

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur
Et de la Recherche Scientifique
Université de Jijel



BC 07/08

Faculté des Sciences
Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire

Mémoire

De Fin d'Etudes en Vue de l'Obtention du Diplôme d'Etudes Supérieures
en Biologie Moléculaire et Cellulaire (D.E.S)

Option : Biochimie

Thème

Etude expérimentale des effets des
flavonoïdes sur la modulation des enzymes du
système de détoxification au cours d'un
traitement par un médicament anticancéreux
(Doxorubicine)

Membre du jury :

- ❖ **Encadreur : Benguedouar L.**
- ❖ **Examineur : Hirech S.**

Présenté par :

- ❖ **Bounekta Farida.**
- ❖ **Herrag Hassiba.**
- ❖ **Rezzagui Abir.**

Promotion Juin : 2008

REMERCIEMENT :

Nous tenons à remercier en premier lieu Dieu, de nous avoir donné la force et la volonté pour réaliser ce modeste travail.

Nous remercions notre honorable encadreur, M^{elle} Benguedouar L, pour sa précieuse aide, ses conseils et sa totale disponibilité.

Nos vifs remerciements s'adressent à tous les enseignants qui ont participé de près ou de loin à notre formation, ainsi qu'à toutes les Personnes du laboratoire de Institut biologie, l'animalerie et de la bibliothèque de la faculté des sciences.

Nous remercions également M^{me} Hireche Saliha d'avoir accepté de présider le jury et juger notre travail

Enfin nous remercions tous ceux qui participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

SOMMAIRE

Introduction.....1

Analyse bibliographique.

Chapitre I : SYSTEME DE DEFENSE ANTIOXYDANT

I. 1 .Généralités.....	2
I. 2. La Biotransformation et le Stress Oxydatif.....	3
I. 2. 1. Définition des xénobiotiques:.....	3
I. 2. 2. Définition de la Biotransformation.....	3
I. 2. 3. Les Phases de la Biotransformation.....	3
I. 2. 4. les enzymes de métabolisme et de transport des xénobiotiques	4
I. 3. Différentes Espèces Oxygénées Réactives.....	4
I. 4. Les Systèmes de Défense Antioxydants	5
I. 4. 1. Enzymes du Système de Détoxification	6
a) Système de défense primaire:.....	6
A1) le superoxyde dismutase:.....	7
A2) Catalase	8
A3) Glutathion peroxydase (GPx).....	9
b) Le système de défense secondaire.....	10
B1) Glutathion Réductase.....	10
B2) Glutathion Transférase.....	10
I. 4. 2. Les molécules antiradicalaires	10
I. 5. Les Marqueurs Biologiques du Stress Oxydant:.....	10
- la peroxydation lipidique:.....	10

Chapitre II :NOTION GENERALE SUR LE CANCER ET LA CHIMIOThERAPIE

II-1 : Biologie du Cancer.....	12
II-2 : Diagnostics du Cancer.....	12
II.1.1- Examen clinique.....	12
II.1.2- Examen de laboratoire.....	12
II.1.2- Examen radiologiques.....	12
I.1.3- Examen anatomie pathologie.....	12
II.3 : Traitements du Cancer	13
II.4: Chimiothérapie	13
II.4.1. Objectif de la Chimiothérapie.....	13
*Poly Chimiothérapie Anticancéreuse	13
II.4.2. Mécanisme D'action	14
II.4.3. Lieu D'action	14
II.4.4. Toxicité due aux Traitement Anticancéreux	15
A -Toxicité Aigues.....	15

B - Toxicité Chronique.....	15
II.4.5. Classification des Médicament Anticancéreux.....	15
II.5. Les Anthracyclines	16
LA Doxorubicine	17
1- Formule Chimique	17
2-Caractères physicochimiques.....	17
3- Mécanismes D'action.....	18
4-Pharmacologie.....	18
5- Toxicité " Effets Indésirables.....	19

Chapitre III : **PROPOLIS**

III. 1. Définition.....	21
III. 2. Historique.....	22
III. 3.La Composition Chimique.....	22
III. 4. Propriétés Pharmacologique et Biologique.....	23

Matériels et méthodes 24

Résultats et interprétations...... 32

Discutions...... 37

Conclusion 41

Annexes

Références

Liste des figures

Figure N°

Page

Partie Bibliographique

Figure 01 :Les effets des radicaux libres.....	2
Figure 02 :Les systèmes de défense antioxydants.....	6
Figure 03 :Structure du site actif de la Mn-SOD mitochondriale humaine.....	7
Figure 04 :La structure 3D de catalase.....	8
Figure 05 :Le cycle d'oxydoréduction du glutathion.....	9
Figure 06 :Cycle cellulaire et inhibiteurs.....	15
Figure 07 :La structure de la daunorubicine	17
Figure 08 :La structure de la doxorubicine	17
Figure 09 :Métabolisme hépatique de la doxorubicine	20
Figure 10 :L'abeille récolte la propolis.....	21

Partie pratique

Figure 01 : Le broyage cellulaire du foie.....	26
Figure 02 : L'extraction des mitochondries hépatiques.....	27
Figure 03 : Comparaison des rapports poids du foie / poids corporel chez les souris des 3 lots.....	32
Figure 04 :Les variations de poids des souris au cours de l'étude expérimentale.....	33
Figure 05 : Les variations de l'activité de la SOD.....	34
Figure 06 :Les variations de l'activité de la Catalase.....	35
Figure 07 :Les variations de concentrations de MDA mitochondriale.....	36

Liste des tableaux

Tableau N°

Page

Partie Bibliographique

Tableau I : La classification du médicament anticancéreux.....	16
Tableau II : Principales cibles et effets des anthracyclines (doxorubicine).....	18
Tableau III : Paramètres pharmacocinétiques du doxorubicine.....	19
Tableau IV : Présentation, posologie et voie d'administration de la doxorubicine.....	19
Tableau V : Composition de la propolis et leurs effets.	23

Partie Pratique

Tableau I : Préparation du première mélange.....	28
Tableau II : Dosage des protéines.....	28
Tableau III : Activité de la catalase.....	29
Tableau IV : Réactif utilisés dans la mesure d'activité de la SOD.....	29
Tableau V : Activité de la SOD.....	30
Tableau VI : Dosage de MDA.....	31
Tableau VII : Poids des foies et poids corporels des souris sacrifiés.....	32
Tableau VIII : Variation des poids des souris au cours de l'étude expérimentale.....	33
Tableau IX : Les résultats de mesure de l'activité de la SOD mitochondriale.....	34
Tableau X : Les résultats de mesure de l'activité du Catalase.....	35
Tableau XI : Les résultats de dosage de MDA mitochondriale.....	36

Abréviations

ADN :	Acide Désoxyribo Nucléotide
ARN:	Acide Ribo-Nucleotide
AFP :	Alpha Foeto Protein
Cyp 450:	Cytochrome p450
DO :	densité optique
EDTA :	Ethylène Diamine Tétra Acetic
GSH :	Glutathion Réduit
Gpx :	Glutathion Peroxydase
LDL:	Low Density Lipoproteins
MDA :	MalonDiAldehyde
NBT :	NitoBlue Tétrazolium
PH :	potentiel d'Hydrogène
ROS :	Reactive Oxygen Sepecies
TSE :	Tris -Sucrose -EGTA
TS :	Tris -Sucrose
TCA :	Tri Chloro Acétate
TBA :	Thio BarbituriqueAcide
SOD:	Super oxyde Dismutase
GSSG :	Glutathion oxydé
HNE :	4 – Hydroxynonéal
8- <i>epi</i> PGF _{2α} :	8- <i>epi</i> -ProstaGlandine F _{2α}

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Un médicament est une molécule naturelle synthétique ou semi-synthétique, dont les caractéristiques chimiques sont clairement élucidées, on peut en attendre une action pharmacologique au niveau des tissus cibles. Les effets indésirables médicamenteux constituent un cas particuliers des effets toxiques possible du produit chimique qui s'ajoutent à l'effet thérapeutique recherché.

La biotransformation hépatique, (surtout les réactions d'oxydation) aboutit dans certains cas à la production de métabolites réactifs. Il s'agit de produit chimiquement réactifs capables de contracter des liaisons covalentes avec les macromolécules intracellulaires et de produire ainsi des effets toxiques.

Des études précédentes ont montrés que la toxicité hépatique induite par les anticancéreux, est associée à un stress oxydatif caractérisé par une accumulation d'espèces réactives d'oxygène (Berthoin, 2000).

Le stress oxydatif est un syndrome résultant d'un déséquilibre entre le système de défense et la production des radicaux libres oxygénés. Il est impliqué dans le développement de plus d'une certaine de pathologies y compris le cancer (Pincemail et al., 1998)

Les espèces oxygénées activées (EOA) peuvent induire des dégâts cellulaires importants en détruisant l'ADN, en inactivant des protéines ou encore en oxydant les acides gras poly-insaturés des lipoprotéines ou de la membrane cellulaire. Les cellules disposent toutefois de systèmes antioxydants de défense composés d'enzymes (superoxyde Dismutase, Catalase et glutathion peroxydase) et de composés comme le glutathion, l'acide urique ou les trois vitamines A, C et E ainsi que les flavonoïdes qui peuvent contrecarrer efficacement l'action délétère des EOA (Pincemail et al., 1998).

La propolis est composée d'une variété de composés chimiques tels que les polyphénols (flavonoïdes, aglycones, acides phénoliques et leurs esters, aldéhydes phénoliques, alcool et cétones), les quinine, les coumarines, les stéroïdes, les acides aminés, les terpénoïde et les composés inorganiques (Pereira et al., 1996)

L'objectif de la présente étude expérimentale réside dans la détermination de l'effet protecteur des flavonoïdes contenus dans l'extrait éthanolique de la propolis contre un éventuel stress oxydatif induit par le métabolisme d'un médicament anticancéreux (Doxorubicine). Ce travail a été réalisé sur des souris Albinos de souche NMRI Swiss afin d'explorer le système enzymatique de détoxification par l'évaluation des activités des enzymes marqueurs (SOD, Catalase) ainsi que le MDA marqueur biologique de peroxydation lipidique.

ETUDE Bibliographique

Les chapitres

**système de défens
antioxydant*

**notion générale sur le
cancer*

**propolis*

Chapitre I

Système de défense antioxydant

I. 1 .Généralités :

L'oxygène est indispensable aux processus vitaux et notamment à la respiration cellulaire. Toutefois, le métabolisme de l'oxygène peut générer des éléments réactifs appelés radicaux libres, surtout l'anion superoxyde (O_2^-) (Figure1), et l'ion hydroxyle (OH^-) (Menvielle-Bourg, 2005).

Un radical libre: est une espèce chimique (atome ou molécule) possédant un électron non apparié sur son orbitale externe. Du fait de sa très grande réactivité, un radical libre a une durée de vie très courte (10^{-3} à 10^{-6} secondes) (Jadot, 1994), Les sources métaboliques produisant les espèces oxygénées actives sont très nombreuses : chaîne respiratoire mitochondriale, cytochromes P-450, activité de la NADPH oxydase, myéloperoxydase, NO synthase, xanthine oxydase (Dizdaroglu et al., 1992).

L'altération des composantes cellulaires et des structures tissulaires intervient lorsque l'intensité des phénomènes radicalaires augmente anormalement (Halliwell et al., 1993), où ces radicaux libres sont à l'origine de nombreux dommages tant au niveau cellulaire que moléculaire : fragmentation de l'ADN (Dizdaroglu et al., 1992), oxydation des protéines (Stadtman et al., 1997), et peroxydation des lipides (Esterbauer et al., 1992).

Les attaques radicalaires peuvent aussi conduire à une diminution du pouvoir fécondant des spermatozoïdes, à une baisse de la fertilité des femelles, à des mortalités embryonnaires et à une baisse de la vitalités des nouveaux nés (Huang, 1993).

Les radicaux libres sont aussi des molécules indispensables à la vie, ils remplissent en effet de très nombreuses fonctions utiles qui, en dehors de la phagocytose, ont été découvert récemment (Favier, 2003). Ils participent au fonctionnement de certaines enzymes, à la transduction de signaux cellulaires, à la défense immunitaire contre les agents pathogènes. Les radicaux libres participent à la destruction, par apoptose, des cellules tumorales, au cycle cellulaire, à la différenciation cellulaire, à la régulation de la dilatation capillaire (Droge, 2002), au fonctionnement de certains neurones et notamment ceux impliqués dans la mémoire, à la fécondation de l'ovule, à la régulation des gènes, phénomène appelé contrôle redox de gènes (Favier, 2003).

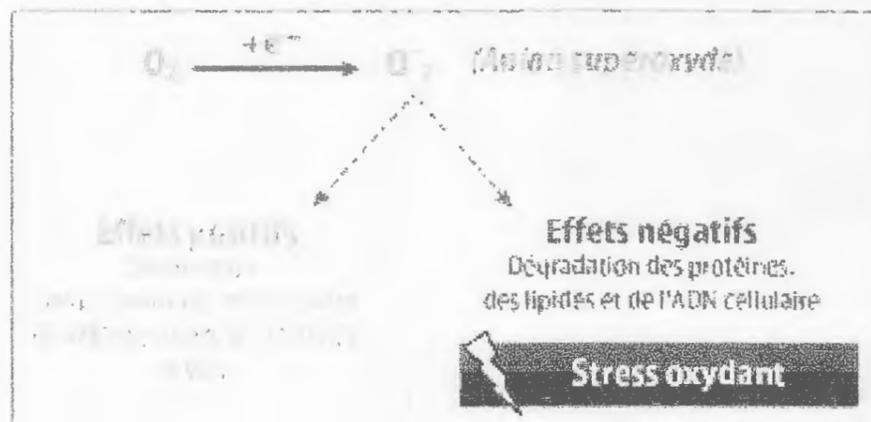


Figure 1 : Les effets de l'anion superoxyde. (Menvielle-Bourg, 2005).

I. 2. La Biotransformation des Xénobiotiques et le Stress Oxydatif :

I. 2. 1. Définition des Xénobiotiques :

Ce sont des substances étrangères à l'organisme de faible poids moléculaire, ils comportent les médicaments et les substances de l'environnement, ces substances peuvent être naturelles ou artificielles, ces xénobiotiques sont souvent hydrophobes et réactifs chimiquement et doivent être métabolisés pour être neutralisés et surtout éliminés (Habdous et al., 2004).

I. 2. 1. Définition de la Biotransformation:

Au cours de leur passage dans l'organisme, la plupart des médicaments subissent diverses modifications de leur structure chimique du fait de l'intervention de nombreux systèmes enzymatiques, ces modifications résultent de la biotransformation des médicaments (Bourin et al., 1999).

Le foie est le lieu privilégié de la biotransformation des médicaments absorbés à travers le tube digestif, à cause de sa situation anatomique, à la jonction des systèmes portes et veineuses systématiques, ainsi que par son contenu enzymatique (Bourin, 1993).

Mais d'autres organes peuvent participer aux biotransformation, essentiellement, l'intestin, les poumons la peau et les reins (Bourin et al., 1999)

Le plus souvent, les transformations métaboliques inactivent le médicament mais c'est parfois l'inverse qui se produit. En effet, certaines substances «pro-médicaments» sont métabolisées en dérivés pharmacologiquement actifs. D'autres médicaments ne sont pas du tout métabolisés et « traversent », tels quels l'organisme qui les reçoit (antiseptiques urinaires, lithium) (Bourin et al., 1999).

I. 2. 2. Les Phases de la Biotransformation:

Il existe essentiellement quatre types de biotransformations qui aboutissent généralement à des métabolites plus polaires et plus hydrosolubles, susceptibles d'être éliminés plus rapidement que la molécule initiale par les voies biliaire ou rénale: l'oxydation; la réduction; l'hydrolyse; la conjugaison: les trois premières sont classées dans les réactions de phases I, la dernière est dite réaction de phase II (Bourin et al., 1999).

Les réactions de phase I, aboutissent à la formation de métabolites intermédiaires beaucoup plus hydrophile que la molécule princeps. Au cours de ces réactions essentiellement de type oxydatif, des radicaux libres instables oxygénés sont générés (Fievet, 2005).

La majorité des médicaments sont oxydé par des enzymes du groupe des cytochromes (Bourin, 1993).

La phase II représente l'étape des conjugaisons: le produit intermédiaire peut alors s'arrimer à un vecteur moléculaire pour devenir complètement hydrophile, et ainsi pouvoir être éliminé en phase aqueuse dans la bile (Fievet, 2005).

Les plus répandues chez l'homme conjuguent le D-glucuronate au médicament en présence de glucuronyl transférase. Un nombre plus restreint de médicament sont conjugués à des sulfates (glutathion transférase), aux radicaux acétyles (acétyle -

fonctionnement optimum de la concentration en résidus polaires (Bourin, 1993).

Il existe la troisième phase de détoxification qui intéresse seulement le produit conjugué, c'est-à-dire l'étape où la molécule rencontre les transporteurs membranaires chargés de lui faire franchir la membrane cellulaire, le métabolite se retrouve enfin dans la bile, et il est ainsi propulsé dans l'intestin (Fievet, 2005).

I. 2. 3. Les Enzymes du Métabolisme et du Transport des Xénobiotiques :

Ils sont répartis en différentes phases :

*Enzymes de phase I : dits de fonctionnalisation, qui catalysent essentiellement les réactions des oxydo-réduction et d'hydrolyse tels que Cytochromes P450, Monoamine oxydase, Superoxyde dismutase, Glutathion peroxydase .

*Enzymes de phase II : dits de conjugaison, qui catalysent les réaction de transfert généralement après fonctionnalisation tels que UDP-glucuronosyltransférases, Sulfotransférases, O-, N-acétyltransférases, O-, N-méthyltransférases, Glutathion-S-transférases (Habdous et al., 2004).

