

Université Abdelhamid Ibn
Badis-Mostaganem
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

N°...../SNV/2017

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

❖ *Amina Doubbi bounoua*

❖ *kheira Aibout*

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN BIOLOGIE

Spécialité: NUTRITION ET SANTÉ

THÈME

*Effets protecteurs des polyphénols de la
propolis sur l'hépto-cardio et
néphrotoxicité chez les rats Wistar.*

Soutenu publiquement le 22/05/2017

DEVANT LE JURY

Présidente	S. Keddari	MCA U. Mostaganem
Encadreur	M.Y. Boufadi	MCA U. Mostaganem
Co-encadreur	S. Chaa	Doct. U. Mostaganem
Examineurs	A. Chaalel	MCB U. Mostaganem
	A.H. Benchaib	Médecin H. Mostaganem

Thème réalisé au Laboratoire de LMBAFS

Remerciements

Deux sentiments nous animent au moment où nous bouclions ce travail : celui d'un soulagement d'avoir pu le conduire à son terme mais aussi le souvenir qu'il est le produit d'un engagement collectif où les uns et les autres ont apporté leurs touches de nature diverse et d'ampleur variable. Un devoir s'impose à nous de leur en être reconnaissantes.

Mes remerciements à notre Professeur, Ali Riazi responsable du master en Nutrition et Santé, et directeur du laboratoire des microorganismes bénéfiques, des aliments fonctionnels et de la santé (LMBAFS). Merci d'avoir accepté de nous accueillir dans votre laboratoire.

On remercie également notre encadreur, Dr Yasmina Boufadi, Maître de Conférences « A » à l'université de Mostaganem, aujourd'hui même si des lacunes demeurent, nous devons dire que nous avons avancé et cela grâce à votre dévouement. Intellectuellement nous avons appris à vos côtés. Nous avons aussi appris à aborder les questions autrement grâce à votre encadrement. Merci pour votre dévouement, votre réactivité et votre patience ; Merci infiniment pour tout.

On remercie aussi M^{elle} Sara Chaa de nous avoir co-encadrés, pour sa disponibilité et pour ses conseils.

Nous exprimons particulièrement notre profonde gratitude à Dr Soumia Keddari, Maître de Conférences « A » à l'université de Mostaganem, d'avoir accepté de présider le jury et de nous avoir toujours appris la nécessité du progrès.

J'exprime ma gratitude à Dr Abdelmalek Chaalel, Maître de Conférences « B » à l'université de Mostaganem et Dr Amina Benchaib, médecin spécialiste à l'hôpital de Mostaganem d'avoir aimablement accepté d'apporter ses critiques à ce travail.

Nos remerciements aussi à tous nos enseignants du département biologie.

Table des matières

Remerciement

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Résumé

Abstract

Introduction 1

Chapitre I: les anthracyclines 3

I.1. Définition 3

I.2. Pharmacologie des anthracyclines 3

I.2.1. Structure moléculaire 3

I.2.2. Absorption et élimination 4

I.3. Les principales anthracyclines utilisées en clinique 4

I.3.1. l'épirubicine 5

I.3.1.1. Structure de l'épirubicine 5

I.3.1.2. propriétés physico chimiques 5

I.3.1.3. Propriétés pharmacologiques 5

I.3.1.4. Données pharmaceutiques 6

I.4. Toxicité des anthracyclines (épirubicine) 6

I.4.1. Intercalation du médicament au niveau de l'ADN 6

I.4.2. Inhibition de l'enzyme topoisomérase II 7

I.4.3. Induction d'un stress oxydatif 8

I.4.4. Hypothèse des métabolites toxiques issus du métabolisme des anthracyclines 10

I.4.5. Hypothèse liée au niveau de l'apoptose cellulaire induite par les anthracyclines 10

I.5. Cardio, hépato et néphrotoxicité des anthracyclines 11

I.5.1. Cardiotoxicité des anthracyclines 11

I.5.1.1. Les différents grades de la toxicité cardiaque	12
I.5.1.2. Les types de la cardiotoxicité des anthracyclines	12
I.5.2. Néphrotoxicité des anthracyclines	13
I.5.2.1. Les différents grades de la néphrotoxicité	13
I.5.2.2. Les différents types de la néphrotoxicité	13
I.5.3 L'hépatotoxicité des anthracyclines	14
I.5.3.2. Les différents grades de l'hépatotoxicité	14
I.5.3.3. Les différents types de l'hépatotoxicité	14
I.6. Prévention de la toxicité des anthracyclines	15
<u>Chapitre II:</u> la propolis et ses propriétés thérapeutiques	16
II.1. Historique	16
II.2. Définition de la propolis	16
II.3. Récolte de la propolis	17
II.3.1. Récolte de la propolis par les abeilles	17
II.3.2. Récolte de la propolis par l'Homme	18
II.4. Origine botanique	19
II.4.1. Origine de la propolis algérienne	20
II.5. Propriétés physico-chimiques de la propolis	20
II.5.1. Propriétés physiques	20
II.5.1.1. Consistance	20
II.5.1.2. Couleur	20
II.5.1.3. Saveur	21
II.5.1.4. Odeur	21
II.5.2. Propriétés chimiques	21
II.5.2.1. Solubilité	21
II.5.2.2. Point de fusion	21

II.5.2.3. Densité	21
II.6. Composition analytique	22
II.7. Conservation de la propolis	23
II.8. Propriétés thérapeutiques de la propolis	24
II.8.1. Activité anti-oxydante	24
II.8.2. Activité anti-inflammatoire	24
II.8.3. Activité immunomodulatrice	24
II.8.4. Activité anticancéreuse	24
II.8.5. Activité antibactérienne	25
II.8.6. Activité antivirale	25
II.8.7. Activité antifongique et antimycosique	25
II.8.8. Activité antiparasitaire	25
II.8.9. Activité antiallergique	25
II.8.10. Activité analgésique-anesthésiante	26
II.8.11. Activité cicatrisante et régénératrice	26
<u>Chapitre III:</u> Matériels et méthodes	27
III.1. Matériel végétal (propolis)	27
III.2. Préparation de l'extrait de la propolis	27
III.3. Matériel chimique (épirubicine)	28
III.4. Matériel animal	29
III.5. Traitement des rats	30
III.6. Sacrifices des animaux	31
III.8. Analyse des paramètres sériques	32
III.8.1. Taux de la glycémie	32
III.9. Dosage des paramètres biochimiques	32
III.9.1. Taux de l'aspartate aminotransférase(ASAT)	32
III.9.2. Taux de l'alanine aminotransférase (ALAT)	32

III.9.3. Taux de la phosphatase alcaline (PAL)	33
III.9.4. Taux de l'urée	33
III.9.5. Taux de la créatinine	34
III.9.6. Taux du lactate déshydrogénase (LDH)	34
III.9.7. Taux de la CK mb	35
III.9.8. Taux de la troponine totale	35
III.10. Détermination du statut antioxydant	35
III.10.1. Taux de l'activité enzymatique du superoxydedismutase (SOD)	36
III.10.2. Taux de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx)	36
III.10.3. Taux Peroxydation lipidique (malonadéhyde MDA)	36
<u>Chapitre IV:</u> Résultats et discussions	37
IV.1. Observations cliniques	37
IV.2. Effet de l'épirubicine sur le poids corporel et l'action protectrice de l'extrait de la propolis	38
IV.3. Effet de l'épirubicine sur la glycémie et l'action protectrice de l'extrait de la propolis.	39
IV.4. Effet de l'épirubicine sur la fonction hépatique et l'action hépatoprotectrice de l'extrait de la propolis	40
IV.4.1. Taux de la phosphatase alcaline (PAL)	40
IV.4.2. Taux de l'aspartate aminotransférase (ASAT)	40
IV.4.3. Taux de l'alanine aminotransférase (ALAT)	42
IV.4.4. Taux du gamma glutamyl transférase (γ -GT)	42
IV.5. Effet de l'épirubicine sur la fonction rénale et l'action protectrice de l'extrait de la propolis	44
IV.5.1. Taux de l'urée	44
IV.5.2. Taux de la créatinine	45
IV.6. Effet de l'épirubicine sur la fonction cardiaque et l'action cardioprotectrice de l'extrait de la propolis	47

IV.6.1. Taux de la CKmb	47
IV.6.2. Taux de la troponine totale	47
IV.6.3. Taux de la LDH	48
IV.7. Evaluation du statut oxydant	50
IV.7.1. Taux de glutathion peroxydase (GSH-Px)	50
IV.7.2. Taux de l'activité enzymatique du superoxydedismutase (SOD)	51
IV.7.3. Taux Peroxydation lipidique (malonadéhyde MDA)	52
Conclusion	54
Références bibliographiques	56

Liste des abréviations

ADN: acide désoxyribonucléique

ALAT: alanine aminotransférase

ARN : acide ribonucléique

ASAT: aspartate aminotransférase

CAPE : acide caféique (caffeic acid phenetyl ester)

EPP: extrait éthanoïque de la propolis

eNOS : oxyde nitrique synthase endothéliale

Fe³⁺ : Ferrique

GSH-PX : glutathion peroxydase

H₂O₂ : peroxyde d'hydrogène

LDH: lactate déshydrogénase

MDA : malonaldéhyde

NADPH : nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

NO: oxyde nitrique

O₂ : dioxygène

OH: hydroxyde

ONOO⁻ : peroxyinitrites

PAL: phosphatase alcaline

RL: radicaux libres

ROS: espèces réactives de l'oxygène

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

SOD: superoxyde dismutase

Liste des figures

Figure 1	La structure des anthracyclines	3
Figure 2	La structure moléculaire des anthracyclines utilisées en clinique	4
Figure 3	structure de l'épirubicine	5
Figure 4	Intercalation des anthracyclines dans la molécule d'ADN	7
Figure 5	Action des anthracyclines par l'intermédiaire de la topoisomérase II dans la molécule d'ADN	7
Figure 6	Production de RL par réaction enzymatique d'oxydoréduction et formation de peroxy-nitrites (ONOO ⁻)	8
Figure 7	l'apoptose cellulaire induite par les anthracyclines	10
Figure 8	La cardiotoxicité des anthracyclines	11
Figure 9	Récolte de la propolis	17
Figure 10	Butineuses de propolis dans la ruche	17
Figure 11	La propolis sur cadres en bois	18
Figure 12	Propolis grattée des cadres	18
Figure 13	Propolis pure	18
Figure 14	Différentes couleurs de propolis selon l'origine de flore naturelle	20
Figure 15	propolis brute	27
Figure 16	la propolis brute en petit morceaux	28
Figure 17	l'extrait de la propolis	28
Figure 18	l'épirubicine	29
Figure 19	Des rats Wistar dans leurs cages	30
Figure 20	gavage d'un rat par la propolis	31
Figure 21	gavage d'un rat par la quercétine	31
Figure 22	l'injection d'épirubicine	31
Figure 23	l'effet toxique de l'épirubicine sur le comportement des animaux	38
Figure 24	le poids(g) chez les rats traités ou/non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tigzirt (EAP), de quercétine et 9mg/kg d'épirubicine	39

Figure 25	Variation de la 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 9mg/kg d'épirubicine	40
Figure 26	Variation de la PAL (UI/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizgirt (EAP), de quercétine et 9mg/kg d'épirubicine	41
Figure 27	Variation de l'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 9mg/kg d'épirubicine	41
Figure 28	Variation de l'ALAT (UI/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizgirt (EAP), de quercétine et 9mg/kg d'épirubicine	42
Figure 29	Variation du gamma glutamyl transférase (UI/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizgirt (EAP), de quercétine et 9 mg/kg d'épirubicine	43
Figure 30	Variation 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 9mg/kg d'épirubicine	45
Figure 31	Variation 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 9mg/kg d'épirubicine	46
Figure 32	Variation de la CK mb (UI/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizgirt (EAP), de quercétine et 9mg/kg d'épirubicine	47
Figure 33	Variation de la Troponine T $\mu\text{g/L}$ chez les rats traités ou/non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizgirt (EAP), de quercétine et 9mg/kg d'épirubicine	48
Figure 34	Variation de la LDH (UI/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizgirt (EAP), de quercétine et 9mg/kg d'épirubicine	48
Figure 35	Variation de glutathion hépatique (GSH) chez les rats traités ou/non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizgirt (EAP), de quercétine et 9mg/kg d'épirubicine	50

Figure 36	Variation de l'activité enzymatique du superoxyde dismutase (SOD) chez les rats traités ou/non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tigzirt (EAP), de quercétine et 9mg/kg d'épirubicine	51
Figure 37	Variation de la Peroxydation lipidique (malonadéhyde MDA) chez les rats traités ou/non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tigzirt (EAP), de quercétine et 9mg/kg d'épirubicine	52

Liste des tableaux

Tableau 1	Différents grades de la cardiotoxicité	12
Tableau 2	Différents grades de la toxicité rénale	13
Tableau 3	Différents grades de la toxicité hépatique	14
Tableau 4	origine botanique de la propolis	19
Tableau 5	Composition chimique de la propolis brute	22
Tableau 6	Composition chimique de la propolis pure	22
Tableau 7	récapitulatif des propriétés thérapeutiques de la propolis	26
Tableau 8	l'ensemble des troubles enregistrés au cours de cette expérience chez les rats traités ou/non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tigzirt (EAP), de quercétine et 9mg/kg d'épirubicine	37

Résumé

L'objectif de la présente étude est la mise en évidence de l'effet protecteur de l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis (EAP) de Tizirt sur certains paramètres de statut antioxydant et les marqueurs de l'hépto, néphro et cardiotoxicité induite par l'épirubicine (EPI). Un total de 25 rats mâles Wistar (de poids moyen entre 100 et 150 g), ces animaux ont été divisés en 5 lots et recevant de l'EAP ou la quercétine (comme flavonoïde standard) avant et après l'induction de la toxicité par l'épirubicine (9 mg/kg) en injection intraveineuse (*i.v*). En fin d'expérience, les prélèvements sanguins ont été effectués par ponction cardiaque. Les résultats révèlent que l'épirubicine a provoqué une altération métabolique avec une augmentation des taux sériques des paramètres biochimiques et l'activité enzymatique (urée, créatinine, ASAT, ALAT, PAL, γ GT, LDH, CKmb, Troponine T). Tandis que l'administration de la propolis a restauré la fonction cardiaque, rénale et hépatique. L'effet des polyphénols de l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizirt sur le stress oxydatif apparaît chez les rats traités par la dose de 200 mg/kg/j où il y a une baisse de malondialdéhyde MDA et une augmentation du superoxyde dismutase SOD et glutathion peroxydase GSH-Px. Nos résultats suggèrent que la propolis peut réduire la toxicité induite par l'épirubicine.

