



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE ABD EL HAMID IBN BADIS MOSTAGANEM

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE & DE LA VIE

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

THESE DE DOCTORAT 3^{ème} Cycle (Doctorat LMD)

Domaine : Sciences de la Nature & de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Nutrition et Santé

THEME

**Effet protecteur de la propolis de Tizirt sur l'hépatotoxicité, la
cardiotoxicité et la néphrotoxicité induites par l'épirubicine.**

Présentée par :

M^{elle} CHAA Sara

Soutenu le.....2019 devant le jury :

Président :	Pr. RIAZI Ali	Université de Mostaganem
Rapporteur :	Dr. BOUFADI MOKHTARIA YASMINA	Université de Mostaganem
Examineur :	Pr. SLIMANI Miloud	Université de Saida
Examineur :	Pr. KHEROUA Omar	Université d'Oran 1
Examineur :	Dr. KEDDARI Soumia	Université de Mostaganem

Année Universitaire : 2018-2019

Dédicace

A la femme la plus chère dans ma vie ma grand-mère à l'histoire vivante de la famille et sa force infaillible, merci pour ton amour éternel, tes sacrifices, ta douceur et ta bonté, je vous dédie aujourd'hui ma réussite, enfin je peux répondre à ta question et dire oui j'ai terminé mes études !!

A ma chère maman qui n'a jamais cessé de ménager ses efforts pour que j'atteigne ce niveau. Ni sacrifices, ni privations ne l'ont empêché d'accomplir son devoir de mère soucieuse de l'avenir de ses enfants.

A mon cher papa qui a su se montrer patient, compréhensif et encourageant, sa chaleur paternelle a été et sera toujours pour moi d'un grand réconfort.

A mes chers frères Mohamed El Amine, Islam, Abd El Ghafour mes amours, je prie dieu le tout puissant pour qu'il vous protège de tout mal.

A ma très chère tante "Ghrissia" merci d'être toujours à mes côtés, merci pour ton soutien morale et physique, j'ai toujours pu compter sur toi dans cette vie.

A mes chers oncles de m'avoir soutenu et m'encouragé tout le temps,

A Nurallah & Manel cher enište, ma chère cousine ma "jumelle", merci pour tout le bonheur que vous avez créé pour nous, merci pour votre soutien, votre amour et vos encouragements, que dieu vous protège.

A Ahmed & Nassima vous êtes plus qu'un meilleur ami et qu'une cousine mais plutôt les plus proches à moi merci d'être toujours présents pour moi, d'être à mes côtés, merci pour votre soutien, merci de m'avoir supporté tout au long de ces années de recherche, je vous souhaite tous le bonheur du monde.

A tous mes chers cousins et cousines que dieu le tout puissant vous bénisse.

A mes chères amies pour votre amour, votre soutien, pour tous nos moments inoubliables ensemble, je vous souhaite que du bonheur.

A cette âme merveilleuse, à qui je dois toute cette réussite !!!!

Sara CHAA

2019

Avant-propos

Cette étude a été réalisée au sein du Laboratoire des Microorganismes Bénéfiques, des Aliments Fonctionnels et de la Santé, Université de Mostaganem, avec la collaboration du Laboratoire de Chimie Pharmaceutique, ULB, Belgique et le Laboratoire d'Anatomie et de Pathologie, Hôpital de Mostaganem.

Ce modeste travail n'aurait pas vu le jour sans la collaboration, la participation, de plusieurs personnes à travers leur orientation, leur conseil et leur soutien moral et psychologique qu'ils m'ont apportés tout le long de cette recherche. L'intérêt qu'ils ont manifesté à ce travail m'a encouragé à persévérer d'avantage dans mon métier et faire de la recherche une vocation.

En premier lieu, je remercie sincèrement et très chaleureusement Dr. BOUFADI Mokhtaria Yasmina, Maitre de Conférences classe « A » à l'université de Mostaganem, ma directrice de thèse. Je vous dois énormément madame, merci d'avoir accepté d'encadrer ce travail, de m'avoir guidée tout au long de ces quatre ans de recherche, merci pour ses précieux conseils, sa patience, sa confiance accordée, pour son soutien et sa disponibilité, je n'oublierai jamais tout ce que vous avez fait pour moi, vous êtes et vous resterez toujours mon exemple.

J'adresse ma gratitude et ma reconnaissance au Professeur RIAZI Ali de l'Université de Mostaganem pour m'avoir accueilli à bras ouverts au sein du LMBAFS, un grand merci pour ses conseils, son encouragement tout au long de ces années de recherches, sa rigueur et ses connaissances pointues ainsi pour sa modestie avec ses étudiants. Ainsi je vous remercie infiniment pour l'honneur que vous m'avez fait d'avoir accepté présidé ce jury.

Je tiens également à adresser mes vifs remerciements au Professeur SLIMANI Miloud de l'Université de Saida, d'avoir bien voulu examiner cette thèse et de faire partie de mon jury. Soyez assuré de ma sincère reconnaissance.

Je tiens également à remercier Professeur KHEROUA Omar de l'université d'Oran 1. Je vous suis très reconnaissante de me faire l'honneur d'être juge de ce travail scientifique. Soyez assuré de mon profond respect et de toute mon estime.

Je voudrais sincèrement remercier Dr. KEDDARI Soumia, Maitre de Conférences classe « A » à l'université de Mostaganem, de me faire l'honneur de participer à ce jury et d'avoir accepté d'évaluer et d'examiner cette thèse. Ainsi de dire que votre investissement dans ce travail a été primordial, Je vous fais part de toute ma gratitude pour vos conseils, vos connaissances et votre expérience qui m'ont aidée dans de très nombreuses circonstances.

Un immense remerciement s'adresse à Dr. BENCHAI B Amina Hayet, médecin au sein du Laboratoire d'Anatomie et de Pathologie de l'Hôpital de Mostaganem, Pour m'avoir réalisé l'étude histologique de nos échantillons et d'avoir partagé avec moi ses connaissances très étendues dans ce domaine. Merci pour ses conseils, sa disponibilité, sa gentillesse. Ton implication dans ce travail mais aussi dans ma formation a été essentielle. Je vous remercie pour tout le temps et l'énergie que vous y avez consacrés.

Je n'oublie pas à remercier énormément toute l'équipe de ce laboratoire. Je commence par le médecin chef Dr. KERFOUF d'avoir accepté m'accueillir au sein du laboratoire. Et surtout je remercie les ingénieurs biologistes Mr. TAHARI Mostafa, Mme. HAMD AOUI Fatiha, Mme. MAKHLOUF Yasmina, et le chef service Mm. BENDAHA Alia.

Je remercie ainsi toute l'équipe du LMBAFS qui ont contribué et influencé dans l'élaboration de ce travail. Et en particulier les ingénieurs du laboratoire Mme HAMED Jahira et Mme BENDJERRMIKH Latifa.

Chaa Sara

Résumé

La propolis est une substance naturelle, produite par les abeilles mellifères à partir de la résine de diverses plantes. Cette étude vise la détermination de la composition chimique et l'évaluation de l'effet hépatoprotecteur, cardioprotecteur et néphroprotecteur de l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizgirt contre la toxicité induite par l'épirubicine ; un agent anticancéreux, appartenant à la famille des anthracyclines.

Trente rats mâles albinos Wistar ont été divisés en cinq groupes. Les rats ont été traités pendant 15 jours avec l'extrait d'acétate d'éthyle de propolis de Tizgirt (EAP) ou de quercétine par voie orale avant d'être soumis à une toxicité par une injection (*i.v*) d'une dose cumulative de 9 mg/kg d'épirubicine en vue de réparer les dommages hépatiques, rénaux et cardiaques.

L'identification de l'EAP par HPLC/UV montre la présence de nombreux composés polyphénoliques, tel que l'acide caféique, acide éllagique, acide ascorbique, catéchine et quercétine, etc. L'injection de l'épirubicine aux rats, induit un dysfonctionnement hépatique, rénal et cardiaque se révélant par une augmentation significative ($P < 0.05$) du taux sérique des marqueurs biochimiques (ASAT, ALAT, PAL, urée, créatinine, acide urique, LDH et troponine) et les biomarqueurs inflammatoires (TNF- α et PGE2). Cette toxicité a ainsi provoqué des lésions, des nécroses et des infiltrats inflammatoires au niveau du foie, reins et cœur. L'administration de 250 mg/kg d'EAP a permis de restaurer ces fonctions en abaissant le taux de ces paramètres, ainsi un équilibre du stress oxydatif a été démontré avec une diminution de + 50% du taux de malondialdéhyde et nitrique oxyde, et une augmentation du superoxyde dismutase, catalase et glutathion peroxydase. Une restauration de l'architecture des organes a été observée.

Ces résultats montrent que la propolis est riche en substances phénoliques, ce qui lui procure l'effet protecteur et curatif contre l'hépatotoxicité, la néphrotoxicité et la cardiotoxicité induite par l'épirubicine chez les rats Wistar.

Mots clés : Propolis ; HPLC/UV ; Epirubicine ; Toxicité ; Stress Oxydatif, Biomarqueurs inflammatoires.

Abstract

Propolis is a natural substance produced by honey bees from the resin of various plants. This study aims to determine the chemical composition and evaluation of the hepatoprotective, cardioprotective and nephroprotective effect of ethyl acetate extract of propolis from Tizgirt against epirubicin-induced toxicity; an anticancer agent, belonging to the anthracycline family.

Thirty male albino Wistar rats were divided into five groups. The rats were treated for 15 days with ethyl acetate extract of propolis from Tizgirt (EAP) or quercetin orally before being injected with toxicity (*i.v*) of a cumulative dose. 9 mg / kg of epirubicin to repair liver, kidney and heart damage.

The identification of EAP by HPLC / UV shows the presence of numerous polyphenolic compounds, such as caffeic acid, elagic acid, ascorbic acid, catechin and quercetin, etc. Injection of epirubicin into rats induces hepatic, renal, and cardiac dysfunction with a significant ($P < 0.05$) increase in serum biochemical markers (ASAT, ALT, PAL, urea, creatinine, uric acid, LDH and troponin) and inflammatory biomarkers (TNF- α and PGE2). This toxicity has caused lesions, necrosis and inflammatory infiltrates in the liver, kidneys and heart. The administration of 250 mg / kg of EAP makes it possible to restore these functions by lowering the rate of these parameters, thus a balance of oxidative stress has been demonstrated with a decrease of + 50% in the rate of malondialdehyde and nitric oxide, and an increase in superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase. A restoration of the organ architecture has been observed.

Key words: Propolis; HPLC/UV; Epirubicin; toxicity; oxydative stress; inflammatory biomarkers.

ملخص

العكبر (البروبوليس) مادة طبيعية تنتجها نحل العسل انطلاقا من براعم و عصارة النباتات المختلفة. الهدف من هذه الدراسة كان لأجل تحديد التركيب الكيميائي و تقييم التأثير الوقائي للسمية الكبدية، القلبية والكلى لمستخلص البروبوليس لمنطقة تيقزيرت ضد السمية التي يسببها الايرويسين عامل مضاد للسرطان من عائلة الأنتراسيكلين .

الدراسة كانت على 30 فأر ذكر من نوع الويستار حيث تم تقسيمها إلى 5 مجموعات. تلقت الفئران مستخلص البروبوليس أو الكرسيتين عن طريق الفم لمدة 15 يوم. السمية الكبدية تم تأكيدها عن طريق حقنة الايرويسين بجرعة 9 غ/كلغ.

يُظهر تحديد مكونات EAP بواسطة تقنية HPLC/UV وجود العديد من المركبات البوليفينولية ، مثل حمض الكافيين ، وحمض الإلاجيك ، وحمض الأسكوربيك ، والكاتشين ، وكيرستين ، إلخ. إن حقن الايرويسين عند الفئران يؤدي إلى اختلال وظيفي كبد ، كلوي ، قلبي. ($P < 0.05$) زيادة العلامات البيوكيميائية في المصل (ASAT ، ALT ، PAL ، اليوريا ، الكرياتينين ، حمض اليوريك ، LDH و troponin) والعلامات الحيوية الالتهابية ($TNF-\alpha$ و PGE2). تسببت هذه السمية في حدوث آفات ونخر و التهابات على مستوى الكبد والكلى والقلب. اضافة 250 ملغ / كغ من EAP عمل على استعادة هذه الوظائف عن طريق خفض معدل هذه العلامات كما ثبت توازن الإجهاد التأكسدي مع انخفاض + 50 ٪ في معدل malondialdehyde وأكسيد النيتريك ، وزيادة في المضادات للأكسدة SOD, CAT, GSH-px وقد لوحظ تحسن في بنية الانسجة.

الكلمات المفتاحية : البروبوليس ، الايرويسين ، السمية الكبدية ، السمية القلبية و السمية الكلى ، حالة الأكسدة ، HPLC/UV

Liste des abréviations

- ADN**: acide désoxyribonucléique.
- ALAT**: alanine aminotransférase.
- ARN** : acide ribonucléique.
- ASAT**: aspartate aminotransférase.
- Bil T** : bilirubine totale.
- BNP** : peptide natriurétique de type B.
- CAT** : catalase.
- CAPE** : caffeic acid phenetyl ester.
- CCL4** : Chemokine (C-C motif) ligand 4.
- Cong** : congestion.
- COX** : cyclo-oxygenase.
- CK** : créatine kinase.
- CKmb** : créatine kinase mb.
- CY** : cyclophosphamide.
- DFG** : débit de filtration glomérulaire.
- DS** : dilatation des sinusoïdes.
- DVC** : dilatation centro lobulaire.
- EAP** : extrait d'Acétate d'éthyle de la Propolis.
- ECG** : électrocardiogramme.
- EDTA** : Acide Ethylène-Diamine-Tétra-Acétique.
- EEP**: extrait éthanoïque de la propolis.
- EPI** : épirubicine.
- eNOS** : oxyde nitrique synthase endothéliale.
- Fe³⁺** : Ferrique.
- GSH** : Glutathion réduit.
- GSH-Px** : glutathion peroxydase.
- HCl** : Chlorure d'hydrogène.
- HK**: Hexokinase.
- H₂O₂**: peroxyde d'hydrogène.

HPLC : Chromatographie en phase liquide à haute performance.

H₂SO₄: Acide sulfurique.

IC : insuffisance cardiaque.

ICC : insuffisance cardiaque congestive.

IL-1 : interleukine-1.

III : infiltrats inflammatoire lymphocytaire.

IRA : insuffisance rénale aiguë.

IRC : insuffisance rénale chronique.

LDH: lactate déshydrogénase.

LTB₄ : Leukotriene B₄.

LTC₄ : Leukotriene C₄.

LOX : lipoxygénase.

MDA : malondialdéhyde.

MPO : Myéloperoxydase.

mPTP : port de transition de la perméabilité mitochondriale.

M.S : Matière Sèche.

NAD : nicotinamide adénine dinucléotide.

NADH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Réduit.

NADPH : nicotinamide adénine dinucléotide phosphate.

nm: nanomètre.

nmol: nanomole.

NF : nécrose focalisée.

NO: oxyde nitrique.

O₂ : dioxygène.

OH: hydroxyde.

OMS: Organisation Mondiale de la Santé.

ONOO⁻ : peroxy-nitrites.

PAL: phosphatase alcaline.

PAMPs : pathogen-associated molecular patterns.

PBS : Phosphate Buffered Saline.

P/V : poids / volume.

PGE₂ : prostaglandine E₂.

PHN : parenchyme hépatique normale.

RL: radicaux libres.

ROS: espèces réactives de l'oxygène.

rpm: Rotation Par Minute.

SAB: Sérum Albumine Bovine.

SERCA 2a: réticulum sarco-endoplasmique Ca²⁺ - ATPase.

SOD: superoxyde dismutase.

TFA : trifluoroacetic acid.

TGO: Transaminase Glutamate Oxaloacétate.

TGP: Transaminase Glutamate Pyruvate.

Th1 : cellules de type T auxiliaire de type.

TNF- α : Tumor necrosis factor.

V/V: volume / volume.

VC : veine centro-lobulaire.

γ -GT : gamma glutamyl transférase.

5'-NT : 5'-Nucleotidase.

Liste des tableaux et figures

Liste des tableaux

Partie bibliographique

	Page
Tab. 1	Médicaments les plus utilisés pour la chimiothérapie (Tannock et Hill, 1998). 03
Tab. 2	Différents grades de la cardiotoxicité (OMS, 2010). 14
Tab.3	Différents grades de la toxicité rénale (OMS, 2010). 15
Tab. 4	Différents grades de la toxicité hépatique OMS, 2010). 16
Tab. 5	origine botanique de la propolis (Burdock, 1998). 20
Tab. 6	Composition chimique de la propolis brute (Sabir et Sumidarti, 2017). 22
Tab. 7	Composition chimique de la propolis pure (Boufadi et al., 2017). 23
Tab. 8	récapitulatif des propriétés thérapeutiques de la propolis (Apimondia, 2001). 27

Partie expérimentale

Tab. 9	Composition chimique d'extraits d'acétate d'éthyle de la propolis de Tigzirt par HPLC / UV (mg/g) 49
Tab. 10	Les signes cliniques des rats au cours de l'expérience. G1 : Témoin ; G2 : 9 mg/Kg d'épirubicine (7 jours) ; G3 : 100 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G4 : 250 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G5 : 50 mg/kg de quercétine puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours). 50
Tab. 11	Les teneurs en malondialdéhyde (MDA), l'oxyde nitrique (NO), Superoxyde dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathion peroxydase (GSH-Px) et les thiols au niveau du foie chez les rats traités ou non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tigzirt EAP, quercétine et/ou l'EPI. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 5 déterminations \pm SEM (n = 5). 61
Tab. 12	Les teneurs en malondialdéhyde (MDA), l'oxyde nitrique (NO), Superoxyde dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathion peroxydase (GSH-Px) et les thiols au niveau du cœur chez les rats traités ou non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tigzirt EAP, quercétine et/ou l'EPI. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 5 déterminations \pm SEM (n = 5). 71

Tab. 13	Les teneurs en malondialdéhyde (MDA), l'oxyde nitrique (NO), Superoxyde dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathion peroxydase (GSH-Px) et les thiols au niveau des reins chez les rats traités ou non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tigzirt EAP, quercétine et/ou l'EPI. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 5 déterminations \pm SEM (n = 5).	82
----------------	---	-----------

Listes des figures

Partie bibliographique

Fig. 1	La structure des anthracyclines	4
Fig. 2	La structure moléculaire des anthracyclines utilisées en clinique	5
Fig. 3	La diffusion des anthracyclines à travers la membrane plasmique	6
Fig. 4	structure de l'épirubicine	7
Fig. 5	Intercalation des anthracyclines dans la molécule d'ADN	8
Fig. 6	Action des anthracyclines par l'intermédiaire de la topoiomérase II dans la molécule d'ADN	9
Fig. 7	Production de RL par réaction enzymatique d'oxydoréduction et formation de peroxydites (ONOO ⁻)	10
Fig. 9	La cardiotoxicité des anthracyclines	13
Fig. 10	Récolte de la propolis	19

Partie expérimentale

Fig. 11	La propolis brute en petit morceaux	29
Fig. 12	L'extrait de la propolis	29
Fig. 13	L'épirubicine pharmaceutique	31
Fig. 14	Schéma descriptif du dispositif expérimental	32
Fig. 15	Chromatogramme d'extrait de propolis à 270 nm	48
Fig. 16	Chromatogramme d'extrait de propolis à 320 nm	48
Fig. 17	le comportement des animaux. A : somnolence, B: redressement des poils, C : hypoactivité des rats traités par l'épirubicine seul, D : activité des rats traités par la propolis.	51
Fig.18	Le poids (g) des rats traités ou/non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tigzirt (EAP), de quercétine et/ou l'épirubicine. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 5 déterminations \pm SEM (n = 5).	52

G1 : Témoin ; G2 : 9 mg/Kg d'épirubicine (7 jours) ; G3 : 100 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G4 : 250 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G5 : 50 mg/kg de quercétine puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours).

Fig. 19 Glycémie (g/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizirt (EAP), de quercétine et/ou l'épirubicine. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 5 déterminations \pm SEM (n = 5). **53**

G1 : Témoin ; G2 : 9 mg/Kg d'épirubicine (7 jours) ; G3 : 100 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G4 : 250 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G5 : 50 mg/kg de quercétine puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours).

Fig. 20 Les teneurs sériques en phosphatase Alcaline PAL (UI/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizirt (EAP), de quercétine et/ou l'épirubicine. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 5 déterminations \pm SEM (n = 5). **55**

G1 : Témoin ; G2 : 9 mg/Kg d'épirubicine (7 jours) ; G3 : 100 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G4 : 250 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G5 : 50 mg/kg de quercétine puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours).

Fig. 21 Les teneurs sériques de l'aspartate aminotransférase ASAT (UI/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizirt (EAP), de quercétine et/ou l'épirubicine. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 5 déterminations \pm SEM (n = 5). **56**

G1 : Témoin ; G2 : 9 mg/Kg d'épirubicine (7 jours) ; G3 : 100 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G4 : 250 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G5 : 50 mg/kg de quercétine puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours).

Fig. 22 Les teneurs sériques de l'alanine aminotransférase (UI/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizirt (EAP), de quercétine et/ou l'épirubicine. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 5 déterminations \pm SEM (n = 5). **57**

G1 : Témoin ; G2 : 9 mg/Kg d'épirubicine (7 jours) ; G3 : 100 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G4 : 250 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G5 : 50 mg/kg de quercétine puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours).

Fig. 23 Les teneurs sériques en gamma glutamyl transférase (UI/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizirt (EAP), de quercétine et/ou l'épirubicine. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 5 déterminations \pm SEM (n = 5). **58**

G1 : Témoin ; G2 : 9 mg/Kg d'épirubicine (7 jours) ; G3 : 100 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G4 : 250 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G5 : 50 mg/kg de quercétine puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours).

Fig. 24 Le taux de la bilirubine totale (mg/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizirt (EAP), de quercétine et/ou l'épirubicine. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 5 déterminations \pm SEM (n = 5). **59**

G1 : Témoin ; G2 : 9 mg/Kg d'épirubicine (7 jours) ; G3 : 100 mg/kg d'EAP (15

jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G4 : 250 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G5 : 50 mg/kg de quercétine puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours).

- Fig. 25** Les teneurs sériques de l'activité enzymatique de 5' nucléotidase (UI/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizgirt (EAP), de quercétine et/ou l'épirubicine. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 5 déterminations \pm SEM (n = 5). **60**
- G1 : Témoin ; G2 : 9 mg/Kg d'épirubicine (7 jours) ; G3 : 100 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G4 : 250 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G5 : 50 mg/kg de quercétine puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours).
- Fig. 26** Coupes histologiques de foie des rats du groupe : a : Témoin ; b et c : 9 mg/Kg d'épirubicine (7 jours) ; d : 100 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; e : 250 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; f : 50 mg/kg de quercétine puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours). **64**
- Fig. 27** Concentration sérique de l'urée (g/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizgirt (EAP), de quercétine et/ou l'épirubicine. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 5 déterminations \pm SEM (n = 5). **68**
- G1 : Témoin ; G2 : 9 mg/Kg d'épirubicine (7 jours) ; G3 : 100 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G4 : 250 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G5 : 50 mg/kg de quercétine puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours).
- Fig. 28** Concentration sérique de la créatinine (mg/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizgirt (EAP), de quercétine et/ou l'épirubicine. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 5 déterminations \pm SEM (n = 5). **69**
- G1 : Témoin ; G2 : 9 mg/Kg d'épirubicine (7 jours) ; G3 : 100 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G4 : 250 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G5 : 50 mg/kg de quercétine puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours).
- Fig. 29** Concentration sérique de l'acide urique (mg/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizgirt (EAP), de quercétine et/ou l'épirubicine. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 5 déterminations \pm SEM (n = 5). **70**
- G1 : Témoin ; G2 : 9 mg/Kg d'épirubicine (7 jours) ; G3 : 100 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G4 : 250 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G5 : 50 mg/kg de quercétine puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours).
- Fig. 30** Coupes histologiques des reins des rats du groupe : a : Témoin ; b et c : 9 mg/Kg d'épirubicine (7 jours) ; d : 100 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; e : 250 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; f : 50 mg/kg de quercétine puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours). **74**
- Fig. 31** Concentration sérique de la CKmb (UI/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizgirt (EAP). de quercétine et/ou l'épirubicine. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 5 déterminations \pm SEM (n = 5). **78**
- G1 : Témoin ; G2 : 9 mg/Kg d'épirubicine (7 jours) ; G3 : 100 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G4 : 250 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G5 : 50 mg/kg de quercétine puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours).

- Fig. 32** Concentration sérique de la troponine ($\mu\text{g/L}$) chez les rats traités ou/non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizgirt (EAP), de quercétine et/ou l'épirubicine. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 5 déterminations $\pm\text{SEM}$ (n = 5). 79
G1 : Témoin ; G2 : 9 mg/Kg d'épirubicine (7 jours) ; G3 : 100 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G4 : 250 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G5 : 50 mg/kg de quercétine puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours).
- Fig. 33** Concentration enzymatique du lactate déshydrogénase (UI/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizgirt (EAP), de quercétine et/ou l'épirubicine. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 5 déterminations $\pm\text{SEM}$ (n = 5). 80
G1 : Témoin ; G2 : 9 mg/Kg d'épirubicine (7 jours) ; G3 : 100 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G4 : 250 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G5 : 50 mg/kg de quercétine puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours).
- Fig.34** Concentration sérique de BNP (pg/mL) chez les rats traités ou/non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizgirt (EAP), de quercétine et/ou l'épirubicine. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 5 déterminations $\pm\text{SEM}$ (n = 5). 81
G1 : Témoin ; G2 : 9 mg/Kg d'épirubicine (7 jours) ; G3 : 100 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G4 : 250 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G5 : 50 mg/kg de quercétine puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours).
- Fig. 35** Coupes histologiques du coeur des rats du groupe : a : Témoin ; b et c : 9 mg/Kg d'épirubicine (7 jours) ; d : 100 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; e : 250 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; f : 50 mg/kg de quercétine puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours). 84
- Fig.36** La teneur en prostaglandine E2 dans les exsudats péritonéaux (pg/mL) chez les rats traités ou/non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizgirt (EAP), de quercétine et/ou l'épirubicine, Les valeurs représentent la moyenne (m) de 5 déterminations $\pm\text{SEM}$ (n = 5). 89
G1 : Témoin ; G2 : 9 mg/Kg d'épirubicine (7 jours) ; G3 : 100 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G4 : 250 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G5 : 50 mg/kg de quercétine puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours).
- Fig. 37** La teneur en TNF- α dans le foie (ng/g) chez les rats traités ou/non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizgirt (EAP), de quercétine et/ou l'épirubicine. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 5 déterminations $\pm\text{SEM}$ (n = 5). 90
G1 : Témoin ; G2 : 9 mg/Kg d'épirubicine (7 jours) ; G3 : 100 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G4 : 250 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G5 : 50 mg/kg de quercétine puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours).

Table des matières

« Effet protecteur de la propolis de Tizirt sur l'hépatotoxicité, la cardiotoxicité et la néphrotoxicité induites par l'épirubicine »

Dédicace

Avant propos

Résumé

ABSTRACT

Liste des abréviations

Liste des tableaux et figures

Table des matières

Partie bibliographique

	Page
Introduction	1
<u>Chapitre I: Généralités sur les anthracyclines et la propolis</u>	
I.1. La chimiothérapie	3
I.2. Les anthracyclines	4
I.2.1. Définition	4
I.2.2. Pharmacologie des anthracyclines	4
I.2.2.1. Structure moléculaire	4
I.2.2.2. Pharmacocinétique	5
I.2.2.3. Absorption et élimination	6
I.2.3.1. l'épirubicine	6
I.2.3.1.1. Structure de l'épirubicine	6
I.2.3.1.2. Propriétés physico-chimiques	7
I.2.3.1.3. Propriétés pharmacologiques	7
I.2.3.1.4. Données pharmaceutiques	7
I.2.4. Toxicité des anthracyclines	8

I.2.4.1. Intercalation du médicament au niveau de l'ADN	8
I.2.4.2. Inhibition de l'enzyme topoisomérase II	9
I.2.4.3. Induction d'un stress oxydatif	9
I.2.4.4. Hypothèse des métabolites toxiques issus du métabolisme des anthracyclines	11
I.2.4.5. Hypothèse liée au niveau de l'apoptose cellulaire induite par les anthracyclines	12
I.2.5. Cardiotoxicité, hépato et néphrotoxicité des anthracyclines	13
I.2.5.1. Cardiotoxicité des anthracyclines	13
I.2.5.1.1. Les différents grades de la toxicité cardiaque	14
I.2.5.1.2. Les types de la cardiotoxicité des anthracyclines	14
I.2.5.2. Néphrotoxicité des anthracyclines	14
I.2.5.2.1. Les différents grades de la néphrotoxicité	15
I.2.5.2.2. Les différents types de la néphrotoxicité	15
I.2.5.3. L'hépatotoxicité des anthracyclines	16
I.2.5.3.2. Les différents grades de l'hépatotoxicité	16
I.2.5.3.3. Les différents types de l'hépatotoxicité	16
I.2.6. Prévention de la toxicité des anthracyclines	16
I.3. La propolis et ses propriétés thérapeutiques.	17
I.3.1. Historique	17
I.3.2. Définition de la propolis	18
I.3.3. Récolte de la propolis	18
I.3.3.1. Récolte de la propolis par les abeilles	18
I.3.3.2. Récolte de la propolis par l'Homme	19
I.3.4. Origine botanique	20
I.3.5. Propriétés physico-chimiques de la propolis	21
I.3.5.1. Propriétés physiques	21
I.3.5.1.1. Consistance	21
I.3.5.1.2. Couleur	21
I.3.5.1.3. Saveur	21

I.3.5.1.4. Odeur	21
I.3.5.2. Propriétés chimiques	21
I.3.5.2.1. Solubilité	21
I.3.5.2.2. Point de fusion	21
I.3.5.2.3. Densité	22
I.3.6. Composition analytique	22
I.3.7. Conservation de la propolis	24
I.3.8. Propriétés thérapeutiques de la propolis	24
I.3.8.1. Activité antioxydante	24
I.3.8.2. Activité anti-inflammatoire	24
I.3.8.3. Activité immunomodulatrice	25
I.3.8.4. Activité anticancéreuse	25
I.3.8.5. Activité antibactérienne	25
I.3.8.6. Activité antivirale	26
I.3.8.7. Activité antifongique et antimycosique	26
I.3.8.8. Activité antiparasitaire	26
I.3.8.9. Activité antiallergique	26
I.3.8.10. Activité analgésique-anesthésiante	26
I.3.8.11. Activité cicatrisante et régénératrice	26
I.3.9. Les apports de la propolis dans les pathologies cancéreuses	27

Partie expérimentale

Chapitre II : Matériels et méthodes

II.1. Origine de la propolis	29
II.2. Préparation de l'extrait de la propolis	29
II.3. Identification chimique de la propolis par HPLC/UV	30
II.4. Matériel chimique (épirubicine)	30
II.5. Animaux, conditions de l'expérience et prélèvements sanguins et d'organes	31
II.6. Dosage des paramètres biochimiques	33

II.6.1. Dosage de la glycémie	34
II.6.2. Dosage des marqueurs de l'hépatotoxicité	34
II.6.2.1. Dosage de l'aspartate aminotransférase (ASAT)	34
II.6.2.2. Dosage de l'alanine aminotransférase (ALAT)	34
II.6.2.3. Dosage de la phosphatase alcaline (PAL)	35
II.6.2.4. Dosage de la 5'-Nucleotidase	35
II.6.2.5. Dosage de la bilirubine totale	35
II.6.2.6. Dosage du gamma GT	36
II.6.3. Dosage des marqueurs de la néphrotoxicité	36
II.6.3.1. Dosage de l'urée	36
II.6.3.2. Dosage de la créatinine	36
II.6.3.3. Dosage de l'acide urique	36
II.6.4. dosage des marqueurs de la cardiotoxicité	37
II.6.4.1. Dosage de la CK mb	37
II.6.4.2. Dosage de la troponine totale	37
II.6.4.3. Dosage du lactate déshydrogénase (LDH)	37
II.6.4.4. Dosage du peptide natriurétique de type B (BNP)	38
II.7. Détermination du statut antioxydant	38
II.7.1. Dosage de la peroxydation lipidique (malondialdéhyde MDA)	38
II.7.2. Le dosage de l'oxyde nitrique	38
II.7.3. Dosage de l'activité enzymatique du superoxyde dismutase (SOD)	39
II.7.4. Dosage de l'activité enzymatique de la catalase (CAT ; EC 1.11.1.6)	40
II.7.5. Dosage de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx)	40
II.7.6. Dosage des thiols	41
II.8. Détermination du statut anti-inflammatoire	42
II.8.1. Dosage de la PGE2	42
II.8.2. Dosage du TNF- α	43
II.9. L'étude histopathologique	43
II.10. Analyse statistique	46

Chapitre III : Résultats et discussions

III.1. Identification de la composition chimique de la propolis par HPLC/UV	47
III.2. Observations cliniques	47
III.3. Effet de l'épirubicine sur le poids corporel et l'action protectrice de l'extrait de la propolis	51
III.4. Effet de l'épirubicine sur la glycémie et l'action protectrice de l'extrait de la propolis	52
III.5. Effet de l'épirubicine sur la fonction hépatique et l'action hépato-protectrice de l'extrait de la propolis	55
III.5.1. la phosphatase alcaline (PAL)	55
III.5.2. l'aspartate aminotransférase (ASAT)	55
III.5.3. l'alanine aminotransférase (ALAT)	56
III.5.4. La gamma glutamyl transférase (γ -GT)	57
III.5.5. Taux de la bilirubine totale (Bil T)	58
III.5.6. Taux de la 5'nucléotidase	59
III.5.7. Statut antioxydant du foie	60
III.5.7.1. Taux du malondialdéhyde (MDA)	60
III.5.7.2. Taux de l'oxyde nitrique (NO)	61
III.5.7.3. Taux du superoxyde dismutase (SOD ; EC 1.15.1.1), de catalase (CAT ; EC 1.11.1.6) et de glutathion peroxydase (GSH-Px)	62
III.5.7.4. Taux des thiols	62
III.5.8. L'étude histologique du foie	62
III.6. Effet de l'épirubicine sur la fonction rénale et l'action protectrice de l'extrait de la propolis	68
III.6.1. L'urémie	68
III.6.2. Créatininémie	69
III.6.3. Taux de l'acide urique	70
III.6.4. Statut antioxydant des reins	70
III.6.4.1. Taux du malondialdéhyde (MDA)	70
III.6.4.2. Taux de l'oxyde nitrique (NO)	71

III.6.4.3. Taux de superoxyde dismutase (SOD ; EC 1.15.1.1), de catalase (CAT ; EC 1.11.1.6) et de glutathion peroxydase (GSH-Px)	72
III.6.4.4. Taux des thiols	72
III.6.5. Histopathologie des reins	73
III.7. Effet de l'épirubicine sur la fonction cardiaque et l'action cardioprotectrice de l'extrait de la propolis	78
III.7.1. Taux de la Créatine kinase mb (CKmb)	78
III.7.2. Taux de la troponine totale	79
III.7.3. Taux du lactate déshydrogénase (LDH)	79
III.7.4. Taux du peptide natriurétique de type B (BNP)	80
III.7.5. Statut antioxydant du cœur	81
III.7.5.1. Taux du malondialdéhyde (MDA)	81
III.7.5.2. Taux de l'oxyde nitrique (NO)	82
III.7.5.3. Taux de superoxyde dismutase (SOD ; EC 1.15.1.1), de catalase (CAT ; EC 1.11.1.6) et de glutathion peroxydase (GSH-Px)	82
III.7.5.4. Taux des thiols	83
III.7.6. L'étude histologique du cœur	83
III.8. Effet de l'épirubicine sur les biomarqueurs de l'inflammation	88
III.8.1. Taux de la prostaglandine E2 (PGE2)	88
III.8.2. Taux des TNF- α	89
Conclusion et perspectives	94
Références bibliographiques	96
Annexes	
Publication	

Introduction

Le cancer est une maladie liée à la prolifération incontrôlée de certaines cellules devenues anormales pouvant former une tumeur maligne et même se propager à travers le corps, et il constitue par l'importance du nombre de personnes qu'il atteint un problème majeur de santé publique. En effet, d'après les projections de l'Organisation Mondiale de la Santé (Lodish et al., 2005; OMS, 2006), plus de 8.2 millions de gens meurent du cancer chaque année et ce nombre devrait augmenter de 50 %, d'ici 2020 (OMS, 2013).

La chimiothérapie représente une voie standard des traitements antitumoraux. Les anthracyclines font parties des médicaments de la chimiothérapie le plus souvent indiqués.

L'épirubicine (EPI), appartenant à la famille des anthracyclines, est l'un des agents chimiothérapeutiques le plus efficace utilisé dans le traitement d'une variété de tumeurs solides et hématologiques malignes (Judson et al., 2014). Son efficacité anti-tumorale est dose-dépendante, mais son utilisation clinique est limitée par le développement des toxicités cardiaques, hépatiques et néphrotiques.

Plusieurs hypothèses ont été suggérées concernant les mécanismes de la toxicité induite par les anthracyclines. Il a été rapporté que les radicaux libres de l'oxygène (RLO) et la peroxydation lipidique jouent un rôle essentiel dans la cardiomyopathie provoquée par les anthracyclines (Singaletlliskovic, 1998). En effet, la plupart des études mettent en jeu le rôle du stress oxydatif dans ce processus qui est induit par la formation des RLO découlant de la structure chimique de l'épirubicine ayant tendance à générer des espèces réactives de l'oxygène durant la métabolisation du médicament (Mukhopadhyay et al., 2009; Stěrba et al., 2013).

Par ailleurs, la prévalence des cancers augmente avec l'âge dans un contexte où les pathologies cardiovasculaires, hépatiques et néphrotiques deviennent plus fréquentes (Crivellari et al., 2000). Il est donc important d'étudier les effets hors-cible de la thérapie anticancéreuse d'appoint dans des conditions de stress. En effet, il y a très peu de travaux combinant la toxicité des anthracyclines.

Au cours des dernières décennies, et malgré la découverte de nouveaux composés en chimie de synthèse, les sources naturelles restent le principal fournisseur de nouveaux médicaments et de nouvelles structures chimiques. Nous assistons donc à un regain de la phytothérapie surtout pour les produits riches en polyphénols, et principalement en flavonoïdes qui ont montré des propriétés biologiques antioxydantes intéressantes (Kurek-Górecka *et al.*, 2013; Georgiev *et al.*, 2014).

Dans ce cadre, de nombreuses molécules antioxydantes ont été proposées comme protectrices de la toxicité (Du et Lou, 2008; Vincent *et al.*, 2013), mais des controverses existent encore sur les études cliniques. Il n'y a donc aujourd'hui aucune substance mise sur le marché qui protège réellement les organes contre les effets toxiques des anthracyclines. Ainsi, la recherche d'agents protecteurs constitue une voie d'exploration toujours ouverte.

Parmi ces substances protectrices, nous nous sommes intéressés à la propolis, qui est une substance naturelle résineuse collectée par les abeilles soit sur des bourgeons d'arbres tels que le peuplier, le chêne, l'aulne, etc., soit sur des conifères, amalgamés à une sécrétion salivaire des abeilles (Jianchun *et al.*, 2007).

Ces dernières années de nombreux travaux ont montré que cette substance est composée essentiellement de flavonoïdes. Cette composition varie en fonction de son origine, de l'espèce d'abeille et du temps de la récolte (Boufadi *et al.*, 2014). On lui reconnaît de nombreuses propriétés : antibactérienne (Boufadi *et al.*, 2016), antiallergique (Yasar *et al.*, 2016), anti-inflammatoire (El-Guendouzet *et al.*, 2017), antioxydante (Boufadi *et al.*, 2014), anticancéreuse (Zabaïou *et al.*, 2017), activité immunomodulatrice (Soltani *et al.*, 2017), etc.

Au vu de ces données, nous avons décidé de nous intéresser à l'effet protecteur de la propolis de Tizirt contre l'hépatotoxicité, cardiotoxicité et la néphrotoxicité induite par l'épirubicine chez les rats Wistar.

Ce manuscrit est organisé en trois chapitres dont le premier est une revue bibliographique faisant le point sur les effets secondaires des anthracyclines et les vertus thérapeutiques de la propolis, le second chapitre décrit le matériel et les méthodes utilisés lors du travail expérimental, un troisième et dernier chapitre présente les résultats qui y sont discutés et confrontés à ceux d'autres auteurs.

Chapitre I: Généralités sur les anthracyclines et la propolis

I.1.La chimiothérapie

La chimiothérapie comprend l'utilisation d'agents chimiques pour arrêter la croissance et à éliminer les cellules cancéreuses, même à des emplacements éloignés de l'origine de la tumeur primaire, les anthracyclines sont parmi les médicaments les plus efficaces actuellement disponibles pour le traitement des maladies néoplasiques (Chang *et al.*, 2011 ; Shivani *et al.*, 2014 ; Mauro *et al.*, 2017) (tableau 1).

Tableau 1 : Médicaments les plus utilisés dans la chimiothérapie (Tannock et Hill, 1998).

<p><u>Agent alkylants</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Moutard azotée • Chlorambucil • Melphalan • Cyclophosphamide • Nitroso-urée • Ifosfamide • Actinomycine D • Busulfan • Belemomycine <p><u>Antimétabolites</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Méthotrexate • 5-Fluorouracil • Cytosine Arabinoside • 6-Thiouanine • Gemcitabine • Carboplatine 	<p><u>Produits naturels et leurs dérivés</u></p> <p><u>Anthracyclines</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Doxorubicine • Daunorubicine • Epirubicine • Mitoxantrone • Mitomycines C <p><u>Alcaloïdes Vinea</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Vinblastine • Vincristine • CCNU • Vindesine • Etoposide (VP-16) • Camptothécine <p><u>Taxanes</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Paclitaxel • Docetaxel <p><u>Autres agents</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Cisplatine
---	--

I.2. Les anthracyclines

I.2.1. Définition

Les anthracyclines sont une famille de médicaments anticancéreux d'origine naturelle, isolés comme les antibiotiques de micro-organismes (actinobactéries du genre *Streptomyces*). Ces molécules sont fluorescentes et de couleur rubis (suffixe -rubicine) (Pai et Nahata, 2008).

I.2.2. Pharmacologie des anthracyclines

I.2.2.1. Structure moléculaire

Les anthracyclines sont d'origine fongique, ils sont constitués d'une partie chromophore composée de 4 anneaux aromatiques et d'un sucre (daunosamine) (fig.1).

