



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

### Département de Biologie Animale

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : *Toxicologie et santé*

Intitulé :

---

## L'activité biologique de l'extrait butanolique de la plante *Genista sp.* : Effet sur L'hépatotoxicité induite par la Doxorubicine

---

Présenté et soutenu par : BOUABID MERIEM

ZATOUT NESRINE

Le : 15/06/2015

### Jury d'évaluation :

Président du jury :	Mr LALAOUI K.	Professeur a UFM Constantine
Rapporteur :	Mme BOUBEKRI N.	Maitre de conférence UFM Constantine
Examineurs :	Mr BOULKANDOUL R. Melle IHOUAL S.	Maitre assistant UFM Constantine Maitre assistant UFM Constantine

*Année universitaire  
2014 - 2015*

---

---

## Sommaire

remerciment .....	
Liste des abréviations .....	
Liste des figures.....	
Introduction .....	1
Partie I : Synthèse bibliographique	
I-Généralités sur les anticancéreux .....	2
I-1-Stratégie thérapeutique .....	2
I-2 - Principaux produits rencontrés .....	3
I-3 -Effets secondaires des anticancéreux sur certains organes.....	3
II-Doxorubicine (DOXO) .....	4
II-1-Structure et Propriétés chimiques.....	4
II-2 - La pharmacocinétique de la Doxorubicine.....	5
II-3-Mécanisme d'action .....	6
III-La Doxorubicine et l'hépto-toxicité .....	9
III-1-Le foie .....	9
III-2-Rôle du foie dans le métabolisme des toxiques .....	10
III-3-Différents types d'hépto-toxicité.....	11
III-4-Hepatotoxicité induite par la Doxorubicine .....	11
IV-Doxorubicine et stress oxydant .....	12
IV-1-Le stress oxydant .....	12
IV-4-Doxorubicine et stress oxydatif .....	18
V- Les Polyphénols .....	20
V-1-Les flavonoïdes .....	21
V-2 Le métabolisme des flavonoïdes .....	23
V-3-Les activités biologiques des polyphénols .....	24
Partie II :	
Matériels et méthodes .....	29
I- La plante.....	29
II-Expérimentations animale .....	29
II-1-Animaux et conditions d'hébergement .....	29
II-2-Toxicité aigue par la Doxorubicine .....	29
III- Dosage des paramètres du stress oxydant .....	30

---

III-1-Dosage Peroxydation lipidique .....	30
III-2-Dosage de glutathion (GSH) .....	30
III-3-Evaluation de l'activité enzymatique de la GPx .....	31
III-4-Evaluation de l'activité enzymatique de la catalase (CAT).....	31
IV- Dosage des paramètres biochimiques .....	31
IV -1-Préparation de sérum et le test de la fonction hépatique .....	31
IV -2-Dosage du cholestérol total.....	32
IV -3-Dosage des triglycérides .....	32
V- Evaluation statistique .....	32
partie III :résultats et discussion	
I-Interprétation des résultats .....	33
I-1-Effet de la Doxorubicine sur la fonction hépatique et l'action hépatoprotectrice de l'extrait	33
I-2-Effet de la Doxorubicine sur cholestérol et triglycérides et l'action protectrice de l'extrait...	34
I-3-Effet de l'extrait butanolique sur la peroxydation lipidique.....	35
I-4-Effet de l'extrait butanolique sur le GSH .....	36
I-5-Effet de l'extrait butanolique de la plante Genista sp Sur l'activité de la GPx .....	37
I-6-Effet de l'extrait butanolique de la plante Genista sp Sur l'activité de la Catalase.....	38
II-Discussion.....	39
Conclusion et perspectives.....	42
Résumé .....	43
Références.....	46

## *Remerciment*

*Nous remercions tout d'abord Dieu, le tout puissant de nous avoir accordé santé, courage et foi.*

*Nous remercions l'ensemble des membres du jury pour avoir accepté de juger ce travail, notamment : Pr LALAOUI K (Président), Mme BOUBEKRI NASSIMA (Examinatrice), Mr BOULKANDOUL RAMZI (Examineur) et Melle IHOUEL SAFIA (Examinatrice).*

*Nous vous remercions d'avoir enrichi cette étude par vos expertises et vos expériences respectives.*

*Nous remercions également, Mme BOUBEKRI NASSIMA d'avoir dirigé notre thèse au cours de sa réalisation avec beaucoup de patience. Votre rigueur scientifique, vos conseils et vos encouragements nous a permis de mener à bien ce travail.*

*Nous exprimons nos plus sincères remerciements à Melle Djebbari Radja pour sa présence, son aide, sa gentillesse au quotidien, tous son encouragements et son soutien dans les moments difficiles, merci pour votre amitié.*

*Un très grand merci à nos parents pour leur soutien inconditionnel tout au long de nos études et la confiance qu'ils nous a toujours témoignée. Merci à nos frères et sœurs et à toutes nos familles et nos amis pour leur présence à nos côtés.*

# Liste des abréviations

<b>AMPC</b>	Adénosine mono-phosphate cyclique
<b>ADN</b>	Acide désoxyribonucléique
<b>ALT</b>	Alanine amino transférase
<b>AST</b>	Aspartate amino transférase
<b>ARN</b>	Acide ribonucléique
<b>O<sub>2</sub>•<sup>-</sup></b>	Anion superoxyde
<b>C3G</b>	Cyanidin-3-O - $\beta$ -glucoside
<b>CREB</b>	L'élément de réponse lient des protéines
<b>COOH</b>	Groupe amine
<b>COX</b>	Cyclooxygenase
<b>CAT</b>	Catalase
<b>DOXO</b>	Doxorubicine
<b>ERO/ROS</b>	Especies reactives de l'oxygène
<b>ERN</b>	Especies reactives d'azote
<b>FDA</b>	Organisation de nourriture et de drogue
<b>Fe<sup>2+</sup></b>	Ions ferreux
<b>Fe<sup>3+</sup></b>	Ions ferriques
<b>GSSG</b>	Glutathion oxydé
<b>GSH</b>	Glutathion réduit
<b>GPX</b>	Glutathion peroxidase

<b>LDL</b>	Lipoprotéine de faible densité
<b>LH</b>	Phospholipides membranaire
<b>MDA</b>	Malondialdehyde
<b>NADH</b>	Nicotinamide-adénine-dinucléotide
<b>NADPH</b>	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
<b>NH<sub>2</sub></b>	Groupement hydroxyl
<b>NO<sup>·</sup></b>	Monoxyde d'azote
<b>NF-κB</b>	Facteur-kappa nucléaire B
<b>NOS</b>	Monoxyde d'azote synthase
<b>OH<sup>·</sup></b>	Radical hydroxyle
<b>ONOO<sup>-</sup></b>	Peroxynitrite
<b>ONOOH</b>	Nitroperoxyde
<b>O<sub>2</sub></b>	Dioxygène
<b>OH<sup>-</sup></b>	Ion hydroxyde
<b>PKA</b>	Protéine kinase A
<b>RL</b>	Radicaux libres
<b>R<sup>·</sup></b>	Radical alkyle
<b>RO<sup>·</sup></b>	Radical alkoxyde
<b>ROO<sup>·</sup></b>	Radical hydroperoxyde
<b>ROOH</b>	Radical hydroperoxyde

<b>SOD</b>	Super oxyde dismutase
<b>SO</b>	Stress oxydant
<b>TG</b>	Triglycerides
<b>UV</b>	Ultra violet
<b>VE</b>	La vitamine E
<b>XO</b>	Xanthine-oxydase

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : structure chimique de la doxorubicine .....	4
<b>Figure 2</b> : métabolisme hépatique de la doxorubicine .....	5
<b>Figure 3</b> : interaction dans l'ADN et stabilisation de l'enzyme topoisomerase II .....	7
<b>Figure 4</b> : organisation structurale de la lobule hepaticque .....	8
<b>Figure 5</b> : exemple de reaction d'oxydation .....	9
<b>Figure 6</b> : Formation en cascade des différentes espèces oxygénées réactives à partir du radical superoxyde.....	12
<b>Figure 7</b> : Peroxydation lipidique des acides gras .....	13
<b>Figure 8</b> : Lésions de l'ADN induites par les radicaux libres .....	14
<b>Figure 9</b> : Principaux systèmes enzymatiques antioxydants impliqués dans le contrôle des ROS.....	15
<b>Figure 10</b> : Production des radicaux libres par reaction enzematique d'oxydoreduction de la fonction quinone des anthracyclines et formation des peroxydinitrite (ONOO-).....	18
<b>Figure 11</b> : Classification of dietary polyphénols.....	19
<b>Figure 12</b> : Structures des flavonoides .....	22
<b>Figure 13</b> : Le metabolisme des flavonoides .....	23

## Liste des Tableau

<b>Tableau 1</b> : Principales espèces réactives de l'oxygène et de l'azote.....	11
--	----

## **Introduction**

Doxorubicine (DOXO) est un antibiotique d'anthracycline glycoside qui possède un spectre anti tumoral efficace et larges activités contre une variété des tumeurs humaines solides telle que le cancer des poumons, utérins, aussi bien contre plusieurs autres types de cancer et malignités hématologiques [1-2-3].

Toutefois, son utilisation a été restreinte en chimiothérapie surtout en raison de son offre variée des toxicités y compris cardiaque, hépatique, rénale et testiculaire [4-5-6]. En outre, les effets secondaires nocifs des agents chimio-thérapeutiques comprennent la production terrible d'espèces réactives de l'oxygène (ROS). Par conséquent, une escalade de la quantité des faits suggèrent qu'un traitement simultané de la chimiothérapie et des agents chimio-préventifs avec l'action antioxydante peuvent accroître l'efficacité des médicaments chimio-thérapeutiques [7-8]. Bien que le mécanisme sous-jacent la cyto-toxicité sévère de la Doxorubicine n'est pas parfaitement claire, les ROS sont supposés à être un facteur clé dans la toxicité de la Doxorubicine et les événements contrôlant cette blessure oxydatif sont largement appréciés [9].

L'administration de la Doxorubicine conduit à la production des radicaux libres. La NADPH-cytochrome P-450 convertit la Doxorubicine à un produit semi-quinone qui conduit ensuite à la génération de l'anion superoxyde, le peroxyde d'hydrogène et le radical hydroxyle causant la peroxydation des lipides membranaires [10].

Les flavonoïdes sont des substances naturelles qui acquièrent diverses propriétés pharmacologiques et des applications thérapeutiques, ils sont endossée aux structures phénoliques qui ont l'efficacité antioxydante et de limiter les processus médités par les radicaux libres. Les flavonoïdes sont composés de plusieurs classes, y compris flavonols, Flavones, flavanols et flavans [11].

Dans cette étude, nous avons évalué l'effet protectif de l'extrait butanolique de la plante *Genista sp.* Contre la toxicité hépatique induite par la Doxorubicine chez des rats males de souche *Wistar Albinos*.

# PARTIE I

# SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

## I-Généralités sur les anticancéreux

Les anticancéreux s'opposent à la multiplication des cellules cancéreuses par différents mécanismes. En raison de son très grand nombre de multiplications, la cellule cancéreuse finit par apprendre à se protéger contre l'anticancéreux [12].

### I-1-Stratégie thérapeutique

Le traitement du cancer repose sur la destruction des cellules cancéreuses, le but étant d'éliminer « la dernière cellule cancéreuse ». Il existe plusieurs moyens pour traiter le cancer et lutter contre la résistance aux traitements anticancéreux.

Une équipe est constituée d'un oncologue, chirurgien, radiothérapeute et d'un chimiothérapeute définit pour chaque cas ou les traitements les mieux adaptés.

- La chirurgie : permet l'exérèse (ablation) totale ou partielle de la tumeur [13].
- La radiothérapie : consiste à brûler la tumeur et le tissu environnant.
- La chimiothérapie : consiste en l'utilisation de substances capable de stopper la prolifération des cellules cancéreuses et leur dissémination.
- L'hormonothérapie: va bloquer les hormones par des antihormonaux ou stopper la production de ces hormones.
- L'immunothérapie: permet de diminuer la prolifération des cellules de système immunitaire en créant une dépression immunitaire [12-14].

