

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحيى - جيجل

Université Mohammed Seddik Ben Yahia - de Jijel-

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



كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم: البيولوجية الجزيئية و الخلوية

Mémoire de fin d'études

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

Option : Sciences pharmacologiques.

Thème

Etude de l'effet cyto et génoprotecteur de la plante *Artemisia judaica* et de l'apigénine contre la toxicité de la doxorubicine

Membres de Jury

Président : Dr. Zabaiou Nada.

Examinatrice : Dr. Rouibah Hassiba.

Encadreur : Dr. Benguedouar Lamia.

Présenté par :

Amiar Chaima

Bouhara Oumnia

Boumaza Soraya

Année Universitaire 2019 - 2020

Numéro d'ordre (bibliothèque)



Remerciement

Nous remercions tout d'abord Allah le tout puissant, pour nous avoir donnée la force et la patience, la santé et la volonté pour réaliser ce modeste travail.

Nous remercions notre encadrant Dr Benguedouer Lamia, qu'elle trouve ici l'expression de notre profonde reconnaissance pour nous avoir guidées dans notre travail. Et aussi Mlle chouikh Nesrin pour son soutien et efforts de début jusqu'à la fin de travail.

Nous tenons particulièrement à remercier les membres du jury d'avoir accepté de juger ce travail.

Nous tenons à remercier l'ensemble des enseignants qui ont assurés notre formation durant le cursus de formation en biologie.

Nous tenons enfin à remercier tous ceux qui ont participé de près ou de loin dans l'élaboration de ce travail.



Dédicace

A mes parents Salah et Nacera, pour votre amour, votre patience et votre générosité, pour tous les efforts que vous avez consentis en ma faveur. J'espère avoir été digne de votre affection et de votre confiance. Je vous dédie ce travail en témoignage de ma grande reconnaissance et de mon éternel amour. Que Dieu vous donne longue vie et bonne santé. Soyez assurés de ma grande gratitude et de ma sincère reconnaissance pour le soutien moral et matériel que vous m'avez généreusement offert.

A tous ceux qui ont une place dans mon cœur et surtout mes frères : Sidali, Nesreddin, Idris, Tarek ; et ma jolie sœur Zineb et sa petite famille, je vous aime très fort.

A mes fidèles amies pour leur soutiens et amour.

Soraya



Dédicace

Au nom de Dieu le clément et le miséricordieux
Louange à dieu qui m'a aidé durant des années
Éclairé et ouvert les portes du savoir.

C'est avec une profonde émotion que je dédie ce
mémoire :

A mes chers parents Naima et Rachid à qui je dois tant
et qui n'ont

Pas cessé de me témoigner affection, pour leurs
Amour, soutient, et leurs encouragement, en
Espérant les rendre fières.

A mes chers frères Housseem, Hicham, Chouaib,
Mon petit diae, et ma jolie malak pour leurs
conseils et amour.

Chaima



Dédicace

Avec mes sentiments de gratitude les plus profonds, je dédie ce modeste travail :

A mes chères parents ma mère Djebbar Ghania et mon père Mourad

Pour leur patience, leur soutien et leurs encouragements

A mon seul frère Bouhara Aimen et mes amies et surtout pour leur soutien et amour.

Oumnia

Sommaire

| Titre | pages |
|-------------------------------------|--------------|
| Liste des abréviations | vii |
| Liste des tableaux | viii |
| Liste des figures | ix |
| Introduction | 1 |

1^{er} partie : synthèse bibliographique

Chapitre I : la génotoxicité

| | |
|---|----|
| I.1. Généralités sur la génotoxicité | 2 |
| I.2. Mutagenèse de la molécule d'ADN | 2 |
| I.2.1. Mutations germinales | 3 |
| I.2.2. Mutations géniques..... | 3 |
| I.2.3. Les mutations chromosomiques | 4 |
| I.2.3.1. Insertion..... | 4 |
| I.2.3.2. Délétion..... | 4 |
| I.2.3.3. Inversions et translocations réciproques | 5 |
| I.3. Les agents mutagènes..... | 5 |
| I.3.1. Les agents physiques..... | 5 |
| I.3.2. Les agents chimiques..... | 5 |
| I.3.3. agents biologique..... | 6 |
| I.4. les Tests de génotoxicité | 6 |
| I.4.1. Test d'Ames | 7 |
| I.4.2. Test de Comète..... | 8 |
| I.4.3. Test de micronoyau | 10 |
| I.4.4. Test d'Aberrations chromosomiques (AC) | 12 |

Chapitre II : La génotoxicité des anticancéreux

| | |
|--|----|
| II.1. Généralités sur les anticancéreux..... | 14 |
| II.2. Classification des anticancéreux | 14 |
| II.2.1. Les médicaments ayant une action directe sur l'ADN..... | 14 |
| II.2.1.1. Les agents alkylants et les agents intercalants | 14 |
| II.2.1.2. Les inhibiteurs des topoisomérase I et II | 15 |
| II.2.2. Interactions indirectes avec l'ADN..... | 15 |
| II.2.2.1. Les médicaments ayant une action en « amont » du matériel génétique..... | 15 |

| | |
|---|----|
| II.2.2.2. Les médicaments ayant une action en « aval » du matériel génétique : Les antimétabolites ou poisons du fuseau mitotique | 16 |
| II.3. La doxorubicine | 16 |
| II.3.1. Définition..... | 16 |
| II.3.2. Structure chimique | 17 |
| II.4. Pharmacocinétique de la doxorubicine..... | 17 |
| II.4.1. Administration et absorption | 17 |
| II.4.2. Distribution..... | 17 |
| II.4.3. Métabolisme | 18 |
| II.4.4. Elimination..... | 18 |
| II.5. Mécanisme d'action..... | 18 |
| II.5.1. Interaction dans la molécule d'ADN..... | 18 |
| II.5.2. Interaction avec l'enzyme topo-isomérase II..... | 18 |
| II.5.3. Formation des radicaux libres | 19 |
| II.6. Effets secondaires majeurs de traitement à la doxorubicine..... | 19 |
| II.6.1. Stress oxydatif..... | 19 |
| II.6.1.1. Induction des espèces réactives de l'oxygène par la doxorubicine | 19 |
| II.6.1.2. Les effets cellulaires des espèces réactives de l'oxygène | 20 |
| II.6.1.2.1. Dommage de l'ADN..... | 20 |
| II.6.1.2.2. Cardiotoxicité..... | 20 |
| II.6.2. Effets génotoxiques | 21 |
| II.7. Autres effets..... | 22 |
| II.7.1. Hépatotoxicité induite par la doxorubicine..... | 22 |
| II.7.2. Néphrotoxicité induite par la doxorubicine | 22 |

Chapitre III : Les flavonoïdes

| | |
|---|----|
| III. 1. Généralités sur les flavonoïdes | 23 |
| III. 2. Structure chimique | 23 |
| III. 3. Classification..... | 23 |
| III.3.1. Flavonols | 23 |
| III.3.2. Flavones | 24 |
| III.3.2. Les flavonones | 24 |
| III.3.4. Isoflavonoïdes..... | 24 |
| III.3.5. Anthocyanes | 24 |

| | |
|--|-----|
| III.3.6. Chalcones | .24 |
| III. 4. Localisation | .25 |
| III. 5. Biosynthèse..... | .26 |
| III. 6. Activités biologiques..... | .26 |
| III. 6.1. Activité antioxydant | .27 |
| III. 6.1.1. Piégeage des radicaux libres | .27 |
| III. 6.1.2. Inhibition enzymatique et Chélation des ions métalliques | .28 |
| III. 6.2. L'activité antigénotoxique | .30 |
| III. 6. 3. Activité anticancéreuse | .31 |
| 2^{ème}Partie : Recherche bibliographique sur l'effet cytoto et g enoprotecteur d'Artemisia | |
| <i>judaica</i> et de l'apig enine contre la toxicit e de la doxorubicine | |
| VI. Recherche bibliographique sur l'effet cytotoxique et g enotoxique d' <i>Artemisia judaica</i> et de l'apig enine | .34 |
| VI. 1. Etude phytochimiqued' <i>Artemisia judaica</i> | .34 |
| VI. 1.1. Activit e pi egeage des radicaux libres d' <i>Artemisia judaica</i> | .38 |
| VI.2. Activit e antig enotoxique d' <i>Artemisia judaica</i> | .40 |
| VI.2.1. Effet d' <i>Artemisia judaica</i> sur la formation du micronoyau | .40 |
| VI. 2.2. Dommages à l'ADN d etect es par le test Com ete | .42 |
| VI. 3. Activit e antioxydante d' <i>Artemisia judaica</i> | .44 |
| Conclusion | .48 |
| R ef erences..... | .49 |
| Annexe | |
| R esum e | |

8-OHD : 8-Hydroxydes Oxyguanosine.

A.j : Artemisia judaica.

ABF1 : L'aflatoxine B1.

ABTS : Acide 2,2'-azino-Bis (3-éthylbenzo Thiazoline-6-Sulphonique).

AC : Aberrations Chromosomiques.

Api : Apigénine.

BHT : Butyl Hydroxy Toluène.

CAT : Capacité antioxydante totale.

CTF : Contenu Total en Flavonoides.

CTP : Contenu Total en Polyphénole.

CYP : Cytochrome.

DCI : Dénomination commune international.

DMBA : Diméthyl Benzanthracène.

DOX : Doxorubicine.

DPPH : 2,2-Di Phényl-1-Picryl Hydrazyl.

EAG : Equivalent Acide Galique.

EC : Equivalent Catéchine.

ECA : Enzyme de Conversion de l'Angiotensine.

EDTA : Acide Ethylène Diaminetétra Acétique.

EGCG: Epigallocatechingallate.

EPCMn : Érythrocytes polychromatiques micronucléés

ERO : Espèces Réactives d'Oxygène.

ES : Extrait Sec.

GPxs : Glutathions Peroxydases.

HPLC : high performance liquid chromatography .

IP : Intrapéritonéale.

MDA : La Malonialdéhyde.

MN : Micronoyau.

OCDE : Organisation de Coopération et de Développement Economiques

PKC : Protéines Kinase C.

SOD : Super Oxyde Dismutase.

TBA : Acide Thiobarbiturique.

Topo I : Topoisoméras I.

Topo II : Topoisomerase II.

| Tableau | Titre | Page |
|------------|--|------|
| Tableau 1 | Les avantages et les inconvénients de test d'Ames. | 7 |
| Tableau 2 | Les avantages et les inconvénients de test des comètes. | 9 |
| Tableau 3 | Les avantages et les inconvénients de test des micronoyaux. | 11 |
| Tableau 4 | Les avantages et les inconvénients de tes d'aberrations chromosomiques. | 14 |
| Tableau 5 | Interactions directes avec l'ADN. | 15 |
| Tableau 6 | Les inhibiteurs des topoisomérases. | 15 |
| Tableau 7 | Les médicaments ayant une action en « amont » du matériel génétique. | 16 |
| Tableau 8 | Les médicaments ayant une action en « aval » du matériel génétique | 16 |
| Tableau 9 | Sources alimentaires des flavonoïdes. | 25 |
| Tableau 10 | Activité antioxydante de certains types de flavonoïdes. | 29 |
| Tableau 11 | Activité antigénotoxique de certains types de flavonoïdes. | 31 |
| Tableau 12 | Propriétés anticancéreuses, <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i> de quelques flavonoïdes. | 33 |
| Tableau 13 | Teneur totale en phénol, flavonoïde des extraits d'A.j. | 35 |
| Tableau 14 | Profil phytochimique de l'analyse HPLC-UV-DAD de composés phénoliques dans des extraits au solvant d'A.j. | 37 |
| Tableau 15 | Contenu phénolique et flavonoïde des extraits d'A.j identifiés par HPLC. | 38 |
| Tableau 16 | Activités antioxydantes d'extraits d'A.j par différents tests. | 39 |
| Tableau 17 | Score visuel des dommages à l'ADN dans les échantillons de sang de souris mâles traitées avec A.j et / ou doxorubicine (DOX) en utilisant le test des comètes. | 43 |

| Figure | Titre | Page |
|-----------|--|------|
| Figure 1 | Diversité des altérations de l'ADN. | 3 |
| Figure 2 | Différents types de mutations géniques. | 3 |
| Figure 3 | Insertion chromosomique. | 4 |
| Figure 4 | Délétion chromosomique. | 4 |
| Figure 5 | Inversion et translocation chromosomique. | 5 |
| Figure 6 | Principaux tests de génotoxicité. | 6 |
| Figure 7 | Schéma du principe du test d'Ames. | 7 |
| Figure 8 | Principales étapes du Test des Comètes. | 9 |
| Figure 9 | Photographie de noyaux endommagés et non endommagé. | 10 |
| Figure 10 | Principe du test des micronoyaux: Lésion chromosomique au cours de la mitose après exposition de cellules somatiques à un agent génotoxique. | 11 |
| Figure 11 | Quelques exemples d'aberrations chromosomiques. | 13 |
| Figure 12 | Structure chimique de la doxorubicine. | 17 |
| Figure 13 | Production des radicaux libres par réaction enzymatique d'oxydoréduction de la fonction quinone des anthracyclines. | 20 |
| Figure 14 | Mécanismes de cardiotoxicité médiée par la doxorubicine | 21 |
| Figure 15 | Squelette de base des flavonoïdes. | 23 |
| Figure 16 | Différents types de flavonoïdes à partir de l'élément structural de base. | 25 |
| Figure 17 | La biosynthèse de différentes classes de flavonoïdes. | 26 |
| Figure 18 | Piégeage des EOA (R•) par les flavonoïdes. | 27 |
| Figure 19 | Les sites du flavonoïde proposés pour la chélation des ions métalliques. | 28 |
| Figure 20 | Taux de flavonoïdes à différents stades de développement de la plante. | 36 |
| Figure 21 | Moyenne d'EPCMns traités avec A.j et / ou DOX. | 41 |
| Figure 22 | Score visuel de l'ADN normal et des cellules comètes (classes 1 à 3) en utilisant le test des comètes dans des échantillons de cellules sanguines de souris exposées à A. j et / ou DOX. | 43 |
| Figure 23 | Comparaison de différentes classes des comètes selon les traitements. | 44 |
| Figure 24 | Contenu myocardique en MDA (A), SOD (B) et GSH(C). | 45 |

Introduction

Les traitements contre le cancer ont fait l'objet de grandes avancées au cours des vingt dernières années. D'une thérapeutique globale touchant l'ensemble des organes, avec la chimiothérapie systémique et/ou la radiothérapie, nous sommes passés à des traitements ciblés qui améliorent l'efficacité et diminuent la toxicité. L'utilisation de la chimiothérapie dans le traitement du cancer a ouvert de nouvelles possibilités pour l'amélioration de la qualité de vie des patients cancéreux et même pour la guérison de la maladie. Malgré ses succès, le traitement avec certains des médicaments anticancéreux les plus efficaces fournit un certain nombre de symptômes de toxicité directe. De plus, de nombreux médicaments anticancéreux se sont révélés mutagènes, ecancérigènes et génotoxique dans les systèmes expérimentaux notamment la doxorubicine(Sorsa et *al.*,1985). Ce médicament contribue fortement au maintien de son utilisation dans les thérapies antinéoplasiques. Il agit *via* la production d'un grand nombre d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et l'induction de dommages à l'ADN (Sorsa et *al.*, 1985 ; Lyon, 1994).

Les plantes médicinales représentent une source inépuisable de composés naturels bioactifs (Handa et *al.*, 2008). Selon l'OMS (2002), plus de 80% de la population mondiale a recours à la phytothérapie pour se soigner. Les composés phénoliques, en particulier les flavonoïdes, font l'objet de nombreuses recherches. Certain flavonoïdes peuvent être considéré comme des agents chimiopréventifs anticancéreux et peuvent inhiber les dommages primaires du l'ADN, soit par scavenging des ERO, de l'altération des enzymes de métabolisation des médicaments, du blocage de la liaison à l'ADN ou de l'altération des taux de réparation de l'ADN (Aydemir et *al.*, 2005; Nafisi et *al.*, 2008). Des études sur les flavonoïdes naturels indiquent qu'ils sont capables d'inhiber la croissance tumorale et d'assurer une chimioprévention (Wang et *al.*, 1999; Ujiki et *al.* , 2006).

Le but de cette recherche est d'étudier le rôle protecteur de l'effet d'*Artemisia judaica* et de l'apigenine contre les effets génotoxiques et cytotoxiques des médicaments anticancéreux en particulier la doxorubicine, à l'aide de test de micronoyaux, et le test des comètes.

Chapitre I
La génotoxicité

I.1. Généralités sur la génotoxicité

L'information génétique, codée chimiquement dans l'ADN, est maintenue, reproduite et transmise aux générations successives avec une grande fidélité. Des dommages à l'ADN peuvent se produire à travers des processus biologiques normaux ou à la suite de l'interaction de l'ADN, que ce soit directement ou indirectement (Young, 2002). Le terme de génotoxicité se réfère à l'effet d'agents, dits génotoxiques, qui interagissent avec l'ADN et/ou la machinerie cellulaire qui maintient l'intégrité du génome. Il s'agit notamment des radiations ionisantes, capables de provoquer directement des dommages à l'ADN, des substances chimiques souvent électrophiles, qui directement ou après bioactivation par des systèmes enzymatiques adéquats, vont se lier à l'ADN pour former des adduits. Ces adduits vont pouvoir être responsables de cassures et de pontage de l'ADN, d'erreurs de réplication et de substitution de bases. Ces lésions de l'ADN peuvent conduire à la mort cellulaire si les dommages sont très importants mais elles peuvent aussi être réparées par la machinerie cellulaire et il n'y aura alors pas de conséquence pour la cellule. Si la réparation est imparfaite, incomplète ou absente, les lésions vont alors conduire à des mutations, qui sont permanentes et irréversibles, et qui peuvent impliquer des gènes individuels (mutation génique), des blocs de gènes (mutation génomique) ou des chromosomes (mutation chromosomique). Les mutations conduisant à des cassures des chromosomes sont appelées clastogènes tandis que celles se traduisant par des anomalies de la ségrégation chromosomique sont appelées aneugènes (Thybaud et *al.*, 2007 ; Fardel et *al.*, 2009) .

I.2. Mutagenèse de la molécule d'ADN

L'ADN est une macromolécule biologique à laquelle sont attribuées les structures primaire, secondaire et tertiaire. Il apparaît que la séquence en nucléotides, la configuration et la situation des nucléotides au sein de la double hélice et l'état sous lequel se trouve la molécule d'ADN jouent un rôle considérable dans la survenue des lésions puis des mutations. Il existe une très grande variété des degrés d'altération de l'ADN. Il est en effet classique de distinguer les lésions primaires à l'ADN, les mutations géniques, chromosomiques et génomiques (Figure 1) (Orsière et *al.*, 2005).

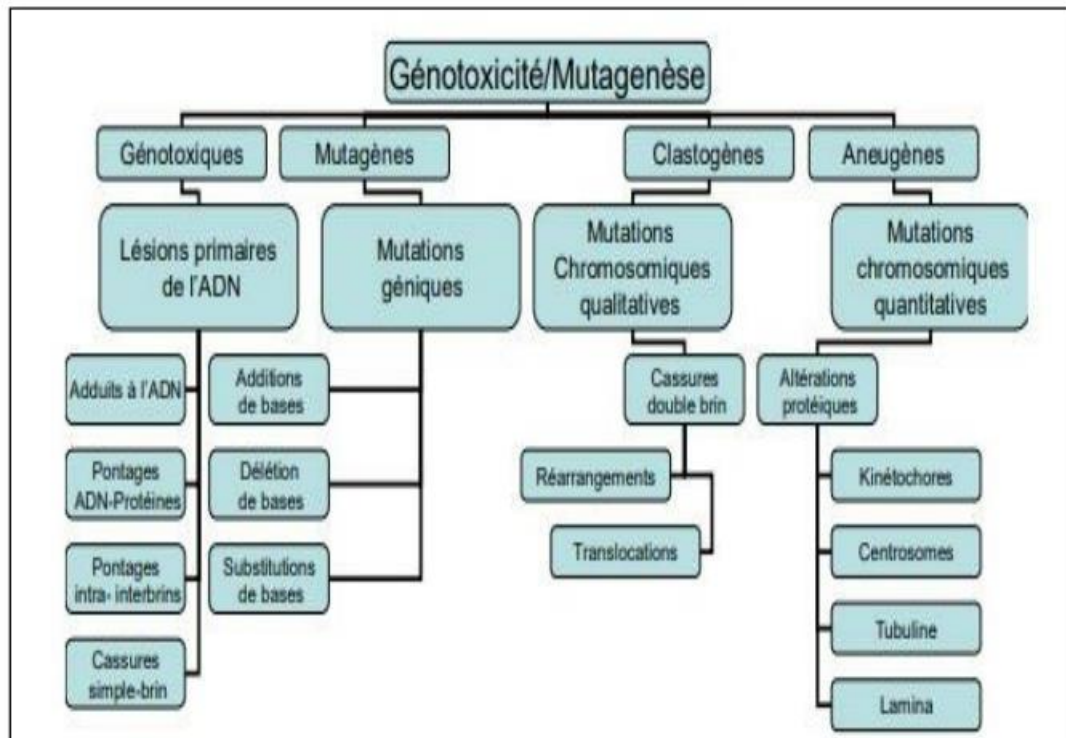


Figure 1 : Diversité des altérations de l'ADN (Orsière et *al.*, 2005).

I.2.1. Mutations germinales : Sont des mutations héréditaires qui touchent les cellules reproductrices. En effet, une mutation portée par un spermatozoïde ou un ovule se retrouvera présente dans la cellule-œuf et par conséquent dans toutes les cellules du nouvel individu (Harry, 2008).

I.2.2. Mutations géniques : Correspondent à une altération de la séquence nucléotidique de l'ADN de manière à soit arrêter complètement la synthèse d'une protéine, ou la modifier produisant ainsi une protéine inactive (Figure 2) (Johnston, 2001).

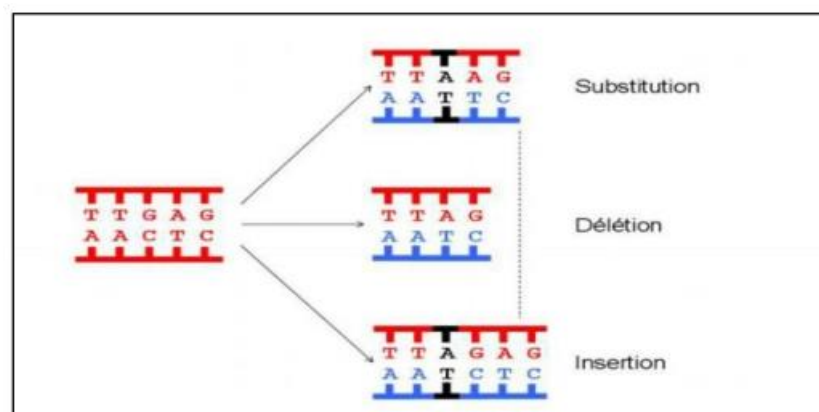


Figure 2 : différents types de mutations géniques (Hanna, 2015).

I.2.3. Mutations chromosomiques: Elles correspondent à des cassures ou des remaniements de chromosome, ces mutations chromosomiques sont visibles au niveau du caryotype, ça peut être des aberrations portant sur un chromosome et des aberrations portant sur deux chromosomes (Camps, 2009). On distingue :

I.2.3.1. Insertions

Elles se traduisent par le transfert d'un segment chromosomique intercalaire à l'intérieur d'un autre bras chromosomique (Figure 3). Elles résultent d'un mécanisme à trois cassures, l'une sur le chromosome receveur et deux sur le chromosome donneur, le segment inséré peut conserver la même orientation par rapport au centromère ou avoir une orientation inverse (Moulssehou, 1998).