Mots clés : Propolis, épirubicine, cardiotoxicité, hépatotoxicité, néphrotoxicité, stress oxydatif.

Abstract

The objective of this study is to demonstrate the protective effect of Tigzirt's propolis (EAP) ethyl acetate extract on certain antioxidant status parameters and markers of hepatocellular nephrotic And epirubicin induced cardiotoxicity (EPI). A total of 25 male Wistar rats (mean weight between 100 and 150 g) were divided into 5 batches receiving EAP or quercetin (as standard flavonoids) before and after induction of toxicity by Epirubicin (9 mg / kg) by intravenous injection (iv). At the end of the experiment, blood samples were taken by cardiac puncture. The results show that epirubicin induced metabolic alteration with increased serum levels of biochemical parameters and enzymatic activity (urea, creatinine, ASAT, ALAT, PAL, γ GT, LDH, CKmb, Troponin T). While administration of propolis restored cardiac, renal and hepatic function. The effect of polyphenols of ethyl acetate extract of Tigzirt propolis on oxidative stress appeared in rats treated with 200 mg / kg / d dose where there was a decrease in MDA malondialdehyde and a Increase in superoxide dismutase SOD and glutathione peroxidase GSH-Px. Our results suggest that propolis may reduce the toxicity induced by epirubicin.

Keywords: propolis, epirubicin, cardiotoxicity, hepatotoxicity, nephrotoxicity, oxidative stress.

Introduction

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, hépatiques et néphrotiques.

Plusieurs hypothèses ont été suggérées concernant les mécanismes de la toxicité induite par les anthracyclines. Il a été reporté que les radicaux libres de l'oxygène (RLO) et la peroxydation lipidique jouent un rôle essentiel dans la cardiomyopathie provoquée par l'épirubicine (SingaletIliskovic, 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; Stërba *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 le cœur des effets toxiques des anthracyclines. Ainsi, la recherche d'agents protecteurs constitue une voie d'exploration toujours ouverte.

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)

Ces dernières années de nombreux travaux se sont intéressés à la composition chimique et aux effets biologiques de cette substance. Ces 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), antivirale (Dimov et al., 1991 ; Murad et al 2002), anti-inflammatoire (Miyataka et al., 1997), anti-oxydante (Boufadi et al., 2014), anticancéreuse (Burdock, 1998), etc. Son efficacité une fois prouvée lui a valu un intérêt particulier par l'ensemble des chimistes, biochimistes, pharmacologues, etc. qui essaie d'identifier de nouveaux principes actifs susceptibles d'être utilisés en thérapeutique.

L'ensemble de ces données nous a encouragés à étudier le pouvoir protecteur de la propolis contre l'hépto, cardio et néphro-toxicité des anthracyclines en particulier l'épirubicine.

Chapitre I: Les anthracyclines

I.1. Définition

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

I.2. Pharmacologie des anthracyclines

I.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).

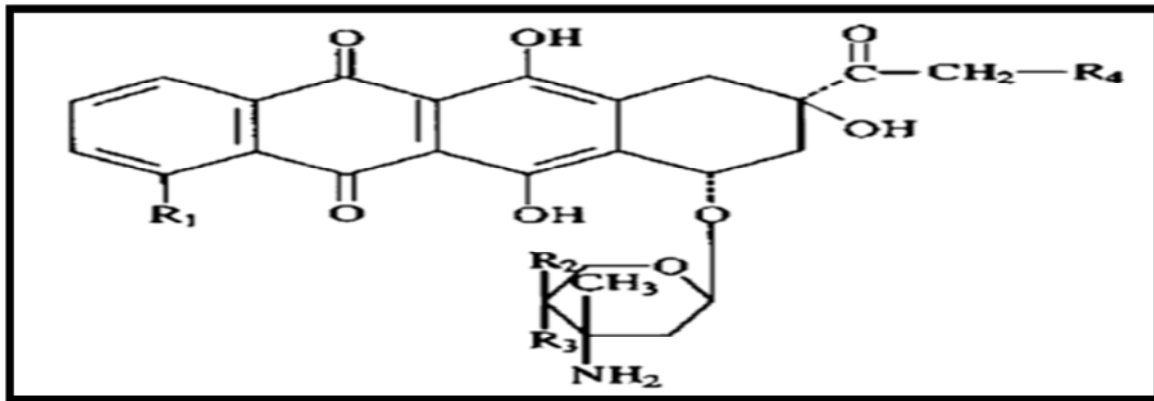


Figure 1: La structure des anthracyclines (Praet et al., 1990).

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 figure 2.

	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
Doxorubicin	—OCH ₃	—H	—OH	—OH
Daunorubicin	—OCH ₃	—H	—OH	—H
Epirubicin	—OCH ₃	—OH	—H	—OH
Idarubicin	—H	—H	—OH	—H

Figure 2: La structure moléculaire des anthracyclines utilisées en clinique (Praet et al., 1990).

I.2.2. 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%. 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. 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.3. Les principales anthracyclines utilisées en clinique

- Daunorubicine: Cérubidine®, Daunoxome®
- Doxorubicine =adriamycine: Adriablastine®
- Epirubicine : Farmorubicine®
- Idarubicine : Zavedos®
- Pirarubicine : Théprubicine® (Gille et Nohl, 1997).

I.3.1. L'épirubicine

I.3.1.1. 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.3). 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 (Medipha, 2013).

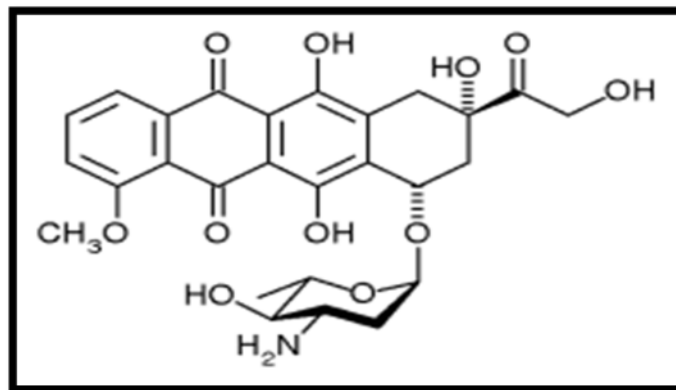


Figure 3: structure de l'épirubicine (Heron, 2010).

I.3.1.2. 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 (Medipha, 2013).

I.3.1.3. 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 (Medipha, 2013).

I.3.1.4. 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°C - 8°C).

Conserver le flacon dans l'emballage d'origine, à l'abri de la lumière.

Ne pas congeler ([Medipha, 2013](#)).

I.4. Toxicité des anthracyclines

I.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.4](#)) ([Jain et al., 2005](#)).

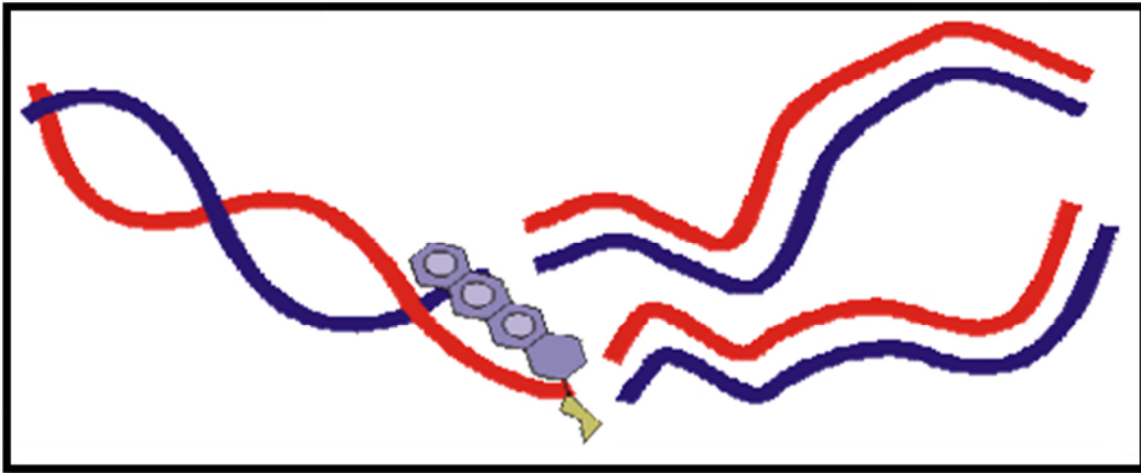


Figure 4: Intercalation des anthracyclines dans la molécule d'ADN (Miura *et al.*, 2000).

I.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. 5) (Maraldi *et al.*, 2002).

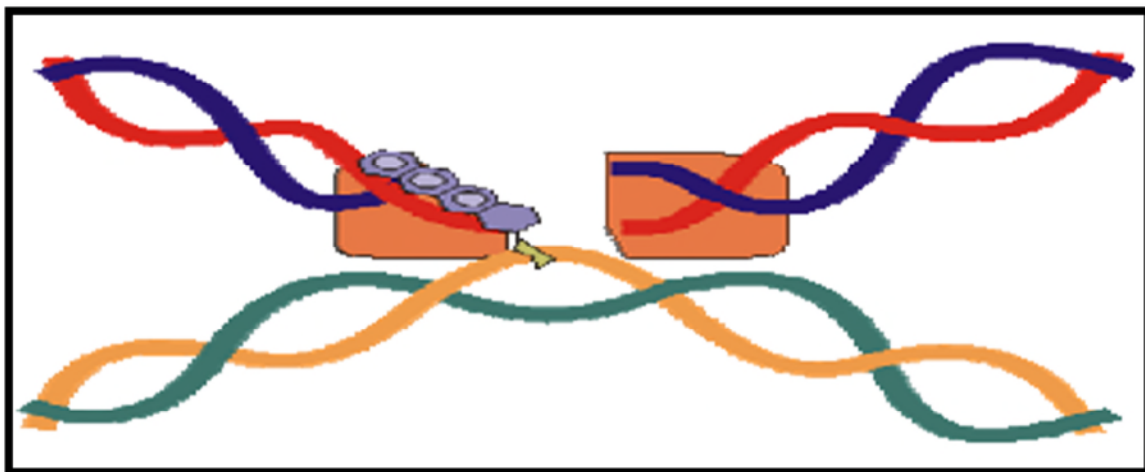


Figure 5: Action des anthracyclines par l'intermédiaire de la topoisomérase II dans la molécule d'ADN (Maraldi *et al.*, 2002).

I.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.6) (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).

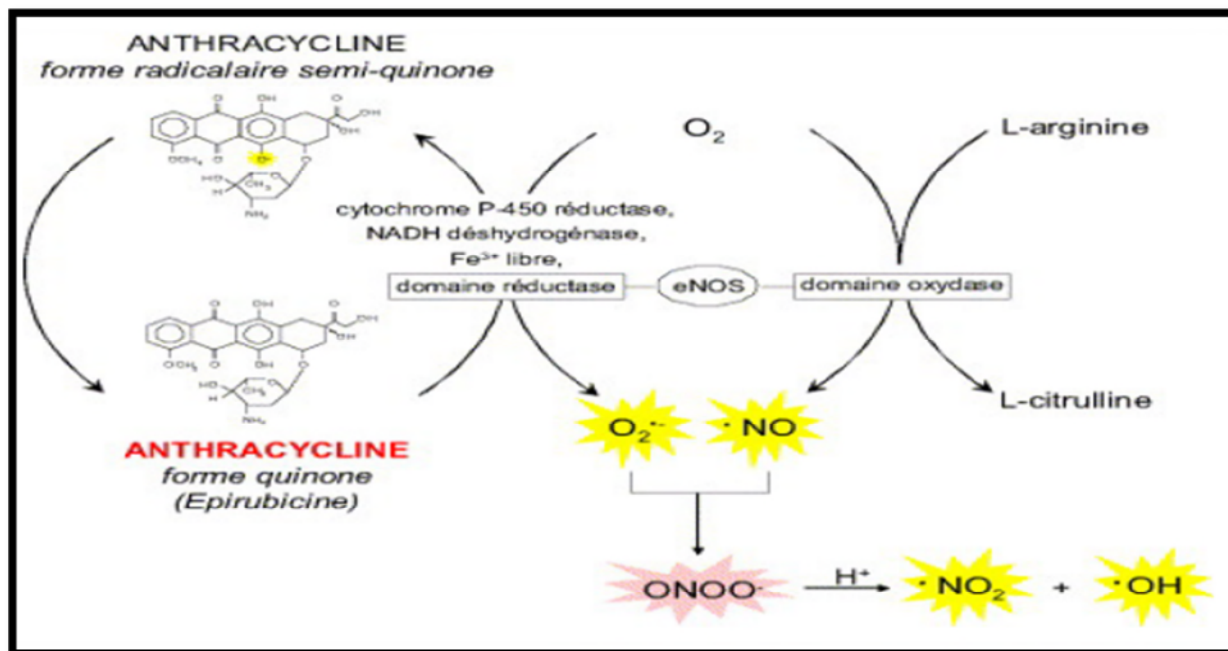


Figure6: Production de RL par réaction enzymatique d'oxydoréduction et formation de peroxynitrites ($ONOO^{\cdot-}$) (Lanzarini et al., 2000).