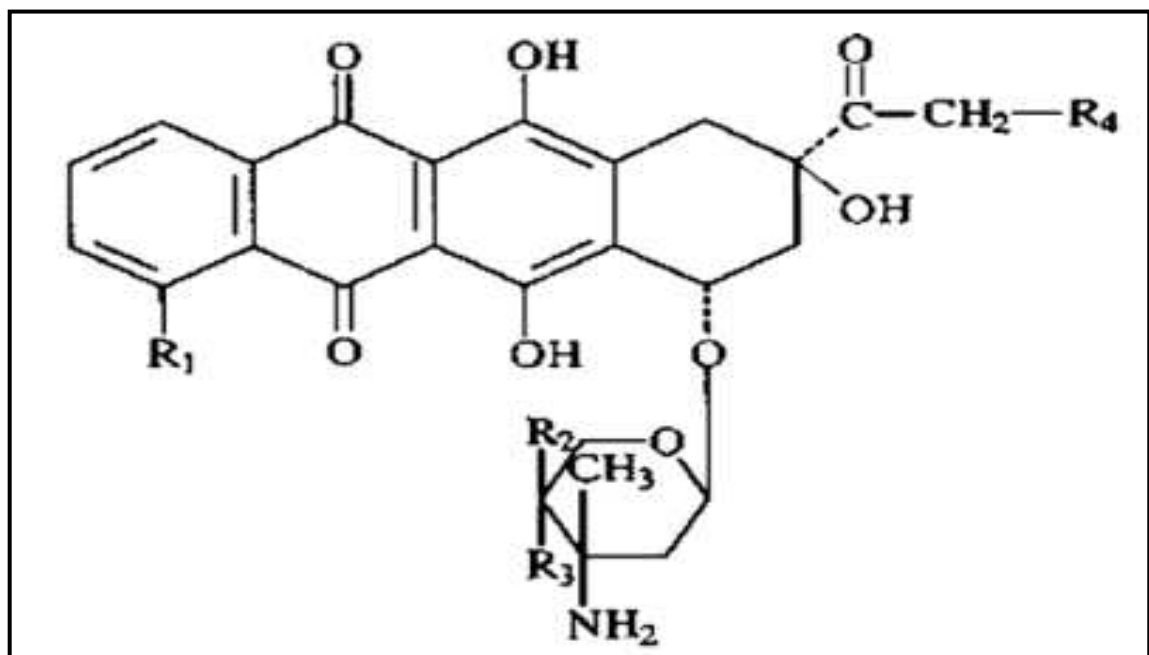


Figure 1: La structure des anthracyclines (Praet et al., 1990).

Elles possèdent la structure polyaromatique des tétracyclines, avec un amino-sucre, la daunosamine, qui est attachée par une liaison glycosidique. Les agents cytotoxiques de cette classe ont tous une structure quinone et hydroquinone, qui leur permet de fonctionner comme accepteur et donneur d'électrons (Praet et al., 1990).

La structure moléculaire des diverses anthracyclines utilisées en clinique est représentée dans la (fig. 2).

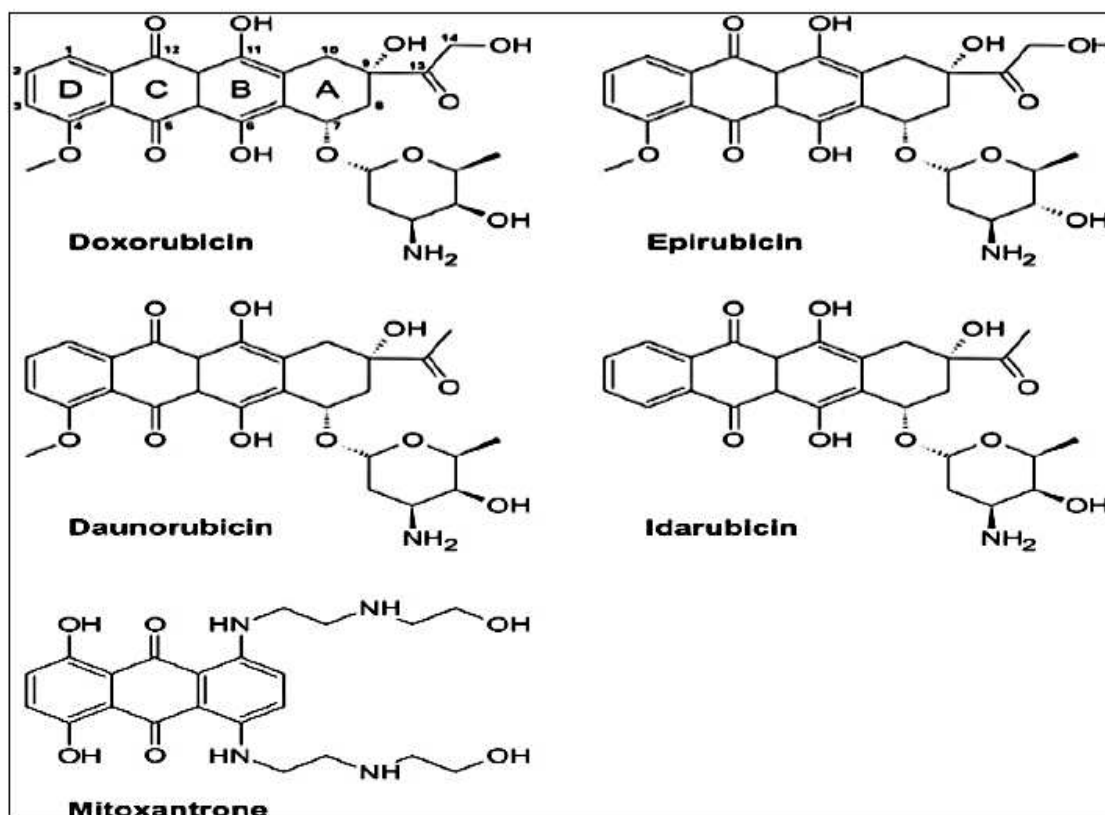


Figure 2: La structure moléculaire des anthracyclines utilisées en clinique (Sacco et al.,2003).

I.2.2.2. Pharmacocinétique

Les agents anticancéreux ont une fenêtre thérapeutique très étroite, et leurs caractéristiques pharmacologiques et pharmacocinétiques doivent être particulièrement prises en compte afin d'optimiser l'efficacité des traitements tout en minimisant leur toxicité. Il est généralement admis que l'activité d'un agent anticancéreux dépend de sa concentration et de la durée pendant laquelle il est au contact de la tumeur. Or, le plus souvent, la dose efficace est très proche de la dose toxique, et c'est donc le schéma d'administration. L'hydrophobicité de la doxorubicine associée à sa nature de base faible non chargée lui permet de diffuser passivement à travers la membrane plasmique par un mouvement de flip-flop du feuillet externe au feuillet interne (fig. 3) (Borst et al., 2000).

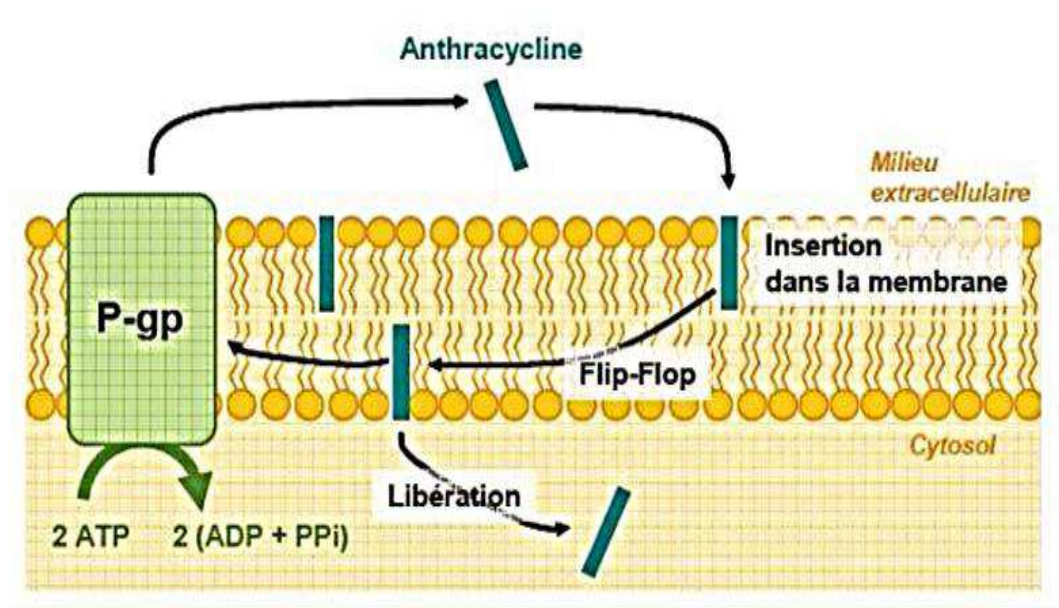


Figure 3: La diffusion des anthracyclines à travers la membrane plasmique (Singh *et al.*, 2006).

I.2.2.3. Absorption et élimination

Les anthracyclines sont habituellement administrées par voie intraveineuse, généralement en perfusion, leur demi-vie plasmatique est courte et elles sont rapidement éliminées du plasma. L'élimination par voie biliaire dépasse 50% (avec une faible fixation aux protéines plasmatiques) et par voie urinaire dans 10% (Fagerholm *et al.*, 2007). La courbe d'élimination de la doxorubicine est multiphasique, et le temps d'élimination est de 30h. La glycoprotéine P diminue leur activité en les faisant sortir de la cellule. Ces substances sont rapidement captées par différents organes : cœur, reins, poumons, foie et rate (Vici *et al.*, 2007). Elles ne traversent pas la barrière hémato-encéphalique. La daunorubicine, la doxorubicine et leurs dérivés sont éliminés après conversion métabolique en une variété de substances inactives ou moins actives (Jain, 2000).

I.2.3. l'épirubicine

I.2.3.1. Structure de l'épirubicine

L'épirubicine est un traitement de la chimiothérapie appartient à la famille des anthracyclines utilisé dans le traitement des cancers (fig.4). Il s'agit d'un isomère de la doxorubicine (4'-épi-doxorubicine), elle se fixe rapidement sur les structures nucléaires de la cellule, bloquant la synthèse de l'ADN et de l'ARN, c'est un agent intercalant au niveau de l'ADN (conte, 2000).

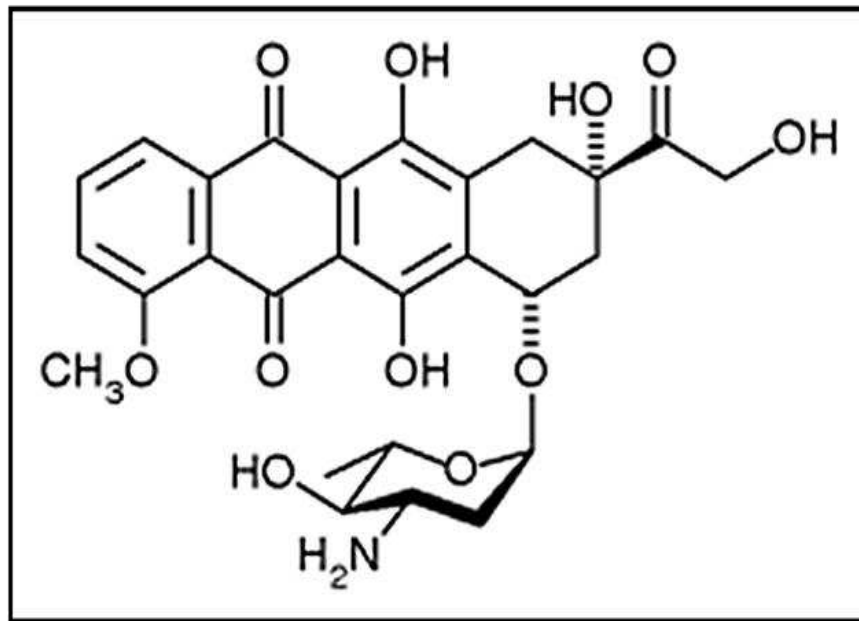


Figure 4: structure de l'épirubicine (Heron, 2010).

I.2.3.2. Propriétés physico-chimiques

- **Description physique :** Solide
- **Masse moléculaire :** 543,525 g/mol
- **Point de fusion :** 344,53 °C
- **Solubilité :** Dans l'eau, 93 mg/L à 25 °C
- **Décomposition :** Lorsque chauffé jusqu'à décomposition, émet des fumées toxiques de / oxydes d'azote (George, 2012).

I.2.3.3. Propriétés pharmacologiques

Classe pharmaco thérapeutique : anthracyclines et apparentés.

L'épirubicine appartient au groupe des antibiotiques anthracyclines. L'épirubicine se lie à l'ADN et inhibe l'action des acides nucléiques polymérase (Baldini, 2004).

I.2.3.4. Données pharmaceutiques

a. Liste des excipients

Acide chlorhydrique, chlorure de sodium, eau pour préparations injectables.

b. Incompatibilités

L'épirubicine ne doit pas être mélangée à de l'héparine, en raison du risque de précipitation.

c. Durée de conservation

Avant ouverture : 2 ans.

Après la première ouverture, la stabilité physico-chimique en cours d'utilisation du produit dilué dans une solution de chlorure de sodium à 0,9% ou dans une solution de glucose à 5 % a été démontrée pendant 12 heures à une température ne dépassant pas 25°C.

Toutefois, du point de vue microbiologique, le produit doit être utilisé immédiatement. En cas d'utilisation non immédiate, les durées et les conditions de conservation après dilution et avant utilisation relèvent de la seule responsabilité de l'utilisateur et ne devraient pas dépasser 24 heures à 2-8 °C.

d. Précautions particulières de conservation

- A conserver au réfrigérateur (entre 2 à 8°C).
- Conserver le flacon dans l'emballage d'origine, à l'abri de la lumière.
- Ne pas congeler (George, 2012).

I.2.4. Toxicité des anthracyclines

I.2.4.1. Intercalation du médicament au niveau de l'ADN

Les anthracyclines s'intercalent directement dans le petit sillon de la double hélice d'ADN par formation de liaisons hydrogènes. De plus, la partie glucidique des anthracyclines interagit avec les protéines régulatrices de l'ADN ce qui a pour conséquence une inhibition de la réplication et de la transcription de l'ADN (fig.5) (Jain et al., 2005).

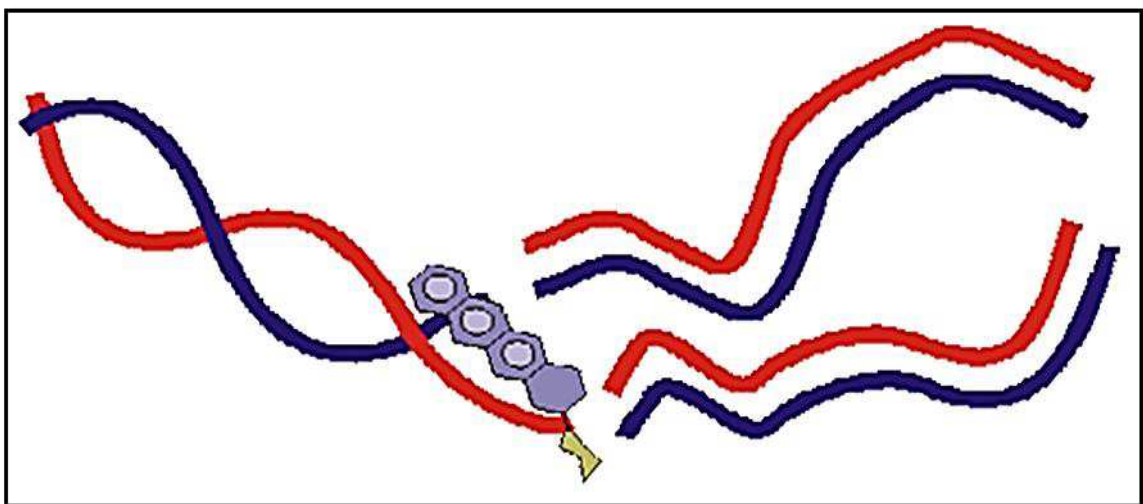


Figure 5: Intercalation des anthracyclines dans la molécule d'ADN (Miura et al., 2000).

I.2.4.2. Inhibition de l'enzyme topoisomérase II

Récemment connu, semble le principal mécanisme de cytotoxicité anti-tumorale. Cette enzyme est responsable de la conservation de la structure tridimensionnelle de l'ADN. La présence de la molécule d'anthracyclines au niveau du complexe topoisomérase II-ADN stabilise les coupures double brins et inhibe l'action de l'enzyme chargée de relier les extrémités libres des brins coupés (fig. 6) (Maraldi *et al.*, 2002).

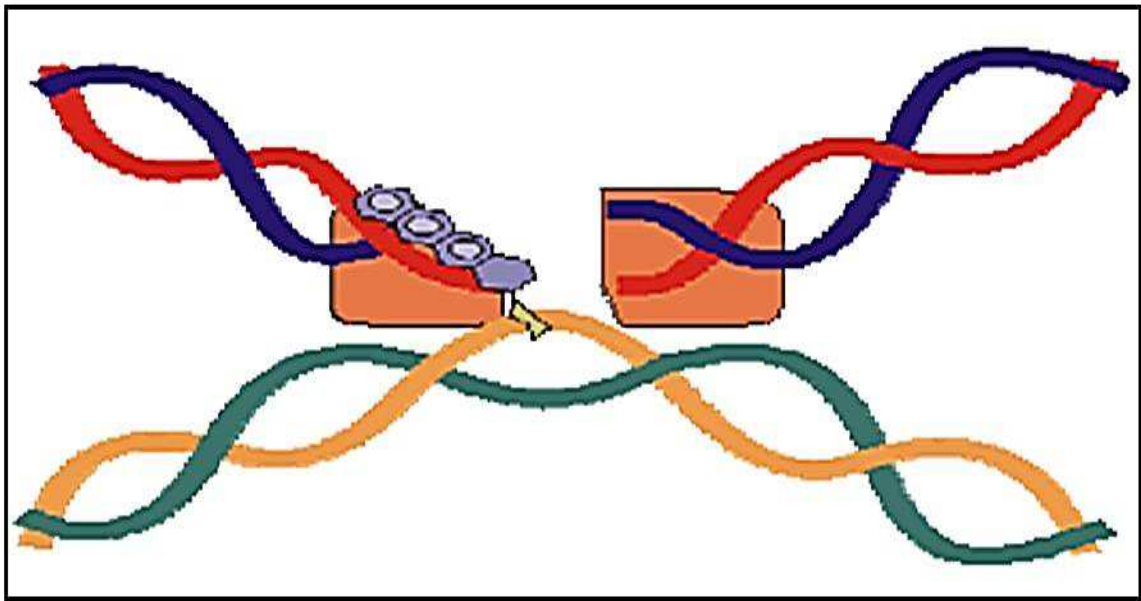


Figure 6: Action des anthracyclines par l'intermédiaire de la topoisomérase II dans la molécule d'ADN (Maraldi *et al.*, 2002).

I.2.4.3. Induction d'un stress oxydatif

L'activité pharmacologique des anthracyclines provient de réactions d'oxydoréduction avec formation d'intermédiaire semi-quinone par gain d'un électron cédé par le NADPH et génération d'eau oxygénée, H_2O_2 , de radicaux libres oxygène et OH. La conjugaison de la partie hydroquinone de la molécule d'anthracycline avec le fer ferrique intracellulaire peut conduire à la production non enzymatique de RL (fig.7) (Lanzarini *et al.*, 2000). L'hypothèse du développement d'un stress oxydatif induit par les anthracyclines a été largement documentée. L'augmentation de la production de RL associée à une diminution des systèmes de défenses antioxydantes serait à l'origine des atteintes irréversibles observées au niveau des cellules (Lanzarini *et al.*, 1991).

a- Formation d'espèces activées de l'oxygène lors du métabolisme des anthracyclines

Les anthracyclines sont capables d'induire une production accrue de RL oxygénés, du fait de leur structure de type quinone, pouvant subir une réduction, catalysée par les flavines réductases (NADPH-cytochrome P-450 réductase, NADH déshydrogénase), pour aboutir à la formation d'un dérivé semi-quinone radicalaire (Lanzarini *et al.*, 1991).

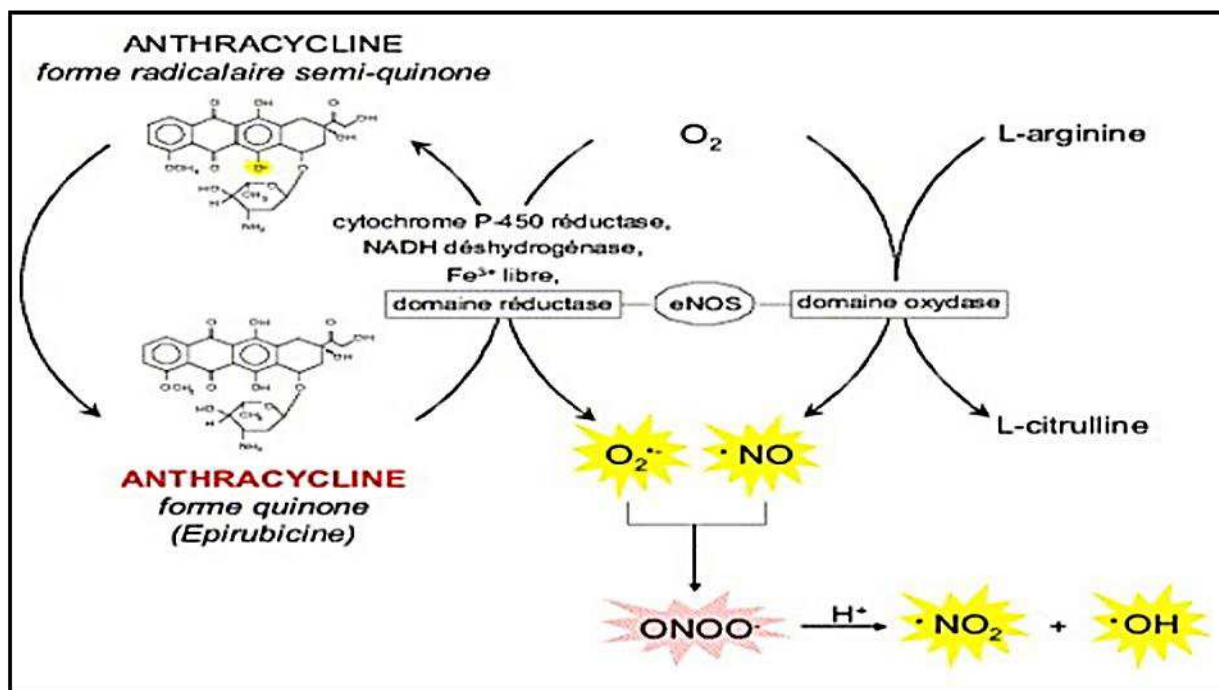


Figure7: Production de RL par réaction enzymatique d'oxydoréduction et formation de peroxynitrites (ONOO \cdot) (Lanzarini *et al.*, 2000).

Une deuxième voie de génération de radicaux libres par les anthracyclines par la formation d'un complexe organométallique entre les anthracyclines et le fer. Au sein de la cellule, l'ion ferrique Fe^{3+} libre, libéré de ses sites de stockage, transferrine et ferritine par l'attaque des anthracyclines se lie à trois molécules d'anhracyclines pour former un complexe stable : Fe^{3+} (anhracyclines). Ce complexe peut subir une oxydoréduction, donnant naissance à un complexe radicalaire Fe^{2+} (anhracyclines) qui peut céder son électron à l' O_2 moléculaire et aboutir ainsi à la formation de radicaux $O_2^{\cdot-}$ (Siveski *et al.*, 1994).

En l'absence de métaux de transition libres (fer, cuivre), les radicaux $O_2^{\cdot-}$ ne sont pas très toxiques pour les structures environnantes, car ils sont transformés en peroxyde d'hydrogène

(H₂O₂). L'H₂O₂ peut ensuite être décomposé en eau et moléculaire grâce à l'action des catalases et des glutathions peroxydases (GSH-Px) (Sayed-Ahmed et al., 1999).

b- Formation d'espèces activées de l'azote par interactions entre les espèces radicalaires

Du fait du contexte inflammatoire induit par les anthracyclines une grande quantité de L'oxyde nitrique (NO). De plus, les anthracyclines peuvent être réduites par le domaine réductase des oxydes nitriques synthases endothéliales (eNOS) en dérivé radicalaire semi-quinonique qui, en présence d'O₂ moléculaire, peut conduire à la formation d'O₂^{•-}. Il a été démontré que la production concomitante de grandes quantités d'O₂^{•-} et de NO pouvait induire la formation de peroxynitrite (ONOO⁻), qui pouvait lui-même générer le radical OH[•] indépendamment des processus faisant intervenir le fer (Sayed-Ahmed et al., 1999).

c- Aspects toxiques cellulaires de la production d'espèces oxydantes par les anthracyclines

La production de RL par les anthracyclines au sein des cellules, entraîne une peroxydation lipidique responsable de l'altération des fonctions membranaires. L'homéostasie calcique est alors perturbée, il s'ensuit une diminution de la contractilité musculaire, ainsi qu'un défaut de relaxation par « excès » du Ca²⁺ disponible au niveau des myofibrilles. De plus, le stress oxydatif associé peut induire directement des lésions mitochondriales avec une apoptose. La formation de ONOO⁻, au sein des cellules, pourrait également jouer un rôle important dans la toxicité des anthracyclines (Kakinuma et al., 2006).

I.2.4.4. Hypothèse des métabolites toxiques issus du métabolisme des anthracyclines

Par exemple, l'épirubicinol, métabolite de l'épirubicine, formé dans le cytosol par des enzymes NADPH dépendantes serait moins actif sur le plan tumoral mais plus toxique sur le cœur que son précurseur, l'épirubicine. Ce métabolite est capable d'inhiber certaines ATPases (adénosine triphosphatase) Ca²⁺ dépendantes du réticulum sarcoplasmique tel que la SERCA 2a. Ces métabolites, une fois formés dans les cellules, pourraient altérer les mouvements ioniques, en particulier les transferts calciques (Kakinuma et al., 2006).

I.2.4.5. Hypothèse liée au niveau de l'apoptose cellulaire induite par les anthracyclines

L'action proapoptotique des anthracyclines est en partie initiée par les radicaux libres, qui activent la protéine p53 et sa fixation sur l'ADN. La p53 y active la transcription du gène Bax (médiateur proapoptotique), inhibe celle du gène Bcl-XL (médiateur antiapoptotique). Bax induit la libération du cytochrome c par la mitochondrie, par ouverture du pore mitochondrial, tandis que Bcl-XL a l'effet inverse. Cette libération du cytochrome c entraîne la formation de l'apoptosome, complexe effecteur comprenant l'apoptosis activating factor-1 (Apaf-1), le cytochrome c et la pro-caspase-9. La p53 interagit aussi avec la topoisomérase II, dont elle inhibe la fonction ligase (fig. 8) (Kakinuma *et al.*, 2006).

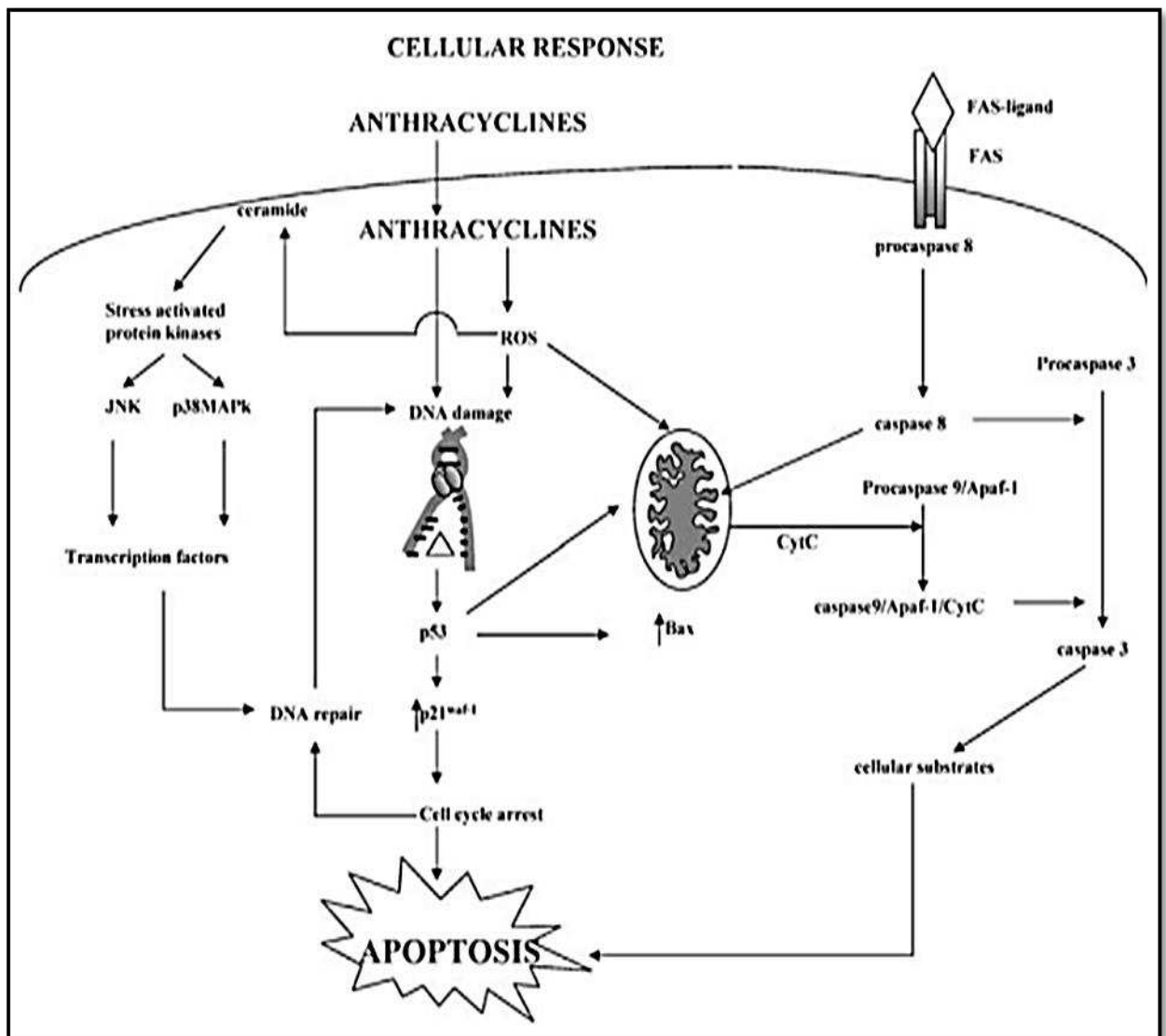


Figure 8: Théorie de métabolites toxiques des anthracyclines (Kakinuma *et al.*, 2006).

I.2.5. Cardiotoxicité, hépatotoxicité et néphrotoxicité des anthracyclines

I.2.5.1. Cardiotoxicité des anthracyclines

La toxicité cardiaque des anticancéreux est spécifique à certains médicaments (fig. 9). Elle est le plus souvent dose-dépendante et cumulative. Elle peut apparaître dès la 48^{ème} heure après le traitement (toxicité aiguë) ou plusieurs jours ou mois après l'injection (toxicité chronique). Cette toxicité est le plus souvent irréversible se traduisant par une insuffisance cardiaque congestive de constitution progressive, réfractaire aux traitements (Talabert *et al.*, 2013).

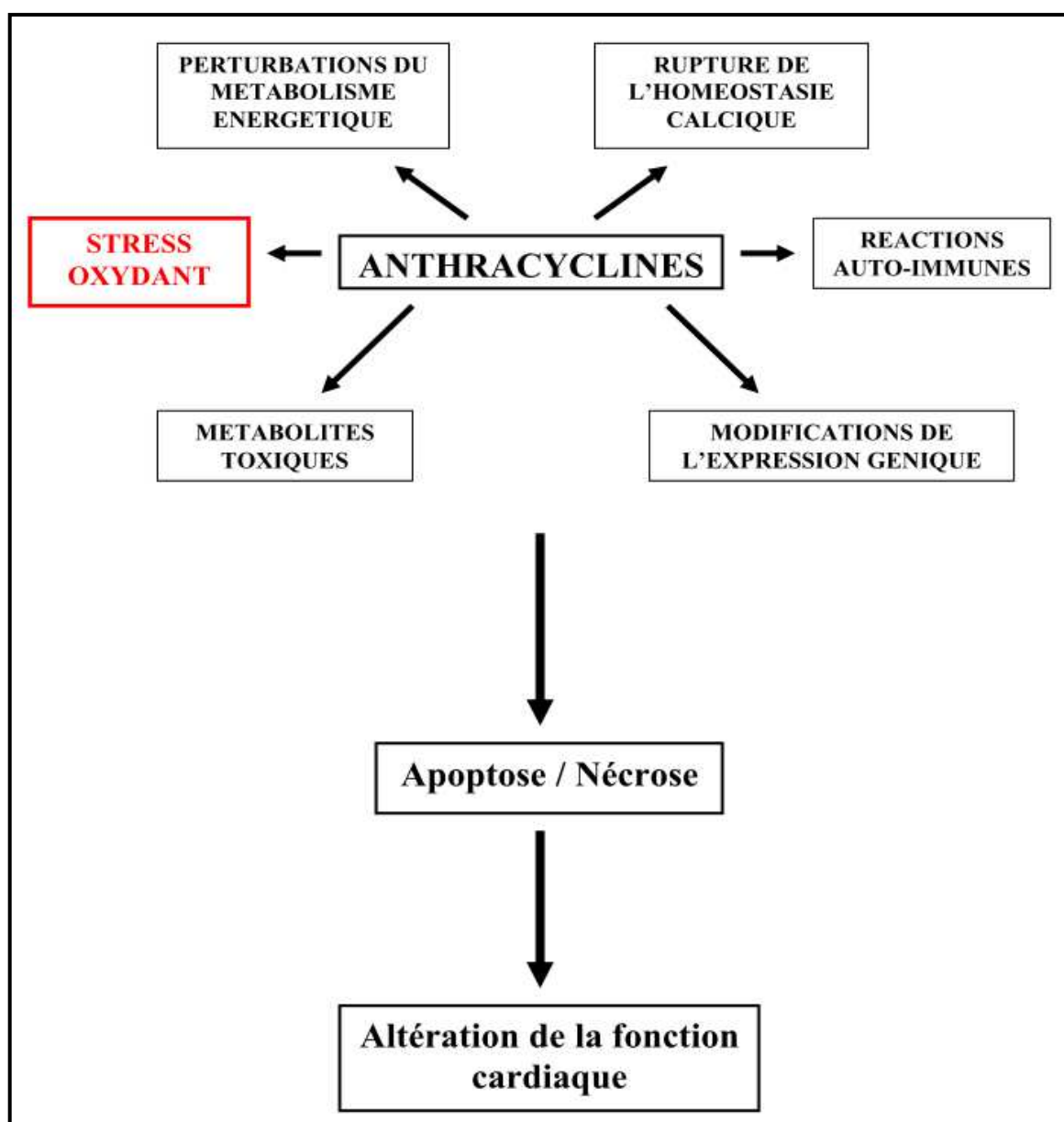


Figure 9: La cardiotoxicité des anthracyclines (Talabert *et al.*, 2013).

I.2.5.1.1. Les différents grades de la toxicité cardiaque

Ce sont surtout les anthracyclines qui sont impliquées : doxorubicine, épirubicine le plus souvent, par formation de radicaux libres (complexes fer-anthracyclines cardiotoxiques). Elles sont à l'origine d'une toxicité cumulative, irréversible, se traduisant par une insuffisance cardiaque (tableau 2) (Fondrinier et al., 2004).

Tableau 2: Les grades de la cardiotoxicité (OMS, 2010).

	Grade 0	Grade 1	Grade 2	Grade 3	Grade 4
Rythme cardiaque	Pas de changement	Tachycardie > 110 au repos	Extrasystole, arythmie sinusale	Extrasystoles nécessitant le traitement	Tachycardie ventriculaire

I.2.5.1.2. Les types de la cardiotoxicité des anthracyclines

✓ une cardiotoxicité aiguë

Apparaît pendant ou peu de temps après l'administration du traitement. Elle se traduit cliniquement par des troubles du rythme compliqués chez certains patients d'une myocardite (Senkus et al., 2011).

✓ une cardiotoxicité subaiguë

Apparaît quelques semaines après l'administration du traitement et qui se présente cliniquement sous la forme d'une myo-péricardite. Elle est rare mais responsable de 60% de mortalité (Senkus et al., 2011).

✓ une cardiotoxicité chronique

Se manifeste généralement dans l'année suivant le début du traitement. Elle conduit à une dysfonction ventriculaire gauches sévère et l'apparition d'une insuffisance cardiaque congestive (Senkus et al., 2011).

I.2.5.2. Néphrotoxicités anthracyclines

La chimiothérapie anticancéreuse peut avoir des effets néphrotoxiques qui sont caractérisées par une diminution du taux de filtration glomérulaire et un dysfonctionnement

tubulaire proximal. L'évolution ultime est caractérisée par la nécrose de l'épithélium tubulaire. L'insuffisance rénale chronique est irréversible mais les effets cliniques peuvent être limités à une élévation de l'urée et de la créatinine (Monassier, 2012).

I.2.5.2.1. Les différents grades de la néphrotoxicité

Certains traitements anticancéreux présentent une toxicité rénale. Une meilleure connaissance de cette néphrotoxicité et de ses mécanismes permettrait une meilleure prise en charge du patient ainsi qu'une appréhension efficace d'une éventuelle dégradation de la fonction rénale suite à l'administration de ce type de médicament (tableau 3) (Deray et al., 2010).

Tableau 3: Différents grades de la toxicité rénale (OMS, 2010)

	Grade 0	Grade 1	Grade 2	Grade 3	Grade 4
Créatinine	<1.25	1.26-2.5	2.6-5	5.1-10	>10
Protéinurie (g/24h)	Absence	<0.3	0.3-1	>1	Syndrome néphrotique
Hématurie	Absence	Microscopique	Microscopique	Microscopique avec caillot	Anurie

I.2.5.2.2. Les différents types de la néphrotoxicité

La néphrotoxicité peut être à la fois aiguë et chronique, liée à une atteinte glomérulaire :

✓ La néphrotoxicité aiguë

Associée à des altérations de l'hémodynamique intra-rénale et à une réduction du débit de filtration glomérulaire qui débute précocement après l'initiation du traitement. (Doros, 2014).

✓ La néphrotoxicité chronique

Se caractérise par une atrophie tubulaire, une fibrose interstitielle et une glomérulosclérose et peut être évolué vers une insuffisance rénale chronique (Doros, 2014).

Les médicaments de la chimiothérapie entraînent une coloration des urines pendant les heures qui suivent la perfusion (jaune foncé pour le méthotrexate, rouge avec les anthracyclines, bleue avec la mitomycine) (Doros, 2014).

I.2.5.3 L'hépatotoxicité des anthracyclines

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

I.2.5.3.1. Les différents grades de l'hépatotoxicité

Les anthracyclines présentent une toxicité hépatique cumulative qui se manifeste par une élévation des transaminases de 50 à 90%, avec possibilité de fibrose hépatique, voire de cirrhose hépatique (tableau 4).

Tableau 4: Différents grades de la toxicité hépatique (OMS, 2010)

	Grade 0	Grade 1	Grade 2	Grade 3	Grade 4
ASAT/ALAT	<1,25 fois la normale	1,26-2,5 fois la normale	2,6-5 fois la normale	5,1-10 fois la normale	>10 fois la normale

I.2.5.3.2. Les différents types de l'hépatotoxicité

✓ Toxicité aiguë

Stéatose, Cholestase, Nécrose hépatique (cytolyse hépatique ou hépatite) (Kaplowitz, 1997).

✓ toxicité chronique

Hépatite chronique qui peut à l'origine d'une insuffisance hépatique telle que la fibrose, cirrhose et tumeurs (Kaplowitz, 1997).

I.2.6. Prévention de la toxicité des anthracyclines

Afin de prévenir les effets toxiques des anthracyclines, différentes stratégies peuvent être employées dont la diminution de la dose cumulée totale, le mode d'administration ou l'administration d'antioxydants (Delemasure et al., 2006).

I.2.6.1. Diminution de la dose cumulée totale des anthracyclines

La diminution de la dose cumulée totale des anthracyclines chez l'adulte est à ce jour la prévention la plus efficace contre les complications. Néanmoins, ce protocole limite l'efficacité du traitement anti-tumoral. La prise en compte du bénéfice sur l'activité anti-tumorale est donc indispensable avant la diminution ou l'arrêt du traitement compte-tenu des variations interindividuelles importantes (Delemasure et al., 2006).

I.2.6.2. Mode d'administration des anthracyclines

Une autre approche consiste à modifier le protocole d'administration des anthracyclines. Ainsi, une perfusion continue sur plusieurs jours plutôt qu'une injection en bolus permet de diminuer les risques de complications (Delemasure et al., 2006).

I.2.6.2. Utilisation des antioxydants

Pendant de nombreuses années, la génération d'un stress oxydant était l'hypothèse la plus favorisée expliquant les effets toxiques des anthracyclines. Efficaces sur de nombreux modèles animaux, de nombreux antioxydants ont été testés dans des essais cliniques dont l'acétylcystéine, la vitamine E, polyphénols, probucol, etc. (Delemasure et al., 2006).

Dans ce cadre, de nombreuses molécules antioxydantes ont été proposées comme protectrices de la toxicité (Du et Lou, 2008),

La propolis est une de ces molécules anti-oxydantes. Son utilisation sans avoir été permanente s'est poursuivie au fil des années jusqu'à ce qu'elle soit redécouverte de façon relativement récente (Segueni, 2011). Mais des controverses existent encore sur les études cliniques. Il n'y a donc aujourd'hui aucune substance mise sur le marché qui protège réellement les organes des effets toxiques des anthracyclines. Ainsi, la recherche d'agents protecteurs constitue une voie d'exploration toujours ouverte.

I.3. La propolis et ses propriétés thérapeutiques

I.3.1. Historique

Le mot propolis a été dérivé du grec dans le quelle morphème «Pro» signifie «devant» ou «à l'entrée de» et le morphème «polis» signifie «communauté» ou «ville» ce qui signifie

substance de défense de la ruche (Chandna et al., 2014; Aminimoghadamfarouj et Nematollahi, 2017; Yumnam et al., 2017).

Connue déjà des prêtres de l’Égypte antique où elle servait à momifier les cadavres, la propolis fut très certainement utilisée par les Grecs anciens puisque Aristote la signale comme un remède aux affections de la peau, plaies et suppurations dans son « Histoire des animaux ». Les Romains l’ont donné à tous les soldats pour soigner leurs blessures pendant les différentes invasions, ainsi plusieurs activités de guérison de la propolis été identifiées par les médecins grecs (Golder, 2004 ; Elnakady et al., 2017; Ferreira et al., 2017).

Les textes hébreux la nommaient « tzori » et les propriétés thérapeutiques sont décrites dans l’ancien Testament. Dans un texte coranique, nous avons relevé ce paragraphe qui fait allusion à la propolis : «Habite les montagnes, les arbres et les ruches, puis mange de tous les fruits et suit humblement les voies de ton Seigneur. Il sort de leur ventre une boisson de diverses couleurs salubre pour les Hommes. En cela il y a un signe pour les gens qui réfléchissent » (Sourate : L’abeille, Verset : 68-69).