I. 3. Différentes Espèces Oxygénées Réactives:

Le métabolisme cellulaire produit, à l'état physiologique et dans certaines conditions pathologiques, des espèces réactives de l'oxygène qui regroupe l'ensemble des dérivés radicalaires de l'oxygène mais également d'autres composés non radicalaires très réactifs : (Halliwell et al., 1996).

* Anion superoxyde ($O_2^{\circ-}$)

* Radical hydroxyle (OH°)

* Monoxyde d'azote (NO°)

* Radical peroxyde (ROO°)

* Radical alkyl (RO°)

* Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (Myara, 2002).

* l'oxygène singulet (1O_2).

Où les deux derniers sont des dérivées oxygénées non radicalaires (Yoshikawa, 2000).

I. 4. Les Systèmes de Défense Antioxydants :

De façon générale, un antioxydant peut être défini comme étant une substance qui présente à de faibles concentrations par rapport à un substrat, peut significativement retarder ou inhiber l'oxydation de ce substrat (Gimpel, 1995).

Dans les conditions dites « physiologiques », il y a équilibre entre la production de radicaux libres et les mécanismes endogènes de défenses antioxydants. Ces mécanismes impliquent principalement des enzymes spécifiques (superoxyde dismutase ou SOD, catalase, glutathion peroxydase ou Gpx), ainsi que des molécules antiradicalaires (scavengers), qui piègent les radicaux libres (vitamines antioxydants A, C, E), les thiols et β -carotène, (Vouldoukis et al., 2004), ubiquinone, flavonoides, glutathion (Pincemail, 2004). Ces molécules captent les électrons célibataires, et transforment ainsi les radicaux en molécules ou ions stables (Kinsky, 1989) à cela s'ajoute quelques oligoéléments comme le sélénium, le cuivre et le zinc qui sont des cofacteurs importants pour l'activité de certaines enzymes antioxydantes (Figure 2)

(Huang, 1993).

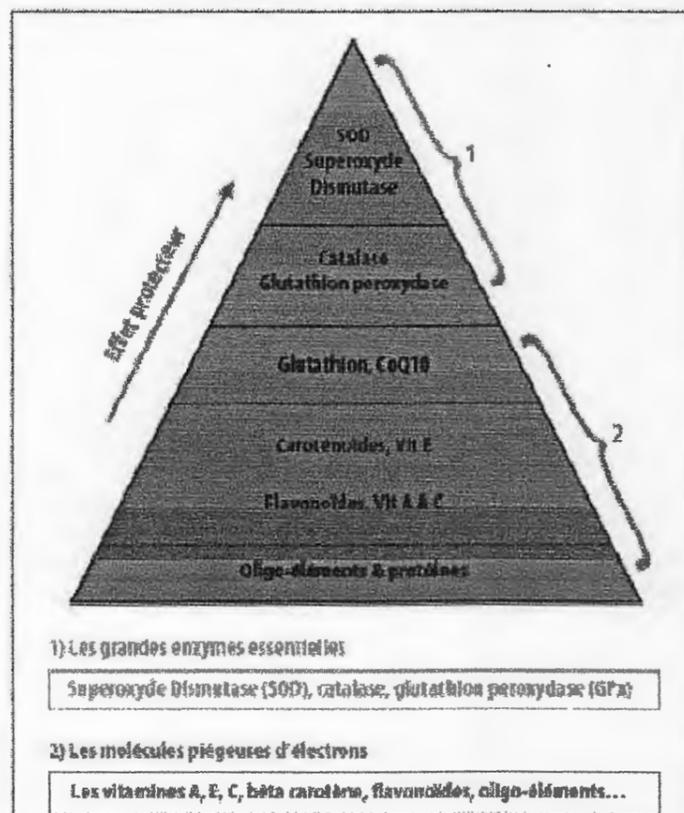


Figure 2 : Systèmes de défense antioxydants (Huang, 1993).

Cependant, certaines conditions s'accompagnent d'une production accrue de dérivés instables d'oxygène : métabolisme des sucres au cours de l'effort physique, métabolisme des graisses (Flavier, 2003), réponse immunitaire notamment vis-à-vis des infections microbiennes, exposition à des rayonnements, pollution, tabagisme... Par ailleurs, des études épidémiologiques indiquent que les niveaux de défenses antioxydants diminuent avec l'âge. Lorsque les systèmes de défenses antioxydants sont dépassés, il en résulte un stress oxydatif (excès de radicaux libres) qui, à long terme, peut contribuer au développement de processus inflammatoires ou dégénératifs (Menvielle-Bourg, 2005).

I. 4.1. Enzymes du Système de Détoxification :

Le système de défense primaire et secondaire, sont les deux systèmes mis en jeu dans la défense enzymatique antioxydants:

a) Le Système de Défense Primaire :

Composant le système enzymatique antioxydant primaire, ces enzymes auront comme fonction d'empêcher l'initiation ou la propagation des réactions radicalaires (Kinsky, 1989). Elles se répartissent comme suit:

A1) La Superoxyde Dismutase:

Un maillon essentiel dans la lutte contre les radicaux libres; Le rôle déterminant de la superoxyde dismutase (SOD) dans les systèmes de défenses antioxydants de l'organisme est connu depuis 1968. L'anion superoxyde (O_2^-) est le point de départ de la chaîne de production des radicaux libres. Or, dès ce stade précoce, la superoxyde dismutase inactive l'anion superoxyde en le transformant en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Celui-ci est ensuite rapidement catabolisé par la catalase et les peroxydases en di-oxygène (O_2) et en molécules d'eau (H_2O) (Menvielle-Bourg, 2005).

La superoxyde dismutase est une métallo enzyme, qui existe sous trois isoformes de l'enzyme superoxyde dismutase (Dulcire, 2002), qui contient différents groupements prosthétiques à savoir le manganèse (Mn) qui est retrouvé pour la SOD mitochondriale (Figure 3) et codée par un gène nucléaire sur le bras court du chromosome 6 (Ryan et al., 1995), le cuivre et zinc (Cu-Zn) affecté aux isoformes cytoplasmiques et extracellulaires (Pelmont, 1993).

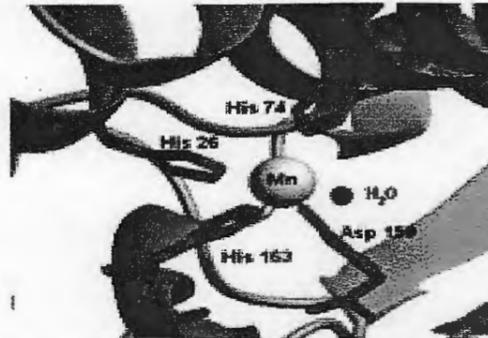


Figure 3 : Structure du site actif de la Mn-SOD mitochondriale humaine. (Menvielle-Bourg, 2005).

La dismutation du superoxyde catalysée par les SOD peut être écrite à l'aide des deux demi-réactions suivantes :

- $Mn^{(n+1)+} - SOD + O_2^- \rightarrow Mn^{n+} - SOD + O_2$
- $Mn^{n+} - SOD + O_2^- + 2H^+ \rightarrow Mn^{(n+1)+} - SOD + H_2O_2$. (Halliwell, 1999).

Le radical anion superoxyde (O_2^-) dismute spontanément en O_2 et H_2O_2 mais, dans les conditions physiologiques, la vitesse de cette réaction bimoléculaire est faible et la durée de vie du superoxyde est suffisamment longue pour qu'il puisse soit oxyder des composants des macromolécules biologiques (acides nucléiques, protéines ...), soit générer d'autres espèces réactives oxygénées bien plus toxiques que le superoxyde lui-même (telles que le peroxy-nitrite en réagissant avec NO ou le radical hydroxyle en réagissant avec le H_2O_2) (Halliwell, 1999).

Cette enzyme assure l'élimination de l'anion superoxyde, première espèce toxique formée à partir de l'oxygène. Elle assure ainsi la première ligne de défense contre le stress oxydant. La SOD a besoin d'oligo-éléments comme les métaux (Mn^{2+} , Cu^{2+}/Zn^{2+} , Fe^{2+}).

Des valeurs basses d'activité du SOD peuvent s'expliquer par des taux faibles en oligoéléments. Il n'existe toutefois pas de corrélation absolue entre la concentration de SOD et ceux - ci. Face au stress oxydant, la SOD se comportera de deux façons différentes. Dans un premier temps, l'organisme réagira lors d'un stress oxydant modéré en surexprimant la SOD (exemple : l'exercice physique) (Levine, 1996 ; Mena et al.,

1991).

Si le stress perdure et produit de façon massive des EOA toxiques, la SOD sera détruite et sa concentration chutera. Paradoxalement, une concentration trop élevée en SOD peut s'avérer dangereuse car, dans ce cas, elle est à la base d'une surproduction de peroxyde d'hydrogène (effet paradoxal des antioxydants) (Levine, 1996).

A2) La Catalase :

La catalase est une enzyme commune trouvée dans presque toute la matière organique, elle est habituellement située dans une organelle cellulaire appelée le peroxydosome (Albert et al., 2002). Tous les animaux connus emploient la catalase dans chaque organe, avec des concentrations particulièrement élevées se produisant dans le foie (Eisner, 1999).

Ses fonctions incluent la décomposition du peroxyde d'hydrogène (Science Education Outreach, 2007), qui est un sous-produit nocif de beaucoup de processus métaboliques normaux : Pour empêcher des dommages, il doit être rapidement converti en autres substances moins dangereuses. A cet effet, la catalase est fréquemment employée par des cellules pour catalyser rapidement la décomposition du peroxyde d'hydrogène en oxygène gazeux réactif et eau moléculaire (Gaetani et al., 1996).

La catalase a un des taux de chiffre d'affaires les plus élevés de toutes les enzymes ; une molécule de catalase peut convertir des millions de molécules de peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène par seconde (PDB, 2004) c'est un tétramère de quatre chaînes de polypeptide, chaque monomère compte plus de 500 acides aminés (Boon et al., 2007), ainsi que quatre groupes de hème de porphyrine (fer) qui permettent à l'enzyme de réagir avec du peroxyde d'hydrogène (Figure 4). Le pH optimum pour la catalase est approximativement 7, tandis que la température optimale est de 37°C, (Albert et al., 2002).

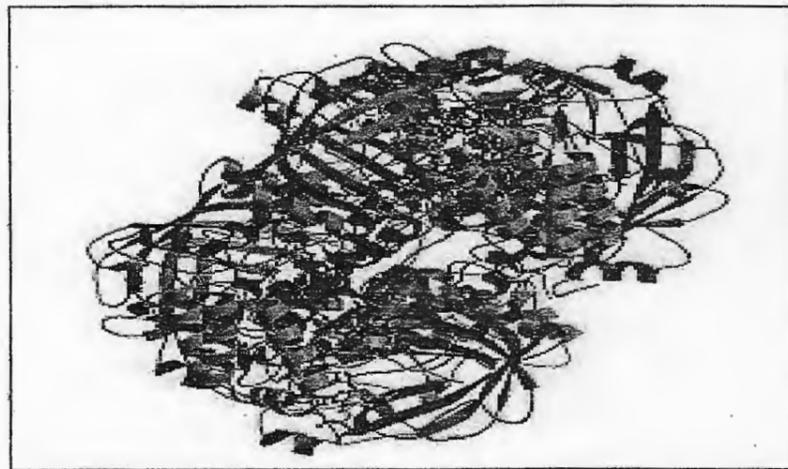
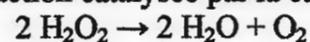
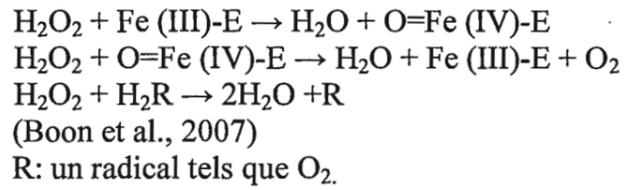


Figure 4 : La structure 3D de catalase (Albert et al., 2002).

La réaction catalysée par la catalase est la suivante :



Et elle se déroule en deux phases:



N'importe quel ion de métal lourd (tel que les cations de cuivre ou sulfate de cuivre (II)) agira en tant qu'inhibiteur non compétitif sur la catalase. En outre, le cyanure de poison est un inhibiteur concurrentiel de catalase, liant fortement au hème de la catalase et arrêtant l'action enzymatique.

A3) Glutathion Peroxydase (GPx):

La glutathion peroxydase (Se GPx) est aussi une métalloenzyme composée de 4 sous unités contenant chacune un atome de sélénium incorporé dans une molécule de sélénio-cystéine. A l'heure actuelle, il existe quatre isoformes de la glutathion peroxydase chez les Eucaryotes : la GPx1 retrouvée au niveau du cytoplasme et de la mitochondrie ; la GPx2 est une forme cytosolique retrouvée au niveau du foie et du colon ; la GPx3 est extracellulaire et la GPx4 est présentée à un taux élevé dans les testicules. Elle est en contact étroit avec les membranes intracellulaires (Ratnasinghe et al., 2000).

La GPx détruit le peroxyde d'hydrogène mais aussi tous les peroxydes lipidiques ROOH (ou R représente un acide gras poly insaturé) (Figure 5) (Dulcire, 2002).

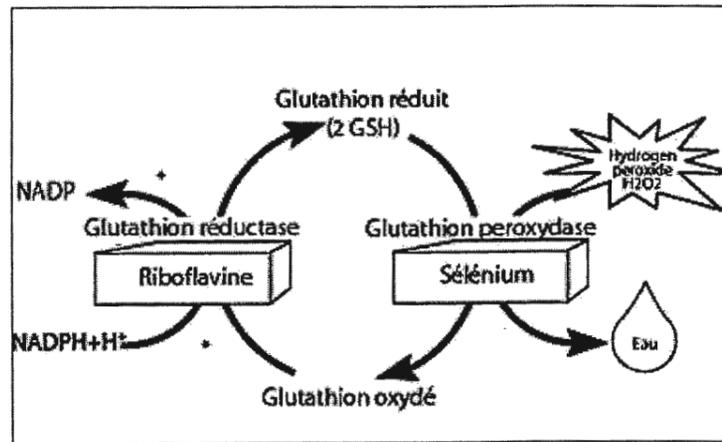


Figure 5 : Le cycle d'oxydoréduction du glutathion (Dulcire, 2002).

Tout comme la SOD, la glutathion peroxydase sélénio-dépendante se comportera de deux façons différentes face au stress oxydant : surexpression de l'enzyme dans un premier temps puis destruction si le stress oxydant perdure de manière permanente. Une diminution de l'activité de la GPx peut également provenir d'un apport alimentaire trop faible en sélénium.

La relation entre sélénium plasmatique et GPx érythrocytaire n'est significative que lorsque la teneur en sélénium est inférieure à $60 \mu\text{g/L}$. Au dessus de cette valeur, la relation montre un plateau, indiquant que les besoins de l'enzyme sont satisfaits (Neve et

al., 1989).

b) Le Système de Défense Secondaire :

ce système enzymatique a pour rôle d'éliminer les produits du premier système de détoxification tels que le GSSG.

B1) La Glutathion Réductase :

Cet enzyme catalyse la régénération du glutathion réduit, la flavonoprotéine glutathion réductase, dimère de sous unités de 50 kDa, qui est homologue de la ferredoxine-NADP⁺ réductase rencontrée dans la photosynthèse (Stryer, 2003).

Il catalyse la réaction suivante :



Le glutathion oxydé (GSSG) est réduit par le NADPH crée par la glucose 6-phosphate Déshydrogénase de la voie des pentoses phosphate (Figure 6).

B2) La Glutathion Transférase :

Système de réparation de l'ADN, donc le rôle des antioxydants ne se limite pas aux régulations de la production des espèces oxygénées actives, mais ils jouent un rôle important dans les mécanismes de régulation de l'expression des gènes impliquées ou non dans le stress oxydant (Pincemail et al., 1995).

I. 4. 2. Les Molécules Antiradicalaires:

Ce sont les molécules scavengers qui ont un pouvoir antioxydant tels que l' α -tocophérol (vitamine E), la vitamine C, l'acide urique, l'albumine, le glutathion et la bilirubine.

Les *scavengers* liposolubles, comme l' α -tocophérol (vitamine E), sont concentrés dans les membranes cellulaires où ils sont particulièrement efficaces pour limiter la peroxydation lipidique. Leur effet protecteur est principalement lié à leur capacité à céder un de leurs électrons pour arrêter la propagation radicalaire.

Dans les milieux hydrosolubles, de nombreuses molécules semblent avoir un pouvoir antioxydant. C'est notamment le cas de la vitamine C, de l'acide urique, de l'albumine et de la bilirubine. Dans la pratique, leur pouvoir de scavenger n'est pas toujours évident (Buettner, 1996 ; Herbert V et al., 1996).

Pour le glutathion qui est un tripeptide contient un groupe sulfhydrique, composée de trois acides aminés : la cystéine, l'acide glutamique et la glycine. Il existe dans une forme réduite (GSH) et dans une forme oxydée (GSSG), les deux étant en équilibre l'une avec l'autre, il est présent à des concentrations élevées (=5 mM) dans la cellule animale, protège les globules rouges d'une altération par oxydation en jouant un rôle de tampon sulfhydrique (Chawla, 1984).

I. 5. Les Marqueurs Biologiques du Stress Oxydant:

- La Peroxydation Lipidique:

Les acides gras polyinsaturés (RH) comme les acides linoléique ou arachidonique sont les cibles privilégiées des EOA et plus particulièrement des radicaux libres. Dans une première étape, ils se transforment en peroxydes lipidiques (ROOH) qui peuvent être mesurés au niveau plasmatique avec un kit commercial (Pincemail, 1999).