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'anthracyclines pour former un complexe stable : $Fe^{3+} - (\text{anthracyclines})$. Ce complexe peut subir une oxydoréduction, donnant naissance à un complexe radicalaire $Fe^{2+} - (\text{anthracyclines})$ 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 (H_2O_2). L' H_2O_2 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' O_2 moléculaire, peut conduire à la formation d' $O_2^{\cdot-}$. Il a été démontré que la production concomitante de grandes quantités d' $O_2^{\cdot-}$ et de NO pouvait induire la formation de peroxynitrite ($ONOO^-$), qui pouvait lui-même générer le radical OH^{\cdot} 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 Ca^{2+} disponible au niveau des myofibrilles. De plus, le stress oxydatif associé peut induire directement des lésions mitochondriales avec une apoptose. La formation de $ONOO^-$, au sein des cellules, pourrait également jouer un rôle important dans la toxicité des anthracyclines (Kakinuma et al., 2006)

I.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) Ca^{2+} 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.4.5. Hypothèse liée au niveau de l'apoptose cellulaire induite par les anthracyclines

Parmi les nombreuses hypothèses qui ont été évoquées comme mécanismes impliqués dans le développement de la toxicité, quelle que soit son origine physiopathologique, le degré de mort cellulaire par apoptose occupe une place de choix (fig. 7) (Kakinuma *et al.*, 2006).

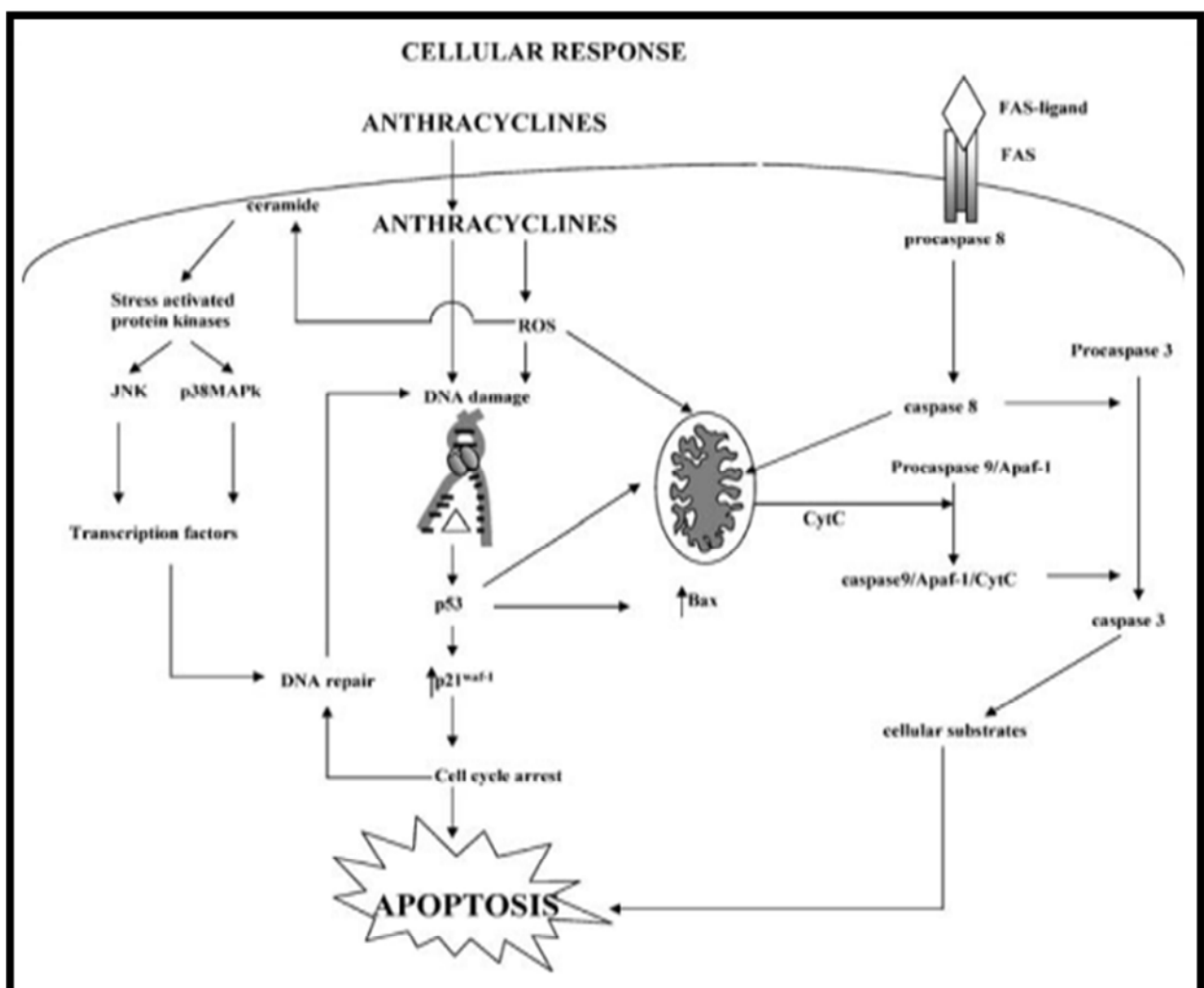


Figure 7: Théorie de métabolites toxiques des anthracyclines (Kakinuma *et al.*, 2006).

I.5. Cardio, hépto et néphrotoxicité des anthracyclines

I.5.1. Cardiotoxicité des anthracyclines

La toxicité cardiaque des anticancéreux est spécifique à certains médicaments (fig. 8). 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).

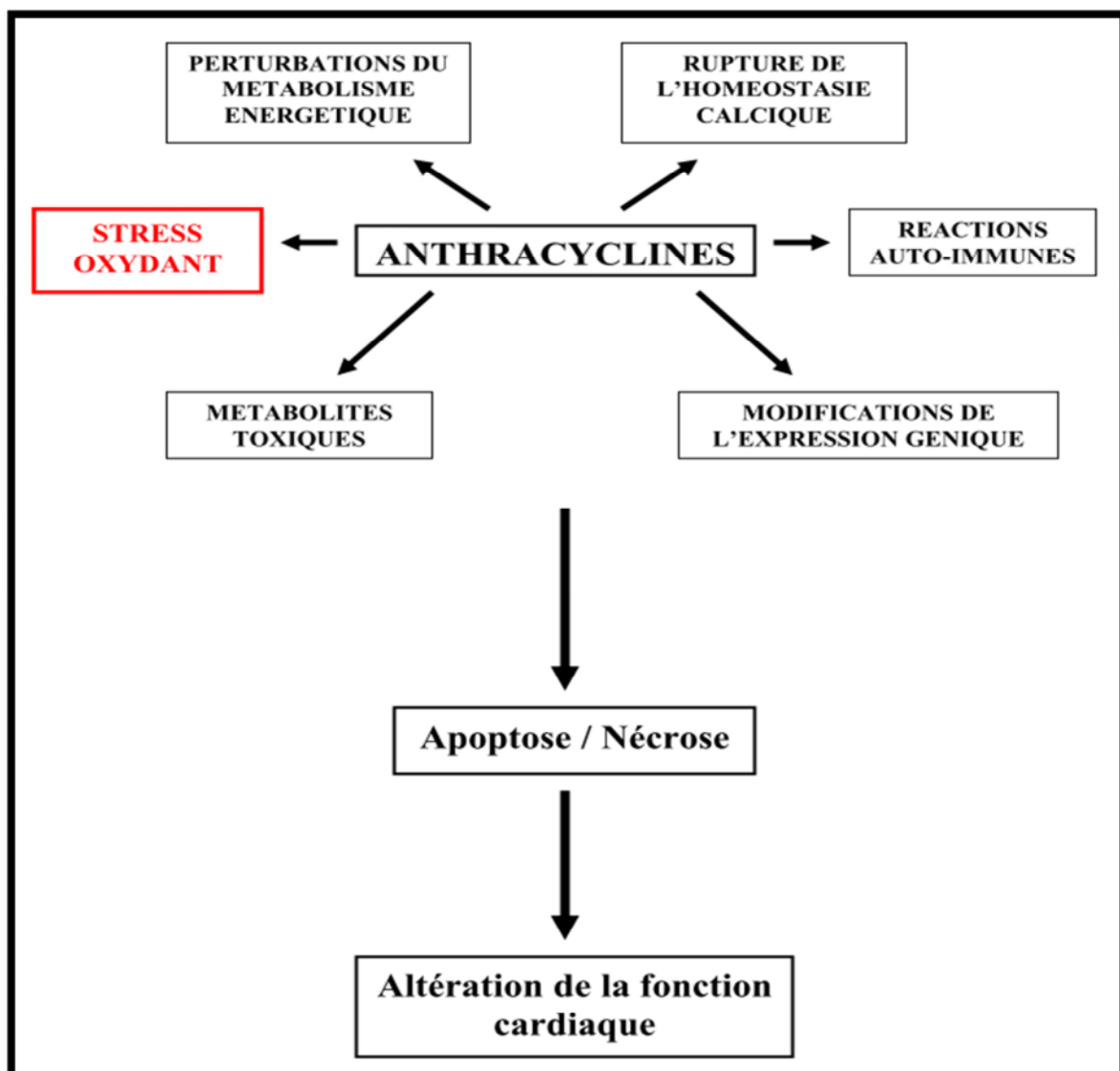


Figure 8: La cardiotoxicité des anthracyclines (Talabert *et al.*, 2013).

I.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 1) (Fondrinier et al., 2004).

Tableau 1: 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.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 gauche souvent sévère et l'apparition d'une insuffisance cardiaque congestive (Senkus et al., 2011).

I.5.2. Néphrotoxicité des 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.5.2.2. 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 2) (Deray et al., 2010).

Tableau 2: Différents grades de la toxicité rénale (l'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.5.2.3. 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.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.5.3.2. 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 3).

Tableau 3: Différents grades de la toxicité hépatique (l'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.5.3.3. Les différents types de l'hépatotoxicité

Toxicité aiguë

Stéatose, Cholestase, Nécrose hépatique (cytolysse 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.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).

✚ 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).

✚ 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).

✚ 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).

Chapitre II: La propolis et ses propriétés thérapeutiques.

II.1. Historique

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 (Golder, 2004).

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 salutaire 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).

II.2. Définition de la propolis

La propolis désigne toute une série de substances résineuses, gommeuses et balsamiques, de consistance visqueuse, 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).

II.3. Récolte de la propolis

II.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 (fig. 9). 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 (fig. 10). Une fois fabriquée, la propolis est transportée à la ruche dans les corbeilles situées dans les pattes postérieures de l'abeille (Donadieu, 1998).



Figure 9: 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 -300 gr par ruche par an (Donadieu, 1998).



Figure 10: Butineuses de propolis dans la ruche (Segueni, 2011).

II.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 "propoliser" (fig.11 et 12) (Donadieu, 1998).



Figure 11: La propolis sur cadres en bois



Figure 12: Propolis grattée des cadres (Segueni, 2011).

Après avoir récolté la propolis brute (fig.13) 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).

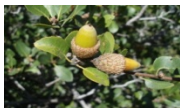








Figure 13: Propolis pure (Segueni, 2011).

II.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 4). 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).

Tableau 4: origine botanique de la propolis (Burdock, 1998).

photos	Nom français	Nom anglais	Familles	Provenance	Principales Propriétés
 QUERCUS	chêne	Oak	fagacées	Asie Afrique	-Anti-inflammatoire -Astringente -Analgésique -Hypoglycémiant
 POPULUS	Peuplier	Poplar	Salicacées	Afrique du nord Moyen-Orient Europe	-Diurétique -Facilite l'urico-élimination -Fluidifiant -Antiseptique+++
 BETULA ALBA	Bouleau blanc	Birch	Bétulacées	Europe du nord Amérique canada	-Diurétique -Facilite l'urico-élimination -Cicatrisante
 ULMUS	Orme	Elm	Ulmacées	Amérique Europe Chine	-Anti-inflammatoire -Antifongique -Anti-diarrhéique -Astringente
 PINUS	Pin	Pine	Pinacées	Amérique du nord Europe du nord Russie	-Mucolytique -Cicatrisante -Astringente -Antiseptique
 AESCULUS HIPPOCASTANUM	Marronnier D'inde	Horse chestnut	Hippocastanacées	Europe Turquie Balkans	-Antihémorragique -Astringente -Vasoconstricteur
 FRAXINUS	Frêne	Ash	Oléacées	Europe du sud Afrique du nord	-Antiarthritique -Antalgique -Diurétique

II.4.1. Origine de la propolis algérienne

Selon la flore botanique disponible en Algérie, on peut déduire que notre propolis est d'origine soit du pin (*Pinus sp.*) qui occupe les zones semi arides, le chêne (*chêne-liège* et *chêne zeen*) qu'on trouve au nord-est du pays, châtaignier, cyprès (*Cupressus sp.*), casuarina, et le peuplier (*Populus sp.*) (Moudir, 2004).

II.5. Propriétés physico-chimiques de la propolis

II.5.1. Propriétés physiques

II.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 (Donadieu, 2008).

II.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) (Donadieu, 2008).



Figure 14: Différentes couleurs de propolis selon l'origine de flore naturelle (Donadieu, 2008).

II.5.1.3. Saveur

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

II.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).

II.5.2. Propriétés chimiques

II.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).

II.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).

II.5.2.3. Densité

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

II.6. Composition analytique

La composition de la propolis est variable selon la source végétale visitée par les abeilles (tableau 5). 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 5 et 6) (Agra *et al.*, 2006).

Tableau 5: Composition chimique de la propolis brute (Pietta *et al.*, 2002).

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 aminées 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 ; 14 traces de minéraux, silice et zinc sont les plus connus.	05%

Tableau 6: Composition chimique de la propolis pure (Boufadi *et al.*, 2014).

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).

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

II.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, 1998).

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.

II.8. Propriétés thérapeutiques de la propolis

II.8.1. Activité anti-oxydante

La quarantaine de flavonoïdes présents dans la propolis lui procurent une activité de « free radicals scavengers » (Nakajima *et al.*, 2009). 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'artépilline C, s'opposent à la peroxydation des lipides et préviennent les dommages des radicaux libres (Yang *et al.*, 2011).

Les constituants de la propolis (brésilienne et chinoise) 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.

II.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) et en supprimant la production de cytokines inflammatoire par les monocytes/macrophages (Ansorge *et al.*, 2003).

II.8.3. Activité immunomodulatrice

La propolis est considérée comme modulateur de la réponse biologique. 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).