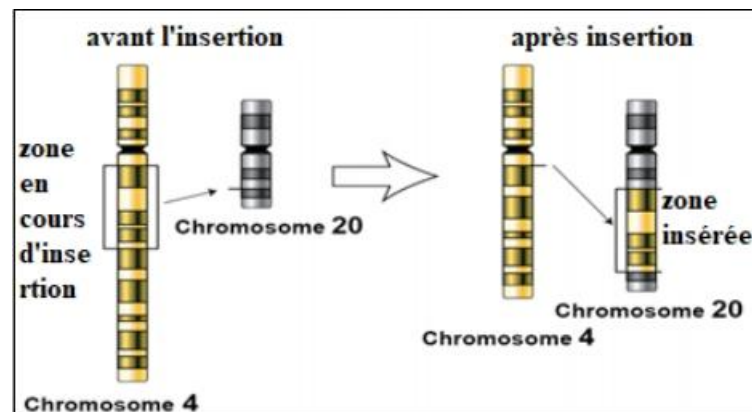


Figure 3 : Insertion chromosomique (Iengar, 2012).

I.2.3.2. Délétions

Une délétion signifie qu'une partie d'un chromosome a été perdue ou détruite (Figure 4). Elle peut survenir sur n'importe quel chromosome et au niveau de n'importe quelle portion du chromosome (Hanna, 2005).

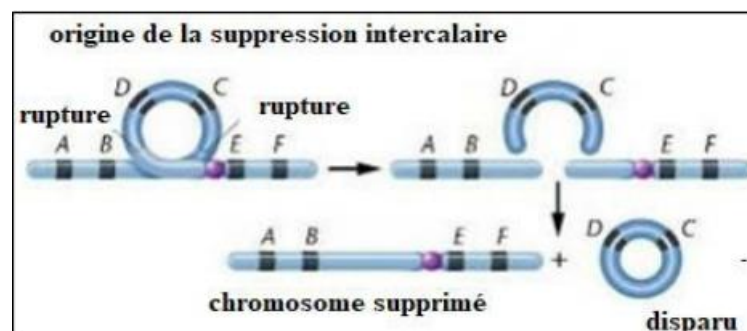


Figure 4 : Délétion chromosomique (Iengar, 2012).

I.2.3.3. Inversions et translocations réciproques

- Les inversions se produisent lorsqu'une rupture de l'un des chromosomes se produit et que le segment tourne de 180 ° avant de revenir (Figure 5) (Dutta et *al.*, 2016).
- Les Translocations réciproques résultent d'échanges de matériel chromosomique entre deux chromosomes non homologues (Figure 5) (Mateuca et *al.*, 2006).

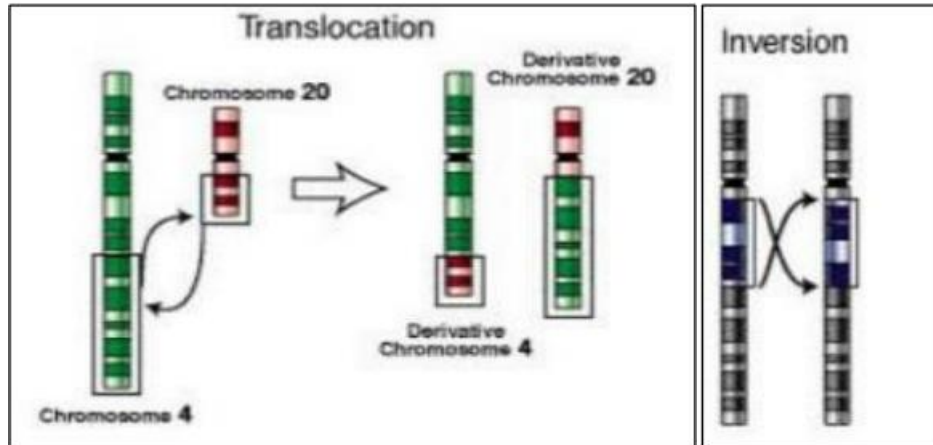


Figure 5: Inversion et translocation chromosomique (Cheriot, 2007).

I.3. Les agents mutagènes génotoxiques

Les mutagènes génotoxiques peuvent être divisés en trois grandes classes, comprenant :

I.3.1. Les agents physiques

Les agents physiques sont principalement les radiations ionisantes hautement énergétiques telles que les radiations alpha et gamma et les radiations non ionisantes comme la lumière ultraviolette (UV). Ces agents peuvent induire des mutations variables et très dangereuses (Turner, 1999 ; Bach, 2011).

I.3.2. Les agents chimiques

Ce sont des mutagènes électrophiles qui établissent une liaison covalente avec un site nucléophile d'une base d'ADN. Parmi les sites nucléophiles, les azotes aromatiques, les groupements hydroxyles et carbonyles de bases constitutives d'ADN qui constituent les cibles privilégiées des agents chimiques génotoxiques (Fairbairn et *al.*, 1996). On en distingue :

- ✓ Les analogues des bases (khan et *al.*, 2012).
- ✓ Les agents intercalaires (Iengar, 2012).
- ✓ Les modificateurs de bases (Kolodner et *al.*, 1996).

I.3.3. Les agents biologiques

Les agents biologiques sont des organismes "vivants" qui peuvent modifier les séquences du matériel génétique de leur hôte comme par exemple ; les virus et les bactéries. Ils sont plus puissants que la plupart des agents chimiques mortels ; de petites quantités peuvent conduire à des effets dévastateurs (Rosenbloom, 2002).

I.4. Les tests de génotoxicité

La génotoxicologie, qui a pour objet l'identification des agents génotoxiques, la détermination des mécanismes moléculaires et cellulaires impliqués dans les phases de bioactivation, d'interaction avec l'ADN, de réparation des lésions primaires, et l'évaluation des conséquences initiales des lésions, a développé un certain nombre de tests de génotoxicité permettant de déceler les lésions primaires de l'ADN (tests des comètes, détection des adduits...), les mutations géniques (test d'Ames), chromosomiques et génomiques (test des micronoyaux) (Figure 6) (Orsière et al., 2005).

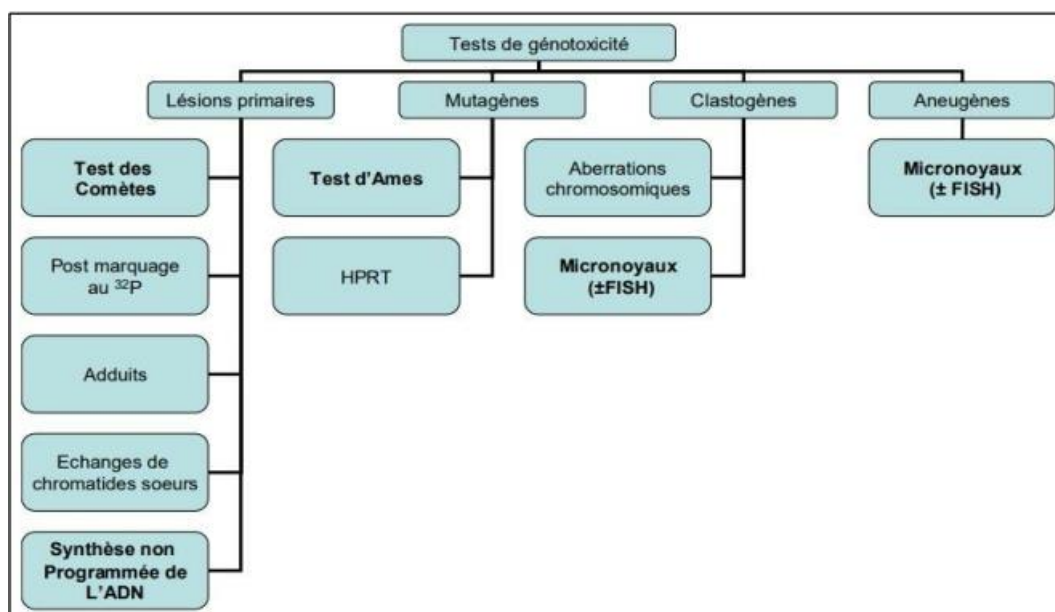


Figure 6 : Principaux tests de génotoxicité (Orsière et al., 2005).

I.4.1. Test d'Ames ou mutatest

Dans les années 70, le seul système disponible était un test de cancérogénèse à long terme sur l'animal. Heureusement, l'idée d'un parallélisme entre pouvoir cancérogène et pouvoir mutagène commençait à s'imposer. Une étape majeure a été franchie par le Prof B.N. Ames lorsqu'il a pu mettre au point un test basé sur l'utilisation de souches bactériennes hypersensibles aux mutagènes

et donc aux cancérogènes (Maron et *al.*, 1983; De Méo et *al.*, 1996). Le test de mutation inverse bactérienne (test d'Ames) est le test de génotoxicité le plus couramment utilisé pour évaluer la mutagénicité et l'antimutagénicité de molécules ; il s'agit d'un élément principal des données d'évaluation de la sécurité chimique requises par les organismes de réglementation du monde entier (Madia et *al.*, 2020). Le principe du test consiste à examiner si une substance chimique est capable d'induire des mutations spécifiques chez différentes souches de bactéries porteuses d'une mutation dans les gènes gouvernant la synthèse de l'acide aminé histidine (Mortelmans et *al.*, 2000). Par exemple, une souche de *Salmonella Typhimurium* porte une mutation dans le gène qui code pour l'histidine il s'agit donc d'un mutant auxotrophe qui perd la capacité de synthétiser l'histidine. Cette souche est connue sous le nom de (His-) et elle est incapable de pousser sur un milieu sans histidine, la culture de (His-) salmonella dans un milieu contenant certains produits chimiques, provoque une mutation dans le gène codant pour l'histidine, de sorte qu'ils retrouvent la capacité de synthétiser l'histidine (His+) (Figure 7). Ces produits chimiques responsables de l'inversion de la mutation sont en fait un mutagène (Maron et *al.*, 1983 ; De Méo et *al.*, 1996).

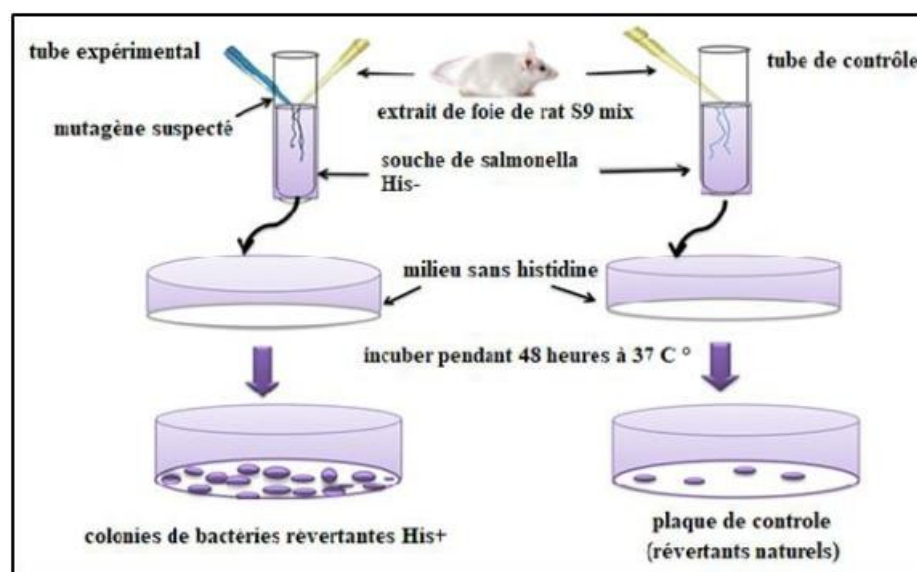


Figure 7 : Schéma du principe du test d'Ames (Vijay et *al.*, 2018).

Tableau 1 : Les avantages et les inconvénients de test d'Ames (Słoczyńska et *al.*, 2014)

| les avantages | Inconvénients |
|--|--|
| <ul style="list-style-type: none"> ▪ Méthode simple, Facile à réaliser ▪ Faisabilité : non invasif ▪ Sensible et précise. ▪ Base de données très étendue | <ul style="list-style-type: none"> ▪ L'organisme testeur est une bactérie potentiellement pathogène. Donc ne présente pas un modèle parfait pour l'homme. |

disponible.

- Nécessite plusieurs souches pour le test.
- Un temps relativement long nécessaire pour effectuer l'analyse
- Ne détectera pas les mutagènes qui interagissent avec cibles spécifiques aux eucaryotes.

I.4.2. Test de la Comète

L'idée originale de ce test revient à Rydberg et Johanson en 1978 et en 1988, le développement de la méthode à pH alcalin ($\text{pH} > 13$) a permis la détection des cassures simple brin, double brins, ainsi que des sites alcali-labiles par l'introduction d'une électrophorèse en conditions alcalines (Singh et *al.*, 1988). Un panel d'experts a établi une proposition de ligne directrice du test des Comètes (Tice et *al.*, 2000). Le test de Comète, ou électrophorèse sur gel, est une technique utilisée pour mesurer les ruptures et les réparations d'ADN simple et double brins au niveau des cellules individuelles (Azqueta et *al.*, 2019). Le principe du test est simple; après la lyse des membranes cellulaires et libération des noyaux, l'ADN des cellules est ensuite soumis à des conditions électrophorétiques. Compte tenu du faible voltage et ampérage, les molécules d'ADN intactes et donc trop lourdes pour avoir été déplacées vont décrire une sphère compacte, tandis que, les fragments endommagés vont migrer vers l'anode, formant une typique «queue de comète». Les figures ainsi décrites sont alors tout à fait comparables à des comètes. La lecture au microscope à fluorescence et l'analyse d'image permet alors la quantification des effets observés (Figure 8). A l'état normal, une molécule d'ADN située dans le noyau se présente sous une forme super enroulée. Une cassure provoque la rupture du brin d'ADN ; cela entraîne un relâchement de cette structure en double hélice. Sous l'effet d'un champ électrique faible, les fragments d'ADN, plus légers et surtout chargés négativement, vont migrer vers l'anode (Tice et *al.*, 2000).

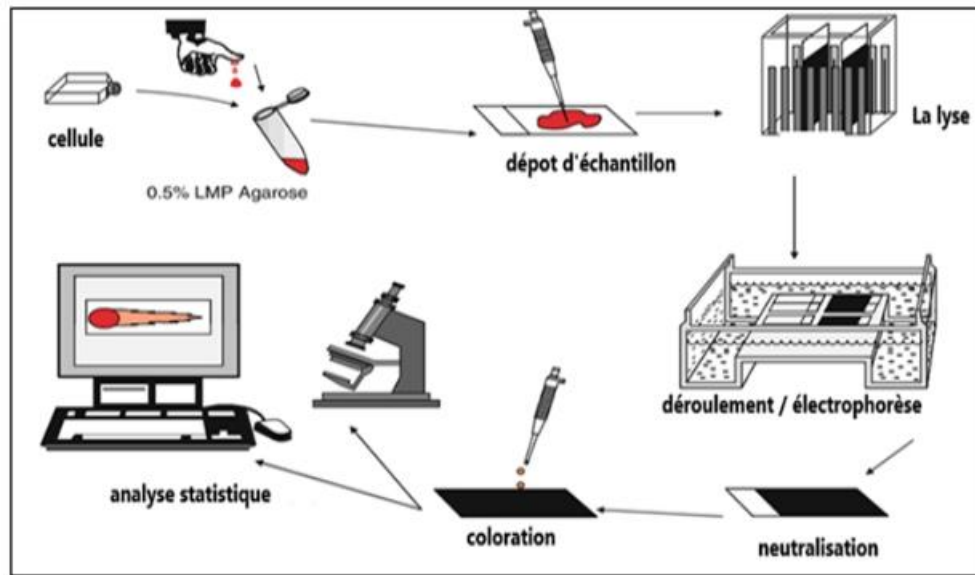


Figure 8: Principales étapes du Test des Comètes (Speit et *al.*, 2012).

En l'absence de logiciel, les dommages sont analysés qualitativement, en classant visuellement les comètes obtenues en fonction de leur aspect comme le montre (Figure 9) (Michel, 2011). Plus précisément leur importance est déterminée par le rapport fluorescence verte sur fluorescence rouge, l'ADN peu endommagé montre alors un rapport fluorescence verte sur rouge élevé et inversement (Rydberg et *al.*, 1978).

Tableau 2 : Les avantages et les inconvénients de test des comètes (Ostling et *al.*, 1984 ; Giovannelli et *al.*, 2003 ; Ladeira et *al.*, 2019 ; Milić et *al.*, 2019).

| les avantages | Inconvénients |
|--|--|
| <ul style="list-style-type: none"> ▪ Rapide, simple, sensible. peu coûteux. ▪ Facile à mettre en œuvre et il ne nécessite qu'un faible nombre de cellule et quelques microlitres de sang total pour l'analyse. | <ul style="list-style-type: none"> ▪ Besoin d'échantillons frais de sang ▪ la dissociation cellulaire provocante d'éventuelles altérations supplémentaires de l'ADN ▪ Il ne peut pas détecter les effets aneugènes qui peuvent être un mécanisme possible de la cancérogénicité |

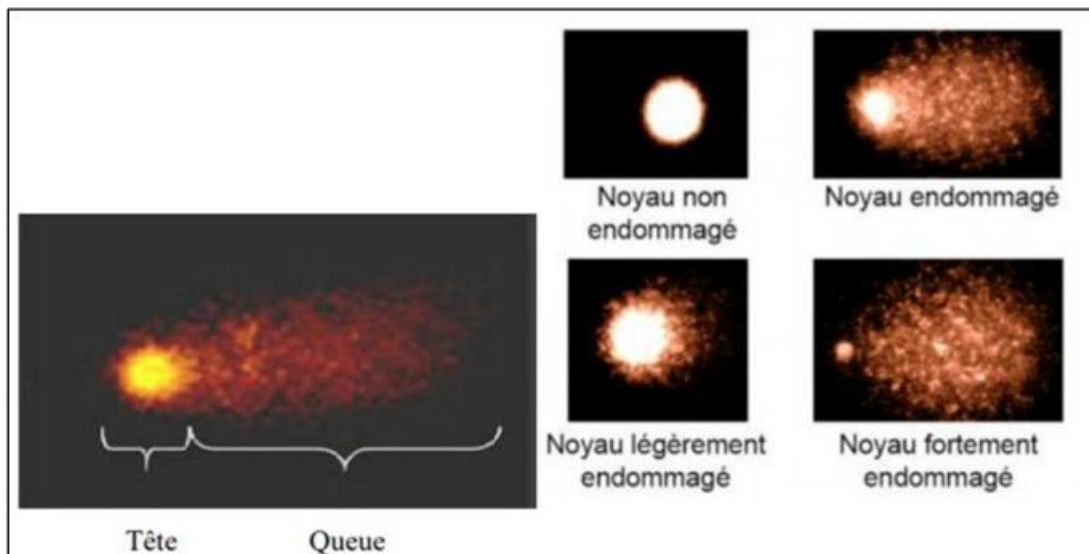


Figure 9 : Micro Photographies de noyaux endommagés et non endommagés (Michel, 2011).

I.4.3. Test de micronoyau

Le test des micronoyaux (MN) a été proposé par Countryman et Heddle (1976). En 1980, Mac Gregor *et al*, ont rapporté une méthode pour détecter les micronoyaux dans les érythrocytes périphériques de souris. Le test MN s'agit d'un test adapté à la mise en évidence de remaniements génomiques consécutifs à des cassures chromosomiques ou à des altérations des protéines se traduisant par des anomalies chromosomiques quantitatives. Son protocole aisé, son interprétation non ambiguë et son coût modéré expliquent l'utilisation sans cesse croissante de ce test qui, de surcroît, est particulièrement indiqué dans la détermination des événements aneugènes et clastogènes (Darolles, 2010). Le principe du test des micronoyaux consiste à mettre en évidence des anomalies chromosomiques de nombre et/ou de structure par la détermination et le dénombrement, au sein d'une population cellulaire en interphase, de cellules présentant une ou plusieurs entités nucléaires indépendantes du noyau principal (Figure 10). Il a été validé quant à sa capacité à détecter les effets de faibles doses de rayonnements ionisants. Ce test appliqué dans des études *in vitro* a pour but de détecter la génotoxicité d'un agent physique ou chimique ; dans ce cadre, l'agent à tester est incorporé au cours de la division cellulaire générant un micronoyau. Le test de micronoyau utilisé dans nombreuses études de biosurveillance, notamment auprès de populations exposées aux rayonnements ionisants au niveau environnemental ou professionnel (Darolles, 2010).

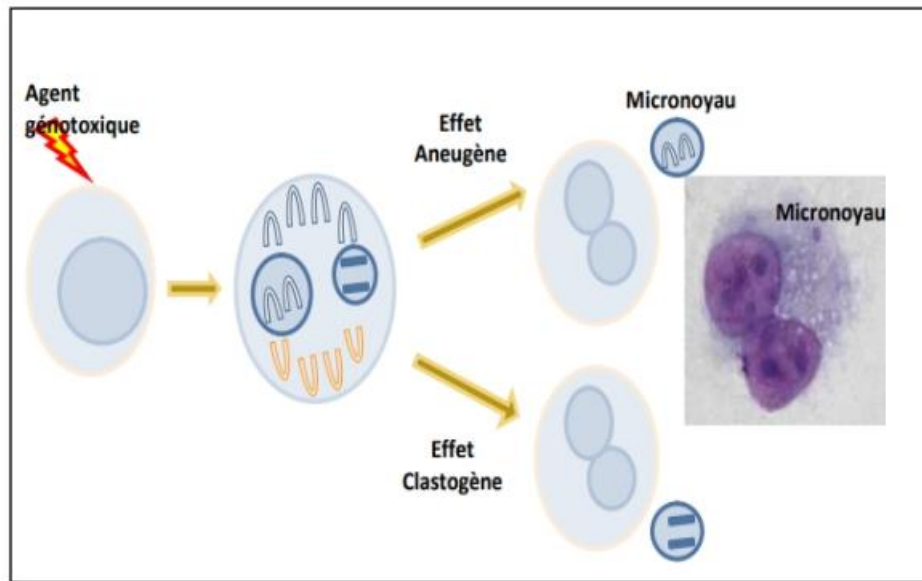


Figure 10: Principe du test des micronoyaux : lésion chromosomique au cours de la mitose après exposition de cellules somatiques à un agent génotoxique (Berthelot et *al.*, 2013).

Tableau 3 : Les avantages et les inconvénients de test des micronoyaux (Pillière et *al.*, 1991 ; Darolles, 2010).

| Les avantages | Les inconvénients |
|---|--|
| <ul style="list-style-type: none"> • Rapide et simple avec un comptage relativement facile. • Permet de comptabiliser les cellules en apoptose, en nécrose ainsi que les ponts nucléo plasmiques et les bourgeons nucléaires. • Sa puissance statistique est bonne en raison du grand nombre de cellules comptées. | <ul style="list-style-type: none"> • Ne permet pas de détecter toutes les anomalies chromosomiques de structure (seuls les fragments acentromériques sont mis en évidence). • Applicable seulement à des cellules qui se divisent. • Des résultats variables en raison de facteurs de confusion, tels le tabac (augmente le nombre de MN), ou les médicaments comme les rétinoïdes (diminuent). Aussi des différences de qualité dans les protocoles de préparations. |

I.4.4. Test d'Aberrations chromosomiques (AC)

En 1985, Fiskesjo a proposé l'analyse des différents types d'AC, à toutes les phases du cycle cellulaire, en 1993, Rank et Nielsen, ont proposé l'analyse des anomalies uniquement en anaphase et en télophase. Plus tard, en 2003, ils ont publié une autre étude décrivant le test *Allium* également basé sur l'analyse (AC) dans les anaphases et les télophases. Les aberrations chromosomiques sont caractérisées par des modifications de la structure ou le nombre total de chromosomes, qui peuvent survenir à la fois spontanément et à la suite d'une exposition à des agents physiques ou chimiques. Des altérations chromosomiques structurelles peuvent être induites par plusieurs facteurs, tels que les ruptures d'ADN, l'inhibition de la synthèse de l'ADN et la réplication de l'ADN modifié. Les aberrations chromosomiques peuvent être chromatiniennes (échanges, cassures...) ou chromosomiques (affectant les deux chromatides du chromosome: fragments acentriques, dicentriques, translocations) (Figure 11) (Ortega, 2004). Après mise en culture des lymphocytes pendant 48 heures, les cellules sont bloquées en métaphase par la colchicine. Les cellules, éclatées avec une solution hypotonique, sont ensuite fixées puis colorées. Des anomalies du nombre ou de la structure des chromosomes sont alors observées au microscope optique. Ces aberrations sont le résultat de cassures suivies de réarrangements anormaux du chromosome entier. Les milieux biologiques les plus utilisés sont les lymphocytes sanguins périphériques (Pillière et *al.*, 1991).