### I-2 - Principaux produits rencontrés

Il n'y a pas de domaine réservé pour un anticancéreux particulier. L'indication donnée sera fonction des protocoles expérimentés.

**I-2-1-Moutardes azotées:** ce sont des alkylants, dérivés du gaz de moutarde, gaz chloré :

- **Endoxan** (cyclophosphamide).
- **alkéran** (melphalan).
- **holoxan** (ifosfamide).

**I-2-2 -dérivés du platine:** ce sont des alkylants, ils ont une toxicité rénale, hématologique, auditive:

- **cysplatyl** (cisplatine).

**I-2-3 -Anthracyclines:** ce sont des intercalants, les anthracyclines sont des antibiotiques anticancéreux :

- **Adriablastine** (adriamycine) : à partir de cette substance ont été synthétisés de nombreux dérivés comme : **farmorubicine** (épirubicine) et **Doxorubicine** (générique).

**I-2-4 -Vinca-alcaloïdes** : ce sont des dérivés d'une plante, la pervenche de Madagascar [15].

### **I-3 -Effets secondaires des anticancéreux sur certains organes**

#### **I-3-1 -Toxicité cardiaque**

Elle est fréquente avec les anthracyclines (antibiotiques anticancéreux intercalant). Elle s'exprime par des troubles du rythme de la tachycardie.

#### **I-3-2 -Toxicité rénale**

Elle est rencontrée fréquemment avec les dérivés du platine .elle s'exprime par une insuffisance rénale, conséquence d'une vasoconstriction intra-rénale, et d'une toxicité directe sur les néphrons [16].

#### **I-3-3 -Troubles neurologiques**

- ✓ Atteinte de la vigilance : état de conscience.
- ✓ Atteintes périphériques : fourmillement, troubles de la motricité.
- ✓ Douleurs : polynévrites.

#### **I-3-4 -Toxicité pulmonaires**

Elle est fréquente, elle s'exprime par une insuffisance respiratoire.

#### **I-3-5-Toxicité hépatique**

Insuffisance hépatique progressive à dose cumulative. Elle s'exprime par des douleurs hépatiques, une élévation des transaminases, un ictère [15].

## **II-Doxorubicine (DOXO)**

Médicament anticancéreux, aussi connu sous le nom Adryamycine ou Adriblastine utilisé en chimiothérapie pour de nombreux types de tumeurs telles que le cancer du sein, le cancer de l'ovaire, la leucémie et d'autres types de cancers [17]. Un antibiotique de famille de l'anthracyclines et est produite par des bactéries du genre *Streptomyces*. La première fois isolée était en 1960 et approuvée par the Food and Drug Administration (FDA) en 1974 [18].

## II-1-Structure et Propriétés chimiques

La formule générale ( $C_{27}H_{29}NO_{11}HCl^{-}$ ), Le poids moléculaire est estimé à 580. La DOXO est composée de quatre anneaux tétracycline liés à la daunosamine (un amino-sucre) par une liaison glycosidiques (figure 1).

Elle est Caractérisée par l'existence d'un noyau Quinone et Hydroquinone, ce qui permet à la molécule de perdre ou de gagner des électrons, de réserver également des ions métalliques et de donner la couleur rouge caractéristique de ce composé [19].

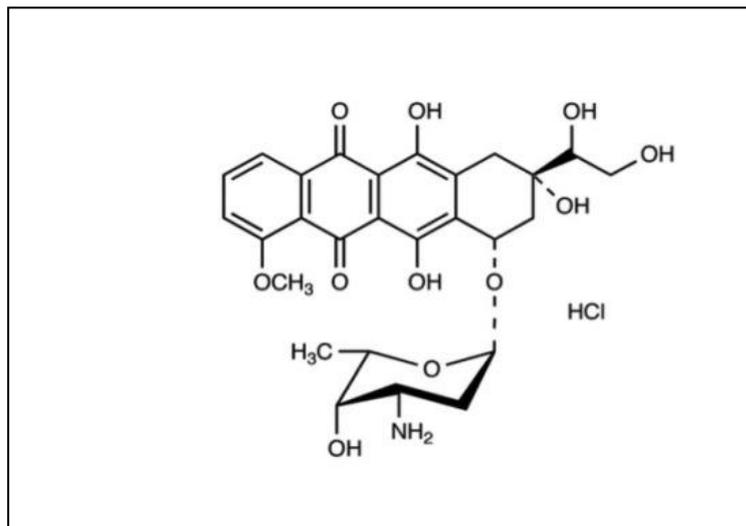


Figure 1 : structure chimique de la Doxorubicine [20].

## II-2 - La pharmacocinétique de la Doxorubicine

### II-2-1-L'absorption et distribution

La Doxorubicine est injectée par voie intraveineuse. Ce médicament est rapidement distribué aux divers tissus du corps où il est concentré dans les noyaux des cellules, la concentration est élevée dans le foie et le cœur, les poumons, les reins, la rate et l'intestin grêle, tandis qu'une faible concentration dans le cerveau.

La demi-vie de distribution initiale d'environ 5 minutes, tandis que son élimination est lente à partir des tissus qui se traduisent par une demi-vie terminale de 20 à 48 heures. La Doxorubicine ne traverse pas la barrière hémato-encéphalique [21].

## II-2-2 – Métabolisme hépatique

Le métabolisme de la Doxorubicine se déroule principalement au niveau du foie et est un processus très complexe et comprend plusieurs des interactions :

- réduction de la Fonction carbonyle (C = O) de l'atome de carbone numéro 13 dans de la chaîne latérale de la Doxorubicine à un groupement alcoolique (OH) et cela par stimulation de l'enzyme cytoplasmique (NADPH-dépendent Aldo-céto réductase) et formation du métabolite hydroxy Doxorubicine (figure 2), nommé doxorubicinol qui est le principal métabolite actif de ce médicament [17].
- déglycosylation en activant l'enzyme cytochrome P450 réductase et formation de hydroxy aglycones ou déoxy aglycones.
- Ensuite la Doxorubicine et ses métabolites sont excrétés par la bile sous forme de DOXO ou doxorubicinol après 24Heures d'absorption ou bien sous forme de sulfates et glucuronides après 48Heures.

La réduction enzymatique et le clivage en sucre de daunosamine aglycone sont accompagnés par la formation des radicaux libres.

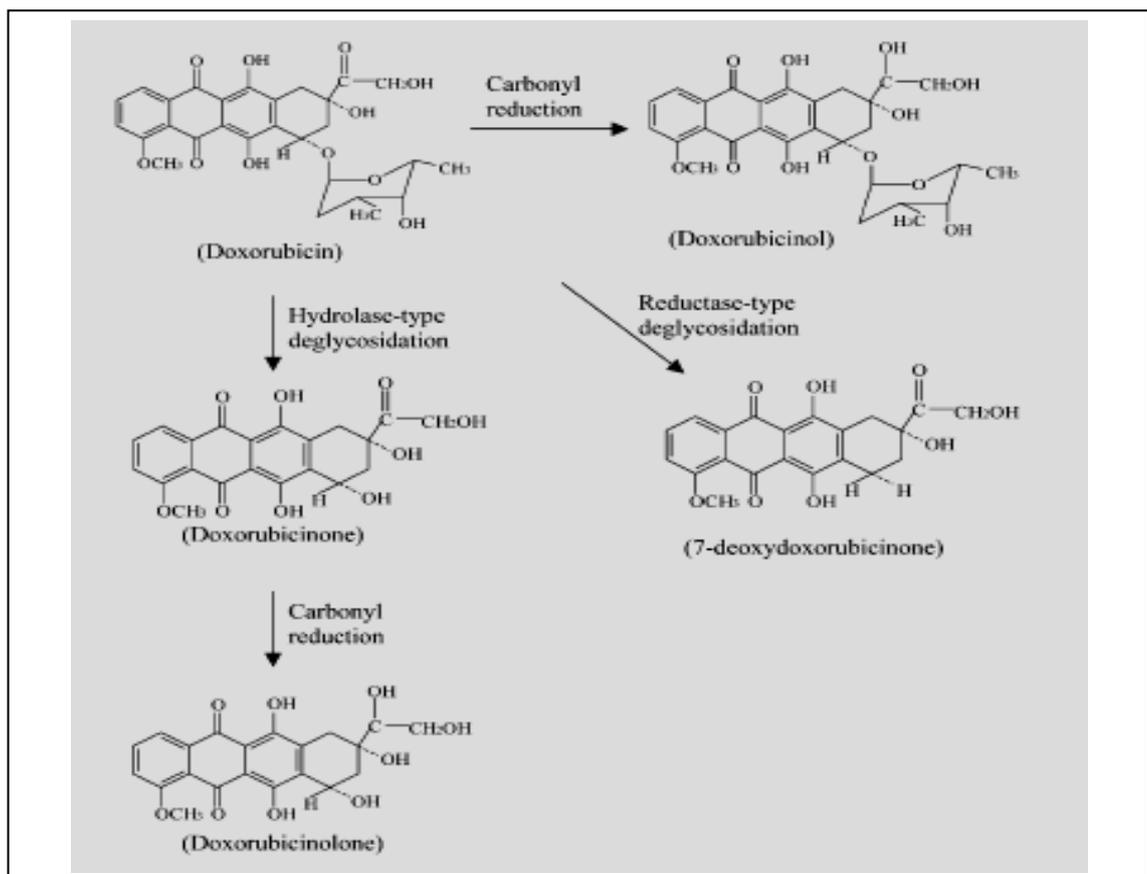


Figure 2 : métabolisme hépatique de la Doxorubicine [17].

### **II-2-3-L'élimination**

L'élimination est biliaire. Environ 40% de la dose apparaît dans la bile en 5 jours, alors que seulement 5 à 12% du médicament et de ses métabolites apparaît au cours de la même période de temps dans l'urine [17].

### **II-3-Mécanisme d'action**

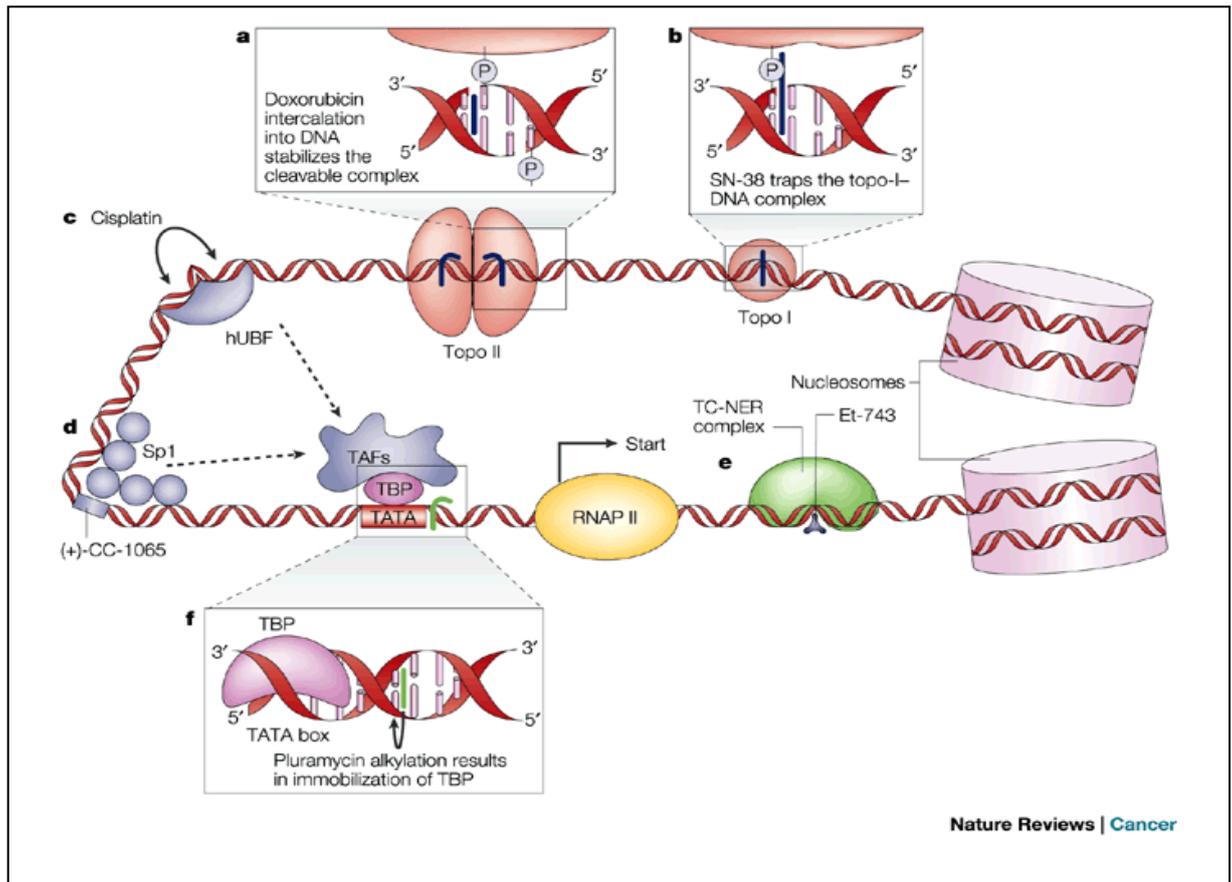
#### **II-3-1-l'interaction avec les bases azotées de l'ADN**

La DOXO s'insère entre deux paires de bases azotées, modifiant ainsi la structure de l'ADN [22]. Ce changement conduit à entraver la corrélation enzymatique, les enzymes de réplication de l'ADN polymérase, des enzymes de clonage ARN polymérase, les enzymes de réparation de l'ADN .... Et inhibent ainsi les processus de réplication [23].