II.8.4. Activité anticancéreuse

L'inhibition du processus tumoral serait 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). La propolis agit également en supprimant la formation de métastase, avant et après l'inoculation de carcinome mammaire et colique (Orsolíć *et al.*, 2003).

II.8.5. Activité antibactérienne

Le spectre antibactérien de la propolis est large. Son action est puissante, elle agit en effet sur *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *shigella dysenteria* et SARM (Boufadi *et al.*, 2016), les streptocoques, *Helicobacter pylori*, les microcoques (Farseni *et al.*, 2009), *Bacillus subtilis*, *Bacillus alvei*, *Bacillus larvae*, *Proteus vulgaris* (Donadieu, 2008), *Salmonella enterica* Typhi (Orsi *et al.*, 2011), *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Streptococcus faecalis* (Marcucci *et al.*, 2001). 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 (Bankova *et al.*, 1996).

II.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) et de la stomatite vésiculaire (Donadieu, 2008).

II.8.7. Activité antifongique et antimycosique

La propolis possède une action contre *Candida albicans*, *Trichophyton*, *Microsporium canis* et *Cryptococcus* (Apimondia, 2001). 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.

II.8.8. Activité antiparasitaire

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

II.8.9. Activité antiallergique

L'action antiallergique de la propolis vient en partie du fait de son activité anti-oxydante. 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).

II.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).

II.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 7).

Tableau 7: récapitulatif des propriétés thérapeutiques de la propolis (Apimondia, 2001).

Activités	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+acidephénolique+proline, arginine

Chapitre III : Matériels et méthodes

III.1. Matériel végétal (propolis)

Les échantillons de propolis ont été récoltés par une race d'abeilles (*Apis mellifica intermissa*), en Juin 2016 de la région de Tizirt (Tizi Ouzou).

La récolte de la propolis brute a été effectuée par la méthode des grilles (fig. 15), la propolis est stockée au congélateur à une température de -18°C.



Figure 15: Propolis brute.

III.2. Préparation de l'extrait de la 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. 16), à les broyer avant d'en extraire les principes actifs avec de l'éthanol (v/v) (dans les proportions propolis brute /solvant = 1/10 : p/v) dans un bain d'eau froide a 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. 17).

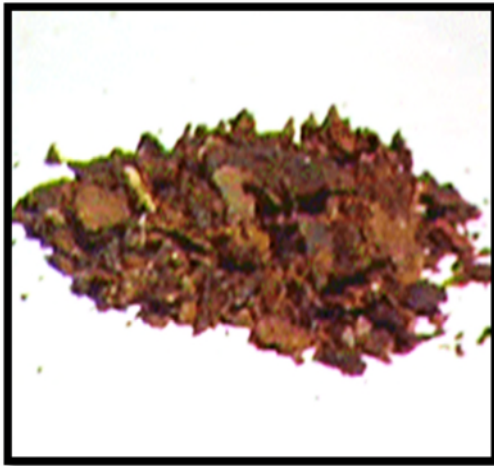


Figure 16 : La propolis brute en petit morceaux **Figure 17**: L'extrait de la propolis

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 noté EAP.

III.3. Matériel chimique (épirubicine)

L'épirubicine (chlorydrate d'épirubicine) est un antibiotique cytotoxique du groupe des anthracyclines qui a une activité antinéoplasique.

L'épirubicine que nous avons utilisé a été fabriqué par le laboratoire Thymoorgan Pharmazie GmbH, Allmagne, sous le nom pharmaceutique PIRUCIN (épirubicine hydrochloride), elle est sous forme d'une solution stérile d'une dose de 50mg/25 mL conditionnée dans une ampoule en verre (fig. 18).



Figure 18: l'épirubicine

III.4. Matériel animal

Vingt cinq rats mâles Wistar albinos pesant entre 100 et 150 g ont été utilisés dans la présente expérimentation. Les rats ont été fournis par l'institut Pasteur d'Algérie. Le protocole est conforme aux lignes directrices du National Institute of Health (NIH-USA).

Dés leur reception 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 une fois par jours. 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 (fig. 19).



Figure 19: Des rats Wistar dans leurs cages

III.5. Traitement des rats

Après la période d'adaptation, les rats ont été répartis au hasard en 5 groupes expérimentaux renfermant chacun 5 rats, ils ont été traités un jour avant, pendant et après l'injection d'une mono dose de 1 mL d'épirubicine à 9 mg/kg (Dobbs et al., 2003) (fig. 22), comme suit :

Groupe T: les rats reçoivent 1 mL d'eau physiologique par voie orale (témoin négatif).

Groupe 1: les rats reçoivent 1 mL d'eau physiologique.

Groupe 2: les rats reçoivent 100 mg/kg d'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tigzirt (EAP) (fig. 20).

Groupe 3 : les rats reçoivent 200 mg/kg d'EAP de Tigzirt (fig. 20).

Groupe 4: les rats reçoivent 50 mg/kg de quercétine (fig. 21).



Figure 20: gavage d'un rat par la propolis



Figure 21: gavage d'un rat par la quercétine

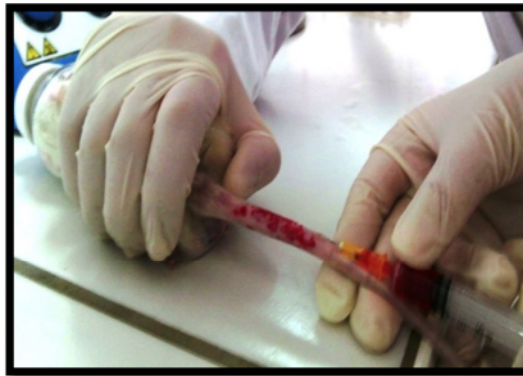


Figure 22: l'injection d'épirubicine

III.6. Sacrifices des animaux

A la fin de la période du traitement, les rats ont été mis sous le jeun pendant une nuit. 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 chimiques 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 héparines. Les érythrocytes restants sont lavés avec de l'eau physiologique trois fois de suite, puis sont lysés par addition de l'eau distillée glacée et incubés 15 min dans de la glace. Les débris cellulaires sont éliminés par centrifugation à 5000 t/min pendant 5 min, et le lysat est ensuite récupéré afin de doser les enzymes anti-oxydantes érythrocytaires.

III.8. Analyse des paramètres sériques

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

III.8.1. 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 REF 3L82-20 et un auto-analyseur de type (ARCHITECT c Systems).

III.9. Dosage des paramètres biochimiques

III.9.1. 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 Spinréact* (Espagne).

Principe: l'aspartate aminotransférase (ASAT) appelée aussi la glutamate-oxaloacétate transaminase (GOT) catalyse le transfert réversible d'un groupe aminé à partir de l'aspartate au α -cétoglutarate formant le glutamate et l'oxaloacétate. L'oxaloacétate est réduit au malate par la malate déshydrogénase (MDH) et le NADH+H (Murray, 1984).

L'activité catalytique de l'ASAT est calculée par la formule suivante :

$$\text{Activité de ASAT (U/L)} = \Delta A / \text{min} \times 1750$$

III.9.2. 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 Spinréact* (Espagne).

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 (Murray, 1984).

L'activité catalytique de l'ALAT est calculée par la formule suivante :

$$\text{Activité de ALAT (U/L)} = \Delta A / \text{min} \times 1750$$

III.9.3. Dosage de la phosphatase alcaline (PAL)

Les mesures de l'activité phosphatase alcaline sont utilisées pour le diagnostic, le traitement et la recherche des maladies hépatobiliaires et des maladies osseuses associées à une activité ostéoblastique. La phosphatase alcaline est aussi utilisée dans le diagnostic des maladies de la parathyroïde et de l'intestin.

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).

L'activité catalytique de la PAL est calculée par la formule suivante :

$$\text{Activité de PAL (U/L)} = \Delta A / \text{min} \times 3300$$

III.9.4. Dosage de l'urée

Le dosage de l'urée a été réalisé par la méthode enzymatique colorimétrique selon la fiche technique du *Kit biolabo* (France).

Principe : l'uréase hydrolyse l'urée en ammonium (NH₄) et dioxyde de carbone (CO₂). Les ions ammonium formés réagissent avec le salicylate et l'hypochlorite en présence du nitroprussiate, pour former un indophénol vert (Kaplan, 1984).

La concentration de l'urée est calculée par la formule suivante :

$$\text{Urée (mg/dl)} = \frac{(\text{A}) \text{ Echantillon}}{(\text{A}) \text{ Etalon}} \times 50 \text{ (Concentration du calibrateur)}$$

III.9.5. 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 : l'essai est basé sur la réaction de la créatinine avec le picrate de sodium comme décrit par Jaffé. La créatinine réagit avec le picrate alcalin formant un complexe rouge. L'intervalle de temps est choisi pour les mesures de telle sorte qu'il évite des interférences avec d'autres constituants de sérum.

L'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration en créatinine dans l'échantillon (Murray, 1984).

La concentration de la créatinine est calculée par la formule suivante :

$$\text{Créatinine (mg/dL)} = \frac{(\Delta A) \text{ Echantillon} - (\Delta A) \text{ Blanc}}{(\Delta A) \text{ Etalon} - (\Delta A) \text{ Blanc}} \times 2 \text{ (C du calibrateur)}$$

III.9.6. 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).

L'activité catalytique du lactate déshydrogénase est calculée par la formule suivante :

$$\text{Activité de LDH (U/L)} = \Delta A / \text{min} \times 9690$$

III.9.7. Dosage de la CK mb

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

Principe: le dosage de la CKMB par technique d'immuno-inhibition : se fait par séparation électro-phorétique sur gel d'agarose à haut voltage (900V) avec révélation enzymatique et quantification en fluorescence. Le résultat, rapide, est obtenu en 30 minutes.

Le dosage par Immuno-analyse, actuellement, c'est la méthode de choix pour le dosage de la CK-MB. C'est un dosage immunologique de type ELISA " sandwich " : Deux anticorps monoclonaux distincts sont dirigés contre deux épitopes différents de la sous-unité MB. Le premier Ac, dit de capture, est spécifique du monomère B tandis que le second Ac marqué (Ac de révélation) est spécifique du monomère M. L'intensité du signal émis par le marqueur est proportionnelle à la masse de CK-MB immobilisée. Les méthodes diffèrent par leur mode de révélation (Arenas *et al.*, 1988).

III.9.8. Dosage de la troponine totale

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

Principe : il y a deux méthodes pour déterminer le dosage de la troponine totale.

La première méthode utilisée un dosage ELISA avec 2 anticorps monoclonaux, l'anticorps de capture (M7) conjugué à la biotine et l'anticorps de révélation (1 B10) conjugué à une peroxydase. De plus, le dosage était réalisé en 90 minutes ce qui le rendait inapplicable dans le diagnostic d'urgence (Collinson, 1993).

La deuxième méthode utilisée 2 anticorps monoclonaux cardiospécifiques M7M et M11-7. Le dosage était réalisable en 45 minutes (Oschat, 1999).

III.10. Détermination du statut antioxydant

Préparation des érythrocytes

Les échantillons de sang ont été centrifugés à 3000 tr/min pendant 15 min. Le sérum a été soigneusement prélevé et le culot restant contenant les érythrocytes a été lavé trois fois par une solution saline à 0.9 g/l, puis une lyse des cellules a été effectuée par addition de l'eau distillée glacée et incubée pendant 15min dans la glace. Le lysat est récupéré ensuite pour le dosage des enzymes antioxydants érythrocytaires marqueurs du statut oxydant après centrifugation à 5000 tr/min pendant 5min (Hocine, 2011).

III.10.1. Dosage de l'activité enzymatique du superoxyde dismutase (SOD)

Le Superoxyde dismutase (SOD) au niveau des érythrocytes a été déterminé par la méthode décrite par [Winterbourn et al. \(1975\)](#).

Le mélange réactionnel contient essentiellement 0.2 ml Ethylene Diamine Tetra-acetic Acid (EDTA) à 0.1 M, 0.1 ml Nitroblue tetrazolium (NBT) 0 1.5 Mm, 1.2 ml de Tampon Potassium phosphate à 0.067 M, 0.5 de l'extrait enzymatique. Le mélange a été incubé 5-8 min. La lecture a été faite ensuite à 560 nm.

III.10.2. Dosage de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx)

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, 0.2 ml de glutathion, et 0.1 ml de peroxyde d'hydrogène. Ensuite, on incube le mélange à 37°C pendant 10min. 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%).

III.10.3. Dosage Peroxydation lipidique (malonadéhyde MDA)

Le dosage de la peroxydation lipidique a été réalisé sur le plasma selon le protocole de [Yagi et al. \(1997\)](#) qui consiste à mélanger 20ml de plasma à 0.8ml de H₂SO₄.

Après agitation, 100 µL de solution d'acide phosphotungstique (10 % : P/V) sont ajoutés, laissés 5 min dans l'obscurité puis centrifugés de nouveau 10 min à 1600 tours/min. le surnageant est éliminé et le culot re-suspendu dans 0.4 mL de H₂SO₄ additionnés de 60µL d'acide phosphotungstique puis centrifugés de nouveau 10 min à 1600 tours/min. le surnageant est éliminé et le culot résultant dissous dans 2 mL d'eau +50mL d'eau +50mL d'acide acétique 99%). Le mélange résultant a été chauffé au bain marie 95C° pendant 60 min. la solution a été refroidie et extraite par 2.5 mL de butanol. La fluorescence de la phase butanolique a été mesurée avec une longueur d'onde d'émission à 553 nm, 10nm étaient glissière avec la coupure à 515 nm. La quantité de la peroxydation lipidique a été exprimée en équivalent MDA à partir de plusieurs concentrations de la tétraméthoxypropane (TMP) Standard.

Chapitre IV : Résultats et discussions

IV.1. 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 (tableau 8).

Les rats du groupe témoin T et le groupe 3 (les rats traités par 200 mg/kg d'EAP), n'ont montré aucun signe de toxicité immédiat 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. 23).

Tableau 8: Les signes cliniques des rats au cours de l'expérience.

T : Témoin ; G1 : 9 mg/Kg d'épirubicine ; G2 : 100 mg/Kg/j d'EAP et 9 mg/kg d'épirubicine ; G3 : 200 mg/Kg/j d'EAP et 9 mg/kg d'épirubicine ; G4 : 50 mg/Kg/j de quercétine et 9 mg/Kg/j d'épirubicine.