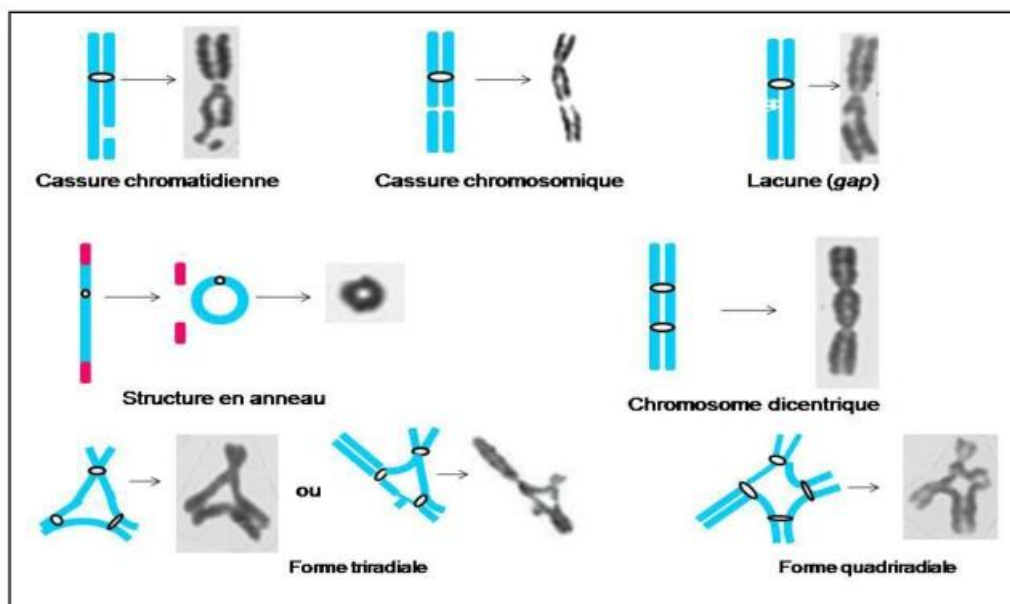


Figure 11: Quelques exemples d'aberrations chromosomiques (Czub et *al.*, 2009).

Tableau 4 : Les avantages et les inconvénients de tes d'aberrations chromosomiques (Pillière et *al.*, 1991 ; Sram et *al.*, 2007).

| Les avantages | Les inconvénients |
|--|---|
| <ul style="list-style-type: none"> • la détection de tout type d'atteinte chromosomique. Il comporte une approche cellule par cellule, ce qui permet par conséquent d'avoir un grand nombre de données et donc un traitement statistique performant des résultats. • Plus informative sur la nature des lésions que le test des micronoyaux. | <ul style="list-style-type: none"> • L'absence de signification précise de ces lésions, en termes de risque de cancer, rend l'interprétation de ce test délicate. • Il est lourd et fastidieux à réaliser. (nécessite une connaissance précise des phases de division cellulaire et de leurs éventuelles anomalies). • L'analyse du nombre d'aberrations chromosomiques instables dans les lymphocytes du sang périphérique. |

Chapitre II

*La génotoxicité des
anticancéreux*

II.1. Généralité sur les anticancéreux

Le cancer est une maladie caractérisée par une croissance et une propagation incontrôlées de cellules anormales. Les moyens thérapeutiques disponibles pour le traitement du cancer, sont la chirurgie, la radiothérapie, la chimiothérapie, l'hormonothérapie, la greffe de moelle osseuse ou de cellules souches et plus récemment les thérapeutiques ciblées (Gascon, 2015). La chimiothérapie est le traitement du cancer par les substances chimiques, médicaments (doxorubicine), extraits de végétaux ou produits en laboratoire par synthèse. La caractéristique de ces composés est qu'ils sont délétères pour les cellules cancéreuses, d'où leur appellation de cytotoxiques. Ils bloquent la reproduction et la division des cellules et entraînent leur mort. A ces cytotoxiques s'ajoute depuis quelques années la famille des thérapies ciblées. Elles ciblent des voies intracellulaires propres au développement tumoral (Tubiana et *al.*, 2011).

II.2. Classification des anticancéreux

La classification des agents anticancéreux est basée sur leur mécanisme d'action.

II.2.1. Les médicaments ayant une action directe sur l'ADN

Ces produits vont agir directement sur l'ADN ou les protéines qui y sont associées en s'incorporant entre les brins de l'ADN pour y induire des cassures ou en affectant l'activité de l'ADN polymérase. Ils sont divisés en 4 catégories : les inhibiteurs des topoisomérases (tableau 06), les agents alkylants, les agents intercalants et les agents scindants (Vincent, 2001) (Tableau 05).

II.2.1.1 Les agents alkylants et les agents intercalants

II.2.1.1.1. Les agents alkylants : Les agents d'alkylation ont été les premiers composés identifiés comme étant utiles dans le cancer, qui modifient la structure ou la fonction de l'ADN. Le site d'alkylation le plus courant est la position N-7 de la guanine, mais elle varie en fonction de la famille de médicament (Hurley, 2002).

II.2.1.1.2. Les agents intercalants : Les médicaments intercalants ont une structure plane pouvant s'intercaler entre les deux brins d'ADN. Ils se placent dans les sillons de l'ADN et forment un complexe trimérique entre le médicament, l'ADN et la topoisomérase de type II (enzyme responsable de la cassure bi-caténaire de l'ADN nécessaire à la transcription). Cette formation entraîne un blocage de la transcription et de la réplication de l'ADN (Faure, 2010).

Tableau 05 : Interactions directes avec l'ADN (Durand et Le jeune, 2015).

| Agents intercalant | | Agents alkylants | |
|---|---------------------------|---|--|
| Anthracyclines | Anthracènediones | Moutardesa à l'azote | Nitroso-urees |
| Daunorubicine(DCI) Cérubidine® DoxorubicineAdriblastine®, Caelyx® EpirubicineFarmorubicine® | Bléomycine Bléomycine® | Cyclophosphamide Endoxan® Ifosfamide Holoxan® Melphalan Alkeran® | Carmustine Bicnu® Fotémustine Muphoran® |

II.2.1.2 Les inhibiteurs des topoisomérase I et II

Les inhibiteurs des topoisomérases permettent de bloquer l'activité de ces enzymes, de stabiliser des coupures transitoires de l'ADN créées entraînant une coupure définitive des brins d'ADN et une inhibition de la réplication. Ces anticancéreux vont bloquer les cellules au moment où elles synthétisent de l'ADN, c'est à dire en phase S (Tableau 06) (Faure, 2010).

Tableau 06 : Les inhibiteurs des topoisomérases (Durand et jeune, 2015).

| Les inhibiteurs des topoisomérase I | | Les inhibiteurs des topoisomérase II | |
|-------------------------------------|-----------|--------------------------------------|--------------------|
| Irinotécan | Campto® | Etoposide | Celltop® Vépéside® |
| Topotécan | Hycamtin® | | |

II.2.2 Interactions indirectes avec l'ADN

II.2.2 .1 Les médicaments ayant une action en « amont » du matériel génétique :

Ils affectent le métabolisme des nucléosides. Ce sont des analogues structuraux des bases nucléiques ou faux substrats qui vont s'incorporer dans l'ADN à la place des bases puriques (adénine, guanine) ou pyrimidiques (thymine, cytosine, uracile), ou inhiber des voies métaboliques qui participent à la biosynthèse de ces bases (inhibition de la synthèse d'acide folique par les antifoliques) (Tableau 07) (Vincent, 2001).

Tableau 07 : Les médicaments ayant une action en « amont » du matériel génétique : (Durand et Le jeune, 2015).

| Les médicaments ayant une activité en amont en empêchant la synthèse de l'ADN | | |
|---|--|--|
| Les hydroxyurées | Les analogues nucléosidiques | Les antagonistes foliques ou antifolates |
| Hydroxycarbamide Hydréa®, Skilos® | Pentostatine Nipent® Clofarabine Evoltra® | Méthotrexate Methotrexate® Raltitrexed Tomudex® |

II.2.2.2 Les médicaments ayant une action en « aval » du matériel génétique : Les antimitotiques ou poisons du fuseau mitotique

Ces médicaments affectent le fonctionnement des protéines notamment des microtubules constituant le fuseau mitotique. Ils bloquent les cellules en métaphase de la phase M (méthaphase) de la division cellulaire (Tableau 08) (Vincent, 2001).

Tableau 08 : Les médicaments ayant une action en « aval » du matériel génétique (Durand et Le jeune, 2015).

| Poisons du fuseau mitotique | | | |
|-----------------------------|------------|-------------|----------------|
| Alcaloïdes de la pervenche | | Les taxanes | |
| Vinblastine | Velbé® | Paclitaxel | Taxol® Paxène® |
| Vincristine | Oncovin® | Docétaxel | Taxotère® |
| Vinorelbine | Navelbine® | Cabazitaxel | Jevtana® |

II.3. La doxorubicine

II.3.1. Définition

La doxorubicine (DOX), appartenant à la famille des anthracyclines, est l'un des agents chimiothérapeutiques le plus efficace utilisé dans le traitement d'une variété de tumeurs solides et hématologiques malignes. Elle est produite tout naturellement par des actinobactéries de genre *Streptomyces*. Elle a été isolée pour la première fois en 1960 et approuvée par la Food and Drug Administration en 1974 (Judson et al., 2014).

II.3.2. Structure chimique

La doxorubicine, connue sous le nom d'Adriamycine® ou Rubex®, est un antibiotique anthracycline (Figure 12). Elle se compose d'un noyau de naphth acènequinone et de daunosamine, un sucre aminé. La doxorubicine possède des régions hydrophiles et hydrophobes, ce qui lui permet de se lier aux protéines plasmatiques ainsi qu'aux membranes cellulaires. La doxorubicine est également amphotère; en ayant à la fois des fonctions acides et basiques. Ce sont ces caractéristiques qui font de la doxorubicine un composé polyvalent, lui permettant de pénétrer dans divers compartiments cellulaires (Chen et *al.*, 2007).

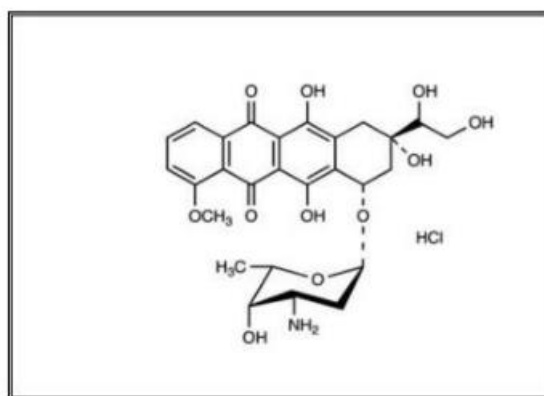


Figure 12: Structure chimique de la doxorubicine (Chen et *al.*, 2007).

II.4. Pharmacocinétique de la doxorubicine

II.4.1. Administration et absorption

La DXO est administrée par voie intraveineuse et parfois par voie intravésicale dans les cas de cancers de la vessie (Pfizer, 2012). Pour les études *in vivo* réalisées chez les rongeurs, elle est plutôt administrée par voie intraveineuse ou intrapéritonéale. L'hydrophobicité de la doxorubicine associée à sa nature de base faible non chargée lui permet de diffuser passivement à travers la membrane plasmique par un mouvement de flip-flop du feuillet externe au feuillet interne (Ahmed et *al.*, 2013; Attia et *al.*, 2010).

II.4.2. Distribution

Ce médicament est rapidement distribué aux divers tissus du corps où il est concentré dans les noyaux des cellules, la concentration est élevée dans le foie et le cœur, les poumons, les reins, la rate et l'intestin grêle, et faible dans le cerveau, aussi la demi-vie de distribution initiale d'environ 5 minutes et ne traverse pas la barrière hémato-encéphalique (Mross et *al.*, 2007; Berthiaume et Wallace, 2007)

II.4.3. Métabolisme

Après son administration, la DXO subit un métabolisme rapide dans le foie (Riddick et *al.*, 2005) et peut former 2 métabolites de dégradation, dont l'un métabolite aglycone appelé aglydoxorubicine et un métabolite alcool secondaire. Ces deux métabolites actifs jouent également un rôle dans la cardiotoxicité induite par les anthracyclines (Forrest et *al.*, 2000).

II.4.4. Elimination

L'élimination de la DOX est triphasique (demi-vie est de 5 min, 1 h et 24-48 h) et sa clairance plasmatique est comprise entre 324-809 ml/min/m². et elle est éliminée majoritairement par voie biliaire dans les selles et dans les urines (Pethran et *al.*, 2003; Pieri et *al.*, 2010).

II.5. Mécanisme d'action

La DXO possède les principaux mécanismes d'action suivants :

II.5.1. Interaction dans la molécule d'ADN

La DOX s'insère entre deux paires de bases azotées, modifiant ainsi la structure de l'ADN (Tsao, 2010). Ce changement conduit à entraver la corrélation enzymatique, les enzymes de réplication de l'ADN polymérase, des enzymes de clonage ARN polymérase, les enzymes de réparation de l'ADN, et inhibe ainsi les processus de réplication (Kocahan et *al.*, 2017).

II.5.2. Interaction avec l'enzyme topo-isomérase II

La topoisomérase de classe II est un enzyme nucléaire chargée de réguler les conversions topologiques de l'ADN pour permettre le bon fonctionnement nucléaire lors de la transcription, la réplication, la suppression des recombinaisons, la ségrégation et la condensation des chromosomes pendant la mitose et probablement la méiose (Rao, 2013). La topoisomérase crée un complexe avec l'ADN « le complexe de clivage » et induit des coupures transitoires doubles brins pour relaxer sa structure afin d'assurer ces activités cellulaires (Rao, 2013). Et ensuite relier les extrémités libres des brins coupés pour la restitution de la structure tridimensionnelle de l'ADN (Minotti, 2004).

La doxorubicine implique un empoisonnement à la TOPII, entraînant des cassures de l'ADN double brin et la mort cellulaire par la formation de complexe DOX-ADN-TOPII, qui inhibe l'enzyme topo-isomérase II ce qui conduit à la mort cellulaire (Forrest et *al.*, 2012). Ceci stabilise la réaction intermédiaire où l'ADN est clivé double-brin et bloquant la synthèse de l'ADN, ceci conduit à la formation de complexes entre la DXO et le formaldéhyde, ce qui forme un adduit à

l'ADN qui empêchant les hélicases de séparer les brins d'ADN au moment de la réplication, ces effets au niveau de l'ADN mènent à l'activation de P53, puis à l'apoptose des cellules cancéreuses (Forrest et *al.*, 2012).

II.5.3. Formation des radicaux libres

Le stress oxydatif peut être produit par deux voies différentes, soit en présence d'enzymes capables de réduire la molécule, soit par son association avec des atomes de fer (Delemasure et *al.*, 2006). La voie de la réduction par les flavines réductases placées au niveau de la membrane mitochondriale, les anthracyclines ont une structure de type quinone pouvant subir une réduction par les flavines réductases (cytochrome P450 réductase, NADH déshydrogénase), pour aboutir à la formation d'un dérivé semi-quinone radicalaire et induire une production accrue de RLO (Olson et Mushlin., 1990). La voie non enzymatique par la réaction d'Haber-Weiss avec liaison du cation Fe^{3+} avec trois molécules de doxorubicine puis réduction du Fe^{3+} en Fe^{2+} avec transfert d'électrons. Cette voie fait intervenir la formation d'un complexe entre les anthracyclines et le fer (Minotti et *al.*, 1999).

II.6. Effets secondaires majeurs de traitement à la doxorubicine

II.6.1. Stress oxydatif

En 1991, Sies a défini la notion de stress oxydant comme l'incapacité de l'organisme à se défendre contre l'agression des espèces oxygénées activées, suite à un déséquilibre lié soit à une production accrue d'ERO soit à une diminution de la capacité de défense antioxydante, ou encore par une association de ces deux phénomènes. (Gardès-Albert et *al.*, 2003).

II.6.1.1. induction des espèces réactives de l'oxygène par la doxorubicine

La doxorubicine peut également provoquer une production importante de EROs ce qui entraîne l'oxydation de divers types de macromolécules (Mukhopadhyay, 2009). La réduction de DOX par le NAD(P) H oxydase pour former une hydroquinone oxydase aboutit à la production de radicaux superoxydes ($O_2^{\bullet-}$). La dismutation du $O_2^{\bullet-}$ conduit à la formation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), cette réaction peut être catalysée par la SOD (Stërba, 2013). Le H_2O_2 est une molécule stable qui peut être éliminée par la catalase ou la glutathione peroxydase. Cependant, l'ion superoxyde et le H_2O_2 peuvent générer des radicaux hydroxyles, très réactifs et très toxiques par la réaction d'Haber-Weiss. Cette réaction, lente, peut être catalysée par certains métaux et plus particulièrement le fer (Migdal et Serres, 2011). Le deuxième mécanisme d'induction de stress oxydant implique la formation de complexes Dox-Fer. En effet, le complexe Dox- Fe^{3+} peut être

réduit notamment par la NADH cytochrome P450 réductase en Dox-Fe²⁺ qui peut réagir avec l'oxygène et former du O₂^{•-}. Sa dismutation entraîne la production d'H₂O₂ qui formera des radicaux hydroxyles par la réaction d'Haber-Weiss (figure13) (Simunek et al., 2009).

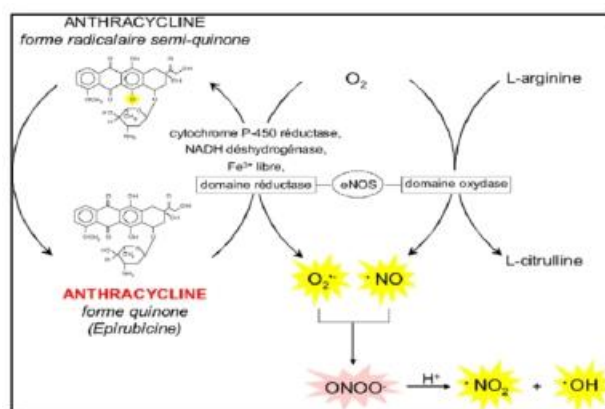


Figure 13: Production des radicaux libres par réaction enzymatique d'oxydoréduction de la fonction quinone des anthracyclines (Delemas et al., 2006).

II.6.1.2. Les effets cellulaires des espèces réactives de l'oxygène

Les ERO peuvent interagir avec des protéines, de l'ADN, des lipoprotéines et des acides gras polyinsaturés pour former des dérivés oxydés.

II.6.1.2.1. Dommages de l'ADN

L'ADN est une cible privilégiée pour les ERO qui peuvent réagir avec la guanine, base constitutive de l'ADN, pour la transformer en 8-hydroxy-2' deoxyguanosine (8-OH2DG), qui se couple normalement avec la cytosine, s'associera avec l'adénine, entraînant des mutations guanosine-thymine dans le brin fille de l'ADN et conduisant à des altérations du message génétique qui est capable d'induire des mutations spécifiques pouvant conduire au développement du cancer (Haleng et al., 2007).

II.6.1.2.2. Cardiotoxicité

Au niveau cellulaire, les mécanismes moléculaires de survenue des cardiomyopathies ne sont pas encore totalement élucidés. Les plus connus sont ceux liés aux anthracyclines et aux agents alkylants pour lesquels les premières altérations sont des altérations du métabolisme énergétique, avec une diminution de la production et/ou une augmentation de la consommation d'ATP.

Récemment, un nouveau mécanisme de cardiotoxicité des anthracyclines a été évoqué (Figure 14). Il existe deux isoformes de topoisomérases II chez les mammifères, la topoisomérase

II α et II β . Les anthracyclines sont décrites pour interagir avec la topoisomérase II α , exprimée dans les cellules à fort taux de réplication. L'isoforme II β ne serait pas exprimée dans ces cellules mais serait présente dans les cellules cardiaques. Il semblerait que les anthracyclines en interagissant avec l'isoforme II β au sein des cellules cardiaques diminueraient l'expression de calcium ATPase du réticulum sarcoplasmique conduisant ainsi à une diminution de la contractilité des cardiomyocytes (Lyu *et al.*, 2007).

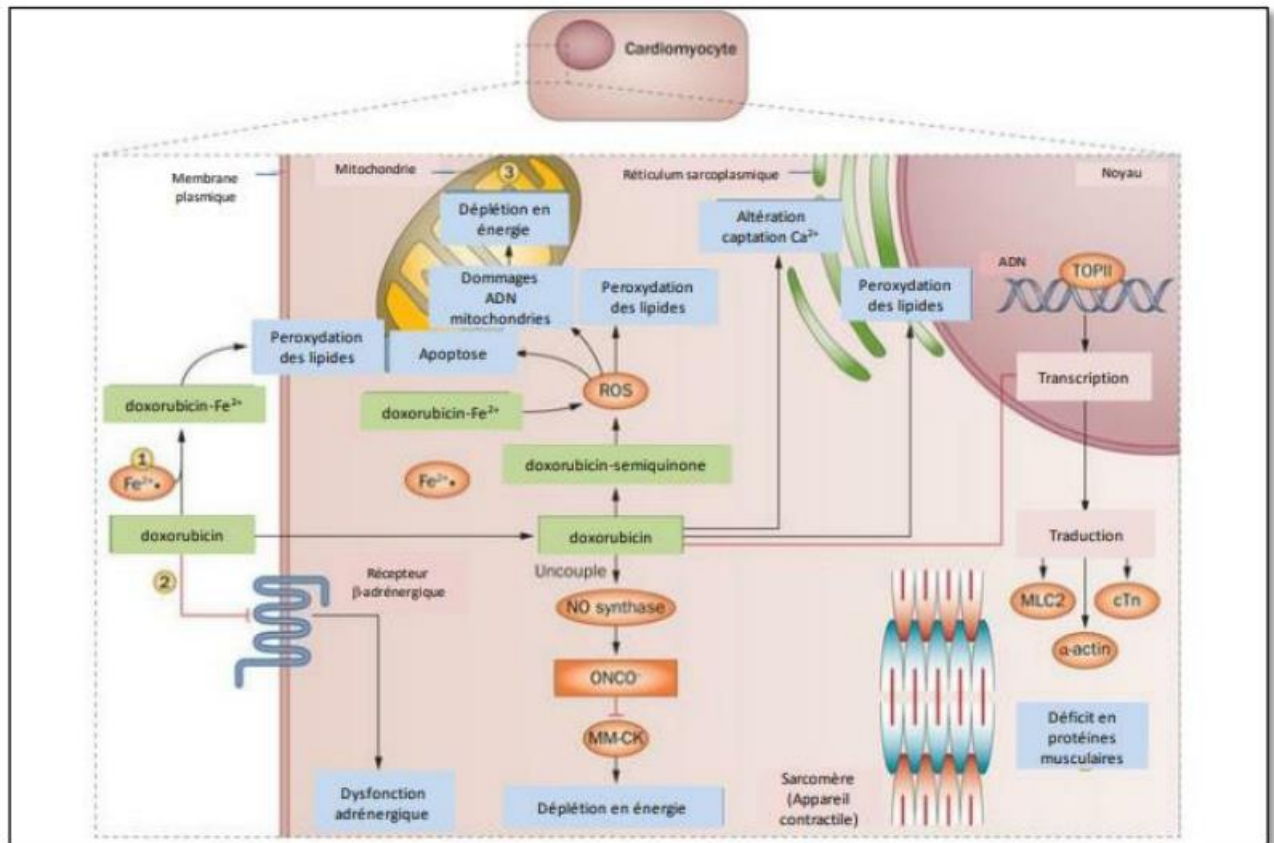


Figure 14 : Mécanismes de cardiotoxicité méditée par la doxorubine (Lipshultz *et al.*, 2013).