Les ouvrages du moyen âge européen décrivent même les préparations médicales à base de propolis pour les traitements des maladies de la sphère ORL et de la respiration. Son activité anesthésiante reconnue permet à cette époque la chirurgie des fentes labiales chez l’enfant (Blanc, 2010).A la fin du XIX^{ème} siècle, la propolis était en plein essor grâce à ses vertus médicinales, employée sous forme d’onguent, d’emplâtre, de lotion ou de fumigation. De nos jours, elle est utilisée surtout en Europe de l’est, au Brésil, en Asie et notamment au Japon (Blanc, 2010 ; Machado et al., 2017).

I.3.2. Définition de la propolis

La propolis désigne toute une série de substances résineuses, gommeuses et balsamiques, de consistance visqueuse(Abdulrhman et al., 2012), recueillies par les abeilles sur certaines parties de végétaux (essentiellement les bourgeons et les écorces de certains arbres), substances qu’elles rapportent la ruche et qu’elles modifient vrai semblablement en partie par l’apport de certaines de leurs propres sécrétions (cire et sécrétions salivaires principalement) (Donadieu, 2008 ; Harfouch et al., 2016).

I.3.3. Récolte de la propolis

I.3.3.1. Récolte de la propolis par les abeilles

Le nombre de butineuses, spécialisées dans la récolte des résines et la fabrication de la propolis est relativement restreint au sein d'une colonie d'abeilles (Banskota *et al.*, 2001; Ciftci-Yilmaz *et al.*, 2017) (fig. 10). Les ouvrières butineuses localisent la source de résines et broient celle-ci avec leurs mandibules, les mélangent à d'autres substances de leurs propres sécrétions afin de fabriquer de la propolis. Une fois fabriquée, la propolis est transportée à la ruche dans les corbeilles situées dans les pattes postérieures de l'abeille (Harfouch *et al.*, 2016).



Figure 10 : Récolte de la propolis (Segueni, 2011).

La quantité de propolis fabriquée dépend de la race d'abeille, de la flore butinée et de la saison. Au sein d'une même race, la quantité de propolis récoltée par les abeilles est de l'ordre de 100 à 300 gramme par ruche par an (Sabir et Sumidarti, 2017).

I.3.3.2. Récolte de la propolis par l'Homme

Traditionnellement, la propolis est ramassée par les apiculteurs moyennant le grattage des cadres ou en introduisant une grille à l'intérieur de la ruche que les abeilles se chargent de "propolisiser" (Lotfy, 2006 ; Kuropatnicki *et al.*, 2013).

Après avoir récolté la propolis brute avec beaucoup d'impuretés, il faut la nettoyer par les solvants appropriés, le plus souvent avec de l'alcool afin d'obtenir une teinture. Pendant l'extraction, toute la cire et les impuretés sont éliminées (Segueni, 2011).

I.3.4. Origine botanique

Il existe plusieurs types de propolis en fonction de la zone géographique de la ruche, des végétaux présents sur cette zone, de la disponibilité des végétaux pendant la saison et de l'espèce de l'abeille (tableau 5).

Tableau 5: Origine botanique de la propolis (Burdock, 1998).

Nom français	Nom anglais	Familles	Provenance	Principales Propriétés
chêne	Oak	Fagacées	Asie Afrique	-Anti-inflammatoire -Astringente -Analgésique -Hypoglycémiant
Peuplier	Poplar	Salicacées	Afrique du nord Moyen-Orient Europe	-Diurétique -Facilite l'urico-élimination -Fluidifiant -Antiseptique+++
Bouleau blanc	Birch	Bétulacées	Europe du nord Amérique canada	-Diurétique -Facilite l'urico-élimination -Cicatrisante
Orme	Elm	Ulmacées	Amérique Europe Chine	-Anti-inflammatoire -Antifongique -Anti-diarrhéique -Astringente
Pin	Pine	Pinacées	Amérique du nord Europe du nord Russie	-Mucolytique -Cicatrisante -Astringente -Antiseptique
Marronnier D'inde	Horse chestnut	Hippocastanacées	Europe Turquie Balkans	-Antihémorragique -Astringente -Vasoconstricteur

Tout cela explique que l'on trouve des propolis de couleur jaune ambre jusqu'au brun foncé en passant par des variétés qualifiées de vertes ou de rouges. L'abeille va aller chercher sa résine dans son écosystème et c'est bien de cet écosystème que va dépendre la composition de la propolis (Burdock, 1998 ; Zheng *et al.*, 2017).

I.3.5. Propriétés physico-chimiques de la propolis

I.3.5.1. Propriétés physiques

I.3.5.1.1. Consistance

La propolis est une substance naturelle de consistance variable suivant la température :

- À 15°C, elle est dure et friable.
- À 30°C, elle est molle et malléable.
- Entre 30 et 60°C, elle devient collante ou gluante, jusqu'à fondre en moyenne vers 60-70°C ou plus (Ramos et Miranda, 2007; Wagh, 2013; Martinotti et Ranzato, 2015).

I.3.5.1.2. Couleur

Très variable suivant sa provenance, allant du jaune clair au brun très foncé, presque noir, en passant par toute la gamme des bruns (fig. 14) (Özcan, 1999; De Castro, 2001; Lotfy, 2006; Sawicka *et al.*, 2012 ; Ahmed *et al.*, 2017).

I.3.5.1.3. Saveur

Elle est souvent âcre et parfois amère (Donadieu, 2008).

I.3.5.1.4. Odeur

Variable selon son origine botanique : en général arôme agréable et douceâtre, mélangé à celui du miel, de la cire et d'autres produits (cannelle, vanille, etc.). Lorsqu'on la brûle, elle dégage une odeur très délicate et très recherchée du fait des résines aromatiques qu'elle contient (Donadieu, 2008).

I.3.5.2. Propriétés chimiques

I.3.5.2.1. Solubilité

La propolis est insoluble dans l'eau à froid. Elle est, en revanche, elle est soluble dans l'acétone, l'alcool, l'ammoniaque, le benzène, le chloroforme, etc. Il importe de noter que la propolis est aussi soluble dans une solution de soude caustique à 2% (Donadieu, 2008).

I.3.5.2.2. Point de fusion

- Son point de fusion se situe autour de 70°C.
- Chauffée au bain-marie, elle se divise en deux parties :
- Une partie visqueuse qui tombe au fond du récipient ;
- Une partie liquide appelée cire de propolis, qui reste en surface et qui a de nombreux usages dans le domaine apicole (Donadieu, 2008).

I.3.5.2.3. Densité

La densité de la propolis est de 1,2 (soit supérieure à celle de l'eau) (Donadieu, 2008).

I.3.6. Composition analytique

La composition de la propolis est variable selon la source végétale visitée par les abeilles. On connaît actuellement plus de 300 composants différents de la propolis qui ont été identifiés par les méthodes d'analyse modernes : chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse. La composition de la propolis brute diffère de celle de la propolis pure (tableau 6 et 7) (SohaimyetMasry,2014 ; Drescher *et al.*, 2017 ; Abdulkhani *et al.*, 2017).

Tableau 6: Composition chimique de la propolis brute (Sabir et Sumidarti, 2017).

Composition en ordre	Composition par groupe	Quantité
Résines et baumes	Flavonoïdes, acides phénoliques+esters	45-55%
Cire et acides gras	La cire d'abeille et des plantes	25-35%
Huiles essentielles volatiles	Anéthol et eugénol+++	10%
Pollen	Protéines (6 acides aminés libres > 1%) Arginine et proline jusqu'à 45% du total	05%
Autre composés organiques et substances minérales diverses	Cétones, lactones, quinones, stéroïdes, acide benzoïque, vitamines A/B, sucres ; 14traces de minéraux, silice et zinc sont les plus connus.	05%

Tableau 7: Composition chimique de la propolis de Tizirt par LC/MS (Boufadi et al., 2017).

Famille	Constituants	Concentration (μM)
Flavonoïdes	Chrysin	8 ± 2
	galangine	>10
	Genistein	>10
	Kaempférol	4 ± 2
	Acacétine	9 ± 2
Polyphénols	acide caféique	>10
	acide férulique	6 ± 3
	Totarol	>10
Autres	Acide cinnamique	9 ± 4

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

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

Les flavonoïdes jouent un rôle important dans la pigmentation des plantes. On dénombre dans la propolis pas moins de 60 flavonoïdes, comme la galangine, le kaempférol, la quercétine, la pinostrobine et la pinobanksine (Agra et al., 2006 ; Król et al., 2013).

Ce nombre important de flavonoïdes fait de la propolis une substance aux multiples propriétés biologiques (antioxydante, anti-inflammatoire, etc.).

Les phénols se trouvant dans la propolis sont principalement : l'acide caféique (au fort pouvoir antioxydant), l'acide cinnamique (antiseptique et antifongique), l'acide et l'alcool benzoïque, ainsi que l'acide férulique (puissant antioxydant et anti-inflammatoire) (Agra et al., 2006).

La composition chimique de la propolis est très variable et complexe, à cause de la biodiversité de la végétation de chaque région visitée par les abeilles où elles collectent cette substance (Khayyal *et al.*, 2009).

I.3.7. Conservation de la propolis

La propolis est un produit facile à conserver, quelle que soit la forme sous laquelle elle se présente. Il est toutefois préférable de la conserver dans des récipients hermétiques, à l'abri de la lumière, de l'humidité et de la chaleur. Pour bénéficier de toutes ses propriétés, il est recommandé d'utiliser la propolis aussi fraîche que possible (Donadieu, 2008).

Elle est présente sous forme lyophilisée, car ce procédé de conservation assure, pendant un temps presque illimité, le maintien de toutes ses propriétés et de la composition chimique du produit.

I.3.8. Propriétés thérapeutiques de la propolis

I.3.8.1. Activité antioxydante

La quarantaine de flavonoïdes présents dans la propolis lui procurent une activité de « free radicals scavengers » (Boufadi *et al.*, 2017). C'est, après le thé et le vin rouge, l'élément le plus riche en flavonoïdes.

Cette action est démontrée où les composés phénoliques, les flavonoïdes, et surtout l'artepilline C, s'opposent à la peroxydation des lipides et préviennent les dommages des radicaux libres (Yang *et al.*, 2011 ; El-Guendouz *et al.*, 2017).

Les constituants de la propolis ont été soumis à des tests mesurant leur pouvoir antioxydant. Il s'est avéré que ce sont l'acide caféique, l'acide caféoylquinique, l'acide cinnamique et leurs dérivés qui procurent aux propolis leurs propriétés anti oxydantes (Galeotti *et al.*, 2018).

I.3.8.2. Activité anti-inflammatoire

L'effet anti-inflammatoire de la propolis, proche de l'Aspirine, est dose-dépendant. Les flavonoïdes sont responsables, en inhibant la synthèse des oxydes nitriques et des

prostaglandines, inducteurs d'inflammation (Paulino et al., 2006 ; Batista et al., 2018) et en supprimant la production de cytokines inflammatoire par les monocytes/macrophages (Machado et al., 2017 ; Gutiérrez et al., 2018).

I.3.8.3. Activité immunomodulatrice

La propolis module de manière significative les activités leucocytaires in vitro, confirmant ainsi son potentiel de source de nouveaux biocides naturels et immunomodulateurs (Soltani et al., 2017). Ainsi elle stimule le système immunitaire à produire plus de macrophages (Donadieu, 2008). Ses effets biologiques bénéfiques sur le système immunitaire existent en partie grâce au CAPE. La propolis régule l'expression de gènes qui contribuent à la reconnaissance des micro-organismes et favorise donc la réponse immunitaire (Orsatti et Sforcin, 2011).

I.3.8.4. Activité anticancéreuse

La propolis réduit l'expression de p53, Ki67, cyclineD1 et Bcl-xL (Kusuma et al., 2018), comme elle inhibe la prolifération des cellules cancéreuses A549 et révèle une activité anti-adhésive de la famille des intégrines des récepteurs de l'adhésion (Brihoum et al., 2018). Ainsi elle agit également en supprimant la formation de métastase, avant et après l'inoculation de carcinome mammaire et colique (Orsolčić et al., 2003). L'inhibition du processus tumoral due à un dérivé de l'acide caféique : le CAPE. Des agents cytotoxiques naturels ont été identifiés dans la propolis, comme les flavanones, l'artépilline C, les diterpénoïdes qui induisent l'apoptose des cellules cancéreuses (Chen et al., 2011 ; Milind et al., 2013).

I.3.8.5. Activité antibactérienne

Le spectre antibactérien de la propolis est large. Son action est puissante, elle agit en effet sur *Staphylococcus aureus* , *Salmonella dysenteria* et SARM (Boufadi et al., 2017), les streptocoques, *Helicobacter pylori* , les microcoques (Farseni et al., 2009 ; AL-Ani et al., 2018), *Bacillus subtilis*, *Bacillus alvei*, *Bacillus larvae*, *Proteus vulgaris* (Donadieu, 2008), *Salmonella enterica Typhi* (Orsi et al., 2011), *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Streptococcus faecalis* (Kasiotis et al., 2017 ; Jiyeon, 2018). Cette activité antibactérienne serait imputable à l'acide cinnamique, aux molécules aromatiques, aux acides diterpéniques,

aux composés phénoliques et aux nombreux flavonoïdes qui composent la propolis (Al-Wailiet, 2018).

I.3.8.6. Activité antivirale

L'action antivirale de la propolis a été montrée sur les poliovirus, les virus de type herpès, les adénovirus (Donadieu, 2008), le virus de la grippe H1N1 (Takemura et al., 2011), de l'hépatite B (Apimondia, 2001), l'HSV-1 et HSV-2 (Schnitzler et al., 2010 ; Yildirim et al., 2016).

I.3.8.7. Activité antifongique et antimycosique

La propolis possède une action contre *Candida albicans*, *Trichophyton*, *Microsporiumcanis* et *Cryptococcus* (Apimondia, 2001 ; Aghel et al., 2014 ; Franchin et al., 2016). Ce sont la galangine, le kaempférol, la pinocembrine et l'acide caféique qui lui confèrent cette activité. Associée à des médicaments antimycosiques, la propolis a de meilleurs effets sur les mycoses de la peau ou des muqueuses (Alvareda et al., 2015).

I.3.8.8. Activité antiparasitaire

L'action antiparasitaire de la propolis a été prouvée sur *Trypanosoma macruzi* (Marcucci et al., 2001) et *Giardia lamblia* (Abdel-Fattahet Nada, 2007).

I.3.8.9. Activité antiallergique

L'action antiallergique de la propolis vient en partie du fait de son activité antioxydante. La chrysin, un flavonoïde de la propolis, possède également une action antiallergique. En effet, des tests *in vitro* et *in vivo* ont montré qu'elle réduisait la libération d'histamine par les mastocytes et diminuait l'expression des gènes codant pour les cytokines inflammatoires. Elle atténue également l'anaphylaxie modulée par la présence d'IgE (Bayie et al., 2011).

I.3.8.10. Activité analgésique-anesthésiante

Les propriétés anesthésiques de la propolis sont puissantes (davantage que la cocaïne et la procaine dans une anesthésie de cornée) et sans effets secondaires (Donadieu, 2008). Cette action anesthésique liée aux huiles volatiles est indépendante, comme la morphine, d'un mécanisme central (Apimondia, 2001).

I.3.8.11. Activité cicatrisante et régénératrice

La propolis accélère la régénération des tissus abîmés (pulpe dentaire, tissus hépatiques, osseux). L'action antioxydante des flavonoïdes est sans doute à l'origine de ses capacités de régénération, favorable à la restauration du système immunitaire. La présence d'acides phénoliques et de certains acides aminés sont des acteurs incontestables de la cicatrisation et de la régénération des cellules (Pessolato *et al.*, 2011). La propolis restructure les membranes capillaires cutanées et la néoformation vasculaire, améliore les processus métaboliques au niveau cellulaire et tissulaire, lutte contre l'hypoxie tissulaire, réactive les processus enzymatiques et aide à la reformation de la substance fondamentale (Domerego *et al.*, 2009) (tableau 8).

Tableau 8: Récapitulatif des propriétés thérapeutiques de la propolis (Apimondia, 2001).

Activités biologiques	Les composants de la propolis
Activité antioxydante	CAPE, acide caféique, acide cafféoylquinique, acide cinnamique et dérivés + flavonoïdes
Activité anti-inflammatoire	CAPE+flavonoïdes + acide acétylsalicylique+Terpènes
Activité immunomodulatrice	CAPE
Activité anticancéreuse	CAPE+flavonoïdes +diterpènes
Activité antibactérienne	CAPE, acide benzoïque, acide férulique, acide cinnamique, acides aromatiques + flavonoïdes
Activité antivirale	CAPE+flavonoïdes +naphtoquinones+Terpènes
Activité antifongique	CAPE, acide caféique +flavonoïdes
Activité antiparasitaire	Composés végétaux
Activité antiallergique	CAPE, Chrysine, flavonoïdes
Activité analgésique-anesthésique	huiles volatiles
Activité cicatrisante-régénératrice	flavonoïde+acide phénolique+proline, arginine

I.3.9. Les apports de la propolis dans les pathologies cancéreuses

De nombreux travaux de recherche confirment l'intérêt de la propolis en association avec des traitements chimiothérapeutiques et/ou radiothérapeutiques. Les activités nombreuses des extraits de propolis justifient ces résultats prometteurs, et de nombreux chercheurs soulignent que l'efficacité des traitements chimiothérapeutiques est accentuée par la prise de propolis, avec de nombreux bénéfices associés en termes de tolérance et de confort pour le patient. Ces chercheurs recommandent avec insistance la mise en place d'essais cliniques puisque tous les résultats indiquent les bénéfices de l'association, que ce soit en chimiothérapie ou en radiothérapie (scherding Roland, 2017 ; Zabaoui *et al.*, 2017).

Pour toutes ces raisons, des études pharmacologiques de l'activité anticancéreuse de la propolis sont plus que jamais nécessaires et prometteuses : des études récentes montrent que les propolis d'origine néerlandaises, portugaises, brésiliennes ou croates présentent une efficacité comparable sur de nombreuses lignées cancéreuses (Martinotti et Ranzato, 2015 ; Roland, 2017).

Chapitre II : Matériel et méthodes

II.1. Origine de la propolis

La propolis a été récoltée par une race d'abeilles (*Apis mellifica intermissa*), en Juin 2016 dans la région de Tizirt (Tizi Ouzou, Algérie). La récolte de cette propolis brute a été effectuée par la méthode des grilles, la propolis est stockée au congélateur à une température de -18°C jusqu'à l'analyse.

Selon une étude récente, il a été rapporté que la propolis de Tizirt (Algérie) contient la plus grande quantité de substances antioxydantes parmi plusieurs types de propolis algériennes (Boufadi et al., 2014). Cette propolis, a montré plusieurs activités, comme antioxydante (Boufadi et al., 2014 ; Boufadi et al., 2017) et antimicrobienne (Boufadi et al., 2016).

II.2. Préparation de l'extrait de propolis

L'extraction a été faite selon le protocole de Boufadi et al. (2014), qui consiste à découper la propolis brute en petit morceaux (fig. 11), à les broyer avant d'en extraire les principes actifs avec de l'éthanol à 95% (v/v) (dans les proportions propolis brute /solvant = 1/10 : p/v) dans un bain d'eau froide à ultrason pendant 1h et 30 min. Cette opération d'extraction est répétée 3 fois. La suspension est ensuite filtrée sur papier Whatman N°1 avant évaporation du solvant à sec sous pression réduite à une température de 60°C. Ce filtrat représente l'extrait éthanolique de la propolis (EEP) (fig. 12).



Figure 11 : La propolis brute en petit morceaux **Figure 12:** L'extrait de la propolis

Cet extrait éthanolique secs (EEP) par la suite a été mis en suspension dans 200 mL d'eau distillée et extrait avec 200 mL de chloroforme. La couche organique a été éliminée et la phase aqueuse a été extraite avec 200 mL d'acétate d'éthyle (EtOAc) trois fois. La phase organique d'EtOAc a été recueillie après évaporation complète du solvant acétate d'éthyle notée EAP.

II.3. Identification chimique de la propolis par HPLC/UV

L'analyse chromatographique de l'extrait d'acétate d'éthyle de propolis (EAP) a été réalisée sur une chromatographie liquide de haute performance (Agilent 1100). La séparation a été effectuée sur une colonne Agilent poroshell 120EC (100 mm x 2,1 mm, 2.7 µm), en utilisant des phases mobiles: eau / TFA / acide formique (99: 0.25: 0.75) (A) et acétonitrile (B). L'élution a été réalisée à un débit de 0.6 mL/min avec une aliquote de 10 µL et à une température de 55 ° C. En utilisant une méthode de gradient comme suit (t / min, % B): (0, 0), 1, 10), (2, 12.5), (3, 15), (9, 80), (10, 100), (11, 100), (14, 0) avec post 5 min. Les chromatogrammes ont été enregistrés à 270 et 320 nm (Barbaric et al., 2011).

L'échantillon a été préparé en diluant l'EAP avec du méthanol à 1:100 (v/v). Les composants de la propolis ont été identifiés en comparant leurs temps de rétention et leurs spectres UV avec différents standards phénoliques (acide *trans*-cinnamique, acide gallique, acide benzoïque, acide férulique, acide *m*-coumarique, acide caféique, acide rosmarinique et acide ellagique) , les flavonoïdes (catéchine, hespéridine, thymol, galangine, tectochrysin, pinocembrine, acacétine, rutine, chrysin, apigénine, kaempférol et quercétine) et d'autres composés organiques (acide ascorbique et menthol).

Les étalons ont été dissous dans du méthanol pour avoir des solutions mères à raison de 1 mg/mL. Ces composés phénoliques ont été identifiés en utilisant des courbes d'étalonnage des différents standards exprimés en mg pour 1 g de propolis.

II.4. Matériel chimique (épirubicine)

L'épirubicine que nous avons utilisé a été fabriqué par le laboratoire Thymoorgan Pharmazie GmbH, Allemagne, sous le nom pharmaceutique PIRUCIN (épirubicine hydrochloride) (fig. 13).



Figure 13: l'épirubicine pharmaceutique

II.5. Animaux, conditions de l'expérience et prélèvements sanguins et d'organes

Trente rats mâles Wistar albinos pesant entre 100 et 115 g ont été utilisés dans la présente expérimentation. Ce modèle animal a été fourni par l'institut Pasteur (Alger, Algérie). Le protocole est conforme aux lignes directrices du National Institute of Health (NIH-USA).

Dès leur réception, les rats ont été répartis aléatoirement en 5 groupes expérimentaux renfermant chacun 6 rats, ils ont été soumis à une période d'adaptation de deux semaines à une température ambiante et une photopériode de 12 /12 h.

Les rats ont été logés dans des cages en polyéthylène, tapissés d'une litière composée de copeaux du bois. Les cages ont été nettoyés et la litière changée quotidiennement. Les rats ont un accès libre à la nourriture (croquettes provenant de la société de production des aliments pour animaux, Bouzaréa, Alger) et à l'eau.

Après la période d'adaptation, les rats du premier et deuxième groupe (G1 et G2) reçoivent, quotidiennement, 1 mL d'eau physiologique par voie orale, tandis que les animaux du groupe 3 et 4 ont reçu, respectivement, et par voie orale 1 mL de 100 et 250 mg/kg d'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tigzirt (EAP), et ceux du groupe G5 ont été administrés par 1 mL 50 mg/kg de quercétine.

Au 15^{ème} jour du traitement, les rats du G2-G5 ont reçu trois injections d'épirubicine par voie intraveineuse (*i.v*) toutes les 48 heures pour atteindre une dose cumulative de 9 mg/kg (Dobbs *et al.*, 2003). Tous les animaux ont été observés et le poids corporel a été enregistré quotidiennement (fig. 14).

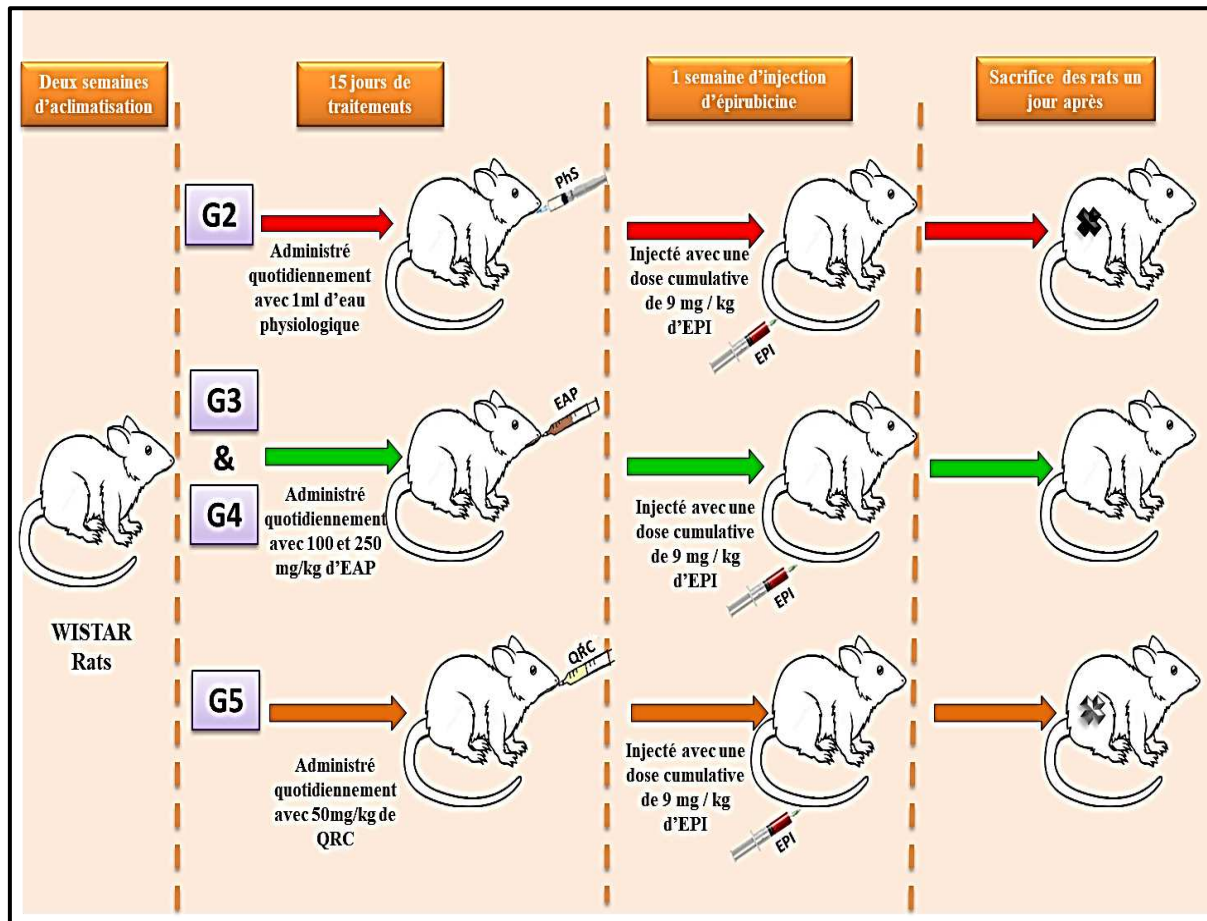


Figure 14: Schéma descriptif du dispositif expérimental

Vingt-quatre heures après la dernière injection d'épirubicine, les rats ont été mis sous le jeûne pendant 12h avant la collecte du sang. Le jour qui suit, les rats ont été maintenu sous une légère anesthésie de chloroforme avant d'être sacrifiés afin d'éviter tout risque de changement des paramètres biochimiques avant la collecte des échantillons de sang qui a été immédiatement recueilli dans quatre tubes différents: EDTA, sec, hépariné et citraté.

Les échantillons de sérum ont été obtenus à partir des tubes secs ; alors que les échantillons de plasma ont été obtenus à partir des tubes héparinés.

Les organes (foie, cœur et reins) et le péritoine ont été récupérés, rincés avec l'eau physiologique. Une partie des organes a été fixée dans le formol pour l'étude histologique, l'autre partie est mise dans un tampon glacé d'isolation des mitochondries (10 mM tris-HCl, pH 7.4, 250 mM Sucrose, 0.5 mM EDTA et 0.5% bovin serum albumin). Le péritoine a été conservé dans le PBS (10 mM PO4³⁻/300 mM NaCl, pH 7.4).

- **Préparation de la matrice mitochondriale**

La matrice mitochondriale est préparée selon la méthode décrite par [Rustin et al. \(1994\)](#). Les morceaux des différents organes (foie, reins et cœur) sont mis dans un tampon glacé d'isolation des mitochondries (10 mM tris-HCl, pH 7.4, 250 mM Sucrose, 0.5 mM EDTA et 0.5% bovin serum albumin). Après homogénéisation des fragments, l'homogénat obtenu est centrifugé à 10000 rpm/10 min à 4°C. Les pellets de mitochondries sont lavés deux fois avec le tampon d'isolation puis re-suspendus dans la même solution tampon. La matrice mitochondriale est extraite par congélation et décongélation suivi immédiatement par homogénéisation répétée des préparations fraîches de mitochondries afin d'éclater les mitochondries. Après centrifugation à 10000 rpm/10 min, le surnageant obtenu est conservé à 4°C afin de doser les paramètres du statut antioxydant (catalase, superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, malondialdéhyde, oxyde nitrique et thiols).

- **Préparation de l'homogénat tissulaire du foie**

Les morceaux du foie ont été homogénéisés, séparément, avec une solution saline de 0.9 % à 4 °C, centrifugés trois fois (200 ×g pendant 30 min). Le surnageant représente l'homogénat tissulaire du foie (afin de doser les TNF- α) ([Wu et al., 2017](#)).

- **Préparation de liquide péritonéale**

Broyer le péritoine avec le PBS, centrifuger à 300 g/min pendant 15 min. Le surnageant représente le liquide péritonéale (afin de doser les PGE2) ([Paulino et al., 2008](#)).

II.6. Dosage des paramètres biochimiques

L'analyse des paramètres sériques est effectuée suivant des méthodes enzymatiques ou colorimétriques.

II.6.1. Dosage de la glycémie

La glycémie a été déterminée par une méthode enzymatique (Hexokinase /G-6-PDH) en utilisant le Kit de réactif de glucose biomérieux.

Principe : Le dosage du glucose est basé sur une double réaction enzymatique : la glucose-oxydase (GOD) oxyde le glucose en acide gluconique et en peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). Ce dernier permet l'oxydation de l'o-dianisidine en un produit coloré grâce à une autre enzyme, la peroxydase. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration en glucose. À partir d'une courbe étalon, on peut déterminer graphiquement la teneur en glucose d'une solution en mesurant son absorbance à 505 nm par spectrophotométrie.

II.6.2. Dosage des marqueurs de l'hépatotoxicité

II.6.2.1. Dosage de l'aspartate aminotransférase (ASAT)

Le dosage de l'aspartate aminotransférase a été réalisé par la méthode cinétique selon la fiche technique du Kit biomérieux (France).

Principe: Détermination cinétique de l'activité aspartate aminotransférase. La réaction est initiée par addition de l'échantillon au réactif. Le schéma réactionnel est le suivant:



Le taux de diminution de la concentration en NADH est directement proportionnel à l'activité aspartate amino transférse dans l'échantillon. GOT: Transaminase glutamique oxaloacétique MDH: Malate Dehydrogenase. Lecture à 340 nm ([Bergmeyer, 1976](#)).

II.6.2.2. Dosage de l'alanine aminotransférase (ALAT)

Le dosage de l'alanine aminotransférase a été réalisé par la méthode cinétique selon la fiche technique du Kit biomérieux (France).

Principe : l'alanine aminotransférase (ALAT) appelée aussi la glutamate-pyruvate transaminase (GPT) catalyse le transfert réversible d'un groupe aminé à partir de l'alanine au α -cétoglutarate formant le glutamate et le pyruvate. Le pyruvate est réduit au lactate par la lactate-déshydrogénase (LDH) et le NADH. Lecture à 340 nm (Bergmeyer, 1980).

II.6.2.3. Dosage de la phosphatase alcaline (PAL)

Le dosage de la phosphatase alcaline (PAL) a été effectué suivant une méthode enzymatique colorimétrique en utilisant les kits BioVision (BioVision, USA).

Principe : Le substrat phosphate *p*-nitrophényl est hydrolysé par la Phosphatase Alcaline de l'échantillon, en présence d'ions Magnésium, pour former du *p*-nitrophénol de couleur jaune qui peut être lu à 405 nm. L'intensité de la couleur produite est proportionnelle à l'activité de la phosphatase alcaline présente dans l'échantillon (Thomas, 1998).

II.6.2.4. Dosage de la 5'-Nucleotidase

Le dosage de la 5'-Nucleotidase est déterminée par une méthode colorimétrique enzymatique (kit BioVision, USA).

Principe : La 5'-nucléotidase est une enzyme catalysant l'hydrolyse des nucléosides inosine 5'-monophosphates en nucléosides et en phosphate inorganique. L'enzyme est largement distribuée dans les tissus humain et animal. L'activité présente dans le sérum est libérée de la membrane des cellules hépatiques par les sels biliaires et est utilisée comme marqueur pour l'hépatopathie.

II.6.2.5. Dosage de la bilirubine totale

La bilirubine totale est la somme des fractions conjuguée et libre. La bilirubine totale est élevée dans les affections provoquant l'obstruction des voies biliaires, l'hépatite, la cirrhose, les troubles hémolytiques et plusieurs carences enzymatiques héréditaires.

Principe : Le dosage de la bilirubine est basé sur la réaction entre la bilirubine et les solutions d'acide sulfanilique diazoté. Dans une solution aqueuse, seule la bilirubine directe (conjuguée) réagit de cette manière. Ce réactif de dosage de la bilirubine directe utilise une

méthode à l'acide diazoté. La bilirubine conjuguée réagit avec l'acide sulfanilique diazoté pour produire une azobilirubine acide, dont l'absorbance est proportionnelle à la concentration de bilirubine directe dans l'échantillon et doit être mesurée à 555 nm (Walters, 1970).

II.6.2.6. Dosage du gamma GT

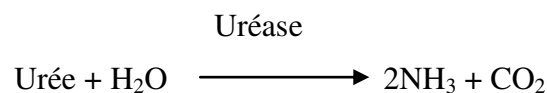
La gamma-glutamyl transférase (γ -GT) est une enzyme qui est présente dans quasiment tous les tissus de l'organisme, elle apparaît notamment dans le foie, le pancréas, les reins et la prostate.

Principe : La gamma-glutamyl transférase (γ -GT) catalyse le transfert d'un groupe γ -glutamyl de la γ -glutamyl-p-nitroanilide au dipeptide accepteur glycylglycine (Persijn et al., 1976).

II.6.3. dosage des marqueurs de la néphrotoxicité

II.6.3.1. Dosage de l'urée

L'urée est déterminée par la méthode calorimétrique enzymatique (Kit Chronolab, System) (Berthelot, 1998) selon la réaction suivante :



L'urée présente dans l'échantillon donne en présence d'uréase et de nitroprussiate un indophénol coloré quantifiable par spectrophotométrie à 580 nm.

II.6.3.2. Dosage de la créatinine

Le dosage de la créatinine a été réalisé par la méthode cinétique colorimétrique selon la fiche technique du Kit biolabo (France).

Principe : La créatinine est déterminée par une méthode colorimétrique enzymatique (Kit Biocon, Germany). La créatinine présente dans l'échantillon réagit avec le picrate en milieu alcalin, pour donner un complexe coloré. La vitesse de formation de ce complexe est mesurée dans des périodes initiales courtes, en évitant ainsi l'interférence avec d'autres composés. La lecture se fait à une longueur d'onde $\lambda=500$ nm (Whelton et al., 1994).

II.6.3.3. Dosage de l'acide urique

Le dosage de l'acide urique a été réalisé par la méthode enzymatique colorimétrique selon la fiche technique du Kit Biolabo (France).

Principe : l'acide urique est oxydé par l'uricase en allantoïne et peroxyde d'hydrogène ($2\text{H}_2\text{O}_2$) qui, sous l'influence de la peroxydase, du 4-aminophénazone (4-AP), et du 2-4 dichlorophénol-sulfonate (DCPS), forme un composé rouge de quinonéimine.

L'intensité de la coloration rouge formée est proportionnelle à la concentration de l'acide urique dans l'échantillon (Schultz, 1984).

II.6.4. dosage des marqueurs de la cardiotoxicité

II.5.4.1. Dosage de la Créatine Kinase mb

La CK-mb est l'une des trois formes de l'enzyme Créatine Kinase (CK).

Le dosage de la CKmb par la technique d'immuno-inhibition se fait par séparation électrophorétique sur gel d'agarose à haut voltage (900 V) avec révélation enzymatique et quantification en fluorescence. Le résultat est obtenu en 30 minutes.

II.6.4.2. Dosage de la troponine totale

Dosage de la Troponine T représente un des isoformes spécifiques du myocarde.

Principe : Le dosage de la troponine T est commercialisé par une seule firme: BOEHRINGER MANNHEIM, en utilisant la méthode ELISA. Les anticorps utilisés de 2^{ème} génération sont cardio-spécifiques. L'un des anticorps est fixé sur un support solide, l'autre est marqué par une enzyme. Le signal généré par la réaction est proportionnel à la concentration de l'échantillon (Collinson, 1993).

II.6.4.3. Dosage du lactate déshydrogénase (LDH)

Le dosage du lactate déshydrogénase a été réalisé par la méthode cinétique selon la fiche technique du Kit biolabo (France).

Principe : le lactate déshydrogénase (LDH) catalyse la réduction du pyruvate par le NADH (Pesce, 1984). Le taux de diminution de la concentration en NADH est directement proportionnel à l'activité lactate deshydrogenase dans l'échantillon.

II.6.4.4. Dosage du peptide natriurétique de type B (BNP)

Le dosage de la peptide natriurétique de type B peut servir à évaluer la gravité de l'insuffisance cardiaque, qui est en corrélation avec la classification définie par la New York Heart Association (Wieczorek *et al.*, 2002).

Principe : c'est un dosage immunologique dans le but est la détermination quantitative du peptide natriurétique humain de type B (BNP) dans le plasma humain prélevé sur EDTA, en utilisant la technologie de dosage immunologique microparticulaire par chimiluminescence (CMIA) avec des protocoles de dosage flexibles, appelée Chemiflex.

II.7. Détermination du statut antioxydant

II.7.1. Dosage de la peroxydation lipidique (malondialdéhyde MDA)

Le dosage de la peroxydation lipidique a été réalisé sur le surnageant mitochondrial selon le protocole de Yagi *et al.* (1997) qui consiste à mélanger 20 μ L de l'échantillon avec 0.8 mL de H_2SO_4 . Après agitation, 100 μ L de solution d'acide phosphotungstique (10 % P/V) sont ajoutées, ce mélange est laissé 5 min dans l'obscurité puis centrifugé de nouveau pendant min à 1600 tours/min. le surnageant est éliminé et le culot re-suspendu dans 0.4 mL de H_2SO_4 additionnés de 60 μ L d'acide phosphotungstique puis centrifugé de nouveau 10 min à 1600 tors/min. Le surnageant est éliminé et le culot restant dissous dans 2 mL d'eau distillée et 0.5 mL de réactif TBA (335 mg d'acide thiobarbiturique dans 50 mL d'eau + 50 mL d'acide acétique 99%). Le mélange résultant a été chauffé au bain marie à raison de 95C° pendant 60 min. la solution a été refroidie dans un bac à glace et extraite pour une dernière fois par 2.5 mL de butanol. La fluorescence de la phase butanolique a été mesurée avec une longueur d'onde d'excitation à 515 nm, une longueur d'onde d'émission à 553 nm, 10 nm étaient glissière avec la coupure à 515 nm. La quantité de la peroxydation lipidique a été exprimée en équivalent MDA à partir d'une courbe linéaire dessinée avec plusieurs concentrations de la tétraméthoxypropane (TMP) standard.

II.7.2. Le dosage de l'oxyde nitrique

Principe : L'activité de piégeage de l'oxyde nitrique peut être mesurée par la réaction de GRIESS qui consiste à convertir le nitrite en un composé azo pourpre foncé. La couleur violette intense du produit permet un dosage des nitrites avec une sensibilité élevée et peut

être utilisée pour mesurer une concentration en nitrites aussi faible que $\sim 0,5 \mu\text{M}$. L'absorbance de ce produit d'addition à 540 nm est linéairement proportionnelle à la concentration en nitrites dans l'échantillon. (Nur Alam *et al.*, 2012).

Mode opératoire : Le mélange réactionnel contenant 4 mL de nitroprussiate de sodium à 10 mM, de 1 mL d'une solution saline du tampon phosphate (pH 7.4) et 1 mL d'échantillon (le surnageant mitochondrial) a été incubé à 25 °C pendant 150 min. Après incubation, 0.5 mL de réactif de GRIESS (1% de sulfanilamide, 2% Ophosphoric et 0.1% d'acide N-(1-Naphthyl)ethylenediamine NEDD) a été ajoutée en 0,5 ml de mélange réactionnel. Le mélange est incubé à l'abri de la lumière pendant 30 minutes. L'absorbance est mesuré à 535 nm contre le blanc. L'acide ascorbique ou le BHT sont utilisés comme étalon. Les résultats sont exprimés en $\mu\text{mol/g}$.

II.7.3. Dosage de l'activité enzymatique du superoxyde dismutase (SOD ; EC 1.15.1.1)

L'activité enzymatique du superoxyde dismutase est mesurée selon la méthode d'Elstner *et al.* (1983). Le principe est basé sur la réaction chimique qui génère l'ion superoxyde (O_2^-) à partir de l'oxygène moléculaire en présence d'EDTA, de MnCl_2 et de mercaptoéthanol.

L'oxydation du NADPH est liée à la disponibilité des ions superoxyde dans le milieu. Dès que la SOD est ajoutée dans le milieu réactionnel, elle entraîne l'inhibition de l'oxydation du NADPH. Cette analyse nécessite deux réactifs qui sont les suivants :

Réactif 1 : 5 mL de tampon phosphate (0.2M/L, pH 7.4), 1 mL d'hydroxylamine chlorure (0.69 mg/mL), 1 mL d'antraquinone (0.1332 mg/mL) et 1 mL de diaphorase (1 mg/mL d'une solution de 15 U/mL).

Réactif 2 : 6 mL de sulfanilamide à 10 mg/mL d'HCl à 25% et 6mL de naphylethylène diamine à 0.2 mg/mL.

Afin de précipiter les protéines, 400 μL du mélange éthanol/chloroforme (62.5/37.5 : V/V) sont additionnées à 250 μL de surnageant mitochondriale. Après centrifugation à 4000 t/min pendant 5 min, le surnageant est récupéré.

On mélange 5 μL de surnageant, 10 μL de tampon phosphate et 100 μL de réactif 1. Le milieu réactionnel est ensuite incubé avec 10 μL de NADPH pendant 15 min à température ambiante. Puis 100 μL de réactif 2 sont additionnés.

La lecture se fait à 540 nm, après incubation de 20 min. La gamme d'activité enzymatique est réalisée avec la SOD étalon. Les résultats sont exprimés en U/cg.

