

جامعة محمد الصديق بن يحيى جيجل

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



كلية علوم الطبيعة و الحياة  
قسم: البيولوجيا الجزيئية و الخلوية

Mémoire de fin d'étude

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

Option : Pharmacologie Expérimentale

Thème

Effet de la propolis sur la toxicité des médicaments  
chimiothérapeutiques

Membres de Jury

Président : Dr. BOUHAFS Leila  
Examineur: Dr. LARICHE Nesrine  
Encadreur : Dr. BRIHOUM Hadjer

Présenté par :

M<sup>elle</sup> : AISSOUS Khadidja  
M<sup>elle</sup> : FEGHROUR Assia  
M<sup>elle</sup> : GRIOUA Fairouz

Année Universitaire 2019-2020

Numéro d'ordre (bibliothèque) : .....

## Remerciements

Tout d'abord, nous remercions dieu le tout puissant de nous avoir donné paix et santé pour achever ce travail.

Nous remercions très chaleureusement notre encadreur M<sup>eme</sup> **Brihoum Hadjer**, qui nous a fait confiance en s'engageant à nos côtés dans ce travail, nous faisant profiter de son savoir, et nous offrant sa présence tout au long de ces longs mois d'efforts.

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche, au docteur **Bouhafs Leila** de l'université de Jijel qui nous a fait l'honneur d'accepter de présider le jury, ainsi qu'au docteur **Lariche Nesrine** de l'université de Jijel pour avoir accepté d'examiner notre travail et de l'enrichir par ses propositions.

Nous profitons de cette dernière occasion pour exprimer notre gratitude à tout le corps enseignant et tout membre de notre université, côtoyés au court de ces cinq années. Merci à tous ceux qui de prêt ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail, rien de tout cela n'aurait été possible sans vous.

## Dédicace

Je remercie tout d'abord ALLAH le tout puissant de m'avoir donné la santé, la patience, la puissance et la volonté pour réaliser ce mémoire et tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail que Je dédie :

♥A mes très chers parents (Daikha♥Rabeh) pour leur amour et leur présence à coté de moi♥

A la mémoire de ma très chère grande-mère ♥Yamina♥  
mes remerciements vivement M<sup>me</sup> .BRIHOUH HADJER; qui nous a encadré, nous a aidé et nous a suivie dans la réalisation de ce mémoire  
A mes très chers sœurs (Soussou + Mimi + Selwa +Hala) pour leur aide, leur amour et leur soutien de tous les jours

A Nabil, Djahid, Aissam

A Israa, Maisaa, Taqwa, Assil, Zeineb, Maha

A Youcef, Adem, Younes, Mohammed

A mes amies Fairouz et Khadidja

♥A Mina♥

A toutes mes amis

A mes professeurs

A tous ceux que j'aime

Assia♥

## Dédicace

Je remercie tout d'abord ALLAH le tout puissant  
de m'avoir donné la santé, la patience, la puissance  
et la volonté pour réaliser ce mémoire

À la plus belle créature au monde, à ♥ ma mère ♥;

À mon père, mes frères, ma sœur;

À M<sup>me</sup> Brihoum Hadjer qui nous a encadrés, pour sa  
patience, son aide pour la réalisation de ce mémoire

À mes adorables neveux et nièces;

À mes amies, Assia et Fairouz ;

À Latifa, À Fatiha

Et à tous ceux qui me sont chers

Khadidja ♥

## *Dédicace*

*À l'aide de dieu j'ai pu réaliser ce modeste travail que je le dédie  
à tous ceux que j'aime et que j'estime en particulier :*

*À ma très chère mère la plus belle chose dans la vie,*

*Son amour et son affection.*

*À mon cher père. Pour sa confiance et son respect se mes choix,*

*rien au monde ne vout les efforts fournis jour et nuit*

*pour mon éducation et mon bien être.*

*À M<sup>eme</sup> Brihoum Hadjer qui nous a encadré, pour sa*

*patience pour la réalisation de ce mémoire*

*À mes frères Ammar, Taher, Saadou, Adel et mes sœurs*

*À mes nièces Israa, Anfal*

*Et mon neveu Mohammed.*

*À tout ma famille,*

*À mes amies Assia et Khadidja.*

*À Mina, Khalissa, Sarra et Nour*

*Fairouz♥*



# *Sommaire*

## Sommaire

Liste des figures	
Liste des abréviations	
<b>INTRODUCTION</b> .....	<b>1</b>
<b>Chapitre 01 : La propolis et ses flavonoïdes</b>	
I.1. Historique.....	3
I.2. Définition .....	3
I.3. Rôle de la propolis dans la ruche .....	4
I.4. Origine de la propolis d'Algérie .....	4
I.5. Récolte de la propolis.....	4
I.5.1. Récolte par l'abeille .....	5
I.5.2. Récolte par l'homme .....	5
I.6. Composition chimique et caractères physicochimiques de la propolis .....	6
I.6.1. Composition chimique .....	6
I.6.2. Propriétés physico-chimiques de la propolis.....	7
I.6.2.1. Propriétés physiques ; caractéristiques organoleptiques.....	7
I.6.2.2. Propriétés chimiques de la propolis.....	7
I.7. Les flavonoïdes de la propolis Algérienne.....	8
I.8. Propriétés thérapeutiques de la propolis .....	10
I.8.1. Activité antioxydante .....	10
I.8.2. Effet anticancéreux et cytotoxique de la propolis .....	13
I.8.3. Effet anti-inflammatoire .....	13
I.8.4. Autres effets .....	14
I.9. Forme galénique.....	15
I.10. Conservation .....	16

## Chapitre 02 : Les anticancéreux et le stress oxydatif

I- Les caractéristiques pharmacologiques et la toxicité des anticancéreux .....	17
I.1. Le cyclophosphamide.....	17
I.1.1. Présentation de la molécule .....	17
I.1.2. Mode d'action.....	18
I.1.3. Pharmacocinétique.....	18
I.1.4. Toxicité.....	18
I.2. Le cisplatine .....	20
I.2.1. Présentation de la molécule .....	20
I.2.2. Mode d'action.....	20
I.2.3. Pharmacocinétique.....	21
I.2.4. Toxicité.....	22
I.3. Le 5-Fluorouracile.....	23
I.3.1. Présentation de la molécule .....	23
I.3.2. Mode d'action.....	24
I.3.3. Pharmacocinétique.....	25
I.3.4. Toxicités .....	25
I.4. Le méthotrexate (MTX) .....	26
I.4.1. Présentation de la molécule .....	26
I.4.2. Mode d'action.....	26
I.4.3. Pharmacocinétique.....	27
I.4.4. Toxicité.....	28
I.5. Les anthracyclines .....	28
I.5.1. Structure des anthracyclines .....	28
I.5.2. La doxorubicine .....	29
I.5.2.1. Présentation de la molécule .....	29
I.5.2.2. Mode d'action.....	29



I.5.2.3. Pharmacocinétique.....	31
I.5.3. L'épirubicine.....	31
I.5.3.1. Présentation de la molécule .....	31
I.5.3.2. Mode d'action.....	32
I.5.3.3. Pharmacocinétique.....	33
I.5.4. La toxicité des anthracycline .....	33
II. Toxicité liée au stress oxydatif .....	34
II.1. Les acteurs du statut oxydant cellulaire .....	34
II.1.1. Les radicaux libres et les espèces réactives de l'oxygène (ROS) en biologie : .....	34
II.1.2. Les sources biologiques des radicaux libres .....	36
a. Les sources endogènes .....	36
b. Les sources exogènes .....	37
II.1.3. Les effets physiologiques des ROS .....	37
a. Peroxydation lipidique.....	37
b. Oxydation des protéines .....	38
c. Oxydation de l'ADN .....	38
II.2. Systèmes de défense contre les ROS .....	38
II.2.1. Systèmes de défense enzymatiques.....	38
II.2.2 Systèmes de défense non enzymatiques.....	39
II.3. La cytotoxicité des anticancéreux et radicaux libres .....	39
II.3.1. Le stress oxydant induit par le cyclophosphamide.....	40
II.3.2. Le stress oxydant induit par le cisplatine .....	40
II.3.3. Le stress oxydant induit par le 5-Fluorouracile.....	40
II.3.4. Le stress oxydant induit par le méthotrexate.....	41
II.3.5. Le stress oxydant induit par les anthracyclines.....	41
 <b>Chapitre 03 : Influence de la propolis sur la toxicité des anticancéreux</b>	
1. Effet de la propolis contre la toxicité induit par le cyclophosphamide (CTX) .....	43

2. Effet de la propolis contre la toxicité induite par la cisplatine (CP) .....	46
3. Effet de la propolis contre la toxicité induit par le 5-Fluorouracile (5-FU).....	51
4. Effet de la propolis contre la toxicité induit par le méthotrexate (MTX) .....	53
5. Effet de la propolis contre la toxicité induit par la doxoribucine (DOX) .....	56
6. Effet de la propolis contre la toxicité induit par l'épirubicine (EPI).....	59
<b>CONCLUSION &amp; PERSPECTIVES</b> .....	<b>62</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b> .....	<b>63</b>

## *Liste des figures*

## Liste des Figures

<b>Figure 01</b> : Aspect de la propolis.....	03
<b>Figure 02</b> : Composition moyenne de la propolis.....	07
<b>Figure 03</b> : structure de base des flavonoïdes.....	08
<b>Figure 04</b> : Les caractéristiques structurales des flavonoïdes avec une activité élevée de piégeage des radicaux libres.....	12
<b>Figure 05</b> : Structure De Cyclophosphamide.....	18
<b>Figure 06</b> : Mécanisme de néphrotoxicité du cyclophosphamide.....	21
<b>Figure 07</b> : La formule du CDDP.....	22
<b>Figure 08</b> : Mécanisme d'action de cisplatine.....	23
<b>Figure 09</b> : structure chimique du 5-Fluorouracile.....	26
<b>Figure 10</b> : Mécanisme d'action du 5-Fluorouracil.....	27
<b>Figure 11</b> : Mode d'action du MTX après pénétration cellulaire.....	29
<b>Figure 12</b> : Structure moléculaire de la doxorubicine.....	33
<b>Figure 13</b> : Structure chimique et métabolisme d'épirubicine.....	35

# *Liste des abréviations*

## Liste des abréviations

**5- FU** : 5-Fluorouracile

**ALDH** : Aldéhyde déshydrogénase

**AMPK** : protéine kinase active par l'AMP

**CAPE**: L'ester phényléthylique de l'acide caféique

**CAT** : Catalase

**CDDP** : Cisplatine

**CK** : Créatine kinase

**CTX** : Cyclophosphamide

**DECP** : Déchloroethylcyclophosphamide

**DHFR** : Dihydrofolate réductase

**DOX** : Doxorubicine

**DPPH**: 2, 2-diphénylpicrylhydrazyl

**EEP** : Extrait Ethanolique de la Propolis.

**EPI** : Epirubicine

**ERO** : Espèces réactives de l'oxygène.

**FPGS** : Foyl-polyglutamate synthétas

**GPx**: Gluthation Peroxydase.

**GSH** : Glutathion réduit

**GSSG** : Glutathion oxydé

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : Eau Oxygénée.

**IFN $\gamma$**  : Interféron gamma

**LDH**: Lactate Déshydrogénase.

**MDA** : Malondialdéhyde

**MTX** : Méthotrexate

**NAD** : Nicotinamide Adénine Dinucléotide.

**NADH** : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Hydrogène.

**NADP+** : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate.

**NADPH** : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate Hydrogène.

**NF-  $\kappa$ B** : Facteur nucléaire kappa B

**ONOO<sup>-</sup>** : Peroxynitrite

**ONOOH** : Nitroperoxyde

**ORL** : Oto-Rhino-Laryngologie.

**P 450** : Cytochrome P 450

**P38** : Protéine 38

**QE** : Quercitine

**RL** : Radical libre

**RMN** : Résonance Magnétique Nucléaire

**RNS**: Espèce reactive de l'azote

**RO<sup>•</sup>**: Radical alkoxyle

**ROO<sup>•</sup>** : Radical peroxy,

**ROS** : Espèces réactif de l'oxygène

**SOD** : Superoxyde dismutase

**TRAIL**: ligant induisant l'apoptose lié au facteur de nécrose tumorale

# ***INTRODUCTION***



Le cancer est une maladie liée à la prolifération incontrôlée de certaines cellules devenues anormales pouvant former une tumeur maligne et même se propager à travers le corps, et il constitue par l'importance du nombre de personnes qu'il atteint un problème majeur de santé publique.

La chimiothérapie consiste en l'administration de substances chimiques, cytotoxiques sur les cellules souches, dans le but d'arrêter ou de ralentir l'évolution de la multiplication des cellules tumorales, ainsi que pour limiter ou prévenir la formation des métastases. La chimiothérapie est également utilisée pour réduire la taille d'une tumeur trop volumineuse et faciliter ainsi son traitement par la chirurgie (Chabner & Roberts, 2005).

L'inconvénient c'est que cette thérapie anticancéreuse présente des effets secondaires en agissant sur les cellules à division rapide, ce qui peut entraîner des fortes toxicités en particulier des hépatotoxicités, des néphrotoxicités et des atteintes hématologiques pouvant aller jusqu'à la mort (Devita et *al.*, 2008). En effet, la plupart des études mettent en jeu le rôle du stress oxydatif dans ce processus qui est induit par la formation des radicaux libres. Ces radicaux, en particulier l'anion superoxyde et le radical hydroxyle, jouent le rôle le plus important dans l'induction de la cytotoxicité et en augmentant le risque de la peroxydation lipidique (Sarawoot et *al.*, 2013).

Au cours des dernières décennies, et malgré la découverte de nouveaux composés en chimie de synthèse, les sources naturelles restent le principal fournisseur de nouveaux médicaments et de nouvelles structures chimiques. Nous assistons donc à un regain de la phytothérapie surtout pour les produits riches en polyphénols, et principalement en flavonoïdes qui ont montré des propriétés biologiques antioxydantes intéressantes (Kurek-Górecka et *al.*, 2013).

Pour contenir la toxicité de la chimiothérapie, une étude a montré l'efficacité de l'extrait de la propolis, Cette substance naturelle riche en flavonoïdes lui confère la capacité de protéger les cellules contre les dommages de la peroxydation des lipides membranaires et de piéger les radicaux libres (Alyan et *al.*, 2008).

Dans le monde entier, de nombreuses études sont consacrées à la propolis, source importante de composés phénoliques, notamment les flavonoïdes; divers substances de propolis récoltées de différentes régions du monde ont été identifiées; dont les acides phénoliques, les flavones, les flavonols et les flavanones ; Beaucoup de travaux ont montré que cette substance est composée essentiellement de flavonoïdes, Cette composition varie en fonction de son origine, de l'espèce d'abeille et du temps de la récolte (Park et *al.*, 2002).

Plusieurs propriétés biologiques et pharmacologiques ont été attribuées à la propolis, y compris les activités anti-microbienne : antivirale (Murad et *al.*, 2002), anti-inflammatoire, antioxydante (Nieva Moreno et *al.*, 2000), anticancéreuse (Padmavathi et *al.*, 2006), hépatoprotective et immunostimulatrice (Kim et *al.*, 2008).

Dans ce travail nous s'intéressons à l'effet de l'extrait de la propolis au cours du traitement anticancéreux et montrons qu'une supplémentation avec cette substance bioactive peut réduire les effets indésirables des médicaments chimiothérapeutiques et ce en déterminant l'activité antioxydante et protectrice de la propolis sur les différents tissus contre un stress oxydatif induit par les médicaments anticancéreux: le cisplatine, le méthotrexate, le 5-Fluorouracil, l'épirubicine, la doxorubicine et le cyclophosphamide, et en explorant les systèmes de détoxification antioxydants enzymatiques et non enzymatiques.

Dans le premier chapitre, nous allons parler sur la propolis comme substance bioactive et de ses flavonoïdes en montrant ses propriétés thérapeutiques à savoir l'activité antioxydante, cytotoxique, anti-inflammatoire et anti-microbienne.

Dans le deuxième chapitre, nous allons parler sur les anticancéreux en discutant leurs caractéristiques pharmacologiques et leur toxicité liée au stress oxydatif sur différents tissus et organes.

Dans le dernier chapitre, nous allons parler sur le rôle de la propolis dans la prévention et la réduction des effets secondaires dus aux agents chimiothérapeutiques dans différents tissus en explorant les systèmes de détoxification antioxydants et ce afin de donner un espoir de son utilisation à l'avenir comme complément à thérapie standard contre le cancer.

***Chapitre 01***  
***La propolis et ses flavonoïdes***

## I.1. Historique

Dès l'Antiquité, la propolis était employée comme moyen thérapeutique contre les affections de la peau, les plaies et les suppurations. Égyptiens, Grecs, Romains, Mayas utilisaient les produits issus de la ruche à des fins préventives, curatives et alimentaires.

La propolis avait un rôle religieux dans l'Égypte ancienne (3200 à -1100 ans av JC), les Égyptiens utilisaient cette résine pour embaumer les morts, elle était réputée pour ses propriétés conservatrices et son arôme. On l'employait aisément lors de la momification (Crane, 1999). Les Grecs (700 à -600 ans av JC) ont observé que cette substance résineuse se situait à l'entrée de la ruche comme barrière de protection contre les prédateurs (Golder, 2004).

Les Arabes connaissaient aussi la propolis. Avicenne a parlé de deux sortes de cire: la cire propre et la cire noire, cette dernière étant probablement la propolis. Il a dit: «par sa forte odeur, elle fait éternuer...» et «Elle a la qualité de faire éliminer les pointes des flèches et des épines, raréfie, nettoie facilement et amollit fortement» (Crane, 1999; Fearnley, 2001).

Elle était reconnue pour son action antiseptique, anesthésique et cicatrisante (Ransome, 1937; Fearnley, 2001).

## I.2. Définition

La propolis ou colle d'abeille est un mastic végétal (Loiriche, 1984 ; Nagai et *al.*, 2003), qui désigne un ensemble de substances résineuses, gommeuses et balsamiques (Alexandare, 1984), récoltées par les abeilles (*Apis Mellifera*) butineuses (Prost, 1984) sur les écorces et les bourgeons essentiellement à partir de plantes variées telles que les bouleaux, les peupliers, les chaînes, les saules, les conifères et bien d'autres encore. (Debuyser, 1984 ; Bankova et *al.*, 2000).



**Figure 01** : Aspect de la propolis (Ferhoum, 2010)

La propolis est de consistance visqueuse et amalgamée à une sécrétion salivaire des abeilles, a de la cire et du pollen auxquels s'y rajoutent aussi beaucoup d'impuretés liées à l'exploitation

des ruches par l'apiculteur ; d'où la nécessité de la purifier avant son utilisation (Prost, 1984). Les herboristes attribuent à la propolis plusieurs vertus qui font d'elle un remède utile pour combattre les infections de toutes sortes (Cardile et *al.*, 2003).

### **I.3. Rôle de la propolis dans la ruche**

Au sein de la ruche, la propolis a un double intérêt, architectural et sanitaire :

- Un intérêt architectural : les abeilles l'utilisent comme un véritable mortier qui permet le colmatage des fissures ou interstices et donc l'étanchéité. Par ailleurs il est aussi utilisé pour le renforcement des rayons ou parties endommagées de la ruche ce qui permet d'assurer la protection de la colonie en réduisant les possibilités d'entrée dans la ruche.

- Un intérêt sanitaire : la propolis est la substance aseptisante de la ruche de par ses propriétés anti-infectieuses (antibactérienne et antifongique). Une fine couche y est déposée dans les alvéoles où les reines pondent les œufs afin d'éviter la prolifération de bactéries telle que le *paenibacillus larvae* (loque américaine). Elle sert également à momifier les animaux intrus morts (souris par exemple), trop imposants pour être évacués de la ruche par les abeilles elles-mêmes, ce qui évite leur décomposition (M Gonnet, 1968).

### **I.4. Origine de la propolis d'Algérie**

Il existe plusieurs types de propolis qui sont en fonction de la zone géographique de la ruche, des végétaux présents sur cette zone, de la disponibilité des végétaux pendant la saison et de l'espèce de l'abeille. Tout ça explique que l'on trouve des propolis de couleur jaune ambre jusqu'au brun foncé en passant par des variétés qualifiée de vertes ou de rouges. L'abeille va aller chercher sa résine dans son écosystème et c'est bien de cet écosystème que va dépendre la composition de la propolis (Burdock, 1998).

Selon la flore botanique disponible en algérie, on peut déduire que notre propolis est d'origine soit du pin (*pinus sp*) qui occupe les zones semi-arides, le chêne (chêne liège et chêne zeen) qu'on trouve en nord-est du pays, chataignier, cyprès(*cupressus sp*), casuarina, et le peuplier (*populus sp*).

D'après une étude faite sur la propolis algérienne, récolté dans quatre régions (Tlemcen, Guelma, M'sila, Tzi-ouzou ), nous pouvons conclure que: les échantillons analysés ont comme source principale le peuplier (*populus nigra*) avec la participation d'autres espèces sauf pour l'échantillon de tzi-ouzou, car on remarque l'absence de Pinocebrin, Pinobanksin, Chrysin et Galangin (Moudir, 2004).

### **I.5. Récolte de la propolis**

La récolte de la propolis s'effectue d'abord par l'abeille puis par l'homme (Donadieu, 1992).

### **I.5.1. Récolte par l'abeille**

La fabrication de la propolis se fait à la base par les résines récoltées, ces tâches sont assurées par un nombre restreint de butineuses au sein d'une colonie d'abeille puisque elles ne semblent pratiquement effectuer aucun autre travail (Debuyser, 1984).

La récolte de la propolis par les abeilles suivant 4 étapes :

- A l'aide de ses antennes, l'ouvrière butineuse repère la source de résines, puis avec ses mandibules elle en détache un fragment en s'aidant parfois de pattes antérieures.
- Le morceau est modelé par les mandibules et pris avec les pattes antérieures, tout en mélangeant à d'autres substances de leurs propres sécrétions à fin de fabriquer de la propolis.
- Celui-ci est alors transféré aux pattes du milieu.
- Par un mouvement rapide la propolis est finalement déposée dans la corbeille (corbicules) de pattes postérieures, ou elle est transportée jusqu'à la ruche (Debuyser, 1984).

### **I.5.2. Récolte par l'homme**

La propolis peut être récoltée selon plusieurs techniques :

#### ➤ **Techniques traditionnelles**

Par raclage et grattage des cadres et des parois de la ruche, de préférence température assez basse, car la propolis est alors dure et fragile, se détachant mieux de son support (Debuyser, 1983).

#### ➤ **Techniques biotechnologiques**

Par l'utilisation de différents dispositifs (grille moulée en matière plastique souple, en acier inoxydable, en bois ou textile synthétique), qui est posé sur les rayons de la ruche et dont les abeilles s'empressent d'obturer les orifices avec la propolis, cette utilisation permet une récolte ponctuelle durant les périodes de grande production.

Et en dehors des périodes de traitement des ruches. La quantité récoltée par l'abeille est très variable en fonction des abeilles et de l'environnement ; elle se situe généralement entre 100 et 300 gramme par an et par ruche (Caillas, 1974 ; Debuyser, 1983). La récolte est favorisée si on place la ruche en courant d'air.

La grille en bois, principalement utilisée en Asie, permet un grattage immédiat des barreaux (Debuyser, 1983).

L'utilisation de grilles spécifique qui se placent sur la tête des cadres sans isolant par-dessus peut améliorer la quantité de produit (Debuyser, 1983).

## I.6. Composition chimique et caractères physicochimiques de la propolis

### I.6.1. Composition chimique

La composition chimique de la propolis a éveillé l'intérêt de nombreux chercheurs. Plusieurs travaux ont été effectués sur des propolis de différents pays et ont abouti aux conclusions suivantes : la composition chimique de la propolis varie selon l'origine botanique (Bankova et *al.*, 2000 ; Popova *al.*, 2002), l'espèce d'abeille, le temps de la récolte et la zone géographique (Ghisalberti, 1979), mais elle présente tout de même qualitativement de nombreuses substances qui s'y retrouvent de façon constante et relativement stable (Justin, 1996).

La composition de la propolis est variable selon la source végétale visitée par les abeilles. On connaît actuellement plus de 300 composants différents de la propolis qui ont été identifiés par les méthodes d'analyse moderne : chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse (Kumazawa et *al.*, 2004).

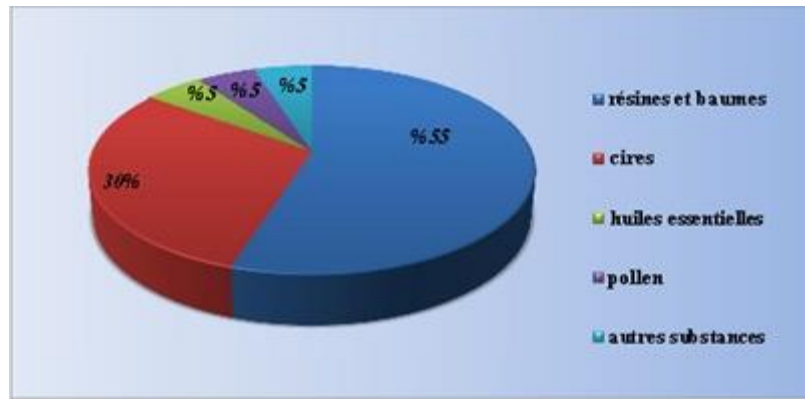
Outre l'origine botanique, d'autres facteurs sont responsables de sa composition spécifique comme les modifications générées à travers les sécrétions hypo-pharyngiennes de l'abeille qui vont apporter d'autres éléments spécifiques en plus de certaines transformations (hydrolyse des hétérosides de flavonoïdes en aglycone) (Viuda-Martos et *al.*, 2008).

Les constituants de la propolis du point de vue de l'activité pharmacologique sont :

- Les flavones, et les flavonones, communément appelés les flavonoïdes.
- Les phénols (antiseptique).
- Les substances aromatiques : vanilline et isovanilline (principes odorants de la vanille).

La propolis est composée essentiellement de cire, résine et produits volatiles. La cire est sécrétée par les abeilles. Les deux autres composants proviennent des sécrétions des plantes butinées lors de la collecte de la propolis (Marcucci, 1995).

D'une manière générale la propolis est composée de 45 à 55% de résine contenant principalement des flavonoïdes et des acides phénoliques ainsi que leurs esters (Bankova et *al.*, 1982, 1992), 25 à 35% de cire, 5% de pollen (Metzner et *al.*, 1997) et 5% d'autres composés organiques avec comme minéraux: calcium, magnésium, fer, zinc, silice, potassium, phosphore, manganèse, cobalt (Metzner et *al.*, 1997) et vitamines: A, B1, B2, B3, C, E, H et la vitamine P (Ghisalberti, 1979 ; Ivanov, 1980).



**Figure 02 :** Composition moyenne de la propolis (Benhammou, 2012).

## I.6.2. Propriétés physico-chimiques de la propolis

### I.6.2.1. Propriétés physiques ; caractéristiques organoleptiques

la propolis possède une odeur variable suivant son origine, en générale arôme agréable douceâtre, mélangé à celui de miel, de la cire et d'autre produits (cannelle, vanille) (Tosi et *al.*, 2006). Sa saveur est souvent acre, parfois elle peut être amère (Popova et *al.*, 2010).

La couleur varie très fortement selon l'âge et l'origine botanique et géographique, du brun jaune au brun vert ou du brun rouge au rouge foncé selon l'origine botanique et géographique (Tosi et *al.*, 2006). De façon caractéristique, elle est une substance lipophile, dur et fragile à froid, mais douce, souple, et très collante à chaude, d'où le nom de beeglu (Bogdanov et *al.*, 2007).

A 15 °C elle est dure et friable, à 30°C elle est molle et malléable, alors qu'entre 30 °C et 60 °C elle est coulante et gluante (Krell, 1996).

### I.6.2.2. Propriétés chimiques de la propolis

#### La Solubilité

Très peu hydrosoluble, la propolis est partiellement soluble dans l'alcool, l'acétone, l'éther, le chloroforme et le benzène. Seul un mélange adéquat de différents solvants permet de dissoudre la quasi-totalité de ses composants (Raoul, 1992).

La partie insoluble est constituée de tissus végétaux, de grains de pollen, de débris de cuticule et de soie d'abeille (Debuyser, 1984).

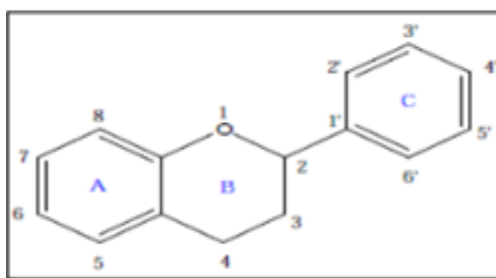
#### La densité

La densité de la propolis est de 1,2 en moyenne (soit supérieure à celle de l'eau) (Nader El housseini, 2013).



### I.7. Les flavonoïdes de la propolis Algérienne

Les flavonoïdes jouent un rôle important dans la pigmentation des plantes. On dénombre dans la propolis pas moins de 60 flavonoïdes ( Kumazawa et *al.*,2004). La propolis comporte pas mal de substances comme la Galangine , kaempferine, quercétine, pinocembrine, la chrysrine, l'Acacétine,pinostorbin ...etc (Marcucci,1995 ; pellati et *al.*,2011,). les Galangines, pinocembrine et pinostorbin ont été reconnue comme les plus efficaces agents des flavonoïdes contre les bactéries (Cushine et *al.*,2007 ;Yang et *al.*,2011) tandis que la cytotoxicité a été évaluée pour la chrysrine ,le kaempférol , acacetin, galangine et la quercétine (Nolempet et *al.*,2009) et l'activité antifongique pour pinobanksine, pinocembrine, chrysrine et galangine (Yang et *al.*,2011).



**Figure 03 :** Structure de base des flavonoïdes (Muanda , 2014).

Ils sont des métabolites secondaires synthétisés par les plantes comme une réponse au stress environnemental et aux infections microbiennes (kalogeropoulos et *al.*, 2009). Ils comprennent 15 atomes de carbone formant une structure C6-C3-C6 commune contenant deux noyaux aromatiques reliés par un pont de trois atomes de carbone, généralement organisée sous la forme d'un cycle hétérocyclique oxygéné (Petruzza et *al.*, 2013). Ces flavonoïdes diffèrent les uns des autres par la position des substitutions sur les noyaux A et B, et la nature de C pour former les différentes classes des flavonoïdes qui sont principalement: les flavones et les flavonols tel que le kamphérol et la quercétine ces derniers possèdent un très fort pouvoir antioxydant en raison de leur structure chimique favorable au piégeage des radicaux libres, il y a aussi les flavanols, les flavanones des isoflavones et des anthocyanidines (Saito et *al.*, 2013; Leyva-lópez et *al.*, 2016).