Groupes	Signes
T	normal
G1	Somnolence, hypoactivité, isolement, redressement des poils, tachycardie, difficulté de respiration, perte d'équilibre.
G2	tachycardie, difficulté de respiration.
G3	normal
G4	tachycardie, difficulté de respiration, perte d'équilibre.

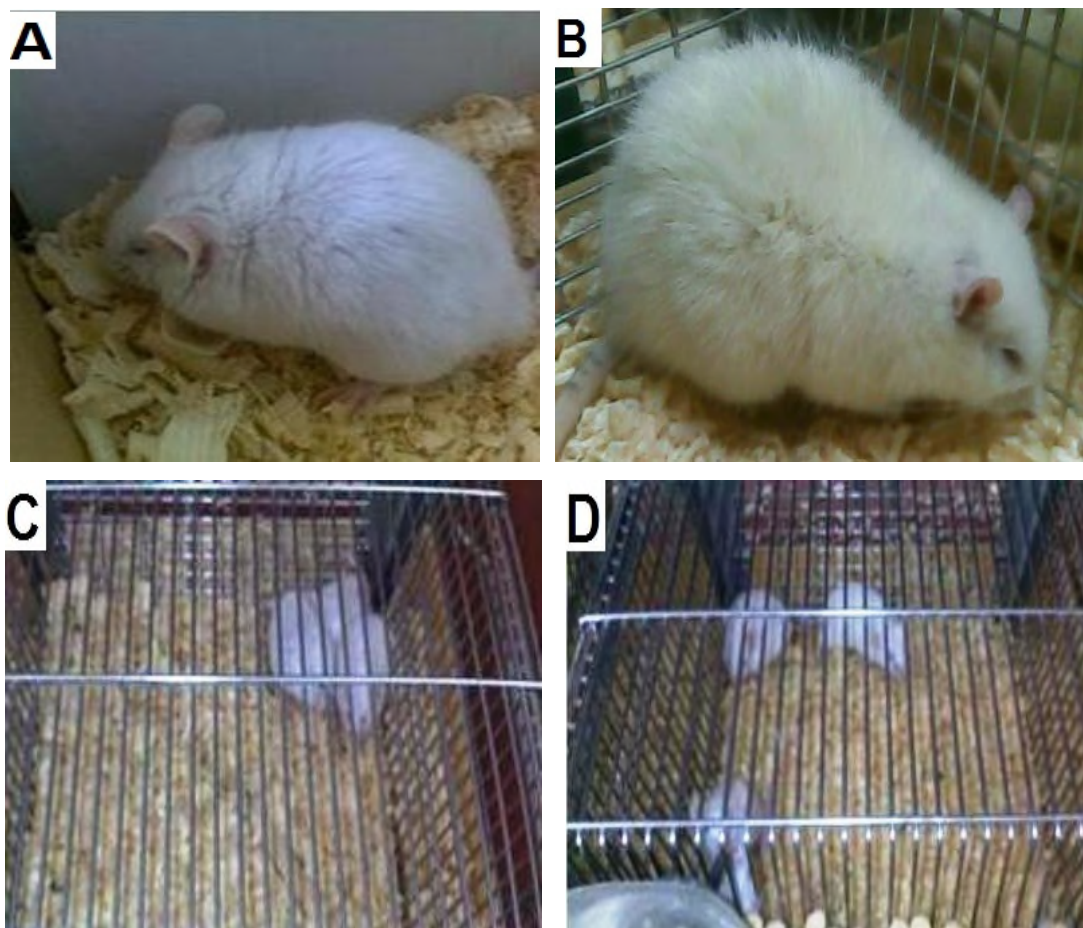


Figure 23: le comportement des animaux. **A** : somnolence, **B**: redressement des poils, **C** : hypoactivité des rats traités par l'épirubicine seul, **D** : activité des rats traités par la propolis.

IV.2. 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 [figure 24](#). Une évolution normale a été remarquée dans les groupes 2, 3, 4 et témoin avec une légère diminution de poids corporel chez le groupe 1 (traité par l'épirubicine seul) en comparaison avec le groupe témoin ([fig. 24](#)).

Discussion

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 G2 et 3 malgré l'injection d'épirubicine est due à l'effet protecteur de la propolis.

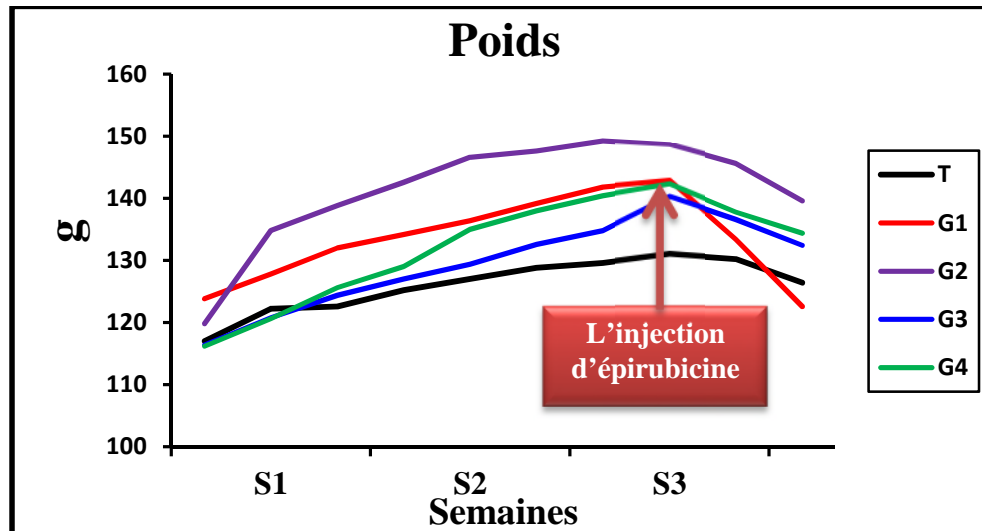


Figure 24: Le poids(g) des rats traités ou/non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizirt (EAP) ou de la quercétine.

T : Témoin ; G1 : 9 mg/Kg d'épirubicine ; G2 : 100 mg/Kg/j d'EAP et 9 mg/kg d'épirubicine ; G3 : 200 mg/Kg/j d'EAP et 9 mg/kg d'épirubicine ; G4 : 50 mg/Kg/j de quercétine et 9 mg/Kg/j d'épirubicine.

IV.3. Effet de l'épirubicine sur la glycémie et l'action protectrice de l'extrait de la propolis

Résultats

A la lumière de ces résultats, on remarque une augmentation hautement significative de 80 % du taux de la glycémie chez les rats du G1 traités par l'épirubicine seule (5.63 g/L), tout en comparant aux rats du groupe témoin négatif. Par contre, on remarque une diminution, de 68 et 76 % chez les rats du G2 et G3 (qui ont reçu 100 et 200 mg/Kg de l'EAP), respectivement, par rapport au groupe témoin. Tandis que, les rats du groupe 4 (qui ont été traité par la quercétine) ont montré une légère diminution de 34 % du taux de glycémie par rapport au groupe T (fig. 25).

Discussion

L'augmentation du taux du glucose dans le sang peut être dû à des dommages induits par l'épirubicine dans le pancréas (Burtis et al., 1994).

Plusieurs études qui ont montré, quand un organisme est exposé à des substances toxiques, réactions émotionnelles dans le système limbique actif l'hypothalamus pour produire la corticolibérine (CRH). Ce dernier stimule l'hypophyse pour libérer l'ACTH (hormone adrénocorticotrope) qui est un activateur de glandes surrénales pour la production et la sécrétion de cortisol dans le sang (Pourramet al., 2013).

Le cortisol a de nombreuses actions dont certaines conduisent à l'élévation de la glycémie (Jacototet Campillo, 2003), ce qui explique le plus probable les résultats de glycémie.

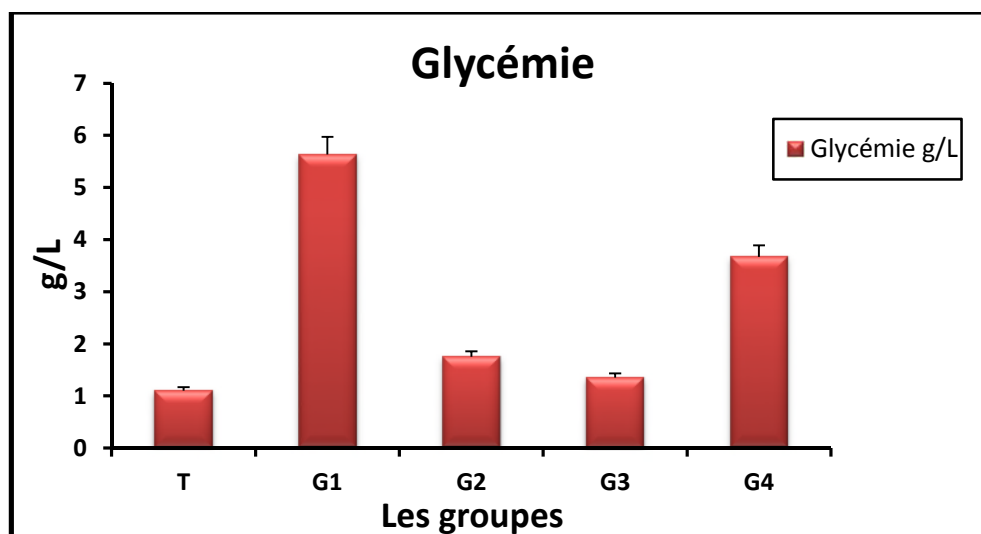


Figure 25: Concentrations plasmatiques du glucose (g/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizirt (EAP) ou de quercétine.

T : Témoin ; G1 : 9 mg/Kg d'épirubicine ; G2 : 100 mg/Kg/j d'EAP et 9 mg/kg d'épirubicine ; G3 : 200 mg/Kg/j d'EAP et 9 mg/kg d'épirubicine ; G4 : 50 mg/Kg/j de quercétine et 9 mg/Kg/j d'épirubicine.

Nos données indiquent que la propolis exerce un effet hypoglycémiant, ce sont similaires aux résultats de Fuliang (2012) et Yajing et al. (2012) qui ont démontré que la propolis exerce plusieurs effets bénéfiques sur le diabète de type 2 induit par la streptozotocine.

IV.4. Effet de l'épirubicine sur la fonction hépatique et l'action hépto-protectrice de l'extrait de la propolis

IV.4.1. Taux de la phosphatase alcaline (PAL)

Le dosage de la phosphatase alcaline PLA a montré une augmentation hautement significative de 74 % de ce paramètre chez les rats du G1 (injectés par l'épirubicine seulement) par rapport au groupe témoin, et une diminution de 77 et 83 % chez les rats du G2 et 3, respectivement, traités par 100 et 200 mg/kg d'EAP, par rapport au groupe G1 (fig. 26).

IV.4.2. Taux de l'aspartate aminotransférase (ASAT)

L'effet de la propolis sur les fonctions hépatiques chez les rats Wistar intoxiqués par l'épirubicine est illustré par la figure 27. On constate une augmentation de 67 % du taux sérique d'ASAT chez les rats de groupe 1 (traités par l'épirubicine) par rapport au groupe témoin.

L'administration de l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis EAP temporeise l'effet de toxicité de l'épirubicine et stabilise la valeur de cette enzyme par une diminution de 68 et 88% chez les rats du G2 et G3, respectivement, par rapport au G1.

On constate une légère diminution de 49% chez les rats traités par la quercétine par rapport au groupe 1.

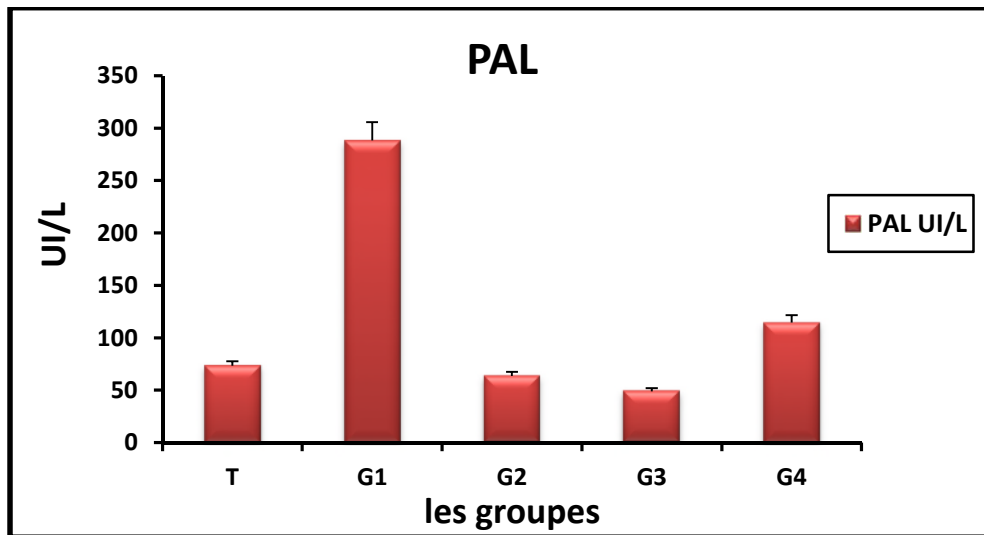


Figure 26: Concentration de l'activité enzymatique de Phosphatase Alcaline PAL (UI/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizirt (EAP) ou de quercétine. T : Témoin ; G1 : 9 mg/Kg d'épirubicine ; G2 : 100 mg/Kg/j d'EAP et 9 mg/kg d'épirubicine ; G3 : 200 mg/Kg/j d'EAP et 9 mg/kg d'épirubicine ; G4 : 50 mg/Kg/j de quercétine et 9 mg/Kg/j d'épirubicine.