#### **II-3-2- Inhibition de l'enzyme topo-isomérase II**

La topo-isomérase II, qui est un enzyme nucléaire chargée de modifier l'ADN lors de la transcription, la réplication et la mitose [24]. Elle permet notamment d'ajouter et d'enlever des super tours dans les molécules d'ADN [25].

la Doxorubicine se relie avec le topo-isomérase II par des liaisons covalentes stables (irréversibles) formant ainsi le complexe topo-isomérase II -ADN-DOXO qui inhibe l'enzyme topo-isomérase II ce qui conduit à la mort cellulaire (figure 3) [26].



**Figure 3 : interaction dans l'ADN et stabilisation de l'enzyme topoisomerase II [27].**

### II-3-3-Inhibition de l'enzyme helicase

Une helicase est une enzyme qui catalyse le dénouement de la double hélice d'ADN pour permettre la réplication. Des nouvelles études estiment l'inhibition de cet enzyme par la doxorubicine [25].

### II-3-4-Production des radicaux libres

Les composés de dégradation de la Doxorubicine entraîneraient la formation de radicaux libres tels que l'anion superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ), le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), et le radical hydroxyle ( $OH^{\bullet}$ ). Ces radicaux libres endommageraient l'ADN, les protéines et les constituants des membranes cellulaires [28].

### III-La Doxorubicine et l'hépto-toxicité

#### III-1-Le foie

Le foie est un organe vital, tout comme le cœur et les poumons. Il est souvent l'organe cible chez les animaux d'expérience [29], car il remplit de multiples fonctions et son rôle est très important dans le maintien de l'équilibre général. Il participe à la digestion, à l'emmagasinage des aliments ainsi qu'à la détoxification (en aidant l'organisme à se débarrasser de ses poisons) et à l'élimination via les canalicules biliaires [30].

De point de vue histologique, le foie est constitué de cellule hépatique (hépatocytes) organisées en travées autour des sinusoides (figure4). L'unité fonctionnelle du foie est le lobule hépatique qui est entouré d'espaces portes, où sont groupées les branches de l'artère hépatique, de la veine porte et des canaux biliaires [31].

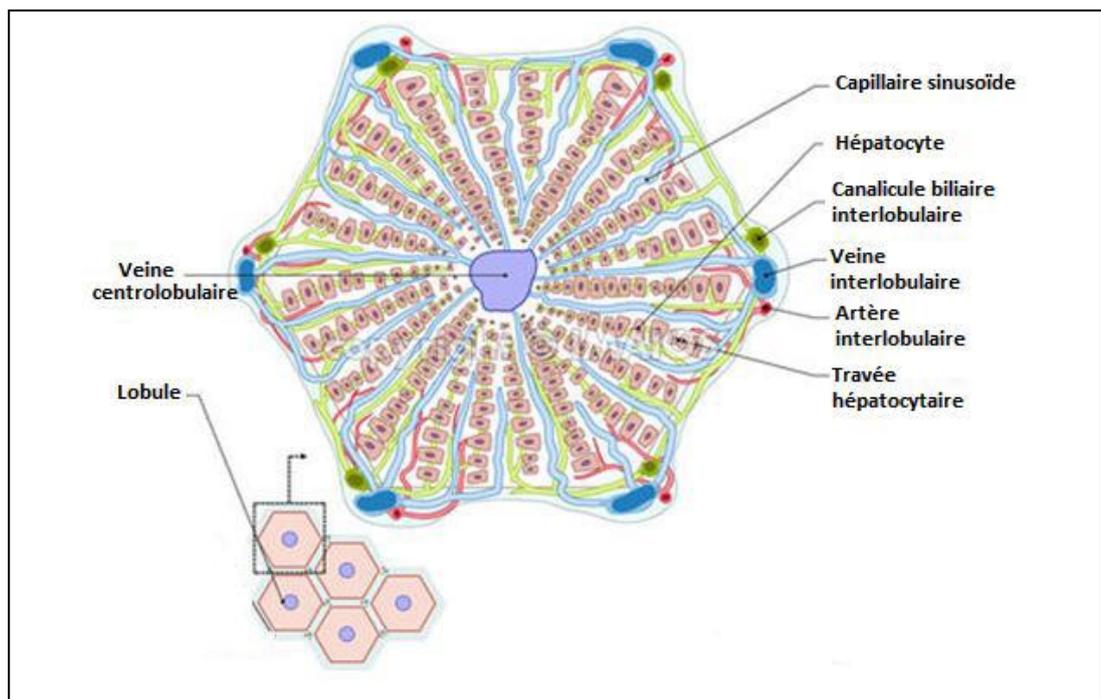


Figure 4 : organisation structurale du lobule hépatique

[31].

### III-2-Rôle du foie dans le métabolisme des toxiques

Le foie a un rôle majeur dans la biotransformation de toutes les substances circulant dans le sang, y compris les toxiques. A ce niveau, les toxiques peuvent être neutralisés ou activés en subissant deux types de réactions : les réactions de la phase I et les réactions de la phase II [32].

#### III-2-1-Réactions de la phase I (Fonctionnalisation)

La structure des xenobiotiques va être modifiée essentiellement au niveau hépatique par des réactions d'oxydation, de réduction et d'hydrolyse. Les dérivés obtenus ont alors des groupements fonctionnels hydroxyle ( $\text{OH}^-$ ), amine ( $\text{NH}_2$ ) ou carboxyle ( $\text{COOH}^-$ ) rendant la molécule suffisamment hydrosoluble pour être éliminée directement ou subir les réactions de phase II. Les réactions d'oxydation sont majoritairement catalysées par les cytochromes P450 (figure5). Les métabolites produits sont parfois pharmacologiquement actifs. Ils peuvent être présents dans la circulation générale simultanément à la molécule mère [33].

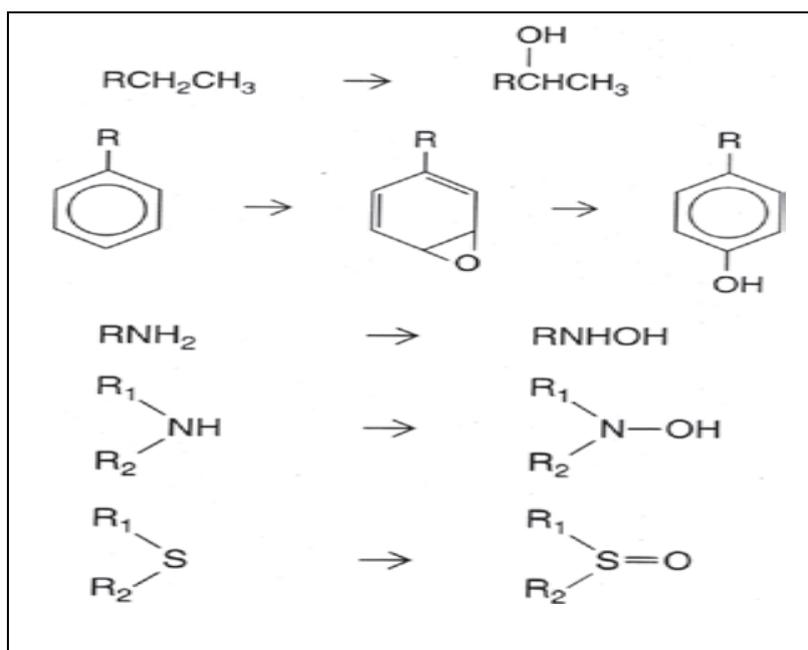


Figure 5 : exemple de réaction d'oxydation [33].

### III-2-2-Réactions de la phase II (Conjugaison)

Ces réactions assurent le transfert de groupements polaires des molécules endogènes (acide glucuronique, glycine, sulfate) vers les xenobiotiques.

La glucurono-conjugaison, correspondant au transfert de l'acide glucuronique. Cette réaction est catalysée par les UDP-glucuronyl transférases et représente le mécanisme prédominant. D'autres transferts de radicaux existent : glycine et glycoconjugaison catalysée par les glycotransférases, sulfate et sulfo-conjugaison catalysée par les sulfo-transférases, méthyle, glutathion, acétyle...

### III-3-Différents types d'hépatotoxicité

L'ensemble des atteintes toxiques généralement figurés au niveau hépatique sont regroupés sous le mot l'hépatotoxicité. Ces atteintes dépendent fréquemment de la nature du toxique, la sévérité de l'intoxication, et ainsi du type d'exposition (aiguë ou chronique) : Stéatose, les Hépatites aiguës (Nécrose, Fibrose, Cytolyse, Cholestase), les Hépatites chroniques (Cirrhose), ainsi que les dommages vasculaires, biliaires et tumorales [31].

### III-4-Hépatotoxicité induite par la Doxorubicine

La Doxorubicine, est un agent important qui a un large spectre contre les tumeurs humaines. Cependant, son utilisation dans la chimiothérapie du cancer est limitée à cause de sa toxicité. Sa structure chimique de base quinone, son métabolisme hépatique, ainsi son mécanisme d'action induisent la formation des radicaux libres qui sont à l'origine de l'hépatotoxicité induite par ce médicament. L'induction du stress oxydatif causé par la génération des radicaux libres, provoque un déséquilibre aux niveaux des enzymes antioxydantes endogènes : Il a été mentionné que la Doxorubicine cause une augmentation des niveaux de la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et le glutathion peroxydase (GPx) de cobayes [34].

Cependant, l'administration d'une dose unique de Doxorubicine diminue la teneur en cytochrome P-450 et le glutathion dans le foie du rat, et des niveaux élevés de glutathion ont été prouvés pour protéger les hépatocytes isolés de la toxicité induite par la Doxorubicine [35-36-37].

Cette perturbation dans le système enzymatique (antioxydant), se manifeste par la peroxydation lipidique et l'oxydation des protéines ce qui conduit à une lésion tissulaire hépatique

## IV-Doxorubicine et stress oxydant

### IV-1-Le stress oxydant

Pour mieux comprendre le phénomène du stress oxydant il faut tout d'abord connaître que signifie les radicaux libres (RL) et qui peuvent être défini autant qu'espèces chimiques (partis de molécules, des molécules ou des atomes) contenant un ou plusieurs électrons non appariés dans leur couche externe [38]. La présence de cette électron non apparié permet à ces molécules d'avoir une grande instabilité, qui est exprimée par une réactivité extrême et une vie très courte et qui leur permet de jouer un rôle d'accepteurs d'électrons en soustrairont les électrons à d'autres molécules, cette perte d'électrons coïncide au processus de l'oxydation [39-40].