Les étapes cruciales du métabolisme des flavonoïdes chez l'être humain se déroulent au niveau du foie. Tout d'abord, les flavonoïdes nutritionnels sont absorbés par le tractus gastro-intestinal. Après hydrolyse des liaisons hétérosidiques (reliant la génine à la chaîne sucrée) dans l'environnement acide de l'estomac et des cellules épithéliales de l'intestin grêle, une libération des glycosides de l'aglycone qui est la forme est la seule susceptible d'être réabsorbé, sera effectué. Environ 15% des aglycones sont absorbés sous forme de micelles (en

présence de la bile) par les cellules épithéliales, ils seront liés à l'albumin (Kuhnle et *al.*, 2000) et transmis à la lymphe puis le foie par la veine porte hépatique (Havsteen, 2002). Les flavonoïdes ne sont ni accumulés ni stockés par le foie. Dans les hépatocytes, ils sont transportés vers l'appareil de Golgi et aussi vers les peroxysomes où ils seront dégradés par oxydation. Les flavonoïdes conjugués et non convertis résultants sont distribués par le système circulatoire vers les différents tissus et transformés par le métabolisme intracellulaire. (Karabin et *al.*, 2015). Les produits de la décomposition des flavonoïdes sont complètement excrétés avec l'urine alors que les formes conjuguées sont excrétés dans la bile. Le reste des flavonoïdes sont excrétés avec les fèces et certains dans l'urine (Havsteen, 2002).

Peu d'étude sur la composition chimique de la propolis algérienne sont trouvée dans la littérature par rapport à celle de différents pays, qui ont été largement étudiées.

Velikova (2000) a étudié la composition chimique de la propolis de M'Sila située au centre d'Algérie. Les flavonoïdes de la propolis trouvés dans cette région sont la Chrysin, la Galangin, la Sakuranetin, la Pinocebrin, la Pinobanksin et la Pinobanksin. Cette propolis affiche le modèle typique de la «propolis de type populaire» car elles contiennent une combinaison de métabolites secondaires caractéristiques des bourgeons de *Populus spp.* de la section Aigeiros (Velikova et *al.*, 2000).

Une autre étude sur la propolis du nord algérien de la ville de Jijel a révélé la présence des principaux flavonoïdes qui sont la pinostrobine chalcone, la pinocembrine, la galangine (flavanon), la naringénine (flavanon) et la chrysin et tectochrysin (flavone) (Lahouel et *al.*, 2010). Par la suite la propolis de la même région a été étudié en utilisant des techniques spectroscopiques, a montré la présence de 5 composants de flavonoïdes de la classe des flavones qui sont la pectolarigénine (5,7-dihydroxy-6,40-diméthoxy-flavone), la pilosin (5, 7, 8-trihydroxy-6,40-diméthoxyflavone), ladanein (6,7-dihydroxy-7,4-diméthoxyflavone), la chrysin (5,7-dihydroxyflavone) et l'apigenin (5,7,4-trihydroxyflavone) (Segueni et *al.*, 2016).

Piccinelli et *al.* (2013), a démontré que certains échantillons de propolis algérienne collectés dans différentes régions du nord du pays, ont montré une composition polyphénolique différente à celle de la propolis recueilli à Jijel où deux différents types, directement liés à leurs constituants, ont été identifiés: propolis algérien de type polyphénol (PAP), riche en composés polyphénoliques, et propolis algérien diterpène (DAP), source abondante en diterpènes. Les principaux métabolites secondaires de ces deux types ont été ensuite identifiés par des méthodes chromatographiques préparatoires suivies d'analyses par

résonance magnétique nucléaire (RMN) et spectrométrie de masse (MS) suivie de deux méthodes HPLC-MS / MS spécifiques aux marqueurs PAP et DAP ont été développées pour étudier et comparer la composition chimique des ces échantillons de propolis.

Deux flavones (chrysin et apigénin), deux flavonols (kaempferol et galangin) et trois flavanonols (pinobanksin, pinobanksin 3-acétate et pinobanksin) ont été identifiés. Ces composés ont été préalablement isolés à partir de propolis de différentes origines, principalement produites dans les régions tempérées. (Piccinelli et *al.*, 2013). Une récente étude a montré que la propolis algérienne présente une ressemblance à la propolis du centre et du nord de la Grèce, ainsi que celle de la Croatie, caractérisés par des quantités relativement élevées de flavonoïdes et une faible teneur en diterpène. Selon Soltani et *al.* parmi les différents composants trouvés dans la propolis de l'est d'Algérie à Sétif, les flavonoïdes tel que la chrysin et le 2'-O-methylcajanone (isoflavonoïdes) (Soltani et *al.*, 2017).

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

## **I.8. Propriétés thérapeutiques de la propolis**

### **I.8.1. Activité antioxydante**

Un antioxydant est une molécule capable de ralentir ou d'empêcher l'oxydation d'autres molécules et ainsi d'empêcher de tels changements. L'effet antioxydant est en corrélation avec l'activité anti-inflammatoire et hépatoprotectrice.

Cette propriété antioxydante des flavonoïdes est due à leur composition chimique, ces composés ont la propriété de piéger les radicaux libres responsables de la détérioration des lipides membranaires. Cette activité radicalaire est mise en évidence vis-à-vis du radical DPPH.

C'est la fraction la plus concentrée des flavonoïdes qui réduit le mieux les radicaux libres en protégeant les lipides et autres substances comme la vitamine C (Buratti et *al.*, 2007). De plus, elle permet aussi une régénération des tissus en cas de brûlure et un ralentissement du vieillissement des cellules (Veloza et *al.*, 2008).

La propolis est remarquable pour ses propriétés antioxydantes et qui est plus active que le reste des produits de la ruche en ce qui concerne cette propriété (Volpi et Bergonzini, 2006). Les effets antioxydants relativement puissants de l'extrait éthanolique de la propolis (EEP) provenant de différentes origines géographiques (Argentine, Australie, Chine, Hongrie et Nouvelle-Zélande) ont été corrélés avec des teneurs élevées en polyphénols et flavonoïdes, en particulier le kaempferol et le phénéthyl caffeate (Kumazawa et *al.*, 2004). D'autres échantillons de propolis provenant de Turquie et de différentes régions de Corée ont donné des résultats similaires (Ahn et *al.*, 2004). L'acide ferulique, la quercétine, l'acide caféique, les composés prénylés, l'apigénine ainsi que la galangine, l'acide p-coumarique et l'CAPE (caffeic acid phenethyl ester) ont été identifiés comme composés bioactifs responsables du potentiel antioxydant dans différents échantillons de propolis (Fischer et *al.*, 2007). En plus des composés cités, Oyaizu et *al.* (1999) ont rapporté que l' $\alpha$ -tocophérol est contenu dans presque tous les échantillons de propolis et est fortement corrélé avec son effet antioxydant.

Les flavonoïdes peuvent agir contre l'oxydation selon deux mécanismes: soit en empêchant la formation ou piègent les ROS responsables de l'initiation de l'oxydation et dans ce cas les flavonoïdes sont dits préventifs (ou retardateurs), soit par l'interromption de la phase de propagation de l'oxydation des radicaux, les flavonoïdes sont dits briseurs de chaîne.

✓ **Effet préventif du stress : par chélation des ions métalliques**

De nombreux composés flavonoïdes peuvent chélater les ions métalliques de transition, principalement le fer et le cuivre, qui exercent des fonctions physiologiques dans l'organisme (cofacteurs d'enzymes et des composants des protéines) et est responsable de la création des radicaux libres en catalysant la réduction de  $H_2O_2$  en radical hydroxyle (OH) très réactif.

✓ **Effet briseur de chaîne ou chain breaking : par piégeage des radicaux libre**

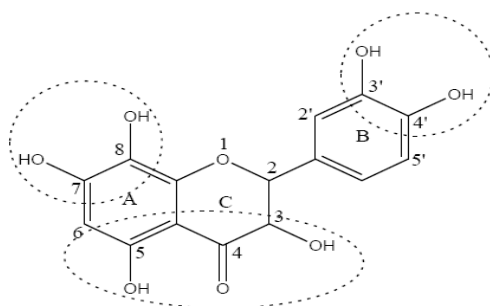
La neutralisation des radicaux libres par les flavonoïdes peut être engendrée en donnant un électron ou un atome d'hydrogène, avec une activité antioxydant étroitement liées à leur structure chimique (figure 04), idéale pour le piégeage des radicaux libres:

- Dans le cycle C, la double liaison stabilisatrice entre le carbone C-2 et le carbone C-3 conjuguée avec le groupe 4-céto est la raison de la délocalisation des électrons du noyau B. cette dernière est la responsable de l'activité antiradicalaire. Lors de la réaction des composés avec les radicaux libres, des radicaux phénoxy ( $AO^{\bullet}$ ) sont créés et stabilisés par l'effet de la résonance électronique du noyau aromatique.
- la présence du groupe o-dihydroxy (structure des catéchol) dans le noyau aromatique B, qui présente une capacité significative de "piégeage" des radicaux d'oxygène (ROS) et de radicaux azotés (RNS) et assure la stabilité élevée du radical phénoxy créé et donc

une difficulté à initié une nouvelle réaction en chaîne, ainsi que la présence des groupes hydroxyle (3',4'-dihydroxy) dans ce noyau qui sont des donneurs d'électrons et d'hydrogène aux radicaux libres.

- Dans les cycles A et C, les groupes hydroxyle près du carbone C-3 et C-5 en présence de groupes 4-céto génèrent un maximum d'effet de piégeage des radicaux libres (Kurek-Górecka *et al.*, 2014).

Les flavonoïdes, en raison de leur faible potentiel redox, sont thermodynamiquement capables de réagir avec des formes d'oxygène hautement réactives  $R^\bullet$  comme  $l'O_2^\bullet$ ,  $l'OH^\bullet$ , alkoxyles ( $RO^\bullet$ ) et les  $ROO^\bullet$  en donnant un atome d'hydrogène :  $FL-OH + R^\bullet \rightarrow FL-O^\bullet + RH$



**Figure 04** : Les caractéristiques structurales des flavonoïdes avec une activité élevée de piégeage des radicaux libres (Amić *et al.*, 2003).

#### ✓ Inhibition enzymatique :

Les flavonoïdes ont la capacité d'interagir si fortement avec les protéines en raison de la présence de multiples fonctionnalités phénol (Handique et Baruah, 2002). Les phénomènes d'interaction flavonoïdes-protéines ont été largement étudiés *in vitro*. Des études ont été réalisées sur l'effet des flavonoïdes sur l'oxydation de l'acide linoléique ou acide arachidonique en acides gras polyinsaturés par une lipoxigénase, afin de préciser le mécanisme d'action de l'activité inhibitrice. Les études ont constaté que ce mécanisme d'inhibition ne serait pas dû à une oxydation ou à une complexation du  $Fe^{2+}$ , mais plutôt à une inhibition irréversible résultant de liaisons covalentes entre l'enzyme et les dérivés oxydés de ces flavonoïdes.

Certains sont des inhibiteurs compétitifs de la xanthine oxydase, une oxydase de la NADPH, enzyme clé du stress oxydatif responsable de l'apparition du radical d'anion superoxyde et cela grâce à la double liaison C2-C3. Ils inhibent également d'autres enzymes, notamment la protéine kinase C, l'acide ascorbique oxydase, la cyclooxygénase, la lipoxigénase (Kurek-Górecka *et al.*, 2014).

Les propriétés antioxydantes sont également diminuées par la présence de groupes méthoxy dans la position C-3 des flavonoïdes. Les propriétés antioxydantes les plus puissantes sont représentées par des flavon-3-ols (par exemple : quercétine, myricétine et morine), flavan-3-ols-catéchines (Gallate d'épicatéchine, gallate d'épigallocatechine, épigallocatechine et catéchine) anthocyanidines (cyanidine) (Heim, 2002).

### **I.8.2. Effet anticancéreux et cytotoxique de la propolis**

Orsolio (2010), a montré l'activité chimio préventive de la propolis dans des modèles animaux et les cultures cellulaires par : leur capacité à inhiber la synthèse d'ADN dans les cellules tumorales, leur capacité à induire la mort cellulaire des cellules tumorales, ainsi que leur propriétés à activer les macrophages par production des facteurs capable de réguler la fonction des cellules B, T et NK. En effet, Sforcin (2007) avait déjà rapporté une stimulation de l'activité lytique des cellules NK contre les cellules tumorales par l'augmentation de la production des anticorps.

Des études *in vitro* et *in vivo* ont montré la capacité de l'apigénin, kaempferol et la quercétine, a augmenté nettement l'apoptose en modulant l'expression et en renforçant l'activité apoptotique du «ligand induisant l'apoptose associée au facteur de nécrose de tumeurs» (TRAIL) contre les cellules du cancer qui sont résistantes à la cytotoxicité médiée par ce dernier. Il a été aussi montré que la propolis affecte les deux voies apoptotiques intrinsèque et extrinsèque et régule l'activité du facteur de transcription NF- $\kappa$ B (Szliszka et al., 2009 ; Szliszka et al., 2011).

### **I.8.3. Effet anti-inflammatoire**

Plusieurs mécanismes d'actions ont été proposés pour expliquer l'effet anti-inflammatoire de la propolis qui est l'un des importants effets médicinaux de cette dernière : l'inhibition de l'activation de certaines molécules du système immunitaire, inhibition de certaines enzymes impliquées dans la voie métabolique de l'inflammation.

L'inhibition de la synthèse de NO, de prostaglandines (par l'inhibition de la prostaglandine synthétase, empêchant ainsi la synthèse des prostaglandines, composants responsables de la réaction inflammatoire) et des cytokines inflammatoires par ces flavonoïdes de la propolis lui confère l'effet anti-inflammatoire. Son mécanisme est sensiblement proche de celui de l'Aspirine.

Song et al. ont indiqué que l'EEP inhibait non seulement l'activité catalytique du NO mais aussi l'expression de son gène au niveau de la transcription par la suppression de l'activation

de NF- $\kappa$ B (nuclear factor-kappa B) (Song et *al.*, 2002). Il stimule l'activité chimiotactique des neutrophiles à différentes concentrations (Sampietro et *al.*, 2016).

Le CAPE s'est révélé être le plus puissant modulateur du métabolisme de l'acide arachidonique à la base de la synthèse des leucotriènes et des prostaglandines pro-inflammatoires (Chung et *al.*, 2004).

#### **I.8.4. Autres effets**

- **Effet hépatoprotecteur**

De nombreux travaux ont montré l'effet protecteur de la propolis contre la toxicité des médicaments anticancéreux (Lahouel et *al.*, 2004). De plus, la propolis possède un effet hépatoprotecteur contre la toxicité du paracétamol (Seo et *al.*, 2003), du CCl<sub>4</sub> (El-Khatib et *al.*, 2002) et de l'alcool (Lin et *al.*, 1999). Ces effets sont en rapport avec les propriétés antioxydantes de cette substance.

- **Effet cardiovasculaire**

La propolis diminue la tension sanguine et produit un effet sédatif en maintenant le niveau de sérum du glucose dans le sang. Les dihydroflavonoïdes contenant la propolis renforcent les capillaires. Elle produit une activité antihyperlipidique (Kedzia et *al.*, 1986).

- **Effet digestives**

Elle est inhibitrice des spasmes des voies digestives. Elle protège l'estomac contre des lésions induites par l'éthanol. L'extrait de propolis agirait en inhibant la lipoxigénase et protège la muqueuse gastrique du stress oxydatif.

La propolis peut également être utilisée chez les personnes atteintes de radiations ionisantes ou dans le cadre d'hyperacidité gastrique, ceci en freinant la sécrétion acide de l'estomac grâce à la luteoline, l'apigénine, la chrysin et l'artépilline C qui a une action directe sur *Helicobacter pylori* (Blanc Mickaël, 2010).

- **Effet anesthésique**

La propolis est un puissant anesthésique ceci grâce à l'activité des huiles volatiles de celle-ci. (Burdock, 1998). Les études ont démontré que cette résine est 52 fois plus puissante que la cocaïne dans les tests sur les cornées de lapin, (Ghisalberti, 1979).

- **Effet cicatrisante**

La propolis possède un effet stimulant sur le métabolisme cellulaire, la circulation, et la formation du collagène (Ghisalberti, 1979). De plus, elle répare en un temps record l'épiderme abîmé (régénération de tissu) (Burdock, 1998).

- **Effets immun modulateurs**

La propolis a une action immuno-modulatrice en inhibant *in vitro* et *in vivo* les macrophages murins péritonéaux. Elle stimule l'effet lytique sur les cellules NK contre les cellules tumorales et inhibe la lymphoprolifération induite par l'inflammation. L'effet immunologique est patent quand la propolis est donnée aux animaux sur un court terme (Sforcin, 2007). La propolis agit directement sur la régulation de base des fonctions des cellules immunitaires, en particulier celles qui sont liées à MAP-kinase. Par là, elle a un effet anti-inflammatoire important en passant par des mécanismes faisant intervenir des cellules T-immuno régulatrices (Ansorge et *al.*, 2003).

- **Effet sur la glycémie**

Une étude a également confirmé que chez les patients présentant le diabète de type 2, la propolis aurait un effet hypoglycémiant et contribuerait à la diminution du risque du syndrome métabolique (Lancette, 1998). La propolis stimulerait l'activité cellulaire et accélérerait la régénération des tissus et la réparation des cellules pancréatiques endommagées (Chem, 1998).

- **Effet sur la sphère respiratoire**

Selon une étude menée auprès de 46 sujets, la propolis a atténué sensiblement le nombre et la gravité des crises nocturnes d'asthme, amélioré la fonction respiratoire et diminué les mécanismes de l'inflammation (Khayyal et *al.*, 2003).

Les résultats d'une étude polonaise menée sur 55 personnes atteintes d'une forme extrême de bronchite chronique et soumises à un traitement à base de propolis, avaient montré qu'au bout de plusieurs jours, la quantité et la viscosité des expectorations diminuèrent sensiblement et l'état général des malades s'améliora dans 70 % des cas (Sheller et Pawlak, 1981).

- **Effet sur le bien être de la bouche**

Des essais *in vitro* indiquent que la propolis est efficace contre divers pathogènes susceptibles d'infecter la cavité buccale (bactéries et champignons) (Bruschi et *al.*, 2006). Les vertus antiseptiques de la propolis étant bien documentées, on trouve des dentifrices et des rince-bouche qui en renferment à titre d'agent anti-carie (Park et *al.*, 1998).

- **Effet sur les soins dermatologiques et l'hygiène de la peau**

La propolis et ses extraits ont été largement utilisés dans la dermatologie et la cosmétique (le jeune et *al.*, 1998).

## **I.9. Forme galénique**

Sous sa forme pure, on la retrouvera en blocs ou fragments, en pâte, en poudre ou en granulés. Dans d'autres forme telles que les teintures officinales, les extraits mous, les



pommades, les comprimés, les ovules, les suppositoires, les gels, les sirops les crèmes, les émulsions, les collyres et les sprays, elle sera transformée lors du conditionnement et/ou en vue d'une meilleure conservation (Cousin Laurent, 2014).

#### **I.10. Conservation**

La propolis se conserve assez facilement, dans de bonnes conditions, sans précautions. Mais il paraît néanmoins préférable de la garder dans des récipients opaques, bien fermés et à l'abri de la lumière et de la chaleur (à 10 ou 12°C de préférence). De nombreuses expériences ont montré que le stockage de longue durée de la propolis ne diminue pas sa teneur en composants chimiques, ni ses activités biologiques (Krell,1996).

## *Chapitre 02*

# *Les anticancéreux et le stress oxydatif*

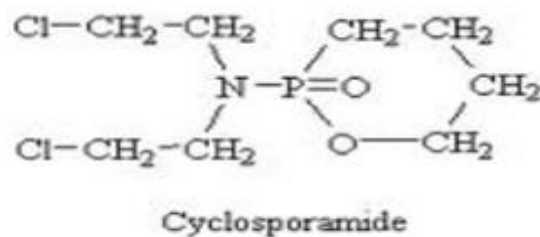
## I- Les caractéristiques pharmacologiques et la toxicité des anticancéreux

Le cancer est une cause majeure de décès dans le monde est forme donc un enjeu de santé publique fort (Genoux, 2006). Le choix d'une avenue de traitement afin d'enrayer cette pathologie meurtrière ; par un oncologue repose obligatoirement sur le diagnostique posé suite à un examen histologique de la tumeur prélevée par biopsie. Suite à cet examen préliminaire, les traitements peuvent être envisagés selon la localisation, la nature, la taille et plusieurs autres caractéristiques de la tumeur (Lauzon, 2008). Les principaux traitements proposés sont la chirurgie, la radiothérapie et la chimiothérapie. Souvent, un protocole de traitement va combiner plusieurs de ces méthodes afin de maximiser les chances d'éliminer ou de diminuer la masse tumorale (Gascon, 2015). Cependant la chimiothérapie anticancéreuse occupe une place considérable dans le traitement des cancers, notamment pour ceux qui ne peuvent pas être traités par chirurgie ou radiothérapie, comme les lymphomes, leucémies et tumeurs métastatiques (Genoux, 2006). Malheureusement, la plupart des agents cytotoxique anticancéreuse ne sont pas spécifiques des cellules cancéreuses, mais dans certains cas, le traitement peut aussi affecter les cellules saines. C'est de cette non-spécificité que déroule leur toxicité.

### I.1. Le cyclophosphamide

#### I.1.1. Présentation de la molécule

Le cyclophosphamide (CPA) est un promédicament anticancéreux, largement utilisé dans la chimiothérapie qui appartient à la famille des moutardes azotées (Pass et *al.*, 2005). C'est un prodrogue inactive qui nécessite une activation enzymatique pour libérer la moutarde phosphoramidate active (Emadi et *al.*, 2009).



**Figure 05 :** Structure de cyclophosphamide (Brock, 1983).

### **I.1.2. Mode d'action**

Le cyclophosphamide doit subir une bioactivation au niveau des microsomes par des oxydases à fonction hépatique mixte, le Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate, de forme réduite (NADPH) et l'oxygène sont nécessaires pour cette bioactivation (Sladek, 1972). Deux voies d'activation sont impliquées au métabolisme, la voie 4-hydroxylation donne un métabolite actif le 4-hydroxycyclophosphamide (4-OH-CPA). Chez l'homme, elle est effectuée par le CYP2B6. Ce métabolite actif existe en équilibre avec l'aldophosphamide (Pass et *al.*, 2005 ;Touati, 2013).

Le 4-OH-CPA diffuse dans la cellule donnant l'aldophosphamide qui se décompose par la suite pour former la moutarde phosphoramidate responsable de l'effet antitumorale et le métabolite toxique l'acroléine, responsable des cystites hémorragiques (Jong et *al.*, 2005; Pass et *al.*, 2005).

La moutarde phosphoramidate génère de formes aziridium qui peuvent former des liaisons intra ou intercaténales avec l'ADN, ce qui résulte un blocage des processus fonctionnels et la mort cellulaire par apoptose en inhibant la réplication, la transcription et la synthèse des protéines (Fleming, 1997).

Le 4-OH-CPA peut être désactivé par l'aldéhyde déshydrogénase (ALDH) en carboxyphosphamide qui n'a aucune activité anticancéreuse (Touati, 2013). La teneur élevée de ALDH est considérée comme étant un mécanisme important de la résistance des cellules cancéreuses au cyclophosphamide (Gamcsik et *al.*, 1999).

La deuxième voie alternative est une N-déchloroéthylation médiée par le CYP3A4 donnant le métabolite inactif 3-déchloroéthylcyclophosphamide (DECP) et le sous-produit, le chloroacétaldéhyde qui a des effets toxiques sur le système nerveux et l'appareil urinaire (Pass et *al.*, 2005; Touati, 2013). Cette voie est secondaire par rapport à la voie d'activation et représente moins de 10% de la dose administrée (Pass et *al.*, 2005).

### **I.1.3. Pharmacocinétique**

Le cyclophosphamide et ses métabolites sont éliminés par les urines. Moins de 20% de la dose administrée est excrétée inchangée dans les urines, 4% est excrétée par la bile, 30-60% de la dose totale est éliminée par voie rénale sous forme du CPA ou métabolites. Une petite fraction de la dose peut être éliminée par les fèces et l'air expiré (Boddy et Yule, 2000; Jonge et *al.*, 2005).

### **I.1.4. Toxicité**

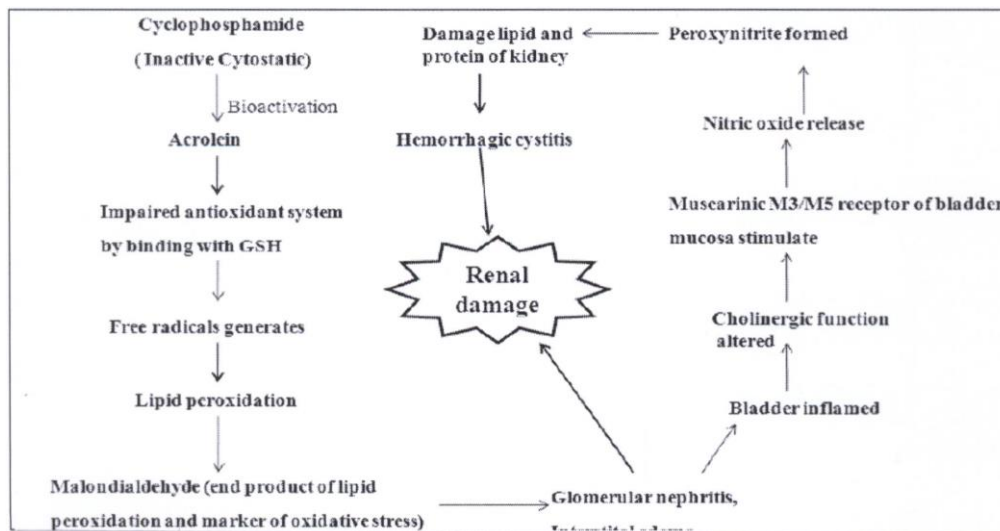
Les dommages hépatiques lors du traitement par le cyclophosphamide peuvent être causés par l'acroléine. L'acroléine inhibe le CYP450 en alkylant le groupe sulfhydryle. L'acroléine

est métabolisée par modification du groupe sulfhydryle (GSG) du GSH, en formant l'acide mercapturique éliminé par les urines. L'acroléine agit directement en induisant un stress oxydant cellulaire et réduisant le taux du glutathion (Cuce et *al.*, 2015).

La xanthine oxydase oxyde l'acroléine donnant un radical acroléinyl et l'anion superoxyde ( $O_2^-$ ). Ces radicaux libres peuvent être responsables de la peroxydation lipidique par l'acroléine (Cuce et *al.*, 2015). Glutathionylpropionaldéhyde est un métabolite toxique de l'acroléine, il peut induire des toxicités *in vivo* (Adams et Klaidman, 1993).

Le cyclophosphamide présente une néphrotoxicité caractérisé par une augmentation des taux de LDH, de l'azote uréique sanguin et de la créatinine. L'augmentation des taux de ces enzymes dans le sérum peut être dû à la fuite de ces enzymes cytosoliques dans le système circulatoire, résultant des lésions rénales après l'administration du CPA (Rehman et *al.*, 2012).

Les reins peuvent agir comme une source de métabolites toxiques; l'acroléine et le chloraldéhyde induisent la mort des cellules de tube proximale (Abraham et Rabi, 2009). Ces métabolites peuvent induire une dépolarisation des membranes ce qui peut conduire à des nécroses tubulaires (Senthilkumar et *al.*, 2006). La nécrose peut être aussi le résultat des dommages mitochondriaux qui vont conduire à une déplétion de l'ATP dans la cellule (Abraham et Isaac, 2011).



**Figure 06 :** Mécanisme de néphrotoxicité du cyclophosphamide (Singh et *al.*, 2014).

La myélosuppression est l'effet toxique le plus connu du cyclophosphamide (Emadi et *al.*, 2009), elle est induite principalement par l'altération de la prolifération des progéniture hématopoïétiques et la maturité des cellules issues, provoque ainsi une diminution du nombre

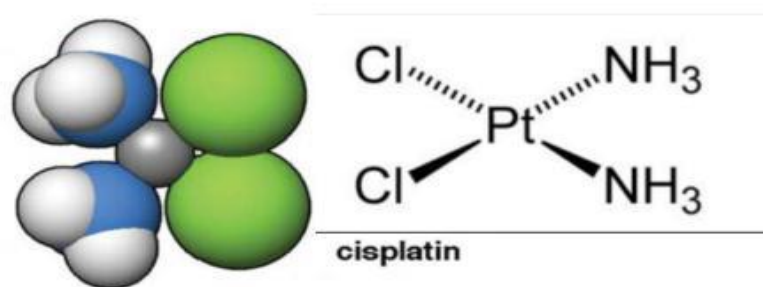
des cellules périphériques du sang (Fishman et *al.*, 2001). Le cyclophosphamide entraîne une réduction significative du nombre des leucocytes circulantes (Lahouel et *al.*, 2004; Sheeja et kuttan, 2006; El-Naggar et *al.*, 2014) et en particulier des lymphocytes (Patra et *al.*, 2012).

Le cyclophosphamide peut conduire à une atteinte cardiaque sévère (Senkus E et *al.*, 2011). Elle peut se traduire uniquement par des modifications électrocardiographiques asymptomatiques comme un microvoltage, un allongement de l'intervalle QT ou des anomalies de l'onde T et du segment ST. On assiste cependant parfois à l'apparition de troubles du rythme ou de la conduction, des épisodes de décompensation cardiaque voire de véritables chocs cardiogéniques (Yeh E.T et *al.*, 2009). Le cyclophosphamide est aussi à l'origine d'une ischémie myocardique du fait de phénomènes vasospastiques et thrombotiques au niveau vasculaire. Cette cardiotoxicité n'est pas corrélée à la dose cumulée mais plutôt à l'importance d'une dose (Floyd J.D et *al.*, 2005).