Les effets délétères des hydroperoxydes lipidiques, des radicaux libres auxquels ils donnent naissance en présence de complexes de métaux de transition, et ceux de leurs nombreux sous-produits électrophiles - aldéhydes et époxydes en particulier -(La malonedialdéhyde (MDA), le 4-hydroxynonéal (HNE)) l'éthane ou le pentane (Meagher, 2000) - sont bien documentés (Chaudière, 2000).

Pendant de nombreuses années, la détermination MDA par l'acide thiobarbiturique (TBARS méthode) a été utilisée pour évaluer *in vivo* la présence d'une peroxydation lipidique (Meagher, 2000). Ces sous produits peuvent être aussi mesurés par une méthode de chromatographie liquide à haute performance (HPLC) (Pincemail, 1999).

Les EOA peuvent aussi interagir directement avec les acides gras pour former de la 8-epi-prostaglandine (8-epi PGF_{2α}) appartenant à la famille des isoprostanes (Delantý, 1996). Celle-ci est produite dans le sang et puis ensuite excrétée dans l'urine où elle est dosée par spectrométrie de masse (Pincemail, 1999).

Les acides gras polyinsaturés sont aussi les constituants essentiels des LDL. L'oxydation des LDL est un processus particulièrement important dans le processus du développement de l'athérosclérose (Holvoet, 1998).

De façon générale, les patients à haut risque de développer des accidents cardiovasculaires (hypertension, hypercholestérolémie, obésité, dialysés rénaux) présentent des taux anormaux en LDL oxydées. La méthode de mesure spectrophotométrique des LDL oxydées basée sur la détermination des diènes conjugués est moins sensible et moins spécifique en comparaison aux méthodes immunologiques récemment développées (Holvoet et al., 1998).

Au début des années 90, des anticorps monoclonaux ont été mis au point dans les laboratoires de recherche pour mettre en évidence la présence de MDA et d'HNE dans les lipoprotéines oxydées (Pincemail, 1999).

Chapitre II

*Notion Générale sur la Biologie du Cancer et la
chimiothérapie*

II.1. Biologie du Cancer :

Maladie conduisant à une prolifération cellulaire anarchique du cancer qui s'oppose à la prolifération contrôlée, harmonieuse et plus souvent intermittente caractérisant les tissus normaux. Celle-ci n'a lieu que pour réparer les pertes cellulaires accidentelles par plaie ou agression et les pertes naturelles par vieillissement.

Le terme cancer recouvre un vaste ensemble de maladies, cataloguées selon les cellules et les tissus à partir desquels les cancer se forment. La tumeur développée dans un organe (tumeur primitive) va se greffer à distance sur d'autre organe (cerveau, poumon, foie.....)

En passant par la voie lymphatique ou sanguine, ces tumeurs secondaire qui reproduisent la structures de la tumeur mère, s'appellent des métastases (Larousse médical, 2006).

Le facteur déclenchant qui transforme une cellule normale en une cellule cancéreuse peut être chimique (constituant de la fumée de cigarette), physique (Rayonnement ionisant), ou biologique (infection virale). Il induit un déséquilibre entre deux sortes de gènes cellulaires les oncogènes (qui cause le cancer) et les gènes suppresseurs de tumeurs (qui s'opposent au cancer) (yaker, 1985).

Selon l'organe atteint, le cancer se manifeste par une grande variété de signes chimiques, un diagnostic plus précoce fondé essentiellement sur l'examen d'anatomie pathologique (biopsie) et par dosage de marqueurs tumoraux permet d'instituer un traitement plus efficace (chirurgie- radiothérapie, chimiothérapie et immunothérapie) (Domart & Bourneuf, 1988).

II.2. Diagnostics du Cancer:

La multiplicité du cancer et leur spécificité propre rendent difficile le dénombrement de tous les symptômes de la maladie néanmoins: une perte d'appétit, une fatigue intense, une perte de sang dans les selles ou par la bouche enfin des douleurs diverses sont des signes fonctionnels qui peuvent être associé à la présence d'un cancer.

Le diagnostic pose des problèmes aux médecins qui ne voient le patient qu'à un stade déjà avancé de la maladie parfois la maladie est décelée par hasard, au cours d'une visite médicale ou d'un examen de sang (Larousse médical, 2006).

Le diagnostic repose sur

II.2.1. Examen Clinique :

Utile au stade avancé : quatre signes majeurs: Anémie, Anorexie, Amaigrissement, Asthénie

II.2.2. Examen de Laboratoire :

Quelques marqueurs tumoraux recherchés dans le sang et dans les tissus [AFP, ACE, CA15, CA125].

II.2.3. Examen Radiologique :

- Examen simple du thorax
- Examen radiologique de l'estomac et du colon
- Examen radiologique des reins et de la vessie
- Examen de cholédoque et de la vésicule biliaire (Andrieu & Calonna, 1999).

II.2.4. Examen Anato- Pathologique:

Repose sur l'observation au microscope d'un prélèvement tissulaire (biopsie) (Arpet, 1994).

II.3. Traitement du Cancer :

Le traitement repose sur:

- La chirurgie:

Elle se propose d'extirper le processus cancéreux avec ses ramifications

- La radiothérapie:

Les radiations sur le tissu cancéreux provoquent une ionisation de la cellule, désorganisent son métabolisme, détruisent son noyau (Domart & Bourneuf, 1988)

- Chimiothérapie :

Traite le cancer par des substances chimiques spécifiques qui réduisent le rythme de multiplication des cellules cancéreuses (Maloine, 1981)

Les recherches actuelles s'orientent vers des méthodes thérapeutiques capables de redonner aux cellules cancéreuses des caractères normaux (traitement redifférenciant) et vers des traitements visant à bloquer les facteurs de croissance tumorale et la formation de néo-vaisseaux dans le tissu tumoral (thérapeutiques ciblées) (Larousse médical, 2006)

II.4. Chimiothérapie :**II.4.1. Objectif de la Chimiothérapie:**

Il s'agit d'un traitement général, diffusé dans tout l'organisme, qui a pour objectif de détruire les cellules malignes issues de la tumeur d'origine.

La chimiothérapie a longtemps été réservée au traitement des cancers à leur phase terminale, elle a pris place comme thérapeutique majeure à part entière. Le nombre de malades relevant de la chimiothérapie est chaque jour plus important car le cancer est devenu la maladie la plus fréquente (Serraimigni, 1985).

L'objectif de la chimiothérapie est d'obtenir une concentration suffisante de la substance cytotoxique dans la tumeur pendant une durée qui permet une efficacité maximale, c'est à dire la destruction du plus grand nombre possible des cellules tumorales et la sauvegarde du maximum des cellules normales (Schorderel, 1992).

***Poly Chimiothérapie Anticancéreuse :**

A quelques très rares exceptions près (chioriocarcinome cyclophosphamide et tymphome de Burkitt africain) l'emploi d'un seul médicament anticancéreux, malgré l'obtention de régressions tumorales spectaculaires voire complètes, ne permet pas d'obtenir de guérisons ou de rémissions durables de la tumeur réversible.

L'association de médicaments anticancéreux, initialement empirique est guidée surtout par le faible nombre de molécules disponibles, et active sur une tumeur donnée. Elle a permis d'augmenter la fréquence, l'importance et la durée des rémissions. La conception et la réalisation d'une poly chimiothérapie repose sur un bénéfice en terme d'indice thérapeutique par rapport à la mono chimiothérapie (Girroud, 1988).

II.4.2. Mécanisme D'action :

Les agents anticancéreux peuvent être schématiquement distingués en agent cytotoxique, responsables de mortalité, par des mécanisme très variés et souvent complexes, relatif à une modifications du comportement biologique.

Pour la très grand majorité de l'agent anticancéreux cytotoxique c'est une interaction directe ou indirecte avec l'ADN, qui sera responsable de la mort cellulaire.

Une interaction directe peut être caractérisée avec l'ADN purifié, d'autre stigmat de cette interaction directe ne sont caractérisés que sur l'ADN extrait des cellules prétraité par la molécule étudiée (Partan, 1999).

Les molécules responsables d'interaction directe avec l'ADN, sont certes avant tout active sur des cellules en phase de synthèse de l'ADN, mais l'interfèrent également avec sa transcription (en phase G1)

Les agents anticancéreux et/ou leurs métabolites peuvent également agir indirectement sur l'ADN en inhibant des réactions enzymatiques nécessaires à sa réplication où a sa transcription.

Enfin, il existe d'autres cibles cellulaires acides ribonucléiques (ARN) qui peuvent faire l'objet également d'une interaction directe ou indirecte, protéines en particulier enzyme du métabolisme énergétique et protéines du cytosquelette (Partan, 1999).

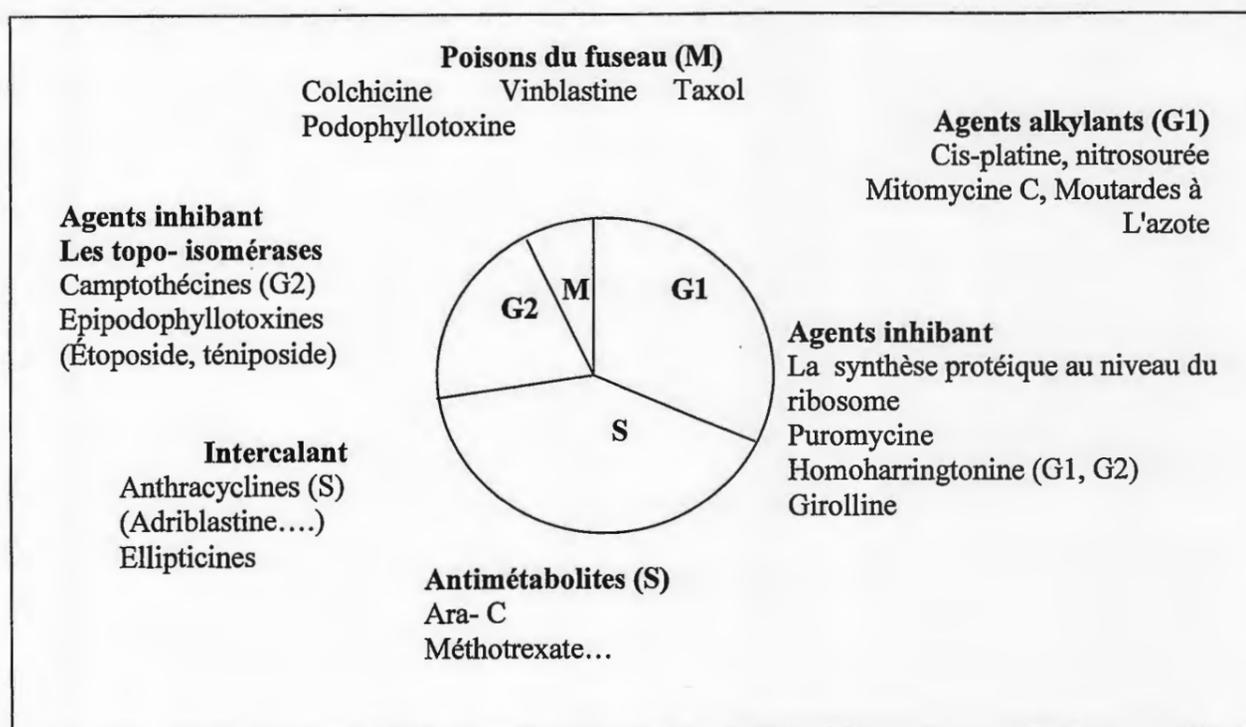


Figure 6: Cycle cellulaire et inhibiteurs (Thierry & Tortora, 1994)

II.4.3 Toxicité due aux Traitement Anticancéreux :

L'index thérapeutique de la majorité des agents anticancéreux reste faible et leur utilisation limitées par les toxicités aigue et chronique (Girroud, 1988).

A -Toxicité Aigues:

Ces toxicités en général réversible, s'observer de quelque heures a quelque jours est durant de quelque heures a 4-8 semaine après l'administration d'un médicament anticancéreux, leur incidence est leur sévérité sont souvent liées a la dose administrée et peuvent dépendre de manière important de la modalité d'administrations (Girroud, 1988).

B - Toxicité Chronique:

Ces toxicité manifestant qu'après plusieurs administration d'un au le plus souvent, de plusieurs médicaments anticancéreux, ce qui rend l'imputabilité à un agent particulier souvent difficile.

Le plus souvent ils existe une relation entre le risque de survenue d'une toxicité chronique et la dose antérieurement administrée du médicament anticancéreux en cause. (Girroud, 1988).

II.4.4. Classification des Médicament Anticancéreux :

Les substances cytotoxiques sont classées selon leur mécanisme d'action:

- inhibition de la synthèse de matériaux génétique (bases purique et pyrimidique)
- inhibition de la polymérisation génétique (réplication de l'ADN, transcription d'ADN et ARN)
- inhibition de la synthèse pratique ils sont classés dans cinq groupes :

- * intercalant (anthracycline)
- * alkylantes (nitro sourées)
- * antimétoles (methotexote)
- * poison de fuseau (bléonycine)
- * agents divers, Tableau I (schrderet et al., 1992).

Tableau I : Indique la classification du médicament anticancéreux (Schorderel et al, 1992)

familles	Médicament	Mécanisme d'action principale
Antibiotique	- actinomycine D - doxorubicine. - daumomycine.	Fixation sur l'ADN en empêchant le fonctionnement de l'ADN polymérase et ARN polymérase
Alkylants	Cyclophosphamide bisulfan CCNC, BCNU.	Fixation sur l' ADN en empêchant une impossibilité de réplication.
Agent divers	Hydroxyurée	Inhibition de la synthèse des nucléotides.
Poison du fuseau	Vincristine	Inhibition de tronscription a la dernière phase de cycle cellulaire
Antimétabolits	- 6 mercaptopurine. - méthotrexote. - Cytosine. - Arabinoside.	Empêchant la synthèse des bases puriques bloquent la synthèse de la déoxycytidine.

II.5. Les Anthracyclines :

L'ensemble des composés possédant un chromophore anthraquinonique relié à un aminosucre de type daunosamine constitue la classe des anthracyclines.

Les anthracyclines sont des aminoglycosides dont l'aglycone, une polyhydroxy-7,8,9,10-tetrahydrotétracène-5,12-dione, est fixée par liaison osidique, au niveau de l'hydroxyle en 10S, au 3-amino-2,3,6-trideoxy- α -L-lyxo-hexopyranose (Duval, 2003)

Malgré l'avènement de nouveaux médicaments anticancéreux et notamment les taxoïdes, les anthracyclines anti-tumorales figurent encore parmi les agents les plus communément employés en chimiothérapie anticancéreuse.

On peut distinguer deux séries dans cette classe :

* les composés 8-acétylés :

Comme la daunorubicine ou daunomycine –Figure 7

* les dérivés 8-(14-hydroxyacétylés) :

Comme la doxorubicine ou adriamycine –Figure 8

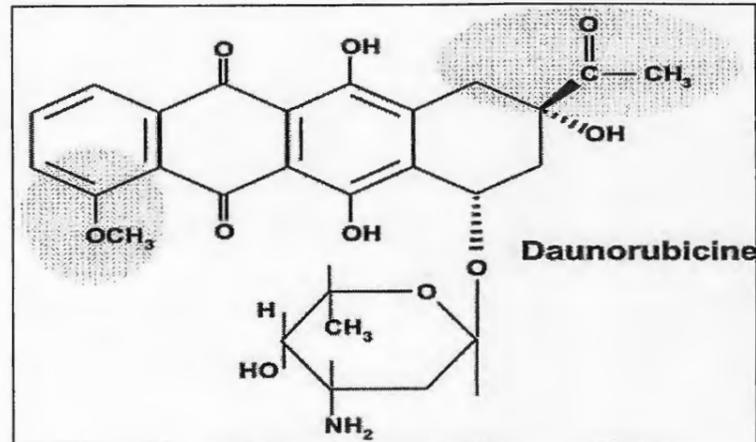


Figure 7: La structure de la daunorubicine (Heron, 2006)

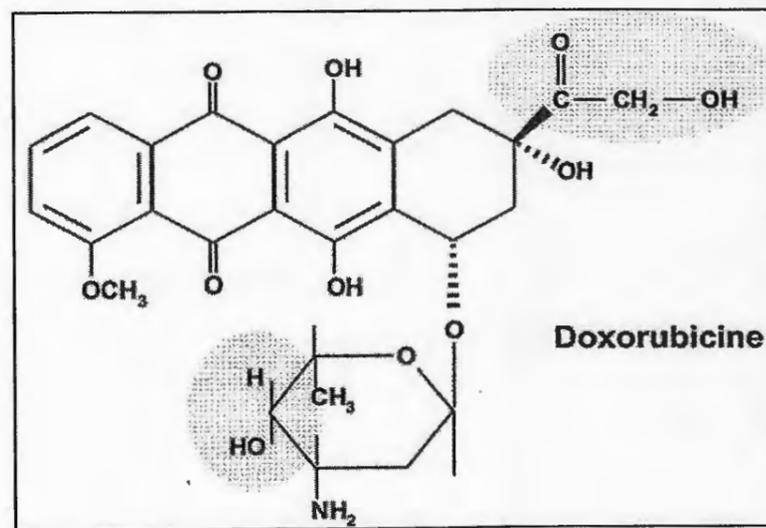


Figure 8: La structure de la doxorubicine (Heron, 2006)

*****LA Doxorubicine*******1- Formule Chimique**

La doxorubicine correspond au dérivé hydroxylé en 14 de la daunorubicine ; c'est l'hydroxydaunorubicine.

La doxorubicine fut commercialisée en 1971 .elle constitue un anticancéreux majeur possédant un spectre d'action très large (Duval, 2003)

2- Caractères physicochimiques :

Les divers chlorhydrates d'anthracyclines utilisées en thérapeutique se présentent sous forme de poudres orangées hygroscopiques et pratiquement inodores. Ils exercent un effet irritant sur la peau et les muqueuses.