Alors que Le Stress Oxydant (SO) est actuellement défini comme "un déséquilibre de la balance entre les prooxydants et les antioxydants en faveur des premiers, conduisant à une perturbation du contrôle et de la signalisation redox des cellules et/ou à des dommages moléculaires. Le système pro-oxydant comprend les espèces réactives de l'oxygène (ERO) et de l'azote (ERN). Celles-ci sont composées en grande partie de radicaux libres, et de molécules non-radicalaires mais néanmoins oxydantes, qui comme les RL sont hautement réactives (Tableau 1). Une augmentation de la présence des ERO et ERN est le résultat d'une augmentation de leur production et/ou d'une diminution du système antioxydant chargé de les neutraliser [41].

**Tableau 1 : Principales espèces réactives de l'oxygène et de l'azote [42].**

Espèces Réactives dérivées de l'Oxygène (ERO)		Espèces Réactives dérivées de l'Azote (ERN)	
Anion superoxyde	$O_2^{\circ-}$	Oxyde nitrique	$NO^{\circ}$
Radical hydroxyle	$OH^{\circ}$	Peroxy-nitrite	$ONOO^-$
Peroxyde d'hydrogène	$H_2O_2$	Acide proxy-nitreux	$ONOOH$
Radical Peroxyle	$ROO^{\circ}$	Dioxyde de nitrogène	$NO_2$
Hydroperoxyde	$ROOH$		
Oxygène singulet	$^1O_2$		
Ozone	$O_3$		

#### IV-1-1-Sources des radicaux libres

Les ERO et ERN peuvent être, soit de source exogène, soit de source endogène. Les sources exogènes sont surtout d'origines physique et chimique (par exemple les radiations X ou gamma, les UV [315-400 nm], la radiolyse de l'eau, les réactions photochimiques ...). Concernant les origines endogènes, le principal précurseur des ERO et ERN est l'anion superoxyde ( $O_2^{\circ-}$ ), provient de différentes sources cellulaires (Figure 6) [43].

L'anion superoxyde peut être formé à partir des enzymes qui se retrouvent dans la paroi vasculaire telle que les NADPH oxydases qui font intervenir la NADH ou la NADPH.

L'oxydation de l'acide arachidonique lors de son métabolisme par les lipo-oxygénases ou les cyclo-oxygénases permis la formation des hydro-péroxydases indispensables pour les leucotriennes.

La xanthine oxydase qui joue un rôle très important dans la production des RL tel que l'anion superoxyde et le Peroxyde d'hydrogène lors de la perfusion ou de l'ischémie [44].

Au niveau de la mitochondrie la réduction de l'oxygène par les voies enzymatiques permet la formation de l' $H_2O_2$  qui subit une réduction mono-électronique qui conduit à la production de l'anion superoxyde, Ce dernier intervient dans d'autres réactions en produisant le radical hydroxyle [45].

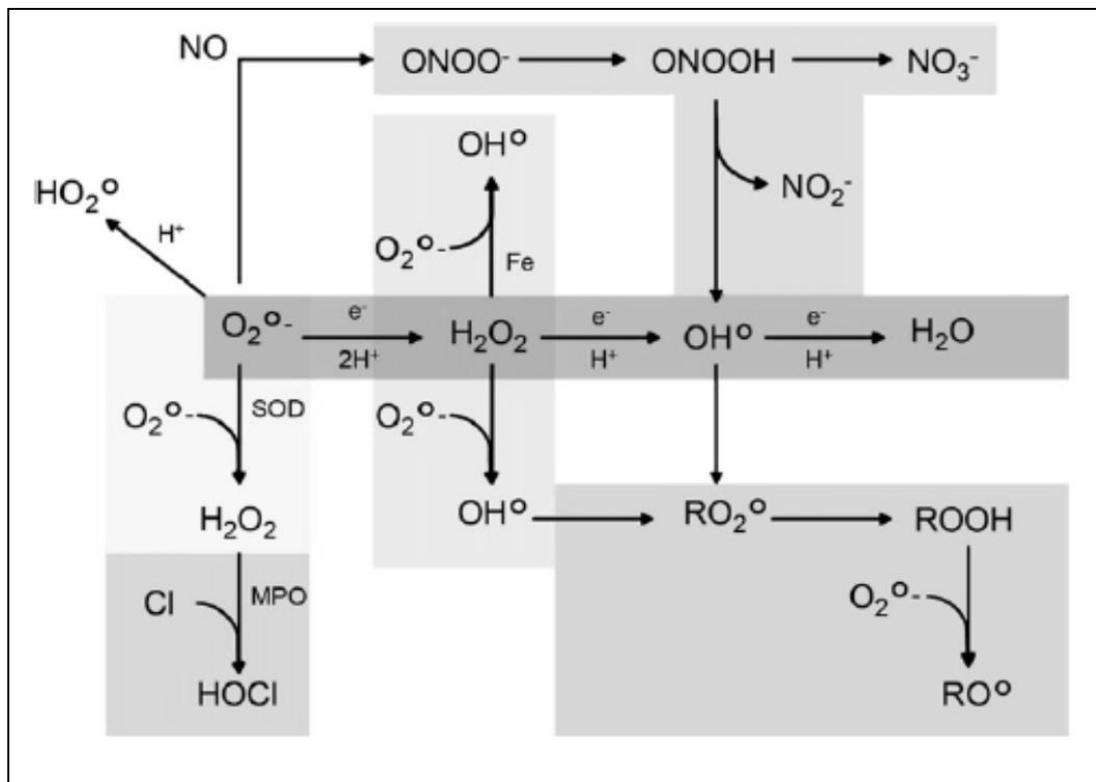
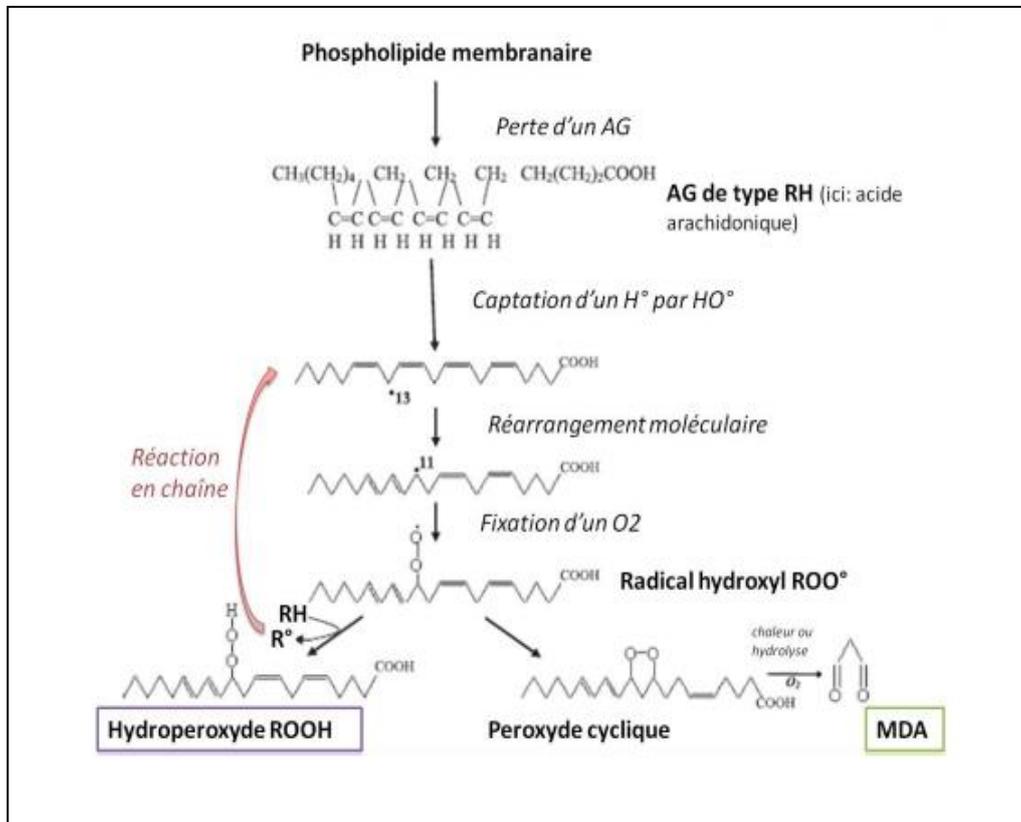


Figure 6 : Formation en cascade des différentes espèces oxygénées réactives à partir du radical superoxyde [46].

#### IV-1-2-Pathologies induites par les radicaux libres

Les RL produisent des lésions au niveau des organes, ces dernières se traduisent par une peroxydation des acides gras polyinsaturés (figure 7) en provoquant l'altération des membranes lysosomiales et mitochondriales. Effectivement ce phénomène conduit à une déformation membranaire sous forme de percées ioniques [47].



**Figure 7: Oxydation d'un phospholipide membranaire conduisant soit à une réaction en chaîne de peroxydation lipidique soit à un réarrangement moléculaire [53].**

La toxicité des RL atteint précisément les protéines porteuses d'un groupement sulfhydryle. Telle que les enzymes cellulaires en induisant des dommages majeurs qui s'expriment par des perturbations au niveau des réactions biochimiques stimulées ces enzymes.

Aussi l'atteinte des tissus conjonctifs et précisément l'acide hyaluronique et les micro-fibrilles du collagène qui sont les constituants basiques de ces tissus. Cette atteinte survient sous forme de fibrose et de sclérose [48].

Enfin l'atteinte des acides nucléiques se fait au niveau des chromosomes en induisant une peroxydation lipidique qui provoque des lésions au niveau de l'ADN (figure 8) avec dénaturation, entraînant des cassures chromosomiques avec de graves conséquences sur la

multiplication, la réplication ou la transmission du message génétique et donc sur la synthèse des protéines. Cela explique le grand nombre de maladies où les RL sont accusé [49].

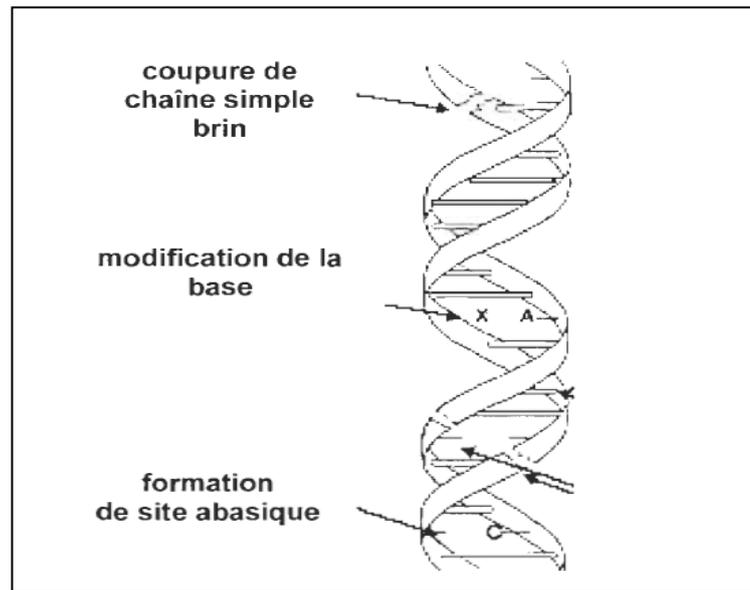


Figure 8: Lésions de l'ADN induites par les radicaux libres [50].

### IV-1-3-Les systèmes antioxydants

#### IV-1-3-1-Les systèmes antioxydants enzymatiques

##### ➤ Les superoxydes dismutases (SOD)

L'élimination des radicaux super-oxydés se fait par les SOD en dismutant le radical en  $\text{H}_2\text{O}_2$  et en  $\text{OH}^+$  et  $\text{OH}^-$ . Les superoxydes dismutases se différencient en Mn SOD qui se trouve au niveau des mitochondries, le Cu Zn SOD au niveau du cytosol et des érythrocytes [51]. L'activité des SOD est dépendante des apports nutritionnels en cuivre et à un moindre degré en zinc.