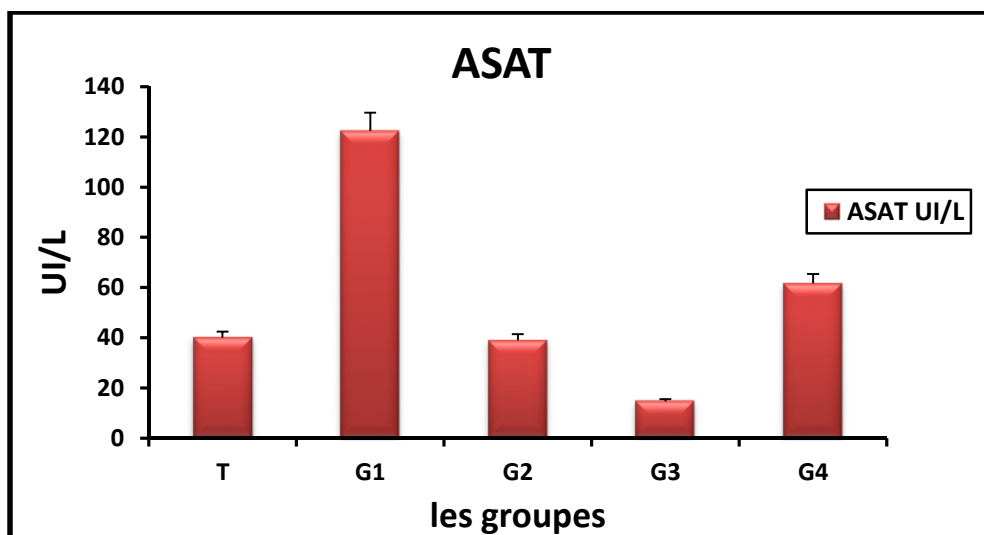


Figure 27: Concentration de l'activité enzymatique de l'aspartate aminotransférase (UI/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizirt (EAP) ou la quercétine. T : Témoin ; G1 : 9 mg/Kg d'épirubicine ; G2 : 100 mg/Kg/j d'EAP et 9 mg/kg d'épirubicine ; G3 : 200 mg/Kg/j d'EAP et 9 mg/kg d'épirubicine ; G4 : 50 mg/Kg/j de quercétine et 9 mg/Kg/j d'épirubicine.

IV.4.3. Taux de l'alanine aminotransférase (ALAT)

A la lumière de ces résultats, on remarque une augmentation hautement significative de 70 % du taux de l'alanine amino transférase (ALAT) chez les rats du G1 tout en comparant aux rats du groupe témoin. En revanche, on remarque une diminution de 73 et 84% du taux de l'ALAT chez les rats du G2 et G3 (qui ont reçu 100 et 200 mg/Kg de l'EAP) par rapport au groupe G1. Tandis que la quercétine (G4) a diminué le taux de l'ALAT qu'à 51 % toujours par rapport au groupe qui a été intoxiqué par l'épirubicine (G1) (fig. 28).

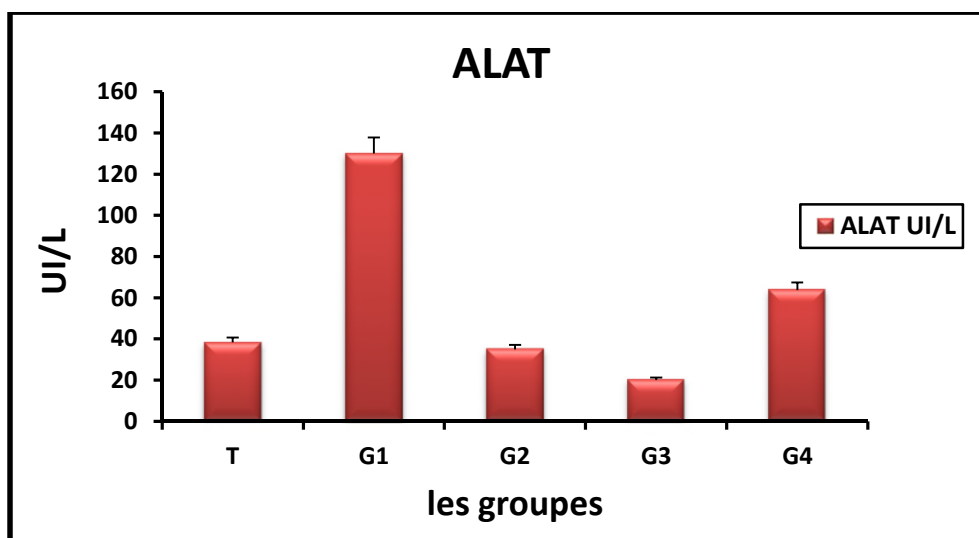


Figure 28: Concentration de l'activité enzymatique de l'alanine aminotransférase (UI/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizirt (EAP) ou la quercétine. T : Témoin ; G1 : 9 mg/Kg d'épirubicine ; G2 : 100 mg/Kg/j d'EAP et 9 mg/kg d'épirubicine ; G3 : 200 mg/Kg/j d'EAP et 9 mg/kg d'épirubicine ; G4 : 50 mg/Kg/j de quercétine et 9 mg/Kg/j d'épirubicine.

IV.4.4. Taux du gamma glutamyl transférase (γ -GT)

Les résultats de la présente étude indiquent que la concentration gamma glutamyl transférase γ -GT (fig. 29) sont significativement élevés ($P < 0.05$) chez le groupe G1 (les rats injectés par l'épirubicine) avec un taux de 106 UI/L, alors que chez le G2 et G3 ce taux diminue de 66 et 74%, respectivement, par rapport au groupe G1.

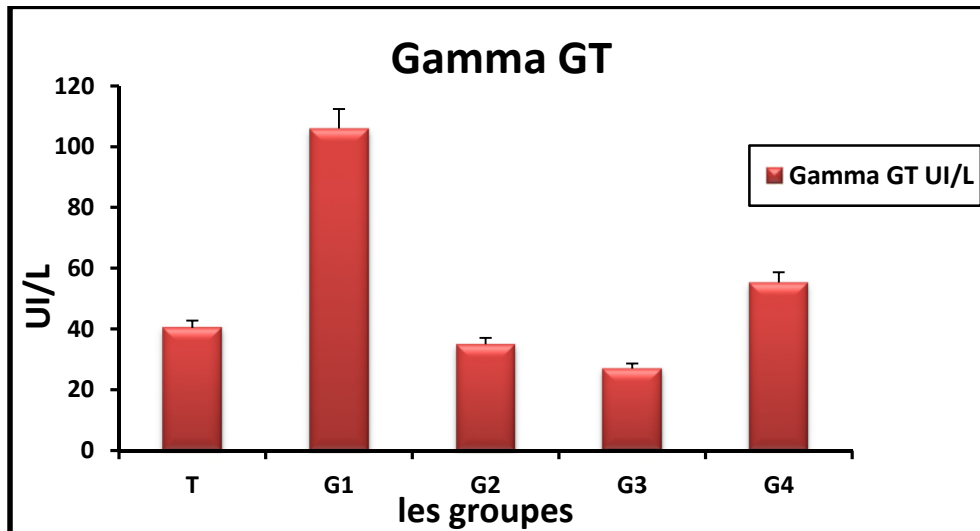


Figure 29: Concentration de l'activité enzymatique du gamma glutamyl transférase (UI/L) chez les rats traités ou non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizgirt (EAP) ou la quercétine.

T : Témoin ; G1 : 9 mg/Kg d'épirubicine ; G2 : 100 mg/Kg/j d'EAP et 9 mg/kg d'épirubicine ; G3 : 200 mg/Kg/j d'EAP et 9 mg/kg d'épirubicine ; G4 : 50 mg/Kg/j de quercétine et 9 mg/Kg/j d'épirubicine.

Discussion

Nos résultats ont révélé une augmentation de l'activité enzymatique de l'ALAT, l'ASAT, la PAL et γ -GT chez les rats injectés par l'épirubicine (9 mg/kg).

L'augmentation de l'activité des enzymes hépatiques dans le sang peut être due pratiquement à des lésions tissulaires dans le foie, les reins et le cœur 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 et la PAL 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, car ils sont cytoplasmiques et libérés dans la circulation après l'atteinte cellulaire (Soudani *et al.*, 2011). En général, l'ASAT et l'ALAT sont des enzymes d'origine mitochondriale et cytoplasmique.

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'un autre part, la PAL est une enzyme ubiquitaire, en particulier dans le foie, les voies biliaires, les reins, l'os et le placenta, où elle est très concentrée.

Leur 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).

Donc notre étude a prouvé que l'épirubicine cause des sévères dommages hépatiques.

Nos résultats sont en accord avec les résultats obtenus par Iwakiri et al. (2007) ; Kebieche et al. (2009) ; Prado et al. (2010) et Hwan Shin et al. (2014). Ce sont tous des études qui ont également démontré l'effet d'hépatotoxicité de l'épirubicine.

Aussi, Durdane et al., (2002) ; Vicente et al., (2008) ; Türkez et al., (2010) ont trouvé les mêmes résultats en induisant l'hépatotoxicité par l'alcool, cadmium et aluminium.

D'après les résultats obtenus, l'administration de la propolis aux rats exposés à l'épirubicine a réduit de manière significative l'activité enzymatique de l'ALAT, L'ASAT et la PAL. 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.

Selon Kolankaya et al. (2002) ; Wang et al. (2006) ; Bhadauria et al. (2007) ; Nirala et al. (2007) ; Chen et al. (2008) ; Türkez et al. (2010) ; Nakamura et al. (2013) et Singla et al. (2014) ont montré l'effet hépto-protecteur des extraits de la propolis contre la toxicité hépatique induite par l'alcool, l'hydroperoxyde de *tert*-butyle, le tétrachlorure de carbone, Le béryllium, l'éthanol, l'aluminium, le 1-Naphthyl isothiocyanate et le doxorubicine.

IV.5. Effet de l'épirubicine sur la fonction rénale et l'action protectrice de l'extrait de la propolis

IV.5.1. Taux de l'urée

Résultats

Ces résultats illustrent une augmentation hautement significative de (1.63 g/L) 88 % de l'urée chez les rats du G1 (injectés par l'épirubicine) par rapport au groupe témoin, et une diminution de 82 et 88 % de l'urée chez les rats du G2 et G3, respectivement, par rapport aux rats du groupe T. Les rats traités par la quercétine (G4) ont montré une diminution de 55% du taux d'urée par rapport au groupe témoin (fig. 30).

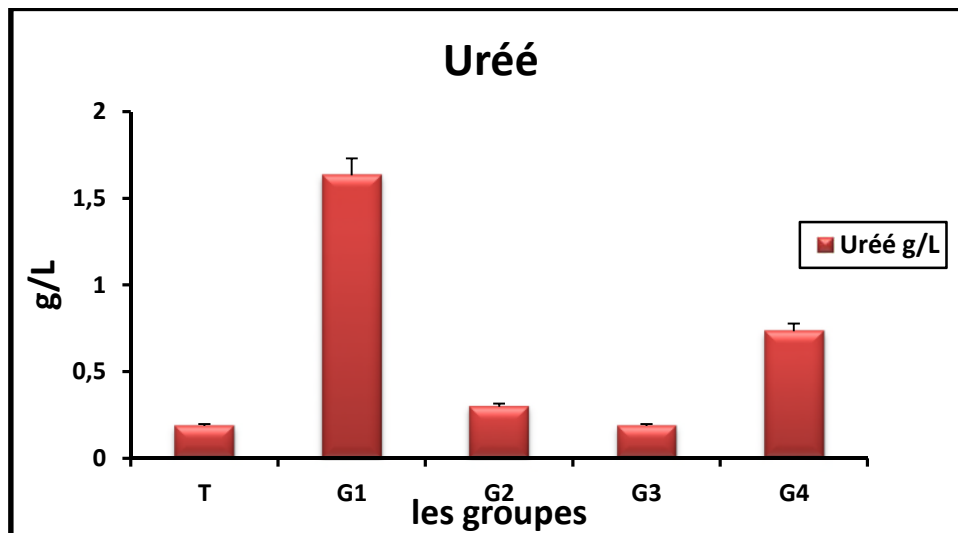


Figure 30: Concentration sérique de l'urée (g/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizirt (EAP) ou la quercétine.

T : Témoin ; G1 : 9 mg/Kg d'épirubicine ; G2 : 100 mg/Kg/j d'EAP et 9 mg/kg d'épirubicine ; G3 : 200 mg/Kg/j d'EAP et 9 mg/kg d'épirubicine ; G4 : 50 mg/Kg/j de quercétine et 9 mg/Kg/j d'épirubicine.

IV.5.2. Taux de la créatinine

Dans la présente étude, on remarque des différences significatives ($P < 0.05$) entre les groupes (fig. 31).

En comparaison avec le groupe contrôle (témoin négatif) qui a montré une créatinémie allant jusqu'à 10.33 mg/L, le groupe G1 (qui a reçu seulement une injection de l'épirubicine) a montré une haute augmentation de 72% de la créatinine (37.66 mg/L) par rapport aux rats du groupe témoin.

En outre, on remarque une diminution importante de 69 et 75% de ce taux de créatinine, respectivement, chez les rats du groupe G2 et G3 par rapport au témoin. Les rats qui ont été traité par 50 mg/kg de quercétine ont montré une diminution de 53% par rapport au groupe contrôle négatif.