Les composées a fonction amine primaire fournissent une réaction positive a la ninhydrine. La réaction à la liqueur de Fehling est négative.

Les solutions aqueuses de chlorhydrate de doxorubicine passe au jaune orangée à pH acide au rouge orangé à pH neutre et au bleu violet à pH 9 (Duval, 2003)

* Stabilité; le doxorubicine est stable, en solutions aqueuses acides entre pH 3,0 et 6,3 placées à l'obscurité à 4 C° pendant plusieurs jours. Ils sont très sensibles à la lumière.

L'exposition à la lumière provoque la dégradation des anthracyclines, disparition de fluorescence à 480 nm, s'accompagne d'une nette diminution de l'effet cytotoxique, cet effet est nettement accentué sur la doxorubicine en présence de la riboflavine. (Duval, 2003)

3- Mécanismes D'action :

Le mécanisme d'action des anthracyclines est multiple et bien que cette famille soit utilisée en thérapeutique depuis de nombreuses années, il est sujet à controverse.

Le tableau II résume les différents mécanismes qui conduisant à l'effet cytotoxique globale ou la principale cible de cette famille est l'ADN Tableau II (Duval, 2003)

Tableau II: Principales cibles et effets des anthracyclines (doxorubicine).

Mécanisme	Effet
*intercalation ente les paires de bases d'ADN ou d'ARN.	*inhibition de la réplication.
*liaison inter brin de l'ADN.	*inhibition de la réplication.
*formation du complexe clivable avec le topo isomérase II.	*cassures de un ou deux brins.
* formation de radicaux.	*destruction de macromolécules, d'ADN, ou d'ARN.
	Peroxydation lipidique.
*inhibition d'autres enzymes.	* inhibition de la synthèse d'ADN ou d'ARN, ou des enzymes de détoxification.
*action sur les membranes.	*modification des fonctions membranaires.

4-Pharmacologie:**a) Données Pharmacocinétiques :**

Les principaux paramètres pharmacocinétiques sont regroupés dans le Tableau III et IV (Duval, 2003).

Les anthracyclines sont diversement liées aux protéines plasmatiques : de 75% pour la doxorubicine et elles subissent une rapide distribution dans les tissus ; les concentrations tissulaires peuvent être jusqu'à 100-200 fois plus élevées qu'au niveau plasmatique. (Rebert, 1997)

Tableau III : Paramètres pharmacocinétiques du doxorubicine.

Clairance plasmatique L/H/m ²	t _{1/2} d'élimination α (min), β (h), γ (h)	Elimination % biliaire, %urinaire
30	5 ; 1 ; 30	≤45 % ; 10%

Tableau IV : Présentation, posologie et voie d'administration de la doxorubicine

Voie	Nom de spécialité de doxo	Présentation	Posologie
IV	Adriblastine	Lyophilisat 10.50.150 mg. Sol, inj, pour perfusion: -10mg / 5ml - 20 mg/ 10ml	-20 à 75 mg/m ² par cycles tous les 3 semaines. - 15 à 20 mg/m ² /j en perfusion de 96 h.

Le métabolisme et la biotransformation de doxorubicine:

La cinétique des anthracyclines est biotriphasique:

-leur métabolisation, essentiellement hépatique, s'effectue à 2 niveaux:

* réduction stéréospécifique du carbonyle en 13 en alcool.

- les composés obtenus comportent tous le suffixe "ol", cette réaction est catalysée par une enzyme cytoplasmique NADPH dépendant, l'aldocétoréductase. Ces métabolites sont en général très peu actifs.

* déglycosylation: elle est sous la dépendance de glycosidases microsomales présentes dans le réticulum endoplasmique.

Le clivage de liaison osidique et la réduction en présence de NADH, NADPH conduisant à une forme semie quinomiques convertie en absence de l'oxygène en 10 désoxyglycones.

* la conjugaison ; la formation de composés o-sulfatés et glucurocojugués de désoxyglycones a été décrite par TAKAKACHI et BACHUR en 1975, la conjugaison se produisant au niveau du phénol en 1 après déméthylation (Rebert, 1997)

5- Toxicité " Effets Indésirables " :

Outre les effets secondaires classiques rencontrés lors l'utilisation d'anticancéreux, les anthracyclines surtout la doxo possèdent une toxicité cardiaque importante (Duval, 2003)

parmi les effets secondaires en site:

- Hématologique: leucopénie, thrombopénie, anémie.
- Dégestive: nausées, vomissements, mucite.
- Locale: veinite.
- Alopécie
- Hypersensibilité au produit
- Cutanée: érythrodermie bulleuse.
- Hépatique

* En cas de cardiotoxicité, une étude réalisée sur des fraction cytosolique de myocarde prélevé chez l'homme, a mis en évidence que l'augmentation de la concentration de doxorubicine (de 05 à 50 puis 100 μm) multiplie les taux de doxorubicine par un facteur de 2,4 puis 62 et ceci aux dépens de la formation de l'aglycone et de déxoyaglycone. or il est établi que la doxorubicinol provoque une activation irréversible de l'enzyme qui régule l'homéostasie du fer myocardique, l'aconitase /IRP_1 et c'est donc essentiellement ce métabolite qui serait à l'origine de la cardiomyopathie chronique ,tandis que la toxicité aigue résulterait de l'activité oxydante des aglycones ;celles -ci, moins polaires que les molécules parent pénètrent plus facilement dans les mitochondries ou elles contribuent par leur structure quinonique à la décomposition de H₂O₂ en radicaux OH et donc au stress oxydatif . (Duval, 2003).

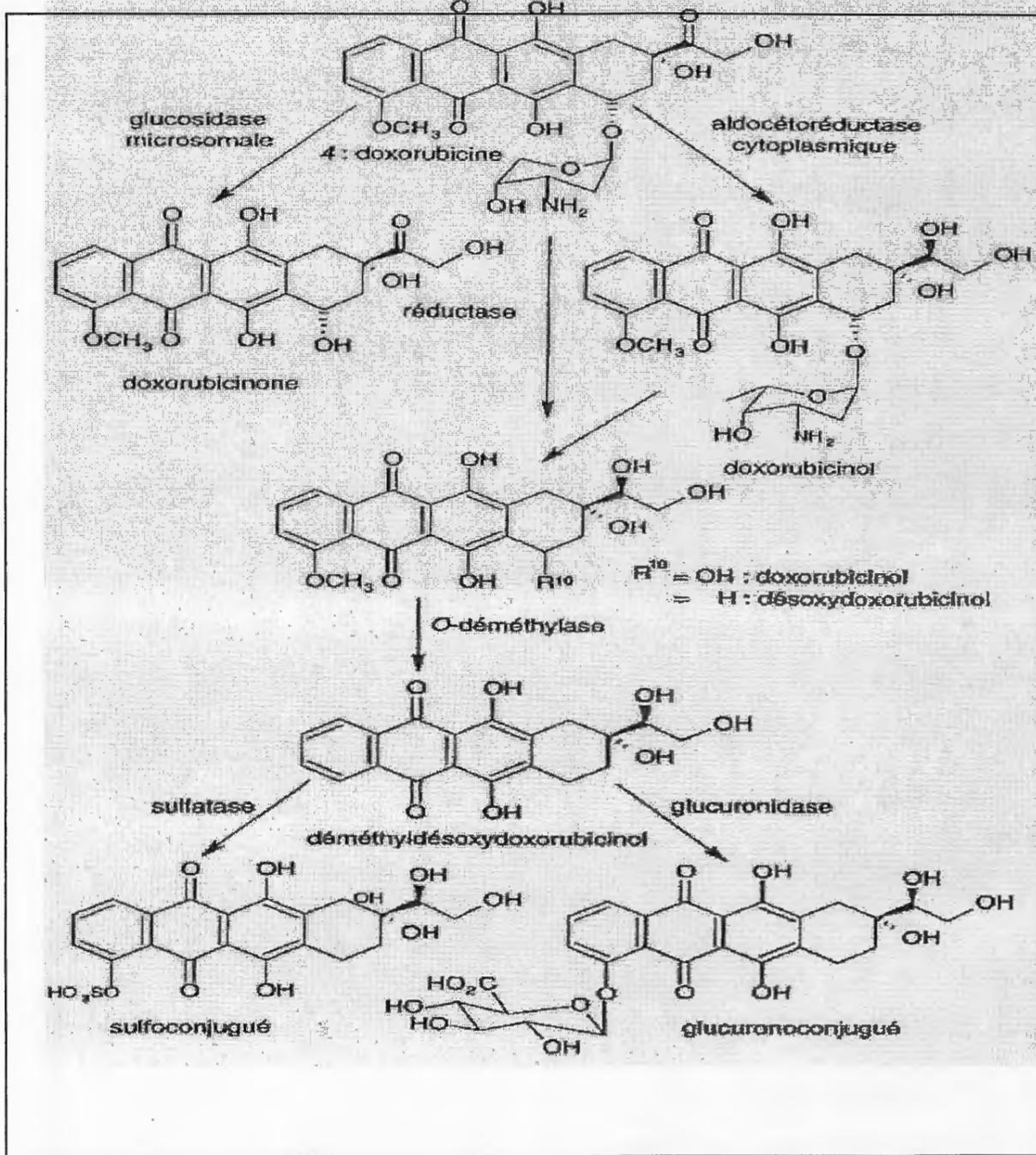


Figure 10 : Métabolisme hépatique de la doxorubicine (Rebert, 1997)

Chapitre III

PROPOLIS

III. Propolis :

III.1. Définition

Propolis, une médecine folklorique utilisée dans de divers maux de traitement, est un ensemble de substances résineuses, gommeuses et balsamiques récoltées par les abeilles sur les bourgeons de certains arbres et usines de consistance visqueuse (Castaldo et al, 2002), les abeilles peuvent en modifier la composition en apportant certaine de leurs sécrétions et de la cire. Il s'y rajoute aussi beaucoup d'impuretés liées à l'exploitation des ruches par l'apiculteur. La propolis devra donc être purifiée avant son utilisation (Bankova, 2005).



Figure 10 : L'abeille récolte la propolis

La propolis est un enduit dont les abeilles se servent pour colmater la ruche (Bogdanov, 1999) afin d'en assurer l'étanchéité et la solidité (Bankova, 2005).

Elle joue également un rôle hygiénique en créant une couche protectrice contre les invasions microbiennes ou fongiques. L'ouverture, nommée le "trou d'envol", qui se trouve à l'entrée de la ruche, est constamment ajustée et remodelée à l'aide de propolis afin d'adapter ses dimensions et son orientation en fonction des conditions climatiques. Ce passage constitue par la même occasion une sorte de chambre de stérilisation à l'entrée de la ruche, d'où le nom propolis qui signifie, en grec ancien, "devant" (pro) la (polis) (Bankova, 2005).

Dure et friable à 15° C, la propolis devient molle et malléable aux alentours de 30° C, puis collante ou gluante à des températures plus élevées. Sa couleur peut varier du jaune clair au brun très foncé, presque noire, en passant par toute une gamme de bruns suivant les types de résines recueillies par les ouvrières. Elle possède une saveur acre, voire amère, et dégage une odeur douceâtre liée aux résines aromatiques qu'elle renferme. On attribue généralement ses propriétés thérapeutiques (antiseptiques, antibactériennes et antioxydantes) à sa teneur en flavonoïdes (qui peut cependant varier beaucoup d'un produit à l'autre), notamment en pinocembrine, en galangine et en pinobanksine (Donadieu, 2006).

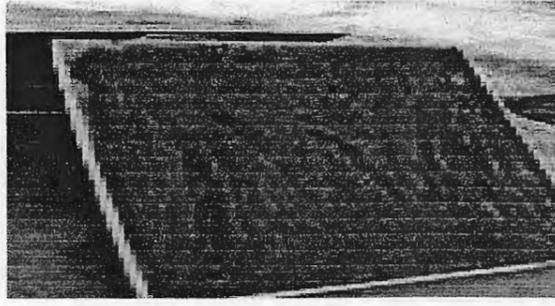


Figure 11 : Récolte de la propolis par l'homme

III. 2. Historique :

Comme tous les autres produits de la ruche, la propolis existe depuis que l'abeille est apparue sur terre il y a environ 50 à 60 millions d'années lors de la première période tertiaire (Castaldo et al., 2002).

Il a été employé dans la médecine folklorique des périodes antiques dans beaucoup de pays et intensivement étudié dans les pays de l'Est.

En Égypte, la propolis servit à l'embaumement. Elle était également connue des Grecs anciens puisque Aristote la présentait, dans son histoire des animaux, comme un «remède aux affections de la peau, plaies et suppurations». Elle connut un regain de popularité au XIX^e siècle lorsque les médecins de l'armée anglaise l'employèrent pour désinfecter les blessures et faciliter leur cicatrisation durant la guerre des boers en Afrique du sud (Bankova, 2005).

Ainsi, les usages courants en médecine humaine se sont transmis jusqu'à nos jours. Des recherches et de nombreuses études ont été réalisées depuis une trentaine d'années et des résultats plus que satisfaisants du monde scientifique (Guide pratique de l'apiculture, 1996).

L'homme utilise cette substance en médecine comme médicament naturel. La propolis est antibiotique naturel le plus puissant, jusqu'à aujourd'hui, nous sommes occupés de la qualité de la propolis surtout du point de vue de la contamination par des résidus d'acaricides (Bogdanov, 1999).

III. 3. La Composition Chimique

La propolis est un produit naturel et sa composition fortement variable selon l'origine. (Bogdanov, 1999). Il contient une variété de composés chimiques tels que des polyphénols (flavonoïdes, aglycones, acides phénoliques et leurs esters, aldéhydes phénoliques, alcool et cétones), des quinine, des coumarines, des stéroïdes, des acides aminés, le terpénoïde et des composés inorganiques (Pereira et al., 1996), mais sa

composition change qualitativement et quantitativement avec les origines géographiques et botaniques (Nieva et al., 2000).

Tableau V : Composition chimique de la Propolis et leurs effets .

Propriétés	Actions	Principales Molecules actives
Antiseptique Anti-bactérienne Anti-fongique Anti-viral	La propolis est une substance aux propriétés antiseptiques prédominantes, étendues à de nombreuses souches de micro-organismes bactériens, de moisissures et de levures. Anti-bactérienne : Elle agit par inhibition de la division cellulaire responsable de l'arrêt de croissance des germes et par désorganisation du cytoplasme, des membranes cytoplasmiques et cellulaires ainsi qu'une inhibition de la synthèse des protéines. Son activité concerne aussi les germes responsables des caries dentaires. Anti-fongique : Inhibition du développement des différents Candida, Torulopsis, Candida Albicans, Saccharomyces, Cryptococcus... Anti-viral : La propolis a une activité anti-herpétique et viroicide sur certains virus grippaux, A2 en particulier.	Flavonoïdes - Chryisine - Pinoembrine - Galangine
Régénératrice des tissus	Stimulation des processus de régénération	
Anti-inflammatoire	Stimulation des macrophages Inhibition de l'agrégation plaquettaire Inhibition de la synthèse des eicosanoïdes	Acides Phénols - Acide caféique - Acide férulique
Anesthésique	Diminution de la sensibilité cutanée	
Anti-oxydantes	Effet anti-radical libre vis-à-vis de différents types de radicaux oxygénés Activité supérieure à celle des vitamines C et E	

III. 4. Propriétés Pharmacologique et Biologique:

Le propolis possède un large spectre d'activités biologique elle été employé dans la médecine folklorique orientale comme agent: anti-inflammatoire (Wang, et al., 1993 ; Strehl et al., 1994) l'antibactérien (Kujumgiev et al., 1999 ; Kartal et al., 2003) , antivirales (Kujumgiev et al., 1999 ; Amoros et al., 1994) anticancéreuses (Ozukul et al., 2005 ; Matsuno et al., 1995), antifongiques (Kujumgiev et al., 1999 ; Murad et al.,

2002) ; et antitumoral (Ikeno et al., 1991) antioxydant (Hayashi et al., 1999), anticarcinogénique, ou immunomodulateur (Hayashi et al., 1999).

Pour cette raison, les propolis sont intensivement employées en nourritures et boissons pour améliorer la santé et empêcher les maladies telles que l'inflammation, le diabète, la maladie de cœur, et le cancer (Burdock, 1998 ; Banskota et al., 2001).

La propolis aussi peut être traitée quelque maladie telle que :

- Herpès génital (Vynograd et al, 2002).
- vaginite (Imhof et al, 2005).
- Gingivite, plaies et infection de la muqueuse buccale (Bruschi et al., 1999)
- Hygiène buccale et dentaire (Mahmoud et al, 1999)

Matériel et Méthodes

I. Matériel :**I.1. Matériel Biologique:****I.1.1. Entretien des Animaux :**

L'étude de l'effet préventif de L'extrait Hydro-éthanolique de la Propolis Jijelienne sur la toxicité des médicaments anticancéreux a été réalisée sur des souris femelle (Mus Musculus) albinos de souche NMRI dérivées de la souche Swiss, provenant de l'institut Pasteur (Alger).

Les 21 souris utilisées pour cette étude sont logées dans des cages respectant les dimensions : 42 cm de long x 31 cm de large x 16 cm de hauteur. Ces cages sont soumises aux conditions environnementales suivantes :

La température de 22°C à 25°C, la luminosité 12h / 24h et l'aération réalisée à l'aide de deux extracteurs.

Ces souris sont réparties en 3 lots chacun contenant 7 souris :

Le lot 1 : 7 souris témoins recevant de l'eau distillée.

Le lot 2 : 7 souris recevant une dose unique (5mg/kg : soit ½ de la DL₅₀) de la doxorubicine par voie intra-péritonéale

Le lot 3 : 7 souris prétraitées par l'extrait de propolis par voie orale à la dose de 100 mg/kg pendant 7 jours, et traitées par une dose unique de 5mg/kg (soit ½ de la DL₅₀) de la doxorubicine par voie intra-péritonéale au bout de sept jours de prétraitement.