## I.2. Le cisplatine

### I.2.1. Présentation de la molécule

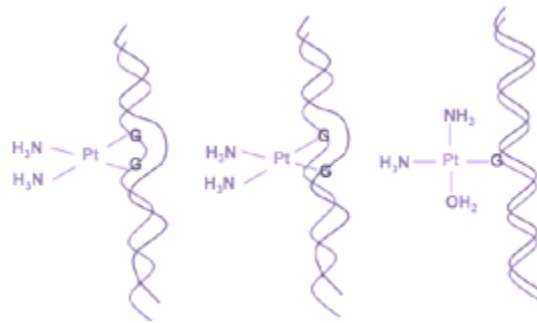
Le cisplatine (Cis-diaminedichloroplatine II) est un agent chimiothérapeutique alkylant à base de platine qui se présente sous la forme d'une poudre cristalline jaune (Argyriou et *al.*, 2012). La structure moléculaire du cisplatine (CDDP) comprend un atome central de platine entouré par 2 atomes de chlore et 2 groupements amines en configuration cis. D'autres composés à base de platine ont le même noyau platine et la même configuration cis, cependant ils ne diffèrent que par leurs groupes périphériques tout en préservant les angles des liaisons sur l'ADN (Riggs et *al.*, 1988).



### I.2.2. Mode d'action

Le cisplatine est un complexe qui se fixe sélectivement sur les bases puriques de l'ADN (A ou G) et induit une variation de la conformation locale du double brin d'ADN. Cette

déformation inhibe la réplication et la transcription de l'ADN en ARN, et induit par ce biais la mort cellulaire (Rosenberg B, 1985).



**Figure 08 : Mécanisme d'action du cisplatine (Rosenberg , 1985).**

Le cisplatine reste dans son état neutre tant qu'il circule dans les voies sanguines. Puis entre dans la cellule par diffusion passive à travers la membrane plasmique (Masuda et *al.*, 1994).

Ces cibles principales sont les atomes d'azote des bases purines et pyrimidines de l'ADN, c'est à dire les atomes N7 et N1 de l'adénine, N3 de la cytosine et N7 de la guanine. L'établissement de ces liaisons avec l'ADN double brin donne lieu à différents adduits (Bentefrit F et *al.*, 1996).

Le cisplatine se fixe d'une manière forte et irréversible sur l'azote n°7 des Bases puriques de l'ADN (A ou G) induit la formation des adduits ADN-cisplatine donne lieu à différents adduits : bi fonctionnels intra brin et inter brin, ainsi que monofonctionnels, ces derniers entraînent une modification de la structure de la double hélice, ce qui perturbe la réplication et la transcription de l'ADN (Rosenberg et *al.*, 1965).

### I.2.3. Pharmacocinétique

La clairance du platine ultrafiltrable varie de 100 à 500ml/min. On peut distinguer deux phases différentes : une phase initiale, de demi-vie courte (environ 30 min correspondant à la pharmacocinétique du platine ultrafiltrable, et une phase terminale de demi-vie longue (3 à 8 jours) correspondant à l'élimination du platine fixé sur les protéines. Certains auteurs décrivent une phase intermédiaire dont la demi-vie varie de 30 min à 10 h, la valeur de pic plasmatique du platine total correspond en injection rapide à celle du platine (Tranchand, 1997; Valérian, 2015). Le CDDP se trouve pratiquement dans tous les tissus (rein, foie, prostate, vessie...) à des concentrations variantes, les concentrations observées dans le liquide céphalo-rachidien et les érythrocytes semblent d'importance négligeable (3 % du platine administré). La voie rénale est la voie principale d'élimination. Seul le CDDP ultrafiltrable ou fixé à des molécules de faible masse moléculaire est éliminé dans les urines par filtration

glomérulaire et sécrétion tubulaire. Cette élimination en partie due à des mécanismes actifs, à lieu durant les premières heures après l'administration (Tranchand, 1997; Valérian, 2015).

#### **I.2.4. Toxicité**

Le rein accumule le cisplatine à un degré plus élevé que les autres organes et constitue la principale voie d'excrétion. Il est éliminé par le rein, à la fois par filtration glomérulaire et par sécrétion tubulaire (Yao et *al.*, 2007) et ses concentrations dans le rein dépassent celles dans le sang, suggérant une accumulation active de médicament par le parenchyme rénal (Dasari Tchounwou, 2014). Le rein est l'organe principal pour l'excrétion de CDDP, cela signifie son accumulation dans les cellules épithéliales tubulaires proximales d'environ 5 fois de la concentration sérique, cette disproportionnée contribue à la néphrotoxicité (Dasari, 2014). Le CDDP est éliminé par le rein à la fois par filtration et sécrétion tubulaire glomérulaire à concentrations CDDP dans le rein dépassent ceux dans le sang suggérant une accumulation active de la drogue par les cellules parenchymateuses rénales. Les études de ces dernières années ont permis d'identifier deux transporteurs membranaires différents capables de transporter le CDDP dans des cellules: Plus tard, le CDDP est biotransformé dans le rein en cystéinyl conjugués de glycine et d'autres thiols élevés par certaines enzymes localisées (Thomas, 2007).

Les lésions rénales sont causées par l'inhibition de la synthèse de la carnitine (produits par la biosynthèse de la lysine et de la méthionine) qui est un composé d'ammonium quaternaire nécessaire au transport des acides gras du cytosol vers les mitochondries lors de la dégradation des lipides pour générer de l'énergie métabolique (Günes, 2009).

Le cisplatine a rarement été caractérisé et étudié comme hépatotoxique. Une dose élevée peut entraîner une hépatotoxicité (dos Santos, Martins et *al.*, 2007). Les biomarqueurs les plus sensibles directement concernés par les dommages cellulaires et la toxicité sont les transaminases, car ils sont cytoplasmiques dans leur emplacement et sont libérés dans la circulation après des dommages cellulaires. L'élévation du taux d'enzymes hépatiques dans le sérum et la bilirubine sont les indicateurs d'une fonction hépatique altérée (Iseri, Ercan et *al.*, 2007). Il a été démontré que l'hépatotoxicité du cisplatine était exacerbée par une expression accrue de l'enzyme du cytochrome P450-2E1 (Caro et Cederbaum, 2004). Les changements histopathologiques observés seront la nécrose et la dégénérescence des hépatocytes avec infiltration des cellules inflammatoires autour de la zone porte avec dilatation sinusoidale (Kart, Cigremis, Karaman et Ozen, 2010).



La dépression médullaire survient chez 25 à 30% des patients traités avec le cisplatine. Une hypertension et une hypomagnésémie sont souvent associées (Içli F *et al.*, 1993).

En plus d'une toxicité aigüe, le cisplatine possède une cardiotoxicité chronique qui prend la forme d'une cardiomyopathie hypertrophique ou d'une cardiomyopathie ischémique. Cette toxicité apparaît 10 à 20 ans après l'administration de cette chimiothérapie. On constate aussi plus d'hypertension artérielle et d'accidents vasculaires cérébraux ainsi qu'une perturbation de l'agrégation plaquettaire chez les patients ayant été traités par cette molécule (Senkus, E *et al.*, 2011).

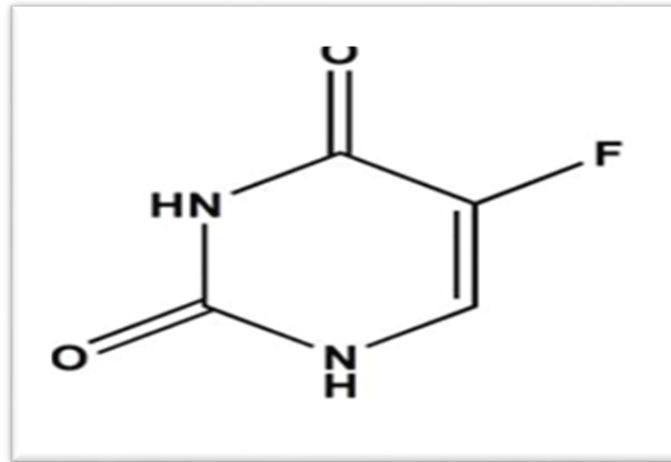
Une fuite de lactate déshydrogénase (LDH) et de la créatine kinase (CK) à partir de myocytes cardiaques est due à la cardiotoxicité de cet agent chimiothérapeutique, suivi de la peroxydation lipidique des membranes cardiaques (Florea., 2011; Dasari., 2014).

### **I.3. Le 5-Fluorouracile**

#### **I.3.1. Présentation de la molécule**

Le 5-Fluorouracile (5-FU) est un médicament cytostatique de la famille des antimétabolites, largement utilisé dans le traitement des tumeurs solides notamment le cancer du sein (Laurent-puig et Lorient, 2005). Il appartient à la classe des anti-métabolites de type anti-pyrimidique (Lecomte, 2008). C'est un hétérocycle aromatique organique avec une structure similaire à celle de la pyrimidine. C'est un analogue d'uracile qui se caractérise par un atome fluorine au C-5 à la place d'hydrogène (Zhang *et al.*, 2008).

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

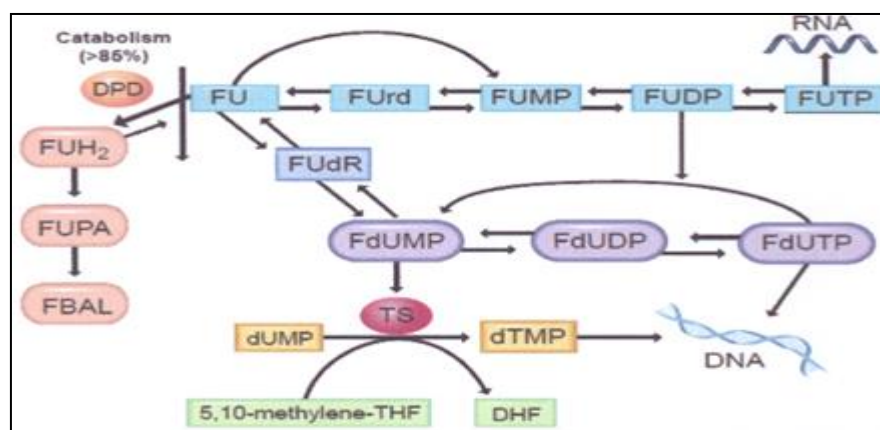


**Figure 09** : structure chimique du 5-Fluorouracile (Merthelsmann *et al.*, 2011).

### I.3.2. Mode d'action

Le 5-FU exerce plusieurs effets antimétabolites :

- il est métabolisé en 5-fluorodéoxyuridine 5'-monophosphate (FdUMP) qui, en présence de 6-méthylènetétrahydrofolate se lie à la thymidilate-synthetase (TS), ce qui bloque la méthylation de l'uracile en thymine, d'où une inhibition de la synthèse d'ADN, qui freine la prolifération cellulaire.
- il est phosphorylé en triphosphate (FUTP) et incorporé à la place de l'uracile dans les ARNs, entraînant des erreurs de lecture du code génétique lors de la synthèse de protéines et d'enzymes, et de la production de co-enzymes inefficaces et de ribosomes immatures.
- Il s'incorpore sous forme de 5-FdUTP (5-fluorodéoxyuridine triphosphate) dans l'ADN (Ingraham *et al.*, 1982) ce qui provoque sa fragmentation (Ciccoliniet J *al.*, 2002).



**Figure 10** : Mécanisme d'action du 5-Fluorouracile (shahrokni *et al.*, 2009).

### I.3.3. Pharmacocinétique

Le 5-FU est administré par voie intraveineuse, la demi-vie après injection intraveineuse en bolus est très courte (entre 8 et 22 minutes). Le volume de distribution est, par contre, très large (14-54 litres) avec une clairance se situant entre 0,5 et 2 l/min, non linéaire et variant, avec la dose administrée. Le métabolisme est essentiellement hépatique (95%), l'élimination urinaire restant faible : 5 à 10% de la dose administrée (Diasio et *al.*, 1989).

### I.3.4. Toxicités

L'hépatotoxicité de 5-FU se caractérise par l'augmentation de l'activité des aminotransférases, LDH et la bilirubine, avec une diminution des concentrations des protéines et l'albumine, ce qui indique une altération de la fonction hépatique. En effet, le 5-FU est métabolisé au niveau du foie, donnant la forme active le 5-fluorodéoxyuridine monophosphate qui inhibe la thymidylate synthase au niveau du foie. Le 5-FU est catabolisé au dihydrouracile, le composé réduit est ensuite clivé pour donner le  $\alpha$  fluoro- $\beta$ -alanine (FBAL), l'ammoniaque, l'urée et le dioxyde de carbone qui causent des hépatotoxicité (Hassan et *al.*, 2009 ; Ali., 2012).

Le 5-FU cause des dommages rénaux qui se caractérisent par des concentrations élevées de l'urée sérique, la créatinine, l'acide urique, le cortisol et le potassium avec une diminution du sodium et magnésium. Après le traitement par le 5-FU, il a été démontré une augmentation des taux du MDA ainsi qu'une diminution de la glutathion et l'activité des enzymes antioxydants la SOD, GPx et la catalase dans le tissu rénal (Ali., 2012 ; Rashid et *al.*, 2013).

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

L'incidence des toxicités cardiaques induites par le 5-FU varie dans la littérature entre 1 et 18%, avec une mortalité de 2 à 13% (Sorrentino M. F et *al.*, 2012). Une récente revue sur la cardiotoxicité chez les patients cancéreux a identifié les douleurs thoraciques, palpitations, dyspnée et hypotension comme les symptômes principaux (Polk et *al.*, 2013). Dans de rares cas, des infarctus du myocarde, des arythmies, des chocs cardiogéniques ou des morts subites ont été rapportés (Ewer M. S et Lippman S. M., 2005). Le risque de mort subite est défini

autour de 0.5%. Les effets indésirables cardiaques apparaissent 2 à 5 jours après introduction du traitement (Meyer C. C *et al.*, 1997).

#### **I.4. Le méthotrexate (MTX)**

##### **I.4.1. Présentation de la molécule**

Le méthotrexate (MTX), dérivé de l'aminoptérine ou [acide N-[4-[(2,4-diamino-6-ptéridinyl)méthyl]méthylamino] benzoyl]-L-glutamique], est un agent de la classe des antimétabolites (Laharie *et al.*, 2008). Sa découverte en 1948 et fait ensuite à la synthèse de l'acide folique (ou vitamine B9) en 1946, dont le méthotrexate est un analogue structurel (Lussiez C., 2010). Il est composé de trois portions : la portion ptérinique, la portion benzoïque et celle de l'acide glutamique.

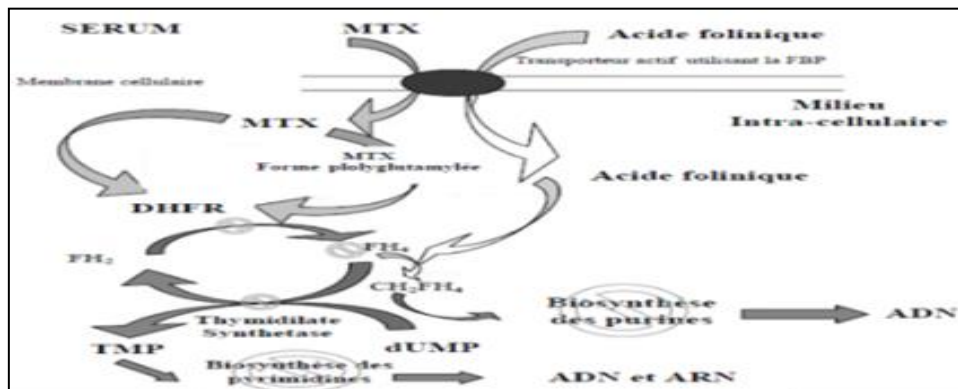
Le méthotrexate est un médicament cytotoxique efficace largement utilisé à des doses élevées dans la chimiothérapie de plusieurs types du cancer, y compris les ostéosarcomes, les leucémies, et les lymphomes non hodgkiniens (Balloy *et al.*, 2007) ainsi dans le traitement de cancer du cou, de la tête et des glandes mammaires (Guatam *et al.*, 2016). Il est également un médicament polyvalent qui a été cliniquement appliqué dans une large gamme de maladies auto-immunes, y compris, la polyarthrite rhumatoïde, le psoriasis et les maladies néoplasiques (Moghadamet *et al.*, 2015).

##### **I.4.2. Mode d'action**

La méthotrexate est un antimétabolite qui inhibe la synthèse des acides nucléiques nécessaire à la multiplication cellulaire (Galmarini *et al.*, 2002), c'est le chef de file des inhibiteurs d'enzymes indispensables. Il inhibe la synthèse de l'acide folinique indispensables pour la synthèse des bases nucléiques uridine et thymidine, son action passe par l'inhibition de la dihydrofolate réductase, empêchant ainsi l'activité de la thymidilate synthétase nécessaire pour l'incorporation de nucléotides dans l'ADN (Schweitzer *et al.*, 1990 ; Takimoto *et al.*, 1996). Il pénètre dans la cellule via une protéine transmembranaire spécifique utilisée normalement dans le transport des folates réduits provoquant une inhibition compétitive de la dihydrofolate réductase (DHFR), enzyme clé du métabolisme des folates qui permet de catalyser la conversion du dihydrofolate en tétrahydrofolate ou la forme active du folate (Jolivet *et al.*, 1987; Fekry *et al.*, 2016).

Cette étape est suivie par l'inhibition d'autres enzymes : la thymidilate synthétase, la 5-aminoimidazole-4-carboxamide ribonucléotide (AICAR) et la glycinamide ribonucléotide (GAR) transformylase (AICARTF, GARTF) par conséquent il y'a eu un déficit en bases puriques et pyrimidiques aboutissant à un défaut de synthèse de l'ADN et d'ARN (Waltham *et al.*, 1988; Reutenauer *et al.*, 2009). L'action antimétabolique de MTX est exercée

principalement sur la multiplication des cellules en phase S (cellules à prolifération rapide : cellules cancéreuses, cellules normales de l'épithélium digestif et de la moelle osseuse) (Gervaise, 2003).



**Figure 11** : Mode d'action du méthotrexate après pénétration cellulaire (coralie, 2010).

### I.4.3. Pharmacocinétique

L'absorption du MTX administré par voie orale semble dépendre de la dose. Cette absorption est quasi complète pour des doses faibles (< 20 mg par semaine) (Beylot-Barry et Le Maitre, 2011). Il est absorbé dans le jéjunum proximal (au niveau digestif) avec un pic de concentration plasmatique maximal d'une à deux heures après l'ingestion (Laharie et *al.*, 2008). Il est complètement absorbé à la suite de l'administration parentérale et après l'injection intramusculaire (la biodisponibilité est d'environ 90%) (Lebrun-Vignes et *al.*, 1999).

Le MTX est une petite molécule qui circule majoritairement sous forme liée aux protéines plasmatiques principalement l'albumine (50-80%) ou libre (Reutenauera *et al.*, 2009). Il se concentre particulièrement dans les organes suivants : rein, rate, foie, vésicule biliaire, peau ainsi que dans les liquides d'épanchement pleural et d'ascite (Shapiro *et al.*, 1975). Son volume de distribution est évalué à 0,76l/kg avec une diffusion principalement dans l'espace extracellulaire mais avec la capacité de pénétrer les membranes cellulaires et, à haute dose, la barrière hémato-méningée (Reutenauera *et al.*, 2009).

Le MTX subit un métabolisme hépatique et intracellulaire notamment dans les cellules néoplasiques et les hépatocytes. Dans la cellule, il fixe un ou plusieurs résidus glutamate sous l'influence de la folyl-polyglutamate synthétase (FPGS), afin d'obtenir des polyglutamates qui peuvent être reconvertis en MTX grâce à des enzymes hydrolases (Tian et Cronstein, 2007). Une petite quantité du médicament (3-12%) est métabolisée en 7-hydroxyméthotrexate (7-OH-MTX) au niveau du foie (Cutolo et *al.*, 2001). Il est également métabolisé en acide 2,4-diamino-N<sup>10</sup>-méthylptéroïque (DAMPA), non toxique, représente moins de 5 % du

médicament excrété dans les urines (Wolfrom et *al.*, 1990). Le DAMPA est formé par hydrolyse du MTX par des carboxypeptidases bactériennes après sécrétion biliaire du MTX dans le tractus gastro-intestinal (McGuire et *al.*, 2000).

L'excrétion du MTX se fait essentiellement par voie rénale. Durant les premières vingt-quatre heures suivant son ingestion, 60-90 % de sa dose est éliminée dans les urines sans que la molécule n'ait été métabolisée. Cette élimination implique essentiellement une filtration glomérulaire et partiellement une sécrétion tubulaire proximale (Carpentier et *al.*, 1999).

La sécrétion biliaire du MTX est très faible mais elle est un peu plus élevée chez les insuffisants rénaux (Laharie et *al.*, 2008). La vitesse de la clairance du MTX varie grandement et diminue généralement aux doses élevées. Le MTX est caractérisé par une demi-vie initiale de 1.5 à 3.5 heures et une demi-vie terminale de 8 à 15 heures (Balloyet *al.*, 2007).

#### **I.4.4. Toxicité**

La toxicité rénale de la méthotrexate MTX est surtout observée pour des doses fortes. Elle provient de sa précipitation tubulaire et de celle de son métabolite hydroxylé. Cette précipitation est favorisée quand le pH urinaire devient acide (<6) et quand la fonction rénale diminue il est donc contre-indiqué d'associer des anti-inflammatoires non stéroïdiens (diminution de la perfusion rénale) et de l'aspirine (acidification urinaire) à un traitement par ce médicament (Monassier L, 2012).

Elle se manifeste par une augmentation de la créatinine pouvant évoluer vers une insuffisance rénale irréversible. Ce phénomène est dû à une nécrose tubulaire et à la précipitation du MTX et de ses métabolites sous forme de cristaux en cas d'administration de fortes doses (Gaies et *al.*, 2012).

L'apparition d'une cytolysé hépatique est fréquemment observée, elle est transitoire et réversible en une à deux semaines. Le risque d'une fibrose hépatique et d'une cirrhose est ainsi augmenté lors du traitement par le MTX (Beylot-Barry et Le Maitre, 2011).

La toxicité hématologique est une complication grave couramment observée pour des doses élevées de MTX (Gaies et *al.*, 2012). Il s'agit d'une thrombopénie puis d'une leuconéutropénie à progression rapide. Cette toxicité peut être aussi à l'origine d'une anémie mégalo-blastique et d'une pancytopénie (Reutenauera et *al.*, 2009 ; Gaies et *al.*, 2012).

### **I.5. Les anthracyclines**

#### **I.5.1. Structure des anthracyclines**

Les anthracyclines possèdent une structure polyaromatique composée de 4 noyaux aromatiques portant les complexes hydroquinones et quinone (accepteur et donneur d'électrons) attachés à une partie glucidique, la daunosamine par une liaison O-glycosidique.

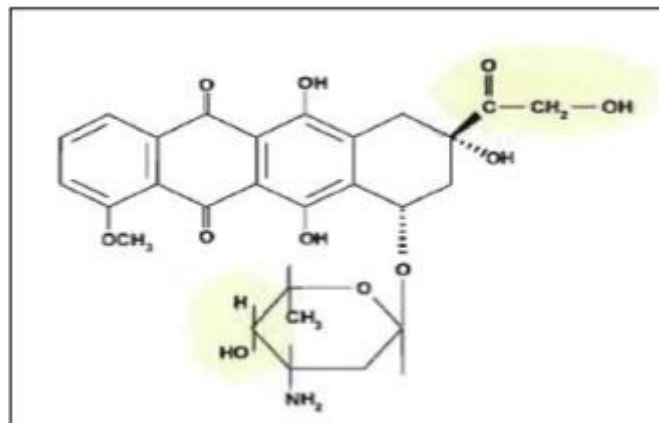
La structure moléculaire des diverses anthracyclines diffèrent par l'ajout de radicaux. Ces molécules diffusent à travers les membranes des cellules cardiaques ou des cellules cancéreuses du fait de leur nature amphiphile et le mécanisme de flip-flop (mouvement de bascule de phospholipides entre les deux feuilletts de la membrane) (Regev et al., 2005).

## I.5.2. La doxorubicine

### I.5.2.1. Présentation de la molécule

La doxorubicine (DOX) est un médicament anticancéreux important et efficace largement utilisé pour le traitement de divers types de cancer et d'une large gamme de tumeurs solides et de leucémie chez l'enfant et l'adultes (Benguedouar et al., 2008).

Le nom chimique de la DOX est 3-glycoloyl-1,2,3,4,6,11-hexahydro-3,5,12-trihydroxy-10-méthoxy-6,11-dioxonaphtacén-1-yl-3-amino-2,3,6-trideoxy- $\alpha$ -L-lyxopyranosidehydrochloride qui correspond à la formule chimique brute  $C_{27}H_{29}NO_{11}H^+Cl^-$  et sa masse molaire est de 580 (Abidli, 2004; Takemura & Fujiwara, 2007). Elle possède une structure poly-aromatique plane (Figure 13). Elle est composée d'une fraction sucre, la daunosamine ou 3-amino-2,3,6-trideoxy-L-fucosyl, liée par une liaison glycosidique à une fraction chromophore aglycone, l'adriamycinone (ou 14-hydroxydaunomycine), tétracycle avec des groupements adjacents quinone-hydroquinone, un substituant méthoxy et une chaîne courte avec un groupement carbonyle se terminant par un alcool primaire (Bakker et al., 1995).



**Figure 12 :** Structure moléculaire de la doxorubicine (Tsuruo et al., 2003).

### I.5.2.2. Mode d'action

L'activité antitumorale des anthracyclines n'a pas encore été complètement élucidée mais plusieurs mécanismes semblent jouer un rôle dont les interactions avec l'ADN, l'inhibition de la topoisomérase II, et la formation de radicaux libres.

### **a. Intercalation dans la molécule d'ADN**

La doxorubicine agirait sur les cellules selon plusieurs modes d'action. Tout d'abord, près de 99.8% de son accumulation se ferait au niveau du noyau chez des cellules sensibles à cause de sa très grande affinité avec l'ADN (Cutts et Phillips, 1995). La doxorubicine se lie de façon covalente aux doubles-brins de l'ADN pour former un complexe [ADN-doxorubicine] (Priebe et Perez, 1993), et d'y contracter des liaisons hydrophobes qui impliquent la structure anthraquinone de la DOX, par l'intermédiaire des cycles aromatiques B, C et D, et les paires de bases de l'ADN (Booser et Hortorbagyi, 1994), et des interactions électrostatiques qui impliquent d'une part, le groupe amine chargé positivement en C3' de la daunosamine, et d'autre part le groupe phosphate chargé négativement de l'ADN. La DOX modifie la structure de l'ADN, cette modification conduit à l'obstruction de la fixation des enzymes de réplication (ADN polymérase), les enzymes de transcription (ARN polymérase) et les enzymes de réparation (Cutts et Phillips, 1995).

### **b. Inhibition de la topoisomérase II**

Les topoisomérases sont des enzymes essentielles des cellules procaryotes et eucaryotes impliquées dans la régulation de la topologie de l'ADN au cours des nombreux processus du métabolisme de l'ADN (réplication, transcription, recombinaison, réparation, remodelage de la chromatine, condensation et ségrégation des chromosomes...) (Wang, 1996; Osheroff, 1998). La topoisomérase I, nécessaire à la relaxation de l'ADN, réalise des coupures simple-brin de l'ADN, alors que les topoisomérases II  $\alpha$  et  $\beta$ , nécessaires aussi à la relaxation, réalisent des coupures double-brin de l'ADN (Roger Lacave et *al.*, 2005). La doxorubicine peut être considérée comme un inhibiteur de la topoisomérase II, rappelons que la topoisomérase II permet la scission temporaire du double brin d'ADN. Ce déroulement de la double hélice d'ADN est un phénomène essentiel à la réplication. Pour ce faire, la topoisomérase II forme avec les brins d'ADN un complexe temporaire, donc clivable (Lanore and Delprat, 2002). La DOX en s'intercalant à l'ADN stabilise le complexe de clivage ADN/ topoisomérase II lorsque les coupures sur les chaînes sont induites, et empêche la topoisomérase II de réassembler les extrémités libres des segments coupés de l'ADN (Dal Ben et *al.*, 2007; Chen et *al.*, 2013). L'inhibition de cette enzyme provoque un arrêt du cycle cellulaire en G2/M, puis des aberrations chromosomiques, des échanges entre chromatides sœurs et la mort cellulaire (Capranico et *al.*, 1990).

### **c. Production des radicaux libres**

La doxorubicine est susceptible de conduire à la production des ROS variées au sein de la cellule (Minotti et *al.*, 2004). L'oxydation de la structure quinone de la doxorubicine par



différentes enzymes entraînerait la formation de radicaux libres tels que l'anion superoxyde, le peroxyde d'hydrogène et le radical hydroxyle (Yang et *al.*, 2014). Ces formes radicalaires conservent une affinité pour l'ADN et les membranes, les ROS se forment à proximité des macromolécules biologiques cible. Les ROS induisent des cassures des ADN et ARN, la modification de nucléotides, la formation de sites à bases, de pontage ADN-protéine, ou d'adduits par addition de produits issus de la peroxydation lipidique comme le Malondialdéhyde (MDA). Bien qu'au niveau physiologique la mise en évidence de dommages dus aux ROS soit difficile (Minotti et *al.*, 2004).

### **I.5.2.3. La pharmacocinétique**

La doxorubicine est injectée par voie intraveineuse. 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, tandis qu'une faible concentration dans le cerveau. La demi-vie de distribution initiale d'environ 5 minutes, tandis que son élimination est lente à partir des tissus qui se traduisent par une demi-vie terminale de 20 à 48 heures. La doxorubicine (DOX) ne traverse pas la barrière hémato-encéphalique (Mross et *al.*, 1990).

Le métabolisme de la DOX se déroule principalement au niveau du foie et est un processus très complexe et comprend plusieurs des interactions : réduction de la fonction carbonyle (C = O) de l'atome de carbone numéro 13 dans de la chaîne latérale de la doxorubicine à un groupement alcoolique (OH) et cela par stimulation de l'enzyme cytoplasmique (NADPH-dépendent Aldo-céto réductase) et formation du métabolite hydroxy doxorubicine, nommé doxorubicinol qui est le principal métabolite actif de ce médicament (Zhou et Chowbay , 2002). Déglycosylation en activant l'enzyme cytochrome P450 réductase et formation de hydroxy aglycones ou déoxy aglycones. Ensuite la doxorubicine et ses métabolites sont excrétés par la bile sous forme de doxorubicinol après 24 heures d'absorption ou bien sous forme de sulfates et glucoronides après 48 heures. La réduction enzymatique et le clivage en sucre de daunosamine aglycone sont accompagnés par la formation des radicaux libres.