II.7.4. Dosage de l'activité enzymatique de la catalase (CAT ; EC 1.11.1.6)

L'activité enzymatique de la catalase est déterminée dans le surnageant mitochondriale ou l'homogénat tissulaire selon la méthode de [Lück \(1965\)](#) qui consiste en une analyse spectrophotométrique du taux de décomposition du peroxyde d'hydrogène.

En présence de la catalase, la décomposition du peroxyde d'hydrogène conduit à une diminution de l'absorbance de la solution de H_2O_2 en fonction du temps.

Le milieu réactionnel contient 1 mL de surnageant mitochondriale, 1 mL d' H_2O_2 , 1 mL de tampon phosphate (50 mMol/L, pH 7.4) et 2 mL de catalase (3 U/ μL). Après incubation de 5 min, 1 mL du réactif sulfate d'oxyde de titanium (TiOSO_4) (1,7 g dans 500 mL d' H_2SO_4 2N) est ajouté. La lecture se fait à 240 nm. Les concentrations en H_2O_2 restant sont déterminées à partir d'une gamme d'étalon de H_2O_2 avec le tampon phosphate et le réactif TiOSO_4 de façon à obtenir dans le milieu réactionnel des concentrations de 0.5 à 2 mM/L.

Le calcul d'une unité d'activité enzymatique est :

$$A = \log A_1 - \log A_2.$$

A1 : la concentration de H_2O_2 de départ.

A2 : la concentration de H_2O_2 après incubation (au bout de 5 min).

L'activité spécifique est exprimée en U/mg.

II.7.5. Dosage de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GSH-Px)

L'activité de GSH-Px a été mesurée par la méthode décrite par [Rotruck et al. \(1973\)](#). La réaction consiste à mélanger 0.2 mL de tampon tris-Hcl, 0.1 mL d'azide de sodium, 0.2 mL de

l'échantillon (le surnageant mitochondriale), 0.2 mL de glutathion, et 0.1 mL de peroxyde d'hydrogène. Ensuite, on incube le mélange à 37°C pendant 10 min. L'arrêt de la réaction a été effectué par l'ajout de 0.4 mL de l'acide trichloracétique TCA à 10%. Ensuite, le mélange a été soumis à une centrifugation dont le surnageant issu servant à déterminer le taux du glutathion a été mélangé par le réactif d'Ellman (19.8 mg d'acide 5, 5'-dithiobisnitro benzoïque (DTNB) dans 100 mL de solution de nitrate de sodium à 0.1%). Les résultats sont exprimés en U/mg.

II.7.6. Dosage des thiols

Le dosage a été réalisé selon la méthode de [Riddels et al. \(1979\)](#) en utilisant le réactif d'Ellman, le 5,5'-dithio-bis-(2-nitrobenzoate) ou DTNB, qui a été décrit par ces auteurs comme un réactif spécifique des groupements sulfhydryles, suffisamment sensible pour détecter la présence de résidus cystéines dans les échantillons. La réaction a consisté en un dosage de l'ensemble des groupements SH à 412 nm par mesure du nitrobenzoate formé, de coloration jaune vive.

Réactifs

- Solution de précipitation des protéines (acide métaphosphorique 1.6 % - d'EDTA 0.02 % NaCl 30 % dans de l'eau).
- Réactif d'Ellman : 5,5'-dithio-bis-(2-nitrobenzoate) 1 mmol/L – EDTA 0.034 mmol/L.

La procédure consiste à mélanger 20 µL d'échantillon (le surnageant mitochondrial) dilué au 1/10 dans du PBS pH 7.4 (dans de la glace) à 47 µL d'une solution de précipitation des protéines. Le mélange ainsi obtenu a été agité au vortex pendant 5 min avant d'être centrifugé à 2000 g pendant 10 min.

Le surnageant a été filtré, puis 100 µL du filtrat ont été mélangés à 12 µL d'une solution de NaOH (1 mol/L), et 50 µL du réactif d'Ellman. Le mélange ainsi obtenu a été incubé à température ambiante pendant 15 min. L'absorbance de la solution a été ensuite lue au spectrophotomètre à 412 nm et une gamme d'étalonnage a été réalisée à partir de dilutions de glutathion réduit dans du tampon phosphate. Les résultats sont exprimés en mmol/g.

II.8. Dosage des bio-marqueurs inflammatoires

II.8.1. dosage de la prostaglandine E2

Principe : Ce test utilise la technique de dosage immuno-enzymatique d'inhibition compétitive. Un anticorps monoclonal spécifique à PGE2 a été pré-enrobé sur une microplaque. Une réaction d'inhibition compétitive est lancée entre la biotine et l'antigène non marqué (étalons ou échantillons) avec l'anticorps pré enrobé. Après incubation, le conjugué non lié est éliminé par lavage. Ensuite, l'avidine a été conjuguée à la peroxydase de raifort (HRP) est ajouté à chaque microplaque et incubé. La quantité de HRP conjugué lié est inversement proportionnelle à la quantité de de PGE2 dans l'échantillon. Après addition de la solution de substrat, l'intensité de la couleur développée est l'inverse proportionnel à la concentration de PGE2 dans l'échantillon.

Mode opératoire

- Retirer les bandes de microplaques excédentaires du cadre de la plaque et les remettre dans la pochette en aluminium.
- Ajouter 150 µL de diluant d'étalonnage RD5-39 dans les puits NSB (non specific binding).
- Ajouter 100 µL de diluant d'étalonnage RD5-39 dans les puits de l'étalon zéro (B0).
- Ajouter 100 µL d'étalon ou d'échantillon (le liquide péritonéal) aux puits restants.
- Ajouter 50 µL de la solution anticorps primaire dans chaque puits (à l'exclusion des puits NSB). Tous les puits sauf que les puits du NSB seront colorés en bleue.
- Ajouter 50 µL de PGE2conjugué dans chaque puits. Tous les puits, à l'exception des puits NSB, seront colorés en violet. Couvrir avec la bande adhésive fournie.
- Incuber pendant 2 heures à température ambiante sur un agitateur orbital horizontal pour microplaques réglé à 500 ± 50 tr/min.
- Aspirer chaque puits et laver, en répétant le processus trois fois pour un total de quatre lavages. Laver en remplissant chaque puits de tampon de lavage (400 µL) à l'aide d'un flacon pulvérisateur. L'élimination complète du liquide à chaque étape est essentielle au bon fonctionnement de l'appareil. Après le dernier lavage, retirez tout tampon de lavage restant en aspirant ou une décantation. Inverser la plaque et l'éponger contre des essuie-tout propres.

- Ajouter 200 μ L de solution de substrat dans chaque puits. Incuber pendant 30 minutes dans une température ambiante. Protéger de la lumière.
- Ajouter 50 μ L de solution d'arrêt dans chaque puits. La couleur des godets doit passer du bleu au vert jaune. Si la couleur dans les godets est verte ou si le changement de couleur ne semble pas uniforme, tapoter doucement sur la plaque pour assurer un mélange parfait.
- Déterminer la densité optique de chaque puits dans 30 minutes à l'aide d'un lecteur de microplaques à 450 nm.

II.7.2. Dosage du facteur de nécrose tumorale (TNF- α)

Le TNF- α ELISA est un test immuno-enzymatique pour la détection quantitative du TNF- α . Ce dernier est une cytokine polyvalente qui se retrouve dans de très nombreuses voies, dans l'homéostasie et la pathophysiologie des mammifères. Le dosage de TNF- α se fait sur l'homogénat tissulaire du foie.

Mode opératoire :

- Un anticorps revêtu anti-TNF- α animale est adsorbé sur des micropuits.
- TNF- α animale présent dans l'échantillon ou l'étalon se lie aux anticorps adsorbés dans les puits, un anticorps monoclonal anti-TNF- α conjugué biotine est ajouté et se lie à l'TNF- α capturé par le premier anticorps.
- Après l'incubation l'anticorps TNF- α anti-animale non lié, biotine conjugué est retiré au cours d'une étape de lavage. Streptavidine-HRP est ajoutée et se lie à l'anticorps TNF- α anti-animale biotine conjugué.
- Après l'incubation la streptavidine-HRP non consolidée est enlevée au cours d'une étape de lavage, et la solution substrat réactive à la HRP est ajoutée aux puits.
- Un produit coloré est formé en proportion de la quantité d' TNF- α présente dans l'échantillon. La réaction est arrêtée par addition d'acide phosphorique et l'absorbance est mesurée à 450 nm. Une courbe d'étalonnage est préparée à partir de sept dilutions d'étalon TNF- α et la concentration de l'échantillon TNF- α déterminée.
-

II.8. L'étude histologique

L'étude histologique a été réalisée sur les différents organes (foie, rein et cœur) selon le protocole de [Drury et Wallington \(1980\)](#). Elle est basée sur une analyse sémiologique qui consiste à comparer les tissus normaux et les tissus pathologiques, dont l'objectif est de

vérifier l'existence de modifications éventuelles dans l'architecture de ces organes après l'administration de la propolis et l'injection de l'épirubicine.

II.8.1. Préparation des échantillons.

- La fixation

Le but de la fixation est de conserver les structures. En effet, le prélèvement des tissus provoque leur mort : les cellules déversent leurs enzymes, ce qui provoque une autodigestion du tissu. Les liquides fixateurs les plus utilisés sont le formol ou le liquide de Bouin (mélange de formol et d'acide picrique). La durée de la fixation varie selon le volume des prélèvements. Elle consiste à figer à un moment donné cellules, tissus, organes ou fragments d'organes dans un état aussi proche que possible à l'état vivant. Dans notre cas, les organes sont fixés dans du formol à 10% (formaldéhyde à 10%).

- La mise en cassette

Chaque échantillon par cassette, en particulier pour le foie (vu son volume). Plonger les cassettes dans un récipient fermé de formol 10%, 10 fois le volume des prélèvements, au minimum une heure.

- La déshydratation

On passe les tissus dans des bains d'alcool de degré croissant (70°, 80°, 90°, 95°, 99°, puis enfin 100°). L'intérêt de la déshydratation est d'éliminer le fixateur.

- La clarification

Juste après la déshydratation, les cassettes sont mises dans un bain de xylène à 40° C pendant 2h, cette opération a été répéter trois fois.

- L'inclusion

Pour que la lumière puisse passer à travers le tissu à examiner, celui-ci doit être très fin. Or les tissus sont mous, il faut donc leur donner une consistance solide. C'est le principe de l'inclusion. Le tissu est placé dans de la paraffine fondue (portée à 56-58°C) ; la chaleur provoque l'évaporation du solvant (et sa dissolution dans la paraffine), les espaces ainsi libérés sont remplis par la paraffine. Puis la paraffine est placée dans de petits moules, à température ambiante, ce qui provoque son durcissement et donc la rigidification des

fragments tissulaires prélevés. On procède alors au démoulage, on obtient des fragments tissulaires inclus dans un bloc de paraffine.

II.8.2. La microtomie

On effectue ensuite des coupes en utilisant un microtome (Leica, Allemagne), qui fait avancer le bloc sur un rasoir, le bloc avance d'environ 2 à 3 μm à chaque fois. L'ensemble des tranches vont former un ruban dans lequel on retrouve des coupes sériées de prélèvement tissulaire.

- Etalement et collage des coupes sur des lames de verre

On chauffe sur une plaque chauffante la paraffine et ainsi la paraffine colle à la lame.

- Coloration des lames

Cependant, pour que l'on puisse utiliser une coloration, la paraffine doit être éliminée. On procède donc au déparaffinage, qui consiste à passer les lames dans des bains de toluène ou de xylène afin de dissoudre la paraffine. On effectue ensuite une réhydratation, l'alcool se mélange avec l'eau et le toluène, on passe les lames dans des bains d'alcool de degré décroissant (100°, 95°, 90° et 70°).

La coloration des lames a été effectuée comme suit :

- Bleuir le noyau avec l' hémateine pendant 3 à 4 min ;
- Laver les lames avec de l'eau de robinet jusqu'au virage de la couleur au bleu-noir ;
- Les tremper dans l'éosine 1% pendant 2 min ;
- Les mettre dans deux bains successifs d'alcool éthylique à 70° puis à 96° pendant 5 min chacun pour alléger la sur-coloration ;

Mettre les lames dans du xylène à deux reprises pendant 5 min.

- Le montage des lames

Les lames sont montées pour préserver les colorations puis sont déshydratées grâce à des bains en toluène, puis on colle des lamelles de verre par-dessus (grâce à des résines synthétiques) afin de préserver les préparations. Les lames préparées sont laissées sécher puis observées sous microscope.

II.10. Analyse statistique

Le logiciel SigmaStat (SPSS, 3.0, SPSS, Inc., Chicago, IL, USA) a été utilisé pour l'analyse statistique. Les données sont présentées sous forme de moyenne \pm écart-type et ont été évalués par ANOVA, avec le test post-hoc de Dunnett's. Chaque analyse a été répétée trois fois dans un dispositif en randomisation totale. La différence est considérée significative à $P < 0.05$

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1. Identification de la composition chimique de la propolis par HPLC/UV

L'analyse par HPLC/UV a permis d'identifier et quantifier les acides phénoliques et les flavonoïdes de l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tigzirt (EAP). L'extrait a été analysé sur deux longueurs d'ondes différentes à 270 nm (fig. 15) pour l'identification des flavonoïdes et à 320 nm pour l'identification des acides phénoliques (fig. 16).

Les composés phénoliques de l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tigzirt (EAP) ont été identifiés par HPLC/UV en basant sur deux longueurs d'ondes (270 et 320 nm) (fig. 15.16).

D'après nos résultats, neuf flavonoïdes ont été identifiés : catéchine (1), quercétine (2), rutine (3), acacétine (4), chlorogénique (5), apigénine (6), pinocembrine (7), chrysin (8), kaempferol (9) ; sept acides phénoliques : thymol (10), acide ferulique (11), acide gallique (12), acide caféique (13), acide ellagique (14), acide rosmarinique (16) et *trans*-cinnamique (17) ; et deux acides organiques : *m*-coumaric (15) et acide ascorbique (18).

La quantification a été faite en utilisant des courbes d'étalonnage des différents standards commerciaux. Le tableau. 9 illustre les différents polyphénols identifiés, leurs temps de rétention et leurs quantités dans la propolis.

L'acide caféique apparaît à 2.38 min avec un taux de 0.85 mg/g, catéchine sort aussi à 2.38 min) mais avec une concentration de 0.78 mg/g. La quercétine est présente aussi à un taux de 0.76 mg/g (Rt=5.73 min). La propolis de Tigzirt est riche en pinocembrine (0.82 mg/g à 6.73 min), chrysin (0.55 mg/g à 7.25 min) et acide ascorbique (0.38 mg/g à 6.73 min). Tandis, qu'elle n'est pas riche en rutine et apéginine (0.01 mg/g).

Selon boufadi et al. (2014), la propolis de Tigzirt renferme plus de polyphénols et de flavonoïdes. Ainsi elle a manifesté la plus forte inhibition de la myéloperoxydase et de la peroxydation lipidique parmi les échantillons récoltée de six régions différentes d'Algérie (Tigzirt, Ouled Ali, Aïn-El-Arba, Yennarou, Ksar Elhirache et Aïn Oussara).

Barbaric et al. (2011) ont pu identifier plusieurs polyphénols (acide férulique, acide *p*-coumarique, tectochrysin, galangine, pinocembrine, pinocembrin7 méthyléther, chrysin,

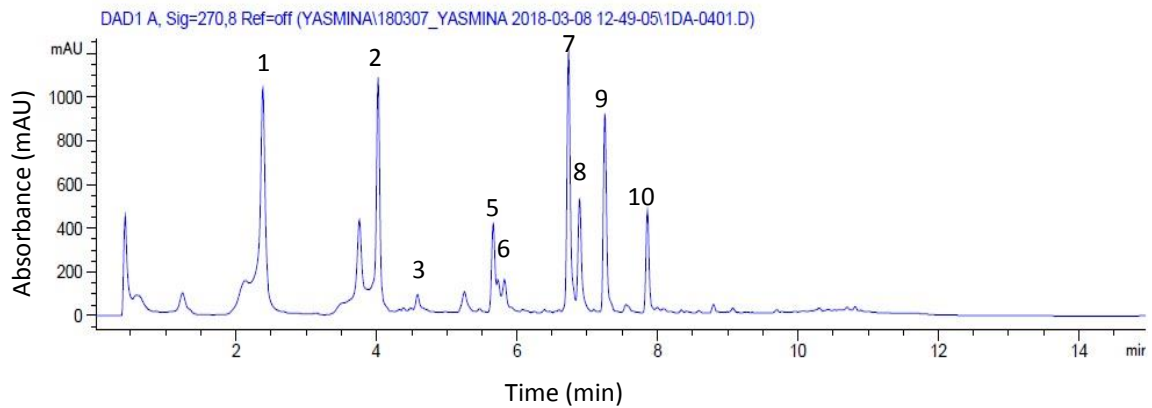


Figure 15: Chromatogramme d'extrait de propolis à 270nm

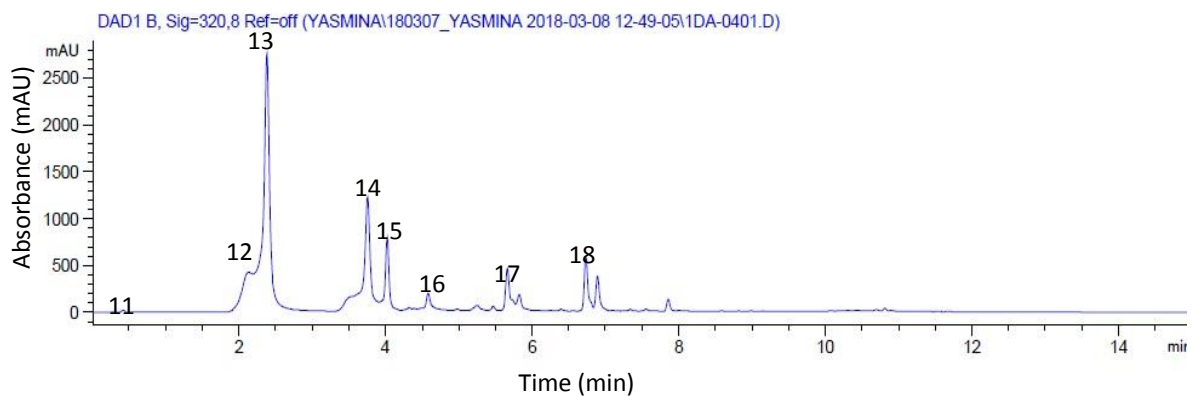


Figure 16 : Chromatogramme d'extrait de propolis à 320 nm

apigénine et kaempférol) par HPLC-RP, sur vingt échantillons des extraits éthanoliques de la propolis de trois régions différentes de la Croatie, la Bosnie-Herzégovine et la Macédoine. L'acide phénolique le plus courant dans ces échantillons est l'acide férulique, compris entre 0.03 et 0.95 mg/g ainsi, l'acide *p*-coumarique avec une teneur allant de 0.002 mg/g à 0.15 mg/g. Cependant, la chryisine a montré une concentration allant de 0.19 à 1.2 mg/g.

Tableau 9: Composition chimique d'extraits d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizirt par HPLC / UV (mg/g)

Numéro du pic	Composé	Le temps de rétention (min)	Quantité (mg/g d'EAP)
1	Catéchine	2.38	0.78 ± 0.1
2	Quercétine	5.73	0.76 ± 0.15
3	Rutine	4.58	0.01 ± 0.02
4	Acacétine	5.25	0.17 ± 0.02
5	Chloregénique	5.66	0.2 ± 0.02
6	Apigénine	6.08	0.01 ± 0.01
7	Pinocembrine	6.73	0.82 ± 0.13
8	Chrysin	7.25	0.55 ± 0.21
9	Kaempférol	6.14	0.31 ± 0.11
10	Thymol	7.85	0.21 ± 0.06
11	Acide ferrique	0.63	0.05 ± 0.001
12	Acide gallique	2.13	0.29 ± 0.02
13	Acide caféique	2.38	0.85 ± 0.09
14	acide ellagique	3.75	0.6 ± 0.05
15	m-coumarique	4.02	0.41 ± 0.07
16	Acide rosmarinique	2.13	0.18 ± 0.02
17	Trans-cinnamique	5.66	0.34 ± 0.03
18	Acide ascorbique	6.73	0.38 ± 0.02

La composition chimique de la propolis dépend des caractéristiques phytogéographiques du site de collecte, puisque les abeilles choisissent différentes plantes comme source de propolis dans différents habitats (Popova et al., 2010). Cet aspect, fait que la normalisation de la propolis est difficile car différents solvants (éthanol, méthanol et eau) peuvent extraire différents composés, influençant ainsi son activité (Cunha et al., 2004). Ainsi, une standardisation universelle, globale, de la propolis est impossible en raison de la diversité chimique de la propolis observée dans les diverses zones géographiques. Par contre, certains

auteurs tels que [Bankova \(2005a\)](#) proposent une standardisation associée à chaque type de propolis, et notamment à celui de type peuplier (type européen). Aussi [Bankova \(2005a\)](#) a proposé que les propriétés biologiques de la propolis soient liées à une étude détaillée de sa composition chimique et de ses sources botaniques.

III.2. Observations cliniques

Les signes cliniques apparus chez les rats de chaque groupe ont été suivis continuellement après l'injection de l'épirubicine, pour déceler les effets de cette dernière et l'action protectrice de l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis sur le comportement des rats ([tableau 10](#)).

Les rats du groupe G1 (témoin) et le groupe 4 (les rats traités par 250 mg/kg d'EAP), n'ont montré aucun signe de toxicité ou de mortalité. Cependant, on remarque des changements graves dans l'activité physique et le comportement des rats du groupe 1 (qui ont reçu uniquement l'épirubicine) ([fig. 17](#)).

Tableau 10 : Les signes cliniques des rats au cours de l'expérimentation.

G1 : Témoin ; G2 : 9 mg/Kg d'épirubicine (7 jours) ; G3 : 100 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G4 : 250 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G5 : 50 mg/kg de quercétine puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours).

Groupes	Signes
G1	Normal
G2	Somnolence, hypoactivité, isolement, redressement des poils, tachycardie, difficulté de respiration, perte d'équilibre.
G3	tachycardie, difficulté de respiration.
G4	Normal
G5	tachycardie, difficulté de respiration, perte d'équilibre.

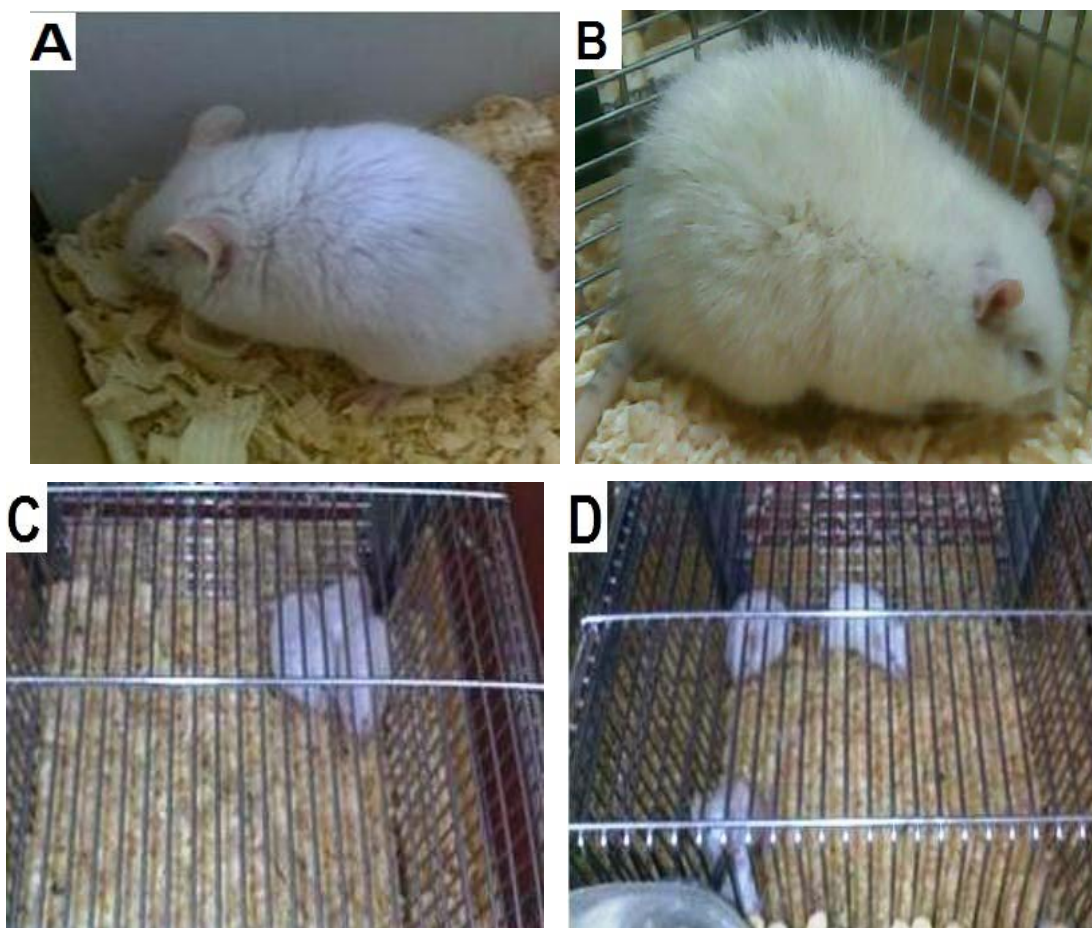


Figure 17: Le comportement des rats après l'injection de l'épirubicine. A : somnolence, B: redressement des poils, C : hypoactivité des rats traités par l'épirubicine seul, D : activité des rats traités par la propolis.

III.3. Effet de l'épirubicine sur le poids corporel et l'action protectrice de l'extrait de la propolis

Résultats

L'évolution du poids corporel des rats est présentée dans la [fig. 18](#). Aucune mortalité n'a été observée durant la période d'expérimentation. Une évolution normale a été remarquée chez les rats du groupe 1, 3 et 4. En revanche, on remarque une légère diminution du poids corporel chez les animaux du groupe 5 (traités avec 50 mg/kg de quercétine), tandis qu'une diminution importante est observée chez les rats du groupe 2 (traité par l'épirubicine seul).

Le changement du poids corporel est utilisé comme un indicateur des effets indésirables des composés chimiques ([Hilaly et al., 2004](#)). La perte du poids est corrélée à l'état physiologique de l'animal. Cette réduction du poids peut être expliquée par la toxicité

d'épirubicine. En revanche, la cause de la stabilité de l'évolution du poids des rats du G3 et G4 malgré l'injection d'épirubicine est due à l'effet protecteur de la propolis.

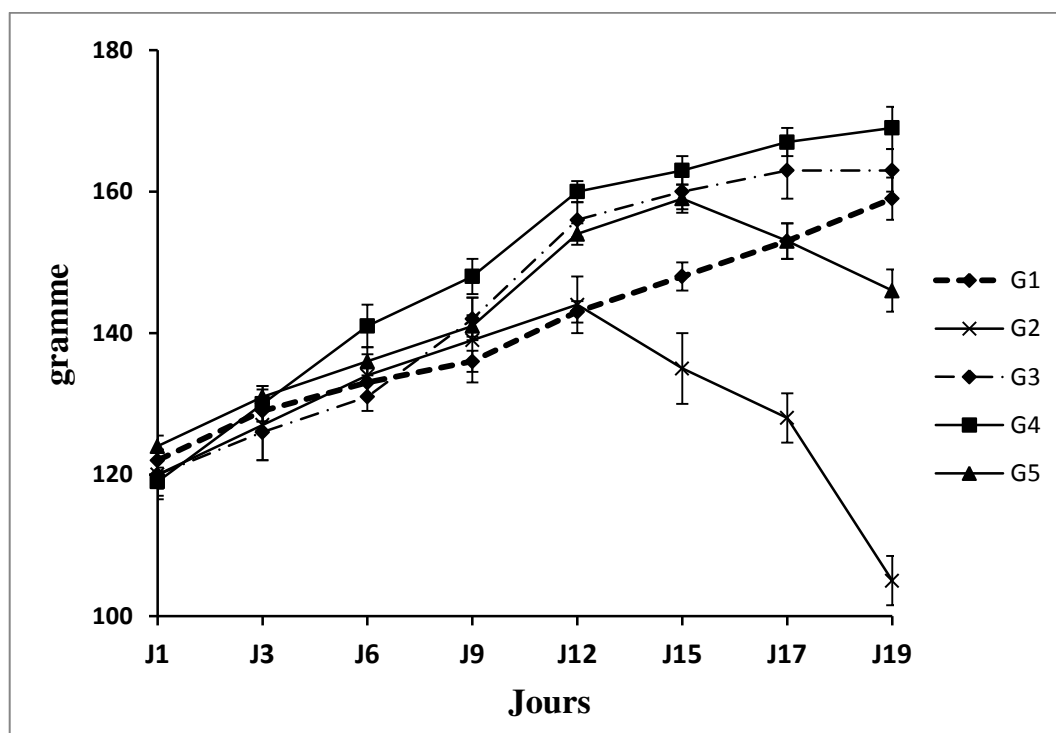


Figure 18: Le poids (g) des rats traités ou/non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizirt (EAP), de quercétine et/ou l'épirubicine. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 5 déterminations \pm SEM (n = 5).

G1 : Témoin ; G2 : 9 mg/Kg d'épirubicine (7 jours) ; G3 : 100 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G4 : 250 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G5 : 50 mg/kg de quercétine puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours).

III.4. Effet de l'épirubicine sur la glycémie et l'action protectrice de l'extrait de la propolis

A la lumière de ces résultats, on remarque une augmentation significative ($P < 0.05$) de 80 % du taux de la glycémie chez les rats du G2 traités par l'épirubicine seule (5.63 g/L), tout en comparant aux rats du groupe témoin négatif (G1). Par contre, on remarque une diminution, de 68 et 76 % chez les rats du G3 et G4 (qui ont reçu 100 et 250 mg/kg de l'EAP), respectivement, par rapport aux rats du groupe 2 (qui ont reçu uniquement l'épirubicine). Tandis que, les rats du groupe 5 (qui ont été traité par la quercétine) ont montré une légère diminution de 34 % du taux de glycémie par rapport au G2 (fig. 19).

Notre résultat, est fondé par [Grote et al. \(2010\)](#) qui ont montrés que le traitement anti-tumoral peut déséquilibrer le diabète.

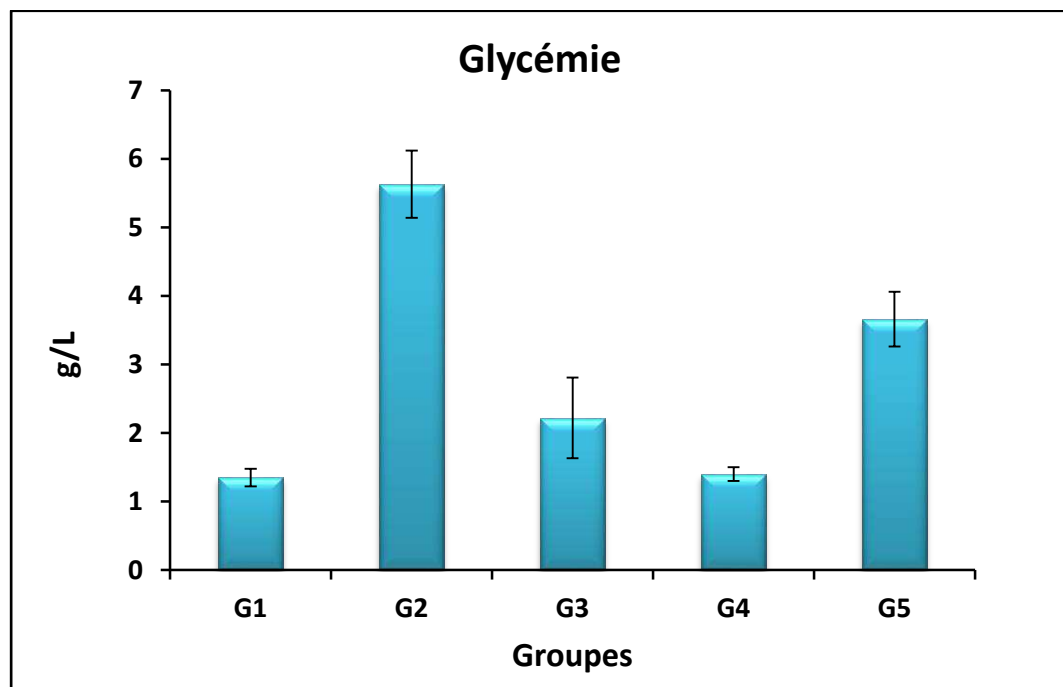


Figure 19: Glycémie (g/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizgirt (EAP), de quercétine et/ou l'épirubicine. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 5 déterminations \pm SEM (n = 5).

G1 : Témoin ; G2 : 9 mg/Kg d'épirubicine (7 jours) ; G3 : 100 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G4 : 250 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G5 : 50 mg/kg de quercétine puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours).

L'augmentation du taux de glucose dans le sang peut être dû à des dommages induits par l'épirubicine dans le pancréas ([Burtis et al., 1994](#)). Les agents chimiothérapeutiques utilisés tels que l'épirubicine et le cyclophosphamide (CY) peuvent potentiellement altérer le système immunitaire. Une telle altération de la réponse immunitaire peut probablement avoir des effets destructeurs sur les cellules β , ce qui peut être irréversible et conduire ainsi à la persistance de l'hyperglycémie ([Wijayahadi et al., 2007](#)).

Une étude suggère qu'une patiente a développé des symptômes de diabète sucré juste après quatre cycles de chimiothérapie avec l'épirubicine. Bien que l'évaluation du sucre sanguin et urinaire avant le traitement ait été normale, sachant qu'il n'y a pas d'antécédents familiaux de diabète sucré. Par conséquent, il semble probable que les modifications

immunologiques induites par la chimiothérapie aient pu entraîner l'apparition d'un nouveau diabète (Sharma *et al.*, 2016).

De même, García *et al.* (2018) ont mené une étude sur un patient diabétique et qui présente un déficit en insuline. Après avoir écarté les causes les plus courantes de diabète, ils ont considéré que cette crise d'hyperglycémie pourrait être liée au traitement de la chimiothérapie notamment le cyclophosphamide (CY). En outre, la chimiothérapie pourrait augmenter directement le nombre de cellules de type T auxiliaire de type 1 (Th1) productrices d'interféron (IFN) - α capables de provoquer la destruction des îlots (Campbell *et al.*, 1991) et d'accélérer indirectement l'insuline en augmentant la sécrétion d'IFN- γ (Ablamunits *et al.*, 1999). Ces mécanismes favorisent l'apparition du diabète auto-immun, nécessitant une utilisation de l'insuline tout au long de la vie.

Les résultats de la présente étude indiquent que le taux de glucose sanguin est significativement élevé ($P < 0.05$) chez les rats qui ont reçu uniquement l'épirubicine (G2) par rapport au groupe témoin (G1). Tandis que, l'administration de 250 mg/kg d'EAP (15 jours) suivie par l'épirubicine (7 jours) chez le groupe G4 a montré une glycémie normale avec une concentration de 1.4 g/L.

Ce résultat est similaire à celui rapporté par Fuliang (2012) et Yajing *et al.* (2012) qui ont montré que la propolis exerce plusieurs effets bénéfiques sur le diabète de type 2 induit par la streptozotocine.

Les résultats obtenus dans cette étude nous ont permis de dire que la propolis exerce un effet protecteur et préventif contre l'hyperglycémie induite par l'épirubicine

III.5. Effet de l'épirubicine sur la fonction hépatique et l'action hépto-protectrice de l'extrait de la propolis

Résultats

III.5.1. La phosphatase alcaline (PAL)

La concentration de la phosphatase alcaline PAL est significativement élevée ($P < 0.05$) de 74 % (288.33 UI/L) chez les rats du G2 (injectés par l'épirubicine seulement) par rapport au groupe témoin G1 (49 UI/L). Une diminution importante de 77 et 83 % a été observée chez les rats du G3 et G4, respectivement, traités par 100 et 250 mg/kg d'EAP, par rapport au groupe G1 (fig. 20).

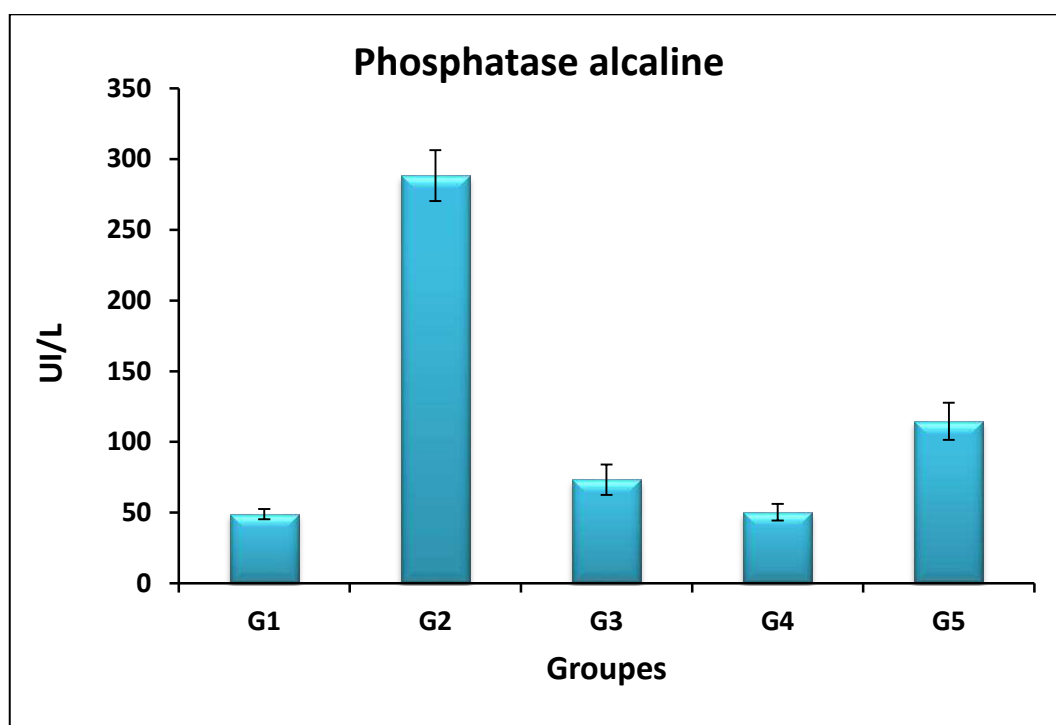


Figure 20 : Les teneurs sériques en phosphatase Alcaline PAL (UI/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tigzirt (EAP), de quercétine et/ou l'épirubicine. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 5 déterminations \pm SEM (n = 5).

G1 : Témoin ; G2 : 9 mg/Kg d'épirubicine (7 jours) ; G3 : 100 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G4 : 250 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G5 : 50 mg/kg de quercétine puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours).

III.5.2. L'aspartate aminotransférase (ASAT)

D'après nos résultats, on constate une augmentation de 67 % du taux sérique d'ASAT (122.33 UI/L) chez les rats de groupe 2 (qui ont reçu uniquement l'épirubicine) par rapport au groupe témoin G1 (40 UI/L) (fig. 21).

L'administration de la propolis de Tizgirt a provoqué une diminution très significative ($P < 0.05$) de 68 et 88% de l'activité de cette enzyme (ASAT) chez les rats du G3 et G4, respectivement, par rapport au G2. En outre, on constate une légère diminution de 49% chez les rats traités par la quercétine par rapport au G2.

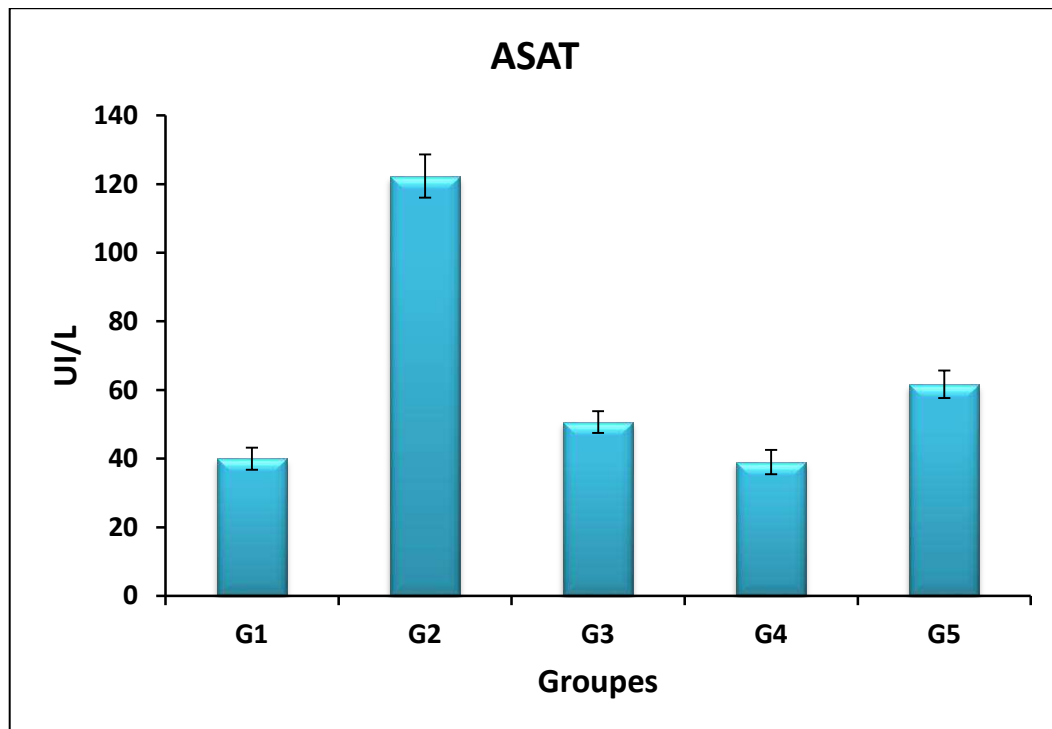


Figure 21 : Les teneurs sériques de l'aspartate aminotransférase ASAT (UI/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizgirt (EAP), de quercétine et/ou l'épirubicine. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 5 déterminations \pm SEM (n = 5).

G1 : Témoin ; G2 : 9 mg/Kg d'épirubicine (7 jours) ; G3 : 100 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G4 : 250 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G5 : 50 mg/kg de quercétine puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours).

III.5.3. L'alanine aminotransférase (ALAT)

A la lumière de ces résultats, on remarque une augmentation hautement significative ($P < 0.05$) de 70 % du taux de l'alanine amino transférase (ALAT) chez les rats du G2 (130 UI/L) tout en comparant aux rats du groupe témoin G1 (38 UI/L).

En revanche, on a enregistré une diminution de 73 et 84% du taux de l'ALAT chez les rats du G3 et G4 (qui ont reçu 100 et 250 mg/Kg de l'EAP) par rapport au groupe G2. Tandis que la quercétine (G5) a diminué le taux de l'ALAT qu'à 51 % toujours par rapport au groupe qui a été intoxiqué par l'épirubicine (G2) (fig. 22).