I.1.2. Matériel et Réactifs Utilisés:*** Matériel :****■ - Matériel utilisée pour la préparation de l'extrait éthanolique de la propolis :**

- Rota vapeur
- Papier wattman

■ Matériel utilisée pour l'administration :

- Sonde de gavage
- seringue à 1 ml
- extrait éthanolique de la propolis
- cages de contention
- médicament (doxorubicine)

■ - Matériel utilisée pour la dissection et prélèvement du foie :

- Trouce de dissection
- Balance
- Plaque et épingles

■ - Matériel utilisée pour la séparation de la fraction mitochondriales :

- Tubes à hémolyse
- Micropipettes
- Epindorf
- Balance
- Broyeur de DOUNCE
- Centrifugeuse (sigma 6k 15 ; rotors 11150)

■ - Matériel utilisée pour les dosages et les mesures :

- Pipettes graduées et pipeteurs
- Spectrophotomètre (UV min 1240. UV- vis spectrophotomètre SHIMADZU)
- Tubes à essai
- Bain-marie
- Agitateurs Vortex



*** Réactifs et Consommables:****■ Pour l'Extraction de Propolis:**

- éthanol 95%.

■ Pour l'Isolement des Mitochondries du Foie:

- Tampon TSE (tris 20 mM, succrose 250 mM, EGTA 2 Mm, pH 7,2 à 4C°).
- Tampon TS (250 mM succrose, 50 mM tris, pH 7,2 à 20C°).
- Solution hypotonique (25mM KH₂PO₄, 5 mM MgCl₂, pH 7,2).

■ Pour la Mesure de l'Activité de la Catalase:

- K₂HPO₄, H₂O₂ 30%, KH₂PO₄, eau distillée.

■ Pour la Mesure de l'Activité de la SOD:

- Na₂HPO₄, NaOH, Riboflavine 2 x 10⁻⁶M, cyanide de sodium 2x 10⁻⁵M, NBT 1.67 10⁻⁴ M, Méthionine 10⁻² M, EDTA 6.6 x10⁻³ M, mélange chloroforme/ éthanol 3:5 v/v, solution isotonique saline 0.9 % Na Cl.

■ Pour le Dosage du MDA :

-Na Cl 0.9 % (0.2 mg/ml), Fe²⁺/Fe³⁺ (50µM /50µM), acide trichloracétique 3%, acide thiobarbiturique 1%.

II. Méthodes :**II. 1. Préparation de l'Extrait Ethanolique de la Propolis:**

L'extraction de la propolis se fait en trois étapes; la macération, la filtration, et l'évaporation.

* **la macération:** on coupe la propolis en petits morceaux et on les lave par l'éthanol pendant 2 heures. Puis on les laisse macérer dans l'éthanol 95% pendant 15 jours.

* **la filtration:** on enlève le macérât et on le met dans un entonnoir contenant un papier filtre et laisser filtrer dans un erlen.

***l'évaporation:** elle s'effectue dans un rotavapeur en utilisant le filtrat jusqu'à l'obtention d'une substance résineuse et élastique, qui est diluée par l'éthanol 70% de 1ml pour chaque gramme.

A partir de cette solution mère, on prépare une autre solution fille hydro-alcoolique de 10 mg/ml de concentration, utilisée pour le prétraitement des animaux.

II. 2. Administration du Médicament Anticancéreux (la Doxorubicine) :

Le médicament utilisé pour le traitement des souris est la doxorubicine (DOXOLEM RU®) qui appartient à la famille des anthracyclines. Ce médicament nous a été offert par le centre anticancéreux CAC du CHU Constantine et du Centre Pierre et Marie Curie du CHU Mustapha Bacha d'Alger.

II. 3. Sacrifice des Animaux :

Le sacrifice des animaux se fait au J3, J7, et J 14 après l'administration de médicament anticancéreux (la doxorubicine).

A la fin des délais d'administration, les animaux sont sacrifiés, le foie est prélevé et fragmenté dans le TSE pour la préparation de la suspension mitochondriale utilisée pour le dosage des paramètres mitochondriaux : MDA et enzymes antioxydants.

II. 4. Isolement des Mitochondries Hépatiques :

L'extraction des mitochondries se fait selon la méthode décrite par Rustin et al en (1989). Il s'agit d'une centrifugation différentielle.

1 g de foie est prélevé et coupés finement dans du tampon TSE. Les particules coupées sont ensuite lavées deux fois dans le même tampon et potérisées dans un potter de DOUNCE, avec 3 ml de TSE, ce qui permet la destruction des cellules et la libération des mitochondries.

L'homogénat récupéré est centrifugé une première fois à 1770 rpm pendant 10 min (centrifugeuse Sigma 6K15) permettant ainsi l'élimination des gros débris cellulaires. Le surnageant issu de cette centrifugation est centrifugé une deuxième fois à 9600 rpm pendant 10 min à 4°C et le culot obtenu est resuspendu dans 1.5 ml du TSE et centrifugé à 9600 rpm pendant 10 min. Le culot issu de cette centrifugation est suspendu dans 1.5 ml du tampon TS et centrifugé pendant 10 min à 9600 rpm. Le culot final constituant les mitochondries, est subdivisé en deux fractions égales : la première est reprise dans du TS pour obtenir la suspension mitochondriale servira pour le dosage du MDA et la seconde reprise dans la solution hypotonique qui servira aux mesures enzymatiques. Le protocole d'extraction des mitochondries hépatiques est présenté dans les figures ci-dessous : (Figure 1 et Figure 2).

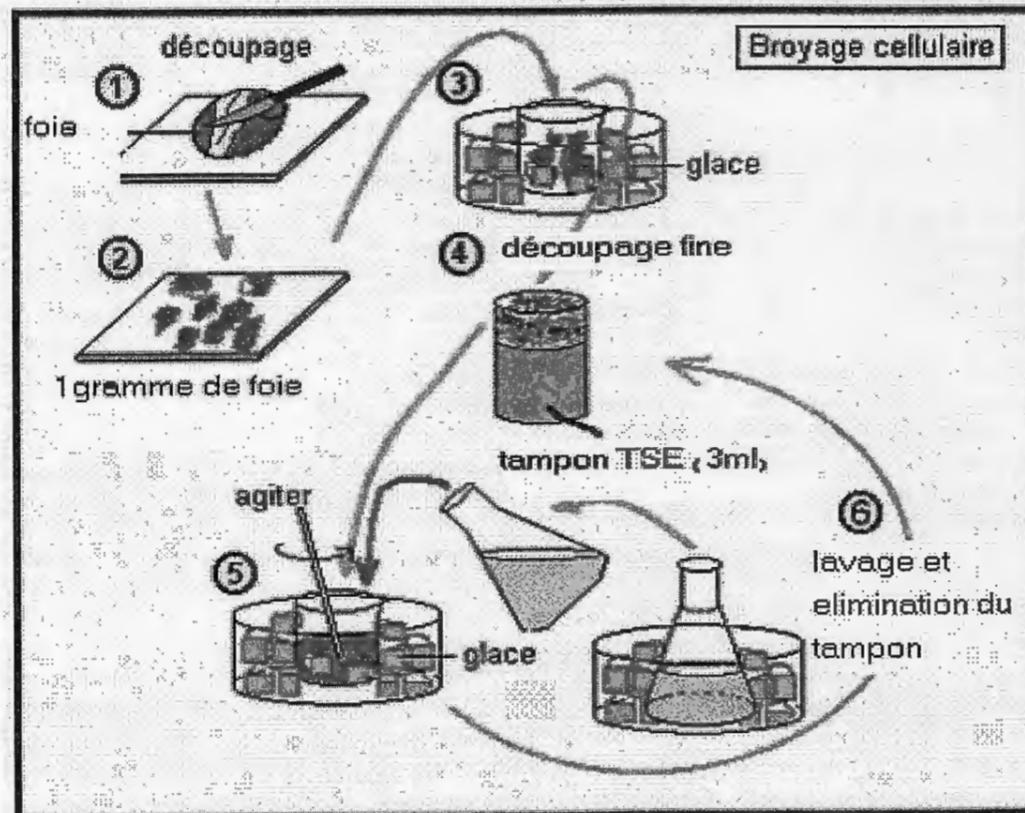


Figure 1 : Le broyage cellulaire du foie

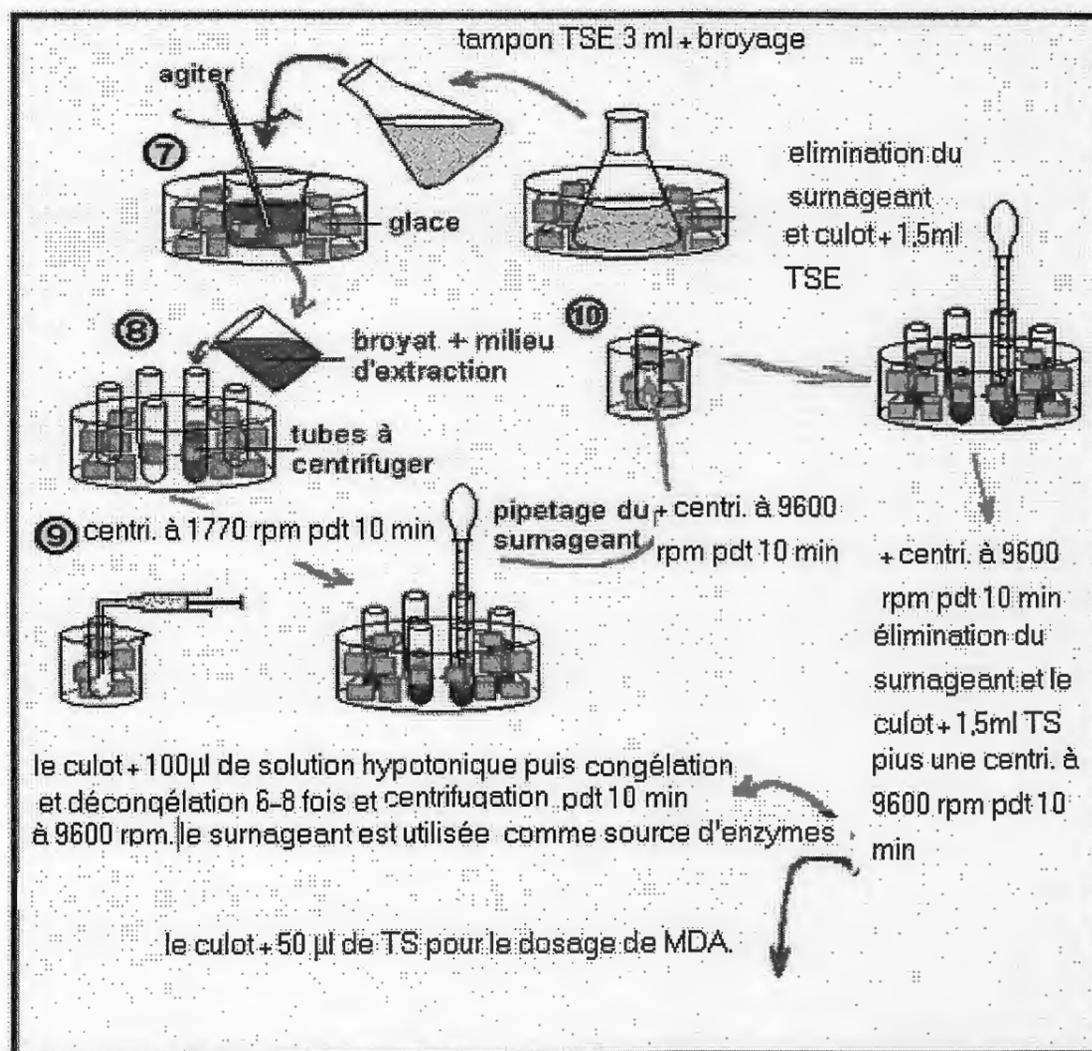


Figure 2 : L'extraction des mitochondries hépatiques .

II. 5. L'évaluation de L'activité Antioxydant sur les Mitochondries et les Cellules Hépatiques :

A) L'évaluation de L'activité Enzymatique Antioxydant e:

* Dosage des Protéines:

Les protéines sont dosées selon la méthode de lowry. (Lowry, 1953)

a- Réactifs Utilisés:

Un tampon TS à PH 7,2 à 4°C est préparé en utilisant:

Le Tris 0,6g et Succrose 42,8g en réglant le PH à 7, 2 avec Na Cl et HCL.

b- Mode Opérateur :**Tableau I : Préparation du premier mélange**

Fraction mitochondriale	5µl
TS (pH 7,2) Q.S.P 500 ml.	45µl

Tableau II : Dosage des protéines

1 ^{er} mélange (µl)	20
TS µl	990 x 2

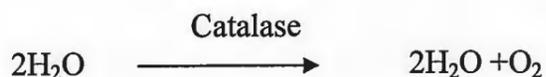
TS (µl)	20
Na Cl (µl)	990 x 2

La lecture de la densité optique à 340 nm au spectrophotomètre donne contre un blanc préparé dans les mêmes conditions en remplaçant le mélange par le TS: DO1, DO2, et DO3, correspondant à la lecture du même échantillon préparé trois fois. La concentration de protéine mitochondriale est calculée selon la formule ; (Lowry et al., 1953).

$$\frac{\text{DO moyenne} \times 1000}{0.0096} \times \frac{1}{1000} = () \text{ mg / ml}$$

*** L'activité de la Catalase :****a- Principe**

La détermination de l'activité de la catalase dépend des changements d'absorbance résultant de la décomposition d' H₂O₂ par la catalase.



Cette variation est mesurée à 240 nm (Clailorne, 1985).

b- Réactifs Utilisés :

Tampon phosphate potassium:0,1M, PH=7,4
H₂O₂=19mmol/l

c- Mode Opérateur :

Préparation du tampon phosphate potassium (0,1 M, PH =7,4)-
14,98g de K₂ HPO₄ sont dilués dans 1000ml d'eau distillée le PH est ajusté par une solution de 13g K₂ HPO₄ dilués dans 1000ml d'eau distillée.

Mesure l'activité de la catalase:

Dans une cuve en quartz de 3ml préparer la solution de mesure suivant les volumes donnés dans le tableau III

Tableau III: Activité de la catalase

Fraction mitochondriale (µl)	100
Solution H ₂ O ₂ préparée dans le tampon phosphate (ml)	2,9

La lecture de la densité optique à 240 nm chaque minute pendant 3minute le blanc et préparé dans les mêmes conditions en remplaçant la fraction mitochondriale par 100 µl d'eau distillée .l' activité enzymatique de la catalase est exprimée, en unité/mg de protéine.

Une unité de l'activité de la catalase est calculée par la formule:

$$T = \frac{2.303}{T} \log \frac{A_1}{A_2} \quad (\text{UI mg protéine})$$

Ou :

T: l'intervalle de temps par min

A₁: absorbance à t =0

A.: absorption à t =1 min

*** L'activité de SOD :****a- Principe :**

La détermination de l'activité de la superoxyde dismutase dépend de la capacité de l'enzyme à inhiber la réduction du NBT. L'inhibition de la formation de formazan par les superoxyde produit par la réaction de la riboflavine et l'oxygène.

Riboflavine + oxygène $\xrightarrow{\text{Photo réaction}}$ Supéroxyde (O₂)

Supéroxyde + NBT $\xrightarrow{\text{SOD}}$ formazan (Beauchamp & Fridovich, 1971)

b- Réactifs Utilisés**Tableau IV : Réactif utilisés dans la mesure d'activité de la SOD**

Réactif	La molarité
Cyanide de sodium(M)	2 x 10 ⁻⁵
Méthionine (M)	10 ⁻²
EDTA (M)	6.6 x 10 ⁻³
NBT (M)	1.67 x 10 ⁻²
Riboflavine (M)	2 x 10 ⁻⁶

c- Mode opératoire :

La préparation du mélange réactionnel qui servira à la mesure de l'activité de la SOD se fait comme suit :

0.1ml de cyanide de sodium ,1 ml de méthionine, 1 ml de l'EDTA ,0.1 ml de la solution du NBT et 0.1 ml de riboflavine, le mélange est complété à 10 ml par le phosphate dilué.

Tableau V: Activité de la SOD

Fraction mitochondriale	5 µl
Mélange réactionnel	2 ml

La solution ainsi préparée est exposée à une source lumineuse. La lecture de la DO à 560 nm en utilisant le spectrophotomètre.

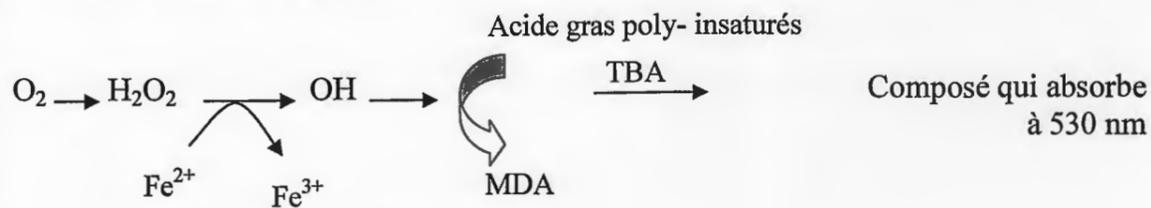
Une unité de l'activité du SOD est définie comme étant une valeur représentant l'enzyme causant 50% de l'inhibition de la formazan observé.