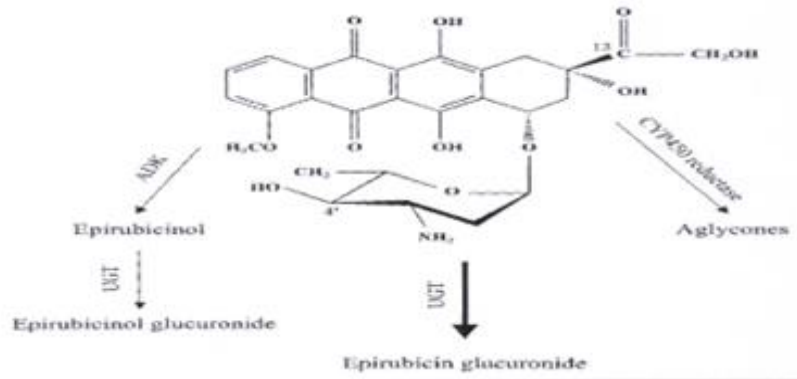
L'élimination est biliaire. Environ 40% de la dose apparaît dans la bile en 5 jours, alors que seulement 5 à 12% du médicament et de ses métabolites apparaît au cours de la même période de temps dans l'urine (Zhou et Chowbay , 2002).

### **I.5.3. L'épirubicine**

#### **I.5.3.1. Présentation de la molécule**

Il s'agit d'un isomère de la doxorubicine (4'-épi-doxorubicine), la seule différence entre la structure de l'épirubicine et celle de la doxorubicine est au niveau de l'orientation du

groupement hydroxyle situé sur l'atome du carbone quatre du sucre hexoyranosyle (Tjuljandin et *al.*, 1990), elle se fixe rapidement sur les structures nucléaires de la cellule, bloquant la synthèse de l'ADN et de l'ARN, C'est un agent intercalant au niveau de l'ADN (conte, 2000).



**Figure 13** : Structure chimique et métabolisme d'épirubicine (Innocenti, 2001).

### I.5.3.2. Mode d'action

#### a. Intercalation dans l'ADN

L'épirubicine (EPI) se lie de façon non covalente aux doubles-brins de l'ADN pour former un complexe [ADN-anthracycline]. Les interactions dans ce complexe sont de deux ordres, hydrophobes et électrostatiques. Les interactions électrostatiques impliquent d'une part, le groupe amine chargé positivement en C3' de la daunosamine des anthracyclines, et d'autre part le groupe phosphate chargé négativement de l'ADN (Priebe et Soler, 1993). Les interactions hydrophobes impliquent la structure anthraquinone des anthracyclines, par l'intermédiaire des cycles aromatiques B, C et D, et les paires de bases de l'ADN (Booser et Hortorbagyi, 1994).

#### b. Inhibition de la synthèse des macromolécules

L'inhibition de la biosynthèse des acides-nucléiques (ADN et ARN) reposent sur une intercalation directe du médicament et/ou par inhibition de l'activité de l'ADN-polymérase (Gewirtz, 1999).

#### c. Inhibition de l'hélicase

La mise en évidence de l'altération, par l'épirubicine, de l'enroulement ou de la séparation des brins de l'ADN par inhibition de l'hélicase a été effectuée uniquement dans des expérimentations en solution sans cellule (Gewirtz, 1999).

#### d. Inhibition de la topoisomérase II

Les topoisomérases de classe II induisent des cassures doubles brins transitoires de l'ADN afin de permettre à un segment de l'ADN de passer à travers un autre (Gewirtz, 1999). Leur

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

### **I.5.3.3. Pharmacocénitique**

L'épirubicine a un volume de distribution élevé (1000 L/m<sup>2</sup>), sa clairance plasmatique totale est 50L/h/m<sup>2</sup>. Les demi-vies successives de l'épirubicine sont d'environ : 3min, 1heure et 30heures, plus courtes que celles de la doxorubicine (Robert, 1993).

L'épirubicine est principalement métabolisée par le foie donnant naissance à deux métabolites: le 13-dihydroepirubicine (epirubicinol) qui est moins cytotoxique et le 7-deioxydoxorubicinone (aglycones d'épirubicine) (Innocenti et *al.*, 2001). L'enzyme responsable du métabolisme de l'épirubicine en 13-dihydroepirubicine (epirubicinol) est l'aldoketoreductase (Robert, 1993).

### **I.5.4. La toxicité des anthracycline**

La chimiothérapie anticancéreuse peut avoir des effets néphrotoxiques qui sont caractérisées par une diminution du taux de filtration glomérulaire et un dysfonctionnement tubulaire proximal. L'évolution ultime est caractérisée par la nécrose de l'épithélium tubulaire. L'insuffisance rénale chronique est irréversible mais les effets cliniques peuvent être limités à une élévation de l'urée et de la créatinine (Monassier, 2012).

C'est le pouvoir de provoquer des dommages au niveau du foie. La toxicité du foie se manifeste sous forme d'inflammation (on parlera d'hépatite) ou encore de nécrose (mort des cellules hépatique), dans les cas les plus sévères. La stéatose hépatique survient lorsqu'il y a accumulation de gras dans le foie (Angulo, 2002).

La toxicité cardiaque des anticancéreux est spécifique à certains médicaments. Elle est le plus souvent dose-dépendante et cumulative. Elle peut apparaître dès la 48<sup>ème</sup> heure après le traitement (toxicité aiguë) ou plusieurs jours ou mois après l'injection (toxicité chronique). Cette toxicité est le plus souvent irréversible se traduisant par une insuffisance cardiaque congestive de constitution progressive, réfractaire aux traitements (Talabert et *al.*, 2013).

En effet, ce médicament anticancéreux, administré à des doses totales cumulées de 550 mg/m<sup>2</sup> entraînerait des problèmes cardiaques chez plus de 7 % des patients traités (Iarussi et *al.*, 2001; Kim et *al.*, 2003). Le mécanisme impliqué reste irrésolu, mais certains groupes de recherches ont rapporté que les radicaux libres produits par ce médicament seraient majoritairement responsables de la cardiotoxicité (Hande, 1998).

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

## II. Toxicité liée au stress oxydatif

### II.1. Les acteurs du statut oxydant cellulaire

#### II.1.1. Les radicaux libres et les espèces réactives de l'oxygène (ROS) en biologie :

Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) sont une famille d'entités chimiques regroupant les dérivés non radicalaires (ne possédant pas d'électron célibataire) dont la toxicité est importante [anion peroxyde ( $O_2^{2-}$ ), peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), peroxyde d'azote ( $ONOO^-$ )] et les radicaux libres oxygénés (espèces chimiques possédant un électron célibataire – non apparié) qui intéresse notre propos [anion superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ ), radical hydroxyle ( $HO^{\cdot}$ ), monoxyde d'azote ( $NO^{\cdot}$ ) ...] (Novelli, 1997).

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer (Favier, 2003) :

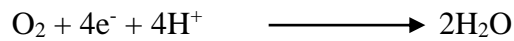
- **Des radicaux primaires :** dérivent de l'oxygène par des réductions à un électron tel anion superoxyde  $O_2^{\cdot-}$ , et le radical hydroxyle  $OH^{\cdot}$ ; ou de l'azote tel le monoxyde d'azote  $NO^{\cdot}$ .
- **Des radicaux secondaires :** se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule.
- **D'autres espèces dérivées de l'oxygène :** dites espèces actives de l'oxygène comme l'oxygène singulet  $^1O_2$ , le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) ou le nitroperoxyde ( $ONOOH$ ), ne sont pas des radicaux libres, mais sont aussi réactives et peuvent être des précurseurs de radicaux.

La conséquence des effets nocifs des ROS et des métabolites réactifs est dite «stress oxydant» (Barouki, 2006 ; Jenkins et *al.*, 2007). Ce terme est défini comme un déséquilibre entre les processus biochimiques de production des ERO et ceux qui sont responsables de leur contrôle et élimination (Bloomer et Fisher-Wellman., 2008; Browne et *al.*, 2008; Powers et *al.*, 2010). Ce déséquilibre peut se produire quand le système de défense antioxydant est surmené par l'augmentation des oxydants ou lorsque les défenses sont affaiblies par une carence d'apport et/ou de production d'antioxydants (Kirschvink et *al.*, 2008). L'équilibre ou l'homéostasie redox est alors perturbée et les cellules deviennent vulnérables aux attaques par les ERO (Mac Laren., 2007).

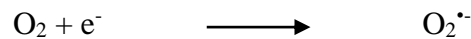
L'accumulation excessive de radicaux libres pouvant engendrer des dommages importants sur la structure et le métabolisme cellulaire (Halliwell et Cross., 1994 ; Beckman et Ames., 1998).

### L'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$

Au cours du métabolisme cellulaire, l' $O_2$  peut être réduit en  $H_2O$ . Ce passage d'une molécule d'oxygène à deux molécules d'eau nécessite l'action de quatre électrons :



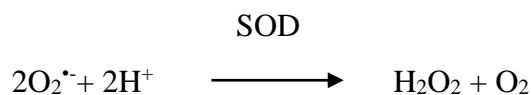
Cependant, dans quelque cas (2 à 5%), l'oxygène fait l'objet d'une réduction incomplète, Chaque molécule d'oxygène sera réduite par un seul électron, aboutissant ainsi à la formation d'anion superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ ) (Dawson et *al.*, 1993 ; Cadenas et *al.*, 2000) :



Les radicaux superoxydes ( $O_2^{\cdot-}$ ) ne sont pas très réactifs, mais constituent des précurseurs d'autres espèces plus réactives. La faible réactivité de ces radicaux permet d'ailleurs leur utilisation par l'organisme comme médiateurs régulant des fonctions biologiques (Favier, 2003).

### Le peroxyde d'hydrogène $H_2O_2$

Le peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$  (appelé également eau oxygénée) est formé par l'addition d'un second électron sur l' $O_2^{\cdot-}$  donnant comme intermédiaire l'anion peroxyde  $O_2^{2-}$ , qui se proton facilement pour donner  $H_2O_2$ . Toutefois, la principale production de  $H_2O_2$  résulte de la dismutation de l' $O_2^{\cdot-}$  selon la réaction suivante (Daum-Badouard, 2006):



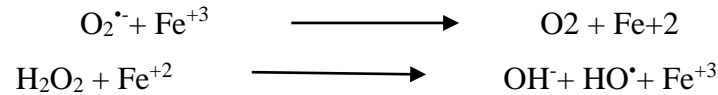
L'absence de charge à sa surface rend cette ERO très lipophile et peu réactif en milieu aqueux (Cash et *al.*, 2007). Contrairement à l'anion superoxyde, le peroxyde d'hydrogène est donc capable de traverser les membranes des cellules et des organites cellulaires pour engendrer des dommages loin de son site de production (Halliwell et Gutteridge, 1996).

### Le radical hydroxyle $HO^{\cdot}$

Le radical hydroxyle, est généré par la réaction du peroxyde d'hydrogène avec l'anion superoxyde (réaction d'Haber-Weiss), engendrant alors un ion  $OH^-$  inoffensif et un radical hydroxyle  $HO^{\cdot}$  (Comhair et Erzurum, 2002).



Cette réaction est lente et probablement inopérante dans les tissus vivants. Mais, en revanche, en présence de métaux de transition (fer, cuivre), l' $\text{H}_2\text{O}_2$  donne naissance in vivo via la réaction de Fenton à un radical hydroxyle  $\text{HO}^\bullet$  hautement réactif (Goldstein et *al.*, 1993).



Ce radical a une durée de vie de l'ordre de  $10^{-11}$  s et une très grande réactivité dans les milieux biologiques. Il oxyde pratiquement toutes les macromolécules dans son entourage telles que les protéines, les acides nucléiques, les acides gras polyinsaturés et les glucides (Gutteridge, 1994 ; Bergendi et *al.*, 1999).

- **Autres formes radicalaires**

D'autres formes radicalaires dites « secondaires » peuvent être retrouvées dans les milieux biologiques. Il s'agit en particulier des radicaux alkyle ( $\text{R}^\bullet$ ), alkoxy ( $\text{RO}^\bullet$ ) et alkyl peroxy ( $\text{ROO}^\bullet$ ), générés à la suite de l'action oxydante de radicaux libres oxygénés « primaires » (superoxyde, hydroxyle) sur les chaînes d'acides gras polyinsaturés, les glucides, les protéines ou les acides nucléiques. Ces radicaux « secondaires » sont moins réactifs mais plus sélectifs que les radicaux primaires. Ils sont à l'origine de processus de réactions radicalaires en chaîne, et en particulier des réactions participant à la lipoperoxydation des membranes cellulaires (Vergely et Rochette, 2003).

## II.1.2. Les sources biologiques des radicaux libres

### a. Les sources endogènes

Les EROs produits d'une manière endogène proviennent essentiellement du métabolisme mitochondrial (Pattwell et Jackson, 2004), du peroxysome (Boveris et *al.*, 1972) et du réticulum endoplasmique (De et Baudhuin, 1966).

De nombreux systèmes enzymatiques identifiés dans les cellules sont également capables de générer des oxydants (Salvayre et *al.*, 2003):

- Les NAD(P)H oxydases sont des enzymes présentes dans la paroi vasculaire et qui génèrent  $\text{O}_2^\bullet$  en utilisant NADH ou NADPH comme substrat.
- La xanthine-oxydase joue un rôle important dans la production des ROS (particulièrement  $\text{O}_2^\bullet$  et  $\text{H}_2\text{O}_2$ ), lors de l'ischémie/reperfusion.
- Lors du métabolisme de l'acide arachidonique, ce dernier peut être oxydé soit par les

cyclooxygenases, soit par les lipooxygenases, pour former entre autre des hydroperoxydes qui sont des précurseurs de leucotriènes, puissants médiateurs de l'inflammation.

De plus, dans l'organisme, l'oxygène est réduit à 95 % dans les mitochondries "centrale énergétique de la cellule" par voie enzymatique en molécule non toxique comme H<sub>2</sub>O. Cependant, il peut subir une réduction monoélectronique et former une espèce beaucoup plus réactive comme l'anion superoxyde O<sub>2</sub><sup>•-</sup>. Cet anion n'est pas le radical le plus délétère, cependant il peut donner naissance comme indiqué précédemment à des espèces beaucoup plus réactives comme le radical hydroxyle HO<sup>•</sup>.

### **b. Les Sources exogènes**

L'environnement dans lequel nous vivons tout comme notre mode de vie sont à l'origine d'une augmentation de la production de ROS dans notre organisme et sont générateurs du stress oxydant.

Les sources exogènes peuvent être représentées par des facteurs environnementaux, pollutions diverses, produits chimiques ainsi que des contaminations par des métaux lourds ou certaines carences nutritionnelles (Priyadarsini, 2005). Les nombreuses sources potentielles de ROS exogènes comprennent les radiations, les infections pathogènes, les herbicides, insecticides, les toxines, les UV et la fumée de cigarette (Kregel et Zhang, 2007).

## **II.1.3. Les effets physiologiques des ROS**

### **a. Peroxydation lipidique**

Les premières cibles privilégiées de l'attaque radicalaire sont les lipides et principalement leur acides gras polyinsaturés, qui sont très sensibles à l'oxydation en raison de leur degré élevé d'insaturation (Pamplona *et al.*, 2000 ; Hulbertl, 2005).

Les mécanismes d'oxydation des composés insaturés biologiques présentent trois phases principales:

- une phase d'initiation qui peut être due à l'intervention d'un radical hydroxyl qui est capable d'arracher un atome d'hydrogène.
- une phase de propagation : le radical formé R• va immédiatement réagir avec l'oxygène moléculaire, donnant un radical peroxy ROO•, qui va à son tour arracher un atome d'hydrogène sur la chaîne insaturée voisine pour générer un hydroperoxyde ROOH instable et un nouveau radical R assurant la propagation du processus.
- une phase de terminaison, où se recombinent différents radicaux formés pour aboutir à des composés stables.

### **b. Oxydation des protéines**

De façon comparable à l'oxydation des lipides, les protéines sont aussi susceptibles d'être oxydées par les ROS. Ces réactions d'oxydation, fréquemment influencées par les cations métalliques comme le  $\text{Cu}^{2+}$  et le  $\text{Fe}^{2+}$ , peuvent être classées en deux catégories : celles qui cassent les liaisons peptidiques et modifient la chaîne protéique et l'autres qui induire des modifications peptidiques par l'addition de produits issus de la peroxydation lipidique comme le 4-HNE. De telles modifications conduisent généralement à une perte de fonction catalytique ou structurale des protéines (Levine, 2002).

Les principaux marqueurs biologiques de l'oxydation des protéines sont les dérivés carbonylés. Ces derniers sont formés lorsque les espèces réactives de l'oxygène attaquent les résidus d'acides aminés (Levine, 2002).

### **c. Oxydation de l'ADN**

Il est désormais établi que la production des ROS conduit à la formation d'un large spectre de modifications de l'ADN (Cadet et *al.*, 1999; Burrows et Muller, 1998). Les modifications des bases puriques et pyrimidiques, les cassures simple et double-brin, et les sites abasiques, oxydés ou non, constituent les catégories principales de dommages oxydatifs de l'ADN.

## **II.2. Systèmes de défense contre les ROS**

Les effets potentiellement délétères des espèces radicalaires sont contrôlés par la présence des systèmes de protection efficaces, qui maintiennent les ROS à de faibles concentrations. Ces systèmes, appelés antioxydants, sont de deux types : enzymatiques ou non enzymatiques. L'équilibre existant entre la production de ROS et les défenses antioxydantes permet de préserver l'intégrité de la cellule.

### **II.2.1. Systèmes de défense enzymatiques**

- **Les superoxydes dismutases**

Les superoxyde dismutases (SOD) constituent la première ligne de protection contre les dérivés radicalaires de l'oxygène. Elles catalysent la dismutation de l'anion superoxyde en oxygène et en peroxyde d'hydrogène (Vergely et Rochette, 2003). Il existe trois types de SOD ayant une localisation différente : une SOD cytoplasmique dimérique à cuivre et zinc, une SOD extracellulaire tétramérique à cuivre et zinc, et une SOD mitochondriale tétramérique à manganèse (Minotti et *al.*, 2004). L'action de la SOD doit toutefois être couplée à celle d'enzymes qui dégradent le peroxyde d'hydrogène, comme les catalases ou les glutathion peroxydases (Favier, 2003).



- **La catalase**

Les catalases (CAT) sont des enzymes qui permettent de transformer le peroxyde d'hydrogène en oxygène moléculaire et en eau. Les catalases sont exclusivement localisées à l'intérieur des peroxysomes, ce qui limite leur action par rapport à d'autres enzymes, cytoplasmiques par exemple (Halliwell Gutteridge, 2007).

- **Les glutathion peroxydases**

Les glutathion peroxydases (GPx) sont des enzymes tétramériques à sélénium, cytoplasmiques et mitochondriales, qui peuvent réduire le peroxyde d'hydrogène en eau, en utilisant les capacités réductrices du couple glutathion/glutathion disulfide (GSH/GSSG). Les GPx permettent également de limiter la propagation des réactions radicalaires en chaîne en réduisant les peroxydes instables en acides gras hydroxylés. Ce système ne fonctionne que si le GSSG formé est continuellement réduit en GSH, ce qui est assuré par la glutathion réductase, en présence de NADPH, ce dernier pouvant être lui-même régénéré par l'intermédiaire d'un couplage métabolique avec la voie des pentoses phosphates (Richard et al., 1997).

## II.2.2 Systèmes de défense non enzymatiques

- **Glutathion est composés à groupements thiols**

Le glutathion est le thiol majoritaire au niveau cellulaire et où il est essentiellement présent sous forme réduite (GSH) et c'est sous cette forme qu'il agit comme antioxydant. Le GSH est un composé piègeur pouvant réagir avec l'hydroxyle ou un peroxyde pour donner un radical thyl (GS•), pouvant lui-même réagir avec l'oxygène et entraîner une série de réactions (Vergely et Rochette, 2003).

## II.3. La cytotoxicité des anticancéreux et radicaux libres

Dans des conditions physiologiques normales, les cellules contrôlent les niveaux d'espèces réactives de l'oxygène en équilibrant la génération d'espèces réactives de l'oxygène avec leur élimination par un système de piégeage (glutathion-GSH réduit, superoxyde dismutase-SOD et catalase-CAT). Mais dans des conditions de stress oxydatif, des espèces d'oxygène réactives excessives peuvent endommager les protéines cellulaires, les lipides et l'ADN, entraînant des lésions mortelles dans les cellules qui contribuent à la cancérogenèse. Les cellules cancéreuses présentent un plus grand stress des espèces réactives de l'oxygène que les cellules normales, en partie en raison de la stimulation oncogène, de l'augmentation de l'activité métabolique et du dysfonctionnement mitochondrial.

### **II.3.1. Le stress oxydant induit par le cyclophosphamide**

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

Ayhanci et *al.* (2010), ont montré que le CPA induit un stress oxydant par une augmentation du taux du MDA ainsi que la diminution de l'activité antioxydante du GSH au niveau des reins. La néphrotoxicité est aussi associée à une inactivation de la SOD, ce qui conduit à l'accumulation de l'anion superoxyde qui peut réagir avec le NO pour former le peroxynitrite (ONOO<sup>-</sup>). Les dommages peuvent alors résulter de la déficience de la NO qui joue un rôle important dans la physiologie rénale ainsi que la surproduction du peroxynitrite (Abraham et Rabi, 2009).

### **II.3.2. Le stress oxydant induit par le cisplatine**

Le stress oxydatif est l'un des mécanismes les plus importants impliqués dans la toxicité du cisplatine. La mitochondrie est la cible principale du stress oxydatif induit par le cisplatine, entraînant la perte du groupe sulfhydryle des protéines mitochondriales, l'inhibition de l'absorption du calcium et la réduction du potentiel de membrane mitochondriale (Saad Najjar et *al.*, 2004).

Le cisplatine induit également des ERO qui déclenchent la mort cellulaire en plus des dommages à l'ADN. La mort cellulaire se produit lors de l'activation immédiate de nombreuses voies de signalisation, alors que les voies définies dépendent de la cellule (cancéreuse). La formation d'ERO dépend de la concentration de cis-diamminedichloroplatine (II) et de la durée d'exposition (Brozovic, Ambriovic-Ristov et *al.*, 2010). L'homéostasie redox intracellulaire est maintenue par les molécules contenant le groupe thiol (-SH). Dans certaines conditions, un groupe thiol peut conduire à la formation de radicaux thiyle qui à leur tour peuvent interagir avec l'oxygène moléculaire, générant ainsi des espèces réactives de l'oxygène (Desoize, 2002).

### **II.3.3. Le stress oxydant induit par le 5-Fluorouracile**

Le 5-FU a des effets toxiques directs sur l'endothélium vasculaire qui impliquent l'oxyde nitrique synthase (NO) endothélial et entraîne des spasmes coronariens et une vasoconstriction indépendante de l'endothélium via la protéine kinase C. Ils peuvent également induire des lésions cardiocytaires par le déclenchement d'un programme apoptotique qui pourrait être dû à l'induction de l'augmentation des ROS intracellulaires (Lamberti et *al.*, 2012).

#### **II.3.4. Le stress oxydant induit par le méthotrexate**

La toxicité du MTX au niveau du foie semble se rapporter à la production des ROS, cela provoque des dommages au niveau des mitochondries et des membranes cytoplasmiques et induit des lésions tissulaires oxydatives. Ces anomalies représentent le résultat d'une augmentation de la peroxydation lipidique dans les tissus du foie (induit la libération de la MDA) et une diminution des taux d'enzymes anti oxydantes tel que le glutathion cellulaire (Tag, 2015 ; Moghadam et *al.*, 2015). Ainsi, le MTX provoque l'inhibition du nicotinamide adénosine diphosphate (NADP) déshydrogénases –dépendantes cytosolique et l'enzyme malique (NADP), Ce qui suggère que ce médicament pourrait diminuer la disponibilité de NADPH (nicotinamide-adenosine di phosphate d'hydrogène) dans les cellules. Dans les conditions normales, le NADPH est utilisé par l'enzyme glutathion réductase pour maintenir l'état réduit de glutathion cellulaire (GSH), un important antioxydant cytosolique (Vardiet *al.*, 2008; Moghadamet *al.*, 2015).

#### **II.3.5. Le stress oxydant induit par les anthracyclines**

La structure chimique des anthracyclines de base quinone, son métabolisme hépatique, ainsi son mécanisme d'action induisent la formation des radicaux libre qui sont à l'origine de l'hépatotoxicité induite par ce médicament.

L'activité pharmacologique des anthracyclines provient de réactions d'oxydoréduction avec formation d'intermédiaire semi-quinone par gain d'un électron cédé par le NADPH et génération d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, de radicaux libres d'oxygène et OH. La conjugaison de la partie hydroquinone de la molécule d'anthracycline avec le fer ferrique intracellulaire peut conduire à la production non enzymatique de RLO (Lanzarini et *al.*, 2000). L'hypothèse du développement d'un stress oxydatif induit par les anthracyclines a été largement documentée. L'augmentation de la production de RLO associée à une diminution des systèmes de défenses antioxydantes serait à l'origine des atteintes irréversibles observées au niveau des cellules (Lanzarini et *al.*, 1991).

La production de RLO par les anthracyclines au sein des cellules, entraîne une peroxydation lipidique responsable de l'altération des fonctions membranaires. L'homéostasie

calcique est alors perturbée, il s'ensuit une diminution de la contractilité musculaire, ainsi qu'un défaut de relaxation par « excès » du  $\text{Ca}^{2+}$  disponible au niveau des myofibrilles. De plus, le stress oxydatif associé peut induire directement des lésions mitochondriales avec une apoptose. La formation de  $\text{ONOO}^-$ , au sein des cellules, pourrait également jouer un rôle important dans la toxicité des anthracyclines (Kakinuma *et al.*, 2006).

## *Chapitre 03*

# *Influence de la propolis sur la toxicité des anticancéreux*

Les médicaments anticancéreux sont conçus pour interférer avec les cellules néoplasiques à division rapide; Cependant, ces mêmes médicaments peuvent également avoir des effets néfastes sur plusieurs organes et tissus normaux.

Les ROS résultant de l'administration des anticancéreux ont été impliqués dans l'étiologie de la cardiotoxicité, la toxicité pulmonaire, la néphrotoxicité, la neurotoxicité et l'ototoxicité. La plupart des études ont montré que des malignités secondaires se développent chez 5 à 10% des individus qui reçoivent une chimiothérapie et que les ROS générés pendant la chimiothérapie jouent un rôle important dans le développement des malignités secondaires (Guyton et Kensler, 1993).

Les antioxydants empêchent les effets toxiques, mutagènes et cancérigènes des agents antinéoplasiques. Dans ce chapitre l'activité antioxydante et protectrice de l'extrait de propolis est déterminée sur les différents tissus contre un stress oxydatif induit par les médicaments anticancéreux : le 5-Fluorouracile (5-FU), l'épirubicine (EPI), le cyclophosphamide (CTX), la cisplatine (CDDP), le métotrexate (MTX), et la doxorubicine (DOX) et ce en explorant les systèmes de détoxification antioxydants enzymatiques et non enzymatiques.

### **1. Effet de la propolis contre la toxicité induit par le cyclophosphamide (CTX)**

L'étude de S. A. El-Naggar et *al*, 2014, a montré plusieurs données sur les différents lots d'animaux traités, il y avait des changements non significatifs du poids corporel entre les souris du témoin normal qui ont été injectés par du PBS et les souris du groupe témoin positif recevant de la propolis au jour 12 (fin de l'expérience). Les poids corporels des souris qui ont été injectés avec CTX ou avec CTX associé à la propolis, ont montré une diminution significative par rapport aux groupes témoins (El-Naggar et *al.*, 2014).

La diminution du poids corporel après l'injection de CTX serait dû à ses effets secondaires sur les différents organes et systèmes du corps (Johnstone et *al.*, 2002). Un traitement à la propolis après injection de CTX pourrait partiellement protéger le corps contre la perte du poids (El-Naggar et *al.*, 2014).

Les données ont également montré qu'il y avait un changement non observable dans les poids relatifs du foie dans le contrôle normal, positif, CTX et CTX avec la propolis, respectivement. Une modification non observable du poids relatif du foie dans tous les groupes pourrait être due au traitement par une dose unique de CTX, qui a partiellement

diminué le poids relatif du foie après les jours 2 et 4 d'injection du médicament seule, et progressivement retourné à leur poids relatif normal au jour 12 (El-Naggar et *al.*, 2014).

Une augmentation observable du poids relatif de la rate dans le contrôle positif, CTX et CTX avec la propolis, respectivement, par rapport au groupe témoin normal ont été observés. Les données indiquent une diminution significative du nombre total des globules blancs chez les souris ayant reçu une injection de CTX et les souris ayant reçu une injection de CTX et de propolis par rapport aux groupes témoins jusqu'aux 8<sup>ème</sup> journée. En même temps, il existe une différence non significative dans le nombre total de globules blancs chez les souris injectées par CTX et propolis par rapport aux souris injectées par CTX (El-Naggar et *al.*, 2014).

Les données ont montré que les souris du groupe témoin positif qui reçoit une injection de propolis uniquement ont une augmentation du nombre total de plaquettes par rapport au groupe de contrôle normal. De plus, les souris ayant reçu une injection de CTX ont montré une augmentation significative du nombre total de plaquettes par rapport aux groupes témoins. Alors que, les souris ayant reçu une injection de CTX avec la propolis ont montré une augmentation significative du nombre total de plaquettes par rapport aux groupes témoins et ayant reçu une seule injection de CTX (El-Naggar et *al.*, 2014).

La même étude a montré qu'il y a un changement non significatif dans les leucocytes différentiels dans les groupes témoins et les groupes recevant des CTX. Les souris qui ont été injectées avec de la propolis avec CTX ont montré une légère augmentation du pourcentage des lymphocytes et une légère diminution du pourcentage des monocytes et des granulocytes par rapport aux souris des groupes témoins et injectés au CTX. Selon les résultats de cette étude (El-Naggar et *al.*, 2014), la propolis peut agir comme un immunostimulant. Elle montre l'importance de la propolis pour renforcer le système immunitaire, ce qui est en accord avec une précédente étude rapportée par Sforcin (2007). Ces résultats ont montré que la propolis peut présenter une puissante activité antiplaquettaire (El-Naggar et *al.*, 2014).