II.6.2. Effets génotoxiques

L'un des mécanismes fondamentaux qui assure l'activité de la DOX est l'induction des dommages irréversibles à l'ADN par l'intermédiaire de la Topo-II. Elles sont des enzymes présentes dans pratiquement tous les types de cellules et sont essentielles pour désenchevêtrer l'ADN chromosomique. Elles modulent la topologie de l'ADN sans altérer ni l'architecture, ni la disposition des bases et induisent temporairement des cassures simple-brin (Topo-I) ou double brin (Topo-II) qui sont refermées après avoir changé la torsion de la double hélice. (Binaschi *et al.*, 2011). A des doses thérapeutiques, la DOX piège la Topo-II lors de la réplication de l'ADN et empêche l'association des deux brins de la double hélice (Nitiss, 2009). La DOX peut également

déstabiliser les complexes Topo-II-ADN double brin, de telle sorte que les brins seront découpés et liés de manière covalente à des résidus tyrosine de la TOP-II, inhibant ainsi la synthèse de l'ADN et induisant de nombreuses cassures nucléaires (Thorn et *al.*, 2011).

II.7. Autre effets

II.7.1. Hépatotoxicité induite par la doxorubicine

Le foie reçoit, accumule et métabolise des concentrations élevées de DOX, il est donc probable que le foie soit l'un des organes les plus affectés par la DOX (Greupink et *al.*, 2006). Ce dernier provoque une augmentation de la production de ROS par différentes manières, la plus courante se produisant lorsque la forme semi-quinone de DOX réagit avec O₂ produisant de l'O₂ et H₂O₂, une autre manière grâce aux NADPH oxydases ce qui peut conduire à une activation de NF-κB qui conduit à l'expression de cytokines pro-inflammatoires aboutissant à la mort cellulaire (Kassner et *al.*, 2008) on assiste à des changements pathologiques dans les hépatocytes (Kalenderael *al.*, 2005; Zeidan et *al.*, 2002).

II.7.2. Néphrotoxicité induite par la doxorubicine

En plus d'éliminer les déchets, le rein élimine également les composants normaux du sang qui sont présents dans concentrations supérieures à la normale. La DOX augmente les mutations d'ADNmt, ce qui pourrait résulter d'une inhibition des topo II et d'une augmentation du stress oxydatif (Lebrecht et *al.*, 2004). La peroxydation lipidique et la réduction des niveaux naturels d'antioxydants (vitamine E et GSH) et pourrait être la raison des néphropathies induites par DOX conduisant à un épaissement de la capsule de Bowman, à la présence de plâtres tubulaires multifocaux et à l'adhésion de la touffe glomérulaire à la capsule de Bowman (Park et *al.*, 2003). Selon Rook et al. L'enzyme de conversion de l'angiotensine tissulaire (ECA) est également impliquée dans les lésions des tissus rénaux induites par le traitement à la DOX (Rook et *al.*, 2005).

Chapitre III
Les flavonoïdes

III.1. Généralité sur les flavonoïdes

Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (Harbone, 1993). Ils sont les composés les plus abondants parmi tous les composés phénoliques. Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux. Ils interviennent dans les processus de défense contre les rayonnements UV, les herbivores et les attaques microbiennes (Bruneton, 2015). Ils constituent un groupe de plus de 6000 composés naturels du règne végétal (Ghedira, 2005). Ils sont caractérisés par la présence d'une structure phénolique dans leur molécule, et même d'une structure flavone ce qui les distingue des autres polyphénols (Toufektsian et *al.*, 2008).

III.2. Structure chimique

Les flavonoïdes ont en commun la structure en C6-C3-C6 du diphenylpropane. Ils possèdent un squelette de base à 15 atomes de carbone constitué de deux cycles phényles, les trois carbones servant de jonction entre les deux noyaux benzéniques notés A et B forment généralement un hétérocycle oxygéné C (Figure 15) (Rijke et *al.*, 2006).

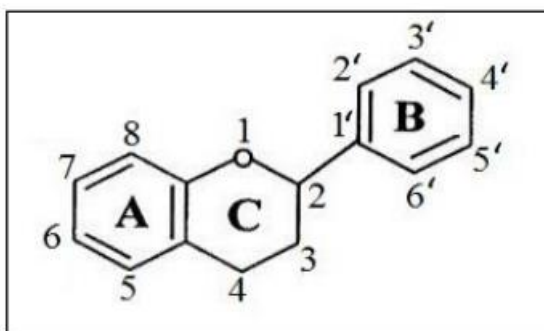


Figure 15 : Squelette de base des flavonoïdes (Ghedira, 2005).

III.3. Classification

Les flavonoïdes sont constitués de deux cycles aromatiques liés par trois atomes de carbone qui peuvent se lier en formant un cycle oxygéné. Selon le degré d'oxydation, les flavonoïdes sont classés en principaux groupes qui peuvent être définis et différenciés comme suit (Figure 16) :

III.3.1. Flavonols

Les flavonols sont des composés flavonoïdes largement répandus. Ils sont largement distribués dans les plantes et présents en quantités considérables dans les fruits et légumes. En plus

de leur effet antioxydant, les flavonols interfèrent avec un grand nombre de voies de signalisation biochimiques et par conséquent, des processus physiologiques et pathologique (Perez et *al.*, 2010).

III.3.2. Flavones

Les flavones sont structurellement très proches des flavonols. Ils se présentent principalement sous forme de glucosides. Ils ont des activités physiologiques remarquables, notamment des propriétés antimicrobiennes et antivirales (Stafford, 1990 ; Chira et *al.*, 2008).

III.3.3. Flavanones

Les flavanones (dihydroflavones) sont associés à un certain nombre d'avantages pour la santé en raison de leurs propriétés anti-radicalaire. Ces composés sont responsables de goût amer du jus et le zeste d'agrumes. Ils ont l'anneau C saturé contrairement aux flavones. C'est la seule différence structurelle entre les deux sous-groupes de flavonoïdes (Iwashina, 2013).

III.3.4. Isoflavonoïdes

Les isoflavonoïdes sont un grand sous-groupe très distinctif de flavonoïdes. Certains d'entre eux ont également signalés comme étant présent dans les microbes (Matthies et *al.*, 2008). Ils jouent également un rôle important en tant que précurseurs du développement des phytoalexines lors des interactions entre les microbes des plantes (Aoki, 2000 ; Dixon, 2002).

III.3.5. Anthocyanes

Les anthocyanes sont des métabolites secondaires de la famille des flavonoïdes, produits par les angiospermes. Ce sont des pigments colorés responsables de la pigmentation des fleurs, des fruits et des grains, mais aussi jouent un rôle important dans la physiologie végétale comme attracteurs des insectes dans la dispersion des grains (Samouelian et *al.*, 2009).

III.3.6. Chalcones

Les chalcones sont une sous-classe de flavonoïdes. Ils sont caractérisés par l'absence de «cycle C» de la structure des flavonoïdes. Ils peuvent également être appelés flavonoïdes à chaîne ouverte (Findik et *al.*, 2009 ; Mai et *al.*, 2014). Différentes propriétés biologiques des chalcones ont été signalées, y compris l'activité antibactérienne, antifongique, antinociceptive, anti-inflammatoire, antiangiogénique, anticancéreuse et antioxydante (Jantan et *al.*, 2014 ; Ma et *al.*, 2016 ; Eichenberger et *al.*, 2017).

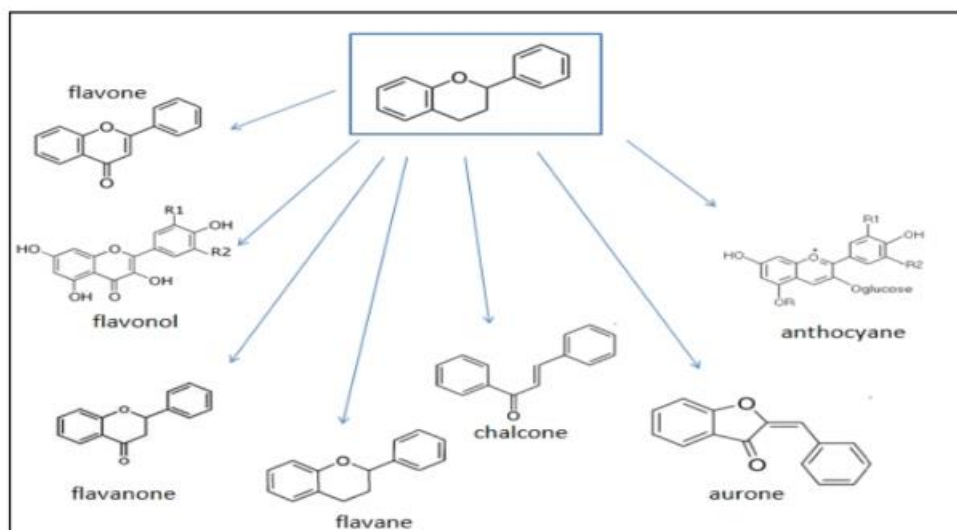


Figure 16: Différents types de flavonoïdes à partir de l'élément structural de base (Kumar et Pandey, 2013).

III.4. Localisation

Les flavonoïdes sont des constituants caractéristiques des plantes vertes. Ils se répartissent dans toutes les parties de la plante comme les feuilles, les racines, les tiges, les fleurs, les graines et l'écorce. Ils prédominent surtout au niveau des organes aériens jeunes comme les jeunes feuilles et les boutons floraux (Benavente-Garcia *et al.*, 1997). Ils se trouvent en quantité importante dans les aliments d'origine végétale ainsi que dans les boissons (Tableau 9). Cette présence est en grande partie influencée par des facteurs génériques et des conditions environnementales (Lugasi *et al.*, 2003).

Tableau 9: Sources alimentaires des flavonoïdes (Havesteen, 2002).

| Flavonoïdes | Aliments |
|--|--|
| Flavones, Chrysin, Apigénine, Lutéoline | Peau des fruits, Persil, Thym, Romarin, Céleri, Persil |
| Flavanones, Naringénine | Fruits du genre citrus |
| Flavanols, Kaempférol, Quercétine, Myricétine | Radis, Brocoli, Thé noir, Oignon, Pomme, Olive, Tomate, Canneberge |
| Isoflavones, Génistéine, Daidzéine | Soja, Haricots verts, Haricots noirs et Pois |
| Flavan-3-ols, Epicatéchine, Catéchine | Thé noir, Thé vert, Cassis, Myrtilles |
| Anthocyanidols, Cyanidol, Malvidol, Apigénidol | Raisins, Fraises, Cassis, Framboises |

III.5. Biosynthèse

La biosynthèse des différents groupes de flavonoïdes implique un ensemble complexe de réactions comprenant des hydroxylations, méthylations, oxydations, réductions, glycosilations (Sarmi et Cheymer, 2006). La première étape de la biosynthèse de la plupart des flavonoïdes est la condensation d'un p-coumaroyl- Molécule de CoA (dérivée du shikimate, anneau B) avec trois molécules de malonyl-CoA (polycétide origine, un cycle) pour donner du chalcone (2', 4', 6', 4-tétrahydroxychalcone). Cette réaction est effectuée par l'enzyme chalconesynthase (CHS) (Alzand *et al.*, 2012). Bien que la voie centrale de la biosynthèse des flavonoïdes ait été conservée chez les plantes, sur l'espèce, un groupe d'enzymes, telles que les isoméras, les réductases, les hydroxylases, modifie le squelette flavonoïde de base (Figure 17), conduisant aux différentes classes de flavonoïdes (Martens *et al.*, 2010 ; Mierziak *et al.*, 2014). La majorité des flavonoïdes sont présents sous forme de glycosides dans des conditions naturelles (Martens *et al.*, 2010).

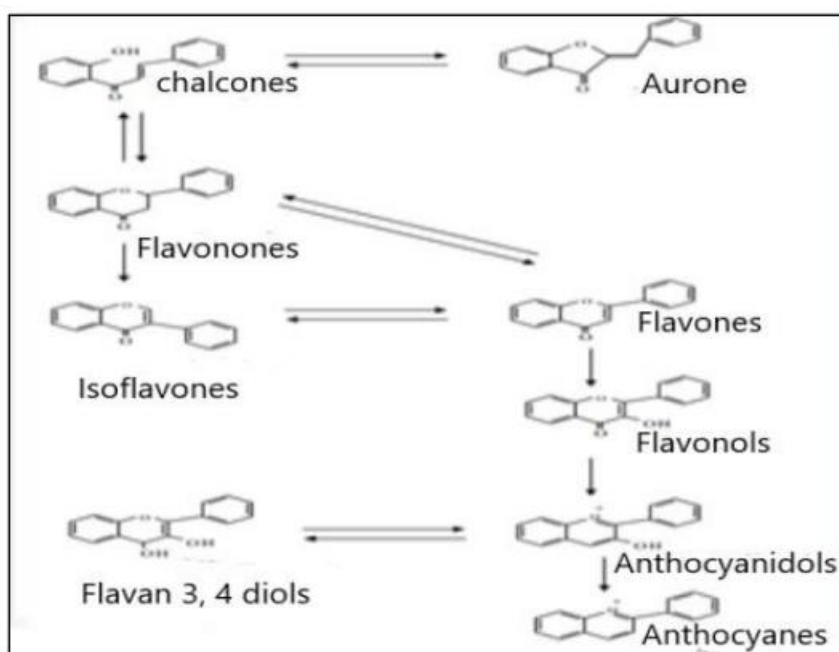


Figure 17: La biosynthèse de différentes classes de flavonoïdes (Morreel *et al.*, 2006).

III.6. Activités biologiques des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des métabolites synthétisés en grande quantité par les plantes. Ils représentent un système de défense contre les microorganismes pathogènes (Bruneton, 2009). De même, protègent les plantes contre les radiations UV en absorbant à la fois ces radiations et en neutralisant les espèces réactives de l'oxygène formées (Shirley, 1996). De nos jours, les propriétés

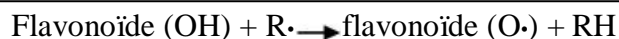
des flavonoïdes sont largement étudiées dans le domaine médical où on peut citer des propriétés antioxydantes, anticancéreuses et génotectrices.

III.6.1. Activité antioxydante

Un antioxydant est une substance capable de prévenir ou de ralentir l'oxydation d'autres molécules (Flora, 2009). Les flavonoïdes sont révélés jouer un rôle important sur la santé humaine en raison de leurs propriétés antioxydantes (Cook et *al.*, 1996 ; Bungau et *al.*, 2019). Ces dernières années, une importance particulière a été accordée aux propriétés antioxydantes des flavonoïdes, qui seraient attribuées à leur capacité à piéger directement les radicaux libres et l'inhibition des enzymes et la chélation des traces métalliques responsables de la production des ROS (Wang et *al.*, 2006 ; Liyana et *al.*, 2006).

III.6.1.1. Piégeage des radicaux libres

Les flavonoïdes peuvent prévenir les blessures causées par les radicaux libres et stabilisent les espèces réactives de l'oxygène en réagissant avec le composé réactif du radical. En raison de la forte réactivité du groupe hydroxyle des flavonoïdes, les radicaux sont rendus inactifs, selon l'équation suivante (Nijveldt et *al.*, 2001):



Où: (R·) est un radical libre et (O·) est un radical libre d'oxygène.

Le radical flavonoxy (FL-O*) peut réagir avec un autre radical pour former une structure quinone stable (Figure 18). 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. La capacité antioxydante des flavonoïdes dépend non seulement du potentiel redox du couple Flavonoïde-O· / Flavonoïde-OH mais aussi de la réactivité du radical flavonoxy (Middleton, 1998).

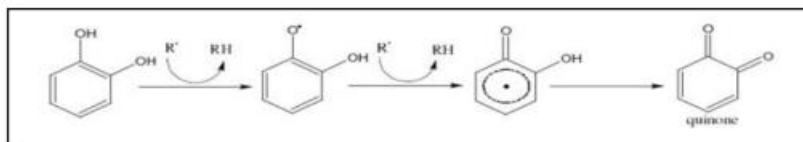


Figure 18 : Piégeage des EOA (R·) par les flavonoïdes (Jovanovic et *al.*, 1994).

III. 6.1.2. Inhibition enzymatique et Chélation des ions métalliques

De nombreuses études ont montré que les flavonoïdes sont des bons inhibiteurs d'enzymes responsables de la production des radicaux libres d'une manière directe en inhibant la xanthine oxydase qui est une source biologique importante du radical superoxyde, ou indirecte en inhibant la NADPH-oxydase (Hanasaki et *al.*, 1994 ; Ursini et *al.*, 1994). Les flavonoïdes contribuent à l'inhibition de la formation des radicaux libres par la chélation de métaux de transition tels que le fer (Fe²⁺) et le cuivre (Cu⁺), qui sont essentiels pour certaines fonctions physiologiques. Ils peuvent être des cofacteurs des différentes enzymes du système de défense antioxydant. Mais ils sont aussi responsables de la production du radical hydroxyle par la réduction du peroxyde d'hydrogène selon la réaction suivante (Figure 19) (Morris et *al.*, 1995 ; Brown et *al.*, 1998) :

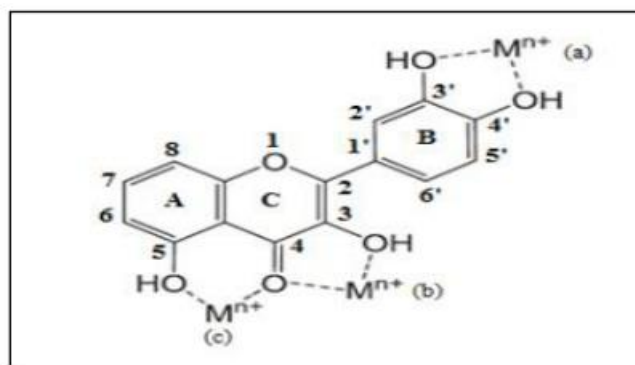


Figure 19: Les sites du flavonoïde proposés pour la chélation des ions métalliques (Mⁿ⁺) : (a) un noyau catéchol sur le cycle B, (b) les groupes 3-hydroxyle et 4-oxo du cycle C, et (c) les groupes 4-oxo et 5-hydroxyle entre les cycles A et C (Pietta, 2000).

Le tableau(10), résumé les types d'activitésantioxydantes des flavonoïdes aussi l'agent prooxydant utilisé dans la réaction.

Tableau 10 : Activité antioxydant de certains types de flavonoïdes.

| Flavonoïdes | Test | activités | Références |
|---|--|---|--------------------------------|
| -Quercétine, Rutine | -Générateur de radicaux hydrophiles 2, 2'-azobis (2-amidinopropane) dichlorhydrate (AAPH) et du générateur de radicaux lipophiles 2, 2'-azobis (2, 4-diméthylvaléronitrile) (AMVN) | -Limitation de la peroxydation des lipides dans les fractions lysosomales. -Activité antioxydante grâce à sa localisation dans les membranes lysosomales | Nakagawa <i>et al.</i> , 2000 |
| -Catéchine, épicatechine, épigallocatechine, épicatechine gallate, myricétine, quercétine, apigénine, kaempférol. | -Initiateur de radicaux azoïques lipophiles 2,2'-azobis (4-méthoxy-2,4-diméthylvaléronitrile) [AMVN-CH3O] | -Inhibition de radical DPPH, inhibition de l'oxydation du LDL. | Hirano <i>et al.</i> , 2001 |
| - <i>Steviarebaudiana</i> (quercétine) | -Radical libre 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) | -Activité antiradicalaire par piégeage du radical libre (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl : DPPH) | Hebi <i>et al.</i> , 2015 |
| - <i>Cleome arabica</i> (acide gallique et en quercétine) | -Radical 1,1-diphényle 2-picrylhydrazyle (DPPH•) et le radical cation 2,2'-azinobis (3-éthylbenzo-thiazo-6-sulfonate) (ABTS•+). | -Activité de piégeage des radicaux libres avec le radical 1,1-diphényle 2-picrylhydrazyle (DPPH•). | Seglab <i>et al.</i> , 2019 |
| -Quercétine, le 7-mono-hydroxyéthylrutoside (monoHER) | -Méthode 2-désoxyribose (DR) (Halliwell <i>et al.</i> , 1987) -Test de peroxydation lipidique (Van <i>et al.</i> , 2001). -Dosage de calcéine | -Inhibition de la peroxydation lipidique. -Piégeage des radicaux hydroxyles, -Chélateur du fer. | Kaiserová <i>et al.</i> , 2008 |

| | | | |
|---|---|--|----------------------------|
| | selon Cabantchik et <i>al.</i> , 1996 | | |
| - <i>Artemisia judaica</i> (apigénine, quercitine et kaempférol) | -Test de peroxydation lipidique(méthode d'Ohkawa et <i>al.</i> , 1997). | -Diminué le taux de peroxydation lipidique de MDA. | Ahmed et <i>al.</i> , 2017 |

III. 6.2. L'activité antigénotoxique

Plusieurs études ont prouvé que la consommation des produits végétaux contenant des flavonoïdes est associée à la réduction de risque de certaines maladies chroniques telle que le cancer (Kris et *al.*, 2002). Lorsque les schémas post-traitement sont utilisés, certains flavonoïdes présentent un effet antigénotoxique, ils sont capables d'induire un mécanisme physiologique de protection cellulaire et d'ADN. Des traitements simultanés peuvent se produire dans les deux sens (Flora, 1998). La quercétine et son dérivé rutine ont été étudiés pour l'activité de génotoxicité / antigénotoxicité chez des cellules d'hépatome humain (HepG2). Ces agents antimutagènes empêchent l'oxydation de l'ADN et induisent également certaines enzymes métabolisantes, qui agissent comme des produits chimiques métaboliques ou des inactivateurs enzymatiques d'agents mutagènes ou inhibent l'activation des promutagènes (Kuroda et *al.*, 1992). Cela suggère que la quercétine et la rutine ont un effet modulateur sur les isoenzymes CYP, qui sont responsables de l'activation d'ABF1 (l'aflatoxine B1). Par conséquent, l'effet protecteur observé dans cette étude pourrait être dû à deux effets: l'inhibition des isoenzymes CYP et également les activités de piégeage des radicaux libres. D'autres études confirment que certains flavonoïdes comme les chalcones peuvent agir comme un antigénotoxique. L'activité antigénotoxique du chalcone est associée à l'inhibition du stress oxydatif causé par DXO. Selon les rapports scientifiques d'expériences, certains chalcones ont le potentiel d'inhiber le stress oxydatif (Padhye et *al.*, 2009 ; Zhong et *al.*, 2015). Les chalcones peuvent être dépourvus de ces effets secondaires en raison de leur flexibilité structurelle, ce qui entraîne des activités chimiopréventive (Das et Manna, 2016).

Le tableau 11 montre certains effets antigénotoxiques des flavonoïdes.