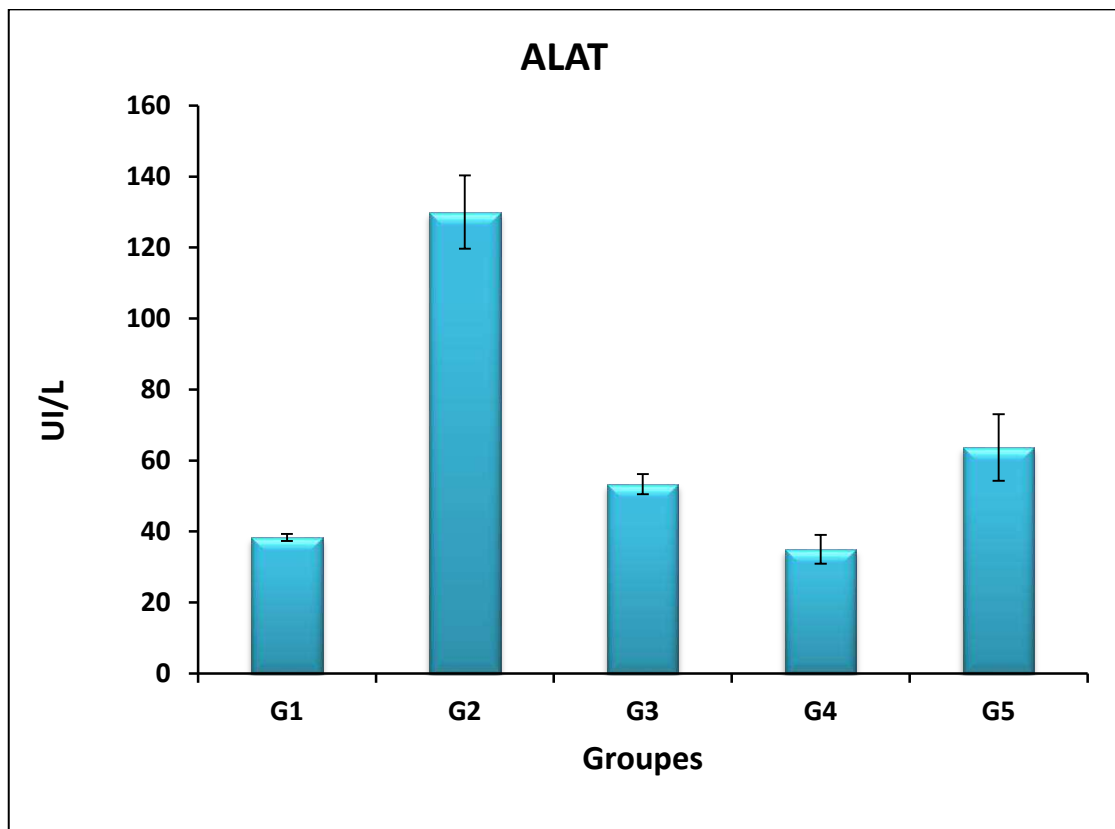


Figure 22 : Les teneurs sériques de l'alanine aminotransférase (UI/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizirt (EAP), de quercétine et/ou l'épirubicine. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 5 déterminations \pm SEM (n = 5).

G1 : Témoin ; G2 : 9 mg/Kg d'épirubicine (7 jours) ; G3 : 100 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G4 : 250 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G5 : 50 mg/kg de quercétine puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours).

III.5.4. La gamma glutamyl transférase (γ -GT)

Nos présents résultats montrent que l'épirubicine (G2) a significativement ($P < 0.05$) fait augmenter la concentration de cette enzyme (γ -GT) qui est de l'ordre de 106 UI/L par rapport au groupe témoin (G1).

En revanche, la gamma glutamyl transférase est réduite de - 66 et - 71 UI/L chez les groupes G3 (ayant reçu 100 mg/kg d'EAP puis l'épirubicine) et G4 (ayant reçu 250 mg/kg d'EAP puis l'épirubicine) par rapport au groupe (G1) (fig. 23).

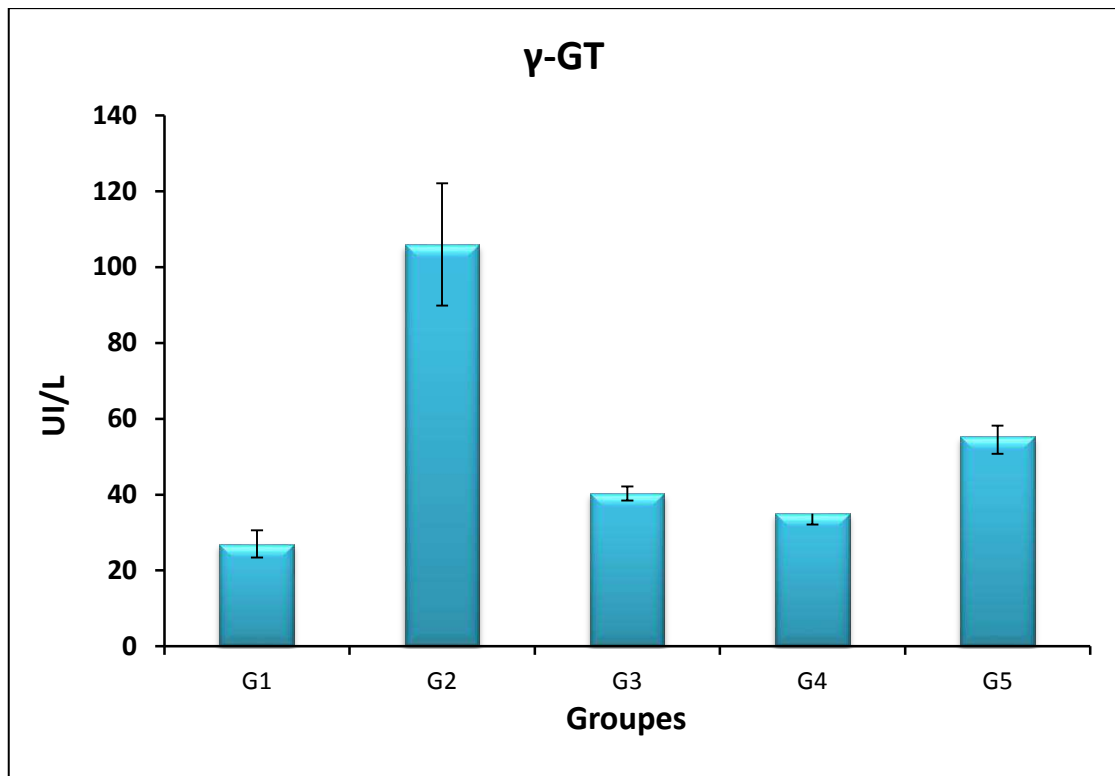


Figure 23: Les teneurs sériques en gamma glutamyl transférase (UI/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizirt (EAP), de quercétine et/ou l'épirubicine. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 5 déterminations \pm SEM (n = 5).

G1 : Témoin ; G2 : 9 mg/Kg d'épirubicine (7 jours) ; G3 : 100 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G4 : 250 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G5 : 50 mg/kg de quercétine puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours).

III.5.5. Taux de la bilirubine totale (Bil T)

La figure 24 présente le taux de la bilirubine totale chez les rats Wistar intoxiqués ou non par l'épirubicine. En comparaison avec les rats du groupe contrôle, l'épirubicine a augmenté le taux de la bilirubine totale chez les rats du groupe 2 (+53 mg/L).

On remarque une diminution significative ($P < 0.05$) de ce paramètre chez les rats du groupe G3 (-50 mg/L) et G4 (-52 mg/L), qui ont reçu, respectivement, 100 et 250 mg/kg de propolis (pendant 15 jours) puis 9 mg/kg d'épirubicine (pendant 7 jours) par rapport aux rats du groupe G1. L'administration de 50 mg/kg de quercétine aux rats du groupe 5 a engendré un taux élevé de la bilirubine totale par rapport au groupe de contrôle.

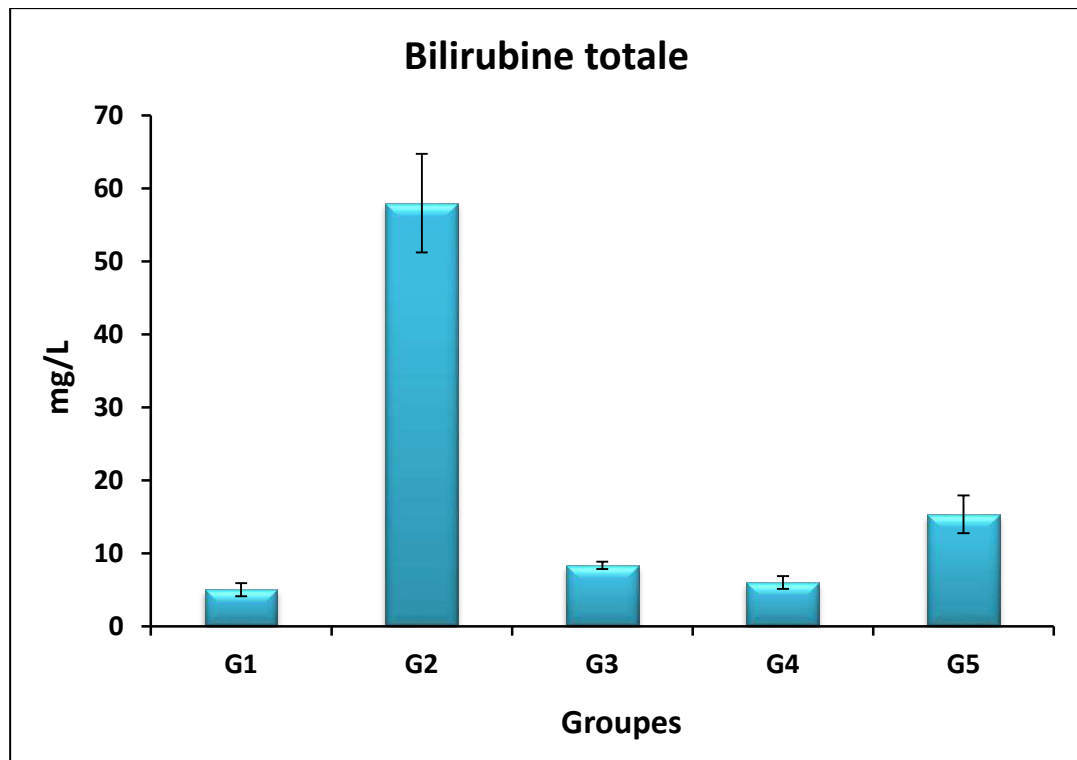


Figure 24: Le taux de la bilirubine totale (mg/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizirt (EAP), de quercétine et/ou l'épirubicine. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 5 déterminations \pm SEM (n = 5).

G1 : Témoin ; G2 : 9 mg/Kg d'épirubicine (7 jours) ; G3 : 100 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G4 : 250 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G5 : 50 mg/kg de quercétine puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours).

III.5.6. Taux de la 5'nucléotidase

Le dosage du taux sérique de la 5' nucléotidase a montré une augmentation très significative ($P < 0.05$) chez les rats qui ont reçu uniquement une injection d'épirubicine (G2) de l'ordre de 12.33 UI/L par rapport au groupe témoin G1 (2.5 UI/L).

En outre, on remarque une réduction de cette activité enzymatique à l'ordre de - 7.83 et 9.33 UI/L, respectivement, chez les animaux du groupe G3 et G4, par rapport aux rats du groupe G2. Le groupe traité par la quercétine a enregistré une augmentation importante par rapport au G1 (fig.25).

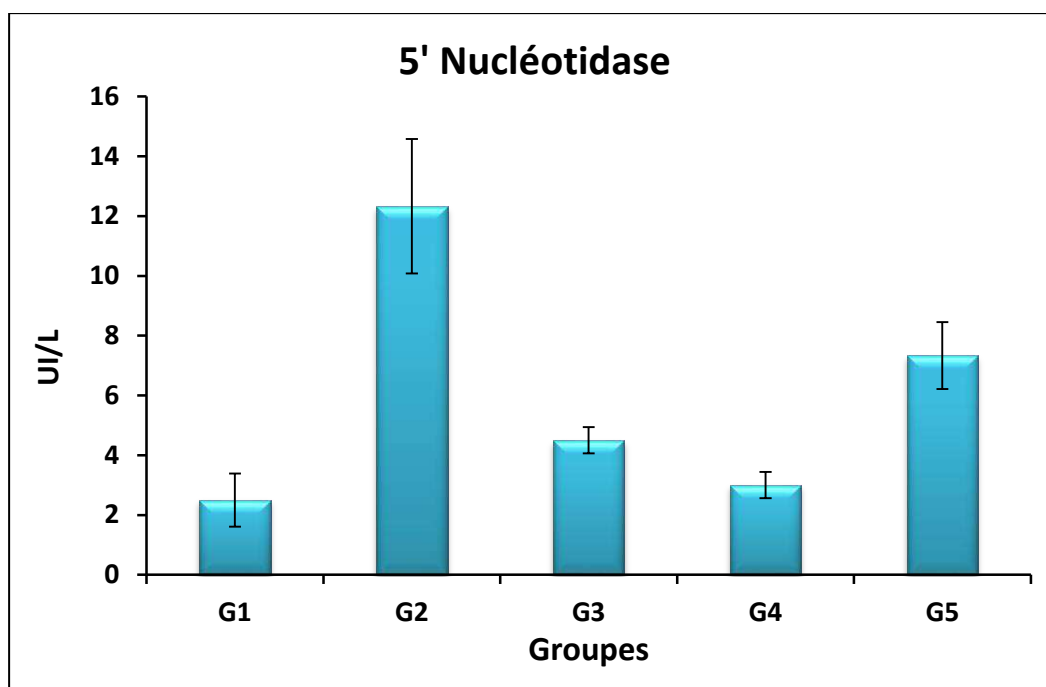


Figure 25: Les teneurs sériques de l'activité enzymatique de 5' nucléotidase (UI/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tigzirt (EAP), de quercétine et/ou l'épirubicine. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 5 déterminations \pm SEM (n = 5).

G1 : Témoin ; G2 : 9 mg/Kg d'épirubicine (7 jours) ; G3 : 100 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G4 : 250 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G5 : 50 mg/kg de quercétine puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours).

III.5.7. Statut antioxydant du foie

Le compartiment des mitochondries est présumé comme un des sites majeurs de production des radicaux libres de l'oxygène (ROS : reactive oxygen species) à travers les complexes de sa chaîne respiratoire (Yuhan *et al.*, 2012), puisque ils contiennent une grande quantité de phospholipides insaturés (Latchoumycandane *et al.*, 2002).

Les valeurs du statut antioxydant hépatique des différents groupes sont présentées dans le [tableau 11](#).

III.5.7.1. Taux du malondialdéhyde (MDA)

D'après nos résultats, on remarque que les rats du groupe G2 (traités avec 9 mg/kg d'EPI) montrent une forte concentration en MDA mitochondriale hépatique allant jusqu'à 5.49 nmol/mL par rapport au groupe témoin (G1) où on a noté un taux allant jusqu'à 0.96 nmol/mL.

Une diminution très significative ($P < 0.05$) a été enregistrée chez les groupes traités par l'EAP par rapport au G2, surtout celui qui a été administré par 250 mg/kg d'EAP avant l'injection de l'épirubicine (G4) où le taux du MDA hépatique (0.9 nmol/mL) s'est révélé proche de celui du groupe témoin (0.96 nmol/mL).

Par contre le groupe qui a reçu 50 mg/kg de quercétine a présenté une légère réduction en MDA hépatique allant jusqu'à 4.18 nmol/mL par rapport au groupe 2.

Tableau 11 : Les teneurs en malondialdéhyde (MDA), l'oxyde nitrique (NO), Superoxyde dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathion peroxydase (GSH-Px) et les thiols au niveau du foie chez les rats traités ou non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizgirt EAP, quercétine et/ou l'EPI. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 5 déterminations \pm SEM (n = 5).

Paramètres	G1	G2	G3	G4	G5
MDA du foie (nmol/mg)	0.96 \pm 0.11	5.84 \pm 0.99	2.20 \pm 0.13	0.89 \pm 0.06	4.18 \pm 0.11
NO du foie (μ mol/g)	8.11 \pm 0.52	23,40 \pm 1,22	19,88 \pm 0,70	8,09 \pm 0,93	16.06 \pm 1.63
SOD du foie (U/cg)	48.80 \pm 2.30	15.94 \pm 2.33	23.70 \pm 1.93	50.74 \pm 1.87	20.76 \pm 1.70
CAT du foie (U/mg)	90.38 \pm 3.49	29.72 \pm 1.90	53.81 \pm 1.87	96.69 \pm 1.60	38.05 \pm 1.24
GSH-Px du foie (U/g)	76.08 \pm 2.42	12.78 \pm 1.4	46.04 \pm 1.43	86.51 \pm 2.11	36.26 \pm 2.43
Thiol du foie (mmol/mL)	1.57 \pm 0.16	0.25 \pm 0.02	1.27 \pm 0.06	1.89 \pm 0.07	0.84 \pm 0.04

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SD (n = 5).

III.5.7.2. Taux de l'oxyde nitrique (NO)

Les rats du groupe G2 (traités uniquement avec 9 mg/kg d'EPI) ont montré une augmentation très significative ($P < 0.05$) du taux de l'oxyde nitrique (NO) dans le foie (23.40 μ mol/g) par rapport au groupe témoin G1 (8.11 μ mol/g).

En comparaison avec les rats du groupe G2, l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizgirt a diminué la concentration du NO chez les rats des groupes G3 et G4, le groupe qui a reçu 250 mg/kg d'EAP a montré une valeur de l'oxyde nitrique (8.09 μ mol/g) similaire à celle du G1 (8.11 μ mol/g).

Une légère réduction de ce taux qui est de $-7.34 \mu\text{mol/g}$ a été enregistrée chez le groupe G5 (qui a été traité avec 50 mg/kg de quercétine avant l'injection de l'épirubicine) par rapport au G2.

III.5.7.3. Taux du superoxyde dismutase (SOD ; EC 1.15.1.1), de catalase (CAT ; EC 1.11.1.6) et de glutathion peroxydase (GSH-Px)

Les résultats de la présente étude indiquent que les concentrations en superoxyde dismutase, catalase et glutathion peroxydase au niveau du foie sont significativement réduites ($P < 0.05$) chez le groupe G2 avec des taux respectifs de 15.94, 29,72 et 12,78 U/g, par rapport au groupe témoin G1.

L'activité de ces enzymes antioxydantes hépatique a été améliorée significativement ($P < 0.05$) chez les rats traités par la propolis notamment les rats du G4 (traités par 250 mg/kg d'EAP), où on a enregistré une augmentation de la SOD (50.74 U/cg), de la catalase (96.69 U/mg) et de la GSH-Px (86.51 U/g) par rapport aux rats du groupe G2.

Le groupe 5 n'a pas montré une amélioration significative au niveau des activités de ces enzymes antioxydantes.

III.5.7.4. Taux des thiols

L'activité des thiols hépatiques a été réduite significativement ($P < 0.05$) chez les rats du G2 (0.25 mmol/g) par rapport aux rats du G1 (1.57 mmol/g).

La concentration en ce marqueur du statut antioxydant a été positivement améliorée chez les rats du groupe G3 et G4 qui ont reçu, respectivement, 100 et 250 mg/kg de la propolis de Tigzirt par rapport au groupe G2, dont le taux des thiols respectifs est de 1.27 mmol/g et 1.89 mmol/g.

Une légère élévation du taux des thiols mitochondriales hépatiques a été remarquée chez les rats du G5 qui ont reçu 50 mg/kg de Quercétine (0,84 mmol/g) par rapport au groupe 2.

III.5.8. L'étude histologique du foie

Le groupe témoin (G1) a montré une structure histologique normale du parenchyme hépatique, hépatocytes et veines centro lobulaire (fig .26 a).

L'étude histologique a montré des dommages majeurs dans le foie des rats du groupe G2. L'épirubicine a causé une nécrose cellulaire avec dégenéraisance hépatique, dilatation des sinusoides avec infiltrat inflammatoire lymphocytaire associé à une congestion des veines centro-lobulaire (fig. 26 b-c).

Le traitement avec 100 mg/kg de propolis chez les rats du groupe 3 a montré une nécrose très prononcée localisée autour de la congestion de la veine centro-lobulaire (fig. 26 d).

L'administration de 250 mg/kg de propolis aux rats du groupe 4 a empêché toute altération du foie, on observe une architecture similaire à celle observé chez les animaux du groupe témoin (fig. 26 e).

Par contre, chez le groupe 5, on observe un parenchyme endommagé où les hépatocytes sont dégénérées responsables d'une nécrose focale, une dilatation des sinusoides et une congestion des veines centro-lobulaire cernée par in infiltrat inflammatoire lymphocytaire (fig.26 f).

Discussion

l'épirubicine (EPI), appartenant à la famille des anthracyclines, est l'un des agents chimio-thérapeutiques le plus efficace utilisé dans le traitement d'une variété de tumeurs solides et hématologiques malignes (Judson et al., 2014). Son efficacité anti-tumorale est dose-dépendante, mais son utilisation clinique est limitée par le développement des toxicités cardiaques et hépatiques.

Les anthracyclines sont capables d'induire une production accrue de ROS, du fait de leur structure de type quinone, pouvant subir une réduction, catalysée par les flavines réductases (NADPH-cytochrome P-450 réductase, NADH déshydrogénase), pour aboutir à la formation d'un dérivé semi-quinone radicalaire ce qui entraine une toxicité au niveau du foie très grave (Lanzarini et al., 2000).

Grace à la présence d'antioxydants, il existe un équilibre physiologique subtil entre la production et l'élimination de ces ROS. C'est ainsi que plusieurs auteurs proposent le stress oxydant comme le mécanisme clé de la toxicité de l'épirubicine (Marrington et al., 2011).

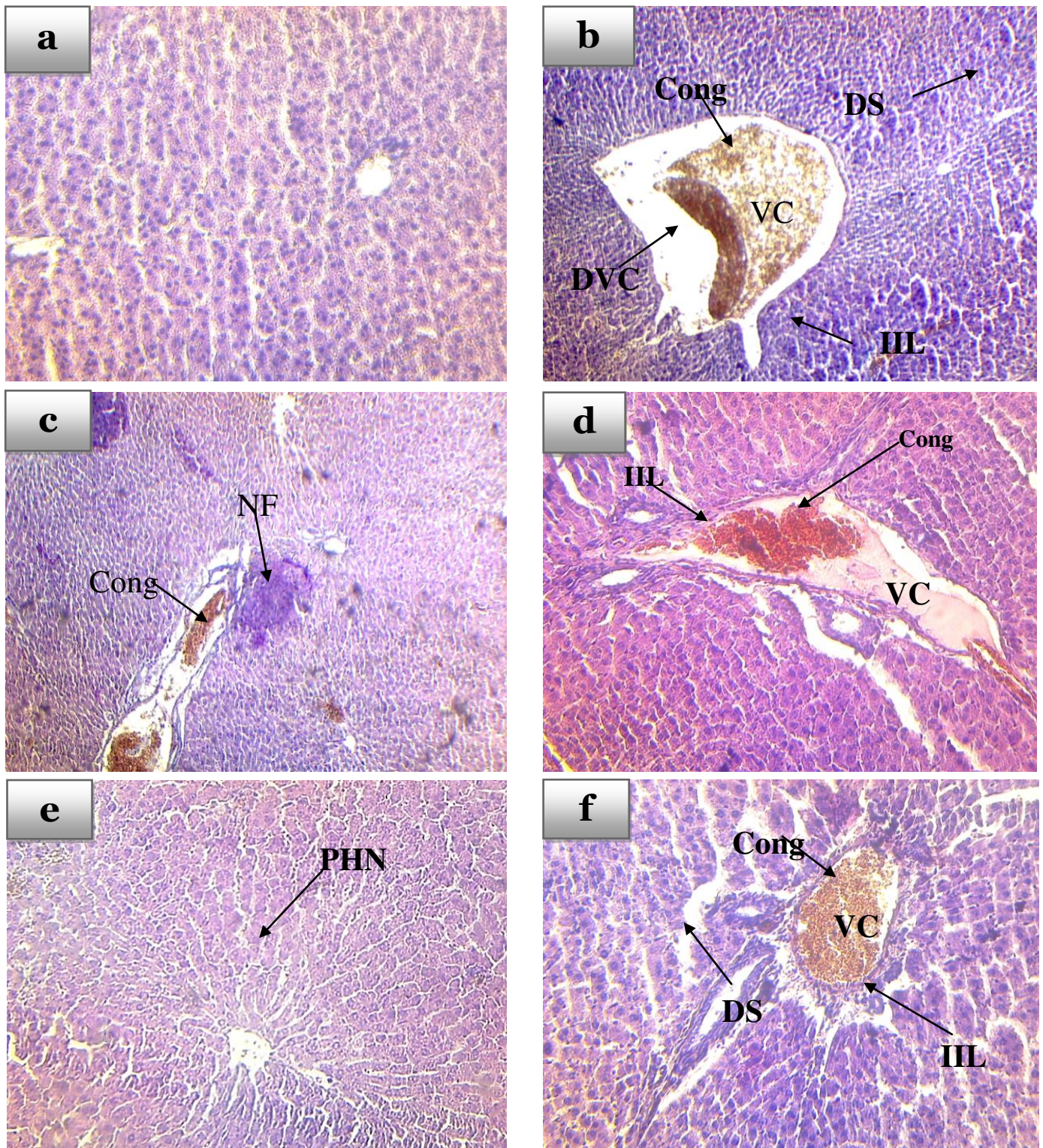


Figure. 26 : Coupes histologiques de foie des rats du groupe : a : Témoin ; b et c : 9 mg/Kg d'épirubicine (7 jours) ; d : 100 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; e : 250 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; f : 50 mg/kg de quercétine puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours).

Cong : congestion ; VC : veine centro-lobulaire ; DS : dilatation des sinusoides ; IIL : infiltrats inflammatoire lymphocytaire ; PHN : parenchyme hépatique normale ; NF : nécrose focalisé ; DVC : dilatation centro lobulaire.

Une étude récente suggère que l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizirt (EAP), a un effet antioxydant et anti-radicalaire très puissant, dont il a montré une réduction très significative des dommages oxydatifs du stress oxydant chez les rats Wistar (Boufadi et al., 2017).

Dans cette étude, nous avons évalué l'effet de la propolis de Tizirt contre l'hépatotoxicité induite par l'épirubicine. Afin de confirmer la toxicité hépatique induite par l'EPI, nous avons injecté aux rats une dose cumulative de 9 mg/kg d'EPI (*i.v*) pendant une semaine à un intervalle de 48h. 24h après la dernière injection, nous avons constaté une augmentation significative ($P < 0.05$) de l'activité enzymatique de l'ALAT, l'ASAT, la PAL, γ -GT, 5'nucléotidase et même le taux de la bilirubine totale chez les rats du G2.

L'augmentation de l'activité des enzymes hépatiques dans le sang peut être due pratiquement à des lésions tissulaires dans le foie ou en raison de modifications de la perméabilité de la membrane cellulaire ou également une augmentation de la synthèse ou une diminution du catabolisme des aminotransférases (Farag et al., 2010).

En outre, l'ASAT, L'ALAT sont les principales enzymes utilisées dans le but d'évaluer l'état de la fonction hépatique (Wallace et Meyer, 2010). Ce sont les biomarqueurs les plus sensibles, directement impliqués dans l'étendue des dommages cellulaires et de la toxicité (Soudani et al., 2011).

Ainsi, toute nécrose cellulaire, destruction du parenchyme hépatique ou une augmentation de la perméabilité membranaire des hépatocytes peut mener à l'écoulement de ces enzymes dans la circulation sanguine et donc à l'augmentation de leurs taux sériques (Adeneye et al., 2006 ; Jodynis-Liebert et al., 2010). D'une autre part, la phosphatase alcaline est une enzyme ubiquitaire, elle se trouve en particulier dans le foie, les voies biliaires, les reins, l'os et le placenta, où elle est très concentrée. Son augmentation dans la circulation indique généralement la présence d'une obstruction des canaux biliaires intra-hépatiques, d'une cirrhose biliaire primitive ou d'une désorganisation de l'architecture hépatique (Akhtar et al., 2012).

L'étude histopathologique confirme nos résultats, dont les rats du groupe G2 injectés par l'EPI ont montré une nécrose cellulaire avec dégénérescence hépatique, dilatation des sinusoides avec infiltrat inflammatoire lymphocytaire associé à une congestion des veines centro-lobulaire. Ces observations sont en accord avec celles rapportées par Wu et al., (2016),

qui ont montré que l'exposition des rats à l'épirubicine engendre des lésions hépatiques, avec nécrose, infiltrat cellulaire inflammatoire et hémorragie interstitielle.

Par contre l'administration de l'EAP aux rats pendant 15 jours et avant l'exposition à l'épirubicine a réduit significativement l'activité enzymatique des biomarqueurs hépatiques. Le prétraitement avec la propolis a pu conserver l'architecture hépatique et qui est aussi similaire à celle observé chez le groupe témoin. Cela révèle la capacité de la propolis administrée d'atténuer les lésions hépatiques induites par cette substance de la chimiothérapie (épirubicine). Ce qui nous révèle, que la propolis est efficace dans la prévention des dommages hépatiques causés par l'épirubicine. Cette propolis, a pu diminuer significativement le taux des MDA et de l'oxyde nitrique (NO) et d'augmenter les enzymes antioxydantes (SOD, catalase et GSH-Px) au niveau du foie. Cet effet antioxydant est certainement dû à la présence des acides phénoliques et des flavonoïdes dans la propolis, ainsi qu'à leur capacité de piégeage des radicaux libres (Boufadi *et al.*, 2014, Boufadi *et al.*, 2017).

On a enregistré une augmentation très significative des malondialdéhyde (MDA) et de l'oxyde nitrique (NO) au niveau des mitochondries hépatiques chez les rats du groupe 2 (injecté par l'épirubicine), ainsi une forte diminution des activités des enzymes antioxydantes hépatiques (SOD, catalase, GSH-Px). Pelletier *et al.* (2004) ont montré que la peroxydation lipidique cause une lésion du tissu hépatique.

Plusieurs auteurs s'accordent à dire que la toxicité d'épirubicine est associée à la détérioration du statut antioxydant, résultant d'une augmentation des teneurs en malondialdéhyde (MDA) et une diminution des activités des enzymes antioxydantes (GSH, SOD) (Ramanathan et Boroujerdi, 2001 ; Kebieche *et al.*, 2009 ; Marrington *et al.*, 2011 ; Prado *et al.*, 2011).

L'oxyde nitrique (NO) est un oxydant hautement réactif produit par les cellules parenchymateuse et non parenchymateuses du foie à partir de L-arginine via l'oxyde nitrique synthase, la superproduction du NO dans le foie peut causer des lésions tissulaires très importantes (Helyar *et al.*, 1994).

Grace à la présence d'antioxydants, il existe un équilibre physiologique subtil entre la production et l'élimination des ROS. Les ROS, par une vie très courte et une réactivité élevée,

sont analysés indirectement par l'évaluation des enzymes antioxydantes : la SOD, la GSH-Px et la catalase (Venukumar et Latha, 2002 ; Halliwell et Gutteridge, 2007).

Pour assurer sa défense contre les attaques des radicaux libres, l'organisme possède un système enzymatique de protection; qui sont les superoxydes dismutase (SOD) et la glutathion peroxydase (GSH-Px), qui sont capables de piéger directement les radicaux pro-oxydants, et peuvent prévenir contre les maladies liées au stress oxydatif (Otunola et al., 2014).

La propolis agit comme agent hépatoprotecteur (Banskota et al., 2001a; Santos et al., 2002 ; Won Seo et al., 2003 ; Andrade et al., 2008 ; Peña, 2008). Elle augmente le niveau de glutathion tout en arrêtant la peroxydation des lipides et le niveau de la glutathion oxydée. Par conséquent, la propolis augmente l'activité antioxydante contre la toxicité induite par l'épirubicine et agit comme un agent hépatoprotecteur.

D'autres études ont également montré que l'extrait de la propolis possède un rôle protecteur contre hépatotoxicité due au stress oxydatif induit par le CCl₄ (Wagh, 2013). Banskota et al. (2001a) ont isolé des acides phénoliques, des flavonoïdes et des acides diterpéniques de la propolis brésilienne, ces molécules ont montré une action hépatoprotectrice contre D-galactosamine (d-GalN) / facteur de nécrose tumorale α (TNF- α).

Plusieurs études (Kolankaya et al., 2002 ; Vicente et al., 2008 ; Turkez et al., 2010) suggèrent que la propolis a un effet protecteur contre l'hépatotoxicité induite par l'aluminium, le cadmium et l'alcool.

On peut conclure que l'extrait d'acétate d'éthyle de propolis de Tigzirt a assuré un effet hépatoprotecteur très intéressant contre la toxicité induite par l'épirubicine. La quercétine n'a pas montré un effet protecteur intéressant surtout au niveau des tissus hépatiques, ceci explique que l'activité protectrice est due à l'effet synergique des composés phénoliques.

III.6. Effet de l'épirubicine sur la fonction rénale et l'action néphroprotectrice de l'extrait de la propolis

Résultats

III.6.1. L'urémie

L'urémie, avec la créatinémie, constitue un premier indice d'évaluation de la fonction rénale (siby, 2008).

Dans la présente étude, on remarque des différences significatives ($P < 0.05$) entre les groupes (fig. 27). En comparaison avec le groupe contrôle qui a montré une urémie allant jusqu'à 0.15 g/L, le groupe G2 (qui a reçu seulement l'épirubicine) a montré une importante augmentation de l'urémie à +1.48 g/L.

Par contre, les rats du groupe G3 et G4 (qui ont reçu 100 et 250 mg/kg d'EAP avant l'injection d'épirubicine) ont montré, respectivement, une diminution de -82 et -88 % de taux de l'urée, par rapport aux rats du groupe G2. Les rats traités par la quercétine (G5) ont montré une légère diminution de -55% du taux d'urée par rapport au groupe G2.

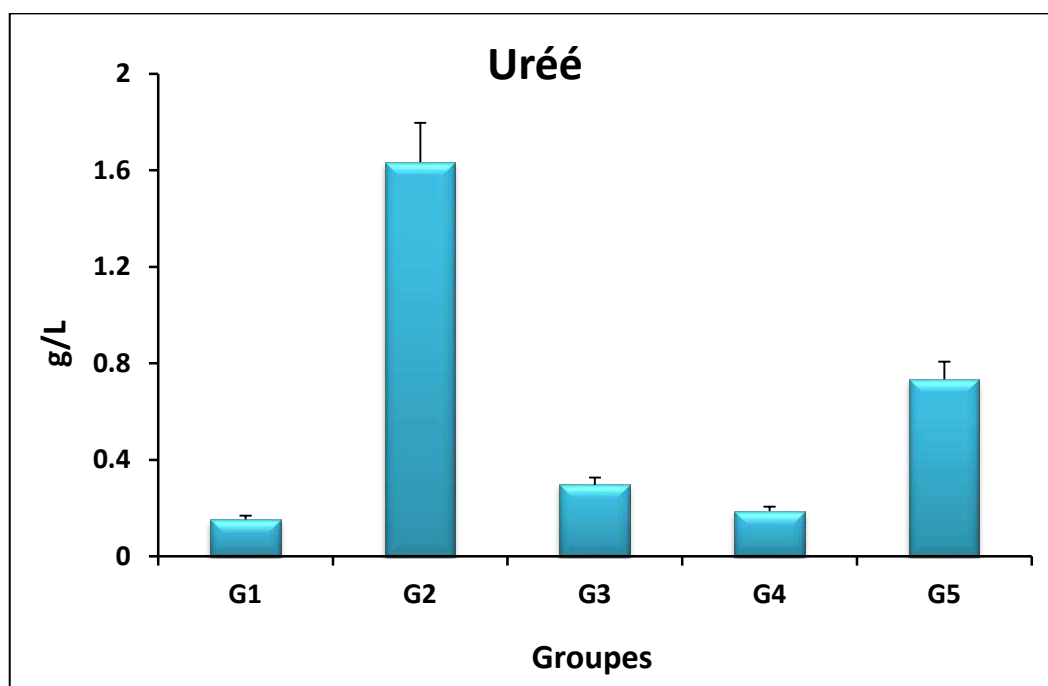


Figure 27: Concentration sérique de l'urée (g/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizirt (EAP), de quercétine et/ou l'épirubicine. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 5 déterminations \pm SEM (n = 5).

G1 : Témoin ; G2 : 9 mg/Kg d'épirubicine (7 jours) ; G3 : 100 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G4 : 250 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G5 : 50 mg/kg de quercétine puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours).

III.6.2. Créatininémie

Dans la présente étude, on remarque des différences significatives ($P < 0.05$) entre les groupes des rats (fig. 28).

En comparaison avec le groupe contrôle (G1) qui a montré une créatinémie allant jusqu'à 9.33 mg/L, le groupe G2 (qui a reçu seulement une injection de l'épirubicine) a montré une haute augmentation de la créatinine (37.66 mg/L) par rapport aux rats du groupe témoin (G1).

En outre, on remarque une diminution très significative ($P < 0.05$) de -69 et -75% en ce taux de créatinine, respectivement, chez les rats du groupe G3 et G4 par rapport au G2. La quercétine a pu diminuer ce taux à -53% par rapport au groupe G2.

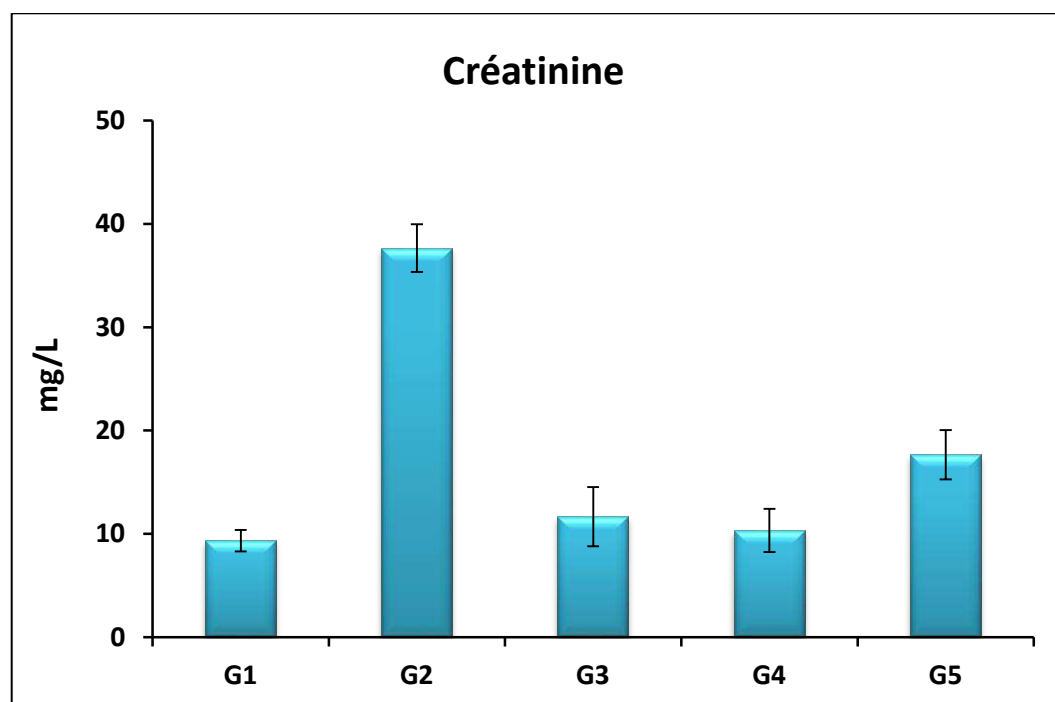


Figure 28: Concentration sérique de la créatinine (mg/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tigzirt (EAP), de quercétine et/ou l'épirubicine. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 5 déterminations \pm SEM (n = 5).

G1 : Témoin ; G2 : 9 mg/Kg d'épirubicine (7 jours) ; G3 : 100 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G4 : 250 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G5 : 50 mg/kg de quercétine puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours).

III.6.3. Taux de l'acide urique

L'injection d'épirubicine aux rats du groupe 2 a causé une augmentation très élevée du taux d'acide urique (276,6 mg/L) en comparant aux animaux du groupe témoin (G1) (36,66 mg/L) (fig. 29).

En revanche, l'administration de 100 et 250 mg/Kg d'EAP, respectivement, a réduit significativement ($P < 0.05$) ce taux chez les rats du groupe G3 et G4 (60,33 et 46,66 mg/L), en comparant au groupe G2 (qui ont reçu uniquement l'EPI).

Tandis que le traitement par la quercétine a montré une légère diminution (87 mg/L) par rapport au groupe 2.

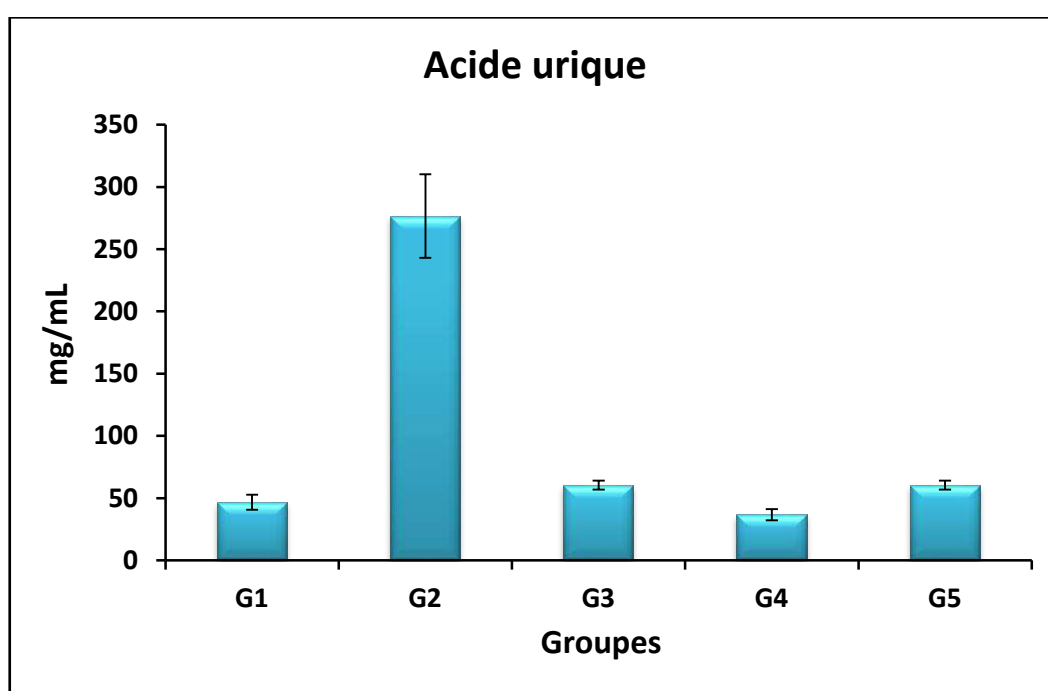


Figure 29: Concentration sérique de l'acide urique (mg/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizirt (EAP), de quercétine et/ou l'épirubicine. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 5 déterminations \pm SEM (n = 5).