Une étude fait par M. Lahouel et *al.* (2004), montre des résultats supplémentaire; l'administration du cyclophosphamide aux rats provoque des perturbations assez profondes dans les formules sanguines. Les animaux recevant quotidiennement 60 mg/kg de flavonoïdes pendant 14 jours sous forme d'extrait de propolis montrent des formules sanguines similaires à celles des témoins (Lahouel et *al.*, 2004).

Le rôle protecteur des flavonoïdes peut être confirmé par leur effet sur les taux de réticulocytes circulants. En effet, ces derniers se trouvent effondrés chez les animaux traités

par le médicament anticancéreux seul (cyclophosphamide) et à des taux normaux chez les prétraités par les flavonoïdes à la dose quotidienne de 60 mg/kg pendant 14 jours. Ces substances poly-phénoliques à base de diosmine et de quercétine permettent également de maintenir l'hématocrite et l'hémoglobine à des valeurs normales (Lahouel et *al.*, 2004).

L'administration préalable d'extraits flavoniques permis d'éviter la thrombopénie constatée chez tous les animaux traités par le médicament anticancéreux cyclophosphamide. Chez les rats recevant les flavonoïdes (sous forme d'extrait de propolis) les taux en plaquettes sont similaires à ceux des animaux témoins. Ces résultats consacrée à l'effet préventif des flavonoïdes contre la toxicité hématologique et hépatique du cyclophosphamide sont similaires à l'étude de (Siess MH et *al.*, 2000).

Les résultats obtenue par S. A. El-Naggar et *al.*, 2014 , montre que l'examen histopathologique des coupes hépatiques de souris traitées avec CTX a montré une dégénérescence hépatique et des zones pâles avec une nécrose de nombreux hépatocytes avec pycnose, un gonflement de certains hépatocytes avec chromatolyse nucléaire et une infiltration de lymphocytes (El-Naggar et *al.*, 2014).

L'examen microscopique des coupes hépatiques des souris traitées avec CTX et propolis a montré une amélioration significative des lobules hépatiques déformés. De plus, une structure hépatique plus ou moins normale et une capacité de coloration normale ont été observées. Les hépatocytes ont retrouvé une architecture normale avec noyaux normaux. La régénération des hépatocytes peut être observée par la présence de cellules binucléées (El-Naggar et *al.*, 2014).

L'examen histologique des coupes rénales des groupes qui ont été traitées avec CTX ont montré un rétrécissement des glomérules avec des cellules de revêtement épithéliales vacuolées et dégénérées distinctes des tubules rénaux. Les coupes rénales de souris traitées avec CTX et propolis montrent la disparition du rétrécissement glomérulaire, l'amélioration de l'architecture tissulaire du cortex rénal et une légère dégénérescence des cellules épithéliales rénales (El-Naggar et *al.*, 2014).

L'étude de M. Lahouel et *al.* (2004), montre une diminution en MDA dès le premier jour de traitement et qui se maintient jusqu'au 7<sup>ème</sup> jour chez les rats prétraités par les flavonoïdes donnés sous forme d'extrait de propolis et recevant également une dose quotidienne de cyclophosphamide pendant trois jours. En revanche, les rats traités par le l'anticancéreux seul montrent une augmentation continue en MDA en fonction du temps par rapport au témoin. Les extraits de propolis semblent apporter une protection contre les radicaux libres formés par la métabolisation hépatique de cyclophosphamide. Ils empêchent la liaison de ces métabolites



réactifs avec les lipides membranaires de la cellule hépatique, ce qui se traduit par la diminution des taux de MDA tissulaires (Lahouel et *al.*, 2004).

Chez les rats prétraités par l'extrait de propolis, une augmentation du taux de glutathion par rapport à ceux des témoins. Les résultats montrent une diminution significative des taux de glutathion hépatique chez les animaux traités par les médicaments anticancéreux seuls. Elle est maximale au délai de sept jours où cette diminution atteint 52 % dans le cas du cyclophosphamide. Cette diminution est due à l'action toxique de médicament et la production des métabolites toxiques. Chez les rats prétraités par l'extrait de propolis, une augmentation du taux de glutathion par rapport à ceux des témoins. Ces résultats confirment le rôle antioxydant des flavonoïdes. Ces derniers ont la capacité de capturer et désactiver les radicaux libres. Ils agissent par empêchement de la fixation des radicaux libres sur l'ADN, par l'activation du système de détoxification et par la protection des parois capillaires (Lahouel et *al.*, 2004).

## **2. Effet de la propolis contre la toxicité induite par la cisplatine (CP)**

Selon l'étude de E. Yuluğ et *al.* (2018), les résultats suivants ont été trouvés : Les coupes H & E présentaient une morphologie normale dans le groupe contrôle et les groupes traité par la propolis à des doses de 50 mg / kg / jour et 100 mg / kg / jour de propolis. Une dégénérescence nettement plus importante des cellules tubulaires et glomérulaire, de l'œdème et de la dilatation des tubules étaient observés dans le groupe CP par rapport au groupe témoin, le même résultat a été obtenu par Süleyman Özen et *al.* (2004), ainsi qu'une dégénérescence de cellules épithéliales tubulaires et dilatation de capsule Bowman étaient significativement moins fréquentes dans le groupe recevant de la propolis à 50 mg / kg / jour et 100 mg / kg / jour par rapport au groupe CP ( Yuluğ et *al.*, 2018).

La même étude a constaté moins de cellules apoptotiques dans le tissu épithélial dans les groupe supplémentés par la propolis avec deux dose différents, 50 mg/kg/jour et 100 mg /kg/jour par rapport au groupe recevant la CP seule ( Yuluğ et *al.*, 2018).

L'index apoptotique (IA) dans les tissus rénaux a augmenté de manière significative dans le groupe CP par rapport au groupe témoin alors qu'aucune différence d'IA a été observée dans le CP + 50 mg /groupe propolis kg / jour par rapport au groupe CP. L'IA a été considérablement réduite dans le groupe CP+ 100 mg de propolis / kg / jour par rapport au groupe CP groupe. E. Yuluğ et *al.* (2018), ont constaté que le traitement avec 100 mg / kg de propolis était le plus protecteur contre les effets néphrotoxiques de la CP ( Yuluğ et *al.*, 2018).

Les niveaux plasmatiques du MDA ont augmenté de manière significative dans le groupe CP par rapport au groupe témoin ( Yuluğ et *al.*, 2018).

Le CP augmente les niveaux de MDA en provoquant une oxydation des lipides (Abdelrahman, 2017; Al-Kahtani et coll, 2014). Les mêmes résultats sont obtenus par Süleyman Özen et al. (2004), qui ont montré aussi que le cisplatine provoque une cytotoxicité chez le rat, démontré par les élévations de la créatinine et de NO et par des déplétions d'activité CAT, SOD et GSH-Px ( Yuluğ et *al.*, 2018).

Süleyman Özen et *al.* (2004) conclue que, la MDA libéré par la peroxydation lipidique dans le tissu rénal peut être métabolisé immédiatement par un enzyme mitochondriale métabolisant la MDA (aldéhyde déshydrogénase, ALDH). Le NO peut réagir avec des groupes thiol (-SH) d'acides aminés et protéines et forment des nitroso-thiols relativement stables (-S-NON). L'anion superoxyde ( $O_2^-$ ) a été signalé à réagissent avec NO pour produire des anions peroxynitrites (ONOO-) qui peut se décomposer pour former du dioxyde d'azote ( $NO_2$ ) et radical hydroxyle ( $OH^\cdot$ ) et peroxynitrite qui peuvent contribuer à la peroxydation lipidique (Kirkebo'en et Strand, 1999). Peroxynitrite a été supposé jouer un rôle important dans l'ischémie rénale – lésion de reperfusion (Walker et coll., 2000). Peroxynitrite généré dans l'épithélium tubulaire pendant l'ischémie – reperfusion ou l'administration de cisplatine altère les propriétés d'adhésion des cellules tubulaires, qui peut alors contribuer à l'obstruction tubulaire dans l'insuffisance rénale aiguë (Wangsiripaisan et coll., 1999).

Les niveaux plasmatiques de MDA ont diminué de manière significative dans les deux groupes CP + 50 mg / kg / jour de propolis et CP + 100 mg / kg / jour de propolis par rapport au groupe CP, associée à une augmentation de l'activité de CAT, SOD et GSH-Px par rapport à celui du groupe cisplatine. L'activité (TAS) tissulaire était significativement plus faible dans les groupes CP + 50 mg / kg / jour de propolis et CP + 100 mg / kg / jour de propolis que dans le groupe CP. Le statut antioxydant total (TAS), statut oxydant total (TOS) et l'indice de stress oxydatif (OSI) sont les principaux facteurs qui reflètent l'équilibre redox entre l'oxydation et les antioxydants. La TAS est un marqueur de l'activité de tous les antioxydants, alors que le TOS est un marqueur de ROS. L'OSI est le rapport entre TOS et TAS et indique les niveaux de stress oxydatif (Cingi et *al.* 2016).

Selon une autre étude de A.Kart et *al.* (2009), le traitement par le cisplatine dans le groupe recevant cisplatine (CS) a augmenté de manière significative les concentrations de MDA par rapport à ceux des groupes contrôle et le groupe traité par le CAPE tandis que la

concentration tissulaire de GSH dans le groupe CS était significativement plus faible que dans les groupes C et CAPE. Les mêmes résultats sont obtenus par Mustafa Iraz et *al.* (2006). L'élévation du taux de MDA et la réduction des réserves de GSH du tissu hépatique après un traitement au cisplatine suggèrent que le stress oxydatif dû aux dommages des radicaux libres est l'un des mécanismes possibles de la physiopathologie du cisplatine (Kart et *al.*,2009).

Pratibha et coll. (2006), ont rapporté que le cisplatine augmentait la peroxydation lipidique et conduit à une baisse significative du taux de GSH dans le tissu hépatique du rat. Les résultats obtenus par Mustafa Iraz et *al.* (2006), indiquent que l'augmentation du MDA dans le foie des rats traités par le cisplatine peut être liée à la diminution de l'activité du CAT et du GSH-Px, qui éliminent les hydroperoxydations et les peroxydations lipidiques (Iraz et *al.*,2006).

L'administration de CAPE a empêché la diminution des activités GSH-Px et CAT dans le foie. Les activités enzymatiques élevées de la SOD, du CAT et du GSH-Px dans les groupes cisplatine+CAPE ont indirectement montré une augmentation du nombre de radicaux libres après l'administration de cisplatine, et ont également reflété le rôle important que ces enzymes dans l'élimination des radicaux libres excessifs (Iraz et *al.*,2006).

Le cisplatine a significativement élevé le taux de NO par rapport aux autres groupes, tandis que le traitement par CAPE dans le groupe CP + CAPE a complètement empêché l'augmentation du taux de NO induite par le cisplatine, ce qui était similaire à celui du contrôle. Selon Mustafa Iraz et *al.* (2006), les données actuelles montrent que le NO peut ne pas être impliqué dans la toxicité hépatique induite par le cisplatine (Iraz et *al.*,2006).

Les taux sanguins l'aspartate aminotransférase (AST) et de l'alanine aminotransférase (ALT) dans le groupe CP étaient significativement augmentés par rapport à ceux des autres groupes. Cependant, le traitement par CAPE a réduit de manière significative l'augmentation de l'ASAT et de l'ALT induite par le cisplatine (Iraz et *al.*,2006).

Lors des examens microscopiques des échantillons, les architectures normales du foie observées dans les groupes Contrôle et CAPE ont été préservés. Une prolifération de cellules de Kupffer dans toutes les sections et une infiltration de cellules mononucléées dans certaines régions et une congestion sinusoidale occasionnelle ont également été notées groupe CP (Iraz et *al.*,2006).

Les altérations histopathologiques observées dans le groupe CP étaient moins sévères chez les animaux recevant CP + CAPE (Iraz et *al.*,2006).

L'immunohistochimie des iNOS a montré qu'il y avait une immunoréactivité uniquement dans les cellules endothéliales sinusoidales et les cellules de Kupffer dans le contrôle (Iraz et *al.*,2006).

Une immunocoloration similaire était présente dans le groupe recevant le CAPE. Chirino et Pedraza-Chaverri (2008), ont rapporté que l'inhibition sélective de l'iNOS réduisait les lésions rénales et le stress nitrosatif induits par le cisplatine, suggérant que le NO contribue à la néphrotoxicité et que l'augmentation de la production de NO est due à l'iNOS (Iraz et *al.*,2006).

Chez les animaux qui ont reçu CP + CAPE, le profil d'immunocoloration dans le foie ressemblait à celui du CP; cependant, une réduction importante du nombre d'hépatocytes immunoréactifs a été observée dans le groupe CP + CAPE (Iraz et *al.*,2006).

Les résultats de l'examen immunohistochimique ont montré que le traitement CAPE réduisait le nombre d'hépatocytes immunoréactifs, indiquant que CAPE pourrait empêcher le stress nitrosatif et les dommages nitrosatifs qui en résultent (Iraz et *al.*,2006).

Parallèlement aux résultats des études précédentes, les résultats de l'étude de Pinar Tatli Seven et *al.* (2020), ont montré que la propolis réduisait les dommages oxydatifs causés par la toxicité du CP dans les tissus. La structure nanoparticulaire de la propolis, connue pour être plus efficace sur ces dommages oxydatifs (Seven et *al.*,2020).

Il a été signalé que le CP a des effets toxiques directs sur l'estomac (Malik, N.M et *al.*, 2007). De même, l'étude menée par Malik et *al.* (2007), ont constaté que la prise alimentaire (IF) était significativement réduite par CP à une dose de 6 mg / kg de poids corporel chez le rat. Ils ont associé cet effet du CP au fait qu'il provoque une accumulation de gaz dans l'estomac et que la vidange de l'estomac a été retardée en raison de cette accumulation de gaz. On a vu que les applications de propolis et de nanopropolis (NP) affectaient positivement la diminution de l'IF causée par la toxicité de CP, et FI dans les groupes CP + Propolis et CP + NP était similaire au groupe témoin entre les jours 1 et 21 (Malik et *al.*, 2007).

Il a été observé que bien qu'il y ait eu une amélioration de (FI) et une augmentation de poids corporel (BW) dans les groupes CP + NP par rapport au groupe CP, il y avait une amélioration plus significative dans le groupe CP + Propolis. Ceci était associé au fait que la propolis augmentait l'IF et en particulier la résine, la cire, le miel et la vanilline dans sa structure (Seven et *al.*, 2012) provoquaient l'augmentation de leur saveur. De plus, la présence

de différences significatives entre les doses de propolis des groupes nano (10 et 30 mg / kg de poids corporel) et le groupe propolis (100 mg / kg de poids corporel) était associée au fait que les substances augmentant le goût étaient partiellement moins nombreuses que les substances nano groupes. Les améliorations apportées à FI reflètent également les valeurs de BW. En outre, des améliorations de FI et BW ont été associées aux flavones dans la structure de la propolis (Kasala, E.R et *al.* , 2019).

Selon les résultats acquis, la deuxième dose (30 mg/kg BW) de NP était bien plus efficace que la propolis libre (100 mg / kg BW) au niveau cellulaire, cela était associé à l'augmentation significative d'activité de propolis par les nanotechnologies, qui a ainsi permis d'obtenir de meilleurs résultats malgré l'utilisation de doses plus faibles de propolis (Malik et *al.*, 2007).

Cependant, le traitement par le CP a provoqué une augmentation significative du GLU, de l'aspartate aminotransférase (AST), de l'alanine aminotransférase (ALT), de la phosphatase alcaline (ALP), la créatinine et azote uréique sanguin (BUN) par rapport au groupe témoin (Malik et *al.*, 2007).

Les associations CP + Propolis et CP + NP ont provoqué une différence significative des taux d'AST, de GLU, d'ALP, d'albumine et de BUN par rapport aux groupes CP uniquement (Malik et *al.*, 2007).

Le traitement par CP a provoqué une augmentation significative du taux de MDA et des diminutions significatives du niveau de GSH, du GSH-Px et de l'activité CAT par rapport au groupe témoin dans les tissus hépatiques et rénaux. L'administration de propolis (CP + propolis) et de NP (CP + NP) associée au traitement CP a significativement diminué le niveau de MDA et augmenté significativement le niveau de GSH, le GSH-Px et l'activité CAT par rapport au groupe CP uniquement (Malik et *al.*, 2007).

L'administration de CP a augmenté l'expression de la protéine pro-apoptotique Bax et diminué l'expression de la protéine anti-apoptotique Bcl-2 dans les tissus hépatiques et rénaux par rapport au groupe témoin. Alors que les traitements à la propolis et au NP ont atténué l'apoptose dans les tissus hépatiques et rénaux. Le rapport Bax / Bcl2 le plus élevé dans les deux tissus a été déterminé dans le groupe CP uniquement (Malik et *al.*, 2007).

Le CP induit l'apoptose dans les cellules sensibles à la CP en activant Bax, conduit à la libération du cytochrome C dans le cytosol, et activant par la suite les caspases. De plus, la protéine Bcl-2 régulée dans les cellules résistantes à la CP s'est avérée être un facteur de

résistance au CP (Cho, H.J et *al.*, 2006). Dans la même étude, il a été découvert que la CP induisait l'apoptose en raison de l'augmentation de la protéine Bax dans les tissus du foie et des reins, tandis que la protéine Bcl-2 a diminué. Dans l'apoptose liée au CP; les applications de propolis et de NP ont augmenté la libération de la protéine Bcl-2 et diminué la libération de la protéine Bax (Malik et *al.*, 2007).

### **3. Effet de la propolis contre la toxicité induit par le 5-Fluorouracile (5-FU)**

Selon l'étude de Rashid et *al.* (2013), les niveaux de SOD, GPx, GR et CAT étaient significativement diminués chez les rats traités au 5-FU par rapport au témoin. La diminution de l'activité des enzymes antioxydantes (SOD, CAT, GPx et GR) dans le groupe traité au 5-FU soutient l'implication du stress oxydatif dans la pathophysiologie de la toxicité rénale induite par le 5-FU (Rashid et *al.*, 2014). L'administration de la propolis à des groupes traités par 5-FU a amélioré ces enzymes, peut être en piégeant l'oxygène singulet, les anions superoxyde, les radicaux peroxy, OH<sup>-</sup>. Le GSH est un tripeptide qui détoxifie efficacement les ROS, s'épuise après l'injection de 5-FU et se reconstitue par la prophylaxie propolis (Rashid et *al.*, 2013).

Une autre étude similaire réalisée par le même équipe des chercheurs en 2014 montre que les activités des antioxydants enzymatiques et non enzymatiques réduites lors de l'administration de 5-FU ont été considérablement augmentées lors du traitement par la Chryisine (Khan et *al.*, 2012) qui est un flavonoïde naturel présent dans de nombreux extraits de plantes et de propolis. La Chryisine a des propriétés antioxydantes et anticancéreuses (Rashid et *al.*, 2014).

Un autre paramètre à prendre en considération pour évaluer le stress oxydatif induit par le 5-FU est le MDA. La lipopéroxydation ou peroxydation lipidique (LPO) est mesurée sous la forme de MDA, est l'un des mécanismes impliqués dans les lésions tissulaires via la génération de ROS. Une augmentation significative du taux de MDA dans les tissus rénaux a été rapportée chez des rats traités au 5-FU (Sarhani, 2011). L'étude réalisée par Rashid et *al.* 2013, montre que les rats traités au 5-FU démontrent une augmentation du niveau de MDA, par rapport aux rats témoins comme rapporté par Ali (2012). L'ingestion de la propolis à des rats traités au 5-FU a considérablement diminué la MDA par rapport aux groupes reçoit le 5-FU seule (Rashid et *al.*, 2013).

Selon l'étude réalisée par Rashide et *al.* (2014), l'effet protecteur des flavonoïdes de la propolis, peut être associé à une amélioration du stress oxydatif et des dommages apoptotiques dans les reins de rats traités au 5-FU. Leurs résultats concordent avec les

résultats précédents. Le traitement prophylactique par la Chryisine a considérablement réduit le niveau de MDA de manière significative et dose-dépendante. Le GSH est un antioxydant unanime qui se défend contre les lésions toxiques exogènes en augmentant la défense contre les ROS via le piégeage des radicaux libres. Il le fait en donnant directement un atome d'hydrogène et en neutralisant les radicaux libres (radicaux hydroxyles). L'épuisement du GSH dans les tissus endommage la défense cellulaire contre le stress oxydatif (Rashid et *al.*, 2014).

Le TNF-a est une cytokine pro-inflammatoire qui joue un rôle répandu dans de nombreux processus biologiques tels que la mort cellulaire, la croissance, le développement, l'oncogenèse et les réponses immunitaires. L'étude de Rashid et *al.* 2013 a également montré que l'administration de 5-FU augmente significativement le TNF-a. Il a été rapporté que le stress oxydatif peut également déclencher ou augmenter l'inflammation via une régulation positive de divers gènes impliqués dans les mécanismes inflammatoires (Rashid et *al.*, 2013).

Les radicaux libres d'oxygène et le TNF-a pourraient s'activer aussi NFkB qui est un facteur de transcription sensible redox, qui a leur tour stimule la cascade inflammatoire successive. Pourtant la voie de la signalisation NFkB et sa corrélation avec le stress oxydatif n'est pas tout à fait clair. Bien qu'il a été rapporté que l'utilisation d'antioxydants et de piègeurs de ROS comme les thiols et les polyphénols peuvent diminuer l'activation du NFkB par le stress oxydatif. Les résultats de l'étude réalisée par Rashid et *al.* (2013), montrent que les ROS jouent un rôle actif dans la libération de TNF-a et l'activation de NFkB. Leur étude donne le support preuve de l'induction et de l'activation du NFkB dans le groupe des rats traité par le 5-FU. Ces travaux appuient les travaux de Tung et *al.* (2011) et Khan et *al.* (2011). Ils ont trouvés que l'expression de NFkB et la libération de TNF-a étaient atténuée substantiellement par le traitement avec la propolis réduisant ainsi les réponses inflammatoires impliquée dans les reins induits par le 5-FU (Rashid et *al.*, 2013).

Les lésions rénales induites par le 5-FU sont clairement mises en évidence par une augmentation des niveaux de créatinine sérique. Les résultats obtenus par Rashid et *al.* (2014) sont en bon accord avec ceux publiés précédemment (Nora, 2012).

Au contraire, des taux plus faibles de créatinine sérique ont été trouvés chez les rats recevant du chryisine par rapport au groupe traité au 5-FU. Par conséquent, la diminution des niveaux peut être éventuellement due à l'efficacité néphroprotectrice possible offerte par le chryisine contre la toxicité du 5-FU indiquant que ce flavonoïde a tendance à contrecarrer les dommages et à inhiber l'infiltration des enzymes à travers les membranes cellulaires. Leurs résultats corroborent les découvertes précédentes de leur laboratoire (Sultana et *al.*, 2012).

Selon l'étude de Rashid *et al.* (2013) et Rashid *et al.* (2014), l'administration du 5-FU a entraîné aussi une perturbation de l'architecture rénale normale qui était bien évidente par les sinusoïdes sanguines, les hémorragies interstitielles, la congestion glomérulaire et l'atrophie. En outre, le traitement par la propolis ou par la chryisine de manière significative ont montré des changements protecteurs dans les glomérules et les tubules à une manière dose dépendante ; et donc prévenait considérablement la perturbation de l'architecture rénale normale qui a été déformée par l'administration de 5-FU (Rashid *et al.*, 2013).

Les résultats mentionnés ci-dessus ont confirmé avec les données histologiques l'effet protecteur de la propolis et de la chryisine contre l'histo-architecture rénale déformée manifesté par la formation vacuolaire, dégénérescence de l'architecture tubulaire, congestion et gonflement glomérulaires, induite par le 5-FU.

#### **4. Effet de la propolis contre la toxicité induit par le méthotrexate (MTX)**

Les résultats de l'étude de Fatma *et al.* (2016), montre que le MTX a provoqué une diminution progressive significative des activités des enzymes GR, GPx et SOD dans les cellules hépatiques pendant la durée d'administration (3, 6 et 9 semaines). Ce médicament a causé des dommages cellulaires agressifs aux cellules hépatiques avec destruction de leurs membranes et libération des enzymes dans la circulation sanguine. Ces observations peuvent être expliquées comme suit: de nombreux médicaments chimiothérapeutiques tuent les cellules cancéreuses par oxydation, la production d'espèces réactives de l'oxygène et l'induction de l'apoptose ou de la nécrose des cellules tumorales; tandis que d'autres agissent sur divers composants du métabolisme cellulaire en influençant les activités de différentes enzymes nécessaires à la division cellulaire. La cytotoxicité n'étant pas sélective pour les cellules cancéreuses, elle affecte également les cellules normales (Sak, 2012).

Le MTX est capable de générer des espèces d'oxygène réactives toxiques potentielles au cours de son métabolisme dans la cellule et ainsi l'équilibre pro-oxydants-antioxydants qui est généralement maintenu dans une cellule normale peut être déplacé vers les pro-oxydants suite au métabolisme du MTX (Oguntibeju et Coleshowers, 2012). En outre, Rossato *et al.* (2013) ont rapporté que le MTX et son métabolite toxique connu s'accumulent dans les tissus hépatiques et que ses effets à long terme peuvent être attribués à la persistance du MTX dans les cellules et à sa forte affinité pour les macromolécules et les membranes cellulaires (Rossato *et al.*, 2013).



De plus, les résultats de Coleshowers et *al.* (2010), ont été mis en correspondance avec les résultats de l'étude précédente, qui ont rapporté que le stress oxydatif commence environ après une semaine d'administration de MTX et augmente progressivement. Les résultats ont montré que le MTX provoquait une diminution progressive significative des activités SOD et GR dans le foie à la semaine (respectivement 2, 3, 4, 5 et 6) par rapport au groupe témoin. Vardi et *al.* (2010), ont montré que, l'administration de MTX diminue les activités enzymatiques de la SOD et de la capacité GP-x dans le foie. En outre, Abdel-Ghaffar et *al.* (2013) ont rapporté que les rats traités au MTX présentaient une diminution significative de la machinerie antioxydante hépatique représentée par la glutathion peroxydase, la glutathion réductase et le superoxyde dismutase par rapport au groupe témoin (Abdel-Ghaffar et *al.*, 2013)

Fatma et *al.* (2016) ont constatées que, l'administration orale d'extrait de propolis à des rats injectés de MTX induit une augmentation des activités SOD, GR et GPx pendant la durée de l'administration, et que l'effet de l'extrait de propolis était plus prononcé à 9 semaines (Fatma et *al.*, 2016).

Les résultats de la même étude ont indiqué que la propolis avec sa forte concentration en flavonoïdes (composés polyphénoliques) possède de puissantes activités anti-oxydantes et anti-radicalaires, par conséquent, il est capable de moduler les activités des enzymes antioxydantes et supprimant les dommages oxydatifs, et qu'une telle amélioration soutient les effets hépatoprotecteurs de la propolis. Cela pourrait être dû à la régénération accélérée des cellules parenchymateuses hépatiques sous l'influence de divers composés bioactifs de la propolis comme les flavonoïdes et leurs esters (Abu Aita et *al.*, 2012 et EL-Mahalaway et *al.*, 2015). Bhaduria (2012) a constaté que la propolis est utile dans l'absorption et l'utilisation de divers minéraux en raison de la présence de dérivés d'acide organique en elle, qui à leur tour améliorent les fonctions physiologiques en régulant les activités enzymatiques dépendantes d'ion (Bhaduria, 2012).

Les résultats d'une autre étude de Mohamed el *al.* (2011) qui vise à étudier certains effets antioxydants, biochimiques et histopathologiques de propolis pendant le traitement de l'ascite d'Ehrlich des souris porteuses de carcinome en utilisant un anticancéreux (MTX), ont montré une augmentation significative du niveau du MDA dans l'homogénat du foie de souris porteuses d'EAC qui pourraient être due au cancer qui est une maladie multifactorielle, où le stress oxydatif peut être impliqué dans l'initiation et la promotion de la cancérogenèse en plusieurs étapes, les espèces réactives d'oxygène ROS peuvent accélérer les dommages à l'ADN, stimuler la pro-carcinogénèse, initier la peroxydation lipidique (MDA), inactiver les

systèmes enzymatiques antioxydants et ainsi moduler l'expression de gènes liés à la promotion de la tumeur (Fenninger et Mider, 1954) dont l'expression de ces gènes est plus élevée dans les tissus cancéreux que dans les organes non malades (Meister, 1988), tandis que la diminution des autres niveaux d'antioxydants SOD, GSH et CAT peut être le résultat de la croissance tumorale et de l'apparition de la malignité (Yagi, 1987).

Le groupe traité uniquement avec MTX a révélé le même résultat mais une élévation du MDA et une diminution de SOD, GSH et CAT plus importante qui peut être le résultat d'une modification significative de l'équilibre oxydant / antioxydant, du stress oxydatif ou des dommages cellulaires oxydatifs avec la génération de radicaux libres et de la peroxydation lipidique profonde qui sont les caractéristiques de la toxicité du MTX (Jahovic et *al.*, 2004).

En fait, la diminution de la teneur en GSH du foie favorisée par le MTX représente une altération de l'état redox cellulaire, suggérant que les cellules pourraient être plus sensibles aux métabolites réactifs de l'oxygène (Fiocchi, 2004) et conduit à une réduction de l'efficacité du système de défense antioxydant enzymatique (Babiak, 1998). Alors que les groupes traités par la propolis ont montré une augmentation des activités SOD, GSH, CAT et une diminution des activités MDA que les groupes témoins négatif (non malade et qui ne ressouvint aucun traitement) et positif et ceux qui sont traités au MTX. Cela peut être expliqué par la protection des tissus contre le stress oxydatif induit par les espèces réactives de l'oxygène et l'amélioration du système antioxydant par la propolis (Oktem et *al.*, 2005), ces derniers présente l'un des rôles suggérés de la propolis contre le cancer est la prévention des dommages oxydatifs (El-khawaga et *al.*, 2003).