Tableau 11 : Activité antigénotoxique de certains types de flavonoïdes.

| flavonoïde | Agent génotoxique | Action de flavonoïde | Référence |
|--|---|---|------------------------------|
| -Quercétine et Rutine | -Doxorubicine -Aflatoxine B1 -Méthanesulfonate de méthyle | - Inhibition des isoenzymes CYP. - Activités de piégeage des radicaux libres. | Barcelos et <i>al</i> , 2011 |
| -Chalcone 1E, 4E-1-(4-chlorophényl)-5(2, 6, 6 triméthylcyclohexén-1-yl) penta-1,4-diène-3-one (CAB7b) | -Doxorubicine | -Inhiber l'interaction DXR-ADN. -Empêchant la formation d'adduits et la contrainte de torsion. | Lemes et <i>al</i> , 2018 |
| -Rutine | -Cyclophosphamide | -Régulation des gènes. -Formation des chélates avec les métaux et neutralisation les ions ferriques pour former du fer redox inactif, protégeant ainsi les cellules contre les dommages oxydatifs. | Akinboro et <i>al</i> , 2020 |
| -Apigénine | -Doxorubicine - Cyclophosphamide | -Capacité à s'intercaler entre les brins de la double hélice d'ADN, interférant ainsi avec l'intercalation de la doxorubicine. | Bokulić et <i>al</i> , 2011 |

III.6.3. Activité anticancéreuse

Depuis longtemps, on associe le cancer et le type d'alimentation, de nombreux chercheurs ont étudié le rôle des nutriments dans le développement des cancers (Hertog, 1996). Plus récemment des recherches expérimentales suggèrent que Les substances polyphénoliques

(flavonoïdes) sont capables d'activer les mécanismes naturels de la défense anticancéreuse (Galleano et *al.*, 2012). En effet, les premiers stades de la phase d'initiation cancéreuse peuvent être bloqués par la capacité des tissus cibles à intercepter et à métaboliser les agents mutagènes. Par exemple, les hépatocytes synthétisent des enzymes dites de phase I (telle que les cytochromes P450) qui peuvent oxyder les substances mutagènes hydrophobes en produits constituant le substrat des enzymes de phase II (glucoronyl transférases, sulfo transférase). Ces enzymes convertissent leurs substrats en espèces hydrolysables facilement excrétées hors des cellules. Ces enzymes sont stimulées sous l'action des substances polyphénoliques trouvées dans les légumes, et aussi sous l'action des isothiocyanates (dérivés des glucosinolates) (Ames et *al.*, 1995). En résumé l'activité anticancéreuse des flavonoïdes est assurée par l'intervention de plusieurs mécanismes :

- Piégeage des radicaux libres et Inhibition du métabolisme d'acide arachidonique, formation d'un complexe inactif avec le carcinogène (Hertog, 1993).
- Prévention de l'activation des métabolites carcinogènes, inhibition de la prolifération des cellules cancéreuses et des processus d'angiogénèse et aussi l'arrêt du cycle cellulaire des cellules cancéreuses et induction de l'apoptose (Ren et *al.*, 2003).

Le tableau (12) montre certains effets anticancéreux des flavonoïdes.

Tableau 12 : Propriétés anticancéreuses, in vitro et in vivo de quelques flavonoïdes.

| flavonoïde | Cibles | Action | Référence |
|--|---|--|-----------------------------|
| -Rutine | -Cellules leucémiques murines WEHI-3. | - Chimiopréventive - Favorise la réponse immunitaire in vivo | Lin et <i>al.</i> , 2009. |
| -Quercétine, Fisétine Myricétine, Galangine lutéoline naringine. | -Cellules cancéreuses HEP2 et CK2. | -Effet cytotoxique. | Durgo et <i>al.</i> , 2007 |
| -Apigénine, lutéoline, quercétine et kaempférol | -Cellules Jurkat T, 22Rv1 et MDA-MB-231. | -Mort cellulaire par apoptose de cellules Jurkat T. -Inhibition de la croissance des tumeurs. | Chen et Dou, 2008 |
| - Quercétine | -Cellules cancéreuses : SKBr3 et MDA-MB453 et HeLa. | - Activité antiproliférative. | Jeong et <i>al.</i> , 2009 |
| - Tangérétine et Nobilétine | - Cellules cancéreuses MDA-MB-435, MCF-7 et HT29. | - Activité antiproliférative. | Morley et <i>al.</i> , 2007 |

Chapitre IV

*Recherche bibliographique
sur l'effet cyto et
génoprotecteur d'Artemisia
judaica et de l'apigénine
contre la toxicité de la
doxorubicine.*

IV. Recherche bibliographique sur l'effet cytotoxique et génotoxique d'*Artemisia judaica* et de l'apigénine

Les composés toxiques et les agents de stress sont des composés qui provoquent des changements physiques ou chimiques dans de nombreuses biomolécules corporelles. Ces biomolécules telles que les structures d'ADN et les enzymes antioxydantes, affectent les fonctions biologiques de l'organisme (Bajpayee et *al.*, 2005). Il est connu que la doxorubicine est le médicament le plus répandu dans le traitement du cancer. Elle est utilisée dans plusieurs traitements des tumeurs malignes humaines. Contrairement à la large utilisation de ce médicament, il a été démontré qu'il induisait divers effets de toxicité pour l'homme, y compris la génotoxicité et la cytotoxicité (Leite et *al.*, 2007). Parmi les antioxydants les plus prometteurs, on trouve la plante *Artemisia judaica* (famille des astéracées) connue sous le nom de «Shih» (Tackholm, 1974 ; Mustafa et *al.*, 2008), dont la localisation géographique est située en zone aride surtout en Egypte et en Algérie (Tamanrasset) (Allam et *al.*, 2019). Cette plante présente une activité anticytotoxique et antigénotoxique (Dar et *al.*, 2007 ; Rather et *al.*, 2012 ; Sivagnanam et *al.*, 2012). De plus, A.j exerce un effet protecteur des cellules hépatiques (Rasool et *al.*, 2012 ; Lone et *al.*, 2013). L'étude expérimentale de Linjawi a été menée pour l'évaluation du contenu flavonoïdique de la plante A.j ainsi que le rôle protecteur contre la toxicité génétique induite par la doxorubicine par l'exploration des effets cyto et géno-protecteurs de cette plante chez les souris mâles albinos (Linjawi, 2016).

VI. 1. Etude phytochimique d'*Artemisia judaica*

Plusieurs études phytochimiques montrent qu'A.j est une source de flavonoïdes. D'après une étude phytochimique réalisée par Allam et ses collaborateurs en 2019. Ils ont identifié les acides polyphénoliques et les flavonoïdes trouvés dans cette plante par une analyse HPLC-UV-DAD, le résidu de la poudre séchée de parties aériennes d'A.j a été extrait avec de l'acétate d'éthyle, du méthanol et de l'eau distillée successivement. Le solvant organique a été éliminé pour donner des extraits d'acétate d'éthyle et du méthanol et d'extrait aqueux, respectivement. La teneur totale en phénol et en flavonoïde des extraits d'A.j a été déterminé (Singleton et *al.*, 1999 ; Kim et *al.*, 2003) (Tableau 13).

Tableau 13 : Teneur totale en phénols, flavonoïdes des extraits d'A.j (Allam et al., 2019).

| Solvant | CTP (mg EAG g ⁻¹ ES) _a | CTF (mg EC g ⁻¹ ES) _a |
|----------------|--|---|
| Acétate éthyle | 227.27 ± 0.19 _a | 75.5 ± 0.29 _a |
| Méthanol | 248.93 ± 0.34 _b | 90.8 ± 0.20 _b |
| Aqueux | 174.82 ± 0.38 _c | 66.3 ± 0.19 _c |

(a) Une erreur standard de la moyenne de trois dosages ; (a-c) Différences dans les colonnes (les moyens non suivis de la même lettre sont différents [p<0,05]) ; CTP : Contene total phénolique ; CTF : Contene totale en flavonoïdes ; l'extrait séché (ES) ; EAG : Equivalent acide galique ; EC : Equivalent catéchine.

Les résultats obtenus par Allam et ses collaborateurs montrent qu'A.j est riche en polyphénols et en flavonoïdes. La plus grande quantité de CTP et de CTF a été trouvée dans l'extrait méthanolique (248,93 ± 0,34 mg de EAG g⁻¹ ES) de CTP et (90.18 ± 0.20 mg EC g⁻¹ ES) de CTF.

Salah et al. En 1987 ont mis en évidence 17 glycosides de flavonoïdes dans les extraits des feuilles et des tiges d'A.j (7glucoside, 7-glucuronide4'-glucoside, 7-gentiobioside, 7-diglucuronide, 7-rutinoside; 7,3'-diglucoside , 3'-glucoside, 4'-glucoside, 7-gentiobioside, 7,3'-diglucoside, C-glycosides vicenin-2 schaftoside, isoschaftoside, neoschaftoside et neoisoschaftoside) et 12 aglycones (casticin, apigenin, acacetin, hispidulin, pectolarigenin, cirsimaritin, luteolin, chrysoeriol, jaceosidin, eupatilin, cirsilin ol et 5,7,3'-trihydroxy-4', 5'-trimethoxyflavone).

L'étude de Lui et al. En 2004 confirme par une méthode colorimétrique que cette plante est riche en flavonoïdes par l'évaluation de la teneur des flavonoïdes dans le tissu végétal d'A.j à différents stades de développement (la culture des pousses *in vitro* après 50 jours, des plantules *in vitro* après 90 jours et des plantes en serre après 150 jours), un tissu pesé et trempé dans 80% de méthanol à température ambiante. Un aliquot a ensuite été distribué dans un tube à essai et dilué avec une solution de méthanol et de NaNO₂. Après 5 minutes, un volume d'une solution à 10% d'AlCl₃. 6H₂O a été ajouté et laissé au repos 5min. Et le NaOH 1 M a été ajouté. Le mélange ainsi préparé est soumis à une lecture de l'absorbance à 520 nm avec un spectrophotomètre UV-Visible. Le contenu en flavonoïdes totaux a été déterminé à partir de la gamme d'étalonnage préparée avec la catéchine. Le résultat est exprimé en microgrammes d'équivalent de catéchine connues par gramme de la plante A.j.

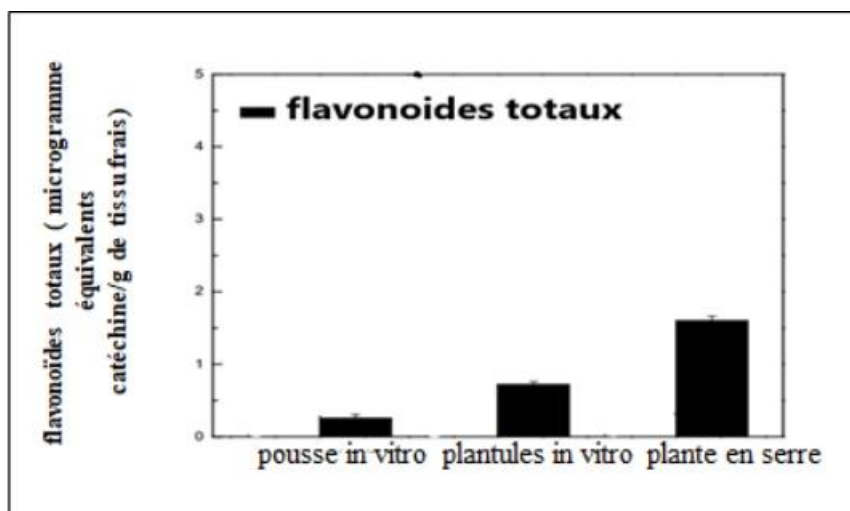


Figure 20 : Taux de flavonoïdes   différents stades de développement de la plante (Lui et *al*, 2004).

Les résultats obtenus par Lui et *al*. En 2004 sont illustrés dans l'histogramme de la figure (20) qui représente les flavonoïdes totaux dans l'extrait de la plante, ils ont observé une accumulation croissante des flavonoïdes selon le stade de développement. Ces résultats estiment les flavonoïdes totaux ont été quantifiés dans les tissus des plantes en serre matures. Ces taux sont 6,4 et 2,2 fois plus élevés que ceux observés pour les pousses et les plantules cultivées in vitro, respectivement.

Allam et *al*. En 2019 ont mis en évidence onze composés de flavonoïdes dans les extraits des feuilles et des tiges d'A.j, avec le kaempférol (20,9 mg g⁻¹ ES), le resvératrol 3-O-glucoside (5,045 mg g⁻¹ ES), le resvératrol (2,835 mg g⁻¹ ES), l'acide trans3-hydroxycinnamique (2,704 mg g⁻¹ ES) et l'acide para-coumarique (1,342 mg g⁻¹ ES) et apigénine (0,256mg g⁻¹ ES) comme composés principaux (Tableau13).

Tableau 14 : Profil phytochimique de l'analyse HPLC-UV-DAD de composés phénoliques dans des extraits au solvant d'A.j (Allam et *al.*, 2019).

| Composés | Solvant | | |
|-------------------------------|---|----------------------------------|--------------------------------|
| | Acétate d'éthyle (mg g ⁻¹ ES) | Méthanol (mg g ⁻¹ ES) | Aqueux (mg g ⁻¹ ES) |
| Acide Chlorogenic | - | - | 0.477 |
| Acide Syringic | 0.688 | - | 0.132 |
| Resveratrol 3-O-glucoside | - | 5.045 | - |
| Acide para-coumaric | 1.342 | - | 0.602 |
| Acide trans-3-hydroxycinnamic | - | 2.704 | - |
| Luteolin 7-O-glucoside | - | 0.923 | - |
| Resveratrol | - | 2.835 | 0.875 |
| Kaempferol 3-O-rutinoside | - | - | 0.211 |
| Acide trans-cinnamic | - | 0.11 | - |
| Kaempferol | 20.9 | 0.134 | 0.12 |
| Apigénine | 0.256 | - | - |

Les données sont exprimées en mg g⁻¹ d'extrait séché (ES),(-) = absent.

Allam et *al.* En 2019 trouvent que la plante Aj renferme plusieurs types de flavonoïdes notamment l'Apigénine; le kaempférol;Luteolin 7-O-glucoside et le Resveratrol. Ces composés auraient de multiples effets biologiques, notamment des activités chimiopréventives, antioxydantes (Palafox et *al.*, 2012) et anticancéreuses (Servili et *al.*, 2014).

Bakr en 2014 confirme les études précédentes, sa méthode est basée sur la formation d'un complexe flavonoïde aluminium à une lecture d'absorbance à 415 nm après une extraction à partir des parties aériennes fraîches d'A.j. Les calculs ont été basés sur la courbe d'étalonnage de la solution étalon de quercétine. La teneur totale en flavonoïdes a été exprimée en milligramme d'équivalent quercétine par gramme d'extrait suivie d'une analyse par HPLC pour identifier les extraits trouvés dans la plante (Tableau 14).

Tableau 15 : Contenu phénolique et flavonoide des extraits d'A.j identifiés par HPLC (Bakr, 2014).

| R _t * | Composé |
|------------------|----------------------|
| 3.4 | Quercétine |
| 14.9 | Acide isof rulique |
| 22.3 | Acide caff ique |
| 26.7 | Vitexin |
| 27.25 | Isovitexin |
| 32.9 | Luteolin 7 glucoside |
| 37.1 | Orientin |

R_t* : Temps de rétention en minute.

D'après les résultats de cette étude dans le tableau ci-dessus qui détermine le contenu flavonoique des extraits d'A.j identifiés par HPLC selon differents R_t*, Bakrtrouve que l'extract de cette plante contient certains types de flavonoides tel que : la quercetin, acide isoferulique, acide caff ique, vitexin, isovitexin, iuteolin 7 glucoside, orientin.

De nombreuses activités biologiques ont été mises en évidence à partir de divers extraits d'A.j, tels que les activités antioxydantes. L'étude d'Allam et *al.* En 2019 consiste à déterminer le profil phytochimique d'extraits de solvants de parties aériennes d'A.j.

VI.1.1. Activité piégeage des radicaux libres d'Artemisia judaica

La méthode appliquée pour mesurer l'activité antioxydante est celle du piégeage des radicaux libres à l'aide du DPPH. Le principe de cette méthode qui consiste à la réduction du radical libre DPPH  (2,2'-diphenyle-1-picryl hydrazyl) par un antioxydant peut être suivie par spectrométrie UV- Visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquée par l'antioxydant. En présence des pi geurs de radicaux libres, le DPPH de couleur violette se réduit en 2,2 Diphenyl 1 picryl hydrazine de couleur jaune (Sanchez, 2002). L'étude de Allam et *al* en 2019 a montré l'activité scavenger du radical DPPH de A.j. Cette activité a été mesurée comme décrit (Cavin et *al.*, 1998). Le mélange de la solution méthanolique de chaque échantillon avec le DPPH a été incubé à température ambiante dans l'obscurité, et l'absorbance du mélange a été mesurée à 517 nm. La quercétine, l'acide ascorbique et le BHT (butyl hydroxy toluène) et le TROLOX ont été utilisés comme composés de référence.

Le radical ABTS    a été produit en mélangeant 7 mM de solution ABTS avec 2,45 mM persulfate de potassium. Le mélange a été stocké dans l'obscurité pendant 16 h et dilué avec de l'éthanol pour obtenir une absorbance de 0,7 à 734 nm. Le milieu réactionnel comprenait 950  L de solution

ABTS $\cdot+$ et 50 μL de chaque échantillon à différentes concentrations. Le mélange a été homogénéisé et son absorbance a été enregistrée à 734 nm. La capacité de piégeage ABTS a été exprimée en IC_{50} . Les extraits d'A.j ont montré une activité de piégeage d'une manière dépendante de la concentration (Tableau 15). Les extraits méthanoliques et d'acétate d'éthyle étaient les plus actifs. L'activité de tous les extraits était inférieure à celle des antioxydants standards : quercétine, acide ascorbique et BHT (Allam et *al.*, 2019).

Tableau 16 : Activités antioxydantes d'extraits d'A.j par différents tests (Allam et *al.*, 2019).

| Extrait | DPPH radicalaire ($\text{IC}_{50} \mu\text{g mL}^{-1}$) _{B,C} | ABTS $\cdot+$ radical ($\text{IC}_{50} (\mu\text{g mL}^{-1})$) _{B,C} |
|--------------------|--|---|
| Acétate éthyle | 11.62 \pm 0.31 _a | 18.09 \pm 0.19 _a |
| Méthanol | 10.23 \pm 0.09 _b | 15.07 \pm 0.16 _b |
| Aqueux | 15.67 \pm 0.18 _c | 27.23 \pm 0.17 _c |
| QuercetinA | 4.67 \pm 0.03 _d | n.t. |
| Acide ascorbique A | 5.16 \pm 0.03 _d | n.t. |
| BHTA | 5.32 \pm 0.02 _d | 3.55 \pm 0.02 _d |
| TroloxA | n.t. | 2.43 \pm 0.03 _e |

(A) : Composés utilisés comme contrôle positif. (B) : Erreur standard de la moyenne de trois dosages. (C) : Concentration qui montre une activité de 50%. (D) : La concentration efficace à laquelle l'absorbance est de 0,5 pour réduire l'activité énergétique (RPA). Capacité antioxydante totale (CAT) : exprimée en mg d'équivalents d'acide gallique g^{-1} extrait séché (mg EAG g^{-1} ES). (n.t) : non testé. a-e Différences dans les colonnes (les moyens non suivis de la même lettre sont différents [$p < 0,05$]).

L'étude antioxydante sur les extraits de parties aériennes d'A.j a montré que tous les extraits présentaient une activité antioxydante, les potentiels de piégeage du DPPH ont été signalés pour certains extraits de parties aériennes d'A.J dans l'acétate d'éthyle. L'apigénine est un flavono ide (Cavin et *al.*, 1998) identifiée dans l'extrait d'acétate d'éthyle possède une activité antioxydante DPPH (Sharififar et *al.*, 2009), et ce composé peut être responsable de l'activité antioxydante observée dans l'extrait d'acétate d'éthyle (Allam et *al.*, 2019). L'action de piégeage des radicaux est connue pour être l'un des mécanismes d'antioxydation. ABTS $\cdot+$ (Acide 2,2'-azino-Bis 3- thylbenzo Thiazoline-6-Sulphonique) est un radical libre largement utilisé pour évaluer le potentiel des échantillons de plantes à réduire l'ABTS $\cdot+$ dans sa forme native. Dans cet essai, l'extrait au méthanol de parties aériennes d'A.j a montré

une action de piégeage élevée contre les radicaux libres ABTS^{•+} actifs d'une manière dépendante de la concentration, montrant un rôle direct dans le piégeage des radicaux libres. La présence des composés phénoliques et de flavonoïdes en grande quantité dans cet extrait peut être responsable de l'activité de piégeage des radicaux libres (Allam et *al.*, 2019).

VI.2. Activité antigénotoxique d'*Artemisia judaica*

Linjawi en 2016 a mis en évidence l'effet protecteur d'A.j contre la génotoxicité de la doxorubicine. Au cours d'un travail de recherche intitulé « Évaluation de l'effet protecteur de l'extrait d'*Artemisia Judaica* contre la toxicité génétique induit par la DOX ce travail est axé sur une étude *in vivo* réalisée par le traitement à la DOX, à la dose de 5mg/kg de poids corporel. Pour réaliser cette étude, le travail expérimental a été effectué sur soixante-dix souris mâles albinos suisses qui ont été réparties en différents groupes de traitement exposés à A. judaica et / ou doxo (5 mg / kg pc) pendant 5 semaines comme suit: le groupe témoin, le groupe injecté (IP) avec DOX, les groupes traités avec une dose faible (L) (25 mg/ kg) et élevée (H) (50 mg/kg) d'extrait d'A.j et les groupes injectés (IP) avec DOX et traités avec une dose faible et élevée d'extrait de A.j. Les méthodes de la toxicité génétique ont été réalisées en utilisant le test du micronoyau et le test des comètes sur les cellules de la moelle osseuse et des lymphocytes respectivement.

VI.2.1. Effet d'*Artemisia judaica* sur la formation du micronoyau

Les micronoyaux sont des entités nucléaires indépendantes du noyau principal, provenant de la perte de fragments chromosomiques ou de chromosomes entiers pendant la division nucléaire, conséquences respectivement d'effets clastogènes ou effet aneugènes. Le test des micronoyaux a donc pour objet de détecter et numérer ces micronoyaux, dans des cellules traitées *in vitro* par l'agent génotoxique ou provenant d'une exposition *in vivo* (Mateuca et *al.*, 2006). La première étape de l'étude est la préparation des frottis à partir de la mise des cellules de moelle osseuse de souris mâles remises en suspension dans le sérum de veau fœtal sur une lame de verre, suivi par un séchage à l'air et une fixation des lames dans l'alcool méthylique puis la coloration par le colorant Giemsa. L'observation des cellules présentant des micronoyaux est effectuée sous microscope optique afin de calculer le pourcentage de EPCMns (érythrocytes polychromatiques micronucléés) (Tableau 1 annex et Figure 21) ci-dessous représentent le nombre et la moyenne d'érythrocytes polychromatiques micronucléés par rapport à 2000 cellules en fonction des différents traitements (Linjawi, 2016).

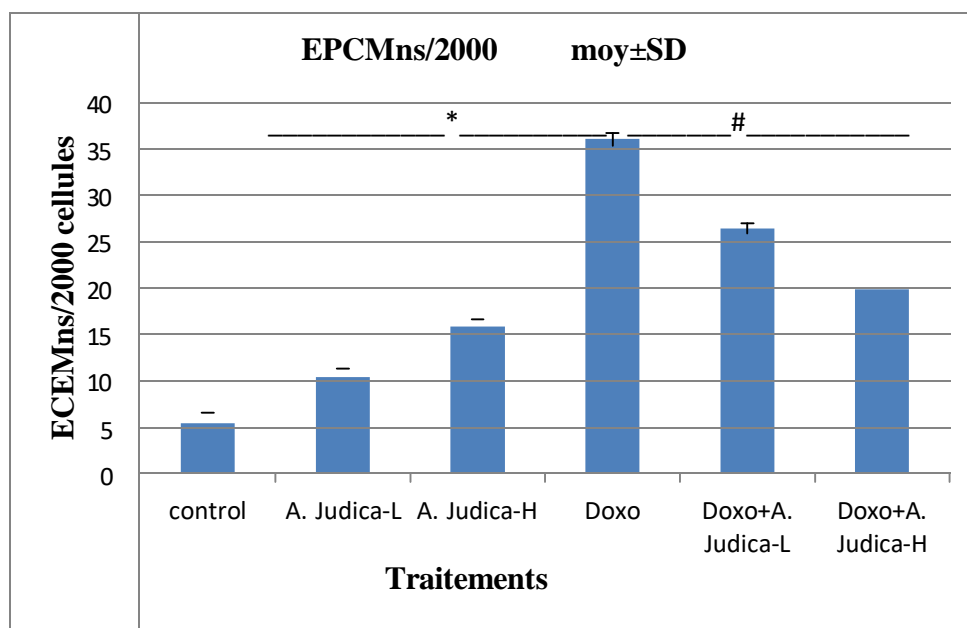


Figure 21 : Moyenne d'EPCMns traités avec A.j et / ou DOX (moyenne ± SEM).