G1 : Témoin ; G2 : 9 mg/Kg d'épirubicine (7 jours) ; G3 : 100 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G4 : 250 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G5 : 50 mg/kg de quercétine puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours).

III.6.4. Statut antioxydant des reins

III.6.4.1. Taux du malondialdéhyde (MDA)

D'après nos résultats, on remarque que les rats du groupe 2 (qui ont été injectés par l'épirubicine) montrent une forte concentration en MDA néphrotique allant jusqu'à 1.89

nmol/mL par rapport au groupe témoin où on a noté un taux allant jusqu'à 0.34 nmol/mL (tableau 12).

Chez les groupes G3 et G4, l'administration de 100 et 250 mg/kg de propolis, respectivement, a engendré une diminution significative ($P < 0.05$) du taux de MDA rénal, qui est de 0.53 et 0.34 nmol/mL par rapport au G2 (1.89 nmol/mL).

On note aussi que le taux du MDA chez les rats du groupe 4 (qui ont reçu 250 mg/kg d'EAP) est identique à celui du groupe témoin (G1).

Une légère augmentation du taux de MDA a été enregistrée chez les rats du groupe 5 (qui ont reçu 50 mg/kg de quercétine).

Tableau 12 : Les teneurs en malondialdéhyde (MDA), l'oxyde nitrique (NO), Superoxyde dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathion peroxydase (GSH-Px) et les thiols au niveau des reins chez les rats traités ou non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizirt EAP, quercétine et/ou l'EPI. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 5 déterminations \pm SEM (n = 5).

Paramètres	G1	G2	G3	G4	G5
MDA des reins (nmol/mg)	0.34 \pm 0.06	1.89 \pm 0.72	0.53 \pm 0.04	0.34 \pm 0.06	1.27 \pm 0.24
NO des reins (μ mol/g)	6.05 \pm 0.32	16.27 \pm 1.05	12.84 \pm 1.91	6.11 \pm 0.25	13.52 \pm 0.98
SOD des reins (U/cg)	22.79 \pm 2.12	6.13 \pm 0.91	15.20 \pm 0.66	23.78 \pm 1.45	10.87 \pm 0.82
CAT des reins (U/mg)	17.89 \pm 0.90	5.03 \pm 0.65	13.00 \pm 0.94	18.14 \pm 0.53	9.04 \pm 0.39
GSH-Px des reins (U/g)	45.12 \pm 1.74	20.10 \pm 1.23	34.46 \pm 0.76	44.75 \pm 1.98	24.61 \pm 2.12
Thiol des reins (mmol/mL)	1.28 \pm 0.15	0.47 \pm 0.08	0.94 \pm 0.05	1.30 \pm 0.09	0.79 \pm 0.05

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SD (n = 5).

III.6.4.2. Taux de l'oxyde nitrique (NO)

Une augmentation hautement significative ($P < 0.05$) du taux d'oxyde nitrique au niveau des reins (16.27 μ mol/g) a été remarquée chez les rats injectés par l'épirubicine (G2) par rapport au groupe témoin G1 (6.05 μ mol/g).

En revanche, la propolis à 250 mg/kg (G4) a montré un taux d'oxyde nitrique (NO) proche de celui enregistré chez le groupe témoin G1.

L'administration de 50 mg/kg de quercétine n'a pas montré une amélioration significative dont le taux de l'oxyde nitrique chez le G5 (13.52 $\mu\text{mol/g}$) est très élevé par rapport au groupe témoin G1.

III.6.4.3. Taux de superoxyde dismutase (SOD ; EC 1.15.1.1), de catalase (CAT ; EC 1.11.1.6) et de glutathion peroxydase (GSH-Px)

Une diminution hautement significative ($P < 0.05$) des enzymes antioxydantes qui dépasse 60% a été enregistrée au niveau des reins après l'injection de la dose cumulative de 9 mg/kg d'épirubicine chez les rats du deuxième groupe (G2) par rapport au groupe témoin (G1) (tableau 12).

Un prétraitement avec 250 mg/kg de propolis a permis d'assurer une amélioration intéressante chez les rats du groupe 4 tout en augmentant le taux des enzymes antioxydantes rénales (SOD : 23.78 U/cg ; CAT : 18.14 U/mg ; et GSH-Px : 44.75 U/g) par rapport au G2.

Tandis que les rats du G5 ont montré une légère amélioration de l'activité enzymatique antioxydante au niveau des reins par rapport au groupe témoin G2.

III.6.4.4. Taux des thiols

Les thiols néphrotiques ont manifesté une réduction chez les rats du groupe G2 (0.47 mmol/mL) après l'injection de l'épirubicine d'où sa valeur a été diminuée de 63.28% en comparant avec le groupe G1 (1.28 mmol/ml).

En revanche, l'administration de 100 et 250 mg/kg d'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizirt a montré une augmentation du taux des thiols néphrotiques comparativement au G2. Les meilleurs résultats ont été obtenus chez les rats du groupe 4 qui ont été traités par la dose de 250 mg/kg d'EAP.

On observe que les rats du cinquième groupe (G5) ont montré une diminution de -0.49 mmol/mL du taux des thiols par rapport au G1.

III.6.5. Histopathologie des reins

La coupe histologique des reins des rats du groupe témoin (G1) a montré une architecture normale avec une distribution des cellules régulières dont les glomérules sont conservés, absence de congestions et d'infiltrats inflammatoires (fig.30 a)

L'épirubicine a montré un tissu rénal endommagé, des glomérules gonflés et indéfinis, on remarque aussi des congestions capillaires et des hémorragies, et même présence des infiltrats inflammatoires (fig. 30 b-c).

On observe une présence d'une légère congestion capillaire au niveau du parenchyme rénal chez les rats du groupe G3 qui ont reçu 100 mg/kg de propolis avant l'injection d'épirubicine (fig. 30 d).

Tandis que, l'administration de 250 mg/kg d'EAP aux rats du G4, nous a montré une architecture néphrotique similaire que celle des animaux du groupe témoin (G1). Le parenchyme rénal est très conservé avec des glomérules intacts et une absence totale de congestion granulaire (fig. 30 e).

Chez le G5, on observe un parenchyme endommagé où les glomérules sont dégénérés avec des congestions capillaires cernées par un infiltrat inflammatoire lymphocytaire (fig. 30 f).

Discussion

L'atteinte rénale consécutive à l'administration d'un médicament est une situation fréquente en pratique clinique. Il s'agit d'un événement grave qui est associé à une morbidité et à une mortalité importante. Du fait de sa riche vascularisation (25 % du débit cardiaque), le rein est en effet un organe particulièrement vulnérable à la toxicité des médicaments présents dans l'organisme (Karie *et al.* 2010).

Les médicaments peuvent provoquer une insuffisance rénale aiguë (IRA) par atteinte directe des tubules rénaux (aminosides, par exemple), par diminution de l'irrigation rénale (anti-inflammatoires non stéroïdiens, inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine, cyclosporine, par exemple) ou par néphrite interstitielle aiguë. Ils peuvent aussi provoquer une insuffisance rénale chronique par néphrite interstitielle chronique et nécrose papillaire (Liu *et al.*, 2007).

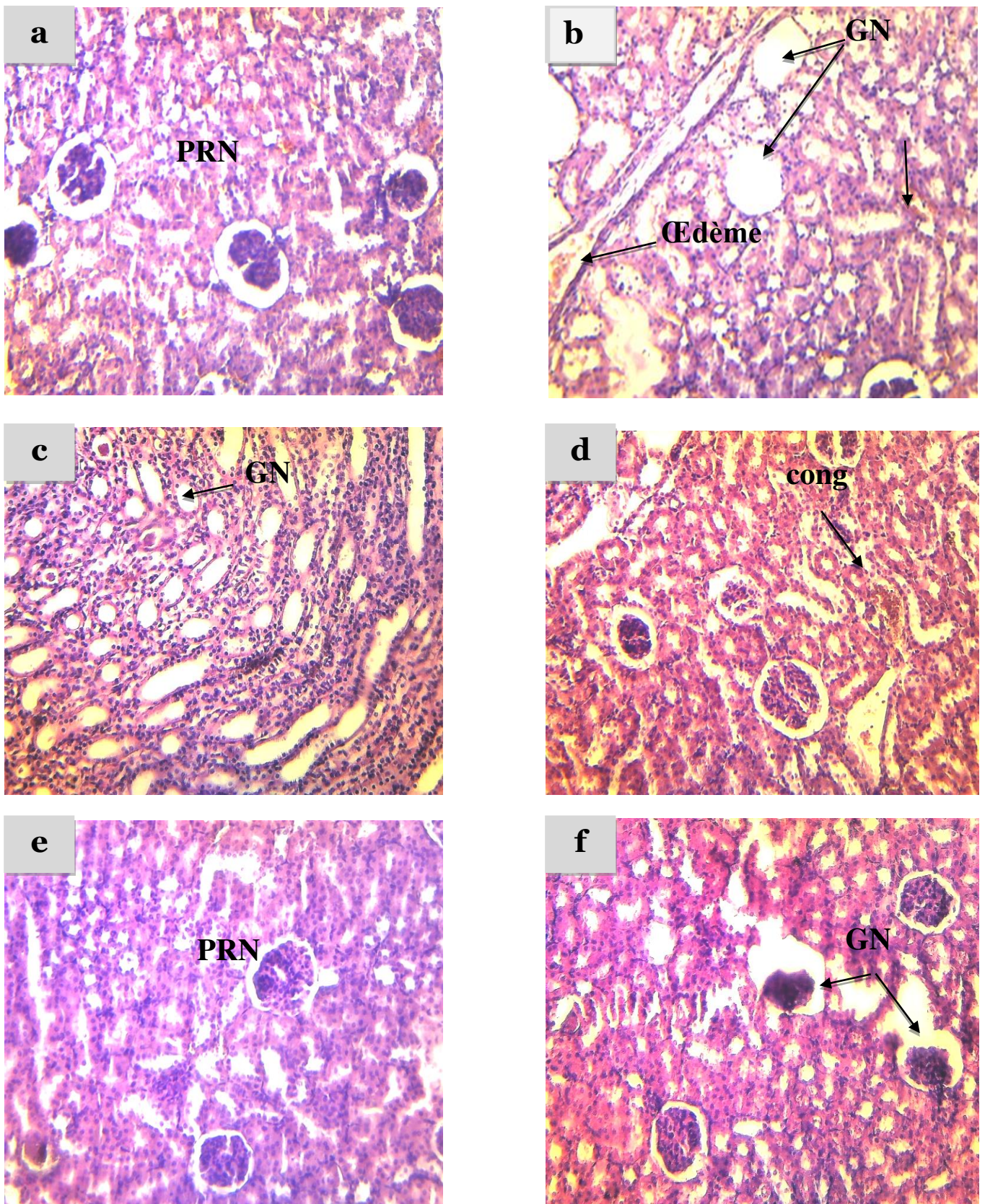


Figure 30 : Coupes histologiques des reins des rats du groupe : a : Témoin ; b et c : 9 mg/Kg d'épirubicine (7 jours) ; d : 100 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; e : 250 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; f : 50 mg/kg de quercétine puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours).

PRN : parenchyme rénal normal, GND : glomérule non défini, Cong : congestion.

On outre, la néphrotoxicité induite par les agents chimiothérapeutiques peut se manifester par une insuffisance rénale aiguë ou chronique, une dysfonction tubulaire, une protéinurie ou même une hypertension artérielle (Bárdi et al., 2004). Ainsi, le suivi rénal doit inclure une évaluation systématique du taux de filtration glomérulaire (GFR), de la fonction tubulaire (pH urinaire, protéinurie, électrolytes), de même qu'un suivi de la pression artérielle (Bruno et al., 2017).

La lésion rénale est un effet secondaire de l'épirubicine dépendant de la dose, ce qui limite son application clinique dans le domaine de la chimiothérapie tumorale (Jing Wu et al., 2017).

Les dommages néphrotiques induits par l'épirubicine sont liés aux lésions et à la mort des cellules tubulaires rénales, à l'inflammation et au stress oxydatif, qui sont considérés comme les mécanismes essentiels de la néphrotoxicité (Lin et al., 2010 ; Abdelraouf et al., 2012).

Après l'injection de 9 mg/kg d'épirubicine aux rats du groupe Gé, nous avons remarqué une altération importante au niveau des marqueurs de la fonction rénale, une augmentation significative de l'urée, la créatinine et l'acide urique. L'examen histologique des dommages importants dans la structure rénale.

Par le biais des résultats obtenus, nous avons constaté une augmentation significative au niveau des MDA et l'oxyde nitrique (NO) dans l'homogénat cellulaire des reins chez les rats injectés par une dose cumulative de 9 mg/kg d'épirubicine. Nos résultats, montrent une diminution significative au niveau des enzymes antioxydantes néphrotiques tels que la SOD, CAT et GSH-Px, et même les thiols. Ce qui explique, que l'EPI a provoqué une inhibition de la défense antioxydante rénale.

Le rôle des ROS dans les effets tubulaires et glomérulaires des anthracyclines a été clairement démontré. *In vivo*, les ROS sont étiquetés comme étant des médiateurs de la nécrose tubulaire proximale et des lésions rénales aiguës (Du et Yang, 1994).

Les mitochondries ont été définies comme l'une des cibles des dommages subcellulaires induits par l'EPI dans les tissus. De plus, il a été démontré que le l'EPI pourrait stimuler le transport transmembranaire d'arginine pour augmenter le substrat et activer la production de l'oxyde nitrique (NO) médiée par l'oxyde nitriquesynthase (NOS) (Cendan et al., 1995).

En outre, l'oxyde nitrique (NO) a une fonction vitale dans la régulation locale du flux sanguin dans le cortex rénal et peut influencer sur la filtration glomérulaire. Le NO peut agir de différentes manières, agissant en tant que molécule de signal physiologique, protectrice des fonctions cellulaires et médiateur toxique (Valdivielso et Blantz, 2002).

Les dommages cellulaires médiés par le NO se font par plusieurs mécanismes, notamment la perturbation de la respiration mitochondriale, l'inhibition des enzymes, la nitrosylation des protéines et la peroxydation des lipides par des médiateurs tels que le peroxydant produit en réaction entre NO et O₂⁻. Cette réaction se produit lorsqu'une concentration élevée de NO devient disponible suite à une activité accrue de la NO synthase inducible (iNOS) (Gordge, 1998). Nous pouvons supposer qu'une augmentation de l'expression de iNOS et de la production de NO joue un rôle dans l'apoptose des cellules mésangiales *in vitro* (Martinez-Salgado et al., 2004).

Wu et al. (2017) ont montré que l'exposition des rats à l'épirubicine a causé des dommages néphrotiques sévères, une dégénérescence tubulaire, une nécrose, une infiltration des cellules inflammatoires et une hémorragie interstitielle.

L'administration de l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizgirt a pu préserver l'architecture rénale, tout en diminuant les paramètres biochimiques rénaux (urée, créatine et acide urique) et maintenir le système de défense antioxydante.

Les antioxydants sont capables d'abolir les dommages au niveau des reins en réduisant la peroxydation des lipides et en renforçant la capacité de piégeage du système de défense antioxydante. Les piègeurs de ROS ont été jugés bénéfiques pour atténuer les lésions rénales après l'injection de l'épirubicine (Randjelovic et al., 2012).

Fadillioğlu et al. (2003) ont démontré que l'augmentation des paramètres du statut antioxydants (tels que la SOD ou les thiols) a empêché la diminution de la filtration glomérulaire induite par les anthracyclines. Ainsi, La GSH-Px joue un rôle important dans la détoxification des composés xénobiotiques et dans l'antioxydation des espèces réactives de l'oxygène et des radicaux libres (Yagmurca et al., 2004).

Plusieurs travaux ont confirmé l'effet protecteur de la propolis contre la néphrotoxicité induite par différents agents telles que la gentamicine (Azab. 2014 ; Aldahmash et al.. 2016).

L'effet préventif et néphroprotecteur de la propolis est certainement dû à sa composition chimique riche en polyphénols.

III.7. Effet de l'épirubicine sur la fonction cardiaque et l'action cardioprotectrice de l'extrait de la propolis

Résultats

III.7.1. Taux de la Créatine kinase mb (CKmb)

Les résultats de la présente étude indiquent que le taux de la Créatine Kinase mb (CKmb) est significativement élevé ($P < 0.05$) de 74% (37.83 UI/L) chez les rats exposés uniquement à l'épirubicine (G2) par rapport au groupe témoin G1 (5.16 UI/L) (fig. 31).

Nos résultats indiquent que l'administration de 100 et 250 mg/kg d'EAP, respectivement, aux rats du groupe G3 et G4 a provoqué une diminution du taux de la CKmb qui est de -29.17 et -32.67 UI/L. en comparant aux rats du groupe G2.

De même, on observe chez le groupe G5 une réduction de -20.5 UI/L par rapport au groupe G2.

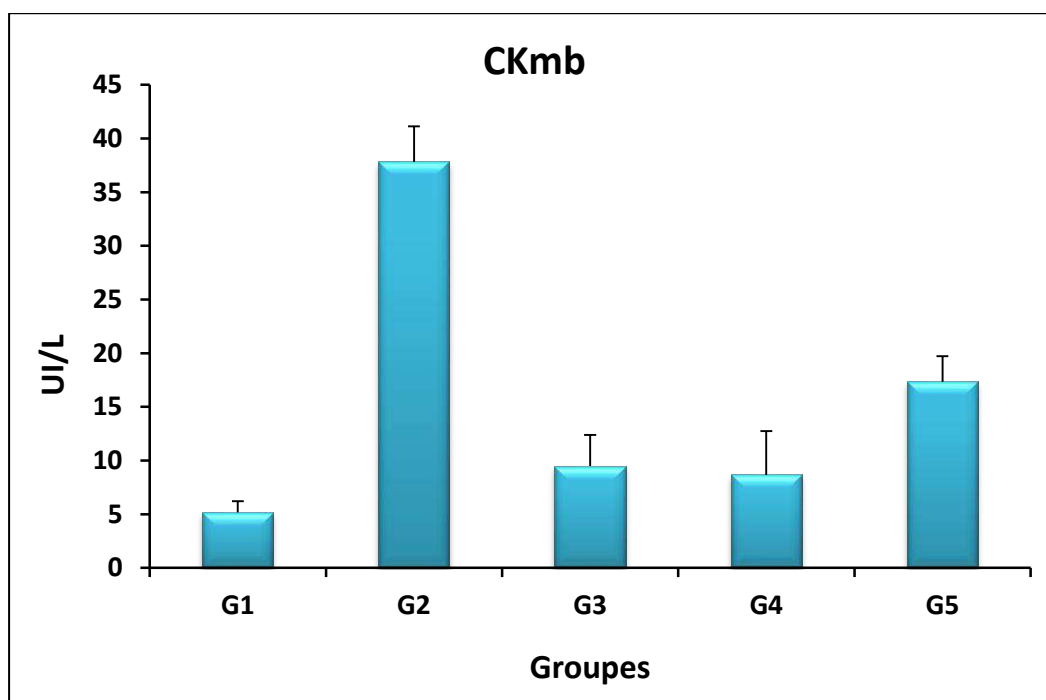


Figure 31: Concentration sérique de la CKmb (UI/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizirt (EAP), de quercétine et/ou l'épirubicine. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 5 déterminations \pm SEM (n = 5).

G1 : Témoin ; G2 : 9 mg/Kg d'épirubicine (7 jours) ; G3 : 100 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G4 : 250 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G5 : 50 mg/kg de quercétine puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours).

III.7.2. Taux de la troponine totale

Les résultats obtenus indiquent que l'injection de l'épirubicine aux rats du groupe G2 a provoqué une augmentation significative ($P < 0.05$) de la troponine allant jusqu'à ($0.76 \mu\text{g/L}$) par rapport aux rats du groupe témoin G1 ($0.14 \mu\text{g/L}$) (fig. 32).

Les rats du groupe G3 et G4 (qui ont été administrés avec 100 et 250 mg/kg d'EAP) ont montré une diminution très significative ($P < 0.05$) de (0.29 et $0.17 \mu\text{g/L}$), respectivement, par rapport au groupe G2. La quercétine a pu diminuer ce taux qu'à ($-0.35 \mu\text{g/L}$) par rapport au G2.

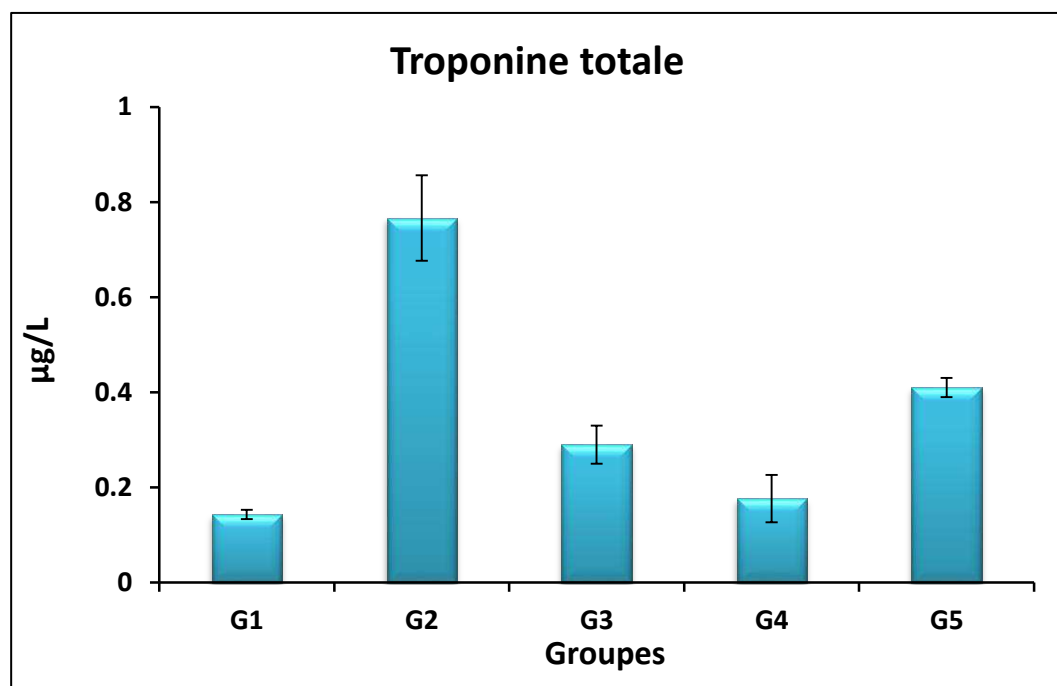


Figure 32: Concentration sérique de la troponine ($\mu\text{g/L}$) chez les rats traités ou/non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizgirt (EAP), de quercétine et/ou l'épirubicine. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 5 déterminations \pm SEM ($n = 5$).

G1 : Témoin ; G2 : 9 mg/Kg d'épirubicine (7 jours) ; G3 : 100 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G4 : 250 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G5 : 50 mg/kg de quercétine puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours).

III.7.3. Taux du lactate déshydrogénase (LDH)

A la lumière de ces résultats, on remarque une augmentation significative ($P < 0.05$) de 52 % du taux de LDH chez les rats du G2 (qui ont reçu 9 mg/kg d'épirubicine) tout en comparant aux rats du groupe témoin (G1). En outre, on remarque une diminution de -68 et -73 % chez les rats du G3 et G4, par rapport au G1 (fig. 33).

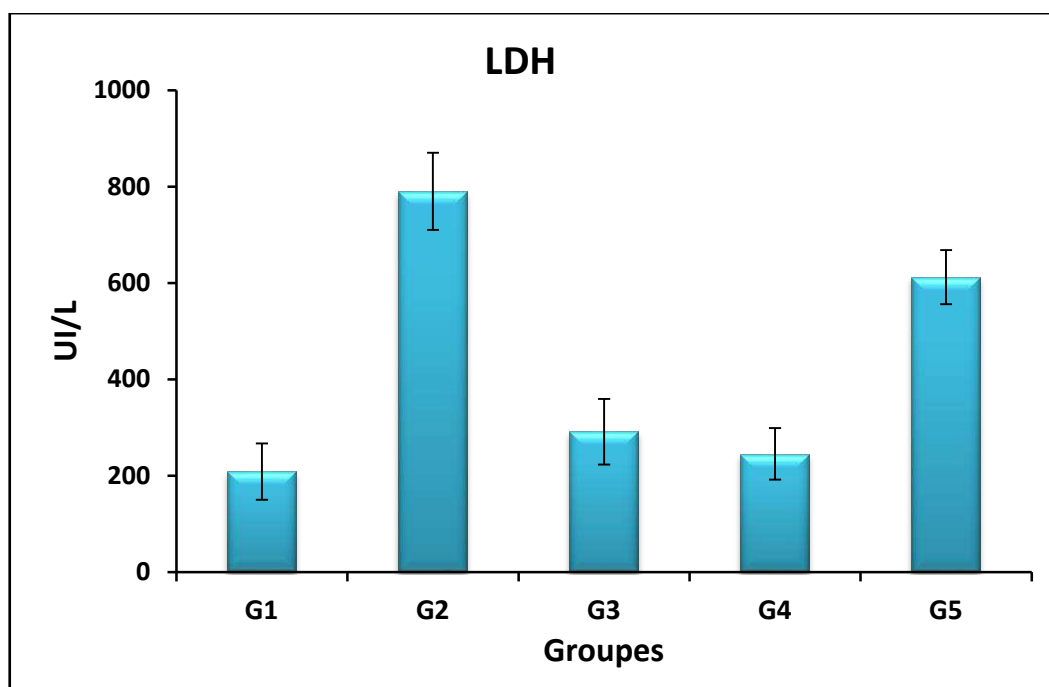


Figure 33: Concentration enzymatique du lactate déshydrogénase (UI/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tigzirt (EAP), de quercétine et/ou l'épirubicine. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 5 déterminations \pm SEM (n = 5).

G1 : Témoin ; G2 : 9 mg/Kg d'épirubicine (7 jours) ; G3 : 100 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G4 : 250 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G5 : 50 mg/kg de quercétine puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours).

III.7.4. Taux du peptide natriurétique de type B (BNP)

La [fig. 34](#) présente le taux du peptide natriurétique de type B (BNP) chez les rats Wistar intoxiqués ou non par l'épirubicine.

Nos résultats, montrent une augmentation significative ($P < 0.05$) de ce taux (580 pg/mL) chez le groupe G2 (pris uniquement l'épirubicine) tout en comparant aux rats du groupe témoin G1 (60.66).

En revanche, l'administration de 100 mg/kg d'EAP aux rats du groupe G3 a montrés une réduction de – 470 pg/mL de BNP par rapport au groupe G2.

En outre, la dose de 250 mg/kg d'EAP (G4) a montré un taux en BNP similaire à ceux du témoin.

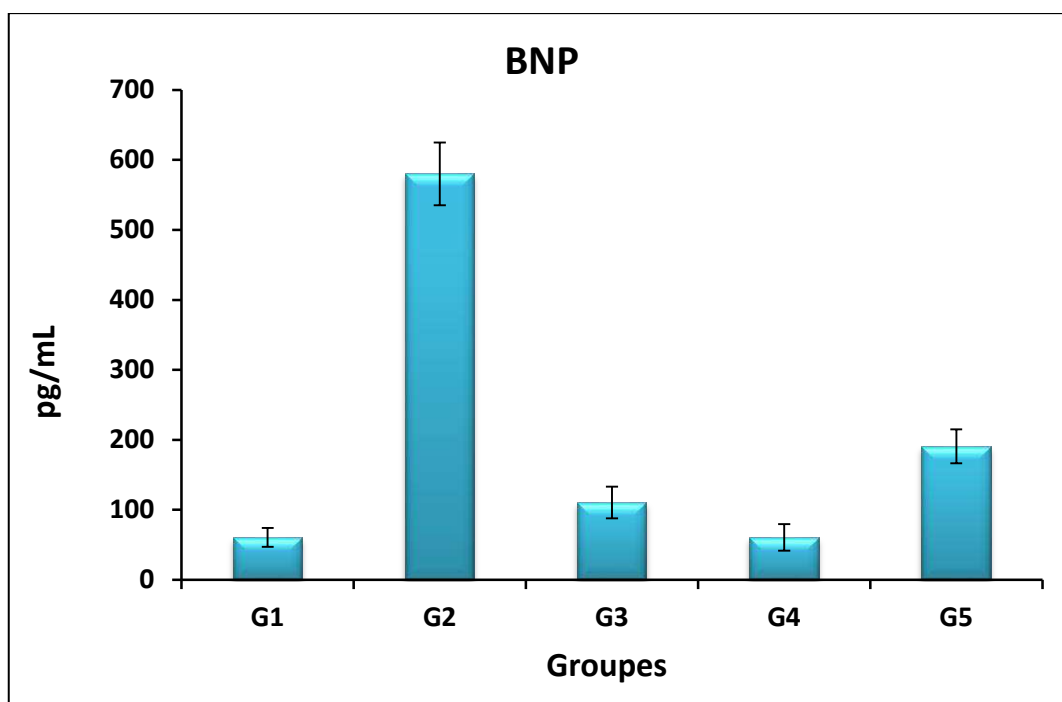


Figure 34: Concentration sérique de BNP (pg/mL) chez les rats traités ou/non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizirt (EAP), de quercétine et/ou l'épirubicine. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 5 déterminations \pm SEM (n = 5).

G1 : Témoin ; G2 : 9 mg/Kg d'épirubicine (7 jours) ; G3 : 100 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G4 : 250 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G5 : 50 mg/kg de quercétine puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours).

III.7.5. Statut antioxydant du cœur

III.7.5.1. Taux du malondialdéhyde (MDA)

Le taux de malondialdéhyde des homogénats tissulaires du cœur des différents groupes est présenté dans le [tableau 13](#).

On remarque un taux très élevé du malondialdéhyde du cœur chez les rats du groupe G2 injectés par l'épirubicine seulement (0.66 nmol/mL) par rapport aux rats du groupe témoin G1 (0.13 nmol/mL).

En comparaison avec le taux du MDA cardiaque des rats du groupe G2, les rats du groupe G3 et G4 ont montré un taux réduit de -0.23 et -0.52 mmol/mL, respectivement.

Une légère diminution du taux de MDA chez le G5 (reçu 50 mg/kg de quercétine/ 9 mg/kg d'épirubicine) qui est de -0.12 nmol/mL par rapport au G2.

Tableau 13 : Les teneurs en malondialdéhyde (MDA), l'oxyde nitrique (NO), Superoxyde dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathion peroxydase (GSH-Px) et les thiols au niveau du cœur chez les rats traités ou non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizirt EAP, quercétine et/ou l'EPI. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 5 déterminations \pm SEM (n = 5).

Paramètres	G1	G2	G3	G4	G5
MDA du cœur (nmol/mg)	0.13 \pm 0.02	0.66 \pm 0.70	0.43 \pm 0.04	0.13 \pm 0.03	0.54 \pm 0.04
NO du cœur (μ mol/g)	3.94 \pm 0.69	13.71 \pm 1.27	8.16 \pm 0.41	4.18 \pm 0.25	10.39 \pm 0.93
SOD du cœur (U/cg)	16.98 \pm 1.27	5.09 \pm 1.06	10.40 \pm 0.37	17.02 \pm 1.26	7.59 \pm 0.55
CAT du cœur (U/mg)	20.12 \pm 0.88	10.36 \pm 0.96	14.57 \pm 0.74	20.86 \pm 1.60	12.75 \pm 1.04
GSH-Px du cœur (U/g)	31.53 \pm 1.45	14.95 \pm 1.16	18.66 \pm 0.58	31.28 \pm 0.94	14.89 \pm 1.10
Thiol du cœur (mmol/mL)	0.92 \pm 0.03	0.12 \pm 0.05	0.39 \pm 0.02	0.90 \pm 0.04	0.34 \pm 0.01

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SD (n = 5).

III.7.5.2. Taux de l'oxyde nitrique (NO)

Le taux de l'oxyde nitrique (NO) a été augmenté de +9.77 μ mol/g chez les rats du groupe G2 (injecté par 9 mg/kg d'EPI) par rapport au groupe témoin G1 (3.94 μ mol/g) (tableau.13).

Une diminution du taux de NO de 40.48 et 69.51% a été enregistrée chez les groupes G3 et G4 qui ont reçu 100 et 250 mg/kg d'EAP, respectivement, par rapport au G2.

Les rats traités avec 50 mg/kg de quercétine (G5) présentent une diminution de ce taux de 24.21% par rapport au G2.

III.7.5.3. Taux de superoxyde dismutase (SOD ; EC 1.15.1.1), de catalase (CAT ; EC 1.11.1.6) et de glutathion peroxydase (GSH-Px)

Les rats du groupe G2 traités uniquement pas l'épirubicine ont montré une diminution très significative ($P < 0.05$) des enzymes antioxydantes au niveau du cœur; SOD (5.09 U/cg), catalase (10.36 U/mg) et GSH-Px (14.95 U/g) par rapport au groupe témoin G1 ; SOD (16.98 U/cg), catalase (20.12 U/mg) et GSH-Px (31.53 U/g) (tableau. 13).

Tandis, que le groupe G4 (qui a reçu 250 mg/kg d'EAP) a montré une importante augmentation de la concentration de ces enzymes antioxydantes au niveau du cœur comparativement au groupe G2.

Une légère augmentation des activités enzymatiques a été manifestée chez le groupe 5 par rapport au groupe témoin G.

III.7.5.4. Taux des thiols

Le taux des thiols au niveau de l'homogénat tissulaire du cœur est présenté dans le [tableau 13](#).

Le taux des thiols cardiaque a montré un abaissement significatif ($P < 0.05$) chez les rats du groupe G2 (0.12 mmol/g) par rapport au groupe témoin G1 (0.92 mmol/g).

Ce marqueur antioxydant a été augmenté d'une manière impressionnante chez les rats du G3 et G4 qui ont reçu 100 et 250 mg/kg d'EAP respectivement (0.39 mmol/g), (0.90 mmol/g) par rapport au G2.

Le groupe 5 a montré une diminution significative en thiols (0.34 mmol/g) par rapport au groupe 1.

Les rats du groupe G5 ont montré une légère augmentation de la concentration en composés thiols, de 0.34 mmol/g. Cependant, cette concentration reste toujours inférieure à celle enregistrée pour le groupe G1.

III.7.6. L'étude histologique du cœur

L'étude microscopique de cœur des rats du groupe témoin (G1) a montré une structure histologique normale du tissu cardiaque ([fig. 35 a](#)).

La coupe histologique du cœur des rats du groupe G2 (ayant reçu 9 mg/Kg d'EPI) révèle la présence des œdèmes, une congestion très importante avec des plages de nécrose et d'infiltrats inflammatoires plasmocytaires ([fig. 35 b-c](#)).

Le traitement avec 100 mg/kg de propolis (groupe 3) a montré une légère congestion avec absence d'inflammation ([fig. 35 d](#)).

On note au niveau du cœur des rats du groupe 4 (ceux ayant reçu 250 mg/kg d'EAP), une architecture similaire à celle observée chez le groupe témoin ([fig. 35 e](#)).

Chez le groupe G5, on observe la présence des infiltrations inflammatoires, des congestions capillaires et quelques plages de nécrose ([fig. 35 f](#)).

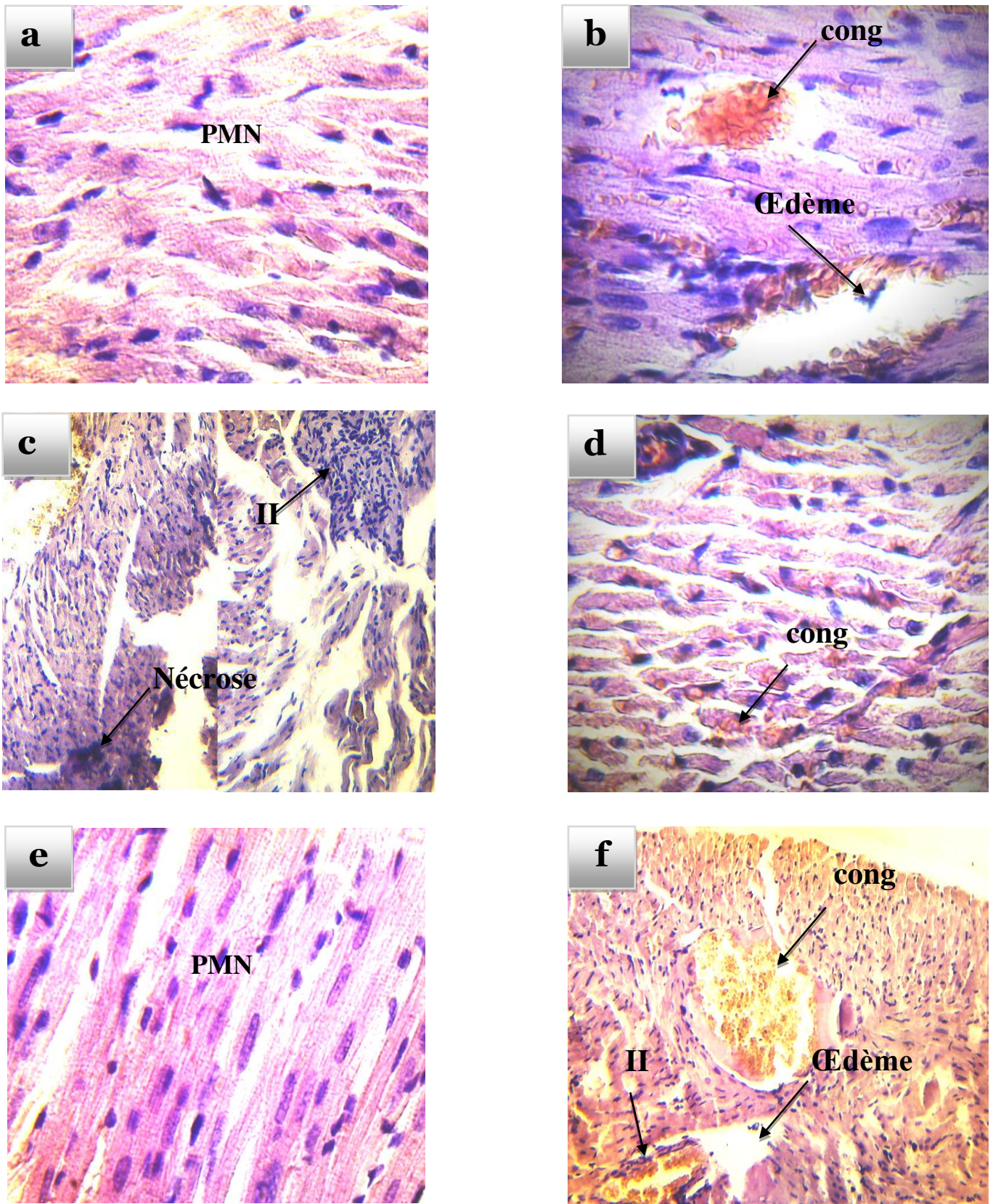


Figure 35 : Coupes histologiques du cœur des rats du groupe : a : Témoin ; b et c : 9 mg/Kg d'épirubicine (7 jours) ; d : 100 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; e : 250 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; f : 50 mg/kg de quercétine puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours).

PMN : parenchyme myocardique normale, Cong : congestion, II : infiltrat inflammatoire.

Discussion

Les anthracyclines peuvent induire différentes toxicités dont une toxicité hématologique, une néphrotoxicité, une hépatotoxicité et une cardiotoxicité (Shivakumar *et al.*, 2012 ; Elsherbiny *et al.*, 2014). Parmi ces toxicités, la cardiotoxicité fait partie des préoccupations majeures limitant l'efficacité du traitement ou altérant la qualité de vie des patients traités aux anthracyclines.

Des protocoles de réduction de la dose ont été proposés pour éviter le risque de toxicité cardiaque retardée, mais cela pourrait diminuer l'efficacité de l'activité cytotoxique des anthracyclines.

Cette utilisation généralisée d'anthracyclines a suscité des inquiétudes quant au risque de cardiotoxicité (Delemasure *et al.*, 2006). Deux types principaux de cardiotoxicité ont été identifiés: une cardiotoxicité aiguë, indépendante de la dose d'anthracycline, généralement légère et réversible, allant de modifications asymptotiques de l'électrocardiogramme (ECG) jusqu'à de rares cas de myocardite aiguë sévère; et une cardiotoxicité retardée, dépendante de la dose, conduisant à une insuffisance cardiaque congestive (ICC) irréversible, chronique et menaçant le pronostic vital (Mueller *et al.*, 2004).

Le risque de développer une cardiotoxicité, en particulier l'ICC, est fortement corrélé à la dose cumulative d'anthracycline (Swain *et al.*, 2003). Dans le traitement du cancer du sein, deux anthracyclines sont à notre disposition: la doxorubicine et l'épirubicine. La probabilité de développer une ICC avec la l'épirubicine est liée à des doses cumulées de 900-1000 mg/m² et plus (Katamadze *et al.*, 2006).

La cardiotoxicité de l'épirubicine est l'un des principaux facteurs limitant leur utilisation prolongée. Cliniquement elle se traduit par une cardiomyopathie conduisant à une insuffisance cardiaque (IC) congestive irréversible, dont la mortalité est élevée. Sachant que l'insuffisance cardiaque (IC) est la résultante commune de la dégradation aiguë ou progressive du tissu ventriculaire. Les mécanismes moléculaires qui pourraient expliquer la toxicité cardiaque sont complexes mais semblent distincts du mécanisme anticancéreux. Plusieurs hypothèses ont été avancées mais il apparaît que l'induction d'un stress oxydatif au sein du tissu myocardique constitue le dénominateur commun de ces mécanismes (Delemasure *et al.*, 2006).

On outre, l'épirubicine entraîne une cardiotoxicité de type I irréversible caractérisée par des dommages permanents associés à une mort cellulaire des cardiomyocytes et des changements ultrastructuraux (Cancer and the Heart, 2013). Elle est le plus souvent associée à une cardiomyopathie dilatée. Cette cardiotoxicité peut survenir au moment de l'injection ou quelques heures après (effets aigus), dans la première année après la fin du traitement (effets chroniques précoces) ou quelques années après la fin du traitement (effets chroniques tardifs) (Lipshultz et al., 1996 ; Giantris et al., 1998).

Cependant, dans la présente étude on a constaté une perturbation au niveau de la fonction cardiaque traduite par une augmentation très significative des marqueurs biochimiques cardiaque notamment la CKmb, LDH, la troponine T et le BNP chez les rats injectés par la dose cumulative de 9 mg/kg d'épirubicine (G2) par rapport au groupe témoin G1.

L'augmentation significative du LDH et CKmb représente le premier indicateur de la myopathie. C'est une potentialité des dommages musculaires car ces enzymes ont des valeurs diagnostiques des problèmes du myocarde (muscle du cœur) (Rasekh et al., 2008).

Par ailleurs, le peptide natriurétique de type B (BNP) est un marqueur qui fait partie de la famille des peptides natriurétiques. Ce peptide est synthétisé essentiellement par les myocytes cardiaques (Maisel et al., 2002). Le taux sanguins du BNP augmente dans le cas d'insuffisance cardiaque congestive (Mueller et al., 2004). Ceci explique l'augmentation du BNP plasmatique en cas d'insuffisance cardiaque, une surcharge hydrique et une hypertension artérielle étant alors présentes (Jourdain et al., 2009).