D'autre part, le résultat biochimique de cette étude a révélé une diminution des taux de protéines totales et d'albumine dans les groupes qui n'ont pas reçu de la propolis, ceci peut être attribué à une division mitotique accrue des cellules tumorales avec un retrait élevé de liquide sanguin et la perméabilité capillaire, qui permettent l'échappement des protéines plasmatiques dans la cavité péritonéale (Garrison et *al.*, 1987). En outre, l'hypoprotéïnémie et l'hypoalbuminémie peuvent être dues à une néphrite excessive et également à certains cas d'ascite massive et également associées à une maladie hépatique (Coles, 1986) qui se confirme comme le résultat d'une augmentation des activités ALAT et AST avec une augmentation du taux de créatinine dans ce groupe qui peut être attribué à des lésions hépatiques et rénales résultant de l'invasion des cellules cancéreuses (Hashem et *al.*, 2004). Alors que dans le groupe qui a reçu de la propolis par (50 mg / kg de poids corporel) a montré une amélioration de ces paramètres vers les niveaux du groupe de contrôle normal qui reflète

un effet protecteur de la propolis contre le dysfonctionnement des organes et les lésions cellulaires (Sforcin, 2007) que d'autres groupes qui sont apparus par une diminution des protéines totales, de l'albumine et une augmentation des ALAT, des AST et de la créatinine qui pourraient être dues à des lésions hépatiques, une nécrose et une inflammation légères (Hemeida et Mohafez, 2008) et des lésions rénales à la suite d'un traitement par MTX (Abraham et *al.*, 2010) tandis que dans le cinquième groupe protégé par la propolis a révélé une amélioration par rapport au groupe témoin due à sa composition en minéraux et flavonoïdes (Bhadauria et *al.*, 2007) qui sont capables de restaurer les lésions hépatiques et les altérations du foie (Shukla et *al.*, 2004). Ces résultats antérieurs ont été confirmés par l'examen histopathologique qui a révélé une amélioration des altérations du foie et des reins dans le groupes traitée par la propolis par rapport des différents groupes.

Les résultats d'étude de Mohamed et *al.* (2011), montre que le traitement du carcinome ascite d'Ehrlich  $2,5 \times 10^6$  transplanté par voie intrapéritonéale chez des souris albinos suisses par combinaison de propolis égyptienne (50 mg / kg poids corporel) et le méthotrexate (0,4 mg / kg poids corporel) améliore l'altération de l'état antioxydant et analyse biochimique des souris implantées contre le groupe contrôle (Fatma et *al.*, 2016).

### **5. Effet de la propolis contre la toxicité induit par la doxorubicine (DOX)**

L'étude réalisée par boutabet et *al.* ( 2011) sur le rein a montré une augmentation significative du MDA dans des groupes d'animaux recevant de la doxorubicine seule; indiquant la toxicité du médicament. En même temps, les taux de glutathion enregistrés chez les rats traités par la doxorubicine seule étaient inférieurs à ceux des rats non traités. Cette diminution était probablement due à l'effet toxique des métabolites réactifs du médicament qui peuvent être fixés et neutralisés par le système de désintoxication, entraînant une diminution des concentrations de GSH ou une dégradation du GSH par la gamma-glutamyl transpeptidase. De plus, le niveau de MDA est diminué dans des groupes d'animaux recevant les flavonoïdes avant le traitement par la doxorubicine, par contre le taux de glutathion est augmenté dans des groupes d'animaux prétraités avec des flavonoïdes de propolis. Cependant, ces données peuvent expliquer l'effet préventif des flavonoïdes contre le stress oxydatif rénal induit par la doxorubicine (Injac et *al.*, 2008). Le mécanisme par lequel l'extrait de propolis prévient le stress oxydatif rénal peut inclure une augmentation du taux de GSH ou par induction de sa synthèse ou par un effet de piégeage (boutabet et *al.*, 2011).

Une autre étude réalisée par Alyane et *al.* (2016) sur la cardiotoxicité de la doxorubicine montre que le traitement des rats Wistar avec une dose unique de doxorubicine a montré certains effets sur les fonctions des mitochondries cardiaques en particulier: le médicament diminue la fréquence de contrôle respiratoire et augmente l'anion superoxyde et la production de MDA. Ces anomalies biochimiques ne sont pas survenues dans les mitochondries cardiaques et les tissus cardiaques des animaux traités par l'administration orale de propolis avant l'injection intra péritonéale de la doxorubicine. Les mêmes effets sont observés *in vitro* sur la mise en mitochondrie cardiaque en présence de des concentrations croissantes d'extrait de propolis. Ces résultats ont permis de clarifier le mécanisme de prévention de l'extrait de propolis contre la cardiotoxicité de la doxorubicine (Alyane et *al.*, 2016).

Les changements de l'apparence générale et de comportement sont aussi des signes de la toxicité induit par la doxorubicine. L'étude de Periyasamy et *al.* (2014) sur la toxicité rénale, cardiaque et hépatique de doxorubicine montre que les animaux traités par DOX semblaient être plus malade et plus faible par rapport aux animaux traités par la DOX + la quercétine (QE) dont la propolis est riche. Le poids corporel dans le groupe traité par la doxorubicine a diminué de manière significative par rapport au rats du groupe contrôle et des rats traités par la quercétine. Dans le groupe traité par la DOX + QE, le poids corporel a d'abord diminué et atteint un niveau presque normal après le 14<sup>ème</sup> jour de la période expérimentale. Une diminution du poids du cœur, une augmentation du poids du foie et des reins chez les rats traités à la DOX à été remarqué et aucune modification significative du poids des organes n'a été observée chez le reste du groupe d'animaux. L'augmentation du poids du foie dans les animaux traités par la DOX peut être due au stress oxydatif, ces résultats étaient en parallèle avec les études menées par Siveski-Iliskovic et *al.* (1994). Leurs résultats montrent aussi que la concentration totale des protéines dans le sérum a diminué lors de l'administration de DOX et la co-administration de la QE avec DOX a rétabli les niveaux à la normale. Cette observation concorde avec le rapport antérieur de Mansour et *al.* (1999). Le niveau réduit de concentration de protéines dans le sérum pourrait être dû à une diminution de l'apport alimentaire par les rats traités à la DOX, et par conséquent, à une réduction du taux de synthèse des protéines. Les concentrations de protéines hépatiques, cardiaques et rénales pourraient avoir augmenté en raison du stress oxydatif et de l'épuisement de la machinerie antioxydante intrinsèque. L'administration de QE avec DOX a ramené la concentration protéique en rétablissant le système antioxydant dans le foie, le cœur et les reins (Periyasamy et *al.*, 2014).

Les biomarqueurs hépatiques ALP, AST et ALT dans le sérum, le foie et les reins ont augmenté dans le groupe traité par la DOX. La supplémentation en quercétine n'a pas montré de changement significatif dans les activités de l'ALT et de l'AST. À l'inverse, l'administration concomitante de DOX et de quercétine (100 mg / kg) a entraîné une inversion partielle de l'augmentation sérique induite par la DOX de l'ALT et de l'ALP (Wang et *al.*, 2012). L'augmentation des biomarqueurs hépatiques ALP, AST et ALT est caractéristique des fonctions hépatocellulaires et de la diminution des fonctions hépatiques, comme l'ont démontré (Alshabanah et *al.*, 2010).

Le cœur est très sensible aux dommages induits par les espèces réactives de l'oxygène (ROS) en raison de son métabolisme hautement oxydant et de moins de défenses antioxydantes par rapport aux autres organes. La LDH et la CK sériques sont considérées comme des marqueurs importants des lésions cardiaques précoces et tardives, en particulier lors du suivi clinique du traitement par la doxorubicine (Venkatesan et *al.*, 2000). L'étude de Periyasamy et *al.* (2014) montre que l'administration de la DOX avait provoqué une augmentation de l'activité LDH et que l'activité CK était diminuée dans le sérum et le cœur. Étant donné que la LDH est libérée lors d'une lésion tissulaire, une activité accrue de la LDH dans le sérum et le cœur dans leur étude révèle des dommages dans le cœur et s'est donc accumulée dans le sérum. La CK a été utilisée pour combattre le stress oxydatif créé par la DOX, une enzyme dépendante de l'adénosine triphosphate (ATP). Par conséquent, il y a une diminution de l'activité CK dans le sérum et le cœur des animaux traités par DOX. Des taux élevés d'urée et de créatinine sériques chez les rats traités par la DOX peuvent être dus à une insuffisance rénale aiguë intrinsèque (Nilesh et *al.*, 2010). Cependant, la co-administration de QE avec DOX a rétabli les activités de LDH et CK ainsi que les niveaux de sérum urée et créatinine qui pourraient être dues au potentiel antioxydant de la quercétine (Periyasamy et *al.*, 2014)

Leurs résultats montrent aussi que les activités des enzymes antioxydantes CAT, SOD, GPx et GR chez les rats traités par DOX ont diminué, révélant les dommages dans la machinerie antioxydante du foie. Cette diminution des enzymes antioxydantes est augmentée dans le rein du groupe traité par DOX+QE. La baisse du taux d'enzymes antioxydantes dans les reins du groupe traité par DOX pourrait être due à une augmentation de la peroxydation lipidique (Nilesh et *al.*, 2010).

Donc ; selon l'étude de Periyasamy et *al.* (2014), la quercétine qui est un flavonoïde ; plus précisément du sous-groupe des flavonols ; très important de la propolis, présente des effets

protecteurs contre la toxicité hépatique, cardio-rénale induite par la DOX par ses propriétés antioxydantes et chélatantes du fer (Periyasamy et *al.*, 2014) .

## **6. Effet de la propolis contre la toxicité induit par l'épirubicine (EPI)**

Les résultats de l'étude réalisée par Kebieche et *al.* (2009), ont révélé un épuisement significatif du GSH hépatique chez les rats traités par le EPI. En revanche, le GSH hépatique a été augmenté lorsque les animaux ont été traités préventivement avec la quercitine (QE), probablement en raison de la synthèse de nouveau du GSH ou régénération après neutralisation des ROS par les composés phénoliques et flavonoïdes (Kebieche et *al.*,2009) .

L'activité réduite de SOD et CAT a été observée non uniquement dans le cytosol, mais aussi dans les mitochondries pour Mn-SOD lorsque les rats ont reçu du EPI. Cela pourrait expliquer la production intensive d'anion superoxyde dans la chaîne respiratoire suite à l'altération probable dans son système de transport d'électrons dans les protéines des cellules hépatiques pourrait également expliquer la perte de l'activité antioxydases. Ces événements peuvent être généralisés pour tous les types de cellules (Kebieche et *al.*,2009).

Dans leur étude, le traitement des animaux avec QE a maintenu le contenu normal des enzymes antioxydantes analysées. Par conséquent, QE a montré une propriété antioxydant contre les ROS *in vivo*. Leurs résultats montrent aussi que les niveaux de MDA sont significativement augmentés dans le cytosol et les mitochondries du groupe des rats traité par l'EPI par rapport au groupe témoin. Cependant, la différence n'a pas été enregistrée entre le groupe préventif et le groupe de contrôle normal. L'augmentation significative des taux de MDA dans le cytosol et les mitochondries hépatiques après le traitement EPI suggère qu'une peroxydation lipidique accrue provoque des tissus. Cela suggère également que l'échec des mécanismes de défense antioxydants empêche la formation de radicaux libres excessifs (Sanmugapriya et Venkatara-homme, 2006). Cette peroxydation lipidique peut expliquer la fuite des enzymes transaminases des cellules hépatiques vers le sang. D'autre part, l'administration préventive de l'association de QE avec l'EPI a considérablement inversé ces changements (Kebieche et *al.*, 2009).

Une autre étude similaire réalisé par Sara chaa et *al.* (2019), montre que l'épirubicine a augmenté les marqueurs du stress oxydatif dans le foie (peroxydation lipidique) tout en diminuant le niveau d'agents antioxydants endogènes tels que le GSH, la catalase et l'activité superoxyde dismutase. D'autre part, la propolis de Tizirt a réussi à inverser ce stress oxydatif dans les tissus hépatiques. Cet effet antioxydant est certainement dû à la présence d'acides

phénoliques et de flavonoïdes dans la propolis, ainsi qu'à leur capacité à piéger les radicaux libres. Le stress oxydatif induit par les anthracyclines a été incriminé dans l'initiation de sa toxicité multi-organes, car il subit une activation bio-réductrice par cycle redox via sa structure chimique unique favorisant la formation de radicaux libres (Ravi et Das, 2004). D'autre part l'augmentation de la peroxydation lipidique est largement due à l'inhibition de la superoxyde dismutase (SOD) et de la catalase (Newairy et al., 2009). Il est également connu que la propolis agit généralement par différents mécanismes (Araujo et al., 2012) comme inhibiteur de la cyclooxygénase, les prostaglandines PGE2 et les cytokines pro-inflammatoires (Hu et al., 2005). Il a été démontré que les extraits de propolis ont un effet élevé sur l'activité des cellules inflammatoires (migration cellulaire, activation des macrophages) (Bueno-Silva et al., 2013). La propolis de Tigzirt a inhibé la production de PGE2 et de TNF pendant la toxicité induite par l'épirubicine. Cela peut expliquer les effets anti-inflammatoires de l'extrait de propolis, avec l'inhibition de la mobilisation des neutrophiles dans la cavité péritonéale (Chaa et al., 2019).

L'AST, l'ALT et l'ALP sont les enzymes primaires utilisées pour évaluer l'état de la fonction hépatique (Wallace et Meyer, 2008). Ce sont les biomarqueurs les plus sensibles, directement impliqués dans l'étendue des dommages cellulaires et de la toxicité, car ils sont cytoplasmiques et libérés dans la circulation après une lésion cellulaire (Soudani et al., 2011). Les résultats de l'étude de Sara chaa et al. (2019), ont révélé une augmentation très significative de l'activité enzymatique des ALT, AST, ALP et GT chez le groupe des rats qui ont reçu une injection d'épirubicine (9 mg / kg). L'augmentation de l'activité enzymatique hépatique dans le sang peut être due à des lésions tissulaires hépatiques, à des modifications de la perméabilité membranaire, à une synthèse accrue ou à une diminution du catabolisme des aminotransférases (Frag et al., 2010). Ainsi, la nécrose cellulaire, la destruction du parenchyme hépatique ou une augmentation de la perméabilité membranaire des hépatocytes peuvent provoquer l'écoulement de ces enzymes dans la circulation sanguine et ainsi augmenter leur taux de sérum (Jodynis-Liebert et al., 2010).

Cette étude a montré que l'épirubicine provoque des lésions hépatiques sévères en accord avec les résultats obtenus par Iwakiri et al. (2007) et Hwan Shin et al. (2014) qui ont également démontré l'effet hépatotoxique de l'épirubicine. Les résultats ont également montré que l'administration de propolis de Tigzirt à des rats exposés à l'épirubicine réduisait significativement l'activité enzymatique de l'ALT, de l'AST et de l'ALP. Cela révèle la capacité de la propolis à améliorer les lésions hépatiques induites par la chimiothérapie

indiquant que la propolis est efficace pour prévenir les lésions hépatiques causées par l'épirubicine (Chaa et *al.*, 2019).



***CONCLUSION &  
PERSPECTIVES***

Les substances naturelles occupent de plus en plus une place de choix en thérapeutique. En effet, la propolis d'abeille constitue de véritable usine chimique dont il faut tirer le maximum de profit pour le bien être de population.

Le traitement par les médicaments anticancéreux (CDDP, CTX, MTX, EPI, DOX, 5-FU) induit un stress oxydant hépatique, rénal et hématologique exprimé par un déficit dans les systèmes antioxydant enzymatique et non enzymatique, avec une augmentation de la peroxydation lipidique. Les antioxydants empêchent les effets toxiques, mutagènes et cancérigènes des agents antinéoplasiques.

Le prétraitement par la propolis a permis la mise en évidence d'un effet préventif contre l'hépatotoxicité, la néphrotoxicité et l'hématotoxicité par le renforcement des systèmes antioxydant enzymatique et non enzymatique présenté par l'augmentation des taux de GSH, de l'activité enzymatique de la SOD, le GP<sub>x</sub> et le CAT et par la protection des membranes contre les effets des ROS par une inhibition de la peroxydation lipidique et la réduction des taux de MDA.

Il ressort clairement que la propolis exerce par leur pouvoir piègeur et antioxydant un effet préventif contre la toxicité hématologique, néphrologique et hépatologique causée par la chimiothérapie.

Pour conclure, les propriétés bénéfiques de la propolis ; riche en flavonoïdes; sur les cellules, qui ont été attribuées à l'atténuation des effets secondaires induits par les médicaments anticancéreuses et à la valorisation des chimiothérapies, permettent de suggérer son utilisation pour améliorer la santé du grand public.

Ces résultats prennent un intérêt majeur et ouvrent de grandes perspectives :

- ✓ Des études à l'échelle moléculaire sont nécessaire pour apprécier le mécanisme de la toxicité des anticancéreux et pour mieux comprendre l'effet protecteur des polyphénols de la propolis
- ✓ la nanotechnologie augmente l'efficacité des matériaux en utilisant le changement de leur taille et de permettre à la taille nanométrique d'avoir un meilleur effet dans les domaines de la biologie et de la médecine ; des études sur la structure nanoparticulaire de la propolis sont nécessaires.
- ✓ La propolis demeure donc une réserve importante pour la recherche de substances biologiquement actives et il reste beaucoup à apprendre au sujet de ses modes d'action et ses propriétés pharmacocinétiques. Néanmoins, il y a un manque de recherche clinique sur les effets de cette substance chez l'homme.

***REFERENCES***  
***BIBLIOGRAPHIQUES***

## Références bibliographiques

- **Abdel-Ghaffar F.R., El-Elaimy I.A., El-DougDoug K and Nassar H.I.** Protective and modulatory effects of curcumin and L-carnitine against methotrexate-induced oxidative stress in albino rats. *Res. J. Pharm. Biol. Chem. Sci* (2013)4:744-754.
- **Abdelrahman R.S.** Sitagliptin exerts anti-apoptotic effect in nephrotoxicity induced by cisplatin in rats. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* (2017)390:721–731.
- **Abraham P., Isaac B.** Ultrastructural changes in the rat kidney after single dose of cyclophosphamide –possible roles for peroxisome proliferation and lysosomal dysfunction in cyclophosphamide –induced renal damage. *Hum Exp Toxicol* (2011)30: 1924 -1930.
- **Abraham P., Kolli V.K., Rabi S.** Melatonin attenuates methotrexate-induced oxidative stress and renal damage in rats. *Cell Biochem Funct* (2010)28(5): 426-433.
- **Abraham P., Rabi S.** Nitrosative stress, protein tyrosine nitration, PARP activation and NAD depletion in the kidneys of rats after single dose of cyclophosphamide. *Clin Exp Nephro* (2009)13: 281 -287.
- **Abu Aita N.A., Hashesh M.A and Mohamed A.H.** Clinicopathological and cytogenetic studies on the ameliorative effect of propolis against protenofos toxicity in rats. *G.V* (2012) 9 (6): 669-682.
- **Adams Jr.D., Klaidman L.K.** Acrolein-induced oxygen radical formation. *Free Radical Bio Med* (1993) 15: 187- 193.
- **Alarcon R.A.** Studies on the in vivo Formation of Acrolein: 3-Hydroxy propylmercapturic Acid as an Index of cyclophosphamide (NSC-26271) Activation. *Cancer Treat Rep* (1976) 60: 327-335.
- **Albers JW .C.V., Cavaletti G., Donehower R.C.** Interventions for preventing neuropathy and c.b.c.a.r.c.C.D.S.R. ( 2011)(2):CD 005228.
- **Alexandare F.** Apiculture Aujourd’hui. *Ed. Rustica, Paris Prost, P. J. L’apiculture. Ed. Baillière, France* (1984).
- **Ali N.E.** Proctective effect of captopril against 5-Fluorouracil-induced hepato and nephrotoxicity in male Albino rats. *American Sci* (2012) 8 : 680-685.
- **Al-Kahtani M.A., Abdel-Moneim A.M., Elmenshawy O.M., El-Kersh A.A.** Hemin attenuates cisplatin-induced acute renal injury in male rats. *Oxid Med Cell Longev* (2014):1–9.
- **Alshabanah O.A., Hafez M.M.** Doxorubicin Toxicity Can Be Ameliorated During Antioxidant L-Carnitine Supplementation Oxidative. *Medicine And Cellular Longevity* (2010)3.
- **Alter P., Herzum M., Soufi M., Schaefer J. R., and Maisch B.** “Cardiotoxicity of 5-fluorouracil,” *Cardiovasc. Hematol. Agents Med. Chem* Jan (2006) 4(1):1–5.
- **Alyane M., Benguedouar L., Kebsa W., Boussenane H.N.** Cardioprotective effects and mechanism of action of polyphenols extracted from propolis against doxorubicin toxicity (2016).
- **Alyane M., Benguedouar L., Kebsa W., Boussenane H.N., Rouibah H., Lahouel M.** Cardioprotective effects and mechanism of action of polyphenols extracted from propolis against doxorubicin toxicity. *Pharm Sci* (2008) 21: 201-209.
- **Alyane M., Kebsa L.B., Boussenane H.N., Rouibah H., Lahouel M.** Cardioprotective effects and mechanism of action of polyphenols extracted from propolis against doxorubicin toxicity. *Pak J Pharm Sci* (2008)21 (3):201- 9.

- **Amić D., Dušanka D .A., Drago B., Nenad T.** Structure-Radical Scavenging Activity Relationships of Flavonoids. *Croatica Chemica Acta* (2003) 76 (1).
- **Angulo P., Lindor K.D.** Treatment of non-alcoholic fatty liver: present and emerging therapies. *Semin. Liv. Diseases* (2001)21:81-8.
- **Ansorge S., Reinhold., D., Lendeckel., U.** Propolis and some of its constituents down-regulate DNA synthesis and inflammatory cytokine production but induce TGF-beta1 production of human immune cells. *Z Naturforsch.*, (2003). 58(7): 580-589.
- **Araujo M.A.R., Libério S.A., Guerra R.N.M., Ribeiro G.M.N.S., Nascimento F.R.F.** Mechanisms of action underlying the anti-inflammatory and immunomodulatory effects of propolis. *Rev. Bra. Farmacogn* (2012) 22 : 208–219.
- **Argyriou A., Bruna J., Marmioli P., Cavaletti G.** Chemotherapy-induced peripheral neurotoxicity (CIPN) an update. *Crit Rev Oncol Hematol* (2012) 82(1):51-77.
- **Asim Kart., Yilmaz Cigremis., Musa Karaman., Hasan Ozen.** Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) ameliorates cisplatin-induced hepatotoxicity in rabbit (2009).
- **Asim Kart., Yilmaz Cigremis., Musa Karaman., Hasan Ozen.** Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) ameliorates cisplatin-induced hepatotoxicity in rabbit (2010).
- **Ayhanci A., Gunes S., Sahinturk V., Appak S ., Uyar R ., Cengiz M., Altuner Y., Yaman S.** Seleno L-Methionine Acts on cyclophosphamide –induced Kidney Toxicity. *Biol Trace Elem Res* (2010)136 :171 -179.
- **Babiak R.M., Campello A.P., Carnieri E.G., Oliveira M.B.** Methotrexate: Pentose cycle and oxidative stress. *Cell Biochem Funct* (1998)16:283-293.
- **Bakker M., Graaf W.T.A.V.D., Groen H.J.M., Smit E.F., Vries E.G.E.D.** Anthracyclines - Pharmacology and resistance, a review. *Research Gate* (1995) 1(1): 133144.
- **Balloy T., Desroches M.C., Moussay C., Merkadal L., Fernandezif C., Farinotti R.** Modalités de prise en charge des intoxications aiguës par le méthotrexate haute dose. *J Pharm Clin* (2007) 26 (4): 253-60.
- **Bankova V., de Castro S.L., Marcucci M.C.** Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie* (2000)31: 3 –15.
- **Bankova V., Popov S., Marekov L.** High-performance liquid Chromatographic analysis of flavonoids from propolis. *J of Chromatography* (1982)242:135-143.
- **Bankova Vassya., Valentine Dimov., Nina Ivanovska., Simeon Popov.** Immunomodulatory action of propolis : IV. Prophylactic activity against gram-negative infections and adjuvant effect of the water-soluble derivative. *Vaccine* (1992)10(12): 817-823.
- **Barbara Gentile., Venera Cardile ., Annamaria Panico . , Francesca Borrelli ., Alessandra Russo.** Effect of propolis on human cartilage and chondrocytes.(2003)73 (8): 1027-1035.
- **Barouki R.** Stress oxydant et vieillissement. *Medecine/sciences* (2006) 22 (3): 266-72.
- **Beckman K.B., Ames B.N.** The free radical theory of aging matures. *Physiol Rev* (1998)78: 547-581.
- **Benguedouar L., Boussenane H N., Kbsa W., Alyane M., Rouibah H., Lahouel M.** Efficiency of propolis against mitochondrial stress induced by antineoplastic agents (doxorubicin and vinblastine) in rats. *Indian Journal of Experimental Biology* ( 2008) 46:112-119.
- **Bentefrit F et al.** Analogues du cisplatine, quelques composés formés par le platine (II) et (IV) ou palladium (II) avec deux médicaments de la famille des biguanides (metformine et proguanil). *thèse de l'Université PARIS XI* (1996).

- **Bergendi L., Benes L., Duracková Z., Ferencik M.** Chemistry, physiology and pathology of free radicals. *Life Sci* (1999) 65:1865-1874.
- **Bhadauria M., Nirala S.K., Shukla S.** Duration-dependent hepatoprotective effects of propolis extract against carbon tetrachloride-induced acute liver damage in rats. *Adv Ther* (2007) 24(5):1136-1145.
- **Blanc Mickaël.** Propriétés et usage médical des produits de la ruche. *Th.Doc* (2010)1 (139) : 127-137..
- **Bloomer R.J., Fisher-Wellman K.H.** Blood oxidative stress biomarkers: influence of sex, training status, and dietary intake. *Gend Med* (2008)5 (3): 218-28.
- **Boddy A.V., Yule S.M.** Metabolism and pharmacokinetics of Oxazaphosphorines. *Clin Pharmacokinet* (2000) 4: 291- 304.
- **Bogdanov.** Bee Venom, production, Composition, Quality. *Article April* (2016).
- **Booser D.J., Hortorbagyi G.N.** Anthracycline antibiotics in cancer therapy. Focus on drug resistance. *Drugs* (1994)47 (2): 223-58.
- **Boutabet K., Kebsa W., Alyane M., Lahouel.** Polphenolic fraction of algerian propolis protects rat kidney against acute oxidative stress induced by doxorubicin. *Indian journal of nephrology* (2011) 21 (2):101.
- **Boveris A., Oshino N., Chance B.** The cellular production of hydrogen peroxide. *Biochem J* (1972) 128: 617-630.
- **Browne R.W., Bloom M.S., Schisterman E.F., Hovey K., Trevisan M., Wu C., Liu A., Wactawski Wende J.** Analytical and biological variation of biomarkers of oxidative stress during the menstrual cycle. *Biomarkers* (2008) 13 (2): 160-83.
- **Brozovic Anamaria., Ambriovic-Ristov Andreja., Osmak Maja.** The relationship between cisplatin-induced reactive oxygen species, glutathion, and Bcl-2 and resistance to cisplatin. *Critical Reviews in Toxicology* (2010) 40 : 347-359.
- **Bruschi M.I., Lara E.H.G., Martins C.H.G., Vinholis A.H.C., Casemiro L .A., Panzeri H., Gremiao M.P.D.** Preparation and antimicrobial activity of gelatin microparticules containing propolis against oral pathogens. *Drug Development and Industrial Pharmacy* (2006) 32(2): 229- 238.
- **Bueno-Silva B., Alencar S.M., Koo H., Ikegaki M., Silva G.V., Napimoga M.H., Rosalen P.L.** Anti-inflammatory and antimicrobial evaluation of neovesti-tol and vestitol isolated from Brazilian red propolis. *J. Agric. Food Chem* (2013) 61 : 4546–4550.
- **Buratti S., Benedetti S., Cosio M.S.** Evaluation of the antioxidant power of honey, propolis and royal jelly by amperometric flow injection analysis. *Talanta* (2007) 71:1387-1392.
- **Burdock G. A.** Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). *Food Chem Toxicol* (1998)36(4): 347-363.
- **Burrows C.J., Muller J.G.** Oxidative nucleobase modifications leading to strand scission. *Chem Rev* (1998)98:1109-1152.
- **Buxeraud J.** Epirubicine. *Actualités pharmaceutiques hospitalières* (2008) 14 :35.
- **Cadenas E., Davies K.J.** Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. *Free Radic Biol Med* (2000)29: 222-230.
- **Cadet J., Delatour T., Douki T., Gasparutto D., Pouget J.P., Ravanat J.L., Sauvaigo S.** Hydroxyl radicals and DNA base damage. *Mutat Res* (1999) 424:9-21.
- **Caillas A.** Les Produits De La Ruche : Miel, Cire, Venin Et La Propolis. *Bois d'Archis* (1974) PP : 1-35.
- **Capranico G., Jaxel C., Roberge M., Kohn K.W., Pommier Y.** Nucleosome positioning as a critical determinant for the DNA cleavage sites of mammalian DNA

- topoisomerase II III reconstituted strman VIRuS 40 chromatin. *Nucleic Acids Res* (1990) 18 (15) : 4553-9
- **Cardile V., Panico A., Gentile B., Borrelli F., Russo A.** Effect of propolis on human cartilage and chondrocytes. *Life Sciences* (2003) 73: 1027-1035.
  - **Carpentier N., Ratsimbazafy V., Bertin P., Vergne P., Bonnet C., Bannwarth B., Dehais J., Treves R.** Interaction méthotrexate /anti-inflammatoires non stéroïdiens : importance de la dose. *Journal de Pharmacie Clinique* (1999) 18: 295-9.
  - **Cash T., Pan Y., Simon M.C.** Reactive oxygen species and cellular oxygen sensing. *Free Radic Biol Med* (2007)43 (9): 1219-25.
  - **Chabner B.A., Roberts T.G.Jr.** Timeline: Chemotherapy and the war on cancer. *Nature Reviews of Cancer* (2005)5: 65-72.
  - **Chen S.H., Chan N.L., Hsieh T.S.** New mechanistic and functional insights into DNA topoisomerases. *Annual Review of Biochemistry* (2013) 82: 139-170.
  - **Chirino I Y., José P-C.** Role of oxidative and nitrosative stress in cisplatin-induced nephrotoxicity .*Experimental and Toxicologic Pathology* (2009)61(3): 223- 242.
  - **Cho H.J., Kim J.K., Kim K.D., Yoon H.K., Cho M.Y., Park Y.P. Jeon J.H., Lee E.S., Byun S.S., Lim H.M et al.** Upregulation of Bcl-2 is associated with cisplatin-resistance via inhibition of Bax translocation in human bladder cancer cells. *Cancer Lett* (2006)237: 56–66.
  - **Chung Seung Tae., Hyung Soo Kim., Juno H Eom., Kyung A Kim., Se Jin Chung., Soon Young Paik., Hye Young O.** Immunomodulatory effect of caffeic acid phenetyl ester in Balb/c mice . *International Immunopharmacology* (2004) 4(3): 429 - 436.
  - **Ciccolini J., et al.** Transmission of apoptosis in human colorectal tumor cells exposed to capecitabine, Xeloda, is mediated via Fas. *Mol. Cancer Ther* (2002) 1(11): 923–927.
  - **Cingi Y.M., Ünal K., AltunsoyŞen N., Yirün O., Aydemir Ç.,Göka E.** Evaluation of oxidative stress in bipolar disorder in terms of total oxidant status, total antioxidant status and oxidative stress index. *Noro Psikiyatrs Ars* (2016)53:194–198.
  - **Coles E c P .,JF Murphy., Rg Newcombe., J O’oriordan.** Relation of haemoglobin levels in first and second trimesters tho outcome of pregnancy. *The Lancet* (1986)327 (8488): 922 – 995.
  - **Coleshowers C.L., Oguntibeju O.O., Ukpong M and Truter E.J.** Effects of methotrexate on antioxidant enzyme status in a rodent model. *Med. Technol. SA* (2010)24 (1):5-9.
  - **Comhair S.A.A., Erzurum S.C.** Antioxidant responses to oxidant-mediated lung diseases. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* (2002) 283 (2): 246-55.
  - **Conte P.F., Gennari A., Landucci E., Orlandini C.** Role of epirubicin in advanced breast cancer, *Clin. Breast. Cancer* 1 (Suppl 1) (2000): 46-51.
  - **Crane E.** History of other products from bees the world history of beekeeping and honey hunting. *Gerald Duckworth & Co Ltd, London* (1999): 545-553.
  - **Cuce G., Centinkayas ., Koc T., Hasan EsenH., Limandal C., Balci T., Kalkan S., Akoz M.** Chemoprotective effect of vitamin E IN Cyclophosphamide–induced hepatotoxicity in rats. *Chem-BiolInteract* (2015) NO: 5.
  - **Cushinie T.P.T., Hamilton V.E.S., Champan D.G., Taylor P.W., Lamb A.J.** Aggregation of staphylococcus aureus following treatment with the antibacterial flavonol galangin. *Journal of Applied Microbiology* (2007) 103(5):1562-1567.
  - **Cutolo M., Sulli A., Pizzorni C., Seriole B.** Anti-inflammatory mechanisms of methotrexate in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* (2001)60: 729-735.