Avec (*) : diminution significatif , (#) : diminution très significatif ; L = dose faible (25 mg / kg) , H = dose élevé (50 mg /kg)

L'effet de la formation d' EPCMn d'A.j et / ou DOX dans les cellules de la moelle osseuse de souris mâles est résumé dans l'histogramme de la figure (23). Le traitement des souris mâles avec la DOX a augmenté de manière significative la formation de EPCMn par rapport au groupe témoin . D'un autre côté, le traitement des souris mâles avec des doses faibles (25 mg/kg) et élevées (50 mg/kg) d'A.j seul a révélé des taux similaires de formation de EPCMn par rapport à ceux des groupes témoins. De plus, le traitement des souris mâles avec des doses faibles et élevées d'A.j combiné avec DOX a diminué de manière significative l'incidence des EPCMns par rapport au DOX seul. La dose efficace d'A.j était la dose élevée (50 mg/kg) qui diminuait les taux de formation de EPCMns par rapport à ceux des souris traitées par DOX seul.

L'étude de Linjawi en 2016 a démontré que la DOX augmentait de manière significative les EPCMn chez des souris mâles traitées par DOX. Plusieurs enquêtes ont rapporté que la DOX était également capable d'empêcher la synthèse d'ADN et d'ARN (Meriwether et *al.*, 1972). D'après (Bokulić et *al.*, 2011), La doxorubicine a une structure caractéristique à quatre cycles, qui est liée via une liaison glycosidique à la daunosamine, un sucre aminé. Il se lie étroitement à l'ADN par intercalation provoquant un déroulement local de la double hélice à la suite de la séparation des bases empilées par le fragment intercalé (Cutts et *al.*, 2005). Lorsqu'elle est intercalée, la DOX peut interférer avec la réplication de l'ADN et provoquer des insertions et / ou des délétions de paires de bases qui entraînent un décalage de cadre. Plusieurs études de génoprotection ont mis en évidence l'effet génoprotecteur des

flavonoïdes. plusieurs études phytochimiques de la plante A.j ont confirmé la présence d'apigénine dans la composition flavonoïdique de cette plante (lui et *al.*, 2004). Le renversement de la mutagénèse de la doxorubicine par l'apigénine a été mis en évidence par Bokulić et ses collaborateurs en 2011. Cet effet antimutagène est peut être lié à la capacité du flavonoïde à s'intercaler entre les brins de la double hélice d'ADN, interférant ainsi avec l'intercalation de la DOX (Webb et *al.*, 2004 ; Kanakis et *al.*, 2009). Les mêmes résultats ont été observés par Gustavo et *al.* En 2011 confirmant l'effet de la quercétine contre la génotoxicité de la doxorubicine par une méthode du colorant d'exclusion au bleu trypan (Franco et *al.*, 1996). Cette étude a indiqué que le traitement des souris mâles avec A.j a diminué de manière significative la formation des (EPCMn) et des dommages à l'ADN.

VI. 2.2. Dommages à l'ADN détectés par le test Comète

Le test des comètes est considéré comme une méthode sensible pour les études génétiques *in vitro* et *in vivo* et est applicable à différents domaines de recherche, tels que, la surveillance environnementale, la biosurveillance humaine et la recherche fondamentale sur les dommages et la réparation de l'ADN. L'étude de Linjawi en 2016 consiste à mettre en évidence *in vivo* l'effet génomprotecteur de la plante d'A.j contre les dommages à l'ADN causés par l'exposition à la DOX. Donc Linjawi a procédé à un isolement des lymphocytes du sang périphérique des souris (par centrifugation 15min /280g). Une suspension fraîchement préparée de cellules a été immobilisée sur des lames de microscope. Les cellules ont ensuite été lysées pendant 1 h à 4 ° C dans un tampon constitué de NaCl 2,5 M, 100 mM EDTA, 1% de Triton X-100, 10 mM de Tris, pH 10. L'électrophorèse a été réalisée à 4 ° C pendant 30 minutes permettant la migration des éventuels fragments d'ADN. Les lames ont ensuite été neutralisées avec du Tris 0,4 M, pH 7,5, colorées avec 2 µg / ml d'éthidium. Les lames ont été examinées au microscope à fluorescence à grossissement 200 x et connectées à un système d'analyse d'images basé sur un ordinateur personnel, Lucia-Cometv.4.51. Les dommages endogènes à l'ADN mesurés comme étant l'ADN moyen de la queue de comète des lymphocytes du sang périphérique de cinq groupes de souris (10 souris chacun). Le nombre des cellules endommagées notées pour chaque animal était de 100 selon Blasiak et *al.* En 2004. La figure (22) et le tableau (17) montrent les résultats des dommages à l'ADN dans des échantillons de sang de différents groupes de souris traités avec A.j et / ou DOX (Figure 23).

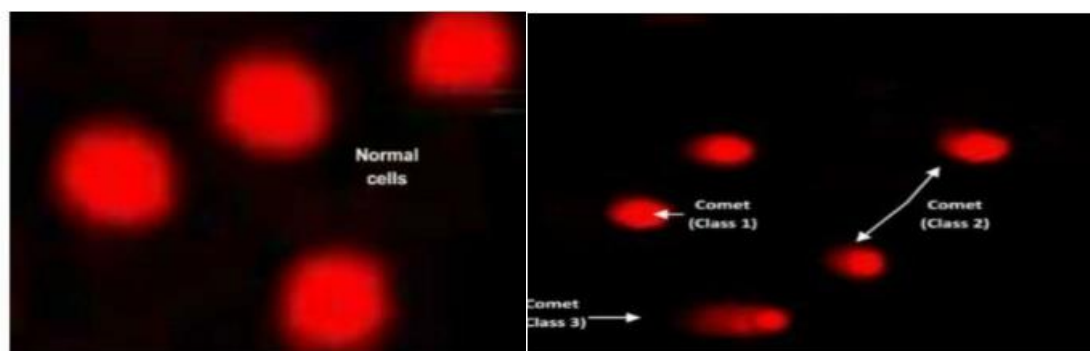


Figure 22: observation microscopique d'ADN normal et des cellules des comètes (classes 1 à 3) en utilisant le test des comètes dans des échantillons de cellules sanguines de souris exposées à A.j et / ou DOX (linjawi, 2016).

Tableau 17: Score visuel des dommages à l'ADN dans les échantillons de sang de souris mâles traitées avec A.j et / ou DOX en utilisant le test des comètes (linjawi, 2016).

| Traitement | Nbre de cellules | | Classes de comète | | | | Cellules endommagées par l'ADN (%) |
|--|----------------------------|-------------------------|-------------------|----|----|----|------------------------------------|
| | Les cellules Analysées (*) | Nombre total de comètes | 0 | 1 | 2 | 3 | |
| Control | 300 | 22 | 278 | 19 | 3 | 0 | 7.3 |
| DMSO | 300 | 30 | 270 | 21 | 9 | 0 | 10.0 |
| <i>A. judaica</i> -L (25 mg/ kg) | 300 | 20 | 280 | 16 | 4 | 0 | 6.7 |
| <i>A. judaica</i> -H (50 mg/ kg) | 300 | 19 | 281 | 15 | 4 | 0 | 6.3 |
| DOX | 300 | 83 | 217 | 29 | 24 | 30 | 27.7 |
| DOX+ <i>A. judaica</i> -L (25 mg/ kg) | 300 | 55 | 245 | 20 | 17 | 18 | 18.3 |
| DOX+ <i>A. judaica</i> -H (50 mg/ kg) | 300 | 53 | 247 | 19 | 16 | 18 | 17.7 |

Ÿ: Classe 0 = pas de queue; 1 = longueur de la queue <diamètre du noyau; 2 = longueur de la queue entre 1X et 2X le diamètre du noyau; et 3 = longueur de la queue >2X le diamètre du noyau. (*): Nombre de cellules analysées. L (dose faible = 25 mg /kg). H (dose forte = 50 mg/kg).

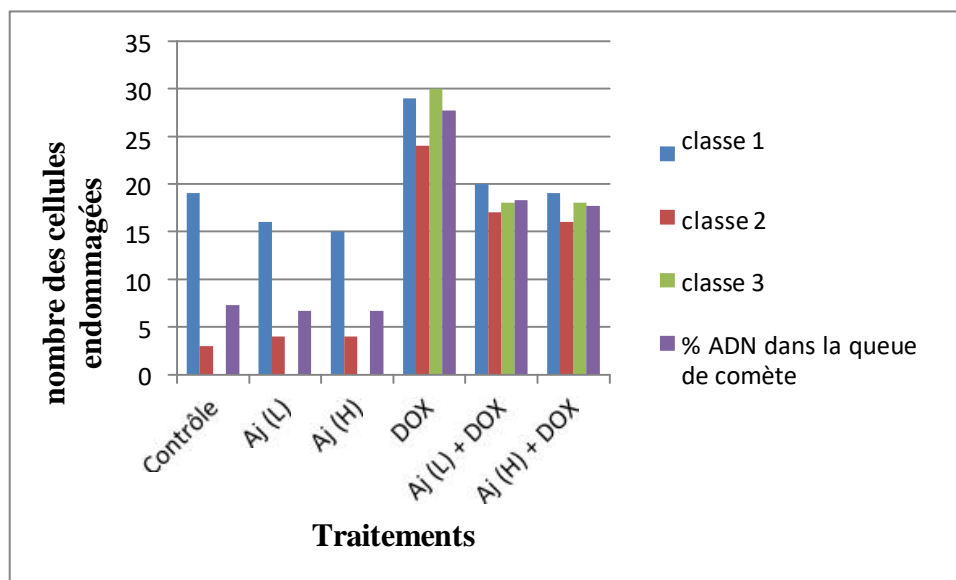


Figure 23 : comparaison de différentes classes des comètes selon les traitements.

l'histogramme de la figure (23) montre les résultats des dommages à l'ADN dans des échantillons de sang de différents groupes de souris traitées avec *A. judaica* et / ou DOX. Le traitement des souris mâles avec une concentration faible (25 mg/kg) et élevée (50 mg/kg) a révélé que le nombre des cellules endommagées et le pourcentage des cellules endommagées dans la queue de comète dans les trois classes étaient relativement similaires à ceux des groupes témoins. D'autre part, le traitement des souris mâles à la DOX a montré que les dommages d'ADN sont élevés, ce qui était très significatif par rapport au groupe témoin. Au contraire, le traitement des souris mâles exposées à la DOX combiné à faible dose (L) et à forte dose (H) d'A.j a révélé que le pourcentage des cellules endommagées et le nombre des cellules endommagées dans la queue de comète sont significativement plus faibles que le traitement à la DOX seul, cependant, la dose élevée d'A.j était plus efficace par rapport à une faible dose d'A.j (linjawi, 2016).

VI. 3. Activité antioxydante d'*Artemisia judaica*

Il a été suggéré que les effets protecteurs d'A.j sont attribués à l'existence de composés actifs tels que les flavono ides (Kratz et al., 2007). Ces flavono ides ont présenté une activité antioxydante qui peut diminuer le stress oxydatif causé par les radicaux libres (Hussain et Marouf, 2013). L'apigénine est un antioxydant bien connu (Razmaraii et al., 2016) et la DOX génère des radicaux libres qui auraient

pu être éliminés par l'apigénine (Mcgowan *et al.*, 2017). Zare et ses collaborateurs en 2019, ont fait une étude pour évaluer l'effet protecteur de l'apigénine sur la cardiotoxicité induite par la doxorubicine. 40 rats mâles Wistar ont été répartis au hasard en 4 groupes: contrôle, groupe traité par la doxorubicine reçu une dose cumulative de DOX (12 mg / kg par voie intrapéritonéale) en 6 doses égales de 2 mg / kg toutes les 48 h pendant 12 jours, groupe traité par (DOX + Api 25) : reçu par voie orale de l'apigénine 25 mg / kg / jour pendant 12 jours par gavage et groupe traité par l'apigénine (Api 25) : reçu par voie orale de l'apigénine 25 mg / kg / jour pendant 12 jours par gavage. A la fin de l'expérience, le taux de MDA cardiaque (marqueur de la peroxydation lipidique) a été évalué par réaction avec TBA   90–100   C (Azizi *et al.*, 2013). La méthode utilisée pour déterminer l'activité de la SOD dans des échantillons de cœur homogénéisés est basée sur le fait que l'autoxydation du pyrogallol est inhibée par la SOD (Khalili *et al.*, 2011) et la méthode utilisée pour déterminer l'activité de GSH est celle d'Ellman en 1956. Les marqueurs de stress oxydatif cardiaque ont été mesurés par spectrophotométrie à 420 nm pour les SOD et à 532 nm pour MDA.

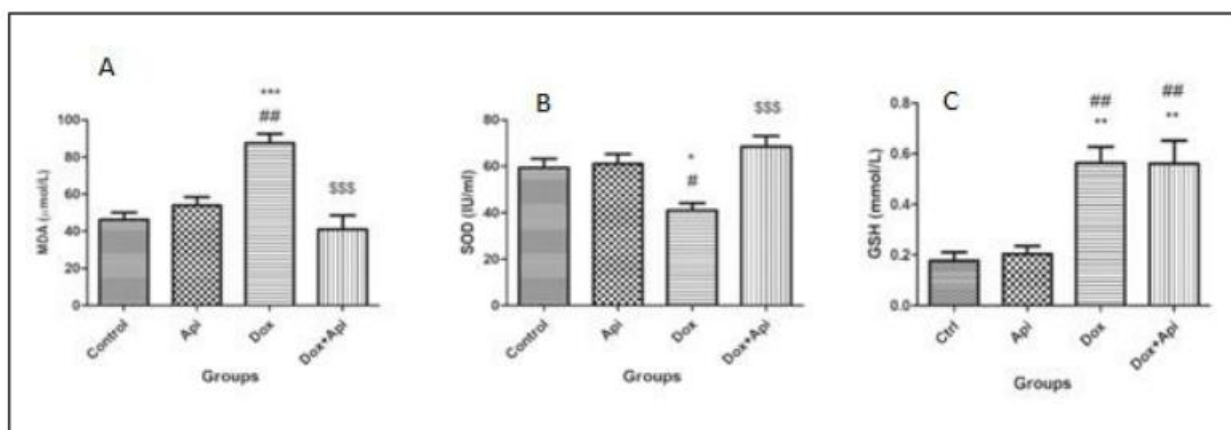


Figure 24 : Contenu myocardique de MDA (A), SOD (B) et GSH (C) (Zare *et al.*, 2019).

Contenu myocardique de MDA (A), SOD (B) et GSH (C) au jour 12 après le traitement (n = 5). Les données sont présentées sous forme de moyennes à SEM. * P <0,05, ** P <0,01, *** P <0,001 vs groupe témoin, \$\$\$ P <0,001 vs groupe DOX.

Les résultats ont montré que l'induction de la cardiotoxicité avec DOX augmentait significativement les niveaux de MDA au jour 12 par rapport au groupe témoin (P <0,001, Figure 24 A). Le traitement Api pendant 12 jours chez les animaux traités par DOX diminuait de manière significative les niveaux de MDA par rapport au groupe DOX (P <0,001), suggérant le rôle antioxydant possible d'Api contre les lésions oxydatives du myocarde induites par la DOX. La (figure 24 A) montre également qu'il n'y a pas de différences significatives entre les animaux traités uniquement avec Api et les animaux témoins. La SOD, une enzyme antioxydante, peut être modifiée par une variété de dommages oxydatifs. Comme le montre la (Figure 24 B), l'induction de la cardiotoxicité avec DOX a

significativement diminué les niveaux de SOD au jour 12 ($P < 0,05$) en comparaison avec les groupes témoins et Api. Le traitement par Api chez les animaux traités par la DOX pendant 12 jours a considérablement augmenté les taux de SOD par rapport aux animaux traités à la DOX ($P < 0,001$). L'analyse statistique montre également qu'il n'y a pas de différence significative entre les animaux traités uniquement avec Api et les animaux témoins. L'analyse des données a également montré que l'induction de la cardiotoxicité avec DOX augmentait significativement les niveaux de GSH au jour 12 ($P < 0,01$) par rapport à le traitement par Api chez les animaux traités par la DOX pendant 12 jours a augmenté de manière significative les taux de GSH par rapport aux groupes témoins et Api ($P < 0,01$). La (figure 24 C) montre également qu'il n'y a pas de différences significatives entre les animaux traités uniquement avec Api et les animaux témoins.

Zare et ses collaborateurs suggérant que l'Apigénine exerce des effets cardioprotecteurs contre la cardiotoxicité induite par DOX. Le cœur manque également des enzymes antioxydantes pour éliminer les radicaux libres. Par conséquent, l'accumulation de radicaux libres d'oxygène provoque la peroxydation des lipides membranaires et la dégénérescence des membranes cellulaires et mitochondriales, du réticulum endoplasmique, de l'acide nucléique et des macromolécules intracellulaires (Mantawy et al., 2014 ; Kelleni et al., 2015). Dans des conditions normales, les enzymes antioxydantes telles que (SOD), la catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GSH Px) éliminent les radicaux libres. Dans des conditions anormales où il n'y a pas d'équilibre entre la production d'oxydants et les systèmes de défense antioxydants, une peroxydation des lipides et une altération de l'homéostasie se produisent, comme ces conditions pourraient être observées dans la cardiotoxicité induite par la DOX (Alpsoy et al., 2013). Les résultats ont montré que la MDA en tant que marqueur de la peroxydation lipidique augmentait et que les agents antioxydantes, SOD et GSH diminuaient chez les animaux traités par DOX. L'analyse des données a montré que le traitement par Api chez les animaux intoxiqués par DOX pouvait diminuer la MDA et augmenter la SOD. Il semble que l'Api par ses effets antioxydants a empêché les dommages induits par DOX et améliore la fonction myocardique. Ahmed et ses collaborateurs en 2017 montre que A.j a inversé de manière significative l'élévation induite par la DOX du taux de fragmentation de l'ADN et du taux de MDA dans le tissu hépatique, ainsi que la diminution des AC dans les cellules de la moelle osseuse. Ces résultats sont cohérents avec une enquête antérieure (linjawi, 2016) où l'extrait d'A.j a significativement diminué les dommages à induites par le traitement DOX. Le rôle protecteur d'A.J peut être attribué à sa puissante activité de piégeage des radicaux libres (Bakr, 2014). L'étude de Khaled et al. En 2002 soulignent fortement que l'huile volatile d'A.j a une activité antioxydante remarquable et est un piègeur de radicaux. Les résultats ont démontré que l'huile essentielle d'A.j a une activité efficace comme donneur d'hydrogène et comme principal antioxydant en

réagissant avec le peroxyde lipidique. Ceci peut être responsable de la principale cause de suppression de auto-oxydation, à la fois dans les dosages d'acide linoléique et de DPPH. La plante d'A.j s'avère riche en flavonoïdes donc il est possible que l'action antigénotoxique et antioxydant soit liée à la présence de ces composé (Bakr, 2014 ; linjawi, 2016 ; Allam et *al.*, 2019).

Ces études *in vivo* ont démontré que le traitement des souris mâles avec l'extrait d'A.j diminuait considérablement la formation d'EPCMn, les dommages à l'ADN induites par le traitement à la DOX. L'effet antigénotoxique et cytoprotecteur de cet extrait peut être attribuée à plusieurs raisons; la présence de composés très actifs tels que le 1,8-cinéole, les terpènes et le p-cymène; et ou la présence de composés actifs tels que les flavonoïdes apéginine.

Conclusion

De nos jours, les traitements anticancéreux sont de plus en plus efficaces permettant notamment l'amélioration de la qualité de vie et de la survie des patients, La plupart de ces médicaments sont révélés mutagènes, et génotoxique dans les systèmes expérimentaux.

Parmi ces traitements, la doxorubicine est une des molécules les plus efficaces utilisée en chimiothérapie dans de nombreux types de cancers. Cependant, elle induit certain nombre de symptômes de toxicité directe traduit par la production de stress oxydatif via la génération des espèces réactives de l'oxygène et des effets génotoxique par l'induction des dommages irréversibles à l'ADN par l'intermédiaire de la Topo-II. La toxicité de la doxorubicine pourrait être évitée grâce à l'utilisation des agents chimiopréventifs.

Les flavonoïdes étant un type pertinent des antioxydants capables d'inhiber ou de réduire le taux des réactions d'oxydation, telles que celles induites par les espèces réactives de l'oxygène qui provoquent le dommage d'ADN. Ces effets peuvent être attribués à la présence de certains composés actifs notamment l'apéginine grâce à ses effets antioxydants a empêché les dommages via l'augmentation des enzymes antioxydants SOD et GSH et la diminution de la formation d'EPCMn induits par le traitement à la doxorubicine.

Références
Bibliographiques

-A-

- Ahmed, E. S., Mabrouk, D. M., Hassanane, M. M., Khalil, W. K. (2017). Protective effect of *Artemisia judaica* against doxorubicin-induced toxicity in mice. *Annual Research and Review in Biology*, 1-10.
- Ahmed, F., Urooj, A., Karim, A. A. (2013). Protective effects of *Ficus racemosa* stem bark against doxorubicin-induced renal and testicular toxicity. *Pharmacognosy magazine*, 9(34), 130-134.
- Akinboro, A., Mohammad, K., and Asmawi, Z. (2020). Effects of rutin in *Myristica fragrans* Houtt. against cyclophosphamide-induced genotoxicity in sperm cells, on liver and kidney tissues, in Swiss albino mice. *American journal of physiology*, 10(1), 7-17.
- Allam, H., Benamar, H., Ben Mansour, R., Ksouri, R., Bennaceur, M. (2019). Phenolic Composition, Antioxidant, and Antibacterial Activities of *Artemisia Judaica* Subsp. *Sahariensis*. *Journal of Herbs Spices and Medicinal Plants*, 1–16.
- Alpsoy, S., Aktas, C., Uygur, R., Topcu, B., Kanter, M., Erboğa, M., Gedikbasi, A. (2013). Antioxidant and ant apoptotic effects of onion (*Allium cepa*) extract on doxorubicin induced cardiotoxicity in rats. *Journal of Applied Toxicology*, 33(3), 202-208.
- Alzand, K. I., Mohamed, M. A. (2012). Flavonoids: Chemistry, biochemistry and antioxidant activity. *J. Pharm. Res*, 5(40134012), 37.
- Ames, B. N., Gold, L. S., Willett, W. C. (1995). The causes and prevention of cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92(12), 5258-5265.
- Aoki, T., Akashi, T., Ayabe, S. I. (2000). Flavonoids of leguminous plants: structure, biological activity, and biosynthesis. *Journal of Plant Research*, 113(4), 475.
- Attia, SM., Al-Bakheet, SA., Al-Rasheed NM. (2010). Proanthocyanidins produce significant attenuation of doxorubicin-induced mutagenicity via suppression of oxidative stress. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 3(6), 404-413.
- Avishai, N., Rabinowitz, C., Rinkevich, B. (2003). Use of the comet assay for studying environmental genotoxicity: Comparisons between visual and image analyses. *Environmental and molecular mutagenesis*, 42(3), 155-165.

-Aydemir, N., Çelikler, S., Bilaloğlu, R. (2005). In vitro genotoxic effects of the anticancer drug gemcitabine in human lymphocytes. *Mutation Research, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 582(1-2), 35-41.