##### ➤ Les catalases

Elles se situent principalement au niveau des peroxysomes. Elles catalysent la réduction du peroxyde d'hydrogène  $\text{H}_2\text{O}_2$  en libérant de l'oxygène et de l'eau, mais elles ne l'éliminent pas totalement en effet elles jouent un rôle très important en permettant d'éliminer l'excès de peroxyde d'hydrogéné afin que la réaction de Fenton ne puisse pas s'amplifier et surtout en présence d'ions ferreux [52].

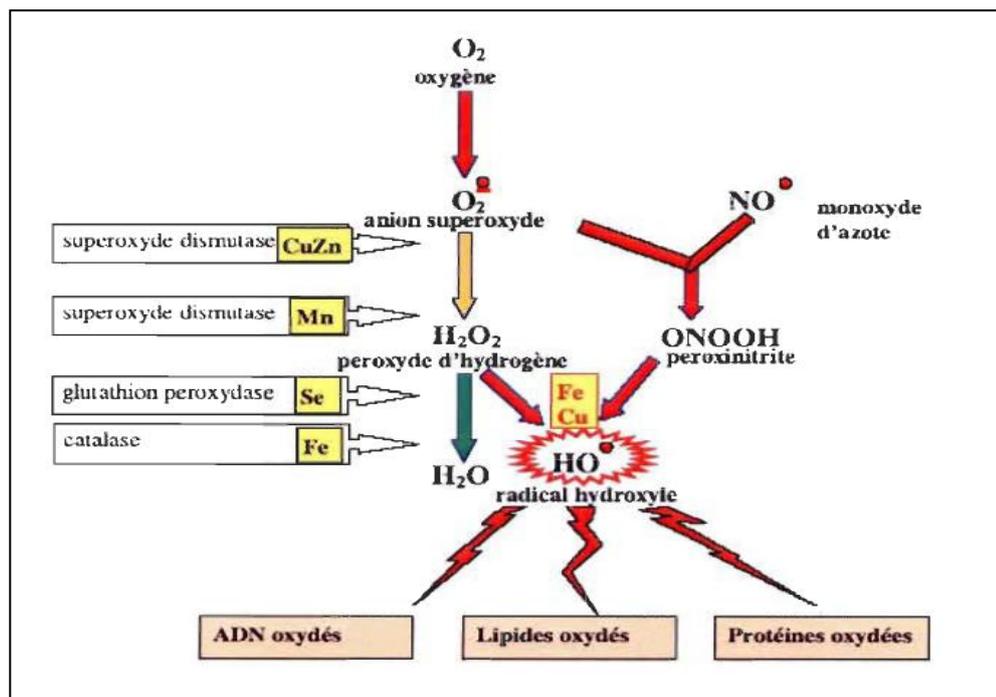


### ➤ Les glutathion peroxydases (GP<sub>X</sub>)

Les GP<sub>X</sub> connues sont des Enzymes à sélénium. Pour leur fonctionnement elles utilisent le glutathion réduit (GSH) comme cofacteur sur lequel elles transfèrent l'oxygène, et le transformant en glutathion oxydé (GSSG). Elles agissent en réduisant le peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et les hydro-péroxydes lipidiques [54].



Pour une bonne adaptation cellulaire ou une inactivation enzymatique, la synthèse de GP<sub>X</sub> est contrôlée par la nature et l'intensité du stress oxydant, ainsi que l'élimination des radicaux libres nécessite une coopération entre les SOD et les GP<sub>X</sub> (figure 9) car elles ont des fonctions complémentaires les unes aux autres [55- 56].



**Figure 9: Principaux systèmes enzymatiques antioxydants impliqués dans le contrôle des ROS [50].**

### IV-1-3-2-Les systèmes Antioxydant non enzymatiques

#### ➤ Vitamine E

La vitamine E est un Antioxydant liposoluble, elle agit in vivo et in vitro .elle se transforme en radical Libres non toxique. La vitamine E permet de diminuer la peroxydation Lipidique dans la membrane cellulaire [60]. Elle est très active dans la résistance à L'oxydation des LDL [58-59].Lors de la neutralisation des radicaux libres, c'est la vitamine C qui assure la réduction de la vitamine E [57].

#### ➤ Vitamine C

La vitamine C agit peut in vitro contrairement in vivo. La vitamine E est régénérée par la vitamine C sous forme réduite cette action est catalysée par la déshydroascorbate réductase qui fait intervenir le glutathion comme cofacteur [61]. Elle réagit avec les espèces réactives de l'oxygène comme (HO<sup>•</sup>) ou (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>). Elle aide à prévenir l'oxydation lipidique [62].

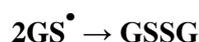
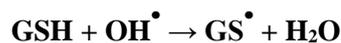
#### ➤ Le b-carotène

La principale source du B-carotène est l'alimentation, il peut agir comme un précurseur pour la vitamine A. Aussi il a le pouvoir de capter l'oxygène singulet sous faible pression d'oxygène et il s'oppose à la génotoxicité de nombreux agents en protégeant les structures cellulaires contre l'agression oxydante [60].

#### ➤ Glutathion

Le glutathion joue un rôle majeur dans la protection des lipides, des protéines et des acides nucléiques contre l'oxydation [63].

En situation de stress oxydant, son rôle protecteur et détoxifiant résulte principalement de sa fonction de coenzyme des GPx [64].



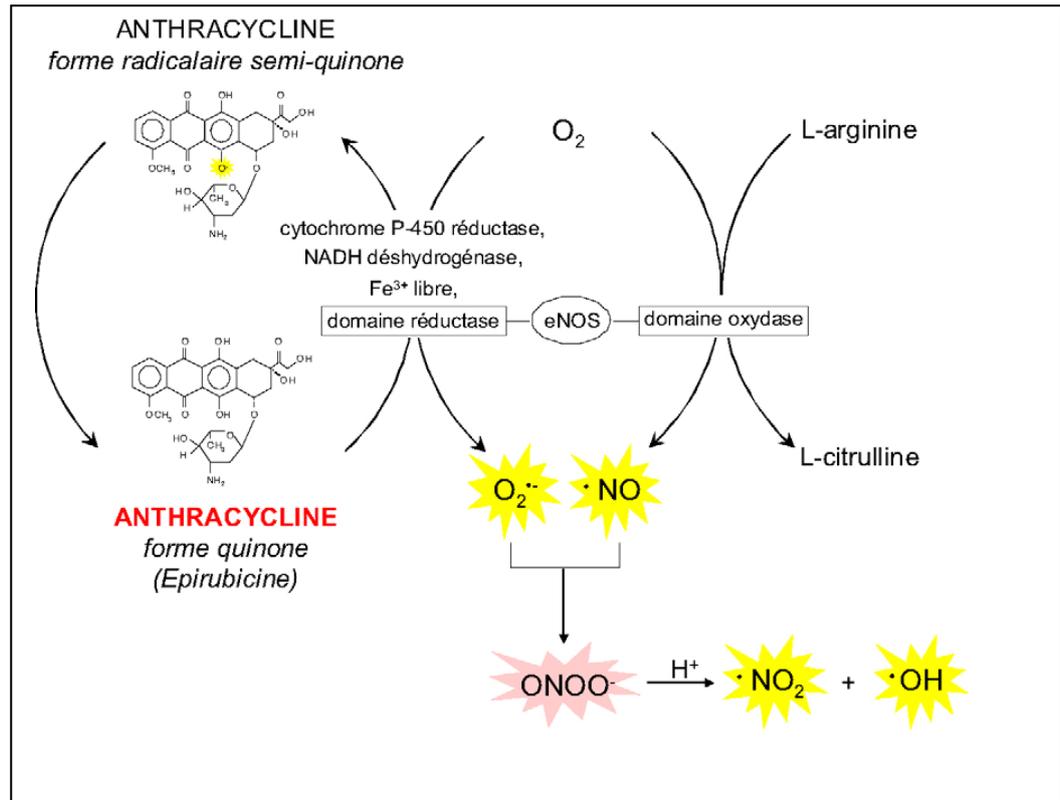
#### IV-4-Doxorubicine et stress oxydatif

L'hypothèse du développement d'un stress oxydatif induit par un traitement aux anthracyclines a été largement documentée. L'augmentation de la production de radicaux libres associée à une diminution des systèmes de défense antioxydant serait, en partie à l'origine des atteintes irréversibles observées aux différents niveaux [65].

##### IV-4-1-Formation d'espèces activées de l'oxygène lors du métabolisme des anthracyclines

Les anthracyclines sont capables d'induire une production accrue des radicaux libres 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 par le gain d'un électron. Ce dérivé peut lui-même subir une réduction en hydroquinone, ou retourner à la forme quinone en cédant son électron célibataire à l'oxygène moléculaire, produisant ainsi des radicaux superoxydes ( $O_2^{\bullet-}$ ) qui sera également oxydé par le superoxyde dismutase pour former du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ). A ce stade, le ( $H_2O_2$ ) peut entraîner la formation de radicaux hydroxyles ( $OH^{\bullet}$ ), un des radicaux libres les plus réactifs et destructifs, mais peut aussi être éliminé par la catalase et la glutathion peroxydase [28].
- ❖ Une deuxième voie de génération de radicaux libres par les anthracyclines fait intervenir la formation d'un complexe organométallique entre les anthracyclines et le fer (figure 10). 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 très stable :  $Fe^3$  (anthracyclines)<sup>3</sup>. Ce complexe peut subir un cycle interne d'oxydoréduction, donnant naissance à un complexe radicalaire  $Fe^{2+}$ –(anthracyclines)<sup>3</sup>. Ce dernier peut céder son électron supplémentaire à l'oxygène moléculaire et aboutir ainsi à la formation des radicaux ( $O_2^{\bullet-}$ ) [66].



**Figure 10 : Production des radicaux libres par réaction enzymatique d'oxydoréduction de la fonction quinone des anthracyclines [67].**

## V- Les Polyphénols

Les polyphénols sont des molécules synthétisées par les végétaux. Ils appartiennent à leur métabolisme secondaire et participent à leur défense contre les agressions environnementales. Ce sont des phyto-micronutriments et généralement des pigments responsables des teintes automnales des feuilles et des couleurs des fleurs et fruits (jaune, orange, rouge). C'est une classe constituée d'environ 8 000 composés, divisés en plusieurs catégories [69]. Ils représentent toutes un point commun: la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH) [68].

On les trouve généralement dans la nourriture, les sources de nourriture les plus importantes sont les fruits et des légumes, thé vert, thé noir, vin rouge, café, chocolat, des olives, et huiles d'olive extra vierges qui contiennent au moins 36 structures des composés phénoliques. Les herbes et les épices, les écrous et les algues sont également potentiellement significatifs pour fournir certains polyphénols. Quelques polyphénols sont spécifiques à la nourriture particulière (flavanones en agrumes, isoflavones dans le soja, l'acide chlorogénique et les petites quantités d'autre acides hydroxycinnamique, plusieurs glycosides de quercétine, et anthocyanines dans les pommes) [70-71-72-73]. Elles sont subdivisées en groupes (figure 11) par le nombre d'anneaux phénoliques et des éléments structuraux qui lient ces anneaux [74].

