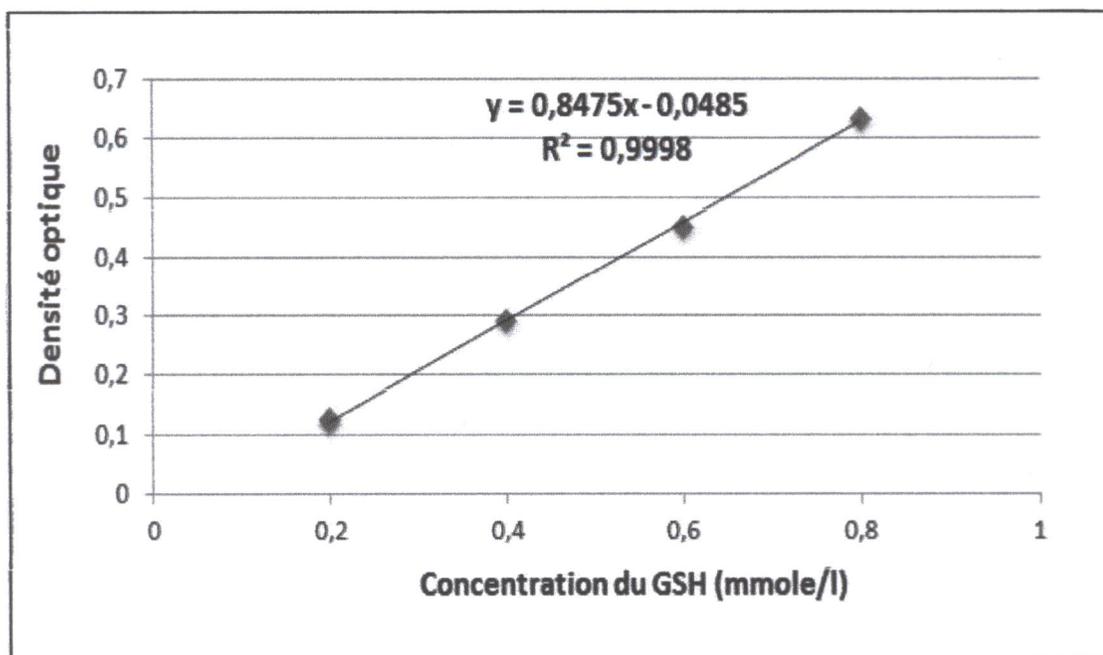
Références bibliographiques

Zhang, J., Tian, Q., Yung, S., Chuen, S., Zhou, S., Duan, W., and Zhu, Y. Metabolism and transport of oxazaphosphorines and the clinical implications. *Drug Metabolism Reviews*, 2005; 37:611-703.

Zhang, H., Shen, W., Gao, C., Deng, L., & Shen, D. Protective effects of salidroside on epirubicin-induced early left ventricular regional systolic dysfunction in patients with breast cancer. *Drugs in R&D*, 2012; 12(2) : 101-106.

Annexes

Annexe 1 : Courbes d'étalonnage

Figure 1: Courbe d'étalonnage du MDA $\lambda = 532\text{nm}$ Figure 2: Courbe d'étalonnage du GSH $\lambda = 412\text{nm}$

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

ملخص

كثيرا ما يستخدم السيكلوفوسفاميد، 5-فليورويوراسيل و الايبيريبيسين لعلاج سرطان الثدي، ومن المعروف أن العلاج الكيميائي بهذه الأدوية يسبب سمية دموية عند المصابات بهذا المرض. من جهة اخرى، يعتبر الدنج مادة من أصل نباتي ذات خصائص بيولوجية ومضادة للأكسدة، ولكن تأثيرها على السمية الدموية لهذه الادوية غير معروف. قمنا في دراستنا هذه بتقييم تأثير الدنج معطى عن طريق الفم لدى الفئران لمدة 5 أيام و بجرعات مختلفة (25، 7,5، 5 و 2,5 مغ/كغ) على السمية الدموية لجرعة واحدة داخل الصفاق لكل من السيكلوفوسفاميد 600 مغ/م²، الايبيريبيسين 80 مغ/م² و 5 - فليورويوراسيل 600 مغ/م². أجرينا تحاليل الدم، وقياس مستوى كل من الأكسدة الدهنية، الجلوتاثيون، الكتلاز و SOD في الدم و ذلك على فترات منتظمة: 1، 6، 14، و 21 يوما من العلاج الكيميائي. اظهرت النتائج عند الفئران المعالجة فقط بالأدوية المضادة للسرطان نقصا شديدا في الكريات البيضاء و الصفائح الدموية، وكذا زيادة كبيرة في ناتج الأكسدة الدهنية وانخفاض ملحوظا في معدل الجلوتاثيون، الكتلاز و SOD من اليوم الأول. أما بالنسبة للفئران المعالجة مسبقا بالدنج فان هناك تحسنا كبيرا في التأثيرات السامة، وتصحيح مستويات كل من الكريات البيضاء و الصفائح الدموية. وبالمثل، لاحظنا استرداد معدلات كل من الجلوتاثيون، الكتلاز و SOD، وكذا نقص في ناتج الأكسدة الدهنية. تشير نتائج بحثنا أن الدنج يقي من السمية الدموية الناجمة عن العلاج الكيميائي بالسيكلوفوسفاميد، 5- فليورويوراسيل و الايبيريبيسين.