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{\text{DO Blanc} - \text{DO Echantillon}}{\text{DO Blanc}} \times 100$$

$$\text{SOD (UI/ml)} = \% \text{ inhibition} \times 6.35$$

B) L'évaluation des marqueurs biologiques:*** Le dosage de MDA mitochondriales :****1. Principe:**

Pour le dosage du MDA mitochondrial nous avons utilisé la méthode décrite par (Zini et al.,1999) *in vitro*, la peroxydation lipidique des membranes mitochondriales est induite par le $\text{FeCl}_2/\text{FeCl}_3$ dont le Principe est l'induction des réactions de Fenton et la formation du radical hydroxyles qui attaque les acides gras poly-insaturés. Le MDA formé en présence de deux molécules de TBA et à chaud, Donne un complexe rose qui absorbe à 530 nm, comme la réaction suivante:

**2. Méthode:**

La méthode de dosage de taux de MDA mitochondriale est représentée dans le tableau suivant:

Tableau VI : Dosage de MDA.

	Blanc	Mesure
NaCl (0,9 %)	1000 µL	200 µL
Mitochondrie (TS° en suspension Na cl (0.2mg/ml))	-----	800 µL
Incubation à 37°C pendant 30 minutes		
Fecl2 /Fecl3	-----	-----
Incubation à 37°C pendant 30 minutes		
TCA (3%)	1 ml	1ml
Agitation puis centrifugation pendant 15mn à 3000 tours/minute		
TCA (1%)	1ml	1ml
Surnageant	1 ml	1 ml
Incubation à 95°C pendant 30 minutes puis refroidir		

La lecture des DO à 530nm en utilisant un spectrophotomètre.

Le calcul de la concentration du MDA se fait selon la relation suivante:

$$[\text{MDA}] (\mu\text{M}) = \text{DO} / 0.0184.$$

Résultats

RESULTATS ET INTERPRETATIONS :

Cette étude est mise en évidence l'effet des flavonoides de l'extrait hydro-éthanolique de la propolis sur le stress oxydatif mitochondrial induit par la doxorubicine.

Pour cette raison, on utilise 21 souris répartissent dans 3 lots, chacun contenant 7 souris de poids différents :

Lot 1 : lot témoin

Lot 2 : lot traité par la doxorubicine seule.

Lot 3 : lot prétraité par l'extrait hydro-éthanolique de la propolis pendant 7 jours et dans le 8^{ème} jour reçoit la doxorubicine.

Après l'administration de la doxorubicine pour les lots 2 et 3 (jour 1= J1), on observe dès ce traitement une faiblesse chez la souris de lot 2 et 3 par rapport au lot 1 (témoin).

I. Surveillances Pondérales et Alimentaire des Animaux :

Après chaque sacrifice d'une souris, on pèse leur foie ; les poids du foie ont présentées dans le tableau VIII suivant :

Tableau VIII : Poids des foies et poids corporels des souris sacrifiées.

	Lots	Poids des souris (g)	Poids du foie (g)	Rapport PF/PC
Premier sacrifice	Lot 1	36.71	2.23	0.06
	Lot 2	34.67	2.36	0.068
	Lot 3	27.12	1.86	0.068
Deuxième sacrifice	Lot 2	33.11	1.77	0.053
	Lot 3	31.7	1.91	0.06
Troisième sacrifice	Lot 2	33.07	1.84	0.055
	Lot 3	28.81	1.79	0.062

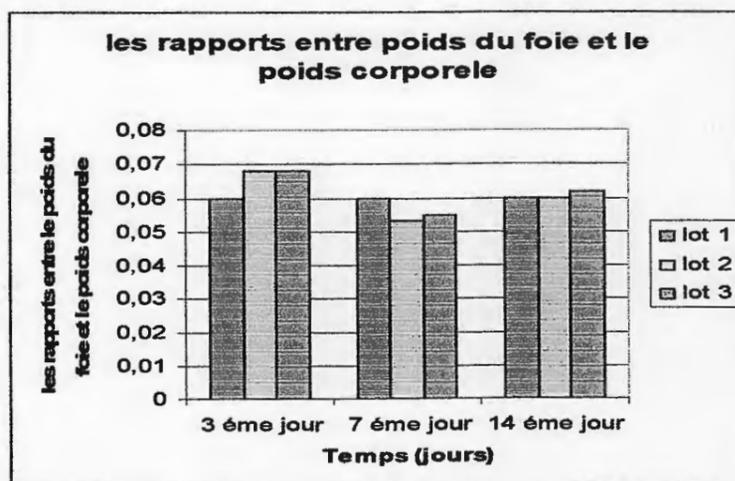


Figure 3 : Comparaison des rapports poids du foie / poids corporel chez les souris des 3 lots

La figure 3 montre les variations du rapport PF/PC ou on enregistre une augmentation de ce rapport chez les souris traitées soit par l'extrait de la propolis + doxorubicine ou doxorubicine seule dans le premier sacrifice (0.068); puis il y a une diminution de ce rapport a (0.053 ; 0.06) pour les lots 2 et 3 respectivement dans le deuxième sacrifice, par contre dans le troisième sacrifice une autre augmentation (0.062) pour le lot 3 et une diminution (0.055) pour le lot 2.

La surveillance des souris a été effectuée chaque jour par la mesure des poids des souris (Annexe II) et des aliments consommés. Les résultats des pesées des souri est représentées dan le tableau IX et la figure 4:

Tableau IX : Variation des poids des souris au cours de l'étude expérimentale.

	Semaine 1	Semaine 2	Semaine 3	Semaine 4
LOT 1	33.67 ± 2.54	34.16 ± 2.8	34.46 ± 2.27	33.62 ± 2.06
LOT 2	33.36 ± 2.21	33.66 ± 1.61	32.86 ± 1.79	32.02 ± 2.00
LOT 3	29.85 ± 1.98	30.38 ± 3.08	28.89 ± 2.12	30.4 ± 3.36

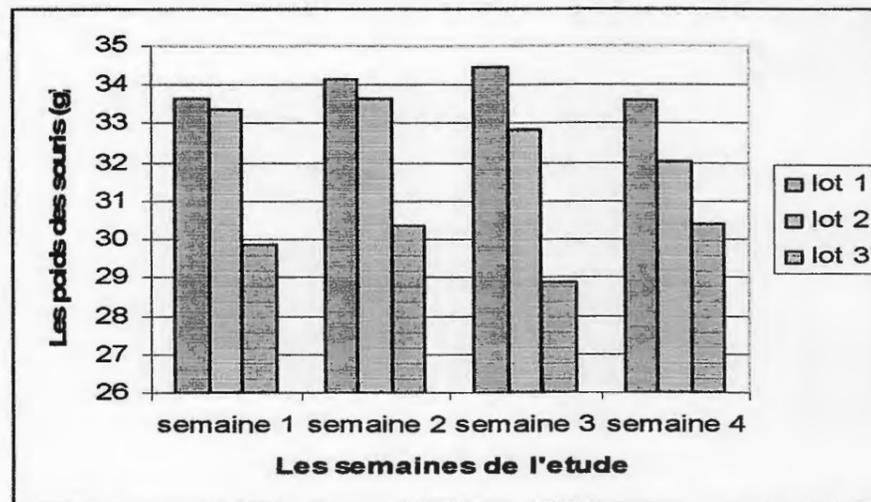


Figure 4 : Les variations de poids des souris au cours de l'étude expérimentale

La figure 4 présente le poids des souris au cours de l'étude expérimentale ou on observe une croissance de poids chez les souris du lot 1 par contre d'une diminution de poids chez les autres animaux de lot 2 alors que le lot 3 enregistre une petite augmentation au cours de prétraitement par la propolis.

II. L'évaluation des Activités Enzymatiques Antioxydants Mitochondriales Hépatiques:

Les variations des activités des enzymes antioxydants comme SOD et Catalase mitochondriales peut montrer l'effet de l'extrait hydro éthanolique de la propolis sur le stress oxydatif.

II.1. Mesure de l'Activité du SOD Mitochondriale :

Les variations de l'activité de la SOD mitochondriale sous l'effet soit du traitement de la doxorubicine seule, soit par l'association avec l'extrait hydro éthanolique de la propolis sont présentées dans la figure 5 et tableau X.

Tableau X : Les résultats de mesure de l'activité de la SOD mitochondriale

Activité de la SOD (UI/ mg de protéines).	3 ^{ème} jour	7 ^{ème} jour	14 ^{ème} jour
Lot 1	24.95 ± 4.67	24,59 ± 4.67	24,59 ± 4.67
Lot 2	93,29 ± 12.89	70,91 ± 8.57	20,095 ± 0.063
Lot 3	259,72 ± 96.02	68,66 ± 13.01	34,855 ± 11.68

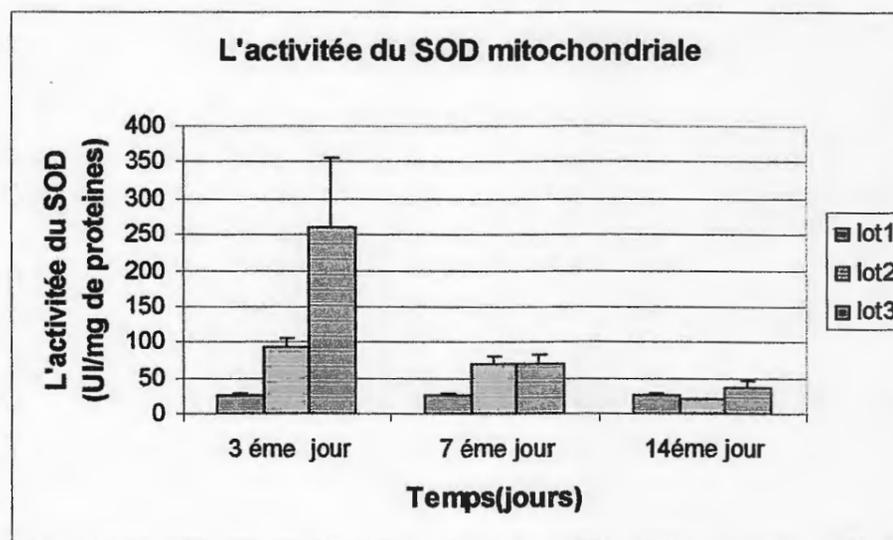


Figure 5 : les variations de l'activité de la SOD.

La figure 5 illustre les variations de l'activité enzymatiques de la SOD chez les témoins et traitées, une augmentation de cette activité (940.96 %) relevée chez les souris du lot 3 (extrait éthanolique de la propolis + doxorubicine) contre 273.9% pour celle des souris du lot 2 (doxorubicine) aux 3^{ème} et 7^{ème} jours après le traitement, par rapport au témoins par un pourcentage de 185.65% et 175.47% respectivement, cependant, cette activité diminue

au 14^{ème} jour 18.28% par rapport au témoin alors que l'activité du 3^{ème} lot reste élevé environ 41.14%.

II.2. Mesure de l'Activité de la Catalase Mitochondriale :

La figure 6 et le tableau XI présente les résultats de mesure de l'activité de la Catalase mitochondriale sous l'effet soit du traitement de la doxorubicine seule, soit par l'association avec de l'extrait hydro éthanolique de la propolis.

Tableau XI : Les résultats de mesure de l'activité du Catalase.

Activité du Catalase (UI/mg de protéines).	3 ^{ème} jour	7 ^{ème} jour	14 ^{ème} jour
Lot 1	0,92 ± 0.69	0,92 ± 0.69	0,92 ± 0.69
Lot 2	0,395 ± 0.02	2,913 ± 1.1	1,245 ± 0.02
Lot 3	0,222 ± 0.03	3,354 ± 0.416	1,29 ± 0.89

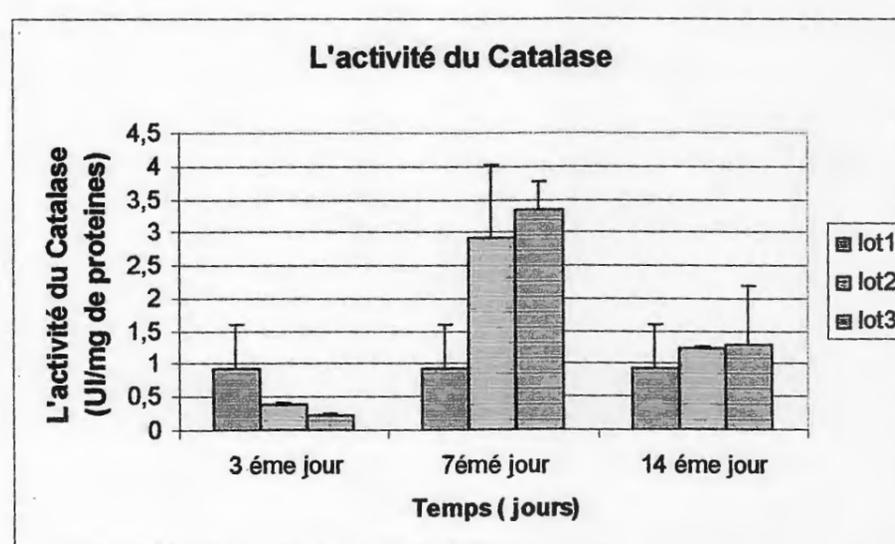


Figure 6 : Les variations de l'activité de la Catalase

Les résultats montrent les variations de l'activité de la Catalase chez les témoins et le traité, une diminution de cette activité est presque de 57.06% pour les souris du lot 2 (doxorubicine) aussi qu'une diminution de 75.87% chez les souris du lot 3 par rapport aux témoins, mais dans le deuxième sacrifice Il y a une forte augmentation de cette activité chez les souris du lot 2 (doxorubicine) et lot 3 (extrait de la propolis + Doxorubicine) par un pourcentage de 216.63% et 264.56% respectivement cette augmentation et diminue à 35.32% et 40.21% pour les souris du lot 2 et 3.

III. L'évaluation des Marqueurs Biologiques :

*** L'évaluation du Taux de MDA :(La Peroxydation Lipidique) :**

Les variations de la concentration du MDA mitochondrial sous l'effet soit du traitement de la doxorubicine seule, soit par l'association avec de l'extrait hydro éthanolique de la propolis sont présentées dans la figure 7 et le tableau XII.

Tableau XII : Les résultats de dosage de MDA mitochondriale.

Les concentrations de MDA (μ M)	3 ^{ème} jour	7 ^{ème} jour	14 ^{ème} jour
Lot 1	4.21 ± 0.01	4.37 ± 0.01	4.29 ± 0.11
Lot 2	3.24 ± 0.82	3.91 ± 1.45	3.93 ± 3.23
Lot 3	3.28 ± 0.19	3.7 ± 2.16	4.27 ± 2.36

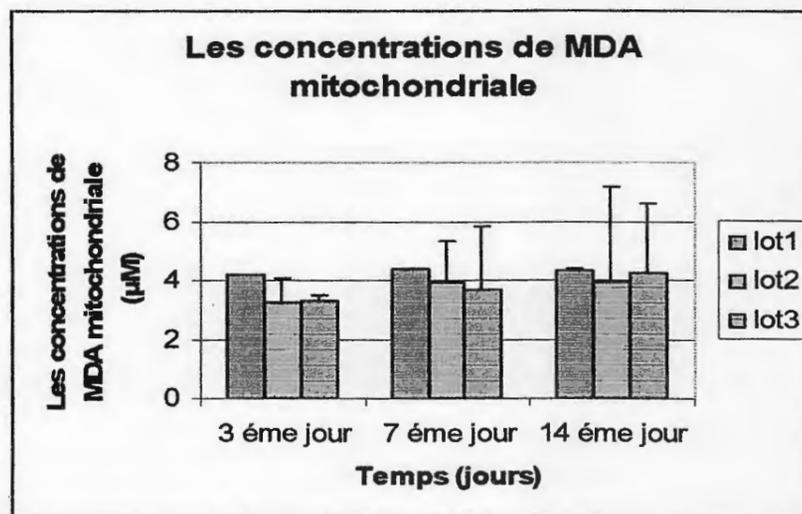


Figure 7 : Les variations de concentrations de MDA mitochondriale

Les résultats montrent les variations du taux de MDA chez les lots témoins et traités, on observe une diminution de 23.04% et 22.09% du taux du MDA des lots 2 et 3 par rapport aux témoins au 3^{ème} jour après le traitement, cette diminution de l'ordre de 10.52% ; 15.33 % chez les lots 2 et 3 est observée aux 7^{ème} et 14^{ème} jours d'environ 8.39% et 0.46% lot 2 et 3 respectivement par rapport aux témoins

Discussion

DISCUSSION

Plusieurs agents endogènes ou exogènes peuvent provoquer l'état de stress oxydatif qui est défini comme étant un déséquilibre de la balance anti-oxydante pro-oxydante. Le métabolisme des médicaments anticancéreux constitue un facteur exogène type conduisant à ces déséquilibres au niveau hépatique (Coogh et al., 1990) par la production des espèces réactives de l'oxygène.

La chaîne respiratoire mitochondriale produit en permanence des entités qui sont potentiellement toxiques pour l'organisme, car elles peuvent inactiver les protéines, induire des cassures au sein de l'ADN et initier les processus de la peroxydation lipidique (Pincemail, 1998).

La protection des fonctions mitochondriales constitue le souci des recherches pharmacologiques actuelles, visant à protéger les tissus contre les dégâts oxydatifs.

Afin de prévenir les maladies provoquées par les radicaux libres, de limiter leurs effets toxiques et de protéger les fonctions mitochondriales, différentes substances anti-oxydantes sont actuellement utilisées, en particulier les flavonoïdes.

L'étude de la propolis a éveillé l'activité des nombreux chercheurs, car elle est riche en propriétés thérapeutiques, activités antibactérienne, anti-cancérogène, antioxydants (Bonkova, 2002)

L'objectif de notre travail expérimental, réalisé sur des souris Albinos de souche NMRI, réside dans la détermination de l'effet préventif des flavonoïdes de l'extrait hydro-alcoolique de la propolis contre le stress oxydatif et l'inhibition de la peroxydation lipidique, induits par la doxorubicine (médicament anticancéreux).