En effet, les taux de BNP augmentaient significativement lors de fortes doses de chimiothérapie à base d'anthracyclines (Suzuki et al., 1998) et étaient corrélés à un dysfonctionnement diastolique, plus que systolique (Nousiainen et al., 2002). En outre, la sous-fraction créatine kinase-myocarde (CKmb) et la myoglobine (Myo) sont des marqueurs pertinents des lésions du myocarde et ont été associées à une altération fonctionnelle systolique et diastolique chez les patients traités par les anthracyclines (Nousiainen et al., 1999).

L'évaluation du statut antioxydant au niveau des tissus cardiaques chez les rats injectés par l'épirubicine seulement a montré l'existence d'un stress oxydatif au niveau du cœur avec une augmentation de la concentration du malondialdéhyde (MDA) cardiaque et de l'oxyde

nitrique (NO), et par la diminution significative de l'activité des enzymes antioxydantes (SOD, CAT, GSH-Px) et des thiols par rapport au groupe témoin.

Plusieurs études suggèrent que l'augmentation de la peroxydation lipidique et les dommages induits par les radicaux libres d'oxygène jouent un rôle pathogénique chez les patients souffrant d'insuffisance cardiaque (IC) (Keith *et al.*, 1998).

La thérapie antioxydante pourrait donc être potentiellement intéressante dans le traitement des patients souffrant d'insuffisance cardiaque. Des connaissances indiquent que la combinaison de plusieurs antioxydants pourrait être une approche thérapeutique dans les désordres caractérisés par la hausse du stress oxydatif contre les maladies myocardiques (Sliwa *et al.*, 1998).

Evidemment, l'administration de la propolis de Tizirt (EAP) aux rats, notamment la concentration de 250 mg/kg d'EAP (G4) a montré un effet protecteur contre la cardiotoxicité tout en améliorant le taux des marqueurs biochimiques cardiaques, et le statut antioxydant au niveau du cœur, ainsi elle a assuré une protection histologique parfaite au niveau du myocarde. Cet effet protecteur de la propolis est peut-être dû à la composition chimique de cette dernière particulièrement les acides phénoliques et les flavonoïdes connu par leurs effets antioxydants.

En effet, la propolis a la capacité de capter et de désactiver les radicaux libres produits par la chaîne respiratoire mitochondriale des cellules cardiaques (Jensen *et al.*, 2006). La réduction du radical O_2^- dans les mitochondries cardiaques et l'action directe contre le radical OH, espèces impliquées dans le déclenchement de la peroxydation lipidique, peuvent également s'expliquer par le puissant effet de piégeage de la propolis. Alternativement, il est également possible que l'effet de la cytoprotection de la propolis se fasse en bloquant la perméabilisation du port de transition de la perméabilité mitochondriale interne (mPTP) ou en libérant des effecteurs de la mort cellulaire par la membrane mitochondriale externe. La restauration du potentiel membranaire mitochondrial pourrait également constituer une voie de protection de la cellule contre l'apoptose. Toutes ces voies mènent à la prévention de la cardiotoxicité et les maladies dégénératives (Mesbah *et Zellagui*, 2012).

Le prétraitement des rats avec l'extrait de propolis avant les injections de la doxorubicine a considérablement réduit les dommages induites par peroxydation dans les tissus du myocarde et a restauré de manière marquée les activités de la catalase et de la SOD. Il suggère

fortement que l'extrait de propolis protège les tissus cardiaques du stress oxydatif en protégeant les mitochondries (Benguedouar *et al.*, 2008).

En outre, l'extrait d'éthanol de la propolis brésilienne peut protéger les rats par l'intermédiaire de son pouvoir antioxydant (Nakamura *et al.*, 2012). L'activité antioxydante *in vivo* des extraits de propolis a montré une diminution de l'oxydation intracellulaire aux niveaux du protéome cellulaire et mitochondrial dans les cellules de levure (Cigut *et al.*, 2011).

Plusieurs études suggèrent que la propolis présente un effet cardioprotecteur contre la doxorubicine (Chopra *et al.*, 1995 ; Alyane *et al.*, 2008).

La prévention contre cette cardiotoxicité repose sur une surveillance cardiaque étroite. Dans le contexte de la protection myocardique, l'emploi d'agents cardio-protecteurs couplés à la chimiothérapie, tels que des composés pharmacologiques agissant sur le niveau du stress oxydatif fait actuellement l'objet de recherches intensives en vue d'une utilisation optimale des anthracyclines (Delemasure *et al.*, 2006).

Nos résultats ont montré que le traitement par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizgirt a réduit significativement l'effet toxicité de l'épirubicine au niveau du cœur par rapport à celle des rats exposés à l'épirubicine seule.

III.8. Effet de l'épirubicine sur les biomarqueurs de l'inflammation

Résultats

III.8.1. Taux de la prostaglandine E2 (PGE2)

D'après nos résultats illustrés dans la [figure 36](#), on constate qu'il y'a une augmentation significative ($P < 0.05$) importante (2066 pg/mL) au niveau du taux sérique de la PGE2 chez les rats du deuxième groupe G2 (qui ont été injectés par une dose cumulative de 9 mg/kg d'épirubicine seulement) par rapport aux rats du premier groupe G1 (750 pg/mL).

En outre, on remarque une diminution de 30.68 et 62.59 % de la prostaglandine E2, respectivement, chez les rats du groupe G3 et G4 (qui ont reçu 100 et 250 mg/kg d'EAP) par rapport au G2. De même, ce taux est diminué de 14.75 % chez le groupe G5 par rapport toujours au G2.

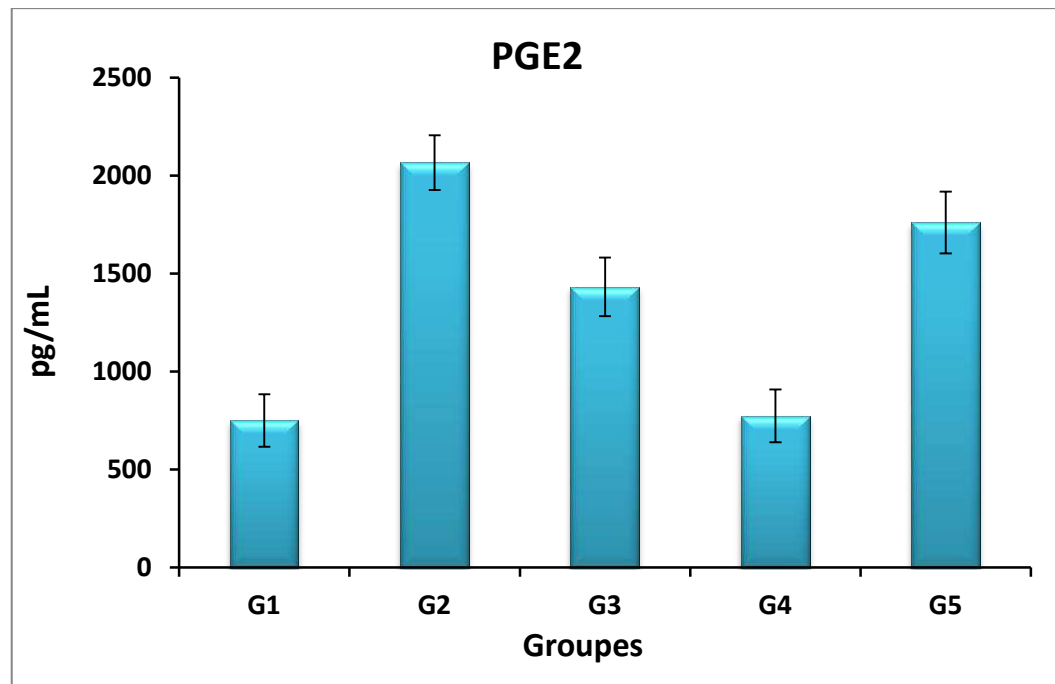


Figure 36: La teneur en prostaglandine E2 dans les exsudats péritonéaux (pg/mL) chez les rats traités ou/non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tigzirt (EAP), de quercétine et/ou l'épirubicine, Les valeurs représentent la moyenne (m) de 5 déterminations \pm SEM (n = 5).

G1 : Témoin ; G2 : 9 mg/Kg d'épirubicine (7 jours) ; G3 : 100 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G4 : 250 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G5 : 50 mg/kg de quercétine puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours).

III.8.2. Taux des TNF- α

Les résultats présentés dans la [figure 37](#), montre un taux de TNF- α très élevés (164 ng/ml) chez les rats du G2 (injectés par la dose cumulative de 9 mg/kg d'épirubicine) par rapport au groupe témoin (G1) (63.66 ng/ml).

En revanche, l'administration de 100 mg/kg d'EAP pendant 15 jours et avant l'injection d'une dose cumulative de 9 mg/kg d'épirubicine a montré une diminution significative (104.33 ng/g) par rapport au G2.

Dans le groupe G4 (rats traités avec 250 mg/kg de propolis), le taux du TNF- α (68.33 ng/g) s'est révélé proche de celui du groupe témoin (63.66 ng/g).

Le traitement avec 50 mg/kg de quercétine (G5) a pu diminuer ce taux à raison de 22.15% par rapport au groupe G2.

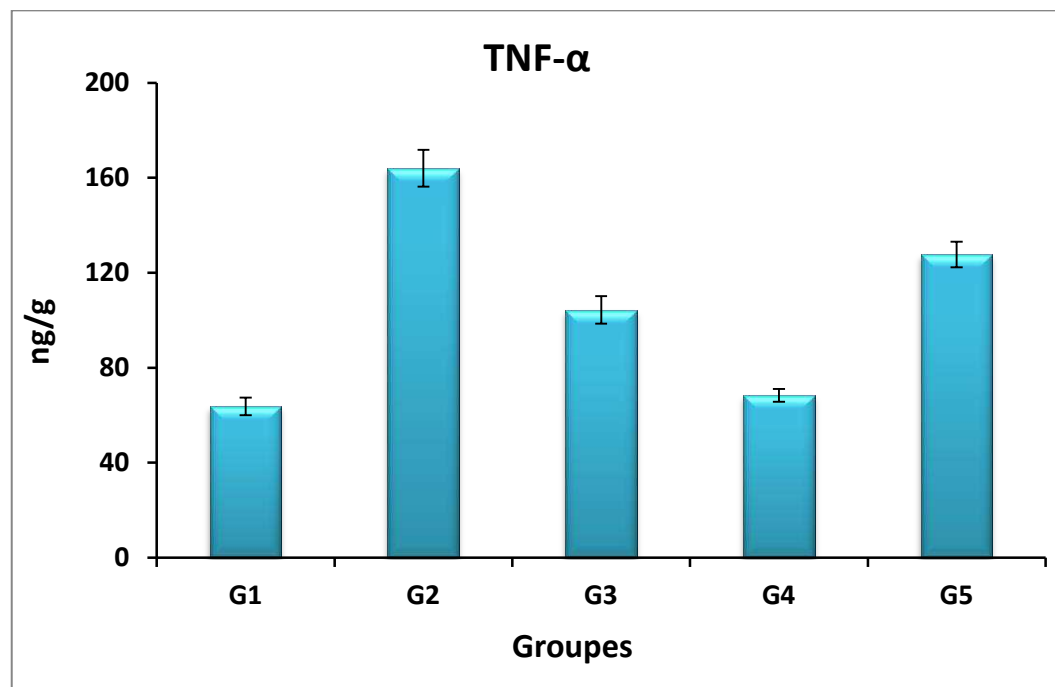


Figure 37: La teneur en TNF- α dans le foie (ng/g) chez les rats traités ou/non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizirt (EAP), de quercétine et/ou l'épirubicine. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 5 déterminations \pm SEM (n = 5).

G1 : Témoin ; G2 : 9 mg/Kg d'épirubicine (7 jours) ; G3 : 100 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G4 : 250 mg/kg d'EAP (15 jours) puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours) ; G5 : 50 mg/kg de quercétine puis 9 mg/kg d'EPI (7 jours).

Discussion

L'inflammation est un mécanisme de défense indispensable pour l'intégrité de l'organisme, dont le but est d'éliminer l'agent pathogène et réparer les lésions tissulaires (Gokhale et al., 2002).

En outre, l'inflammation peut être fondamentalement définie comme une modification de l'équilibre morphologique dans une zone spécifique du tissu provoquée par différents types d'agents: physiques, chimiques ou biologiques (Marcello et al., 2013). Il peut être représenté par une dilatation capillaire avec accumulation de fluide (œdème) et par l'émigration et l'accumulation de phagocytes (neutrophiles, monocytes, macrophages), qui contribuent également à la génération d'hyperalgésie et à la perte de la fonction tissulaire (Gallin, 1989). D'autres caractéristiques, telles que l'érythème et la fièvre, peuvent également être observées lors d'événements inflammatoires. La dernière caractéristique survient après la libération de

cytokines (IL-1, TNF- α) par des macrophages activés, conduisant à une dilatation des vaisseaux résultant d'une relaxation musculaire régulière et à une augmentation du débit sanguin local (hypothermie) (racken *et al.*, 2014).

Le TNF- α joue un rôle central dans le développement de l'inflammation. Il est induit par les récepteurs Toll-Like, permettant de reconnaître la structure conservée des molécules de pathogènes (pathogen-associated molecular patterns [PAMPs]) à la suite de lésions cellulaires ou bactériennes, exprimées par les cellules résidentes du tissu conjonctif (mastocytes, macrophages, neutrophiles, fibroblastes, cellules dendritiques) (Takeda *et al.*, 2004).

Parfois l'inflammation peut être néfaste du fait de l'agressivité de l'agent pathogène, de sa persistance, du siège de l'inflammation, par anomalies de la régulation du processus inflammatoires, ou par anomalie quantitative ou qualitative des cellules intervenant dans l'inflammation. D'autre part, la surproduction des espèces réactive d'oxygènes au-delà des capacités antioxydantes des systèmes biologiques donne lieu au stress oxydant, qui est impliqué dans l'apparition des maladies inflammatoires chroniques (Rousselet *et al.*, 2005).

La PGE2 est produite par une grande variété de tissus, notamment les muscles lisses bronchiques, gastro-intestinaux, vasculaires, utérins et de la vessie, le canal artériel du fœtus, le placenta, le cerveau, les cellules macula densa rénales, les cellules souches mésenchymateuses, les monocytes et les macrophages (Wang *et al.*, 2005).

Dans cette étude, on remarque une concentration très élevée en PGE2 chez les rats du groupe G2 (qui ont été injecté avec 9 mg/kg d'épirubicine seulement), ainsi une augmentation significative ($P < 0.05$) du taux de TNF- α par rapport au groupe témoin G1. Ce résultat pourrait être lié à la présence d'une inflammation aigüe chez les rats du groupe G2, cette inflammation est peut être due à la détérioration du statut antioxydant induite par l'épirubicine. L'étude histologique du foie, du cœur et des reins a confirmé l'existence des infiltrats inflammatoires aux niveaux des tissus surtout le tissu hépatique.

Ivanov *et al.* (2004) et Attar *et al.* (2005) ont rapporté que la concentration élevée en PGE2 est produite dans le cas de plusieurs états pathologiques, notamment l'inflammation, l'arthrite, la fièvre, les lésions tissulaires, l'endométriose et une grande variété de cancers.

L'inflammation a joué un rôle important dans l'initiation et la progression des lésions hépatiques induites par l'épirubicine. L'épirubicine a induit la libération de cytokines pro-inflammatoires, telles que le TNF- α et l'IL-6 (Wu *et al.*, 2017). Ces auteurs, ont montré l'accumulation de TNF- α et d'IL-6 dans les reins de souris traitées à l'épirubicine.

Une étude a révélé que les changements précoces dans les paramètres de TNF- α observés après 200 mg/m² d'épirubicine étaient accompagnés d'une augmentation significative des niveaux sériques de ROS et d'une diminution significative de GPx (Mercuro *et al.*, 2007). Un mécanisme explicatif par lequel l'inflammation peut induire un dysfonctionnement au niveau des différents organes tels que le cœur est la relation étroite entre les cytokines, les ROS, les dommages à l'ADN mitochondrial et les défauts de la fonction de transport des électrons, ce qui peut conduire à une génération supplémentaire de ROS (Mercuro *et al.*, 2007). En conséquence, une relation a été établie entre la libération de TNF- α et l'augmentation de la ROS dans les tissus notamment les tissus cardiaques défailants des patients atteints de cardiomyopathie dilatative (Tsutamoto *et al.*, 2001).

Chez les rats du groupe 4 qui ont été traité par 250 mg/kg d'EAP avant l'injection de 9 mg/kg d'épirubicine, nous avons constaté un taux de PGE2 et TNF- α similaire à celui de témoin G1. Ceci assure l'effet protecteur de la propolis de Tizirt contre l'inflammation provoqué par l'épirubicine.

Une étude récente de Boufadi *et al.*, (2017) suggère que la propolis a permis de rétablir les perturbations de l'homéostasie et les marqueurs de l'inflammation induites par la carragénine chez les rats Wistar avec une diminution significative de la prostaglandine PGE2, et une inhibition de la myéloperoxydase, ainsi que l'effet anti-inflammatoire apparaissait chez les rats traités par la dose de 250 mg de propolis/kg de poids vif.

Les effets anti-inflammatoires de l'extrait éthanolique de la propolis administrée par voie orale ont été observés dans l'inhibition de l'œdème induit par la carragénine, de l'arthrite induite par l'adjuvant de Freund, ainsi que du granulome induit par des boulettes de coton (Park *et al.*, 1996).

La propolis supprime la génération des lipoxygénase (LOX) et des cyclo-oxygénase (COX) au cours de la péritonite aiguë induite par le zimosan *in vivo*, et les macrophages péritonéaux murins *in vitro*, en inhibant la production élevée *in vivo* de LTB₄ et de LTC₄ (Mirzoeva *et al.*, 1996).

Les extraits de propolis agissent sur les macrophages en activant l'immunité non spécifique de l'hôte, induisant la libération de H₂O₂ et inhibant la production d'oxyde nitrique de manière dose-dépendante (Orsi *et al.*, 2000).

Cette activité anti-inflammatoire peut être expliquée par la composition chimique de notre extrait de propolis et sa richesse en flavonoïdes et en acides phénoliques.

Conclusion et perspectives

Profitant de l'essor grandissant des médecines dites "naturelles", la propolis s'inscrit dans cette tendance, le plus souvent en complément des traitements conventionnels. En effet, les recherches entreprises durant ces dernières années ont permis de montrer que ce produit de la ruche pouvait être une alternative efficace dans bon nombre de troubles et pathologies, mais également en association avec certaines médications.

Actuellement, la communauté scientifique reconnaît, en partie, le pouvoir et l'apport de l'apithérapie dans les domaines diététiques et thérapeutiques. Toutefois, cette discipline reste non reconnue comme une pratique médicale à part entière. Ainsi, elle fait l'objet de plus en plus d'études visant à confirmer scientifiquement les effets bénéfiques de la propolis déjà observés pendant plusieurs millénaires. En fait, tout le paradoxe est là, ses vertus médicinales sont connues dans de nombreuses civilisations, des résultats empiriques les mettent en évidence mais la confirmation des bienfaits de ce produit par le monde médical tarde à venir.

De par son incroyable richesse en éléments biologiques, la propolis est une substance extrêmement complexe, qui devra systématiquement être caractérisée afin de pouvoir garantir la crédibilité des résultats scientifiques, sans qu'il soit certain, d'ailleurs, qu'une telle systématisation soit possible. Pour mieux appréhender les mécanismes mis en jeu, il paraît donc très important à l'avenir que tous les travaux de recherche identifient la source botanique de la propolis utilisée, déterminent les composés isolés responsables de son action et ne se cantonnent plus à son origine géographique.

L'identification chimique d'extrait de propolis par HPLC/UV montre la présence de plusieurs composés polyphénoliques (acide ferrique, acide gallique, acide caféique, acide ellagique, m-coumarique, acide rosmarinique, trans-cinnamique) et de nombreux flavonoïdes (catéchine, quercétine, rutine, chloregenic, apigénine, pinocembrine, chrysin, kaempférol).

L'injection d'une dose cumulative à 9 mg/kg d'épirubicine par voie intraveineuse aux rats Wistar a provoqué une perturbation métabolique révélée par l'apparition des atteintes

de la fonction cardiaque, hépatique et rénale. De plus, le statut antioxydant a été détérioré, avec une peroxydation lipidique traduite par l'augmentation excessive du MDA et de l'oxyde nitrique (NO) et une diminution des activités des enzymes antioxydantes suggérant ainsi un stress oxydant généré par l'épirubicine. Ainsi, une activité inflammatoire a été confirmée par l'augmentation des taux de PGE2 et TNF- α .

Tous ces résultats ont été confirmés par l'étude histologique des organes (foie, cœur, et reins), une dégénérescence hépatique, cardiaque et néphrotique, des congestions capillaires et des infiltrats inflammatoires ont été observés.

L'association de la propolis avec l'épirubicine a diminué de façon impressionnante le niveau de la toxicité de cette dernière, en modulant les niveaux des marqueurs biochimiques, ainsi a tempéré les enzymes du stress oxydant, en amendant l'activité des enzymes antioxydantes, et en inhibant la peroxydation lipidique. Cette combinaison a révélé une amélioration du métabolisme biochimique.

Histologiquement une protection parfaite des tissus a été assurée par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizirt au niveau des organes (foie, cœur, reins) touchés par la toxicité induite par l'épirubicine.

La dose de propolis qui a montré une prévention très efficace contre la toxicité est celle de 250 mg/kg. Tandis que l'administration de 50 mg/kg de quercétine n'a montré aucun effet protecteur contre les effets toxiques de l'épirubicine, ceci confirme que l'action protectrice de la propolis est dose dépendante, ainsi cette efficacité est due à l'ensemble des polyphénols présents dans cet extrait (effet synergique).

L'ensemble de ces résultats obtenus ont permis de mettre en évidence l'action protectrice de l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizirt et sa capacité à moduler les effets toxiques causés par l'épirubicine.

La propolis demeure donc une réserve importante pour la recherche de substances biologiquement actives et il reste beaucoup à apprendre au sujet de ses modes d'action et ses propriétés pharmacocinétiques. Néanmoins, il y a un manque de recherche clinique sur les effets de cette substance chez l'Homme. Il n'existe présentement aucun consensus sur la normalisation des produits thérapeutiques à base de propolis.

Références bibliographiques

(A)

1. Abdel-Fattah, N.S., Nada, O.H., 2007. Effect of propolis versus metronidazole and their combined use in treatment of acute experimental giardiasis. *J. Egypt. Soc Parasitol.* 37, 691-710.
2. Abdelraouf, K., Braggs, K.H., Yin, T., 2012. Characterization of polymyxin B induced nephrotoxicity: implications for dosing regimen design. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 56 (9), 4625–4629.
3. Abdulkhali, A., Hosseinzadeh, J., Ashori, A., Esmaeeli, H., 2017. Evaluation of the antibacterial activity of cellulose nanofibers/poly(lactic acid) composites coated with ethanolic extract of propolis. *Polym. Compos.* 38, 13–19.
4. Abdulrhman, M., Samir Elbarbary, N., Ahmed Amin, D., Saeid Ebrahim, R. 2012. Honey and a mixture of honey, beeswax, and olive oil–propolis extract in treatment of chemotherapy-induced oral mucositis: a randomized controlled pilot study. *Pediatr. Hematol. Oncol.* 29, 285–292.
5. Ablamunits, V., Quintana, F., Reshef, T., Elias, D., Cohen, IR., 1991. Acceleration of autoimmune diabetes by cyclophosphamide is associated with an enhanced IFN- γ secretion pathway. *J. Autoimmun.* 13,383-92.
6. Adamopoulos, S., Parissis, J., Karatzas, D., Kroupis, C., Georgiadis, M., Karavolias, G., 2002. Physical training modulates proinflammatory cytokines and the soluble Fas/soluble Fas ligand system in patients with chronic heart failure. *J. Am. Coll. Cardiol.* 39, 653-63.
7. Adeneye, A.A., Ajagbonna, O.P., Adeleke, T.I., Bello, S.O., 2006. Preliminary toxicity and phytochemical studies of the stem bark aqueous extract of *Musanga cecropioides* in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 105, 374-379.
8. Aebi, H. 1974. Catalase. In H. U. Bergmeyer & Gawehn, K. (Eds.), *Methods of enzymatic analysis V2* (2nd ed., pp. 673 2684). Verlag Chemie: Academic Press, Weinheim.
9. Aghel, S., Pouramir, M., Moghadamnia, A.A., Moslemi, D., Molania, T., Ghassemi, L., Motallebnejad, M., 2014. Effect of Iranian propolis on salivary total antioxidant capacity in gamma-irradiated rats. *J. Dent. Res. Dent. Clin. Dent. Prospect*, 8, 235.
10. Agra, D.R., Evangelista, A., Marcucci, M.C., 2006. Physicochemical characteristics and antimicrobial activity of the extracts propolis of the Paraiba, Brazil. *Cienc Rural.* 36(6):1842-1848.
11. Ahmed, R., Tanvir, E., Hossen, M.S., Afroz, R., Ahmmed, I., Rumpa, N.E., Paul, S., Gan, S.H., Sulaiman, S.A., Khalil, M.I., 2017. Antioxidant properties and cardioprotective mechanism of Malaysian propolis in rats. *Evidence-Based Complement. Alternat. Med.*
12. Akhtar, M.J., Ahamed, A., Kumar, S., Khan M.A.M., Ahmad, J., Alrokayan, S.A., 2012. Zinc oxide nanoparticles selectively induce apoptosis in human cancer cells through reactive oxygen species. *International Journal of Nanomedicine*, 7, 845-857.
13. Al-Ani, I., Zimmermann, S., Reichling, J., Wink, M., 2018. Antimicrobial activities of European propolis collected from various geographic origins alone and in combination with antibiotics. *Medicines*, 5(1), 2.

14. Aldahmash, B.A., El-Nagar, D.M., et Ibrahim, K.E., 2016. Reno-protective effects of propolis on gentamicin-induced acute renal toxicity in swiss albino mice. *Nefrologia: publicacion oficial de la Sociedad Espanola Nefrologia*.
15. Alvareda, E., Miranda, P., Espinosa, V., Pardo, H., Aguilera, S., Paulino Zunini, M., 2015. 196 Antiinflammatory activity of phenolic compounds extracted from Uruguayan propolis and grape. *J. Biomol. Struct. Dyn.* 33. 129-129.
16. Alyane, M., Benguedouar, L., Kebsa, W., Boussenane, H.N., Rouibah, H., Lahouel, M., 2008. Cardioprotective effects and mechanism of action of Polyphenols extracted from Propolis against Doxorubicin toxicity. *Pak J .Pharm. Sci*, 21, 201–9.
17. Andrade, M.A., Soares, V.E., de Souza, L.M., Sobreira, M.F.R., Cassol, D.M.S., Toma, S.B., 2008. Hepatoprotective treatment attenuates oxidative damages induced by carbon tetrachloride in rats. *Exp. Toxicol. Pathol*.
18. Angulo, P., Lindor, K.D., 2001. Treatment of non-alcoholic fatty liver: present and emerging therapies. *Semin. Liv. Diseases*, 21, 81-8.
19. Anjum, S.I., 2018. Composition and functional properties of propolis (bee glue): A review. *Saudi Journal of Biological Sciences*.
20. Appel, J.M., 2007. Anthracycline-induced chronic cardiotoxicity and heart failure. *Acta Oncol*, 46(5), 576-80.
21. Araujo, M.A.R., Libério, S.A., Guerra, R.N.M., Ribeiro, G.M.N.S., Nascimento, F.R.F., 2012. Mechanisms of action underlying the anti-inflammatory and immunomodulatory effects of propolis. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 22, 208-219.
22. Attar, E., and Bulun, S.E., 2005. *Hum. Reprod. Update*, 12:49.
23. Aulino, N., Lemos Abreu, S.R., Uto, Y., Koyama, D., Nagasawa, H., Hori, H., Dirsch, V.M., Vollmar, A.M., Scremin, A., Bretz, W.A., 2008. Anti-inflammatory effects of a bioavailable compound, Artepillin C, in Brazilian propolis. *European Journal of Pharmacology*, 587, 296-301.

(B)

24. Baldini, E., Prochilo, T., Salvadori, B., 2004. Multicenter randomized phase III trial of epirubicin plus paclitaxel vs epirubicin followed by paclitaxel in metastatic breast cancer patients: focus on cardiac safety, *Br. J. Cancer*, 91 (1), 45-49.
25. Bankova, V., 2005. Chemical Diversity of Propolis and the Problem of Standardization. *Journal of Ethnopharmacology*, 100, 114-117.
26. Banskota, A., Tezuka, Y., Adnyana, I., Ishii, E., Midorikawa, K., Matsushige, K., Kadota, S., 2001a. Hepatoprotective and anti-*Helicobacter pylori* activities of constituents from Brazilian propolis. *Phytomedicine*, 8, 16–23.
27. Barbaric, M., Miskovic, K., Bojic, M., Loncar, M.B., Smolic-Bubalo, A., Debeljak, Z., Medic-Saric, M., 2011. Chemical composition of the ethanolic propolis extracts and its effect on HeLa cells. *J. Ethnopharmacol*, 135, 772–778.

28. Bárdi, E., Bobok, I., Oláh, V.A., 2004. Cystatin C is a suitable marker of glomerular function in children with cancer. *Pediatr Nephrol*, 10,1145–1147.
29. Batista C.M., Alves A. V. F., Queiroz L.A., Lima B.S., Filho R.N.P., Araújo A., 2018. The photoprotective and anti-inflammatory activity of red propolis extract in rats. *J. Photochem. Photobiol. B Biol* 180, 198–207.
30. Benguedouar, L., Boussenane, H.N., Wided, K., Alyane, M., Rouibah, H., Lahouel, M., 2008. Efficiency of propolis extract against mitochondrial stress induced by antineoplastic agents (doxorubicin and vinblastin) in rats. *Indian J. Exp. Biol*, 46(2), 112-119.
31. Bergmeyer, H., Bower and Cols., 1976. *Clin. Chim. Acta*, 70.
32. Bernard, S., 1989. *Diagnostiques médicaux chirurgicaux. Bioch. Clin.* 2ème éd. Ed. Maloine Paris, 143-144.
33. Blanc, M., 2010. *Propriétés et usage médical de produits de la ruche.*
34. Borst, P., Evers, R., Kool, M., and Wijnholds, J., 2000. *J. Natl. Cancer Inst*, 92, 1295–1302.
35. Borst, P., Schinkel, A.H., 1997. Genetic dissection of the function of mammalian P glycoproteins. *Trends Genet*, 13, 217–22.
36. Boufadi, Y.M., Soubhye, J., Riazi, A., Rousseau, A., Vanhaeverbeek, M., Nève, J., Boudjeltia, K.Z., Van Antwerpen, P., 2014. Characterization and Antioxidant Properties of Six Algerian Propolis Extracts: Ethyl Acetate Extracts Inhibit Myeloperoxidase Activity. *Int. J. Mol. Sci.*, 15, 2327-2345.
37. Boufadi, Y.M., Van, Antwerpen P., Chikh Alard, I., et al., 2017. Antioxidant effects and bioavailability evaluation of propolis extract and its content of pure polyphenols. *J. Food. Biochem* ; e12434.
38. Boufadi, Y.M., Soubhye, J., egrave, N., ve, J., Van Antwerpen, P., Riazi, A., 2016. Antimicrobial effects of six Algerian propolis extracts. *Int. J. Food. Sci. Technol.* 51, 2613–2620.
39. Brihoum, H., Maiza, M., Sahali, H., Boulmeltout, M., Barratt, G., Benguedoua, L., Lahouel, M., 2018. Dual effect of Algerian propolis on lung cancer: Antitumor and chemopreventive effects involving antioxidant activity. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, São Paulo*, 54(1), 1-12.
40. Bruno, Rodrigues., Sandro, Anchisi., Pierre-Auguste, Petignat., Niels Gobin., 2017. *Rev Med Suisse*, 13, 1055-1058.
41. Bueno-Silva, B., Alencar, S.M., Koo, H., Ikegaki, M., Silva, G.V., Napimoga, M.H., Rosalen, P.L., 2013. Anti-inflammatory and antimicrobial evaluation of neovestitol and vestitol isolated from brazilian red propolis. *J. Agric. Food Chem*, 61, 4546-4550.
42. Bugugnani, M. J., 2003. Créatine kinase. *Encycl. Med. Biol*, Elsevier Paris.
43. Burdock, G. A., 1998. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis.
44. Burtis, A., 1999. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 3rd Ed AACC.

(C)

45. Campbell, I.L., Kay, T.W., Oxbrow, L., Harrison, L.C., 1991. Essential role for interferon-gamma and interleukin-6 in autoimmune insulin-dependent diabetes in NOD/Wehi mice. *J. Clin. Invest*, 87, 739-42.
46. Canaud, B., 2008. Élévation de la créatininémie, Orientation diagnostique. *Rev Prat*, 58, 1837.
47. *Cancer and the Heart*, Second Ed., 2013. 2 Ed. People's Medical Publishing House - USA, Ltd, 550. *Cancer Treat Rev.* 37(4): p. 300-11.

- Cardinale, D., Sandri, M.T., Colombo, A., 2004. Prognostic value of troponin I in cardiac risk stratification of cancer patients undergoing high-dose chemotherapy. *Circulation*, 109, 2749-2754.
48. Cendan, J.C., Souba, W.W., Copeland, E.M., and Lind, D.S., 1995. Cytokines regulate endotoxin stimulation of endothelial cell arginine transport, *Surgery*, vol. 117, no. 2, 213–219.
49. Chan, G.C.F., Cheung, K.W., and Sze., M., 2013. The Immunomodulatory and Anticancer Properties of Propolis. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*, 44, 262.
50. Chandna, P., Adlakha, V.K., Das, S., Singh, S., 2014. Complementary and Alternative Medicine (CAM): a review of propolis in dentistry. *Technology*, 4-6.
51. Chang, J.C., 2011. Gene expression profiling for the prediction of therapeutic response to docetaxel in patients with breast cancer. *Lancet* 362, 362–369.
52. Chen, C., Chih-Hsiung, W., Yen-Chun, L., Rong-Jane, C., Li-Ching, C., Yuan-Soo, H., Ying-Jan, W., 2008. NF- κ B-activated tissue transglutaminase is involved in ethanol-induced hepatic injury and the possible role of propolis in preventing fibrogenesis. *Toxicology* 246 .148-157.
53. Choi, D., Han J., Lee, Y., Choi, J., Han, S., Hong, S., Jeon, H., Kim, Y.M., Jung, Y., 2010. Caffeic acid phenethyl ester is a potent inhibitor of HIF prolylhydroxylase: structural analysis and pharmacological implication. *J. Nutr. Biochem*, 21(9), 809-817.
54. Chopra, S., Pillai, K.K., Husain, S.Z., Giri, D.K., 1995. Propolis protects against doxorubicin-induced cardiomyopathy in rats. *Exp. Mol. Pathol*, 62(3), 190-198.
55. Ciftci-Yilmaz, S., Azman, Z.N., Kosem, K., Gunduz, E., Grenman, R.G., 2017. Evaluating Antioxidant Capacity of Different Propolis Samples from Konya. Turkey and Their Inhibitory Effect on Head and Neck Cancer Cells. *Bio. Rxiv*, 183913.
56. Cigut, T., Polak, T., Gasperlin, L., Raspor, P., Jamnik, P., 2011. Antioxidative activity of propolis extract in yeast cells. *J. Agric. Food. Chem*, 59(21), 11449-11455.
57. Cockcroft, D.W., Gault, M.H., 1976. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron*, 16, 31-41.
58. Conklin, K.A., 2005. Coenzyme q10 for prevention of anthracycline-induced cardiotoxicity. *Integr Cancer Ther*, 4, 110-130.
59. Conte, P.F., Gennari, A., Landucci, E., Orlandini, C., 2000. Role of epirubicin in advanced breast cancer, *Clin. Breast. Cancer* 1 (Suppl 1) S46-S51.
60. CUEN (Collège Universitaire des Enseignants de Néphrologie), 2010. Néphropathies Glomérulaires.

(D)

61. De Castro, S., 2001. Propolis: biological and pharmacological activities. Therapeutic uses of this bee-product. *Ann. Rev. Biomed. Sci*, 3, 49–83.
62. Delemasure, S., Vergely C., Zeller, M., Cottin, Y., Rochette, L., 2006. Preventing the cardiotoxic effects of anthracyclins. From basic concepts to clinical data. *Ann. Cardiol. Angeiol (Paris)*, 55, 104-12.
63. Delemasure, S., Pharm, D., Pierre Sicard, M.S., Lauzier, M., Moreau, D., 2007. Acute Administration of Epirubicin Induces Myocardial Depression in Isolated Rat Heart and Production of Radical Species Evaluated by Electron Spin Resonance Spectroscopy. *J. Cardiovasc. Pharmacol. TM*, 50:647-653.
64. Deray, N., Launay- vacher, V., Byloos, E., 2010. Cancer and renal insufficiency results of the BIRMA study. *Br. J. Cancer*, 103, 1815– 21.

65. Diab, A., El-Sayed, A., Hendawy, L., Mansour, H., 2012. Antioxidant Role of both Propolis and Ginseng against Neurotoxicity of Chlorpyrifos and Profenofos in Male Rats. *Life Science Journal*; 9(3).
66. Dobbs, N.A., Twelves, C.J., Gregory, W., Cruikshanka, C., Richards, M.A., Rubens, R.D., 2003. Epirubicin in patients with liver dysfunction: development and evaluation of a novel dose modification scheme. *Eur. J. Cancer*, 39:580-6.
67. Donadieu, Y., 2008. *La propolis*. Paris : Dangles.
68. Dori, O., Humbert, A., Burnier, M., 2014. Risques rénaux des compléments alimentaires : une cause ignorée. *Revue Médicale Suisse*, 10, 498-503.
69. Doros, z., 2014. *Guide pratique des médicaments*, 33ème édition.
70. Drescher, N., Klein, A.M., Neumann, P., Yañez, O., Leonhardt, S.D., 2017. Inside honeybee hives: impact of natural propolis on the ectoparasitic mite varroa destructor and viruses. *Insects*, 8, 15.
71. Drury, R.A.B., Wallington, E.A., 1967. *Carleton's Histological technique*. 4th ed. Oxford University Press, New York, 151, 242-245.
72. Du, X.H., Yang, C.L., 1994. Mechanism of gentamicin nephrotoxicity in rats and the protective effect of zinc-induced metallothionein synthesis. *Nephrol. Dial. Transplant*, 9, 135-40.
73. Du, Y., Lou, H., 2008. Catechin and proanthocyanidin B4 from grape seeds prevent doxorubicin induced toxicity in cardiomyocytes. *Eur. J. Pharmacol*, 591, 96-101.
74. Dudka, J., 2006. The role of reactive oxygen and nitrogen species in calcium and iron homeostasis dysregulation in anthracycline cardiotoxicity. *Postepy. Hig. Med. Dosw (Online)*, 60, 241-247.

(E)

75. El Mazoudy, R., Abd El Gawad, H., El-Shenawy, N., 2011. Evaluation Of Protective Effect Of Propolis Against Testicular Oxidative Damage, Lipid Peroxidation And Infertility Induced By Chlorpyrifos In Albino Rats. *Egypt. J. Exp. Biol. (Zool.)*, 7(2): 129 – 138.
76. El Saied, Azab, A., 2014. Nephro-protective effects of curcumin, rosemary, and propolis against gentamicin-induced toxicity in Guinea pigs: morphological and biochemical study. *Am. J. Clin Exp. Med*, 2-28.
77. El-Guendouz, S., Al-Waili, N., Azza, S., Elamine, Y., Zizi, S., Al-Waili, T., Al-Waili, A., Lyoussi, B., 2017. Antioxidant and diuretic activity of co-administration of Capparis spinosa honey and propolis in comparison to furosemide. *Asian Pac. J. Trop. Med*.
78. Elnakady, Y.A., Rushdi, A.I., Franke, R., Abutaha, N., Ebaid, H., Baabbad, M., Omar, M. O., Al Ghamdi, A.A., 2017. Characteristics, chemical compositions and biological activities of propolis from Al-Bahah, Saudi Arabia. *Sci. Rep*, 7.
79. Elsherbiny, N.M., El-Sherbiny, M., 2014. Thymoquinone attenuates Doxorubicin-induced nephrotoxicity in rats: Role of Nrf2 and NOX4. *Chem Biol Interact*, 28, 223C:102-8.
80. Elstner, E.F., Youngman, R.J., & Obwald, W., 1983. Superoxyde dismutase. In H.U. Bergmeyer (Ed.), *Methods of enzymatic analysis* (3rd ed., pp. 293-302). Weinheim: Wiley-Blackwell.
81. Ewer, M.S., Benjamin, R.S., 2000. Cardiac complications. In Holland J, Frei E (eds): *Cancer Medicine*, 5th edition. Philadelphia, PA: Decker. BC, 2324-2339.

(F)

82. Fagerholm, U., 2007. Prediction of human pharmacokinetics – gastrointestinal absorption. *J. Pharm. Pharmacol*, 59(7), 905-916.
83. Fadillioğlu, E., Erdoğan, H., Söğüt, S., and Kuku, I., 2003. Protective effects of erdosteine against doxorubicin-induced cardiomyopathy in rats, *Journal of Applied Toxicology*, vol. 23, no. 1, 71–74.
84. Farag, A.T., Amany, H. Radwan., F, Sorour., Ahmed El Okazy., El-Sayed El-Agamy., Abd El-Khaliek, El-Sebae., 2010. Chlorpyrifos induced reproductive toxicity in male mice. *Reproductive Toxicology*, 29, 80-85.
85. Faried, A.E., Hemieda, W.M., El-Kholy, S., El-Sayed, M., El-Habibi, G., 2015. Influence of propolis on oxidative stress, inflammation and apoptosis in streptozotocin induced diabetic rats. *International Journal of Advanced Research*. Volume 3, Issue 7, 831-845.
86. Ferreira, J.M., Fernandes-Silva, C.C., Salatino, A., Negri, G., 2017. Message New propolis type from north-east Brazil: chemical composition, antioxidant activity and botanical origin *J. Sci. Food. Agric*.
87. Fondrinier, E., Pezet, D., Gamelin E., 2004. Prise en charge et surveillance du patient cancéreux, Masson. *Food. Chem. Toxicol*, 36(4):347-363.
88. Franchin, M., Cólón, D.F., Castanheira, F.V., da Cunha, M.G., Bueno-Silva, B., Alencar, S.M., Cunha, T.M., Rosalen, P.L., 2016. Vestitol isolated from Brazilian red propolis inhibits neutrophils migration in the inflammatory process: elucidation of the mechanism of action. *J. Nat. Prod*, 79, 954–960.
89. Fuliang, H.R., Hepburn, B., Hongzhuan, X., Minli, C., Dayad, S.E., 2012. Effects of propolis on blood glucose, blood lipid and free radicals in rats with diabetes mellitus. *Pharmacological Research* 51.147-152.