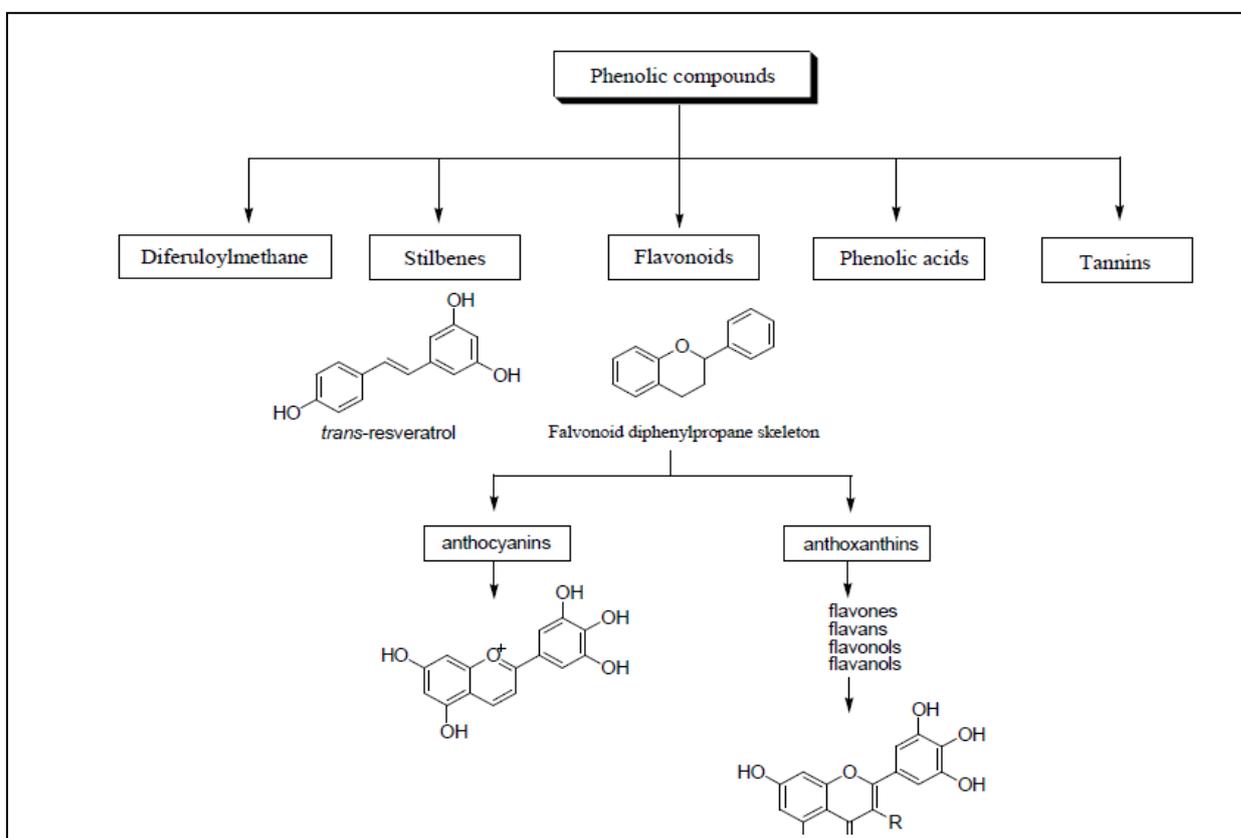


Figure 11: Classification of dietary polyphénols. [75]

- **Les acides phénoliques**
- **Les stilbenes**
- **Les alcools phénoliques**
- **Les tanins**
- **Lignans**
- **Les flavonoïdes**

### V-1-Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont les polyphénols les plus abondants dans les régimes humains, ils sont principalement divisés en :

\* **anthocyanines** : dérivé d'anthocyanidines glycosylées présent en fleurs colorés et dans les fruits.

\* **les anthoxanthins** : un groupe de composés sans couleur encore divisé en plusieurs catégories incluant Flavones, flavans, flavonols, flavanols, isoflavones Néo-flavonoïdes, flavanones et leurs glycosides.

Les flavonols sont principalement représenté par la myricétine, le fisetin, la quercétine et le kaempferol [76].

Les flavonoïdes ont l'épine dorsale C6-C3-C6 structurale générale en laquelle les deux unités C6 sont de nature phénolique [77].

#### V-1-1-Les Isoflavones, Néo-flavonoïdes et Chalcones

Les isoflavones ont leur anneau B attachées à la position C3 de l'anneau C. Elles sont la plupart du temps trouvées dans la famille légumineuse des plantes ils on un grand impact sur la santé humaine [78-79]. Toutes les aglycones d'isoflavone sont la plupart du temps trouvées en tant que 7-O - des glucosides et 6- O - malonyl-7- O - des glucosides.

Les Neoflavonoïdes ne sont pas souvent trouvés aux plantes de nourriture, mais le dalbergin qui est le neoflavone le plus commun et le plus distribué dans le royaume des plantes [80].

Les chalcones d'anneau ouvert sont trouvées dans les fruits tels que les pommes ainsi que dans Les houblons ou les bières [81-82].

### V-1-2-Flavones, Flavonols, flavanones et Flavanonols

Les Flavones sont structurellement très proches des flavonols, la différence provenant de l'absence de l'hydroxyle en C3 [83]. Les flavonols sont des composés flavonoïdes largement répandus. La myricétine, la quercétine, l'isorhamnétine et le kaempferol sont la plupart du temps présents sous forme d'O-glycosides. La conjugaison est le plus souvent en position 3 du noyau aromatique C, bien que des substitutions en positions 5, 7, 4', 3' et 5' soient possibles. Le nombre d'aglycones est assez faible, mais il existe un très grand nombre de conjugués [84].

Les flavanones sont les premiers produits de la voie de synthèse des flavonoïdes. Elles sont caractérisées par l'absence de la double liaison entre C2 et C3 et par la présence d'un centre de chiralité en C2 [85-86].

### V-1-3-Les flavan-3-ols

Les flavan-3-ols sont la catégorie de flavonoïdes la plus complexe. Ces composés vont des simples monomères(+)-catéchine et son isomère (-)-épicatéchine, jusqu'aux oligomères et polymères de pro-anthocyanidines. Les pro-anthocyanidines sont formées de la catéchine et de l'épicatéchine avec des couplages oxydatifs entre les positions C4 de l'hétérocycle et C6 ou C8 du monomère adjacent. Les oligomères de procyanidines sont formés de 2 à 5 unités de catéchines ou d'épicatéchines, les polymères étant formés de 6 unités ou plus. De plus, les flavan-3-ols peuvent être estérifiés avec l'acide gallique ou bien hydroxylés pour former des gallo-catéchines (épicatéchine gallate, épigallo-catéchine, épigallo-catéchine gallate) et des gallo-tanins [87] (Figure 12).

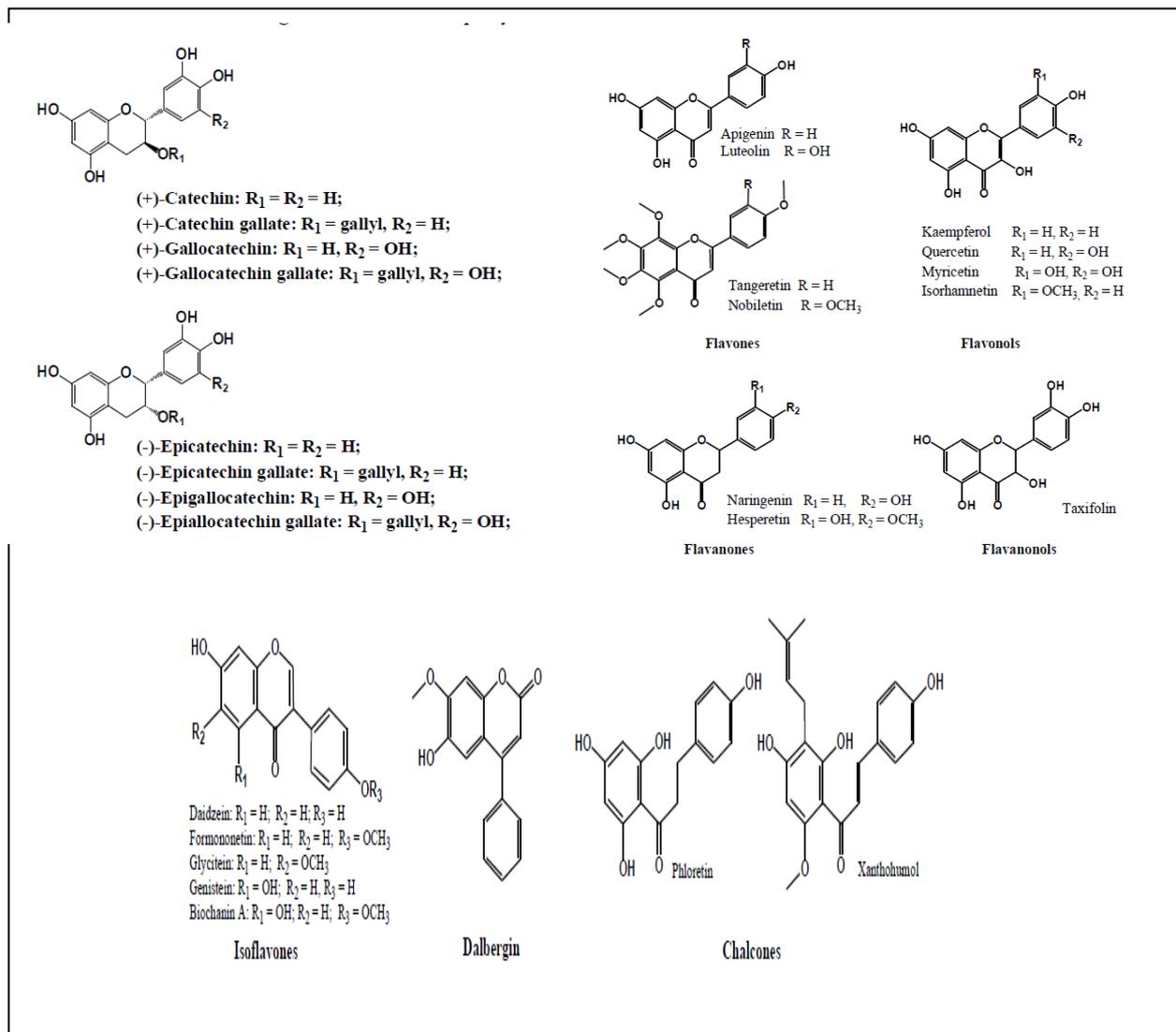


Figure 12 : Les structures des flavonoïdes [88]

## V-2 Le métabolisme des flavonoïdes

L'absorption des flavonoïdes libérés de la nourriture par la mastication dépendra de ses propriétés physico-chimiques. Les flavonoïdes peuvent être soit absorbés par le petit intestin ou doivent aller aux deux points avant l'absorption. Sa dépendre de la structure du flavonoïde, c'est-à-dire, s'il est glycoside ou aglycone. Les flavonoïdes Aglycones peuvent être facilement absorbés par le petit intestin, alors que les flavonoïdes glycosides doivent être convertis en forme aglycan.

Les flavonoïdes glucosides hydrophile tel que la quercétine sont transportés à travers l'intestin grêle par (l'intestinal  $Na^+$ - Co-transporter dépendant de glucose) (SGLT1) [89].

Un mécanisme alternatif suggère que les flavonoïdes glycosides sont hydrolysés par l'hydrolase de phloridzin de lactase (LPH), et par  $\beta$ -glucosidase sur la membrane extérieure de la brosse de

l'intestin grêle (le petit intestin). Plus tard, l'aglycone libérée peut être absorbé par lui même [90].

Les glycosides qui ne sont pas des substrats pour ces enzymes sont transportés vers les deux points où les bactéries ont des capacités pour les hydrolyser (les flavonoïdes glycosides), mais simultanément ils dégradent également les flavonoïdes aglycones libérées [91]. Après l'absorption, les flavonoïdes sont conjugués dans le foie (figure 13) par glucuronidation, sulfatation, ou méthylation ou métabolisés à des plus petits composés phénoliques [92]. En raison de ces dernières réactions de conjugaison, aucuns flavonoïdes aglycones libres ne peuvent être trouvés en plasma ou urine, excepté la catéchine [93].

Les flavonoïdes sécrétés avec la bile dans l'intestin et ceux qui ne peuvent pas être absorbé par l'intestin grêle sont dégradés dans les deux points par la flore microbienne intestinale qui décompose également la structure de l'anneau des flavonoïdes [94].