Les souris sont réparties en 3 lots contenant 7 souris. Chacun Un lot témoin, un lot traité par une dose unique de 5mg/kg de doxorubicine et le troisième lot traité par la même dose de doxorubicine après un prétraitement de 7 jours étalée une durée de 5 semaines de prétraitement par l'extrait de la propolis à la dose de (100mg/kg).

Notre étude est établie sur un mois, nous avons programmés des sacrifices des animaux du 3^{ème}, 7^{ème} et 14^{ème} jour après le traitement par le médicament.

Après l'administration de la doxorubicine, nous n'avons pas relevé de mortalité des souris des lots 2 et 3. L'absence de la mortalité est expliquée par sa tolérance à la dose administrée (5mg/kg) qui représente la moitié de la DL50.

Les souris des différents lots ont été pesées avant le traitement (Tableau IX, Figure 4) et quotidiennement. Les moyennes des poids corporels dans chaque lot (Tableau IX, Figure 4) montrent une croissance dans les lots témoins (lot 1) contre une diminution des poids relative chez les lots traités par la doxorubicine seule. Cette diminution des poids est due à une anorexie chez les animaux. Dans le lot 3, on enregistre une croissance lente de poids pendant la semaine de prétraitement, et une décroissance après le traitement par rapport au témoins cela est expliqué par l'effet indésirable de la doxorubicine (anorexie) soit chez les lots prétraités par la propolis ou non (lot 3 et 2).

Le rapport poids du foie / poids corporels pour le lot 2, et le lot 3 prétraité par l'extrait de la propolis est supérieur à celui du lot témoin dans le 3^{ème} jours après le traitement exprimant des atteintes hépatiques tissulaires, après le 7^{ème} jour de cette atteinte hépatique est diminuée chez le lot prétraité, ce résultat est expliqué par la capacité des flavonoïdes de la propolis à diminuer la toxicité hépatique provoquée par le médicament.

Pour protéger ses tissus contre toute agression radicalaire, l'organisme humain possède des systèmes enzymatiques tel que les superoxydes dismutases et la Catalase qui jouent un rôle de protection, ainsi que la glutathion peroxydase (GPx) qui joue un rôle de détoxification (Avissor et al., 1989).

La Mn/SOD (mitochondriale) et Cu-Zn/SOD (cytosolique) catalysent la dismutation de l'anion superoxyde (O_2^-) en H_2O_2 et O_2 . Les résultats de l'activité de la SOD mitochondrial chez le lot témoin et traité par le médicament seul, ou prétraité par l'extrait de la propolis (Tableau X, Figure 5) ont montrés une augmentation de l'activité chez tous les animaux soit un pourcentage de plus de 100 % par rapport au témoin. Cette augmentation est remarqué 3 jours après le traitement montre que la SOD est le premier mécanisme de défense contre l'effet des ions superoxydes sur la mitochondrie et d'autres organes cellulaires (Berthoin, 2000); également nous avons remarqué une réduction de l'activité enzymatique chez le lot traité par le médicament seul au cours de temps. Cette réduction est peut être due à la destruction du SOD suite au stress oxydatif induit par les métabolites toxiques du médicament ou encore à son oxydation par les ROS (Huang et al., 1997). Ces

résultats sont en accord avec ceux de plusieurs études montrant la réduction de l'activité enzymatique antioxydant lors d'un stress oxydatif (Kanwaljit et al., 2005 ; Bansal et al., 2001), mais l'activité de SOD dans le lot 3 pendant 7 jours est plus importante par rapport au témoin et le lot 2. L'explication possible de ces résultats et l'activation de l'enzyme par les principes actifs de la propolis, ainsi que les flavonoïdes peuvent donner des métabolites plus actifs que les principes actifs administrés car elles subissent des conversions métaboliques pendant leur absorption par les cellules intestinales avant d'atteindre le foie et la circulation sanguine (Da Silva et al., 1989 ; Kumazawa et al., 2004).

D'autres études réalisées sur les rats albinos montrent qu'après prétraitement prolongé (2mois) par l'extrait éthanolique de la propolis à (100 mg/kg/j) suivi d'une dose de doxorubicine (10 mg/kg) l'activité des enzymes de détoxification sont augmenté significativement.

La Catalase est le principal enzyme impliqué dans la réduction de peroxyde d'hydrogène formé par la dismutation de radical superoxyde par la SOD en oxygène et en eau.

L'activité de la catalase présente une augmentation chez les animaux traité après le 7^{ème} jour de traitement, avec une activité plus importante dans le lot 2, cette activation de la Catalase est forcément due à une forte production de peroxyde d'hydrogène principal substrat de la Catalase (Marfak, 2003) relative à un stress oxydatif induit par le médicament, après le 3^{ème} jours du traitement l'activité du Catalase est faible, alors que au même temps l'activité de SOD est maximale. D'après ces résultats, on constate qu'il y a une corrélation (relation) entre l'activité du SOD et de la Catalase. Une diminution d'activité de la Catalase est enregistré après deux semaines de traitement peut être due à la destruction de cet enzyme (Tableau XI et Figure 6).

Les résultats obtenus par ALCALA et ses collaborateurs ont montrés que la supplémentation avec 2% de propolis améliore l'efficacité antioxydante chez les rats sénescents en augmentant l'activité enzymatique du SOD et de la Catalase (Gulinnaz et al., 1998).

La peroxydation lipidique aboutit à la formation de nombreux dérivés toxiques, le MDA (malondialdéhyde), marqueur le plus utilisé en peroxydation lipidique, a une demie vie plus prolongé que celle des radicaux libres et diffuse facilement.

Le métabolisme de la doxorubicine par les cytochromes P450 génère des métabolites réactifs, ces derniers attaquent les membranes cellulaires et mitochondriales. La conséquence est la perte de la fluidité membranaire, la peroxydation lipidique et l'augmentation du niveau de MDA. De plus ce médicament appartient à la famille des anthracyclines qui présentent, une forte affinité pour les phospholipides chargés négativement (Association Française des Enseignants de Chimie Thérapeutique (AFECT). 2004).

Nos résultats montrent une diminution de concentration de MDA mitochondriale dans le lot traité par doxorubicine et la propolis ou par le médicament seul lors de l'étude par rapport au lot témoin. Cela explique par l'absence de la peroxydation lipidique qui due probablement à la faible dose administrée de la doxorubicine (5mg/kg) qui représente la demie de la DL₅₀ (Tableau XII, Figure 7).

D'autre étude réalisés sur les rats Albinos, montre que la peroxydation lipidique est augmenter après administration de la doxorubicine (10mg/kg) par la voie intraveineuse, alors que le taux de MDA est diminuée chez les groupes d'animaux recevant l'extrait éthanolique des flavonoïdes par voie orale (100mg/kg/j) avant et après le traitement médicamenteux (10mg/kg), prouve l'effet préventif et curatif des flavonoïdes de la propolis contre le stress oxydatif hépatique induit par le doxorubicine.

L'étude de l'effet préventif des flavonoïdes de la propolis contre le stress oxydatif induit par les métabolites toxiques de médicament anticancéreux (doxorubicine) est importante parce qu'elle contribue à la compréhension des mécanismes protecteurs antioxydant des flavonoïdes vis-à-vis les espèces réactives d'oxygène et par leurs capacité de moduler l'activité des enzymes de détoxification SOD et la Catalase et d'inhiber la peroxydation lipidique.

Conclusion

CONCLUSION :

La chimiothérapie anticancéreuse utilise certains médicaments qui possèdent des effets toxiques capables d'induire des altérations fonctionnelles et structurales dans l'organisme.

La toxicité de ces substances chimiques est à l'origine de la production d'un excès de radicaux libres oxygénés provoquant un état de stress oxydatif.

Pour lutter contre les espèces oxygénées réactives, l'organisme dispose de systèmes de détoxification, il existe deux sources de défense antioxydantes, l'une endogène comme les enzymes antioxydantes (Catalase, SOD, GPx ...) et les petits peptides comme le glutathion. Alors que l'autre source est exogène comme les vitamines, les ubiquinones et les flavonoïdes.

Au cours de cette étude nous avons tenté d'évaluer l'effet préventif de la propolis sur la modulation du système de détoxification et ce par :

- *l'évaluation de l'activité des enzymes antioxydantes après une administration de médicament anticancéreuse donc à vérifier l'état de stress oxydatif qu'il induit.
- *la détermination du taux de la peroxydation lipidique mitochondriale par le dosage de MDA.
- *la mise en évidence de la corrélation entre le prétraitement par l'extrait éthanolique de la propolis et l'augmentation de l'activité des enzymes SOD et Catalase mitochondriales d'une part et la corrélation entre l'activité de la SOD et Catalase de l'autre part.

Enfin nous pouvons dire que la propolis contient des substances dites flavonoïdes qui ont des activités antioxydantes et leur purification et identification permet d'obtenir l'effet protecteur maximale.

REFERENCES:

Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K & Walter P. (2002). Peroxisomes, In Molecular Biology of the Cell, 4th Ed., Garland. (Via Ncbi Bookshelf) ISBN 0815332181. 52: 50 53 -3088.

Amoros M, Lurton E, Boustie J, Girre L, Sauvager F& Cormier M. (1994). Comparison of the Anti-Herpes Simplex Virus Activities of Propolis and 3-Methylbut-2-Enyl Caffeate, J.Nat. Prod. 64: 235–240.

Andrieu J M & calonna P. (1999).source : cancers, évolution, traitement et surveillance- document - Medespace,

Arpet F& Guittard P. (1994).Essentiel Médical
Based Complement Altemat Med.: 2(1): 29-32. Texte Intégral

Association Française des Enseignants des Chimie thérapeutique (AFECT). (2004) médicament antitumoraux et perspectives dans le traitement de cancer. TEC et DOC. éd, Paris, pp 364 – 450 Cité dans le mémoire de Magister : Kebsa W, (2006). Université de Jijel.

Auissar N & Wiltin J C, (1989), Allen P.3: plasma selenium – dependant glutathione

Bonkeva V, (2002). recent trends and important developement in propolis research. E CAM, 2(1): 29-2 , Cité dans le mémoire de Magister : Kebsa W, (2006). Université de Jijel.

Bankova V.S, Castro S.L & Marcucci D. (2002). Propolis: Recent Advances Advance in Chemistry and Plant Origin, Apidologie 31: 3-15

Bansal M P, Vipin B & Ashmani K. (2001). Effect of alpha- tocopherol on pulmonary antioxydant defence system and lipid peroxydation in cigarette smoke inhaling mince. BMC biochemistry, 2: 14. Cité dans le mémoire de Magister : Kebsa W, (2006). Université de Jijel.

Banskota A H, Tezuka Y& Kadota S. (2001). Recent Progress In Pharmacological Research Of Propolis, Phytother. Res 15: 561–571.

Beauchamp C & Fridovich I.(1971).Assay OF Superoxide dismutase (SOD) Anal. Biochimie,44 : -276.

Berthoin K. (2000). Thèse de doctorat. Etude de la toxicité hépatique de la cocaïne associée a de l'alcool : effet de l'éthanol sur le métabolisme de la cocaïne dans l'hépetocyte de rat en suspension et dans un model enzymatique p :10. Cité dans le mémoire de Magister : Kebsa W, (2006). Université de Jijel.

- Buettner GR & Jurkiewicz BA. (1996). Catalytic metals, ascorbate and free radicals : combinations to avoid. *Radiat Res*, , 145 : 532-541.
- Bogdanov S. (1999). *Tout Sur La Propolis : Récolte.Compsition, Qualité Et Utilisation De La Propolis*
- Boon EM, Downs A & Marcey D. (2007). Catalase: H₂: H₂O₂ Oxidoreductase. Catalase Structural Tutorial Text. Retrieved
- Bourin M, Livère M & Allian H. (1993). *Cours de pharmacologie .3^{ème} édition* copyright paris, 26-28.
- Bourin M, Livère M & Allian H. (1999). *Cours de pharmacologie .1^{ème} édition* copyright paris, 30-32
- Brioukhanov A , Netrusov A, & Eggen R. (2006). "The Catalase And Super Oxide Dismutase Genes Are Transcriptionally Up-Regulated Upon Oxidative Stress In The Strictly Anaerobic Archaeon *Methanosarcina Barkeri*". *Microbiology* **152**: 1671 - 1677. Doi: 10.1099/Mic.0.28542-0
- Bronskill, M.J.; Wolff, R.K.; Hunt, J.W. Picosecond pulse radiolysis studies-I. The solvated electron in aqueous and alcohol solutions. *J. Chem. Phys.* 1970, 53: 4201-4209
- Bruschi ML & Lara EH.(2006). Preparation and antimicrobial activity of gelatin microparticles containing propolis against oral pathogens. *Drug Dev Ind Pharm.* Feb;32(2):229-38.
- Burdock G A. (1998). Review of the Biological Properties and Toxicity of Bee Propolis, *Food Chem. Toxicol.* 36347–363.
- Castaldo S & Capasso F. (2002). Propolis, an Old Remedy Used In Modern Medicine, *Fitoterapia* **73** - S1-S6
- Catalase. Molecule Of The Month. Rcsb Protein Data Bank (2004). Retrieved On 2007-02-11.
- Chaudiere J. (2000). *Rôle Biologique De La Peroxydation Des Lipides Dans Le Fonctionnement Des Cellules Animales : Lipides Et Santé.* Université De Marne-La-Vallée, France.
- Chawla RK. (1984). plasma cysteine , cystine and glutathione. , *gastroenterology* ; 87 :770-776.
- Clairbone A. (1985).Catalase Activity, in *CRC handbook of methods for oxygen radical research.* Edited .by RA Greenwald (CRD Press, Bocor Raton), 288.

Coogh A C, Miles JS, Spurr N K, Moss J E, Gaedigk A & Wolf CR. (1990). Identification of the primary gene defect at the cytochrome P450. *Nature.*, 347: 773-776. Cité dans le mémoire de Magister : Kebsa W, (2006). Université de Jijel.

Da Silva El, Riskuche M K, Yamamoto N, Moan JH & Terao J. (1989). Quercetin metabolites inhibit copper ion-induced lipid peroxidation in rat plasma. *FEBS Lett* 430: 405-80. Cité dans le mémoire de Magister : Kebsa W, (2006). Université de Jijel.

Dizdaroglu M. (1992). Oxidative damage to DNA in mammalian chromatin. *Mutat Res.*, 275(3-6):331-342.

Domart A & Bourneuf DR J. (1988). *nouveau la rousse médical-*.

Don Adieu Y, . (Consulté 29 Octobre 2006). *Www. 01 Santé. La Propolis De La Ruche /Docteur Nature .Com.- France*

Droge W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function, cellular *physiol. Rev.*

Dulcire X. (2002). Etude De Polymorphismes De Genes Codant Les Enzymes Impliquées Dans Le Stress Oxydant De Maladies Neuro-degeneratives : Alzheimer Et Parkinson , mémoire pour l'obtention du diplôme de l'Ecole Pratique des Hautes Etudes.

Duval O, Lebaut G & Robert-Pissard S, Paris (2003). Anthracyclines Chapitre 16 *Traité De La Chimie Thérapeutique, Vol .6, 363-404.*

Eisner T & Aneshansley Dj (1999). "Spray Aiming In The Bombardier Beetle: Photographic Evidence." *Proc Natl Acad Sci U S A* 96 (17): 9705-9. Pmid 10449758.

Esterbauer H, Gebicki J, Puhl H & Jurgens G. (1992). The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Radic Biol Med.*, 13(4):341-390.

Favier A. (2003). Le stress oxydant, l'actualité chimique. *Mécanismes biochimiques*, p108-115.

Fievet P. (2005). La détoxification hépatique et intestinale .le journal du naturel .article 3.

Forsberg L, de Faire U & Morgenstern R. (1999) - Low yield of polymorphisms from EST blast searching: analysis of genes related to oxidative stress and verification of the P197L polymorphism in GPX1. *Hum Mutat.* , 13(4):294-300.

Gaetani G, Ferraris A, Rolfo M, Mangerini R, Arena S, & Kirkman H. (1996). "Predominant Role Of Catalase In The Disposal Of Hydrogen Peroxide Within Human Erythrocytes." *Blood* 87 (4): 1595-9. Pmid 8608252.

Gimpel J A, Lahor J R & Vander Molen A J. (1995). Reduction of respiration in jury of human myocardium by allo-purinol: a clinical study. *Free Rad, Biol Med*, 19, 251-5.