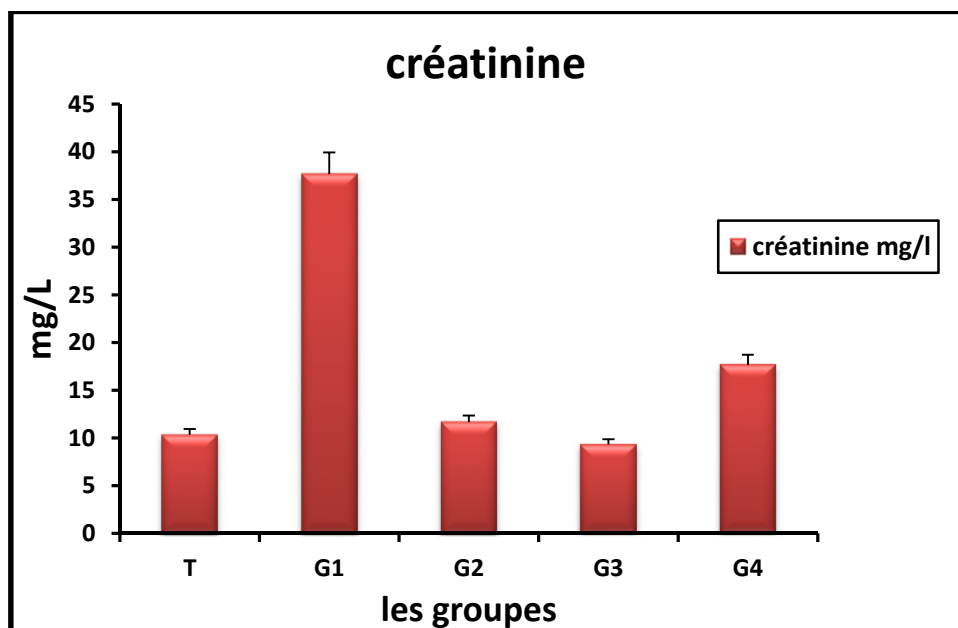


Figure 31: Concentration sérique de la créatinine (mg/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizgirt (EAP) ou la quercétine.

T : Témoin ; G1 : 9 mg/Kg d'épirubicine ; G2 : 100 mg/Kg/j d'EAP et 9 mg/kg d'épirubicine ; G3 : 200 mg/Kg/j d'EAP et 9 mg/kg d'épirubicine ; G4 : 50 mg/Kg/j de quercétine et 9 mg/Kg/j d'épirubicine.

Discussion

Concernant les marqueurs de la fonction rénale, notre étude montre qu'il y a une augmentation significative de l'urée et la créatinine dans le sérum de rats du G1 (les rats injectés par l'épirubicine).

La créatinine est un métabolite de la créatine, qui dans le muscle squelettique est phosphorylée en créatine-phosphate, un composé riche en énergie libre (Bossuyt et Boeynaems, 2001).

La détermination de l'urée est contributive à l'exploration de la fonction rénale. L'urée est la principale forme d'élimination des déchets azotés du catabolisme protéique chez l'homme, formée dans le foie à partir de l'ammoniac (produit par la désamination des acides aminés) (Kubab et al., 2015).

Les résultats de notre étude sont identiques avec ceux de Maja et Verweij (2006) ; Knouzy (2016) et Oka et al. (2014) qui ont traités la néphrotoxicité (induite par les produits de la chimiothérapie) par la propolis.

IV.6. Effet de l'épirubicine sur la fonction cardiaque et l'action cardioprotectrice de l'extrait de la propolis

IV.6.1. Taux de la Créatine kinase mb (CKmb)

D'après la [figure 32](#) on constate une augmentation significative de 74% du taux de CKmb chez les rats exposés à l'épirubicine (37.83 UI/L) par rapport au groupe témoin (9.5 UI/L).

Nos résultats indiquent que le traitement des rats avec 100 et 200 mg/kg d'EAP chez le groupe G2 et G3 a provoqué une diminution du taux de la CKmb (8.66 et 5.16 UI/L, respectivement) par rapport au groupe G1 (qui a été intoxiqué par l'épirubicine).

On constate une légère diminution de 54% chez les rats traités par la quercétine par rapport au groupe G1.

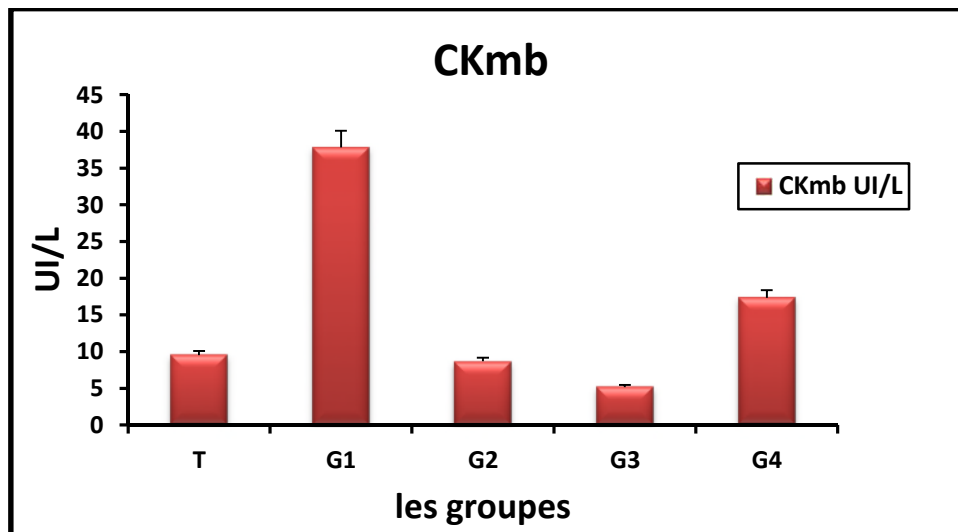


Figure 32: Concentration sérique de la CKmb (UI/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizirt (EAP) ou la quercétine.

T : Témoin ; G1 : 9 mg/Kg d'épirubicine ; G2 : 100 mg/Kg/j d'EAP et 9 mg/kg d'épirubicine ; G3 : 200 mg/Kg/j d'EAP et 9 mg/kg d'épirubicine ; G4 : 50 mg/Kg/j de quercétine et 9 mg/Kg/j d'épirubicine.

IV.6.2. Taux de la troponine totale

Les résultats obtenus indiquent que l'injection de l'épirubicine chez les rats (G1) a induit une augmentation significative de la troponine allant jusqu'à 81% par rapport aux animaux du groupe témoin ([fig. 33](#)). Les rats du groupe G2 et G3 (qui ont été traité avec 100 et 200 mg/kg d'EAP) ont montré une diminution importante, respectivement, de -47 et -0.59 $\mu\text{g/L}$ de troponine par rapport aux rats qui ont été exposé à l'épirubicine. La quercétine a pu diminuée ce taux qu'à 46%.

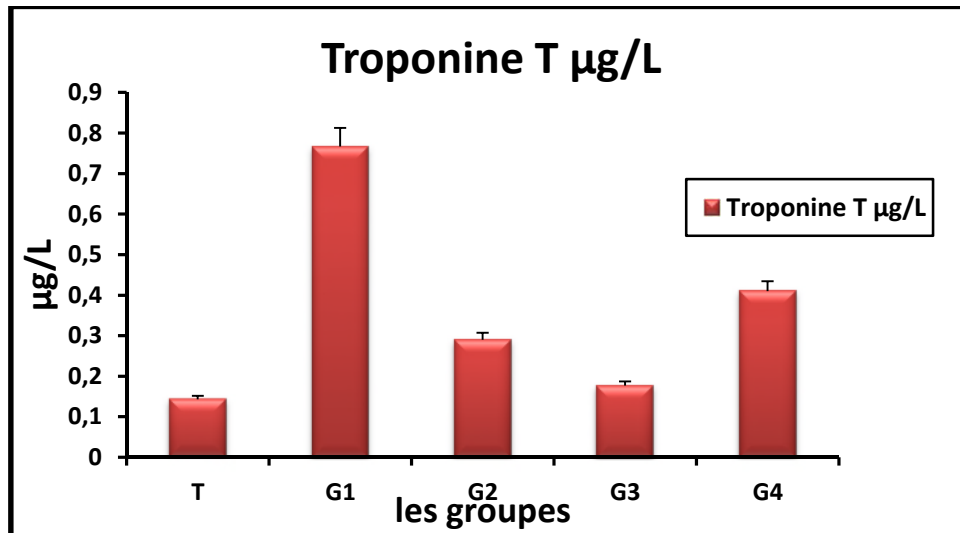


Figure 33: Concentration sérique de la troponine ($\mu\text{g/L}$) chez les rats traités ou/non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizgirt (EAP) ou la quercétine.

T : Témoin ; G1 : 9 mg/Kg d'épirubicine ; G2 : 100 mg/Kg/j d'EAP et 9 mg/kg d'épirubicine ; G3 : 200 mg/Kg/j d'EAP et 9 mg/kg d'épirubicine ; G4 : 50 mg/Kg/j de quercétine et 9 mg/Kg/j d'épirubicine.

IV.6.3. Taux du lactate déshydrogénase (LDH)

A la lumière de ces résultats, on remarque une augmentation significative de 52 % du taux de LDH chez les rats du G1 (qui ont reçu une injection de l'épirubicine et qui n'ont pas été traité par la propolis) tout en comparant aux rats témoins. En revanche, on remarque une diminution, de 68 et 73 % chez les rats du G2 et G3, respectivement, qui ont reçu 100 et 200 mg/Kg de l'EAP (245 et 208 UI/L) (fig. 34).

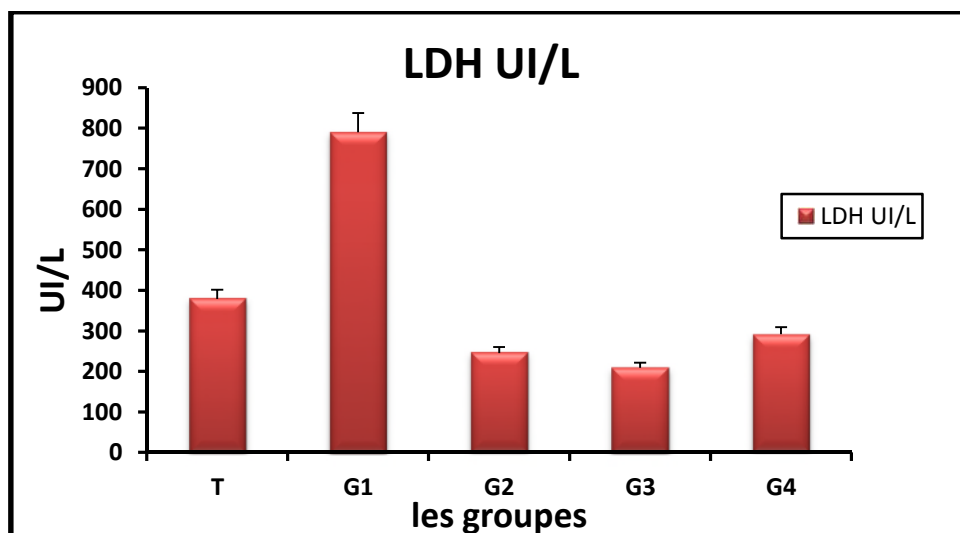


Figure 34: Concentration enzymatique du lactate déshydrogénase (UI/L) chez les rats traités ou/non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizgirt (EAP) ou la quercétine.

T : Témoin ; G1 : 9 mg/Kg d'épirubicine ; G2 : 100 mg/Kg/j d'EAP et 9 mg/kg d'épirubicine ; G3 : 200 mg/Kg/j d'EAP et 9 mg/kg d'épirubicine ; G4 : 50 mg/Kg/j de quercétine et 9 mg/Kg/j d'épirubicine.

Discussion

La cardiotoxicité de l'épirubicine, agents anti-tumoraux de la famille des anthracyclines, 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. 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).

La prévention de 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).

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

Nos résultats sont identiques à ceux de Schjøtt et al. (2005) ; Stohr et al. (2006) ; Delemasure et al. (2007) ; Erdim et al. (2009) ; Kotwinski et al. (2013) et Nasr et al. (2014) en prouvant que l'épirubicine a un effet cardiotoxique.

Nos résultats ont montré que le traitement par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizirt a réduit significativement l'effet toxicité de l'épirubicine au niveau du cœur par rapport à celle des rats exposés à l'épirubicine seule. Cet effet cardioprotecteur est certainement dû à la présence des polyphénols dans la propolis (Talas et al., 2014).

IV.7. Evaluation du statut oxydant

IV.7.1. Taux de glutathion peroxydase (GSH-Px)

Les résultats de l'activité de la glutathion peroxydase GSH-Px sont présentés à la fig. 35 qui montre que chez les rats du groupe G1 (ayant reçu une injection d'épirubicine), il y a une diminution significative ($P < 0.05$) du taux de GSH-Px (18.82 U/g Hb) par rapport à celui enregistré chez le groupe témoin (112.48 U/g Hb) ; soit une diminution de 83% par rapport au témoin.

En revanche, chez les rats du G4 traités avec 50 mg/kg de quercétine, nous avons remarqué une diminution importante du taux du glutathion peroxydase (32.08 U/g Hb) par rapport aux rats exposés à l'épirubicine (G1).

Par ailleurs, chez les rats du groupe G2 et G3, nous avons constaté également une diminution de l'activité GSH-Px de 54 et 83%, respectivement, par rapport au groupe témoin positif (G1).

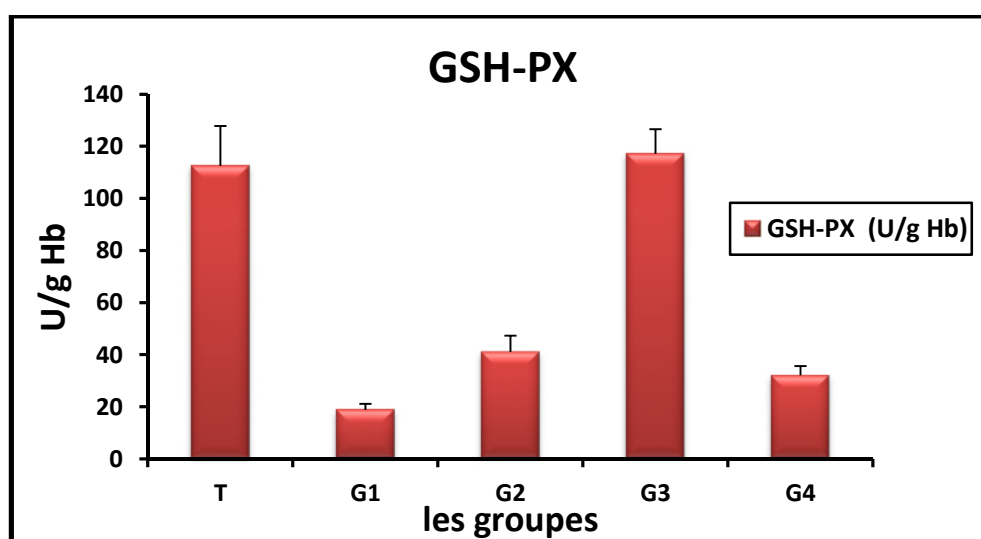


Figure 35: Concentration érythrocytaire de glutathion peroxydase GSH-Px (U/g Hb) chez les rats traités ou/non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizirt (EAP) ou la quercétine.