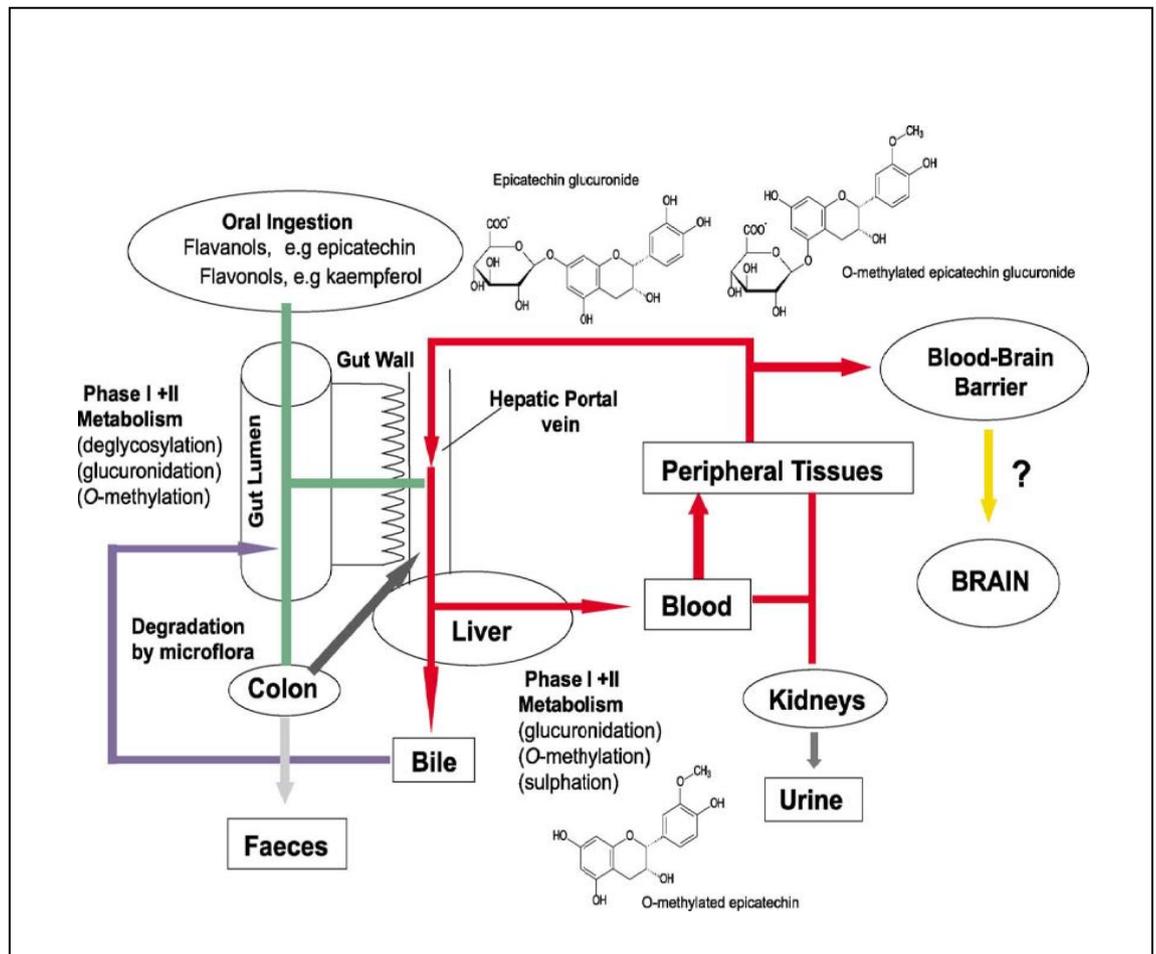


Figure13 : Le métabolisme des flavonoïdes [95].

## V-3-Les activités biologiques des polyphénols

### V-3-1-Activité Hépatoprotective

Les anthocyanines ont un grand effet préventif contre les diverses maladies, il a été démontré que l'anthocyanine cyanidin-3-O- $\beta$ -glucoside (C3G) augmente l'expression de la glutamate-cystéine ligase catalytique Gclc hépatique par l'augmentation des niveaux de AMPc pour activer la protéine kinase A (PKA), qui à son tour régule la phosphorylation d'AMPc, l'élément de réponse lient des protéines (CREB) pour promouvoir CREB-DNA-binding et augmenter l'expression de Gclc. Qui entraîne une diminution dans les niveaux des ROS et la signalisation pro-apoptotique. En outre, le traitement C3G abaisse la peroxydation des lipides hépatiques, inhibe la libération de cytokines pro-inflammatoires, et protège contre le développement d'une stéatose hépatique [96].

La silymarine issue de chardon marie est un flavonoïde ayant trois composants structurales silydianine, silibinin, et silychristine extraites des graines et des fruits stimule l'activité enzymatique de l'ARN polymérase ADN-dépendante 1 et la biosynthèse subséquente de l'ARN et des protéines, entraînant la biosynthèse d'ADN et la prolifération cellulaire conduisant à la régénération du foie seulement dans le foie endommagé [97].

Ainsi qu'il Augmente la prolifération des hépatocytes en réponse à FB1 (Fumonisin B1, une mycotoxine produite par *des verticillioides de Fusarium*) et induits la mort cellulaire sans modulation de la prolifération cellulaire dans les foies normaux. Les propriétés pharmacologiques du silymarine impliquent la régulation de la perméabilité de la membrane cellulaire et de l'intégrité, et l'inhibition des leucotriènes, le balayage des ROS, la suppression de l'Activité de NF- $\kappa$ B, la dépression des protéines kinases, et la production du collagène [98].

La Silymarine a des applications cliniques dans traitement de la cirrhose, des dommages ischémiques, et de l'hépatite toxique induit par de diverses toxines comme acétaminophen, et les champignons toxiques [99].

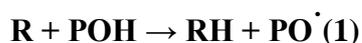
De même, dans une expérience in vivo les flavonoïdes à des doses orales de 50, 100 et 200 mg/kg réduit de façon significative les taux d'AST, ALT, protéines totaux, et l'albumine dans le sérum et l'hydroxy-proline et de l'acide sialique dans le foie. Les examens histo-pathologiques ont aussi révélé l'amélioration dans le foie endommagé avec le traitement des flavonoïdes [100].

### V-3-2-L'activité antioxydante

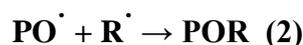
Les antioxydants sont définis comme des composés qui peuvent retarder, inhiber ou empêcher l'oxydation des matières oxydables par les radicaux libres et en diminuant le stress oxydatif [101].

#### V-3-2-1 Les composés phénoliques comme pièges à radicaux libres et chélateurs de métal

Les composés phénoliques (POH) agissent comme accepteurs des radicaux libres et des disjoncteurs de chaîne. Ils interfèrent avec l'oxydation des lipides et d'autres molécules par don rapide d'un atome d'hydrogène aux radicaux (R):



Le radical phénoxy intermédiaires (PO) sont relativement stables en raison de la résonance et donc une nouvelle réaction en chaîne n'est pas facilement initiée. En outre, les Radicaux phénoxy intermédiaires agissent également comme séparateurs de route de propagation par réaction avec d'autres radicaux libres :



Les Composés phénoliques possèdent la structure chimique idéale pour les activités piègeur des radicaux libres parce qu'ils ont :

- les groupes hydroxyles phénoliques qui sont enclins à faire don d'un atome d'hydrogène ou d'électron à un radical libre.
- étendue système aromatique conjugué pour délocaliser un électron non apparié [102-103].

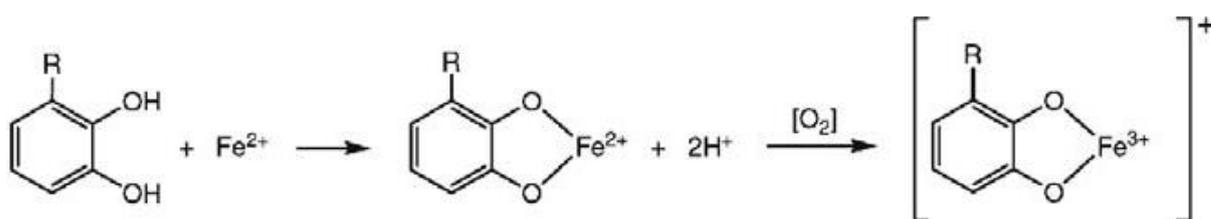
Plusieurs relations entre structure et potentiel de réduction ont été établies comme suit :

- pour les flavonoïdes, les principaux facteurs qui déterminent la capacité de piègeur de radicaux [104-105] sont :
  - l'ortho-dihydroxy structure sur le cycle B, qui a la meilleure propriété électro-donneuse et confère une plus grande stabilité à la forme radicale et participe à délocalisation des électrons.
  - la 2,3-double liaison avec une fonction 4-oxo dans l'anneau C, qui est responsable de délocalisation des électrons de l'anneau B.
  - les 3- et 5-groupes hydroxyle avec la fonction 4-oxo dans les anneaux A et C, qui sont essentiels pour un maximum potentiel piègeur de radicaux.
  - le groupe 3-hydroxyle est important pour l'activité antioxydante. Les 3-glycosylations réduits leur activité lorsque ils sont comparés avec aglycones correspondantes.

La quercétine est un flavonol qui possède tous les facteurs décrits dans (B). Les anthocyanes sont particulièrement réactifs envers ROS/RNS en raison de leur structure chimique particulière de carence d'électrons. Comme alternative propriété antioxydante, certains composés phénoliques avec dihydroxy groupes peuvent conjuguées les Métaux de transition, empêchant le métal-induit la formation de radicaux libres.

Les ions des métaux redox actifs comme  $\text{Cu}^+$  ou  $\text{Fe}^{2+}$  interagissent avec le peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) Par la réaction de Fenton chimie (comme illustré dans la réaction 3 ci-dessous) pour former des radicaux hydroxyle ( $\text{OH}^\cdot$ ) Qui est le plus réactive ROS, connu pour être capable D'initier des réactions en chaîne des radicaux libres, en faisant abstraction de l'hydrogène à partir de presque n'importe quelle molécule. les Composés phénoliques avec catécholate et groupes gallate peut inhiber le métal-induit la formation du radical oxygène Soit par coordination avec le  $\text{Fe}^{2+}$  et le renforcement de l'auto-oxydation de  $\text{Fe}^{2+}$  (comme illustré dans la réaction 4 ci-dessous), ou la formation de complexe inactif avec le  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  ou le  $\text{Cu}^+$  relativement avec faible interaction [106-107].

L'attachement d'ions métalliques à la molécule de flavonoïdes peuvent être de 3',4'-O-groupes diphenolic dans le cycle B : 3,4 ou 3,5-O-groupes diphenolic, et le céto structures 4-céto, 3-hydroxy ou 4-céto, 5-hydroxy groupes dans le cycle C [108-109-110].



(4) [111]

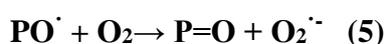
Théoriquement, ces deux actions Anti-oxydantes peuvent entraîner une réduction des concentrations de l'état stationnaire des radicaux libres et espèces oxydantes.

En conséquence, l'oxydation subséquente des molécules cibles tels que les lipides, les protéines et les acides nucléiques est diminuée. Basé sur ces capacités potentielles, des études

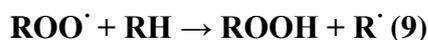
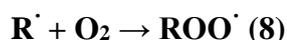
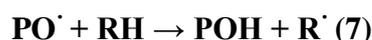
approfondies ont démontré les activités Anti-oxydantes des composés phénoliques naturels, en général, d'une multitude de systèmes ex vivo et biochimiques [112].

### V-3-2-2 Activité pro-oxydante de composés phénoliques

Il est intéressant de noter que certains antioxydants phénoliques peuvent initier un processus d'auto oxydation et se comportent comme prooxydants [104]. Sous certaines conditions. Au lieu de résilier une réaction radicalaire en chaîne par réaction avec un second radical, le radical phénoxy peut également interagir avec l'oxygène et produire des quinones (P = O) et l'anion superoxyde ( $O_2^{\cdot -}$ ) comme illustré ci-dessous [113].



Néanmoins, les ions de métaux de transition pourraient aussi induire une activité pro-oxydante des antioxydants phénoliques comme il est démontré par les réactions suivantes. [114]



Il a été constaté qu'un antioxydant phénolique se comportent comme pro-oxydants dans les conditions qui favorisent leur auto-oxydation, par exemple, à pH élevé avec des concentrations élevées d'ions de métaux de transition et de la molécule d'oxygène présent. Petits composés phénoliques qui sont facilement oxydés, telles que la quercétine, l'acide gallique, possèdent l'activité pro-oxydant; alors que les composés phénoliques de poids moléculaire élevé, comme condensée et tanins hydrolysables, ont peu ou pas d'activité pro-oxydant [115].