- **Cutts SM., Phillips D.R.** Use of oligonucleotides to define the site of interstrand crosslinks induced by doxorubicin. *Nucleic Acids Res* (1995) 23 (13) : 2450 -2456.
- **Dal Ben D., Palumbo M., Zagotto G., Capranico G., Moro S.** DNA topoisomerase II structures and anthracycline activity: insights into ternary complex formation. *Current Pharmaceutical Design* (2007) 13(27): 2766-2780.
- **Dasari S., Tchounwou B.P.** Cisplatin in cancer therapy: molecular mechanisms of action. *Eur J Pharmacol* (2014) 0: 364–378.
- **Daum-Badouard C.** Les lésions des acides nucléiques: détection par CLHP-SM/SM dans les milieux biologiques humains et intérêt comme biomarqueurs du stress oxydant et de l'inflammation. *Université Joseph Fourier Grenoble*. France (2006) : 228.
- **Dawson T.L., Gores G.J., Nieminen A.L., Herman B., Lemasters J.J.** Mitochondria as a source of reactive oxygen species during reductive stress in rat hepatocytes. *Am J Physiol* (1993) 264: 961-7.
- **De D.C., Baudhuin P.** Peroxisomes (microbodies and related particles). *Physiol Rev* (1966) 46 (2): 323-57.
- **Debuyser E.** La propolis. France (1983): 82p.
- **Debuyser E.** La Propolis. *Pharmacie, Nantes, France* (1984) : 34-41.
- **Desoize, B.** Cancer and metals and metal compounds: part I-carcinogenesis. *Crit. Rev. Oncol. Hematol* (2002) 42 (1): 1.
- **Devita V.T. Jr., Chu E.** A history of cancer chemotherapy. *Cancer Res* (2008) 68: 8643-8653.
- **Diasio R., & Harris B.** Clinical pharmacology of 5-fluorouracil. *Clin. Pharmacokinet* (1989)16 :1653-64.
- **Dissio R., Beavers T., & Carpenter J.** Familial deficiency of dihydropyrimidine dehydrogenase. Biochemical basis for familial pyrimidinemia and severe 5-fluorouracil-induced toxicity. *Journal of clinical Investigation* (1988)81(1): 47.
- **Dos Santos., martins N.M., Carlos Curti., Maria de Lourdes.** Dimethylthiourea protects against mitochondrial oxidative damage induced by cisplatin in liver of rats, chemico-biological interactions. (2007)170(3): 177-186.
- **El-Khatib A. S., Agha A. M., Mahran L. G., Khayyal M. T.** Prophylactic effect of aqueous propolis extract against acute experimental hepatotoxicity in vivo. *Z. Naturforsch* (2002)57: 379-85.
- **El-khawaga O.Y., Salem T.A., Elshal M.F.** Protective role of Egyptian propolis against tumour in mice. *Clinica Chimica Acta* (2003) 338:11-16.
- **El-naggar S., Alm-Eldeen A., Germoush M., El-Boray K., Elgebaly H.** Ameliorative effect of propolis against cyclophosphamide-induced toxicity in mice . *Pharmaceutical biology* (2014) 53 (2):235 -241.
- **Emadi A., Jones R., et Brodsky R.** Cyclophosphamide and cancer: golden anniversary. *Nature Reviews Clinical Oncology* (2009) 6(11): 638-647.
- **Erthelmann R., Engelhardt M., Berger D.P.** Précis d'hématologie et d'oncologie. *Paris : Springer* (2011) : 1011-1022.
- **Ewer M. S., and Lippman S. M.** Type II Chemotherapy-Related Cardiac Dysfunction: Time to Recognize a New Entity. *J. Clin. Oncol* May (2005) 23 (13): 2900–2902.
- **Farag A.G.A., Elhalwagy M.E.A., Farid H.E.A.** Effect of ginger supplementation on developmental toxicity induced by fenitrothion insecticide and/or lead in albino rats. *Pesticide biochem & physio* (2010)97: 267–274.



- **Farag A.T., Amany H. Radwan F., Sorour Ahmed El Okazy., El-Sayed El-Agamy., Abd El-Khaliek El- Sebae.** Chlorpyrifos induced reproductive toxicity in male mice. *Reproductive Toxicology* (2010)29: 80-85.
- **Fatma A. Khalil., Amal A. A. EL-Kirsh., Enas Ali Kamel and Nourhan Gamal EL-Rahmany.** Biochemistry and nutrition department faculty of women for arts. *Science and Education Ain Shams University, Cairo, Egypt* (2016).
- **Favier A.** Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique* (2003): 108-115.
- **Fearnley J.** Bee propolis: natural healing from the hive. *Souvenir Press London* (2001): 172.
- **Fekry B ., Esmaelniakooshkghazi A ., Krupenko S.A., Krupenko N.** Ceramide synthase 6 is a novel target of methotrexate mediating its antiproliferative effect in a p53 dependent manner. *PLoS One* (2016)11 (1): 0146618.
- **Fenninger L.D., Mider G.B.** Energy and nitrogen metabolism in cancer. *Avd Cancer Res* (1954) 2:229-253.
- **Fiocchi C.** Inflammatory bowel disease: New insights into mechanisms of inflammation and increasing customized approaches to diagnosis and therapy. *Cur Opin. Gastroentrol* (2004) 20: 309-310.
- **Fishman P., Bar-yehuda S., Barer F.** The adenosine receptor as a new target for cancer therapy and chemoprotection. *Exp Cell Res* (2001)269: 230-6.
- **Fleming R.A.** An Overview of Cyclophosphamide and Ifosfamide Pharmacology. *Pharmacotherapy* (1997)17:146-154.
- **Florea A.M., Büsselberg D.** Cisplatin as an anti-tumor drug: cellular mechanisms of activity, drug resistance and inducedside effects. *Cancers* (2011) 3: 1351-1371.
- **Floyd J.D., et al.** Cardiotoxicity of cancer therapy. *J Clin Oncol* (2005) 23(30): 7685-96.
- **Gaïes E., Jebabli N., Trabelsi S., Salouage I., Charfi R., Lakhel M., Klouz.,Galmarini C.M., Mackey J.R., Dumontet C.** Nucleoside analogues and nucleobases in cancer treatment. *Lancet Oncol* (2002)3(7): 415-24.
- **Gamcsik M.P., Dolan M.E., Andersson B.S., Murray D.** Mechanisms of resistance to the toxicity of cyclophosphamide. *Curr Pharm Design* (1999) 8:587-605.
- **Garrison RJ ., Levy D.** Echocardiographic criteria for left ventricular hypertrophy: the framingham heart study *.The American Journal Of Cardiology* (1987)59 (9): 956-960.
- **Gascon P., Marta P., Roberto L., Jordi A et al .**Matrix Stiffening And B1integrin Drive Subtype-Specific Fibroblast Accumulation In Lung Cancer.*Molecular Cancer Research*. (2015)13(1):161-173.
- **Genoux C.N.** Le burn out des médecins généralistes des alpes maritimes :etude sur 226 questionnaires. *Université De Nice Sophia Antipolis .Nice.Fra* (2006).
- **Georgiev V., Ananga A., Tsoleva V.** Recent advances and uses of grape flavonoids as nutraceuticals. *Nutrients* (2014) 6: 391-415.
- **Gervaise A.** Conduite à tenir en cas de prise en charge non chirurgicale d'une grossesse extra-utérine. *J GynecolObstetBiolReprod* (2003)32: 64-74.
- **Gewirtz D. A .** A critical evaluation of the mechanisms of action proposed for the antitumor effects of the anthracycline antibiotics Adriamycin and daunorubicin. *Biochem Pharmacol* (1999) 51(7): 649-56.
- **Ghisalberti E. L.** Propolis a review. *Bee Wold* (1979) 60:59-84.

- **Golder W.** Propolis: The bee glue as presented by the graeco roman literature. *Wurzbürger Medizinhistorische Mitteilungen journal* (2004)23: 133-145.
- **Goldstein S., Meyerstein D., Czapski G.** The Fenton reagents. *Free Rad Biol Med* (1993)15: 435-45.
- **Gonnet M.** Phytoinhibitoral Properties of The Colony of Bees (Apis Mellifera) II.- Action of Propolis And Some Other Beehive Products On Growth At Solanum. *Annals of The Bee* (1968)11(2):105-116.
- **Greenaway W., Scaysbrook T., Whatley F.R.** The Composition And Plant Origins Of Propolis. *Bee World*(1990) 71:107-118.
- **Guatam R., Singh M., Gautam S., Rawat J.K., Saraf S.A., Kaithwas G.** Rutin attenuates intestinal toxicity induced by methotrexate linked with anti-oxidative and anti inflammatory effect. *BMC complementary and Alternative Medicine* (2016)16 :99.DOI : 10.1186 / S12906-016-1069-1.
- **Günes D.A., Florea A.M., Spletstoesser F., Büsselberg D.** Co-application of arsenic trioxide (As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) and cisplatin (CDDP) on human SY-5Y neuroblastomacells has differentialeffects on the intracellular calcium concentration ([Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>) and cytotoxicity. *Neurotoxicology* (2009)30: 194–202.
- **Gutteridge J.M.** Biological origin of free radicals, and mechanisms of antioxidant protection. *Chem Biol Interact* (1994) 91:133-140.
- **Guyton K.Z., Thomas W.K.** Oxidative mechanisms in carcinogenesis. *British Medical Bulletin* (1993)49(3): 523-544
- **Hacsteen H Bent.** The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology and Therapeutics* (2002) 96 (2-3): 67 -202.
- **Halliwell B., Cross C.E.** Oxygen-derived species: their relation to human disease and environmental stress. *Environ Health Perspect* (1994) 102 Suppl 10: 5-12.
- **Halliwell B., Gutteridge J.M.C.** Free radicals in biology and medicine. 4<sup>ème</sup> édition. *Oxford university press*, New York (2007): 47-48, 265-266, 567.
- **Halliwell B., Gutteridge J.M.C.** Mechanisms involved in the generation of free radicals. *Pathologie Biologie* (1996) 44: 6-13.
- **Hande Kenneth R.** Clinical applications of anticancer drugs targeted to topoisomerase II. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Structure and Expression* (1998) 1400 : 173-184.
- **Handique J. G. et Barruah J.B.** Polyphenolic compounds: an overvie. *React.Funct.Polym* (2002)52:163-188.
- **Hassan I .E., Mohamed F .I., Shalaby F .M., Abou-El-Magd R.F., Rajiv L .G., Augusta F., Madhwa H.G. R., Allal O.** Histopathological effects of cisplatin, doxorubicin and 5-fluorouracil (5-FU) on the liver of male albino rats. *Int. J. Biol. Sci.* (2009) 5 :466-473.
- **Hemeida R A., Mohafez O M.** Curcumin attenuates methotraxate-induced hepatic oxidative damage in rats. *Journal of The Egyptian National Cancer Institute* (2008)20(2): 141-148.
- **Hu F.L., Hepburn H.R., Li Y.H., Chen M., Radloff S.E., Daya S.** Effects of ethanoland water extracts of propolis (bee glue) on acute inflammatory animal models. *J. Ethno pharmacol* (2005)100: 276–283.
- **Hulbertl A.J.** On the importance of fatty acid composition of membranes for aging. *J Theor Biol* (2005)234 (2): 277-88.
- **Hwan Shin D., Seong Hyeok P., Sung W., Chun-Woong P., Kun H., Youn B.** Hepatic uptake of epirubicin by isolated rat hepatocytes and its biliar excretionafter intravenous infusion in rats. *Arch. Pharm. Res* (2014) 37 :1599–1606.

- **Iarussi D., Indolfi P., Casale F., Coppolino P., Tedesco M., Di Tullio M.** Recent advances in the prevention of anthracycline cardiotoxicity in childhood. *Current Medicinal Chemistry* (2001)8(13):1649-1660(12)
- **Içli F. K.H., Dinçol D., Demirkazik A., Gunel N., Karaoguz R., Uner A.** *Severe vascular and t.a.w.c.-b.c.C* (1993) :587-93.
- **Ingraham H. A., Tseng B. Y., and Goulian M.** Nucleotide levels and incorporation of 5-fluorouracil and uracil into DNA of cells treated with 5-fluorodeoxyuridin . *Mol. Pharmacol* (1982) 21(1): 211–216.
- **Injac R., Boskovic M., Perse M., Koprivec-Furlan E., Cerar A., Djordjevic A et al.** La néphrotoxicité aiguë de la doxorubicine chez les rats atteints de néoplasme malin peut être traitée avec succès avec le fullerénol C60 (OH) 24 via la suppression du stress oxydatif. *Pharmacol Rep* (2008) 60 : 742–9.
- **Ivanov T.** Composition and physico-chemical properties of propolis. *Zhivotnovudni* (1980)17 (8): 96-103.
- **Iwakiri T., Okumura M., Muneaki H., Yuki K., Ichihara E., Yohei K., Kazuhiko A.** Inhibition of carrier-mediated uptake of epirubicin reduces cytotoxicity in primary culture of rat hepatocytes. *J. Appl. Toxicol* (2007)28: 329–336.
- **Jahovic N., Sener G., Ersoy Y., Arbac S., Yegen B.C.** Amelioration of methotrexate-induced enteritis by melatonin in rats. *Cell Biochem Funct* (2004)22:169-78.
- **Jenkins A.J., Hill M.A., Rowley K.G.** Diabetes and Oxidant Stress. A New Perspective. Holtzman J.L (ed), *Atherosclerosis and Oxidant Stress*. (2007) 123-160.
- **Jodynys-Liebert J., Nowicki M., Murias M., Adamska T., Ewertowska M., Kujawska M., Piotrowska H., Konwerska A., Ostalska-Nowicka D., Pernak J.** Cytotoxicity, acute and subchronic toxicity of ionic liquid, didecyl dimethyl ammonium saccharinate, in rats. *Regul Toxicol. Pharmacol* (2010)57 :266-273.
- **Johnstone R.W., Ruefli A.A., Lowe S.W.** Apoptosis: A link between cancer genetics and chemotherapy. *Cell* (2002) 108:153–64.
- **Jolivet J., Faucher F., Pinard M F., Dionne P., Bertrand R.** Biochimie Des antinéoplasiques : le modèle du méthotrexate. *m/s* (1987) 3 : 223-8.
- **Justin O.** Bee products: chemical composition and application. *Bee product plenum press: new York* (1996): 15-26.
- **Kakinuma Y., Yuhki K., Ueno M., Murakoshi N., Iemitsu M., Miyauchi T., Yamaguchi I.** Doxorubicin induces apoptosis by activation of caspase-3 in cultured cardiomyocytes in vitro and rat cardiac ventricles in vivo. *J. Pharmacol. Sci* (2006)101 : 151-158.
- **Kalogeropoulos Nick., Spyros J Konteles., Elena troullidou.** Chemical composition ,antioxidant activity and antimicrobial properties of propolis extracts from Greece and Cyprus. *Food Chemistry* (2009) 116 (2):452-461.
- **Karabin Marcel., Tereza Hudcova., Lukas Jelinek., Pavel Dostalek.** Biotransformations and biological activities of hop flavonoids. *Biotechnology Advances* (2015) 33(6): 1063 -1090.
- **Kasala E.R., Bodduluru L.N., Barua C.C., Madhana R.M., Dahiya V., Budhani M.K., Mallugari R.R., Maramreddy S.R., Gogoi R.** Chemopreventive effect of chrysin, a dietary flavone against benzo(a)pyrene induced lung carcinogenesis in Swiss albino mice. *Pharmacol. Rep* (2019)68: 310–318.
- **Kebieche M., Lakroun Z., Lahouel M., Bouayed J., Meraihi Z., Soulimani R.** Evaluation of epirubicin-induced acute oxidative stress toxicity in rat liver cells and

- mitochondria, and the prevention of toxicity through quercetin administration. *Experimental and Toxicologic Pathology* (2009) 61 :161-167.
- **Kebsa W., Rouibah H., et Lahouel M.** Polyphenolic fraction of Algerian propolis reverses doxorubicin induced oxidative stress in liver cells and mitochondria. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences* (2014) 27 (6):1891- 1897.
  - **Khan R., Khan A.Q., Qamar W., Lateef A., Ali F., Rehman M.U., Tahir M., Sharma S., Sultana S.** Chrysin abrogates cisplatininduced oxidative stress, p53 expression, goblet cell disintegration andapoptotic responses in the jejunum of Wistar rats. *Br. J. Nutr* ( 2012) 108 : 1574–1585.
  - **Khayyal M. T., El-Ghazaly M. A., El-Khatib A. S., Hatem A. M, De Vries P. J. F., El-Shafei, S., Khattab M. M. A.** Clinical Pharmacological Study Of The Potential Beneficial Effects Of A Propolis Food Product As An Adjuvant In Asthmatic Patients. *Fund. Clin. Pharm* (2003) 17: 93-102.
  - **Kim Yuri., Ma Ai-Guo., Kitta Kazumi., Fitch Sarah N., Ikeda Takayuki., Ihara Yoshiharu., Simon Amy R., Evans Todd., Suzuki Yuichiro J.** Anthracycline-Induced Suppression of GATA-4 Transcription Factor: Implication in the Regulation of Cardiac Myocyte Apoptosis. *Molecular Pharmacology February* (2003) 63 (2) :368-377.
  - **Kirschvink N., De Moffarts B., Lekeux P.** The oxidant/antioxidant equilibrium in horses. *The Veterinary Journal* (2008)177: 178-191.
  - **Kojima S., Takaba K., Kimoto N., Takeda T., Kakuni M., Mizutani M., & Hara T.** Protective effects of glutathione on 5-fluorouracil-induced myelosuppression in mice. *Archives of toxicology* (2003)77(5): 285-290.
  - **Kregel K.C., Zhang H.J.** An integrated view of oxidative stress in aging: basic mechanisms, functional effects, and pathological considerations. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* (2007) 292 (1): 18-36.
  - **Krell R.**Value-Added Products from Beekeeping: Chapter 5: Propolis. *FAO Agric Serv Bull* (1996):124.
  - **Kuhnle Gunter., Jeremy P.E Spencer et al.** Resveratrol is absorbed in the small intestine as resveratrol glucuronide. *Biochemical and Biophysical Research Communications* (2000) 272 (1):212 -217.
  - **Kumazawa S., Hamasaka T., Nakayama T.** Antioxydant activity of propolis of various geographic origins. *Food Chemistry* (2004)84: 329-339.
  - **Kurek-Górecka A., Rzepecka-Stojko M., Górecki J., Stojko M., Sosada ., Świerczek-Zięba G.** Structure and antioxidant activity of polyphenols derived from propolis. *Molecules* (2014) 19: 78-101.
  - **Laharie D., Terrebonne E., Vergniol J., Chanteloup E., Chabrun E., Couzigou P., de Lédighen V.** The liver and methotrexate. *Gastroentérologie Clinique et Biologique* (2008) 32 : 134-142.
  - **Lahouel M., Boulkour S., Segueni N., Fillastre J.P.** The flavonoids effect against vinblastine, cyclophosphamide and paracetamol toxicity by inhibition of lipid-peroxydation and increasing liver glutathione concentration .*Haema* (2004)7: 313-320.
  - **Lahouel M., Boulkour S.,Segueni N., Fillastre J.P.** Effet protecteur des flavonoides contre la toxicité de la vinblastine,du cyclophosphamide et du paracétamol par inhibition de la peroxydation lipidique et augmentation du glutathion hépatique. *Pathologie Biologie* (2004) 52(6) : 314-322.
  - **Lahouel M., Boutabet K., Kebsa W., Alyane M.** Polyphenolic fractions of Algerian propolis reverses doxorubicin induced acute renal oxidative stress. *Afr J Pharm pharmacol* (2010) 4(10): 712-720.

- **Lamberti M., Porto S., Marra M., Zappavigna S., Grimaldi A., Feola D., Pesce D., Naviglo S., Spina A., Sannolo N., Caraglia M.** 5-Fluorouracil induces apoptosis in rat cardiocytes through intracellular oxidative stress. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research* (2012)31(60).
- **Lancette G.A., Cook K.A., Dobbs T.E., Hlady W.G., Wells J.G.** Outbreak of salmonella serotype hartford infections associated with unpasteurized orange juice. *Jama* (1998) 280(17): 1504 -1509.
- **Lanore D., Delprat C.** Chimiothérapie anticancéreuse. *Elsevier Masson* (2002): 6.
- **Lanzarini L., Bossi G., Laudisa M.L.** Lack of clinically significant cardiac dysfunction during intermediate dobutamine doses in cancer survivors exposed to anthracyclines. *Am. Heart. J* (2000) 140(2) : 315-323.
- **Lanzarini L., Spirito P., Picano E.** Quantitative assessment of ultrasonic myocardial reflectivity in hypertrophic cardiomyopathy .*J. Am. Coll. Cardiol* (1991) 17:1085-1090.
- **Laurent C.** L'abeille Et Le Conseil A L'officine. Thèse Pour Le Diplôme D'état De Docteur En Pharmacie. *Faculté de Médecine et de Pharmacie* (2014).
- **Laurent-puing P., Loriot M.A.** pharmacogénétique des fluoropyrimidines. La thymidylate synthase. *Oncologie* (2005)7 :40-43.
- **Lauzon catherine.** Etude des mécanismes de toxicité induite par l'adriamycine et sensibilisation des cellules cancéreuses par la choc thermique. *Université du Québec à Montréal* (2008).
- **Le Bot M.A., Bégué J.M., Kernaleguen D., Robert J., Ratanasavanh D., Airiau J., RichéC., Guillouzo A.** Different cytotoxicity and metabolism of doxorubicin, daunorubicin, epirubicin, esorubicin and idarubicin in cultured human and rathepatocytes. *Biochem. Pharmacol* (1988)37 : 3877–3887.
- **Le jeune B., Pourrat A., Dehmouche H.** Propolis utilisation en dermocosmétologie. *Aromes*, (1998). 5 : 73-77.
- **Lebrun-Vignes B., Bachelez H., Chosidow O.** Le methotrexate en dermatologie : pharmacologie, indications, utilisation et precautions d'emploi. *RevMed Interne* (1999) 20 (13) :384-92.
- **Lecomte T.** 5-FU oral. *Post-U FMC HGE* (2008) : 113-22.
- **Levine R.L.** Carbonyl modified proteins in cellular regulation; aging and disease. *Free Radic Biol Med* (2002)32 (9): 790-6.
- **Leyva-lopez Nayely., Eric P Gutierrezègrijalva., Dulce L Ambriz-perez., Basilio Heredia J.** Flavonoids as cytokine modulators: a possible therapy for inflammation – related diseases . *International Journal of Molecular Sciences* (2016) 17 (6) :921.
- **Lin S. C., Chung C. Y., Chian C. L., Hsu S. H.** The influence of propolis ethanol on liver microsomal enzymes and glutathione after chronic alcohol administration. *The American Journal of Chinese Medicine* (1999) 27: 83-93.
- **Lodish B., Matsudaira K., Krieger S., Zipursky D.** Biologie moléculaire de la cellule. *Edition De Boeck* (2005).
- **Loiriche N.** Les Abeilles Pharmaciennes Aillées. *Ed. Mir mouscou, Russia.* (1984).
- **Longley D., Harkin D., & Johnston P.** 5-fluorouracil : Mechanisms of action and clinical strategies. *Nature Reviews cancer* (2003)3(5) : 330-338.
- **Lussiez C.** Etude de la tolérance d'un médicament anticancéreux : le méthotrexate chez le chien sain. *thèse de doctorat(Lyon)* (2010) : 12-17.
- **Mac Laren D.** Advances in sports and exercise science series. Nutrition and Sport. Antioxidants and free radicals by Close GL and Mc Ardle F. *Elsevier*(2007).

- **Mahmoud A.Mansour., Hassan A El-Kashef., Othman A. Al-Shabanah.** Effect of captopril on doxorubicin-induced nephrotoxicity in normal rats. *Pharm Res* (1999) 39 (3): 233-237.
- **Malik N.M., Liu Y.L., Cole N., Sanger G.J., Andrews P.L.R.** Differential effects of dexamethasone, ondansetron and a tachykinin NK1 receptor antagonist (GR205171) on cisplatin-induced changes in behaviour, food intake, pica and gastric function in rats. *Eur. J. Pharmacol* (2007)555:164–173.
- **Marcucci M. C.** Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie* (1995)26 : 83-99.
- **Mcdermont M.E., Richard J.P.** Incidence of ovarian failure in systemic lupus erythematosus after treatment with pulse cyclophosphamide. *Annals of the Rheumatic Diseases* (1996)55(4): 224-229.
- **McGuire J.J., Russell C A., Balinska M.** Human cytosolic and mitochondrial foylpolylglutamatesynthetase are electrophoretically distinct. Expression in Methotrexate Side Effects: Review Article. *J Drug MetabToxicol* (2012)3:4.
- **Meister A.** Glutathione metabolism and its selective modification. *J Biochem* (1988) 263: 17205-17208.
- **Merlet Nolwenn Nates.** Altération du système beta-adrénartique cardiaque au cours de la cardiotoxicité induite par la doxorubicine. *Diana Iarussi M.D* (2011).
- **Metzner J., Schneidewind E. M.** Studies on the question of potentiating effects of propolis constituents. *Pharmazi.* German.Minh-Ha Pham-Delegue (1997).33 (7).
- **Meyer C. C., Calis K. A., Burke L. B., Walawander C. A., and Grasela T. H.** “Symptomatic cardiotoxicity associated with 5-fluorouracil. *Pharmacotherapy* Aug. (1997) 17(4) : 729–736.
- **Moghadam Adel Rezaei., Soheil Tutunchi., Ali Namvaran-Abbas-Abad., Mina Yazdi., Fatemeh Bonyadi., Daryoush Mohajeri., Mohammad Mazani., Hassan Marzban., Marek J., Łos et Saeid Ghavam.** Pre-Administration Of Turmeric Prevents Methotrexate-Induced Liver Toxicity And Oxidative Stress. *BMC Complementary and Alternative Medicine* volume 15(2015) Article number 246.
- **Mohamed O.T.B., Nariman M.M.E., Amany A.M.A.,Mohamed A H., Nasr A.M.N E., Ahmed N.F., Hager T.H.I.** Propolis Protects Against Methotrexate Induced Hepatorenal Dysfunctions During Treatment Of Ehrlich Carcinoma . *Journal Of American Science* (2011) 7(12).
- **Monassier L.** Stasbourg. pharmacologie deem3 « les anticancéreux » (2012).
- **Moudir Naima.** Les polyphénols de la propolis algérienne. Thèse de magister en chimie. *Université Mohamed Bouafia, M’sila*(2004).
- **Mross K., Mayer U., Hamm K., Burk K., Hossfeld D.K.** Pharmacokinetics and metabolism of iodo-doxorubicin and doxorubicin in humans. *EurJ Clin Pharmacol* (1990) 39: 507- 513.
- **Mross K., Massing U., & Kratz F.** DNA-intercalators the anthracyclines. *In Drugs affecting growth of tumours* (2006) :19-81.
- **Murad J.M., Calvi S.A., Soares A.M., et al.** Effects of Propolis From Brazil And Bulgaria on Fungicidal Activity of Macrophages Against *Paracoccidiosi* des *Brasiliensis*. *J Ethnopharmacol* (2002) 79: 331–4.
- **Mustafa Iraz., Elif Ozerol., Mukaddes Gulec., Seda Tasdemir., Nuri Idiz., Ersin Fadillioglu., Mustafa Naziroglu and Omer Akyol.** Protective effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) administration on cisplatin-induced oxidative damage to liver in rat (2006).