- Girroud J P. (1988) .Mathé .G."Pharmacologie clinique" expansion scientifique français.
- Guide Pratique De L'apiculture. (1996). Editions De L'o.P.I.D.A.- Centre Apicole F61370 Echeuffour Bull. Tech. API. 23 (1), 93, 39 F. Jeanne
- Gulinnaz A, Eser Y, Lütfiye K, Gülriz M, Biltan E & Fatma Z. (1998). Agechelated alterations in superoxide dismutase and catalase Activitie in Rat Brain. Tr.J. of Médical sciences, 28: 491-494. Cité dans le mémoire de Magister : Kebsa W, (2006). Université de Jijel.
- Habdous M,. Siest G, Herbeth B, Vincent-Viry M & Visvikis S.(2004). Polymorphismes des glutathion S-transférases et pathologies humaines : bilan des études épidémiologiques. Annales de Biologie Clinique. Volume 62, Number 1, 15-24.
- Halliwell B & Chirico S. (1993). Lipid peroxydation: its mechanism, measurement and significance. AM. J. clin. Nutr, **57**, 7155-7255.
- Halliwell B & Gutteridge J. (1999) . Free Radicals in Biology and Medicine, Oxford University Press, USA.
- Halliwell B. (1996) .Oxidative stress, nutrition and health. Experimental strategies for optimization of nutritional antioxidant intake in humans. *Free Radic Res.*, **25** (1):57-74
- Hayashi K, Komura S, Isaji N, Ohishi N& Yagi K. (1999) . Isolation of Antioxidative Compounds from Brazilian Propolis: 3, 4-Dihydroxy-5-Prenylcinnamic Acid, a Novel Potent Antioxidant, Chem. Pharm. Bull. **47** 1521–1524.
- Herbert V, Shaw S & Jayatilleke E. (1996). Vitamin C-driven free radical generation from iron. J Nutr, , *126* : 1213S -1220S.
- Holvoet P, Vanhaecke J, Janssens S, Van De Werf F & Collen D. (1998). Oxidized LDL and Malondialdehyde-Modified LDL in Patients with Acute Coronary Syndromes and Stable Coronary Artery Diseases. *Circul* 98:1487-1494,
- Huang C J & Fwu M L .(1993). Degree of protein deficiency affects the extent of the depression of the antioxydative enzyme activities and the enhancement of tissue lipid peroxidation in rats. J, Nutr, **123**,803-810.
- Huang M T, Xie J C & wang Z.y. (1997). Effect of tea, decaffeinated tea, caffeine en VVB light – iduced complete caecemogenesisin SHK-1 mice demonstration of caffeine as a biologically important constituent of tea. *Biol Res*, 13: 2623 -2629. Cité dans le mémoire de Magister : Kebsa W, (2006). Université de Jijel.
- Ikeno K, Ikeno T& Miyazawa C. (1991). Effects of Propolis on Dental Caries In Rats, *Caries Res.* **25**: 347–351.
- Imhof M & Lipovac M. (2005). Propolis solution for the treatment of chronic vaginitis. *Int J Gynaecol Obstet.* May;89(2):127-32.

- Jadot G. (1994). Antioxydants et vieillissement .ed. John Libbey Eurotext, Paris, p 34.
- Jan W Dobrowolsky, Antibacterial, Antifungal, Ant Amoebic, Anti-Inflammatory And Antipyretic Studies On Propolis Bee Products Publication: Elsevier Scientific Publishers Ireland 1991
- Kanwaljit C, Sangeeta P & Naveen T.(2005).hesperidin, a citrus bioflavonoid, decreases the oxidative stress produced by carbon tetrachloride in rat liver and kidney. BMC Pharmacologie, 5: 2. Cité dans le mémoire de Magister : Kebsa W, (2006). Université de Jijel.
- Kartal M, Yildiz S, Kaya S, Kurucu S & Topcu G.(2003) . Antimicrobial Activity Of Propolis Samples From Two Different Regions Of Anatolia, J. Ethnopharmacol. **86** :69–73.
- Kinsky N. (1989). Antioxydants function of carotenoides, Free Rad. Biol. Med, **7**: 617.
- Kujungiev A, Tsvetkova I, Serkedjieva Y, Bankova V, Christov R & Popov S .(1999). Antibacterial, Antifungal and Antiviral Activity of Propolis of Different Geographic Origin, J. Ethnopharmacol. **64**:235–240
- Kumazawa S, Shimai K, Hayashi K, Ishier T & Hamasaka T. (2004). Identification of metabolites in plasma and urine of uoraxguag propolis- treated rats .JAgric Food clean, Larousse médical. Édition. (2002). Page 160-162-163 Cité dans le mémoire de Magister : Kebsa W, (2006). Université de Jijel.
- Levine SA & Kidd PM. (1996). Antioxydant Adaptation. It's Role in Free Radical Pathology. San Leandro, California. Eds A. Biocurrents Division, Allergy Research Group.
- Mahmoud AS, Almas K & Dahlan AA. (1999). The effect of propolis on dentinal hypersensitivity and level of satisfaction among patients from a university hospital Riyadh, Saudi Arabia. *Indian J Dent Res.* Oct-Dec;10 (4):130-7.
- Matsuno. (1995). a New Chlordane Diterpenoid Isolated From Propolis, Z. Naturforsch,
- Meagher Ea & Fitzgerald Ga. (2000) Indices of Lipid Peroxidation In Vivo: Strengths And Limitations. Free Rad Biol Med. **28**:1745-50.
- Mena P, Maynar M, Gutierrez Jm & al. (1991). Erythrocyte Free Radical Scavenger Enzymes in Bicycle Professional Racers. Adaptation to Training. Int J Sports Med **12**:563-566, 1991
- Menvielle- Bourg F. (2005). La superoxyde dismutase, puissant antioxydant naturel désormais disponible par voie orale. *Numéro 3*.

- Marfa K A, thèse de maîtrise Gamma des flavonoïdes et étude des liens réactifs avec les radicaux
issus des alcools: formation des diols. (2003), 2:10-Cité dans le mémoire de Magister :
Kebba W, (2006). Université de Jijel.
- Murad J M, Calvi S A, Soares AMVC, Bankova V & Sforcin J M. (2002) Effect Of
Propolis From Brazil And Bulgaria In Fungicidal Activity Of Macrophages Against
Paracoccidioides Brasiliensis, *J. Ethnopharmacol.* 79 331–334.
- Murthy Mr, Reid Tj 3rd, Sicignano A, Tanaka N & Rossmann Mg. (Oct 1981). "Structure
of Beef Liver Catalase." *J Mol Biol* 152 (2): 465-99. Pmid 7328661
- Myara J. (2002). Vieillesse et stress oxydatif, laboratoire de biochimie, hôpital
Charles Foix (Ivry), 10-12.
- Nève J, Vertongen F, Peretz A & Carpentier Ya. (1989). Valeurs Usuelles Du
Sélénium Et De La Glutathion Peroxydase Dans Une Population Belge. *Ann Biol Clin*
47:138-143.
- Nieva Moreno M I, Isla M I, Sampietro A R & Vattuone M A. (2000). Comparison Of The
Free Radical-Scavenging Activity Of Propolis From Several Regions Of Argentina, *J.*
Ethnopharmacol. 71: 109–114.
- Ozukul Y, Silici S & Eroglu E. (2005) .The Ant Carcinogenic Effect of Propolis in
Human Lymphocytes Culture, *Phytomedicine* 12:742–747.
- Partan J. (février 1999). Antioxydant et Anticancéreux-14 bio futur, Etude des liens
réactifs avec les radicaux issus des alcools: formation des diols., 2:10-21.
- Pelmont J. (1993). Enzymes. Presse universitaire de Grenoble office des publications
universitaires, 516, 517, 519.
- Pereira M, Grubbs A, Barnes C J, Olson H, ETO G R, Juliana I, Whitaker M, Kelloff L
M & Steele GJ. (1996). Effects Of Phytochemicals, Curcumin And Quercetin Upon
Azoxymethane Induced Colon Cancer And 7, 12 Dimethyl Benz (A) Anthracene Induced
Mammary Cancer In Tars. *Carcinogenesis* 17, 1305–1311.
- Pincemail J & Defraigne J O. (2004). Les antioxydants : un vaste réseau de défenses
pour lutter contre les effets toxiques de l'oxygène. Symposium « antioxydants et
alimentation ». Institut Danone 1.
- Pincemail J. (1998). Espèces oxygénées en médecine humaine: une approche didactique.
Vaisseaux, cœur, Poumon, free radical. *Biol*, 3: 153-8. Cité dans le mémoire de Magister :
Kebba W, (2006). Université de Jijel.
- Pincemail J, Meurisse M, Limet R & Defraigne JO. (1999). Méthodes D'évaluation Du
Stress Oxydatif Chez L'homme Importance En Matière De Prévention M E D I S P H E
R E

- Pincemail J, Defraigne J D & Franssen C. (1995). Evidence for free radical formation during human kidney transplantation, *Free Rad. Biol. Med*, **15** :343-9
- Pincemail J, Lecomte J, Castiau Jp & al. (2000). Evaluation Of Autoantibodies Against Oxidized Ldl And Antioxidant Status In Top Soccer And Basketball Players After 4 Months Of Competition. *Free Rad Biol Med* **28**:559-565,
- Pincemail J, Meurisse M, Limet R & Defraigne J O. (1997). Les espèces oxygénées réactives. *Medi- sphère*. **55**. 8- 12.
- Pincemail J. (2002). Comment Evaluer Votre Etat De Stress Oxydant Directeur Scientifique Probiox Sa – Université De Liège peroxidase. *biochimie*. 2: 15850-15855,
- Ratnasinghe D, Tangrea JA, Andersen MR, Barrett MJ, Virtamo J, Taylor PR & Albanes D. (2000). Glutathione peroxidase codon 198 polymorphism variant increases lung cancer risk. *Cancer Res.*, **60** (22):6381-6383.
- Rebert J. Paris (1997). Anthracyclines, Chapter 6. In A Clinician Guide To Chémothérapie .Pharmacocinetics And Pharmacodynamics And Grochow.Lb, M .M. Publ, Williams And Wikins, - 93-173.
- Ryan KR & Jensen RE. (1995) .Protein translocation across mitochondrial membranes: what a long, strange trip it is. *Cell*. **83**(4):517-519.
- Schorderel M & AL. (1992). pharmacologie .Vol .2 OPU ?825
- Schorderel M.(1992). Pharmacologie. Vol. 1-edition. OPU
- Schroeder WA, Shelton JR, Shelton JB, Roberson B & Apell G. (1969). "The amino acid sequence of bovine liver catalase: a preliminary report." *Arch Biochem Biophys* **131** (2): 653-5.
- Science Education Outreach.Catalase: An Enzyme At Work Retrieved On (2007).
- Serraimigni A.. (1985) .Annule de thérapeutique médicale .Edition Massons, paris .181
Solvated electron in aqueous and alcohol solutions. *J. Chem. Phys.* 1970, **53**: 4201-4209
- Stadman ER & Berlett. BS. (1997). Reactive oxygen-mediated protein oxidation in aging and disease. *Chem Res Toxicol.* , **10** (5):485-494.
- Stefanini, M., 1985. Enzymes, Isoenzymes and Enzyme Variants in the Diagnosis of Cancer. *Cancers* **55**, 1931–1936.
- Strehl E, Volpert R & Elstner E F. (1994) . Biochemical Activities Of Propolis Extracts. III. Inhibition of Dihydrofolate Reductase, *Z. Naturforsch.* **49c** 39–43.
- Thierry S & Tortora C. France (1994). Plantes molécule et médicaments, 31.

- Vouldoukis I, Conti M, Krauss P, et al. (2004). Supplementation with gliadin-combined plant superoxide dismutase extract promotes antioxidant defences and protects against oxidative stress. *Phytother Res* **18** (12): 957-62
- Vynograd N, Vynograd I & Sosnowski Z. (2000). A comparative multi-centre study of the efficacy of propolis, acyclovir and placebo in the treatment of genital herpes (HSV). *Phytomedicine*. Mar;7(1):1-6.
- Wang L, Mineshita S, Shigematsu T & Matsuno T. (1993). Anti-Inflammatory Effect Of Propolis, *Jpn. J. Pharmacol. Ther.* **24**: 223–224.
- Whitaker M, Kelloff L M & Steele G J, (1996). Effects of Phytochemicals, Curcumin And Quercetin Upon Azoxymethane Induced Colon Cancer And 7, 12 Dimethyl Benz (A) Anthracene Induced Mammary Cancer In Tars. *Carcinogenesis* **17**: 1305–1311.
- Yaker Q. (décembre 1985). *Cancérologie générale. Anatomie. Pathologie-*, édition OPU,
- Yoshikawa T, Yamamodo Y & Naito Y. (2000). *Free radicals in chemistry, Biology and medicine*, Ed, oica international, Londres
- Zini R, Morin C, Bertelli A A & Tillement J P. (1999). effects of resveratrol on the rat brain respiratory chaine. *Drug Exp. Clin. Res.* **25**:87-97 Cité dans le mémoire de Magister : Keba W, (2006). Université de Jijel.

Annexe I. Les doses du doxorubicine administrées à chaque souris de chaque lot.

Les Doses de doxorubicine (ml)	Lot2	Lot3
S1	0.169	0.132
S2	0.177	0.142
S3	0.168	0.133
S4	0.163	0.151
S5	0.146	0.165
S6	0.169	0.135
S7	0.164	0.147

S : souris.

Annexe II. Les rapports entre les poids des souris et les poids de leurs foies :

Sacrifices	Lots	Numéro des souris	Poids corporel (g)	Poids du foie (g)	Rapport poids du foie / poids corporel
Premier sacrifice	Lot 1	S1	36.48	2.06	0.056
		S2	36.94	2.41	0.065
	Lot 2	S1	35.67	2.32	0.065
		S2	33.67	2.26	0.067
	Lot 3	S1	25.8	1.78	0.068
		S2	28.45	1.95	0.068
Deuxième sacrifice	Lot 2	S3	34.15	1.89	0.055
		S4	34.46	1.81	0.052
		S5	30.74	1.61	0.052
	Lot 3	S3	33.65	2.11	0.062
		S4	29.39	1.86	0.063
		S5	32.06	1.77	0.055
Troisième sacrifice	Lot 2	S6	32.72	1.84	0.056
		S7	33.43	1.84	0.055
	L 3	S6	26.13	1.79	0.068
		S7	31.5	1.8	0.057

Annexe III : Mesure des poids des souris

Poids (g)	Semaine1	Semaine2	Semaine3		
			J3	J7	J14
Lot1	33.67±2.54	34.16±2.80	34.46±2.27	33.62±2.06	35.20±3.14
Lot2	33.36±2.21	33.66±1.61	32.86±1.79	32.02±2.00	32.48±0.17
Lot3	29.85±1.98	30.38±3.08	28.89±2.12	30.40±3.36	27.60±2.38

Annexe IV : Pesé des quantité d'alimment consommé

Semaine	Semaine1 Avant T	Semaine2 pré T	Semaine3 après traitement		
			J3	J7	J14
Lot1	7.22±1.49	8.77±0.45	9.67±1.04	9.79±0.68	8.47±0.23
Lot2	6.17±0.83	5.96±2.12	3.87±1.31	5.97±0.236	6.21±0.59
Lot3	7.35±1.72	6.37±1.82	6.98±2.22	8.11±3.39	11.01±0.52

<p>BOUNEKTA Farida HARRAG Hassiba REZZAGUI Abir</p>	<p>Etude Expérimentale de l'effet des Flavonoïdes sur la Modulation de l'Activité des Enzymes de Détoxification au Cours d'un Traitement par un Médicament Anticancéreux</p>	<p>Date de soutenance : Le 02 / 07/ 2008.</p>
<p align="center">Résumé :</p>		
<p><i>La présente étude s'inscrit dans le cadre d'un axe de recherche sur l'effet préventif de l'extrait éthanolique de la propolis contre le stress oxydatif lors d'un traitement par un médicament anticancéreux. L'étude de l'activité des enzymes antioxydantes mitochondriales a été réalisée au niveau du laboratoire de biologie de l'université de Jijel. Ce travail s'est effectué sur 3 lots de souris albinos de souche NMRI dérivée de la souche Swiss : témoin, traité soit par un anticancéreux seul ou prétraités par l'extrait éthanolique de la propolis.</i></p>		
<p><i>L'évaluation de l'activité de la SOD et Catalase de la fraction mitochondriale hépatique montre une forte activité enzymatique chez les lots prétraités par l'extrait de la propolis ou par le médicament seul par rapport au témoin relatif à une production excessive des radicaux libres. L'étude est appuyée par la mesure du MDA mitochondrial indice de la peroxydation lipidique induite par le médicament anticancéreux.</i></p>		
<p align="center">Summary:</p>		
<p><i>The present study is part of a research axis centred on the preventive effect of the propolis ethanolic extract against the oxidative stress during a treatment by anti-cancer drug. The study of the mitochondrial antioxidants enzymatic activity was carried out in the laboratory of biology in university of Jijel.</i></p>		
<p><i>This work is carried out on 3 groups of the NMRI Albinos mice: control group, treated group with the anti-cancer drug only and pre-treated by the Propolis ethanolic extract. The evaluation of the SOD and Catalase activities in hepatic mitochondrial fraction shows a high enzymatic activity in the propolis pretreated group and drug treated group compared to the control group relative to an excessive production of the free radicals. This work is supported by the measurement mitochondrial MDA lipidic peroxydation index induced by the anti-cancer drug.</i></p>		
<p align="center">ملخص:</p>		
<p><i>هذه الدراسة هي جزء من محور البحث على الأثر الوقائي لمستخلص البروبوليس ضد الاضطراب التأكسدي أثناء المعالجة بدواء مضاد للسرطان وقد تمت دراسة النشاط الإنزيمي المضاد للأكسدة في مخبر علم الأحياء بجامعة جيجل، وقد تم هذا العمل على ثلاث مجموعات من الفئران البيضاء من سلالة (NMRI): مجموعة شاهدة، الثانية معالجة بدواء مضاد للسرطان فقط، و الثالثة معالجة بمستخلص البروبوليس قبل المعالجة بالدواء المضاد للسرطان. إن قياس النشاط الإنزيمي لـ <i>Catalase et SOD</i> الميتوكوندريين في الكبد أظهر زيادة في النشاطين الإنزيميين في المجموعة المعالجة بالدواء المضاد للسرطان وحده أو المعالجة بمستخلص البروبوليس مقارنة بالمجموعة الشاهدة، و ترجع هذه الزيادة إلى الإنتاج الكثيف للجذور الأوكسجينية الحرة، وقد دعمت هذه الدراسة بقياس نسبة <i>MDA</i> الميتوكوندرية و هو مؤشر الأكسدة الدهنية الناتجة عن المعالجة بالدواء المضاد للسرطان.</i></p>		
<p align="center">Mots Clés</p>		
<p align="center">Anticancéreux, Doxorubicine, Stress Oxydatif, Propolis, Catalase, SOD, MDA.</p>		
<p align="center">Encadré par Melle Benguedouar L.</p>		