T : Témoin ; G1 : 9 mg/Kg d'épirubicine ; G2 : 100 mg/Kg/j d'EAP et 9 mg/kg d'épirubicine ; G3 : 200 mg/Kg/j d'EAP et 9 mg/kg d'épirubicine ; G4 : 50 mg/Kg/j de quercétine et 9 mg/Kg/j d'épirubicine.

IV.7.2. Taux du superoxyde dismutase (SOD)

En comparaison avec l'activité enzymatique des rats du groupe témoin (16.34 U/cg Hb), les rats du groupe G1 ont montré une activité enzymatique SOD très réduite (2.31 U/cg Hb) (fig. 36).

La concentration en ce marqueur du statut antioxydant a été positivement améliorée chez les rats du groupe G2 et G3 qui ont reçu, respectivement, 100 et 200 mg/kg de propolis par rapport au groupe G1, où l'on a noté une activité enzymatique SOD de 13.99 et 22.77 U/cg Hb.

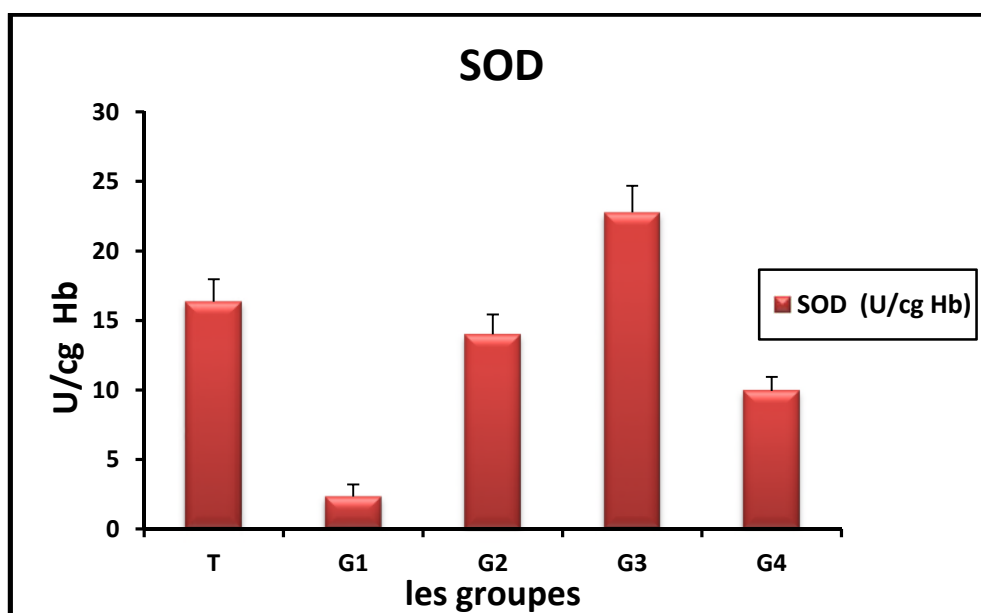


Figure 36: Concentration érythrocytaire du superoxyde dismutase SOD (U/cg Hb) chez les rats traités ou/non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizirt (EAP) ou la quercétine.

T : Témoin ; G1 : 9 mg/Kg d'épirubicine ; G2 : 100 mg/Kg/j d'EAP et 9 mg/kg d'épirubicine ; G3 : 200 mg/Kg/j d'EAP et 9 mg/kg d'épirubicine ; G4 : 50 mg/Kg/j de quercétine et 9 mg/Kg/j d'épirubicine.

IV.7.3. Taux du malonadéhyde (MDA)

D'après nos résultats, on remarque que les rats du groupe G1 (qui ont été injecté par l'épirubicine) montrent une forte concentration plasmatique en MDA allant jusqu'à 12.38 nmol/mL par rapport au groupe témoin où on a noté un taux allant jusqu'à 1.32 nmol/mL (fig. 37).

Chez le groupe G2 et G3, l'administration de la propolis a engendré une diminution importante de taux du MDA plasmatique (4.08 et 1.41 nmol/mL) par rapport au groupe G1 (- 8.3 et 10.97nmol/mL).

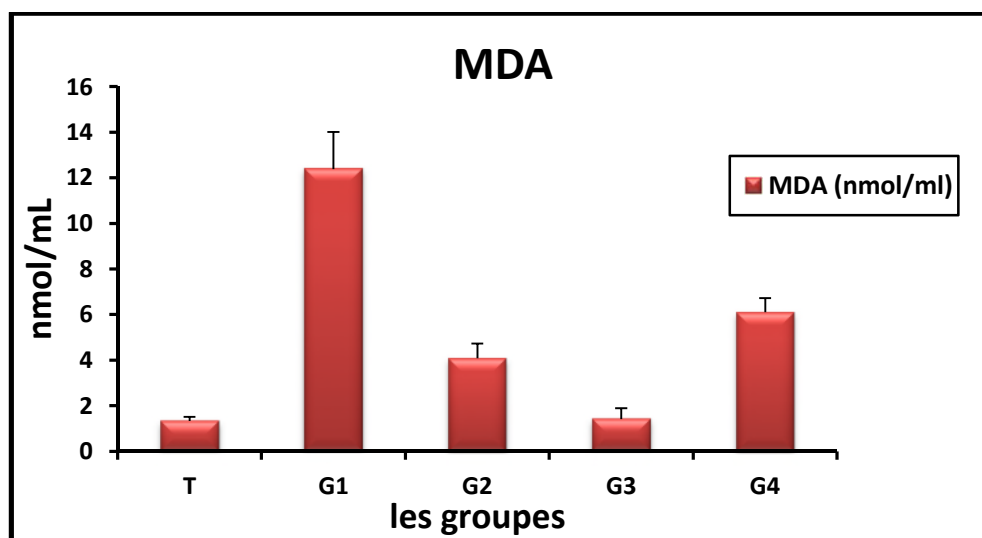


Figure 37: Concentration sérique de la malonaldéhyde MDA (nmol/mL) chez les rats traités ou/non par l'extrait d'acétate d'éthyle de la propolis de Tizirt (EAP) ou la quercétine.

T : Témoin ; G1 : 9 mg/Kg d'épirubicine ; G2 : 100 mg/Kg/j d'EAP et 9 mg/kg d'épirubicine ; G3 : 200 mg/Kg/j d'EAP et 9 mg/kg d'épirubicine ; G4 : 50 mg/Kg/j de quercétine et 9 mg/Kg/j d'épirubicine.

Discussion

D'après tous ces résultats, il apparaît que la propolis possède un effet antioxydant qui lui confère le statut de substance antiradicalaire. Les effets indiqués de la propolis sont directement liés à sa composition chimique. Parmi les composés identifiés, les substances phénoliques tiennent la première place. Ces composés sont effectifs sur les radicaux superoxydes, produits principalement par le système xanthine oxydase.

Le stress oxydant se définit comme un déséquilibre entre production des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et les défenses antioxydantes. L'oxygène est nécessaire pour le transfert d'électrons couplés aux phosphorylations oxydatives qui sont la principale source d'énergie de l'organisme. Son absence, l'anoxie, est mortelle à court terme. Elle entraîne la chute d'ATP dans la cellule par l'interruption du processus énergétique (Delattre et al., 1998).

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

L'épirubicine est capable d'induire un stress oxydatif. Ce dernier traduit par une augmentation de la malondialdéhyde (MDA), produit de la peroxydation lipidiques (Pelletier et al., 2004).

La peroxydation lipidique a été suggérée en tant qu'un des mécanismes moléculaires impliqués dans la toxicité induite par l'épirubicine (Hrelia et al., 2002).

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 superoxyde dismutase (SOD) est en première ligne de défense enzymatique contre l'attaque radicalaire, sa fonction est de catalyser la conversion des radicaux de superoxydes en peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) (Rahman, 2006).

Le traitement par l'extrait de la propolis a réduit significativement l'effet peroxydatif de l'épirubicine par rapport à celle des rats traités par l'épirubicine seule. 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.

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), Et que la propolis de Tizirt est un antioxydant efficace et un protecteur de la toxicité (Benguedouar et al., 2008); (El mazoudy et al., 2011); (Diab et al., 2012); (Pinar et al., 2012); (Oladayo et al., 2013); (Magdy et al., 2014); (Faried et al., 2015).

Conclusion

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.

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. En effet, elle est présentée sous différentes formes galéniques (gélule, spray, bain de bouche, etc.)

Notre étude a pour but d'évaluer l'effet protecteur de la propolis sur la cytotoxicité induite par l'épirubicine. L'administration de l'épirubicine à 9 mg/kg par voie intraveineuse aux rats 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 affecté, suggérant ainsi un stress oxydant généré par l'épirubicine, qui a troublé la capacité défensive de l'organisme.

L'administration de la propolis aux rats avant et après l'induction de la toxicité par l'épirubicine a fait diminuer le niveau de la toxicité, en modulant les niveaux des biomarqueurs de stress oxydant, et en régulant l'activité des enzymes antioxydantes. Cette combinaison a aussi révélé une amélioration du métabolisme biochimique. Les résultats obtenus peuvent être résumés dans les points suivants :

- ✚ L'étude physiologique montre que la croissance des rats a été influencée par le traitement.

- ✚ La toxicité de l'épirubicine a affecté la glycémie.

- ✚ Une perturbation du métabolisme biochimique après l'injection de l'épirubicine a été révélée par l'augmentation des taux sériques en: urée, créatinine, ainsi que l'augmentation de l'activité enzymatique des : ASAT, ALAT, γ GT, PAL, CKmb et la troponine totale. L'administration de la propolis a considérablement réduit cette perturbation, ceci montre son effet protecteur.

- ✚ Le dosage des biomarqueurs du stress oxydant (MDA) et des enzymes antioxydantes (GPX, SOD) a permis une meilleure caractérisation de l'effet antioxydant de la propolis vis-à-vis la toxicité par l'épirubicine.

Les résultats obtenus ont permis de mettre en évidence l'action protectrice de la propolis et sa capacité à moduler les effets toxiques causés par l'épirubicine.

Références bibliographiques

1. 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.
2. Blanc, M. (2010). Propriétés et usage médical de produits de la ruche.
3. 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.
4. BURDOCK, G. A. (1998). Review of the biological properties and toxicity of bee propolis.
5. 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.
6. 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* ; 50:647–653.
7. 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).
8. Donadieu, Y. (2008). La propolis. Paris : Dangles.
9. Doros, z. (2014). Guide pratique des médicaments, 33ème édition.
10. 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.
11. 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.
12. Fondrinier, E., Pezet, D., Gamelin E. (2004). Prise en charge et surveillance du patient cancéreux, Masson. *Food Chem Toxicol*;36(4):347-363.
 13. Fulianga, 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.
 14. Golder, W. (2004). Propolis. The bee glue as presented by the graeco – roman literature.
 15. 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
 16. 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.
 17. Jain, D. (2000). Cardiotoxicity of doxorubicin and other anthracycline derivatives *J Nucl Cardiol.* 7:53–62.
 18. 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.
 19. 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.
 20. Kaplan, L.A., Rubaltelli FF, Hammerman C, Vilei MT, Leiter C, Abramov A.(1984). Lipids. In: KaplanLA and Pesce AJ. Eds.*Clinical Chemistry: Theory, Analysis and Correlation*. St Louis. Toronto. Princeton: The C. V. Mosby Company; 918-9.
 21. 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.
 22. Khayyal, M.T., El-ghazaly, M.A et El-khatib, A.S. (2009) Mechanisms involved in the anti-inflammatory response of propolis extract. *Drugs Exp Clin Res*; 19(5):197-203.

23. 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.
24. 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.
25. 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.
26. Lanzarini, L., Spirito, P., Picano, E. (1991). Quantitative assessment of ultrasonic myocardial reflectivity in hypertrophic cardiomyopathy *J Am Coll Cardiol*; 17:1085–1090.
27. 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.
28. Maja, J.A., Verweij, J. (2006). Renal Toxicities of Chemotherapy. *Semin Oncol* 33:68-73. Elsevier Inc.
29. 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.
30. Miura, T., Muraoka, S., Fujimoto, Y. (2000). Inactivation of creatine kinase by Adriamycin during interaction with horseradish peroxidase *Biochem Pharmacol*; 60:95–99.
31. Moudir, N. (2004). Les polyphénols de la propolis algérienne.
32. 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 ; 1112-116.
33. Nirala, S., Monika, B., Ramesh, M., Mathur, A. (2007). Influence of α -tocopherol, propolis and piperine on therapeutic potential of tiferon against beryllium induced

- toxic manifestations. 44 S. K. NIRALA ET AL. JOURNAL OF APPLIED TOXICOLOGY. J. Appl. Toxicol; 28: 44–54.
34. Pai, V.B., Nahata, M.C. (2000). Cardiotoxicity of chemotherapeutic agents. Incidence, treatment and prevention. *Drug Saf* ; 22 : 263-302.
 35. Pietta, P.G, Gardana, C et Pietta, A.M. (2002). Analytical methods for quality control of propolis. *Fitoterapia*; 73(Suppl 1):S7-S20.
 36. Pinar, T., Seval, Y., Gulizar, T. (2012). The Effects of Propolis in Animals Exposed Oxidative Stress. *World's largest Science, Technology et Medicine*.
 37. 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.
 38. Praet, M., Goormaghtigh, E., Huart, P. (1990). Structure of the adriamycin-cardiolipin complex role in mitochondrial toxicity *Biophys Chem*; 35:247–57.
 39. 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.
 40. Senkus, E., Jassem, J.(2011).Cardiovascular effects of systemic cancer treatment, *Cancer Treat Rev*. 37(4): p. 300-11.
 41. 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.
 42. 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.
 43. 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.
 44. WHO WORLD HEALTH ORGANISATION. (2010).Grades de toxicité des anticancéreux, Organisation Mondiale de la Santé.
 45. 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.