الكلمات المفتاحية: العلاج الكيميائي، السيكلوفوسفاميد، 5- فليورويوراسيل، الايبيريبيسين، الدنج، السمية الدموية.

RÉSUMÉ

La polychimiothérapie par le protocole FEC (5-fluorouracile, cyclophosphamide et épuribicine) est largement utilisée dans le traitement du cancer du sein. Ces médicaments anticancéreux sont connus pour provoquer des effets secondaires hématologiques chez les patientes. Par ailleurs, la propolis est une substance d'origine végétale ayant des propriétés biologiques et antioxydantes. Cependant, son effet sur la toxicité hématologique de la polychimiothérapie n'est pas connu. Dans notre recherche, nous avons évalués l'effet de la propolis donné par voie orale chez des rats males *wistar albinos* pendant 5 jours et à différentes doses (25, 7.5, 5 et 2.5mg/kg) sur la toxicité hématologique d'une dose unique du cyclophosphamide 600 mg/m², d'épuribicine 80 mg/m² et du 5- fluorouracile 600 mg/m² par voie intrapéritonéal. Nous avons effectué une numération sanguine, dosage du MDA, du glutathion, de la catalase et de la SOD. Les analyses sont effectuées à intervalle régulier : 1, 6, 14 et 21 jours après l'administration de la polychimiothérapie. Chez les rats traités par la polychimiothérapie seule, on note une leucopénie et une thrombopénie sévère, ainsi qu'une augmentation significative du MDA et une diminution significative du taux du GSH, CAT et SOD dès le premier jour. Par contre, chez les rats prétraités par la propolis, la leucopénie et la thrombopénie se trouve entièrement corrigée. De même, nous avons noté un rétablissement des taux du MDA, GSH, CAT et SOD. Notre résultat indique que la propolis exerce un effet préventif contre la toxicité hématologique induite par la polychimiothérapie FEC.

Mots clés: polychimiothérapie FEC, propolis, toxicité hématologique.

ABSTRACT

Chemotherapy with FEC (5-fluorouracil, cyclophosphamide and epuribicin) is widely used for breast cancer treatment. These cancer drugs are known to cause hematologic side effects in patients. However, propolis is a substance of plant origin which has biological and antioxidant properties. Yet, its effect on the hematological toxicity of the polychemotherapy is unknown. In this research, we evaluate the effect of propolis given orally to *wistar albinos* rats for 5 days and at different doses (25, 7.5, 5, 2.5 mg /kg) against the hematological toxicity of a single dose of cyclophosphamide 600 mg/m², epuribicin 80 mg/m² and 5-fluorouracil 600 mg/m² by intraperitoneal way. We have conducted a blood numeration, an assessment of MDA, glutathione, catalase and SOD in blood. The analyzes are performed at regular intervals: 1, 6, 14 et 21 days after the administration of the polychemotherapy. In the group of rats treated with polychemotherapy alone, we noticed a severe leukopenia and thrombocytopenia, and a significant increase in MDA; there was also a significant decrease in the rate of GSH, SOD and CAT starting from day one. As for rats pretreated with propolis, leukopenia and thrombocytopenia was fully corrected. Similarly, we noticed a recovery of GSH, SOD and CAT and a decrease of MDA. Our results show that propolis has a preventive effect on the hematological toxicity induced by polychemotherapy FEC.

Key words: Chemotherapy FEC, propolis, hematological toxicity.