- **Mustafa Iraz., M Tayyar Kalcioğlu., Ahmet Kizilay., Erkan karatas** .Aminoguanidine prevents ototoxicity induced by cisplatin in rats, *annals of clinical and laboratory science* (2005)35(3): 329-335
- **Nader El Housseini.** Intérêt Et Applications Cliniques De La Propolis En Médecine Bucco-Dentaire. *Unité de Formation et de Recherche D'odontologie* (2013).
- **Nafees Sana., Rashid Summya., Ali Nemat., Hasan Syed Kazim., Sultana Sarwat.** Rutin ameliorates cyclophosphamide induced oxidative stress and inflammation in Wistar rats: Role of NFκB/MAPK pathway. *Chemico-Biological Interactions* (2015) 231 : 98-107.
- **Nagai T., Inoue R., Inoue H., Suzuki N.** Preparation and antioxidant properties of water extract of propolis. *F. Chem.* (2003) 80 : 29-33.
- **Newairy A.S.A., Salama A.F., Hussien H.M., Yousef M.I.** Propolis alleviates aluminium-induced lipid peroxidation and biochemical parameters in male rats. *Food Chem. Toxicol* (2009)47 : 1093–1098.
- **Nilesh S., Amit J., Vaishali U., Sujit K., Sachin K., Ravindra P.** Protective effect of *Lepidium sativum* against doxorubicin-induced nephrotoxicity in rats. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences* (2010)1(3): 42.
- **Nora E. Ali.** Protective effect of captopril against 5-fluorouracil-induced hepato and nephrotoxicity in male albino rats. *J. Am. Sci* (2012)8.
- **Novelli G.P.** *J. Physiol. Pharmacol*( 1997) 48 : 517-527.
- **Oguntibeju O.O. and Coleshowers C.L.** Modulation of brain antioxidant enzymes by m2thotrexate administration in animal model. *J. Food Agric. Environ* (2012)10 (1): 223-226.
- **Oktem F., OZguner F., Sulak O., Olgar S., Akturk O., Yilmaz H.R., Altuntas I.** Lithium-induced renal toxicity in rats: protection by a novel antioxidant caffeic acid phenethyl ester. *Mol Cell Biochem* (2005)277(2): 109-115.
- **Orsolich N.** A Review of Propolis Antitumor Action in Vivo and in vitro. *Journal of Apiprodukt and Apimedical Science* (2010) 2(1): 1-20.
- **Osheroff N.** DNA topoisomerases. *Biochim Biophys Acta* (1998) 1400: 1-2.
- **Oyaizu M., Ogihara H., Fujimoto Y.** Antioxidative Activ-Itty of Extracts from Propolis. *Journal of Japan Oil Chemists' Society* (1999) 48: 135–138.
- **Padmavathi R , Senthilnathan P., Chodon D., et al.** Therapeutic effect of paclitaxel and propolis on lipid peroxidation and antioxidant system in 7,12 dimethyl benz(a)anthracene-induced breast cancer in female sprague dawley rats. *Life Sci* (2006) 78: 2820–5.
- **Pamplona R., Portero-Otin M., Ruiz C., Gredilla R., Herrero A., Barja G.** Double bond content of phospholipids and lipid peroxidation negatively correlate with maximum longevity in the heart of mammals. *Mech. Ageing. Dev* (2000) 112 (3): 169-183.
- **Park Y. K., Koo M. H., Abreu J. A. S., Ikegaki M., Cury J.A., Rosalen P.L.** Antimicrobial activity of propolis on oral microorganisms. *Current Microbiology* (1998) 36 (1): 24-28.
- **Pass G J., Carrie D., Boylan M., Lorimore S.,Wright E.,Houston B.,Henderson C.J.,Wolf C.R.** Role of Hepatic Cytochrome P450s in the pharmacokinetics and toxicity of Cyclophosphamide : Studies with the hepatic Cytochrom P450 reductase null mouse.*Cancer Res*(2005)10: 4211-7.

- **Patra K., Bose S., Sarkar S., Rakshit J., Jana S., Mukherjee A., Bhattacharjee S.** Amelioration of cyclophosphamide induced myelosuppression and oxidative stress by cinnamic acid. *Chemico-biological interactions* (2012)195(3): 231- 239.
- **Pattwell D.M., Jackson M.J.** Contraction-induced oxidants as mediators of adaptation and damage in skeletal muscle. *Exerc Sport Sci Rev* (2004) 32 (1): 14-18.
- **Paulino N., Rago Sh., Lemos A., Yoshihiro U., Daisuke K., Hideko N., Hitoshi H., Verena M. D., Angelika M.V., Amarilis S., Walter A. B.** Anti-Inflammatory Effects of A Bioavailable Compound, Artepillin C, In Brazilian Propolis. *European Journal of Pharmacology* (2008) 587 (1-3) :296-301.
- **Pellati Federica., Giulia Orlandini., Diego Pinetti., Stefania Benvenuti.** HPLC-DAD and HPLC-ESI-MS/MS methods for metabolite profiling of propolis extracts. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* (2011) 55(5): 934-948.
- **Periyasamy Latha., Jambhulkar Sudhanshu., Deshiredy Swathi., Jestadi Dinesh Babu.** Quercetin Attenuating Doxorubicin Induced Hepatic, Cardiac and Renal Toxicity in Male Albino Wistar Rats (2014).
- **Petrussa Elisa., Enrico Braidot., Marco Zencani., Carlo Peresson, Alberto.** Plant flavonoids-biosynthesis, transport and involvement in stress responses . *International Journal of Molecular Sciences* (2013)14(7): 14950-14973.
- **Piccinelli A.L., Mencherini T., Celano R., Mouhoubi Z., Tamendjari A., Aquino R. P., rastrelli L.** chemical composition and antioxidant activity of Algerian propolis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (2013)61(21): 5080-5088.
- **Pilo-Veloso D., Roberto C., Sérgio A. M., Evandro A.N.** Analysis Of Brazilian Green Propolis From Baccharis Dracunculifolia By HPLC-APCI-MS And GC-MS . *Revista Brasileira De Farmacognosia* (2008)18( 4): 549- 556.
- **Pinar T S., Seven I., Selcan Karakus.** Turkish propolis and its nano form can ameliorate the side effects of cisplatin, which is a widely used drug in the treatment of cancer. *Plants* (2020) 9(9):1075.
- **Polk M., Vaage-Nilsen K., Vistisen. and Nielsen D. L.** Cardiotoxicity in cancer patients treated with 5-fluorouracil or capecitabine: a systematic review of incidence, manifestations and predisposing factors. *Cancer Treat. Rev* Dec (2013), vol. 39, no. 8 : 974–984.
- **Popova M P., Graikou K., Chinou I., et al.** Gc-ms profiling of diterpene compounds in mediterranean propolis from Greece. *J Agric Food Chem* (2010)58: 3167–76.
- **Popova M., Bonkova V., Chimov A., Sileva M.** A scientific note on the high toxicity of propolis that comes from Myroxylan balsamum trees. *Apidologie* (2002)33: 87-88.
- **Powers S.K., Smuder A.J., Kavazis A.N., Hudson M.B.** Experimental guidelines for studies designed to investigate the impact of antioxidant supplementation on exercise performance. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* (2010)20 (1): 2-14.
- **Pratibha R., Sameer R., Rataboli P.V., Bhiwgade D.A., Dhume C.Y.** Enzymatic studies of cisplatin induced oxidative stress in hepatic tissue of rats. *Eur J Pharmacol* (2006)532: 290–3.
- **Priebe W., Perez S.R.** Design and tumor targeting of anthracyclines able to overcome multidrug resistance: a double-advantage approach. *Pharmacol Ther* (1993)60(2): 215-34.
- **Priyadarsini K. I.** Molecular mechanisms involving free radical reactions of antioxidants and radioprotectors. *Founder's Day Special Issue* (2005): 1-6.
- **Raad I., Hanna H., Bektour M., Grigawy E., Danawi H., Mardani M.** Management of central venous catheters in patients with cancer and candidemia .*Clinical Infectious Diseases* (2004) 38(8) :1119-1127.



- **Ransome H.M.** The sacred bee in ancient times and folklore. *George Allen and Unwin, London* (1937): 308.
- **Rashid S., Ali N., Nafees S., Ahmad S. Tanveer., Hasan S. Kazim., Sultana S.** Abrogation of 5-fluorouracil induced renal toxicity by bee propolis via targeting oxidative stress and inflammation in Wistar rats. *J. Pharm. Res* (2013)7: 189–194.
- **Rashid S., Ali N., Nafees S., Hasan S. Kazim., Sultana S.** Mitigation of 5-Fluorouracil induced renal toxicity by chrysin via targeting oxidative stress and apoptosis in wistar rats. *J. Pharm* (2014).
- **Ravi D., Das K.C.** Redox-cycling of anthracyclines by thioredoxin system:increased superoxide generation and DNA damage. *Cancer Chemother. Phar-macol* (2004) 54 : 449–458.
- **Regev R., Yeheskely-Hayon D., Katzir H., Eytan G.D.** Transport of anthracyclines and mitoxantrone across membranes by a flip-flop mechanism. *Biochem Pharmacol* (2005) 70(1):161–9.
- **Rehman M.U., Tahir M., Ali F.,Qamar W., Lateef A., Khan R ., Quaiyoom A., Hamiza O.O., Sultana S.** Cyclophosphamide –induced nephrotoxicity ,genotoxicity ,and damage in kidney genomic DNA of swiss albino mice :the protective effect of Ellagic acid. *Mol Cell Biochem* (2012) 365: 119 -127.
- **Reutenauera S., Chauveaub D., Récher C.** High-dose methotrexate Toxicity, management and prevention. *Réanimation* (2009)18:654-658.
- **Richard M.J., Belleville F., Chalas J., Ceballos-Picot I., Vitoux D., Boyer M.J., Chaudière J., Favier A.** Les glutathion peroxydases : intérêt de leur dosage en biologie clinique. *Annales de Biologie Clinique, Revues générales* (1997) 55(3): 195-208.
- **Riggs J.E., Ashraf M., Snyder R., Gutmann L.** Prospective nerve conduction studies in cisplatin therapy. *Ann. Neurol* (1988) 23:92-94.
- **Robert J.** Epirubicin Clinical pharmacology and Dose-Effect Relationship. *Drugs* (1993) 45 :20-30.
- **Roger Lacave., Christian-Jacques Larsen., Jacques Robert.** Cancérologie fondamentale. *Société Française du Cancer* (2005) :406.
- **Rosenberg B.** Fundamental studies with cisplatin. *Cancer* (1985): 55.
- **Rosenberg B., Camp L.V., Krigas T.** Inhibition of cell division of Escherichia coli by electrolysis products from platinum electrode (1965) 205: 698-699.
- **Rossato L.G., Costa V.M., Dallegrove E., Arbo M., Dinis-Oliveira R.J., Santos-Silva A., Duarte J.A., Bastos M.D.L., Palmeira C and Remiao F.** Cumulative mitoxantrone-induced haematological and hepatic adverse effects in a subchronic *in vivo* study. *B.CP.T* (2014) 114: 254–262.
- **Rouibah H., Benguedouar L., Alyane M., Bousenane H.N., Kebsa W., Lahouel M.** The Effect of propolis extract supplement on the prevention of heart and vascular disease risk. *Saudi society for food and nutrition* (2008): 65-82.
- **Saad Sherif Y., Najjar Tawfeeg A.O., Alashari Mouied.** Role of non-selective adenosine receptor blockade and phosphodiesterase inhibition in cisplatin-induced nephrogonadal toxicity in rats. *Clinical Pharmacy* (2004) 50 : 1440-1681.
- **Sabry A., El-Naggar., Abeer A., Alm-Eldeen., Mousa O., Germoush., Kamal F., El-Boray & Hassan A.** Elgebaly Ameliorative effect of propolis against cyclophosphamide-induced toxicity in mice (2014).
- **Saito Kazuki., Keiko Yonekura-sakakibara., Ryo nakabayashi.** The flavonoid biosynthetic pathway in Arabidopsis: structural and genetic diversity. *Plant Physiology and Biochemistry* (2013)72: 21-34.

- **Sak K.** Chemotherapy and dietary phytochemical agents. *Chemother. Res. Pract.* (2012):1-11.
- **Salvayre, R., Auge, N., Nègre-Salvayre, A.** Rôle de l'oxydation dans la genèse et la progression de l'athérosclérose. *L'athérosclérose : Physiopathologie, Diagnostics, Thérapeutiques.*, J.F., Toussaint, M.P., Jacob, L., Lagrost, J., Chapman, Eds. Masson: Paris (2003)14 : 269-290.
- **Sampietro Diego A., Maria M.S Vattuone., Marta A Vattuone .** Immunomodulatory activity of Apis mellifera propolis from the North of Argentina. *LWT* (2016)70: 9-15.
- **Sanmugapriya E., Venkataraman S.** Studies of hepatoprotective and antioxidant actions of Strychnos potatorum Linn. Seeds onCCl4 induced acute hepatic injury in juryin experimental rats. *J Ethno pharmacol* (2006)105: 154–60.
- **Sara C., Boufadi M.Y., Keddari S., Benchaib A.H.** Chemical composition of propolis extract its effects on epirubicin-induced hepatotoxicity in rats. *Revista Brasileira de Farmacognosia* (2019)29 (3):294-300.
- **Sarawoot P., Chuchard P., Dutsadee C., Prasit S.** Amelioration of cisplatin-induced nephrotoxicity in rats by curcumin and  $\alpha$ -tocopherol. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* December (2013) 12 (6): 973-979.
- **Sarbani D.** Evaluation of Protective effect of reduced Glutathione on 5- Fluorouracil-induced changes in Cholesterol Profile. *Int. J. Pharm. Tech. Res* (20113) : 580–584.
- **Scheller S., Pawlak F.**Die Anwendung Von Propolis In Der Medizin. *Die Heilkunst* ( 1981):223 -233.
- **Schweitzer., Dicker B.I., Bertino J.R.** Dihydrofolate reductase as a therapeutic target. *FASEB J* (1990)4(8): 2441-52.
- **Segueni Narimane., Amar Zellagui ., Fairouz Moussaoui ., Mesbah Lahouel ., Salah Rhouati.** Flavonoids from Algerian propolis. *Arabian Journal of Chemistry* (2016) 9: 425 -428.
- **Senkus E., Jassem J.** Cardiovascular effects of systemic cancer treatment. *Cancer Treat Rev* (2011)37(4): 300-11.
- **Senthilkumar S., Devaki T., Manohar B.M ., Babu M.S.** Effect of squalene on cyclophosphamide –induced toxicity .*Clinica Chimica* (2006) 364 :335 -342.
- **Seo K. W., Park M., Song Y. J., Kim S. J., Yoon K. R.** The protective effect of propolis on hepatic injury and its mechanism. *Phytother Res* (2003)17: 250-3.
- **Seven I., Aksu T., Tath Seven P.** The effects of propolis and vitamin C supplemented feed on performance, nutrient utilization and carcass characteristics in broilers exposed to lead. *Livest. Sci* (2012) 148: 10–15.
- **Sevgin Iseri ., Feriha Ercan., Nursal Gedik., Meral yuksel., Inci Alican.** Simvastatin attenuates cisplatin-induced kidney and liver damage in rats. *Toxico* ( 2007)230(2-3): 256-264.
- **Sforcin J.M.** Propolis and the immune system: A review. *JE thnopharmacol* (2007) 113:1–14.
- **Shapiro W R., Young D F., Mehta B M.** Methotrexate: distribution in cerebrospinal fluidafter intravenous, ventricular and lumbar injections. *N Engl J Med* (1975) 293(4):161-6.
- **Sheeja K., Kuttan G.** Ameliorating effects of andrographis paniculata extract against cyclophosphamide-induced toxicity in mice. *Asian Pac J Cancer Prev* (2006) 7(4): 609-614.
- **Shukla S., Bhadauria M., Jadon A.** Effect of propolis extract on acute carbon tetrachloride induced hepatotoxicity. *Indian J Exp Biol* (2004) 42(10): 993-997.

- **Siess M.H., Le Bon A.M., Canivenc-lavier M.C., Suschetet M.** Mechanisms involved in the chemoprevention of flavonoids. *Biofactors* (2000)12(1-4): 193–9.
- **Sinhg M., Kumar N., Shuaib M., Kumar V., Sharma A.** A review on renal protective agents for cyclophosphamide induced nephrotoxicity. *Pharm Sci* (2014) 3:737- 747.
- **Siveski-Iliskovic N., Kaul N., Singal P.K.** Probucol promotes endogenous antioxidants and provides protection against adriamycin-induced cardiomyopathy in rats. *Circulation* (1994) 89(6): 2829-2835.
- **Sladek N.E.** Metabolism of cyclophosphamide by rat hepatic microsomes. *Cancer Res* (1971)31:901-908.
- **Soltani EL-Khamsa., Cerezuela R., Charef N., Samia Mezaache-aichour., Maria Angeles Esteban., Mohamed Mihoub Zerroug.** Algerian propolis extracts: chemical composition, bactericidal activity and in vitro effects on gilthead seabream innate immune responses. *Fish and Shellfish Immunology* (2017) 62: 57 -67.
- **Song Yun Seon., Eun-hee Park ., Gang Min Hur., Young Sue Ryu., Yong Man Kim., Changbae Jin.** Ethanol extract of propolis inhibits nitric oxide synthase gene expression and enzyme activity. *Journal of Ethnopharmacology* (2002) 80(23):155-161.
- **Sorrentino M. F., Kim J., Foderaro A. E., and Truesdell A. G.** 5-fluorouracil induced cardiotoxicity: review of the literature. *Cardiol. J* (2012) 19(5): 453–458.
- **Soudani N., Ben Amara I., Sefi M., Boudawara T., Zeghal N.** Effects of selenium on chromium (VI)-induced hepatotoxicity in adult rats. *Exp. Toxicol. Pathol* (2011) 63: 541–548.
- **Süleyman Özen., Ömer Akyol., Mustafa Iraz., Sadık Söğüt., Fikret Özugurlu., Hüseyin Özyurt., Ersan Odacı and Zeki Yıldırım.** Role of caffeic acid phenethyl ester, an active component of propolis, against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats (2004).
- **Sultana S., Verma K., Khan R.** Nephroprotective efficacy of chrysin against cisplatin-induced toxicity via attenuation of oxidative stress. *J. Pharm. Pharmacol* (2012)64 : 872–881.
- **Szliszka E., Czuba P., Maciej D., Bogdan M., Grzegorz Z., Wojciech K.** Ethanol extract of Propolis (EEP) Enhances The Apoptosis-Inducing Potential of TRAIL In Cancer Cells. *Molecules* (2009)14(2):738- 754.
- **Szliszka E., Grzegorz Z., Beata J., Cezary D., Grazyna K.** Ethanol extract of Brazilian Green Propolis Sensitizes Prostate Cancer Cells To TRAIL-Induced Apoptosis. *International Journal of Oncologie* (2011) 38 (4): 941- 953.
- **Tag Hend M.** Hepatoprotective effect of mulberry (*Morus nigra*) leaves extract against methotrexate induced hepatotoxicity in male albino rat. *BMC Complementary and Alternative Medicine* (2015) 252 (15).
- **Takemura Genzou., Fujiwara Hisayoshi.** Doxorubicin-Induced Cardiomyopathy: From the Cardiotoxic Mechanisms to Management. *Progress in Cardiovascular Diseases* (2007) 49 (5) : 330-352.
- **Takimoto C.H.** New Antifolates: Pharmacology and Clinical Applications. *Oncologist* (1996)1(1&2): 68-81.
- **Talbert D.R., Doherty K.R., Trusk P.B., Mora D.M., Shell S.A., Bacus S.A.** Multi-parameter in vitro screen in human stem cell-derived cardiomyocytes identifies ponatinib-induced structural and functional cardiac toxicity. *Toxicol. Sci* (2015)143: 147–155.

- **Tatli-Seven P., Yılmaz S., Seven İ., Çerçi İ.H., Azman M.A and Yılmaz M.**The effect of propolis on selected blood indicators and antioxidant enzyme activities in broilers under heat stress. *Acta. Vet. Brno* (2009)78: 75-83.
- **Tewey K., Chen G., Nelson E et Liu 1.** Intercalative antitumor drugs interfere with the breakage-reunion reaction of mammalian DNA topoisomerase II. *J Biol Chem* (1984) 259 (14) :9182-7.
- **Thomas F., Chatelut E.** Les dérivés du platine. *La Revue Francophone de Formation en Oncologie* (2007) 9: 741–745.
- **Tian H., Cronstein B.N.**Understanding the mechanisms of action of methotrexate: implications for the treatment of rheumatoid arthritis. *Bull NYU HospJt Dis* (2007) 65 (3):168-73.
- **Tjuljandin S., Doig R., Sobol M., watson D., Sheridan W., Morstyn G.,& Green M.** pharmacokinetics and toxicity of two schedules of high dose epirubicin. *Cancer ressearch* (1990) 50(16) : 5095-5101.
- **Touati W.** Sensibilisation de cellules tumorales au cyclophosphamide par transfert de gene : de l'in vitro à in vivo.*these de doctorat (paris)* (2013): 1-158.
- **Tranchand B.** Guide pratique de pharmacocinétique clinique en oncologie. *Lyon Pharmaceutique* (1998) 5(49) : 294-295.
- **Valérian B.** Recherche de nouvelles substances naturelles d'intérêt dans la prévention de la fibrose rénale d'origine médicamenteuse (2015) : 11-03.
- **Van Cutsem E., Hoff P. M., Blum J. L., Abt M., and Osterwalder B.** “Incidence of cardiotoxicity with the oral fluoropyrimidine capecitabine is typical of that reported with 5-fluorouracil” *Ann. Oncol* Mar (2002) 13(3) : 484–485.
- **Vardi N., Parlakpınar H., Cetin A., Erdogan A and Ozturk I.C.** Protective effect of  $\beta$ - Carotene on methotrexate induced oxidative liver damage. *Toxicol. Pathol* (2010) 38: 592-597.
- **Vardi N., Parlakpınar H.,Ozturk F., Ates B., Gul M., Cetin A., Erdogan A., Otlu A.** Potent protective effect of apricot and  $\beta$ -carotene on methotrexate-induced intestinal oxidative damage in rats. *Food and Chemical Toxicology* (2008) 46: 3015-3022.
- **Velikova Melina., vassya Bankova., kadriye sorkun et al.** Propolis from the mediterranean region : chemical composition and antimicrobial activity . *Zeitschrift Fur Naturforschung* (2000) C 55 (9 -10): 790 -793.
- **Venkatesan N., Punithavathi D., Arumugam V.** Curcumin prevents Adriamycin nephrotoxicity in rats. *Br J Pharmacol* (2000) 129(2): 231-234.
- Vergely C., Rochette L. Stress oxydant dans le domaine cardiovasculaire. *Médecine thérapeutique Cardiologie* (2003) 1: 131-9.
- **Viuda-Martos M., Ruiz-Navajas Y., Fernandez-Lopez J., Pérez-Alvarez J.A.** Functional properties of honey ,propolis, and royal jelly. *Journal of Food Science* (2008)73(9): 117-124.
- **Walker L.M., Walker P.D., Imam S.Z., Ali S.F., Mayeux P.R.** Evidence for peroxynitrite formation in renal ischemia-reperfusion injury: studies with the inducible nitric oxide synthase inhibitor L-N(6)iminoethyl)lysine. *J. Pharmacol.Exp. Ther* (2000)295: 417–422.
- **Wallace A.D., Meyer S.A.** Hepatotoxicity. In: Smart, R.C., Hodgson, E. (Eds.), *Molecular and Biochemical Toxicology*. 4th ed. John Wiley and Sons, Hobohen,NJ (2008) : 671–692.

- **Wang G., Jiawei Z., Liu L., Sharma S., Dong Q.** Quercetin potentiates doxorubicin mediated antitumor effects against cancer through p53/Bcl-xl. *Plos one* (2012)7(12): 1-11.
- **Wang J.C.** DNA topoisomerases. *Annu Rev Biochem* (1996) 65: 635-92.
- **Wangsiripaisan A., Gengaro P.E., Nemenoff R.A., Ling H., Edelstein C.L., Schrier R.W.** Effect of nitric oxide donors on renal tubular epithelial cell–matrix adhesion. *Kidney Int* (1999)55: 2281–2288.
- **Wolfrom C., Hepp R., Hartmann R., Breithaupt H., Henze G.** Pharmacokinetic study of methotrexate, folinic acid and their serum metabolites in children treated with high-dose methotrexate and leucovorin rescue. *Eur J Clin Pharmacol* (1990) 39(4):377-83.
- **Yagi T ., yamawaki S., isu k.** Significance of Surgical Adjuvant Chemotherapy in Osteosarcoma . *Cancer and Chemotherapy* (1987)14(5Pt2):1430.
- **Yang F., Teves S.S., Kemp C.J., Henikoff S.** Doxorubicin, DNA torsion, and chromatin dynamics. *Biochimica et Biophysica Acta* (2014)1845 (1): 84-89.
- **Yang S.Z., Peng L.T., Su X.J., Chen F., Cheng Y.J., Fan G., Pan S.Y.** Bioassay-guided isolation and identification of antifungal components from propolis against penicillium italicum. *Food Chemistry* (2011)127 (1):210-215.
- **Yao X., Panichpisal K., Kurtzman N., Nugent K.** Cisplatin nephrotoxicity: A review. *Am. J.Med. Sci* (2007)334: 115–124.
- **Yeh E.T., Bickford C.L.** Cardiovascular complications of cancer therapy: incidence, pathogenesis, diagnosis, and management. *J Am Coll Cardiol* (2009) 53(24): 2231-47.
- **Yin gjun Liao., Xiuqiang Lu., Chunwei Lu .,Gexin Li.,Yapping Jin.,Hao Tang.** Selection of agents for prevention of cisplatin-induced hepatotoxicity. *pharm res* (2008)57(2):125-131.
- **Yuluğ E., Türedi S., Yıldırım Ö., Yenilmez E., Aliyaz ıcıoğlu Y., Demir S., Özer-Yaman S & Mentеше A.** Biochemical and morphological evaluation of the effects of propolis on cisplatin induced kidney damage in rats (2018).
- **Zhang N., Yin Y., Xu S.J., Chen W.S.** 5-Fluorouracil: Mechanisms of resistance and Reversal Strategies.*Molecules* (2008)13: 1551-1569.
- **Zhou Q., Chowbay B .**Determination of doxorubicin and its metabolites in rat serum and bile by LC: application to preclinical pharmacokinetic studies. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* (2002)30: 1063-1074.

Dirigé par : Dr. Brihoum Hadjer

Aissous Khadidja

Feghrour Assia

Grioua Fairouz

**Thème : Effet de la propolis sur la toxicité des médicaments chimiothérapeutiques.**

### Résumé :

La propolis, est une source potentielle d'antioxydants naturels tels que les flavonoïdes. Cette substance bioactive a toujours montré un effet bénéfique contre la toxicité cellulaire lors des traitements chimiothérapeutiques. L'objectif de ce travail est de montrer qu'une supplémentation de la propolis peut réduire les effets indésirables des médicaments anticancéreux (Cyclophosphamide, 5-Fluorouracil, Epirubicine, Doxorubicine, Cisplatine et Méthotrexate), qui sont couramment utilisés dans le traitement de différents types du cancer.

Les métabolites issus de la biotransformation de ces médicaments induisent des altérations de la fonction hépatique, rénale et sanguine, par la perturbation des paramètres biochimiques ainsi qu'un déficit des systèmes antioxydants avec l'augmentation de la peroxydation lipidique.

La propolis avec sa capacité à piéger les radicaux libres oxygénés, a permis de protéger le foie, les reins et le sang contre le stress oxydatif généré par les anticancéreux traduit par l'augmentation des antioxydants enzymatiques et non enzymatiques (SOD, CAT et GSH) ainsi que par le maintien des taux des paramètres biochimiques à des niveaux normaux et par la protection des membranes cellulaires contre les dommages de la peroxydation lipidiques.

**Mots clés :** médicaments anticancéreux, stress oxydatif, propolis, peroxydation lipidiques, effet antioxydant.

### Abstract

Propolis is a potential source of natural antioxidants such as flavonoids. This bioactive substance has always shown a beneficial effect against cellular toxicity during chemotherapeutic treatments. The objective of this work is to show that supplementation with propolis can reduce the side effects of anticancer drugs (Cyclophosphamide, 5-Fluorouracil, Epirubicin, Doxorubicin, Cisplatin and Methotrexate), which are commonly used in the treatment of different types cancer.

The metabolites resulting from the biotransformation of these drugs induce alterations in hepatic, renal and blood function by the disruption of biochemical parameters as well as a deficit of antioxidant systems with the increase in lipid peroxidation.

Propolis, with its ability to scavenge oxygen free radicals, protect the liver, kidneys and blood against oxidative stress generated by anticancer drugs shown by the increase in enzymatic and non-enzymatic antioxidants (SOD, CAT and GSH) as well as by maintaining the levels of biochemical parameters at normal levels and by protecting cell membranes against damage from lipid peroxidation.

**Key words:** anticancer drugs, oxidative stress, propolis, lipid peroxidation, antioxidant effect.

### ملخص:

يعتبر الدنج مصدر لمضادات الأكسدة الطبيعية مثل الفلافونويدات. لطالما أظهرت هذه المادة النشطة بيولوجيًا تأثيرًا مفيدًا ضد السمية الخلوية أثناء العلاج الكيميائي. الهدف من هذا العمل هو إظهار أن استعمال الدنج يكمل مع الأدوية المضادة للسرطان (سيفلوفوسفاميد ، 5-فلورورويوراسيل، ايبيربيسين، دوكسوروبيسين، سيسبلاتين وميثوثريكسات)، والتي تستخدم عادة في علاج أنواع مختلفة من السرطانات يمكن أن تقلل من الآثار الجانبية لهذه الأخيرة. تؤدي المستقلبات الناتجة عن عملية الاستقلاب لهذه الأدوية إلى حدوث تغييرات في وظائف الكبد والكلية والدم، من خلال تعطيل المعايير البيوكيميائية وكذلك عجز في أنظمة مضادات الأكسدة مع زيادة تأكسد الدهون.

يساعد الدنج، بقدرته على التخلص من الجذور الحرة المؤكسدة، في حماية الكبد والكلية والدم من الإجهاد التأكسدي الناتج عن الأدوية المضادة للسرطان والتي تظهر من خلال زيادة مضادات الأكسدة الأنزيمية وغير الأنزيمية (السوبر أكسيد ديسميتاز و الكاتالاز والجلوتاثيون) وكذلك من خلال الحفاظ على مستويات المعايير البيوكيميائية عند المستويات الطبيعية وحماية أغشية الخلايا من التلف الناتج عن تأكسد الدهون.

**الكلمات المفتاحية:** الأدوية المضادة للسرطان، الإجهاد التأكسدي، الدنج، تأكسد الدهون، مضادات الأكسدة.