-Azizi, Y., Faghihi, M., Imani, A., Roghani, M., Nazari, A. (2013). Post-infarct treatment with [Pyr1]-apelin-13 reduces myocardial damage through reduction of oxidative injury and nitric oxide enhancement in the rat model of myocardial infarction. *Peptides*, 46, 76-82.

-Azqueta, A., Ladeira, C., Giovannelli, L., Boutet-Robinet, E., Bonassi, S., Neri, M., Gajski, G., Duthie, S., Del Bo, C., Riso, P., Koppen, G., Basaran, N., Collins, A., Møller, P. (2019). Application of the comet assay in human biomonitoring: an hcomet perspective. *Mutat. Res*, 108288.

-B-

-Bajpayee, M., A.K. Pandey, D. Parmar, A. Dhawan, (2005). Current Status of Short-Term Tests for Evaluation of Genotoxicity, Mutagenicity, and Carcinogenicity of Environmental Chemicals and NCEs. *Toxicol Mech Methods*, 15(3), 155-80.

-Bakr, R.O. (2014). Microscopical and Phytochemical Investigation of Egyptian *Artemisia judaica* L. Var. *Sinaiticatakholm* and its Free Radical Scavenging Activity Pharmacognosy International *Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 6,698-703.

-Barcelos, G. R., Grotto, D., Angeli, J. P. F., Serpeloni, J. M., Rocha, B. A., Bastos, J. K., Barbosa Jr, F. (2011). Evaluation of antigenotoxic effects of plant flavonoids quercetin and rutin on HepG2 cells. *Phytotherapy Research*, 25(9), 1381-1388.

-Benamar, H., Rarivoson, E., Tomassini, L., Frezza, C., Marouf, A., Bennaceur, M., Nicoletti, M. (2018). Phytochemical Profiles, Antioxidant and Antiacetylcholinesterasic Activities of the Leaf Extracts of *Rhamnus Lycioides* Subsp. *Oleoides* (L.) Jahand. and Maire in Different Solvents. *Nat. Prod. Res.* 21(5),125-142.

-Benavente-Garcia, O., Castillo, J., Marin, F. R., Ortuno, A., Del Rio, J.A. (1997). Uses and properties of Citrus flavonoïds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 4505-4515.

-Berthelot-Ricou, A., Perrin, J., Orsière, T., Aye, M., Roustan, A., Botta, A., Courbiere, B. (2013). Genotoxicity risk assessment and oocytes: Basis of genetic toxicology and application in reproductive science. *Gynecologie, Obstetrique and Fertilité*, 41(9), 544-547.

-Berthiaume, J.M., and Wallace, K.B. (2007). Persistent alterations to the gene expression profile of the heart subsequent to chronic Doxorubicin treatment. *Cardiovasc Toxicol*, 7(3), 178-91.

- Blasiak, J., M. Arabski, R. Krupa, K. Wozniak, M. Zadrozny, J. Kasznicki, M. Zurawska and J. Drzewoski. (2004). DNA damage and repair in type 2 diabetes mellitus. *Mutation Research*, 554,297-304.
- Bokulić, A., Garaj-Vrhovac, V., Brajša, K., Đurić, K., Glojnarić, I., Šitum, K. (2011). The effect of apigenin on cyclophosphamide and doxorubicin genotoxicity in vitro and in vivo. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 46(5), 526-533.
- Brown, E. J., Khodr, H., Hider, C. R., Rice-evans, C. A. (1998). Structural dependence of flavonoid interactions with Cu²⁺ ions: implications for their antioxidant properties. *Biochemical Journal*, 330(3), 1173-1178.
- Bruneton J. (2015). Pharmacognosie (5^e Éd.) Phytochimie - Plantes médicinales, Tec and Doc, Lavoisier, Paris. 1504pp.
- Bruneton, J. (2009). *Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales*. Edition Tec and Doc (Paris), 1268p.
- Bungau, S., Abdel-Daim, M. M., Tit, D. M., Ghanem, E., Sato, S., Maruyama-Inoue, M., Kadonosono, K. (2019). Health benefits of polyphenols and carotenoids in age-related eye diseases. *Oxidative medicine and cellular longevity*.
- C-
- Cabantchik, Z. I., Glickstein, H., Milgram, P., Breuer, W. (1996). A fluorescence assay for assessing chelation of intracellular iron in a membrane model system and in mammalian cells. *Analytical biochemistry*, 233(2), 221-227.
- Camps, J. (2009). Notions de biocompatibilité. SFBBD Dentaires.
- Cavin, A., Hostettmann, K., Dyatmyko, W., Potterat, O. (1998). Antioxidant and Lipophilic Constituents Of. *Tinospora Crispa*. *Planta Med*, 64(5), 393-396.
- Chen Y, Jungsuwadee P, Vore M, Butterfield DA, Clair DKS. (2007). Collateral Damage in cancer Chemotherapy: Oxidative stress in Nontargeted Tissues. *Molecular interventions*, 7 (3),147-156.
- Chen, D. I., Dou, Q. P. (2008). Tea polyphenols and their roles in cancer prevention and chemotherapy. *International journal of molecular sciences*, 9(7), 1196-1206.
- Cheriot, S. (2007). Rôle des produits de la réaction de Maillard dans l'inhibition de l'oxydation enzymatique des phénols et des lipides (Doctoral dissertation).

- Chira, K., Suh, J. H., Saucier, C., Teissedre, P. L. (2008). Grape phenolics. *Phytotherapie*, 6(2), 75.
- Cook, N. C., Samman, S., J. (1996). *Nutr. Biochem*, 7, no. 2, p. 66
- Cutts, S. M., Nudelman, A., Rephaeli, A., Phillips, D. R. (2005). The power and potential of doxorubicin DNA adducts. *Iubmb life*, 57(2), 73-81.
- Czub, J., Adamus, T., Banas, D., Braziewicz, J., Choinski, J., Dyczewski, J., Jaskóla, A., Korman, A., Szefflinski, Z., Wójcik, A. (2009). « The Warsaw cyclotron facility with a horizontal beam for radiological studies ».

-D-

- Dar, A.R., G.H. Dar, R. Zafar. (2007). Conservation of *Artemisia amygdalina*—a critically endangered endemic plant species of Kashmir Himalaya. *Endangered Species Update*, 23(1), 34-39.
- Darolles, C. (2010). Discrimination des effets chimiotoxiques et radiotoxiques de l'uranium: définition de marqueurs biologiques pour l'évaluation des risques professionnels dans l'industrie du nucléaire (Doctoral dissertation, Aix-Marseille 2).
- Das, M., Manna, K. (2016). Chalcone scaffold in anticancer armamentarium: a molecular insight. *Journal of toxicology*.
- De Méo, M., Laget, M., Di Giorgio, C., Guiraud, H., Botta, A., Castegnaro, M., Duménil, G. (1996). Optimization of the Salmonella/mammalian microsome assay for urine mutagenesis by experimental designs. *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology*, 340(2-3), 51-65.
- Delemasure, S., Vergely, C., Zeller, M., Cottin, Y. et Rochette, L. (2006). Prévention de la cardiotoxicité des anthracyclines : approche fondamentale des mécanismes mis en jeu ; relations avec les données cliniques. *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie*, 55(2), 104–112.
- Dixon, M. J., Robertson, S. A., Taylor, P. M. (2002). A thermal threshold testing device for evaluation of analgesics in cats. *Research in veterinary science*, 72(3), 205-210.
- Durand DV, Le Jeune C. (2015). Guide pratique des médicaments Dorosz 2016. 35e édition. maloine , 1940 p.
- Durgo, K., Vuković, L., Rusak, G., Osmak, M., Franekić Čolić, J. (2007). Effect of flavonoids on glutathione level, lipid peroxidation and cytochrome P450 CYP1A1 expression in human laryngeal carcinoma cell lines. *Food Technology and Biotechnology*, 45(1), 69-79.

-Dutta, D., Gunasekera, D., Ragni, M. V., Pratt, K. P. (2016). Accurate, simple, and inexpensive assays to diagnose F8 gene inversion mutations in hemophilia A patients and carriers. *Blood advances*, 1(3), 231-239.

-E-

-Eberhardt, M., Lee, C.Y., Liu, R.H. (2000). Antioxidant activity of fresh apples. *Nature* 405, 903–904.

-Eichenberger, M., Lehka, B. J., Folly, C., Fischer, D., Martens, S., Simón, E., Naesby, M. (2017). Metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae* for de novo production of dihydrochalcones with known antioxidant, antidiabetic, and sweet tasting properties. *Metabolic Engineering*, 39, 80-89.

-Ellman, G. L. (1959). Tissue sulfhydryl groups. *Arch. Biochem. Biophys.*, 82, 70-77.

-F-

-Fairbairn, D. W., Walburger, D. K., Fairbairn, J. J., O'Neill, K. L. (1996). Key morphologic changes and DNA strand breaks in human lymphoid cells: discriminating apoptosis from necrosis. *Scanning: The Journal of Scanning Microscopies*, 18(6), 407-416.

-Fardel O., Vernhet L., Nouvel V., Jung A., Legrand A., (2009). Utilisation des tests de génotoxicité pour la surveillance de l'exposition des travailleurs dans l'industrie du traitement et recyclage des déchets. *Rapport final*. Etude N° 07-0667/1A73p.

-Faure, S. (2010). Anticancéreux cytotoxiques. *Actualités Pharmaceutiques*, 49(497), 51–54.

-Findik, E., Dingil, A., Karaman, I., Ceylan, M. (2009). Synthesis of terpenoid-like bischalcones from α - and β -ionones and their biological activities. *Synthetic Communications®*, 39(24), 4362-4374.

-Flora, S. (1998). Mechanisms of inhibitors of mutagenesis and carcinogenesis. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 402(1-2), 151-158.

-Flora, S. J. (2009). Structural, chemical and biological aspects of antioxidants for strategies against metal and metalloid exposure. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2.

-Forrest, G. L., Gonzalez, B., Tseng, W., Li, X., & Mann, J. (2000). Human carbonyl reductase overexpression in the heart advances the development of doxorubicin-induced cardiotoxicity in transgenic mice. *Cancer research*, 60(18), 5158-5164.

-Forrest, R. A., Swift, L. P., Rephaeli, A., Nudelman, A., Kimura, K. I., Phillips, D. R., Cutts, S. M. (2012). Activation of DNA damage response pathways as a consequence of anthracycline-DNA adduct formation. *Biochemical pharmacology*, 83(12), 1602-1612.

-Franco TT, Rodrigues NR, Serra GE, Panegassi VR, Buckeridge MS. (1996). Characterization of storage cell wall polysaccharides from Brazilian legume seeds and the formation of aqueous two phase systems. *J Chromatogr B Biomed Appl* 680, 255–261.

-G-

-Galleano, M., Calabro, V., Prince, P. D., Litterio, M. C., Piotrkowski, B., Vazquez-Prieto, M. A., Fraga, C. G. (2012). Flavonoids and metabolic syndrome. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1259(1), 87-94.

-Gardès-Albert, M., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh, Z., Jore, D. (2003). Espèces réactives de l'oxygène. *L'actualité chimique*, 91.

-Gascon, S. (2015). Développement D'un Modèle de Suivi en Imagerie TEP de la Cardiotoxicité Induite Par Chimiothérapie Chez la Souris (Doctoral dissertation, Université de Sherbrooke).

-Ghedira, K. (2005). Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 3(4), 162-169.

-Giovannelli, L., Pitozzi, V., Riolo, S., Dolara, P. (2003). Measurement of DNA breaks and oxidative damage in polymorphonuclear and mononuclear white blood cells: a novel approach using the comet assay. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental -Mutagenesis*, 538(1-2), 71-80.

-Greupink, R., Bakker, H. I., Bouma, W., Reker-Smit, C., Meijer, D. K., Beljaars, L., Poelstra, K. (2006). The antiproliferative drug doxorubicin inhibits liver fibrosis in bile duct-ligated rats and can be selectively delivered to hepatic stellate cells in vivo. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 317(2), 514-521.

-H-

-Haleng J., Pincemail J., Defraigne JO., Charlier C., Chapelle JP. (2007). Le stress oxydant. *Rev Med Liege*, 62 (10): 628-638.

-Hanasaki, Y., Ogawa, S., Fukui, S. (1994). The correlation between active oxygens scavenging and antioxidative effects of flavonoids. *Free Radical Biology and Medicine*, 16(6), 845-850.

- Handa, S. S., Khanuja, S. P. S., Longo, G., Rakesh, D. D. (2008). Extraction technologies for medicinal and aromatic plants: Earth. *Environmental and Marine Sciences and Technologies*.
- Hanna, K. (2005), Chromosome breakage at high dose rates. *Mutation Research*, 182, 270- 271.
- Harbone, J. B. (1993). *Introduction to ecological biochemistry*. Academic press.
- Harry, M. (2008). *Génétique moléculaire et évolutive*. Maloine.
- Havsteen, B. H. (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology and therapeutics*, 96(2-3), 67-202.
- Hebi, M., Eddouks, M. (2016). Évaluation de l'activité antioxydante de Stevia rebaudiana. *Phytothérapie*, 14(1), 17-22.
- Hertog, M. G. (1996). Epidemiological evidence on potential health properties of flavonoids. *Proceedings of the Nutrition society*, 55(1B), 385-397.
- Hertog, M. G., Hollman, P. C., Van de Putte, B. (1993). Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of tea infusions, wines, and fruit juices. *Journal of agricultural and food chemistry*, 41(8), 1242-1246.
- Hirano, R., Sasamoto, W., Matsumoto, A., Itakura, H., Igarashi, O., Kondo, K. (2001). Antioxidant ability of various flavonoids against DPPH radicals and LDL oxidation. *Journal of nutritional science and vitaminology*, 47(5), 357-362.
- Hurley LH. DNA and its associated processes as targets for cancer therapy. *Nat Rev Cancer* 2002; 2(3) ,188–200.
- Hussain, S. A., Marouf, B. H. (2013). Flavonoids as alternatives in treatment of type 2 diabetes mellitus. *Academia journal of medicinal plants*, 1(2), 31-36.

-I-

- Iengar, V. (2012). Characterization of complex chromosomal rearrangement. *Mutation Research*, 92, 3 – 7.
- Iwashina, T. (2013). Flavonoid properties of five families newly incorporated into the order Caryophyllales. *Bull Natl Mus Nat Sci*, 39, 25-51.

-J-

- Jantan, I., Bukhari, S. N. A., Adekoya, O. A., Sylte, I. (2014). Studies of synthetic chalcone derivatives as potential inhibitors of secretory phospholipase A2, cyclooxygenases, lipoxygenase and pro-inflammatory cytokines. *Drug design, development and therapy*, 8, 1405.
- Jeong, J. H., An, J. Y., Kwon, Y. T., Rhee, J. G., Lee, Y. J. (2009). Effects of low dose quercetin: Cancer cell-specific inhibition of cell cycle progression. *Journal of cellular biochemistry*, 106(1), 73-82.
- Johnston, M. O. (2001). Mutations and new variation: *Overview*. E LS.
- Jovanovic, S. V., Steenken, S., Tosic, M., Marjanovic, B., Simic, M. G. (1994). Flavonoids as antioxidants. *Journal of the American Chemical Society*, 116(11), 4846-4851.
- Judson, I., Verweij, J., Gelderblom, H., Hartmann, J. T., Schöffski, P., Blay, J. Y. Krarup-Hansen, A. (2014). Doxorubicin alone versus intensified doxorubicin plus ifosfamide for first-line treatment of advanced or metastatic soft-tissue sarcoma: a randomised controlled phase 3 trial. *The lancet oncology*, 15(4), 415-423.
- K-**
- Kaiserová, H., Šimůnek, T., Van Der Vijgh, W. J., Bast, A., Kvasničková, E. (2007). Flavonoids as protectors against doxorubicin cardiotoxicity: role of iron chelation, antioxidant activity and inhibition of carbonyl reductase. *Biochimica and Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1772(9), 1065-1074.
- Kalender, Y., Yel, M., Kalender, S. (2005). Doxorubicin hepatotoxicity and hepatic free radical metabolism in rats: the effects of vitamin E and catechin. *Toxicology*, 209(1), 39-45.
- Kanakis, C.D., Nafisi, S., Rajabi, M. (1999). Structural analysis of DNA and RNA interactions with antioxidant flavonoids. *Spectroscopy*, 23 (1), 29-43.
- Kassner, N., Huse, K., Martin, H. J., Gödtel-Armbrust, U., Metzger, A., Meineke, I., Wojnowski, L. (2008). Carbonyl reductase 1 is a predominant doxorubicin reductase in the human liver. *Drug Metabolism and Disposition*, 36(10), 2113-2120.
- Kelleni, M. T., Amin, E. F., Abdelrahman, A. M. (2015). Effect of metformin and sitagliptin on doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats: impact of oxidative stress, inflammation, and apoptosis. *Journal of toxicology*.

- Khalili, M., Kiasalari, Z., Roghani, M., Azizi, Y. (2011). Anticonvulsant and antioxidant effect of hydro-alcoholic extract of *Cyperus rotundus* rhizome on pentylentetrazole-induced kindling model in male mice. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(7), 1140-1146.
- Khan, K. Ansari, L and Honey A. (2012). Induction of mutations in *Cichoriumintybus* L. by base analogue 6-aminopurine (6-AP) and their detection with random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis. *African Journal of Biotechnology*, 11(56), 11901-11906.
- Kim, D., Chun, O. K., Kim, Y. J., Moon, H., Lee, C. Y. (2003). Quantification of Polyphenolics and Their Antioxidant Capacity in Fresh Plums. *J. Agric. Food Chem*, 51(22), 6509–6515.
- Kocahan S., Zumrut D., Eрман E., Eylem T. (2017). Protective Effect of Quercetin Against Oxidative Stressinduced Toxicity Associated with Doxorubicin and Cyclophosphamide in Rat Kidney and Liver Tissue. *Iranian Journal of Kidney Diseases*, 11 (2), 124-131.
- Kolodner, R. (1996). Biochemistry and genetics of eukaryotic mismatch repair. *Genes and development*, 10(12), 1433-1442.
- Kratz, F., G. Ehling, H.M. Kauffmann, C. Unger. (2007). Acute and repeat-dose toxicity studies of the (6- maleimidocaproyl)hydrazone derivative of doxorubicin (DOXO-EMCH), an albumin-binding prodrug of the anticancer agent doxorubicin. *Hum ExpToxicol*, 26(1), 19-35.
- Kris-Etherton, P. M., Hecker, K. D., Bonanome, A., Coval, S. M., Binkoski, A. E., Hilpert, K. F., Etherton, T. D. (2002). Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *The American journal of medicine*, 113(9), 71-88.
- Kumar, S., Pandey, A. K. (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *The scientific world journal*.
- Kuroda, Y., Jain, A. K., Tezuka, H., Kada, T. (1992). Antimutagenicity in cultured mammalian cells. *Mutation Research*, 267(2), 201-209.
- L-**
- Ladeira, C., Koppen, G., Scavone, F., Giovannelli, L. (2019).The comet assay for human biomonitoring: Effect of cryopreservation on DNA damage in different blood cell preparations. *Mutat. Res. Toxicol. Environ. Mutagen*. 843, 11–17.
- Lebrecht, D., Setzer, B., Rohrbach, R., Walker, U. A. (2004). Mitochondrial DNA and its respiratory chain products are defective in doxorubicin nephrosis. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 19(2), 329-336.

- Leite-Silva, C., C. Gusmao, C. Takahashi. (2007). Genotoxic and antigenotoxic effects of *Fucusvesiculosus* extract on cultured human lymphocytes using the chromosome aberration and Comet assays. *Genetics and Molecular Biology*, 30(1), 105-111.
- Lemes, S. R., Silva, C. R., Vêras, J. H., Chen-Chen, L., Lima, R. S., Perez, C. N., ... da Silva Junior, N. J. (2020). Presence of antigenotoxic and anticytotoxic effects of the chalcone 1E, 4E-1-(4-chlorophenyl)-5-(2, 6, 6-trimethylcyclohexen-1-yl) penta-1, 4-dien-3-one using in vitro and in vivo assays. *Drug and chemical toxicology*, 43(4), 383-390.
- Lin J.-P., Yang J.-S., Lu C.-C., Chiang J.-H., Wu C.-L., Lin J.-J., Lin H.-L., Yang M-D, Liuh K-C, Chiu T-H, Chung, J.-G. (2009). Rutin inhibits the proliferation of murine leukemia WEHI-3 cells in vivo and promotes immune response in vivo. *Leuk. Res.*, 33, 823-828.
- Linjawi SA. (2016). Evaluation the protective effect of *Artemisia judaica* extract against doxorubicin induced genetic toxicity and histopathology in male. *Advances in Environmental Biology*, 10, 250-8.
- Liu, C. Z., Murch, S. J., El-Demerdash, M., Saxena, P. K. (2004). *Artemisia judaica* L.: micropropagation and antioxidant activity. *Journal of Biotechnology*, 110(1), 63-71.
- Liyana-Pathirana, C. M., Shahidi, F. (2006). Antioxidant properties of commercial soft and hard winter wheats (*Triticum aestivum* L.) and their milling fractions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(3), 477-485.
- Lone, S.H., K.A. Bhat, S. Naseer, R.A. Rather, M.A. Khuroo, S.A. Tasduq. (2013). Isolation, cytotoxicity evaluation and HPLC-quantification of the chemical constituents from *Artemisia amygdalina* Decne. *Journal of Chromatography B*. 940, 135-141.
- Lugasi, A. (2003). The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta biologica szegediensis*, 47(1-4), 119-125.
- Lyon, F. (1994). IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. *Some industrial chemicals*, 60, 389-433.

-M-

- Ma, Q. G., Li, T., Wei, R. R., Liu, W. M., Sang, Z. P., Song, Z. W. (2016). Characterization of chalcones from *Medicago sativa* L. and their hypolipidemic and antiangiogenic activities. *Journal of agricultural and food chemistry*, 64(43), 8138-8145.

- Madia, F., Kirkland, D., Morita, T., White, P., Asturiol, D., Corvi, R. (2020). EURLECVAM Genotoxicity and Carcinogenicity Database of Substances Eliciting Negative Results in the Ames test: Construction of the Database. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 854-855, 503199.
- Mai, C. W., Yaeghoobi, M., Abd-Rahman, N., Kang, Y. B., Pichika, M. R. (2014). Chalcones with electron-withdrawing and electron-donating substituents: anticancer activity against TRAIL resistant cancer cells, structure–activity relationship analysis and regulation of apoptotic proteins. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 77, 378-387.
- Mantawy, E. M., El-Bakly, W. M., Esmat, A., Badr, A. M., El-Demerdash, E. (2014). Chrysin alleviates acute doxorubicin cardiotoxicity in rats via suppression of oxidative stress, inflammation and apoptosis. *European journal of pharmacology*, 728, 107-118.
- Maron, D. M., & Ames, B. N. (1983). Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects*, 113(3-4), 173-215.
- Martens, S., Preuß, A., Matern, U. (2010). Multifunctional flavonoid dioxygenases: flavonol and anthocyanin biosynthesis in *Arabidopsis thaliana* L. *Phytochemistry*, 71(10), 1040-1049.
- Mateuca R, Lombaert N, Aka PV, Decordier I and Kirsch-Volders M. (2006). Chromosomal changes: induction, detection methods and applicability in human biomonitoring. *Biochimie* 88, 1515-1531.
- Matthies, A., Clavel, T., Gütschow, M., Engst, W., Haller, D., Blaut, M., Braune, A. (2008). Conversion of daidzein and genistein by an anaerobic bacterium newly isolated from the mouse intestine. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(15), 4847-4852.
- McGowan J.V, Chung R, Maulik A, Piotrowska I, Walker J.M, Yellon DM. (2017). Anthracycline chemotherapy and cardiotoxicity, *Cardiovasc. Drugs Ther.* 31 (1), 63–75.
- Meriwether, W. D., Bachur, N. R. (1972). Inhibition of DNA and RNA metabolism by daunorubicin and adriamycin in L1210 mouse leukemia. *Cancer research*, 32(6), 1137-1142.
- Michel, C. (2011). Biomarqueurs de génotoxicité chez *Dreissena polymorpha*: indicateurs de la pression chimique urbaine et variabilité naturelle des lésions de l'ADN (Doctoral dissertation).
- Middleton Jr, E. (1998). 13-Effect of Plant Flavonoids on Immune and Inflammatory Cell Function. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 439, 175-182.