(G)

90. Galderisi, M., Marra, F., Esposito, R., 2007. Cancer therapy and cardiotoxicity: The need of serial Doppler echocardiography. *Cardiovasc Ultrasound*, 5, 4 -17.
91. Galeotti, F., Maccari, F., Fachini, A., Volpi, N., 2018. Chemical composition and antioxidant activity of Propolis prepared in different forms and in different solvents useful for finished products. *Foods Basel Switz*, 7.
92. Gallin, J.I., 1989. Inflammation. In: PAUL WE. *Fundamental immunology*. 2.ed. New York: Raven Press, 721-33.
93. Ganzina, F., 1983. 4-Epi-doxorubicin, a new analogue of doxorubicin: a preliminary overview of preclinical and clinical data. *Cancer Treat Rev*, 10,1-22.
94. Garcia-Saenz, M., 2018. Difficult-to-diagnose diabetes in a patient treated with cyclophosphamide - The contradictory roles of immunosuppressant agents: A case report. *Journal of Medical Case Reports*, 12, 364.
95. George, F., Christos, V., Vassiliki., 2012. HER2 and TOP2A in high risk early breast cancer patients treated with adjuvant epirubicin-based dose-dense sequential chemotherapy, *J. Transl. Med*, 10.
96. Georgiev, V., Ananga, A., Tsoleva, V., 2014. Recent advances and uses of grape flavonoids as nutraceuticals. *Nutrients*, 6, 391-415.
97. Germain E., Bonnet P., Aubourg L., Grangepon M.C., Chajes V., Bougnoux P., 2003. Anthracycline-induced cardiotoxicity is not increased by dietary omega-3 fatty acids. *Pharmacol Res*, 47, 111-7.

98. Giantris, A., Abdurrahman, L., Hinkle, A., Asselin, B., Lipshultz, S.E., 1998. Anthracycline induced cardiotoxicity in children and young adults. *Crit. Rev. Oncol. Hematol*, (1):53-68.
99. Gilroy, D.W., Colville-Nash, P.R., Willis, D., 1999. Inducible cyclooxygenase may have anti-inflammatory properties. *Nature. Med*, 5, 698-701.
100. Gokhale, A.B., Damre, A.S., Kulkarni, K.R., et Saraf, M.N., 2002. Preliminary evaluation of anti-inflammatory and anti-arthritic activity of *S. lappa*, *A. speciosa* and *A. aspera*. *Phytomedicine*, 9(5), 433-437.
101. Golder, W., 2004. Propolis. The bee glue as presented by the graeco – roman literature.
102. Goncalves, L.S., 2001. Africanized Honey Bee: Introduction, Adaptation and Benefits. Apimondia (FFCLRP- University of Sao Paulo, Ribeirao Preto-SP-Brazil.).
103. Gordge, M.P., 1998. How cytotoxic is nitric oxide? *Exp. Nephrol*, 6, 12–6.
104. Grenier, M.A., Lipshultz, S.E., 1998. Epidemiology of anthracycline cardiotoxicity in children and adults. *Semin. Oncol*, 25 (Suppl 10): 72-85.
105. Grote, VA., Becker, S., Kaaks R., 2010. Diabetes Mellitus Type 2 - An Independent Risk Factor for Cancer. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes*, 118 (1), 4-8.
106. Guzmán-Gutiérrez, S.L., Nieto-Camacho, A., Castillo-Arellano, J.I., Huerta-Salazar, E., Hernández-Pasteur, G., Silva-Miranda, M., Argüello-Nájera, O., Sepúlveda-Robles, O., Espitia, C.I., Reyes-Chilpa, R., 2018. Mexican propolis: A source of antioxidants and anti inflammatory compounds, and isolation of a novel chalcone and ϵ -caprolactone derivative. *Molecules*, 23, 334.

(H)

107. Halliwell, B., 2007. Biochemistry of oxidative stress. *Biochemical Society Transactions*, 35, 1147- 1150.
108. Harfouch, R.M., Mohammad, R., Suliman, H., 2016. Antibacterial activity of syrian propolis extract against several strains of bacteria in vitro.
109. Helyar L., Bundschuh D.S., Laskin J.D., Laskin D.L., 1994. Induction of hepatic Ito cell nitric oxide production after acute endotoxemia. *Hepatology*, 20, 1509–1515.
110. Hu, F.L., Hepburn, H.R., Li, Y.H., Chen, M., Radloff, S.E., Daya, S., 2005. Effects of ethanol and water extracts of propolis (bee glue) on acute inflammatory animal models. *J. Ethnopharmacol*, 100, 276-283.
111. Hwan Shin, D., Seong Hyeok, P., Sung, W., Chun-Woong, P., Kun, H., Youn, B., 2014. Hepatic uptake of epirubicin by isolated rat hepatocytes and its biliar excretion after intravenous infusion in rats. *Arch. Pharm. Res*, 37, 1599-1606.

(I)

112. Ivanov, A.I. and Romanovsky, A.A., 2004. *Front. Biosci*, 9:1977.
113. Iwakiri, T., Okumura, M., Muneaki, H., Yuki, K., Ichihara, E., Yohei, K., Kazuhiko, A., 2007. Inhibition of carrier-mediated uptake of epirubicin reduces cytotoxicity in primary culture of rat hepatocytes. *Journal of applied toxicology. J. Appl. Toxicol*, 28, 329-336.

(J)

114. Jain, A.K., Tanki, K., et Jain, S., 2013. "Co-encapsulation of tamoxifen and quercetin in polymeric nanoparticles: implications on oral bioavailability, antitumor efficacy, and drug-induced toxicity," *Molecular Pharmaceutics*, vol. 10(9), 3459-3474.
115. Jain, D., 2000. Cardiotoxicity of doxorubicin and other anthracycline derivatives. *J. Nucl Cardiol*, 7, 53-62.
116. Jain, M., Barthwal, S.K., Barthwal, R., Govil, G., 2005. Restrained molecular dynamics studies on complex of adriamycin with DNA hexamer sequence d CGATCG. *Arch. Biochem. Biophys.* Jul 1, 439(1), 12-24.
117. Jensen, B.V., 2006. Cardiotoxic consequences of anthracycline-containing therapy in patients with breast cancer. *Semin. Oncol*, 33 suppl 8:S15-S21.
118. Jiyeon, R., Kim, K.R., 2018. Antimicrobial activity of Korean propolis extracts on oral pathogenic microorganisms *J. Dent. Hyg. Sci*, 18, 18-23.
119. Jodynis-Liebert, J., Nowicki, M., Murias, M., Adamska, T., Ewertowska, M., Kujawska, M., Piotrowska, H., Konwerska, A., Ostalska-Nowicka, D., Pernak, J., 2010. Cytotoxicity, acute and subchronic toxicity of ionic liquid, didecyl dimethyl ammonium saccharinate, in rats. *Regul Toxicol. Pharmacol*, 57, 266-273.
120. Jourdain, P., Lefèvre, G., Oddeze, C., Sapin, V., Dievart, F., Jondeau, G., et al., 2009. NT-proBNP en pratique «De la biologie à la clinique». *Ann. Cardiol. Angeiol*, 58(3), 165-79.
121. Judson, I., Verweij, J., Gelderblom, H., et al., 2014. European Organisation and Treatment of Cancer Soft Tissue and Bone Sarcoma Group Doxorubicin alone versus intensified doxorubicin plus ifosfamide for first-line treatment of advanced or metastatic soft-tissue sarcoma: a randomised controlled phase 3 trial. *Lancet. Oncol*, 2014, 15,415-423.

(K)

122. Kakinuma, Y., Yuhki, K., Ueno, M., Murakoshi, N., Iemitsu, M., Miyauchi, T., Yamaguchi, I., 2006. Doxorubicin induces apoptosis by activation of caspase-3 in cultured cardiomyocytes in vitro and rat cardiac ventricles in vivo. *J. Pharmacol. Sci*; 101, 151-158.
123. Kaklamani, V.G., Gradishar, W.J., 2003. Epirubicin versus doxorubicin: Which is the anthracycline of choice for the treatment of breast cancer? *Clin. Breast. Cancer*, 4 suppl 1:S26-S33.
124. Kaplan, L.A., Rubaltelli, F.F., Hammerman, C., Vilei, M.T., Leiter, C., Abramov A., 1984. *Lipids in Kaplanla and Pesce* AJ. Eds. *Clinical Chemistry: Theory, Analysis and correlation*. St Lo uni. Toronto. Princeton: The C.V. Mosby Company, 918-9.
125. Kaplowitz, N., 1997. Hepatotoxicity of herbal remedies: insights into the intricacies of plant-animal warfare and cell death. *Gastroenterology*, 113, 1408-1409.
126. Kasotis, K.M., Anastasiadou, P., Papadopoulos, A., 2017. *PLoS One* 12:0170077.
127. Katamadze, N.A., Lartsuliani, K.P., Begishvili, N.N., 2006. The feature of cardiac remodeling process at doxorubicin chemotherapy and idiopathic dilatative cardiomyopathy.]. *Georgian. Med. News*, 130, 61-64.
128. Kaur, K., Sharma, A.K., Dhingra, S., 2006. Interplay of TNF-alpha and IL-10 in regulating oxidative stress in isolated adult cardiac myocytes. *J. Mol. Cell. Cardiol*, 41, 1023-1030.

129. Kebieche, M., Lakroun, Z., Lahouel, M., Bouayed, J., Meraihi, Z., Soulimani, R., 2009. Evaluation of epirubicin-induced acute oxidative stress toxicity in rat liver cells and mitochondria, and the prevention of toxicity through quercetin administration. *Experimental and Toxicologic Pathology* 61.161-167.
130. Keith, M., Geranmayegan, A., Sole, M.J., Kurian, R., Robinson, A., Omran, A.S., 1998. Increased oxidative stress in patients with congestive heart failure. *J. Am. Coll. Cardiol*, 31, 1352-6.
131. Khayyal, M., El-Ghazaly, M., El-Khatib, A., 1993. Mechanisms involved in the antiinflammatory effect of propolis extract. *Drugs. Exp. Clin. Res*, 19, 197–203.
132. Klein, G., 2001. Multicenter evaluation of liquid reagents for CK, CK-MB and LDH with determination of reference intervals on Hitachi Systems. *Clin. Chem*, 47: suppl A30.
133. Koka, PS., Mondal, D., Schultz, M., 2010. Studies on molecular mechanisms of growth inhibitory effects of thymoquinone against prostate cancer cells: role of reactive oxygen species. *Exp. Biol. Med*, 235, 751-760.
134. Kolankayaa, D., Selmanoglua, G., Sorkuna, K., Bekir, S., 2002. Protective effects of Turkish propolis on alcohol-induced serum lipid changes and liver injury in male rats. *Food Chemistry*, 78, 213-217.
135. Kotwinski1, P., Smith, G., Sanders, I., Mal, L., Coopero, J., Thomas, M., Michael, G., Alison, J., Hugh, E., Dudley, J., Pennell, F., 2013. the breast cancer, early disease: toxicity from therapy with epirubicin regimens – cardiac assessment and risk evaluation (BETTER-CARE) study: CMR with early gadolinium relative enhancement, but not high-sensitivity troponin T, predicts the risk of chronic anthracycline cardiotoxicity. From 16th Annual SCMR Scientific Sessions San Francisco, CA, USA.
136. Król, W., Bankova, V., Sforcin, J.M., Szliszka, E., Czuba, Z., Kuropatnicki, A.K., 2013. Propolis: properties, application, and its potential. *Evidence-Based Complement. Alternat. Med*.
137. Kurek-Górecka, A., Rzepecka-Stojko, M., Górecki, J., Stojko, M., Sosada, and G. Świerczek-Zięba., 2014. Structure and antioxidant activity of polyphenols derived from propolis. *Molecules*, 19, 78-101.
138. Kuropatnicki, A.K., Szliszka, E., Krol, W., 2013. Historical aspects of propolis research in modern times. *Evidence-Based Complement. Alternat. Med*.
139. Kusuma, S.A.F., Febrianti, M., Saraswati, A., 2018. Comparison of unripe banana peel of kepok (*Musa paradisiaca* L.) and klutuk (*Musa balbisiana* colla): phytochemical and anti- dysenteriae activity. *J. Pharm. Sci. Res*, 10, 911–914.

(L)

140. Lanzarini, L., Bossi, G., Laudisa, M.L., 2000. Lack of clinically significant cardiac dysfunction during intermediate dobutamine doses in cancer survivors exposed to anthracyclines. *Am. Heart. J*; 140(2), 315-323.
141. Lanzarini, L., Spirito, P., Picano, E., 1991. Quantitative assessment of ultrasonic myocardial reflectivity in hypertrophic cardiomyopathy *J. Am. Coll. Cardiol*; 17:1085-1090.
142. Latchoumycandane, C., Mathur, P.P., 2002. Induction of oxidative stress in the rat testis after short-term exposure to the organochlorine pesticide methoxychlor, *Arch. Toxicol*, 76, 692-698.
143. Le Bot, M.A., Bégué, J.M., Kernaleguen, D., Robert, J., Ratanasavanh, D., 1988. Different cytotoxicity and metabolism of doxorubicin, daunorubicin, epirubicin, esorubicin and idarubicin in cultured human and rat hepatocytes. *Biochemical Pharmacology*, 37, 3877-3887.

144. Lin, H., Sue, Y.M., Chou, Y., 2010. Activation of a nuclear factor of activated Tlymphocyte-3 (NFAT3) by oxidative stress in carboplatin-mediated renal apoptosis. *Br. J. Pharmacol*, 161 (7), 1661–1676.
145. Lipshultz, S.E., Colan, S.D., Towbin, J.A., Wilkinson, J.D., 2008. Idiopathic and Primary Cardiomyopathies in Children. *Prog. Pediatr. Cardiol*, 25(1):1.
146. Lisbona, C., Diaz-Castro J., Alferez, M.J., Guisado, I.M., Guisado, R., Lopez-Aliaga, I., 2013. Positive influence of a natural product as propolis on antioxidant status and lipid peroxidation in senescent rats. *J. Physiol. Biochem*, 69(4), 919-925.
147. Liu, L.L., Li, Q.X., Xia, L., Li, J., and Shao, L., 2007. Differential effects of dihydropyridine calcium antagonists on doxorubicin-induced nephrotoxicity in rats. *Toxicology*, vol. 231, no. 1, 81–90.
148. Lodish, B., Matsudaira, K., Krieger, S., Zipursky, D., 2005. *Biologie moléculaire de la cellule*. Edition DeBoeck.
149. Lotfy, M., 2006. Biological activity of bee propolis in health and disease. *Asian Pac. J. Cancer .Prev*, 7, 22–31.
150. Luck, H., 1963. In *Methods of Enzymatic Analysis*. (Ed. Bergmeyer, H. V.) New York: Academic Press, 885-894.

(M)

151. Machado, B., Pulcino, T.N., Silva, A.L., Tadeu, D., Melo, R.G.S., Mendonça, I.G., 2017. Propolis as an alternative in prevention and control of dental cavity. *Immunity*, 19, 24.
152. Magdy, F., Abou El Fatoh, L., Kamel, M., Mohammed, A., 2014. Anticarcinogenic and Antioxidant Effects of Propolis Aqueous extract against Ehrlich Ascites Carcinoma (EAC) Cells bearing Mice. *International Journal of Pharma Sciences*, Vol. 4, No. 4: 606-610.
153. MAISEL, A.S., 2002. For the Breathing Not Properly multinational Study Investigators, Rapid measurement of B-Type Natriuretic Peptide in the emergency diagnosis of heart failure. *N. Engl. J. Med*, 347, 161-167.
154. Maja, J.A., Verweij, J., 2006. Renal Toxicities of Chemotherapy. *Semin. Oncol* 33, 68-73. Elsevier. Inc.
155. Maraldi, T., Hrelia, S., Fiorentini, D., 2002. Doxorubicin induces early lipid peroxidation associated with changes in glucose transport in cultured cardiomyocytes. *Biochim. Biophys. Acta*; 1567, 150-156.
156. Marcello, O., Freire Thomas, E., Van, Dyke., 2013. Natural resolution of inflammation. *Periodontol.* 63(1), 149-164.
157. Marcucci, M., Ferreres, F., Garcia-Viguera, C., Bankova, V., De Castro, S., Dantas, A., Valente, P., Paulino, N., 2001. Phenolic compounds from Brazilian propolis with pharmacological activities. *J. Ethnopharmacol*, 74, 105–112.
158. Marrington, A.M., Killick, D.R., Grant, I.A., 2011. Toxicity associated with epirubicin treatments in a large case series of dogs. *Veterinary and Comparative Oncology*, 10, 113– 123.
159. Martinez-Salgado, C., Eleno, N., Morales, Al., Pérez-Barriocanal, F., Arévalo, M., López Novoa, J.M., 2004. Gentamicin treatment induces simultaneous mesangial proliferation and apoptosis in rats. *Kidney. Int*, 65:21, 61–71.
160. Martinotti, S., Ranzato, E., 2015. Propolis: a new frontier for wound healing? *Burns. Trauma*, 3, 9.
161. Yasar, M., Savranlar, Y., Karaman, H., Sagit, M., Silici, S., Ozcan, I., 2016. Effects of propolis in an experimental rat model of allergichrinitis *American J. Otolaryngology*, 37, 287-293.

162. Mercurio, G., Cadeddu, C., Piras, A., 2007. Early epirubicin-induced myocardial dysfunction revealed by serial tissue Doppler echocardiography: correlation with inflammatory and oxidative stress markers. *Oncologist*, 12, 1124-33.
163. Lahouel, M., et Zellagui, A., 2012. Mechanism underlying cardioprotective effects of propolis, in *Effects of Propolis in Beneficial Effects of Propolis on Human Health and Chronic Diseases*. Nova Publisher, USA.
164. Milind Choudhari, R., Haghniaz, J.M., Rajwade, K.M., 2013. Paknikar Anticancer activity of Indian stingless bee propolis: an in vitro study Evid-Based Complement. *Altern. Med*.
165. Mirzoeva, O.K., Calder, P.C., 1996. The effect of propolis and its components on eicosanoid production during the inflammatory response. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty. Acids*, 55, 441-449.
166. Miura, T., Muraoka, S., Fujimoto, Y., 2000. Inactivation of creatine kinase by Adriamycin during interaction with horseradish peroxidase. *Biochem. Pharmacol*, 60:95-99.
167. Monassier, L., 2012. strasbourg, pharmacologie dcem3 «les anticancereux».
168. Moudir, N., 2004. Les polyphénols de la propolis algérienne.
169. Mueller C., 2004. Use of B-type natriuretic peptide in the evaluation and management of acute dyspnea. *N. Engl. J. Med*, 350, 647-654.
170. Murray, R.L., 1984. In: Kaplan LA and Pesce AJ. Eds. *Clinical Chemistry: Theory, Analysis and Correlation*. St Louis. Toronto. Princeton: The C. V. Mosby Company, 1112-1116.

(N)

171. Nakamura, T., Ohta, Y., Ohashi, K., Ikeno, K., Watanabe, R., Tokunaga, K., Harada, N., 2012. Protective effect of Brazilian propolis against hepatic oxidative damage in rats with water-immersion restraint stress. *Phytother. Res*, 26(10), 1482-1489.
172. Newby, L.K., Storrow, A.B., Gibler, W.B., 2001. Bedside multimarker testing for risk stratification in chest pain units: The chest pain evaluation by creatine kinase-MB, myoglobin, and troponin I (CHECKMATE) study. *Circulation*, 103, 1832-1837.
173. Nirala, S., Monika, B., Ramesh, M., Mathur, A., 2007. Influence of α -tocopherol, propolis and piperine on therapeutic potential of tiferron against beryllium induced toxic manifestations. *J. Appl. Toxicol*, 28, 44-54.
174. Niraldo, Paulino., Sheila, Rago Lemos Abreu ., Yoshihiro, Uto., Daisuke, Koyama., Hideko, Nagasawa., Hitoshi Hori., Verena, M. Dirsch., Angelika, M. Vollmar., Amarilis, Scremin., Walter, A. Bretz., 2008. Anti-inflammatory effects of a bioavailable compound, Artepillin C, in Brazilian propolis. *European Journal of Pharmacology*, 587, 296-301.
175. Nousiainen, T., Vanninen, E., Jantunen, B., 2002. Natriuretic peptides during the development of doxorubicin-induced left ventricular diastolic dysfunction. *J. Intern. Med*, 251, 228-234
176. Nur Alam, M., Bristi, N., Rafiquzzaman, M., 2013. Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity, 21, 145-149.

(O)

177. Organisation Mondiale de la Santé 2013. Le cancer, Aide-mémoire.

178. Orsatti, C.L., Sforcin, J.M., 2012. Propolis immunomodulatory activity on TLR-2 and TLR-4 expression by chronically stressed mice *Nat. Prod. Res*, 26, 446-453.
179. Orsi, R.O., Funari, S.R.C., Soares, A.M.V.C., Calvi, S.A., Oliveira, S.L., Sforcin, J.M., Bankova, V., 2000. Immunomodulatory action of propolis on macrophage activation. *J. Venom. Anim. Toxins*, 6, 205-19.
180. Orsolich, N., and Basic, I., 2003. Immunomodulation by water-soluble derivative of propolis: a factor of antitumor reactivity. *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 84, no. 2-3, 265-273.
181. Oršolić, N., Car, N., Lisičić, D., Benković, V., Knežević, A.H.D., Petrik, J., 2013. Sinergismo entre própolis equimioterapia intraperitoneal hiperterminal com cisplatina no tumor ascítico de Ehrlich em camundongos. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 102(12), 4395-4405.
182. Otunola, G.A., Oloyede, O.B., Oladiji, A.T., Afolayan, A., 2014. Selected 1 spices an their combination modulate hypercholesterolemia-induced oxidative stress in experimental rats. *Biol. Res*, 47,5.
183. Özcan, M., 1999. Antifungal properties of propolis. *Grasas Aceites*, 50, 395-398.

(P)

184. Paglia, D.E., Valentin, W.N., 1967. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J. Lab. Clin. Med*, 70, 158-169.
185. Pai, V.B., Nahata, M.C., 2000. Cardiotoxicity of chemotherapeutic agents. Incidence, treatment and prevention. *Drug. Saf* ; 22 : 263-302.
186. Pan, H., Shen, K., Wang, X., 2014. Protective effect of metalloporphyrins against cisplatin-induced kidney injury in mice. *PLoS. One* 9 (1), e86057.
187. Park, E.K., Kim, S.H, Park, S.S., 1996. Anti-inflammatory activity of propolis. *Arch. Pharm. Res*, 19, 337-41.
188. Paulus, W.J., Tschöpe, C., Sanderson J.E., Rusconi, C., Flachskampf, F.A., 2007. How to diagnose diastolic heart failure: a consensus statement on the diagnosis of heart failure with normal left ventricular ejection fraction by the Heart Failure and Echocardiography Associations of the European Society of Cardiology. *Eur. Heart J*, 28(20), 2539-50.
189. Pelletier, J.P., Jovanovic, D., Fernandes, J.C., Manning, P., Connor, J.R., Currie, M.G., Martel-Pelletier, J., 2004. Reduction in the structural changes of experimental osteoarthritis by a nitric oxide inhibitor. *Osteoarthritis Cartilage*, 7, 416-418.
190. Peña, R.C., 2008. Propolis standardization: a chemical and biological review. *Ciencia Investigación Agraria*. 35, 11-20.
191. Pessolato, A.G., Martins, Ddos S., Ambrósio, C.E., Mançanares, C.A., de Carvalho A.F., 2011. Propolis and amnion reepithelialise second-degree burns in rats. *Burns*, 37, 1192-1201.
192. Persijn, J.P., Slik, W., 1976. A new method for the determination of gamma glutamyltransferase in serum. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem*, 14, 421-427.
193. Pfizer Canada inc., 2014. Monographie d'EPIDUBICIN (chlorhydrate d'épirubicine injectable).
194. Pietta, P.G., Gardana, C et Pietta, A.M., 2002. Analytical methods for quality control of propolis. *Fitoterapia*; 73(Suppl 1):S7-S20.
195. Pinar, T., Seval, Y., Gulizar, T., 2012. The Effects of Propolis in Animals Exposed Oxidative Stress. *World's largest Science, Technology and Medicine*.

196. Popova, M., Silici, S., Kaftanoglu, O., Bankova, V., 2005. Antibacterial Activity of Turkish Propolis and its Qualitative and Quantitative Chemical Composition. *Phytomedicine*, 12, 221-228.
197. Prado, C., Isac, S. F., Vickie, E., Baracos, R., Bies, J., Cargar, M., Reiman, T., John, R., Mackey, k., Vijaya, L., Damaraju, B., 2010. An exploratory study of body composition as a determinant of epirubicin pharmacokinetics and toxicity. *Cancer. Chemother. Pharmacol*, 67, 93-101.
198. Praet, M., Goormaghtigh, E., Huart, P., 1990. Structure of the adriamycin-cardiolipin complex role in mitochondrial toxicity *Biophys. Chem*; 35:247-57.
199. Puri, A., Maulik, S.K., Ray, R., Bhatnagar, V., 2005. Electrocardiographic and biochemical evidence for the cardioprotective effect of vitamin E in doxorubicin-induced acute cardiotoxicity in rats. *Eur. J. Pediatr. Surg*, 15:387-91.

(R)

200. Racken, J.M., Allen, L.A., 2014. Regulation of human neutrophil apoptosis and lifespan in health and disease. *J. Cell. Death*, 8, 7:15-23.
201. Ramos, A., Miranda, J.D., 2007. Propolis: a review of its anti-inflammatory and healing actions. *J. Venomous. Anim. Toxins Incl. Trop. Dis.* 13, 697–710.
202. Randjelovic, P., Veljkovic, S., Stojiljkovic, N., Jankovic-Velickovic, L., Sokolovic, D., Stoiljkovic, M., et al., 2012. Salicylic acid attenuates gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Scientific. World. J*, 390613.
203. Ravi, D., Das, K.C., 2004. Redox-cycling of anthracyclines by thioredoxin system: increased superoxide generation and DNA damage. *Cancer. Chemother. Pharmacol*, 54, 449-458.
204. Reuben A., 2007. *Methotrexate controversies Drug-induced liver disease* New York: Informa Healthcare, 683-705.
205. Rezzani, R., Giugno, L., Buffoli, B., Bonomini, F., Bianchi, R., 2005. The protective effect of caffeic acid phenethyl ester against cyclosporine A-induced cardiotoxicity in rats. *Toxicology*, 212, 155–164.
206. Riddles, P.W., Blakeley, R.L., & Zerner, B., 1979. Ellman's reagent: 5, 50-dithiobis (2-nitrobenzoic acid)- a reexamination. *Analytical Biochemistry*, 94, 75-81.
207. Rousselet, M., Vignaud, J.M., Hofman, P., et Chatelet, F.P., 2005. *Inflammation et pathologie inflammatoire*. 1-57.
208. Russo, R., Longo., et A, Vanella., 2002. Antioxidant activity of propolis: role of caffeic acid phenethyl ester and galangin. *Fitoterapia*, vol. 73, supplement 1, S21-S29.
209. Rustin, P., Chrétien, D., Bourgeron, T., Gérard, B., Rotig, A., Munnich, A., 1994. Biochemical and molecular investigation in respiratory chain deficiencies. *Clin. Chem. Acta*. 228, 35-51.

(S)

210. Sabir, A., Sumidarti, A., 2017. Interleukin-6 expression on inflamed rat dental pulp tissue after capped with *Trigona* sp. Propolis from south Sulawesi, Indonesia.

211. Sacco, G., Giampietro, R., Salvatorelli, E., Menna, P., Bertani, N., Graiani, G., Animati, F., Goso, C., Maggi, C. A., Manzini, S., & Minotti, G., 2003. Chronic cardiotoxicity of anticancer anthracyclines in the rat: Role of secondary alcohol metabolites and reduced toxicity by a novel anthracycline with impaired metabolite formation and reactivity. *British Journal of Pharmacology*, 139, 641–651.
212. Santos, V.R., F.J. Pimenta., M.C. Aguiar., M.A. do Carmo., M.D. Naves., and R.A. Mesquita., 2005. Oral candidiasis treatment with Brazilian ethanol propolis extract. *Phytother. Res*, 19,652-664.
213. Sawicka, D., Car, H., Borawska, M.H., Niklin´ski, J., 2012. The anticancer activity of propolis. *Folia Histochemica et Cytobiologica* 50, 25–37.
214. Sayed-Ahmed, M.M., Shaarawy, S., Shouman, S.A., 1999. Reversal of doxorubicin-induced cardiac metabolic damage by L-carnitine. *Pharmacol. Res*; 39:289-295.
215. Schnitzler, P., Neuner, A., Nolkemper, S., Zundel, C., Nowack, H., Sensch, K.H., 2010. Antiviral activity and mode of action of propolis extracts and selected compounds. *Phytother Res*, 24(Suppl 1):S20–8.
216. Schultz, A., 1984. Uric acid .*Clin .Chem*, The C.V.Mosby Co. St. Louis. Toronto. Princeton, 1261-1266.
217. Segueni, N., 2013. Flavonoids from Algerian propolis. *Arabian Journal of Chemistry*.
218. Senkus, E., Jassem, J., 2011. Cardiovascular effects of systemic cancer treatment,
219. Seo, K.W., Park, M., Song, Y.J., Kim, S., Yoon, K.R., 2003. The protective effects of propolis on hepatic injury and its mechanism. *Phytotherapy Research*, 17, 250–253.
220. Shan, K., Lincoff, A.M., Young, J.B., 1996. Anthracycline-induced cardiotoxicity. *Ann. Intern. Med*, 125(1):47-58.
221. Sharma, P. K., Misra, A. K., Singh, V., Gupta, A., Saroha, S., & Singh, S., 2016. Cyclophosphamide and epirubicin-induced diabetes mellitus in breast cancer: A rare occurrence. *Journal of pharmacology & pharmacotherapeutics*, 7(3), 146-8.
222. Shivakumar, P., Rani, M.U., Reddy, A.G., Anjaneyulu, Y., 2012. A study on the toxic effects of Doxorubicin on the histology of certain organs. *Toxicol. Int*, 19(3), 241-4.
223. Shivani, S., Kumar, N.R. & Kaur, J., 2014. In vivo Studies on the Protective Effect of Propolis on Doxorubicin-Induced Toxicity in Liver of Male Rats. *Toxicology international* 21, 191-195.
224. Singal, P.K., Iliskovic, N., 1998. Doxorubicin-induced cardiomyopathy. *N. Engl. J. Med*, 339, 900-905.
225. Singh, S.S., 2006. Preclinical pharmacokinetics: an approach towards safer and efficacious drugs. *Curr. Drug. Metab*, 7(2), 165-182
226. Siveski-Iliskovic, N., Kaul, N., Singal, P.K., 1994. Probucol promotes endogenous antioxidants and provides protection against adriamycin-induced cardiomyopathy in rats *Circulation*. 89, 2829-2835.
227. Sliwa, K., Skudicky, D., Candy, G., Wisenbaugh, T., Sareli, P., 1998. Randomised investigation of effects of pentoxifylline on left-ventricular performance in idiopathic dilated cardiomyopathy. *Lancet*, 351, 1091-3.
228. Solaro, R.J., Arteaga, G.M., 2007. Heart failure, ischemia/reperfusion injury and cardiac troponin. *Adv. Exp. Med. Biol*, 592, 191-200.
229. Soltani, E.K., Cerezuela, R., Charef, N., Mezaache-Aichour, S., Esteban, M.A., Zerroug, M.M., 2017. Algerian propolis extracts: Chemical composition, bactericidal activity and in vitro effects on gilthead seabream innate immune responses. *Fish. Shellfish. Immunol*, 62, 57–67.
230. Soudani, N., Benamara, I., Sefi, M., Boudawara, T., Zeghal, Na., 2011. Effects of selenium on chromium (VI)-induced hepatotoxicity in adult rats. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 63, 541-548.

231. Suzuki, T., Hayashi, D., Yamazaki, T., 1998. Elevated B-type natriuretic peptide levels after anthracycline administration. *Am. Heart. J*, 136, 362-363.
232. Swain, S.M., Whaley, F.S., Ewer, M.S., 2003. Congestive heart failure in patients treated with doxorubicin: a retrospective analysis of three trials. *Cancer*, 97:2869–2879.

(T)

233. Takeda, K., Akira, S., 2004. TLR signalling pathways. *Semin, Immunol*, 16, 3-9.
234. Takemura, T., Urushisaki, T., Fukuoka, M., Hosokawa-Muto, J., Hata, T., Okuda, Y., Hori, S., Tazawa, S., Araki, Y., Kuwata, K., 2012. 3, 4-dicaffeoylquinic acid, a major constituent of Brazilian propolis, increases TRAIL expression and extends the lifetimes of mice infected with the influenza A virus. *eCAM*.
235. Talbert, D.R., Doherty, K.R., Trusk, P.B., Mora, D.M., Shell, S.A., Bacus, S.A., 2015. Multi-parameter in vitro screen in human stem cell-derived cardiomyocytes identifies ponatinib-induced structural and functional cardiac toxicity. *Toxicol. Sci.* 143, 147–155.
236. Tannock, I.F., 1998. Conventional cancer therapy: promise broken or promise delayed? *Lancet* 351 (Suppl. 2), 9–16.
237. Tietz, N.W., 1999. Text book of clinical chemistry, 3rd Ed. C.A. Burtis, E.R. Ashwood, W.B. Saunders. 1239-1241.
238. Tsutamoto, T., Wada, A., Matsumoto, T., 2001. Relationship between tumor necrosis factor-alpha production and oxidative stress in the failing hearts of patients with dilated cardiomyopathy. *J. Am. Coll. Cardiol*, 37, 2086 - 2092.
239. Turkez, H., Yousef, M.I., Geyikoglu, F., 2010. Propolis prevents aluminium-induced genetic and hepatic damages in rat liver. *Food. Chem. Toxicol*, 48(10), 2741–2746.
240. Twelves, C.J., Dobbs, N.A., Michael, V., 1992. Clinical pharmacokinetics of epirubicin: the importance of liver biochemistry tests. *Br. J. Cancer*. 66.765-9.

(V)

241. Valdivielso, J.M., Blantz, R.C., 2002. Acute renal failure: is nitric oxide the bad guy? *Antioxid Redox Signal*. 4, 925–34.
242. Venukurar, M.R., Latha, M.S., 2002. Antioxidant activity of *Curculigo orchioides* in carbon tetrachloride-induced hepatopathy in rats, *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 17, 80-87.
243. Vici, P., Sergi, D., Pizzuti L., 2011. Specificity of action of anticancer agents. *Clin. Ter*, 162(2),137-149.
244. Vincent, D.T., Ibrahim, Y.F., Espey, M.G., Suzuki, Y.J., 2013. The role of antioxidants in the era of cardio-oncology. *Cancer. Chemother. Pharmacol*, 72, 1157–1168.
245. Von Hoff, D.D., Layard, M.W., Basa, P et al., 1979. Risk factors for doxorubicin-induced congestive heart failure. *Ann. Intern. Med*, 9, 710-717.

(W)

246. Wagh, V.D., 2013. Propolis: a wonder bees product and its pharmacological potentials. *Adv. Pharmacol. Sci.*
247. Wallace, A.D., Meyer, S.A., 2010. Hepatotoxicity. In: Smart RC, Hodgson E (eds) *Molecular and biochemical toxicology*. 4th edn. Wiley, Hoboken, 671-692.
248. Walters, M.I., Gerarde, H.W., 1970. An ultramicromethod for the determination of conjugated and total bilirubin in serum or plasma. *Microchem. J*, 15, 231-243.
249. Wang, B., Lien, Y., Chun-Li, S., Chien-Ping, W., 2006. Fractionation using supercritical CO₂ influences the antioxidant and hepatoprotective activity of propolis against liver damage induced by tert-butyl hydroperoxide. *International Journal of Food Science and Technology*, 41, 68-75.
250. Wang, X., Stocco, D.M., 2005. *Mol. Cell. Endocrinol*, 238, 1.
251. Weenen, H., Van Maanen, J.M.S., De Planque, M.M., Mcvie, J., Pinedo, H., 1984. Metabolism of 4'-modified analogs of doxorubicin. Unique glucuronidation pathway for 4'-epidoxorubicin. *European journal of cancer & clinical oncology*. 919 ,20-26.
252. Wenger, C., 1984. In: Kaplan LA and Pesce AJ. Eds. *Clinical Chemistry: Theory, Analysis and Correlation*. St Louis. Toronto. Princeton: The C. V. Mosby Company, 1094-8.
253. Whelton, P.K., 1994. Epidemiology of hypertension. *Lancet* 344, 101-106.
254. Who World Health Organisation., 2010. *Grades de toxicité des anticancéreux, Organisation Mondiale de la Santé*.
255. Wiecek, S.J., Wu, A.H., Christenson, R., 2002. A rapid B- type natriuretic peptide assay accurately diagnoses left ventricular dysfunction and heart failure: a multicenter evaluation. *Am. Heart. J*, 144, 834– 839.
256. Wijayahadi, N., Haron, M.R., Stanslas, J., Yusuf, Z., 2007. Changes in cellular immunity during chemotherapy for primary breast cancer with anthracycline regimens. *J. Chemother*, 19, 716–723.
257. World Health Organization, 2010. *Control of the leishmaniases. World Health Organ Tech Rep Ser 949:186*.
258. Wu, J., Xu, L., Sun, C., Zhang, B., Li, J., Sun, J., 2017. Paeonol alleviates epirubicin-induced renal injury in mice by regulating Nrf2 and NF-κB pathways. *European Journal of Pharmacology*, 795, 84-93.
259. Wu, J., Xue, X., Zhang, B., Jiang, W., Cao, Hongmei., Rongmei, W., Deqing, S., Ruichen, G ., 2016. The protective effects of paeonol against epirubicin-induced hepatotoxicity in 4T1-tumor bearing mice via inhibition of the PI3K/Akt/NF-κB pathway. *Chemico-Biological Interactions*, 244, 1-8.

(Y)

260. Yagi, K., 1976. A simple fluorometric assay for lipoperoxide in blood plasma. *Biochemical Medicine*, 15, 212-216.
261. Yagmurca, M., Erdogan, H., Iraz, M., Songur, A., Ucar, M., and Fadillioglu, E., 2004. Caffeic acid phenethyl ester as a protective agent against doxorubicin nephrotoxicity in rats,” *Clinica Chimica Acta*, vol. 348, no. 1(2), 27–34.

262. Yajing, L., Minli, C., Hongzhuan, X., Fuliang, H., 2012. Effects of Encapsulated Propolis on Blood Glycemic Control, Lipid Metabolism, and Insulin Resistance in Type 2 Diabetes Mellitus Rats. Hindawi Publishing Corporation Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine Volume, Article ID 981896, 8.
263. Yu, D., Hongxiang, L., 2008. Catechin and proanthocyanidin B4 from grape seeds prevent doxorubicin-induced toxicity in cardiomyocytes. *European Journal of Pharmacology*, 591,96-101.
264. Yuhan, T., Gao, C., Xing, M., Li, Y., Zhu, L., Wang, D., Yang, X., Liu, L., Yao, P., 2012. Quercetin prevents ethanol-induced dyslipidemia and mitochondrial oxidative damage. *Food. Chem. Toxicol*, 50, 1194–200.
265. Yumnam, R., Nandan, N., Kumar, N., Raj, A., 2017. Mannefalli Effect of propolis in oral health *J. Ayurveda Integr. Med. Sci*, 2, 186-192.

(Z)

266. Zabaïou, N., Fouache, A., Trousson, A., Baron, S., Zellagui, A., Lahouel, M., Lobaccaro, J. M.A., 2017. Biological properties of propolis extracts: something new from an ancient product. *Chem. Phys. Lipids*.
267. Zheng, Y.Z., Deng, G., Liang, Q., Chen, D.F., Guo, R., Lai, R.C., 2017. Antioxidant activity of quercetin and its glucosides from propolis: a theoretical study. *Sci. Rep*, 7.

Annexe

1. Préparation du PBS

1 L de PBS contient :

- 800 mL d'eau distillée
- 8 g NaCl
- 0.2 g KCl
- 1.44 g Na₂HPO₄
- 0.24 g KH₂PO₄

Après le mélange des ingrédients la solution est conservée à 4°C

2. Préparation du tampon d'isolation des mitochondries

Pour un litre de tampon on a mesuré :

- 85.6 g de saccharose
- 2.4 g Tris HCl
- 380 mg EDTA
- 0.5% BSA (bovin serum albumine)
- 900 mL d'eau bidistillée
- Ajustement du pH à 7.4

Liste des communications

- Rima Farah Aouad, **Sara Chaa**, Yasmina Mokhtaria Boufadi, Djallal Eddine Adli, Miloud Slimani & Ali Riazi (2018). Activité anti-oxydante de l'extrait phénolique de *Salvia officinalis*. VI^{ème} Congrès International de Biotechnologie et Valorisation des Bio-ressources. 20-23 Mars 2018, Tabarka- Tunisie.
- **Sara Chaa**, Yasmina Mokhtaria Boufadi, Hayat Amina Benchaib & Ali Riazi (2018). L'effet des polyphénols de la propolis de Tizgirt sur la cardiotoxicité induite par l'épirubicine chez les rats Wistar. VI^{ème} Congrès International de Biotechnologie et Valorisation des Bio-ressources. 20-23 Mars 2018, Tabarka- Tunisie.
- Yasmina Mokhtaria Boufadi, **Sara Chaa**, Fatima Zohra Boufadi & Ali Riazi (2018). L'effet protecteur des polyphénols de *Salvia officinalis* sur l'inflammation induite par carragénine chez les rats Wistar. Les 4^{èmes} journées scientifiques internationales de l'ISBM. 13-18 Février 2018, Monastir- Tunisie.
- Yasmina Mokhtaria Boufadi, **Sara Chaa**, Amel Touil, Fatiha Tabet & Ali Riazi (2017). La propolis et ses vertus thérapeutiques. 2^{ème} Journée d'étude - Apiculture et Valorisation des Produits de la Ruche (AVPR-2). Mostaganem le 21 Mai 2017.
- **Sara Chaa**, Yasmina Mokhtaria Boufadi & Ali Riazi (2017). Activité anti inflammatoire et anti oxydante des polyphénols de *Salvia officinalis* chez les rats wistar. 3^{ème} Congrès International de la Société Algérienne de Nutrition (SAN), université Frères Mentouri Constantine 1, du 28 au 30 novembre 2017, Constantine, Algérie.
- **Sara Chaa**, Yasmina Mokhtaria Boufadi, Hayet Amina Benchaib & Ali Riazi (2017). L'effet des polyphénols de la propolis de Tizgirt sur l'hépatotoxicité induite par l'épirubicine chez les rats Wistar. Le 1^{ier} séminaire national sur les applications des Science de la Nature et de la Vie : Relations avec le monde productif, université de Bejaia, du 27 au 28 Septembre 2017, Bejaia, Algérie.
- **Sara Chaa**, Yasmina Mokhtaria Boufadi, Hayet Amina Benchaib & Ali Riazi (2018). L'effet des polyphénols de la propolis de Tizgirt sur la néphrotoxicité induite par l'épirubicine chez les rats Wistar. First International Conference on Apiculture, Hive products and sustainable Developement, université de Mostaganem, du 25 au 27 Novembre 2018, Mostaganem, Algérie.