-
- Mierziak, J., Kostyn, K., Kulma, A. (2014). Flavonoids as important molecules of plant interactions with the environment. *Molecules*, 19(10), 16240-16265.
- Migdal, C., Serres, M. (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *médecine/sciences*, 27(4), 405-412.
- Milić, M., Ožvald, I., VinkovićVrček, I., VučićLovrenčić, M., Oreščanin, V., Bonassi, S., Rojas del Castillo, E. (2019) .Alkaline comet assay results on fresh and one-year frozen whole blood in small volume without cryo-protection in a group of people with different healthstatus. *Mutat. Res. Toxicol. Environ. Mutagen.* 843, 3–10.
- Minotti, G., Cairo, G., Monti, E. (1999). Role of iron in anthracycline cardiotoxicity: new tunes for an old song. *The faseb Journal*, 13(2), 199-212.
- Minotti, G., Menna, P., Salvatorelli, E., Cairo, G., Gianni, L. (2004). Anthracyclines: molecular advances and pharmacologic developments in antitumor activity and cardiotoxicity. *Pharmacological reviews*, 56(2), 185-229.
- Morley, K. L., Ferguson, P. J., Koropatnick, J. (2007). Tangeretin and nobiletin induce G1 cell cycle arrest but not apoptosis in human breast and colon cancer cells. *Cancer letters*, 251(1), 168-178.
- Morreel, K., Goeminne, G., Storme, V., Sterck, L., Ralph, J., Coppieters, W., Boerjan, W. (2006). Genetical metabolomics of flavonoid biosynthesis in *Populus*: a case study. *The Plant Journal*, 47(2), 224-237.
- Morris, C. J., Earl, J. R., Trenam, C. W., Blake, D. R. (1995). Reactive oxygen species and iron—a dangerous partnership in inflammation. *The international journal of biochemistry and cell biology*, 27(2), 109-122.
- Mortelmans, K., Zeiger, E. (2000). The Ames Salmonella/microsome mutagenicity assay. *Mutation research/fundamental and molecular mechanisms of mutagenesis*, 455(1-2), 29-60.
- Moulssehou, S. (1998). Biologie et génétique. Ed. Office des publications universitaires, 84 p.
- Mross, K., Mayer, U., Hamm, K., Burk, K., Hossfeld, D. K. (1990). Pharmacokinetics and metabolism of iodo-doxorubicin and doxorubicin in humans. *European journal of clinical pharmacology*, 39(5), 507-513.
- Mukhopadhyay, P., Rajesh, M., Bátkai, S., Kashiwaya, Y., Hasko, G., Liaudet, L., Pacher, P. (2009). Role of superoxide, nitric oxide, and peroxynitrite in doxorubicin-induced cell death *in vivo*

and *in vitro*. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 296(5), H1466-H1483.

-Mustafa, A.H., O.Y. Al-Thunibat. (2008). Antioxidant activity Jordanian medicinal plants used traditionally for treatment of diabetes. *Pak J BiolSci*, 11,351-8.

-N-

-Nafisi, S., Hashemi, M., Rajabi, M., Tajmir-Riahi, H. A. (2008). DNA adducts with antioxidant flavonoids: morin, apigenin, and naringin. *DNA and cell biology*, 27(8), 433-442.

-Nakagawa, K., Kawagoe, M., Yoshimura, M., Arata, H., Minamikawa, T., Nakamura, M., Matsumoto, A. (2000). Differential effects of flavonoid quercetin on oxidative damages induced by hydrophilic and lipophilic radical generators in hepatic lysosomal fractions of mice. *Journal of Health Science*, 46(6), 509-512.

-Nijveldt, R. J., Van Nood, E. L. S., Van Hoorn, D. E., Boelens, P. G., Van Norren, K., Van Leeuwen, P. A. (2001). Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *The American journal of clinical nutrition*, 74(4), 418-425.

-O-

-Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical biochemistry*, 95(2), 351-358.

-Orsière, T., Sari-Minodier, I., Decome, L., Botta, C., Iarmarcovai, G., Botta, A. (2005). De la génotoxicologie à la biosurveillance. *Journées Nationales de Santé au Travail dans le BTP*, Annales 28, 25, 28.

-Ortega E.M.I. (2004). Genotoxicity tests: Usefulness in occupational health Difficulties encountered in their application to the workers medical survey. *Arch Public Health*. 62, 71-81

-Ostling, G., Johanson, K. J. (1984). Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells. *Biochemical and biophysical research communications*, 123(1), 291-298.

-P-

- Pourquier, P. (2015). Agents alkylants. *Bulletin du Cancer*, 98(11), 1237-1251.

- Padhye, S., Ahmad, A., Os++wal, N., Sarkar, F. H. (2009). Emerging role of Garcinol, the antioxidant chalcone from *Garcinia indica* Choisy and its synthetic analogs. *Journal of hematology and oncology*, 2(1), 1-13.
- Palafox-Carlos H, Gil-Chávez J, SoteloMundo RR, Namiesnik J, Gorinstein S González-Aguilar GA. (2012). Antioxidant Interactions between Major Phenolic Compounds Found in 'Ataulfo' Mango Pulp: Chlorogenic, Gallic, *Protocatechuic and Vanillic Acids Molecules*, 17(11), 12657-64.
- Park, P. J., Jung, W. K., Nam, K. S., Shahidi, F., Kim, S. K. (2001). Purification and characterization of antioxidative peptides from protein hydrolysate of lecithin-free egg yolk. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 78(6), 651-656.
- Perez-Vizcaino, F., Duarte, J. (2010). Flavonols and cardiovascular disease. *Molecular aspects of medicine*, 31(6), 478-494.
- Pethran, A., Schierl, R., Hauff, K., Grimm, C. H., Boos, K. S., Nowak, D. (2003). Uptake of antineoplastic agents in pharmacy and hospital personnel. Part I: monitoring of urinary concentrations. *International archives of occupational and environmental health*, 76(1), 5-10.
- Pfizer Canada Inc. (2012). Monographie de produit: Adriamycine PFS. (No de contrôle : 152892, Kirkland, Québec), p 1-46.
- Pieri, M., Castiglia, L., Basilicata, P., Sannolo, N., Acampora, A., Miraglia, N. (2010). Biological monitoring of nurses exposed to doxorubicin and epirubicin by a validated liquid chromatography/fluorescence detection method. *Annals of occupational hygiene*, 54(4), 368-376.
- Pietta, P. G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *Journal of natural products*, 63(7), 1035-1042.
- Pillière, F., Falcy, M. (1991). Exposition aux produits chimiques génotoxiques. Marqueurs biologiques pour la surveillance des salariés. *Documents pour le Médecin du Travail*, 48, 329-336.
- Pincemail, J., Degruene, F., Voussure, S., Malherbe, C., Paquot, N., Defraigne, J. O. (2007). Effet d'une alimentation riche en fruits et légumes sur les taux plasmatiques en antioxydants et des marqueurs des dommages oxydatifs. *Nutrition clinique et métabolisme*, 21(2), 66-75.

-R-

- Rached, W., Benamar, H., Bennaceur, M., Marouf, A. (2010). Screening of the Antioxidant Potential of Some Algerian Indigenous Plants. *J. Biol. Sci*, 10(4), 316–324.

- Rao, V. A. (2013). Iron chelators with topoisomerase-inhibitory activity and their anticancer applications. *Antioxidants and redox signaling*, 18(8), 930-955.
- Rasool, R., B.A. Ganai, A.N. Kamili, S. Akbar. (2012). Antioxidant potential in callus culture of *Artemisia amygdalina* Decne. *Natural Product Research*, 26(22), 2103-2106.
- Rather, M.A., B.A. Ganai, A.N. Kamili, et al. (2012). Comparative GC-FID and GC-MS analysis of the mono and sesquiterpene secondary metabolites produced by the field grown and micropropagated plants of *Artemisia amygdalina* Decne. *Acta Physiologiae Plantarum*, 34(3), 885-890.
- Razmaraii, N., Babaei, H., Nayebi, A. M., Assadnassab, G., Helan, J. A., Azarmi, Y. (2016). Cardioprotective effect of grape seed extract on chronic doxorubicin-induced cardiac toxicity in Wistar rats. *Advanced pharmaceutical bulletin*, 6(3), 423.
- Ren, W., Qiao, Z., Wang, H., Zhu, L., Zhang, L. (2003). Flavonoids: promising anticancer agents. *Medicinal research reviews*, 23(4), 519-534.
- Riddick DS, Lee C, Ramji S, Chinje EC, Cowen RL, Williams KJ, Patterson AV, Stratford IJ, Morrow CS, Townsend AJ, Jounaidi Y, Chen CS, Su T, Lu H, Schwartz PS and Waxman DJ. (2005). Cancer chemotherapy and drug metabolism. *Drug Metab Dispos*, 33(8), 1083- 1096.
- Rijke, E., Out, P., Niessen, W. M., Ariese, F., Gooijer, C., Udo, A. T. (2006). Analytical separation and detection methods for flavonoids. *Journal of chromatography A*, 1112(1-2), 31-63.
- Rook, M., Lely, A. T., Kramer, A. B., van Goor, H., Navis, G. (2005). Individual differences in renal ACE activity in healthy rats predict susceptibility to adriamycin-induced renal damage. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 20(1), 59-64.
- Rosenbloom, M., Leikin, J. B., Vogel, S. N., Chaudry, Z. A. (2002). Biological and Chemical Agents: A Brief Synopsis. *American Journal of Therapeutics*, 9(1), 5–14.
- Rydberg, B., Johanson, K. J. (1978). Estimation of DNA strand breaks in single mammalian cells. *In DNA repair mechanisms* (pp. 465-468). Academic Press.
- S-
- Saleh N. A. M., El-Negoumy S. I. et Abou-Zaid M. M. (1987). Flavonoids of *Artemisia judaica*, *A. monosperma* and *A. herba-alba*. *Phytochemistry*, 26(11), 3059-3064.

- Samouelian, F., Gaudin, V., Boccara, M. (2009). *Génétique moléculaire des plantes*. Edition Quae, p 21, 22.
- Sanchez-Moreno C. (2002). Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Int. J. of Foods Sci. Tech*, 8,121-137.
- Sarmi, M.P., Cheymer, V. (2006). Les polyphénols en agroalimentaire. *Ed Lavoisier*. 2 -10.
- Seglab, F., Hamia, C., Khacheba, I., Djeridane, A., Yousfi, M. (2019). High in vitro Antioxidant Capacities of Algerian *Cleome arabica* Leaves' Extracts. *Phytothérapie*.
- Servili M, Sordini B, Esposto S, Urbani S, Veneziani G, Di Maio I, Selvaggini R Taticchi A. (2014). *biological activities of phenolic compounds of extra Virgin Olive Oil Antioxidants*, 3(1) ,1-23.
- Sharififar, F., Dehghn-Nudeh, G., Mirtajaldini, M. (2009). Major Flavonoids with Antioxidant Activity from *Teucrium Polium* L. *Food Chem*, 112(4), 885–888.
- Shipp, J., Abdel-Aal, E. S. M. (2010). Food applications and physiological effects of anthocyanins as functional food ingredients. *The Open Food Science Journal*, 44, 7 – 22.
- Shirley, B. W. (1996). Flavonoid biosynthesis: new functions for an old pathway. *Trends in plant science*, 1(11), 377-382.
- Šimůnek, T., Štěřba, M., Popelová, O., Adamcová, M., Hrdina, R., Geršl, V. (2009). Anthracycline-induced cardiotoxicity: overview of studies examining the roles of oxidative stress and free cellular iron. *Pharmacological reports*, 61(1), 154-171.
- Singh N. P., McCoy M. T., Tice R. R. and Schneider E. L. (1988). A simple technique for quantification of flow levels of DNA damage in individual cells. *Exp. Cell. Res.* 175, 184-191
- Singleton, V. L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R. M. (1999). Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Methods Enzymol*, 299, 152–178.
- Sivagnanam, S.K., R.K. Rao, Mudiganti, U.M. Dar, P.G. Jeelani. (2012). Preliminary phytochemical analysis of *Artemisia amygdalina*, *Nerium odoratum* and *Strychnos potatorum*. *Journal of Pharmacy Research*, 5(7), 3734-3739.
- Słoczyńska, K., Powroźnik, B., Pękała, E., Waszkielewicz, A. M. (2014). Antimutagenic compound and their possible mechanisms of action. *Journal of applied genetics*, 55(2), 273-285.

- Sorsa, M., Hemminki, K., Vainio, H. (1985). Occupational exposure to anticancer drugs—potential and real hazards. *Mutation Research, Reviews in Genetic Toxicology*, 154(2), 135-149.
- Speit, G., Rothfuss, A. (2012). The comet assay: a sensitive genotoxicity test for the detection of DNA damage and repair. In *DNA Repair Protocols* (pp. 79-90). *Humana Press*, Totowa, NJ.
- Sram, R. J., Beskid, O., Binkova, B., Chvatalova, I., Lnenickova, Z., Milcova, A., ... Farmer, P. B. (2007). Chromosomal aberrations in environmentally exposed population in relation to metabolic and DNA repair genes polymorphisms. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 620(1-2), 22-33.
- Stafford, H. A. (1990). *Flavonoid metabolism*. CRC Press, Boca Raton, FL. 298 pages.
- Štěřba, M., Popelová, O., Vávrová, A., Jirkovský, E., Kovaříková, P., Geršl, V., Šimůnek, T. (2013). Oxidative stress, redox signaling, and metal chelation in anthracycline cardiotoxicity and pharmacological cardioprotection. *Antioxidants and redox signaling*, 18(8), 899-929.
- Tackholm, V. (1974). *Student Flora of Egypt*. 2nd ed. Cairo University Press: Cooperative printing Co, Beirrut, Lebanon, p: 581.

-T-

- Tice, R. R., Agurell, E., Anderson, D., Burlinson, B., Hartmann, A., Kobayashi, H., Sasaki, Y. F. (2000). Single cell gel/comet assay: guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing. *Environmental and molecular mutagenesis*, 35(3), 206-221.
- Toufektsian, M. C., De Lorgeril, M., Nagy, N., Salen, P., Donati, M. B., Giordano, L., Pilo, R. (2008). Chronic dietary intake of plant-derived anthocyanins protects the rat heart against ischemia-reperfusion injury. *The Journal of nutrition*, 138(4), 747-752.
- Tsao, Rong.(2010). "Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols." *Nutrients* 2.12, 1231-1246.
- Tubiana, M., Diallo, I., Chavaudra, J., Lefkopoulos, D., Bourhis, J., Girinsky, T., Adjadj, E. (2011). A new method of assessing the dose-carcinogenic effect relationship in patients exposed to ionizing radiation. A concise presentation of preliminary data. *Health physics*, 100(3), 296-299.
- Turner P. C. 1999. *L'essentiel en biologie moléculaire*. Ed. BERTI, 345 p.

-U-

-Ujiki, M. B., Ding, X. Z., Salabat, M. R., Bentrem, D. J., Golkar, L., Milam, B., Adrian, T. E. (2006). Apigenin inhibits pancreatic cancer cell proliferation through G2/M cell cycle arrest. *Molecular Cancer*, 5(1), 1-8.

-Ursini, F., Maiorino, M., Morazzoni, P., Roveri, A., Pifferi, G. (1994). A novel antioxidant flavonoid (IdB 1031) affecting molecular mechanisms of cellular activation. *Free Radical Biology and Medicine*, 16(5), 547-553.

-V-

-van Acker, F. A., Hulshof, J. W., Haenen, G. R., Menge, W. M., van der Vijgh, W. J., Bast, A. (2001). New synthetic flavonoids as potent protectors against doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Free Radical Biology and Medicine*, 31(1), 31-37.

-Verma, P. S. (2006). Cell biology, genetics Molecular Biology, *Evolution and ecology*. Chand.

-Vijay, U., Gupta, S., Mathur, P., Suravajhala, P., Bhatnagar, P. (2018). *Microbial Mutagenicity Assay: Ames Test*. Biol. Protoc, 8, 32763.

-Vincent Bianchi, Sarra El Anbassi. (2012). Médicaments. *De boeck*.

-W-

-Wang, D., Tang, W., Yang, G.M., et Cai, B.C. (2006). "Anti-inflammatory, Antioxidant and Cytotoxic Activities of Flavonoids from *Oxytropis falcata* Bunge." *Chinese Journal of Natural Medicines* 8(6), 461-465.

-Wang, I. K., Lin-Shiau, S. Y., Lin, J. K. (1999). Induction of apoptosis by apigenin and related flavonoids through cytochrome c release and activation of caspase-9 and caspase-3 in leukaemia HL-60 cells. *European journal of cancer*, 35(10), 1517-1525.

-Webb, M.R., Ebeler, S.E. (2004). Comparative analysis of topoisomerase IB inhibition and DNA intercalation by flavonoids and similar compound: structural determinates of activity. *Biochem. J.* 384 (Pt 3), 527–541.

-Y-

-Young, R. (2002). Genetic toxicology: Web resources. *Toxicology*, 173,103– 121.

-Z-

-
- Zare, M. F. R., Rakhshan, K., Aboutaleb, N., Nikbakht, F., Naderi, N., Bakhshesh, M., & Azizi, Y. (2019). Apigenin attenuates doxorubicin induced cardiotoxicity via reducing oxidative stress and apoptosis in male rats. *Life sciences*, 232, 116623.
- Zeidan, Q., Strauss, M., Porras, N., & Anselmi, G. (2002). Differential long-term subcellular responses in heart and liver to adriamycin stress. Exogenous L-carnitine cardiac and hepatic protection. *Journal of submicroscopic cytology and pathology*, 34(3), 315-321.
- Zerbo, P., Rasolodimby, J. M., Ouedraogo, O. N., Van Damme, P. (2011). Plantes médicinales et pratiques médicales au Burkina Faso: cas des Sanan. *Bois and Forêts Des Tropiques*, 307, 41-53.
- Zhong, P., Wu, L., Qian, Y., Fang, Q., Liang, D., Wang, J., Liang, G. (2015). Blockage of ROS and NF- κ B-mediated inflammation by a new chalcone L6H9 protects cardiomyocytes from hyperglycemia-induced injuries. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1852(7), 1230-1241.

Annexe

Tableau 1 : érythrocytes polychromatiques micronucléés (EPCMns) de malemice traités avec A.j et / ou DOX (moyenne \pm SD) (linjawi, 2016).

| Traitement (mg/kg) | EPC filtrée | EPCMns/2000 EPC | |
|--------------------------|-------------|-----------------|--------------------|
| | | Nombre | (moyenne \pm SD) |
| control | 2000 | 5 | 5.4 \pm 1.14 |
| | 2000 | 7 | |
| | 2000 | 4 | |
| | 2000 | | |
| A. j – L(25 mg/kg) | 2000 | 11 | 10.40 \pm 0.89 |
| | 2000 | 11 | |
| | 2000 | 11 | |
| | 2000 | 10 | |
| A.j–H (50 mg/kg) | 2000 | 17 | 15.80 \pm 0.83 |
| | 2000 | 16 | |
| | 2000 | 16 | |
| | 2000 | 15 | |
| | 2000 | 15 | |
| DOX | 2000 | 36 | 36.00 \pm 0.70 |
| | 2000 | 36 | |
| | 2000 | 36 | |
| | 2000 | 35 | |
| | 2000 | 37 | |
| A.j-L (25 mg/kg) +DOX | 2000 | 27 | 26.40 \pm 0.54 |
| | 2000 | 27 | |
| | 2000 | 26 | |
| | 2000 | 26 | |

| | | | |
|-----------------------|------|----|------------|
| | 2000 | 26 | |
| A.j H(50mg/kg)+DOX | 2000 | 20 | 19.80±0.44 |
| | 2000 | 20 | |
| | 2000 | 20 | |
| | 2000 | 19 | |
| | 2000 | 20 | |

Les données sont présentées sous forme de moyenne \pm SD.

Thème : Etude de l'effet cyto et génotecteur de la plante *Artemisia judaica* L. et de l'apigénine contre la toxicité de la doxorubicine

Résumé

Le traitement avec certains médicaments anticancéreux notamment la doxorubicine fournit des symptômes de toxicité directe. La plupart de ces médicaments sont révélés mutagènes, et génotecteur dans les systèmes expérimentaux. Certaines plantes médicinales sont considérées comme des agents chimiopréventifs anticancéreux. *Artemisia judaica*, également nommé «Shih» dans les pays arabes, est l'une des plantes qui exerce un effet contre la génotoxicité et la cytotoxicité provoqué par la doxorubicine. Cette plante renferme plusieurs types de flavonoïdes notamment l'Apigénine, Kaempférol et Resveratrol. Ces composés auraient de multiples effets biologiques, notamment des activités chimiopréventives, antioxydantes et anticancéreuses. Cette étude a été menée pour évaluer le contenu de flavonoïde dans la plante *Artemisia judaica* ainsi que le rôle protecteur contre la toxicité génétique induite par la doxorubicine par l'exploration des effets cyto et géno-protecteurs de cette plante chez la souris mâles albinos en utilisant les tests de génotoxicité (le test de micronoyaux et le test de comète).

Mots clés : doxorubicine, flavonoïdes, génotoxicité, cytotoxicité, testes de génotoxicité.

Summary:

Treatment with some of the anti-cancer drugs including doxorubicin provides a number of symptoms of direct toxicity. Most of these drugs have been shown to be mutagenic and genotoxic in experimental systems. Certain medicinal plants considered as anticancer chemopreventive agents, *Artemisia Judaica* it is also named "Shih" in Arab countries and one of the plant which exerts an against genotoxicity and cytotoxicity caused by doxorubicin, this plant contains several types of flavonoids including Apigenin, kaempferol and Resveratrol. These compound would have multiple biological effects, in particular chemopreventive, antioxidant and anticancer activities. This study was conducted to assess the flavonoid content in plant *Artemisia Judaica* as well as the protective role against the genotoxicity induced by doxorubicin by exploring the cyto and geno-protective effects of this plant in male mice using it genotoxicity tests (the micronuclei test and the comet test).

Key words : doxorubicin, flavonoides, genotoxicity, cytotoxicity, genotoxicity tests.

ملخص :

إن العلاج ببعض الأدوية المضادة للسرطان بما في ذلك الدوكسوروبيسين يؤدي إلى أعراض السمية المباشرة، وقد ثبت أن معظم هذه الأدوية سبب طفرات جينية في الأنظمة التجريبية، يوجد بعض من النباتات الطبية المتواجدة في الدول العربية ذات خصائص وقائية كيميائية، المعروفة باسم "الشيح" (رتيميزيا جود/يكا). تملك هذه النبتة خصائص ضد السمية الجينية والخلوية التي يسببها الدوكسوروبيسين، والتي تحتوي على عدة أنواع من مركبات الفلافونويد من بينها أبيجينين، كامبفيرول، ريسفيراترول). تمتلك هذه المركبات مجموعة من الخصائص البيولوجية بما في ذلك الأنشطة الوقائية الكيميائية من مضادات الأكسدة و مضادات السرطان. أجريت هذه الدراسة لتقييم الدور الوقائي لمحتوى الفلافونويد المتواجد في (رتيميزيا جود/يكا)، إضافة إلى الدور الوقائي ضد السمية التي يسببها الدوكسوروبيسين عن طريق تقييم التأثير المضاد للسمية الجينية و الخلوية لهذه النبتة عند ذكور الفئران بواسطة استعمال اختبار السمية (النواة الصغيرة و اختبار المذنب).

الكلمات المفتاحية : الدوكسوروبيسين، الفلافونويد، السمية الجينية، السمية الخلوية، اختبار السمية.