### V-3-3-L'activité anti inflammatoire

En 1980, Baumann et autre son rapporté pour la première fois que Les polyphénols empêchent la peroxydation des Acides aminés. Dé lors, plusieurs chercheurs ont rapporté que apigénine, Quercétine, épigallocatechin et le resveratrol empêchent l'activité de cyclooxygenase au niveau de la transcription aussi bien qu'au niveau d'enzymes [116-117]. Ainsi, l'inhibition de cyclooxygenase par des polyphénols peut expliquer ces effets anti-inflammatoires, ce qui réduit la synthèse de PGs.

Blay et autres [118] rapporté que les isoflavones (genistein, Daidzein et glycitein) modulent l'expression de beaucoup de gènes principaux dans l'inflammation, y compris l'enzyme cyclooxygenase, et il a été signalé que l'inhibition de La synthèse de PGs par des macrophages est également induite par resveratrol et tyrosol [119-120].

# **PARTIE II**

## **MATERIELS ET METHODES**

## Matériels et méthodes

### I- La plante

Dans cette étude on a utilisée l'extrait butanolique de la plante *Genista sp*, ce genre de plante se développe en Afrique du Nord, la récolte est réalisée à la fin du mois de Mai 2008. Cette plante a été authentifiée par Dr Sarri (département de biologie, université de Msila, Algérie).

#### ➤ Classification

Kingdom : Plantae  
Subkingdom : Tracheobionta  
Superdivision : Spermatophyta  
Division : Magnoliophyta  
Class : Mgnoliopsida  
Subclass : Rosidae  
Order : Fabales  
Family : Fabaceae  
Genus : *Genista*  
Species : *Genista sp*.

### II-Expérimentations animale

#### II-1-Animaux et conditions d'hébergement

Les animaux d'expérience sont des rats males de souche *Wistar Albinos*, pesant entre (150-200) g. Dès leur réception, les rats sont placés aléatoirement en groupe de 6 dans des cages standard pour une période d'acclimatation (2 semaines) avant d'être utilisés dans les différentes expériences. Pendant cette période les animaux ont un accès libre à la nourriture et à l'eau et sont maintenus dans une animalerie à température constante, soumis à un cycle de lumière/obscurité de 12/12h.

#### II-2-Toxicité aigue par la Doxorubicine

Rats ont été divisés en 6 groupes (n=6):

- (T) Contrôle groupe: les rats non traités.
- (E50) traitement pendant 10 jours avec l'extrait butanolique de la plante *Genista sp* , à la dose 50mg/kg (par gavage).
- (D) : group traité par Doxorubicine ; une seule injection intrapéritonéale (IP) à la dose 15mg/kg au 7<sup>ème</sup> jours du traitement [121].

**(E50+D)** : préventif, reçoit l'extrait butanolique pendant 7 jours ; au 7<sup>ème</sup> jour l'administration d'une mono-prise de la DOXO (15 mg/kg) (IP) ; traitement jusqu' au 10<sup>ème</sup> jour par l'extrait;

- **(VE)** : traitement pendant 10 jours avec la vit E (100mg/kg) par gavage.
- **(VE+D)** : prétraitement avec la vit E pendant 7 jours au 7<sup>ème</sup> jour l'administration d'une mono-prise de la DOXO (15 mg/kg) (IP) ; traitement jusqu'au 10<sup>ème</sup> jour par la vit E.

Après le traitement, les rats sont sacrifiés par dislocation cervicale et les foies sont immédiatement prélevés, pour l'analyse des paramètres du stress oxydant. Le prélevés du sang se fait à travers le sinus rétro-orbital au niveau de l'œil des rats. Le sang récupéré est immédiatement centrifugé à 4000 t/min pendant 10 minutes à 10°C centrifugeuse, pour l'analyse des paramètres biochimiques.

### III- Dosage des paramètres du stress oxydant

#### III-1-Dosage de la Peroxydation lipidique

La peroxydation lipidique dans le foie est évaluée par le dosage de malondialdéhyde (MDA) selon la méthode d'Uchiyama and Mihara, (1978) [122]. Le MDA est l'un des produits terminaux de la décomposition des acides gras polyinsaturés (PUFA) sous l'effet des radicaux libres libérés au cours du stress. En milieu acide et à chaud (pH 2 à 3, 100 °C) une molécule de MDA est condensée avec deux molécules de thiobarbiturique (TBA) pour former un complexe coloré en rose (lecture à 532 nm).

Pour le dosage du MDA, 20% du foie est additionné à une solution de KCl (1.15 %) puis broyage par un homogénéiseur de Dounce (Kontes, *Glass companyan ISO-9001 steered firm, New Jersey USA*). À 0,5 ml de l'homogénat ; 0,5 ml d'acide phosphorique 20 % et 1 ml d'acide thiobarbiturique (TBA) 0,67 % sont additionnés. Le mélange est chauffé à 100 °C pendant 45 minutes, refroidi puis additionné de 4 ml de n-butanol. Après centrifugation de 15 minutes à 3000 tours/minute, l'absorbance est déterminée sur le surnageant au spectrophotomètre à 532 nm.

#### III-2-Dosage du glutathion (GSH)

Le dosage du GSH est basé sur la méthode colorimétrique d'Ellman (1959) [123]. Le dosage de glutathion est basé sur la réaction d'oxydation du GSH par l'acide 5, 5'- Dithiobis 2-nitrobenzoïque (DTNB) libérant ainsi l'acide thionitrobenzoïque (TNB) absorbant à 412 nm, Pour ce dosage, un gramme de chaque organes (frais ou congelé) est homogénéisé dans trois volumes de TCA 5 % à l'aide d'un broyeur de Dounce puis centrifugé à 2000 rpm. 50 µl de surnageant sont dilués dans 10 ml de tampon phosphate (0,1 M, pH 8). À 3 ml du mélange de

dilution, 20 µl de DTNB (0,01 M) sont additionnés. L'absorbance est lue à 412 nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions avec le TCA 5 %.

### III-3-Evaluation de l'activité enzymatique de la GPx

Pour estimer l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase nous avons utilisé la méthode de Flohe et Gunzler (1984) [124], qui reposent sur la réduction de l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en présence de glutathion réduit (GSH), qui se transforme en une (GSSH) en présence de la GPx selon la réaction suivante:



Incubation de 0.2ml de l'homogénat avec 0.4ml de GSH (0.1mM) et 0.2ml de solution TBS (Tris 50mM, Na Cl 150mM, P<sup>H</sup> 7.4) dans un bain-marie à 25 ° C pendant 5 minutes. Ajoutée 0,2 ml de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1,3 mM) laisse à interagir pendant 10 minutes, puis ajouter 1 ml de TCA (1%), Le mélange est placé dans la glace pendant 30 minutes, Après avoir procédé de centrifugation, Prendre 0,48 ml de surnageant et ajouté à sa 2,2ml de la solution TBS et 0,32 ml de solution DTNB (1 mM). Après 5 minutes l'absorbance est lue à 412nm.

### III-4-Evaluation de l'activité enzymatique de la catalase (CAT)

L'activité enzymatique de CAT est déterminée par la méthode de Clairborne (1985) [125]. Le Principe est basé sur la disparition de l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en présence de la source enzymatique à 25 C° Selon la réaction suivante :



Un mélange est constitué de 1 ml de tampon phosphate (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.1 M, pH 7.2), 0.975 ml de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> fraîchement préparé (0.091 M) et de 0.025 ml de la source d'enzyme (le cytosol). L'absorbance est lue à 560nm chaque minute pendant 2 minutes et l'activité enzymatique est calculée en terme d'unité internationale par minute et par gramme de protéine (UI / min/g de protéine), selon la formule :

**UI/g= (2.3033/T) × (logA1/A2) /g de protéine.**

**A1** : Absorbance à la première minute.

**A2** : Absorbance à la deuxième minute.

**T** : Intervalle de temps en minute.

## **IV- Dosage des paramètres biochimiques**

### **IV -1-Préparation de sérum et le test de la fonction hépatique**

Après les différents traitements, les rats sont décapités par dislocation cervicale le sang collecter dans des tubes non héparines puis centrifuger à 3000 tpm pendant 10 min pour récupérer le sérum. Les activités enzymatiques de l'ASAT et de l'ALAT, biomarqueurs de la fonction hépatique, sont déterminées par colorimétrie en utilisant des Kits du commerce (SPINREACT, SPAIN). Le pyruvate ou l'oxaloacétate formés sont dosés sous forme de leurs dérivés 2,4-dinitrophénylhydrazones.

### **IV -2-Dosage du cholestérol total**

Dans notre étude, le cholestérol a été déterminé suivant une méthode enzymatique colorimétrique. Après hydrolyse enzymatique puis oxydation, l'indicateur quinone-imine formé à partir du peroxyde d'hydrogène et de l' amino 4 antipyrines en présence du phénol et de peroxydase permet la quantification du cholestérol. L'intensité de la coloration de la quinone-imine mesurée à 500 nm, est directement proportionnelle à la quantité de cholestérol présente dans l'échantillon du sérum.

### **IV -3-Dosage des triglycérides**

Le dosage des triglycérides a été effectué suivant une méthode enzymatique colorimétrique quantifiant le glycérol libéré après action de la lipase. L'intensité de la coloration de la quinone imine mesuré à 500 nm est directement proportionnelle à la quantité de triglycérides contenue dans l'échantillon du sérum.

## **V- Evaluation statistique**

Les résultats sont donnés sous forme de moyennes et écart-types. L'évaluation statistique est effectuée en utilisant le test  $t$  de Student. La valeur trouvée par le calcul du  $t$  peut affirmer que les populations sont différentes avec un risque d'erreur  $p$  tel que :

$p < 0,05$  = la différence est significative\*.

$p < 0,01$  = la différence est significative\*\*.

$p < 0,001$  = la différence est très hautement significative\*\*\*.

ns = la différence est non significatif par apport au group témoin.

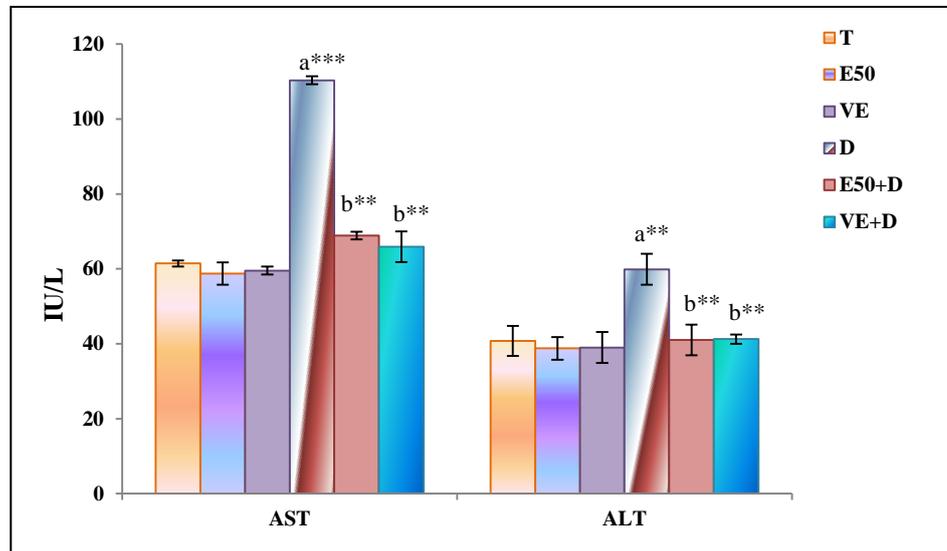
Le calcul statistique est réalisé par SPSS 13.0

# **PARTIE III**

## **Résultats et discussion**

## I-Interprétation des résultats

### I-1-Effet de la Doxorubicine sur la fonction hépatique et l'action hépatoprotectrice de l'extrait butanolique de la plante *Genista sp.*

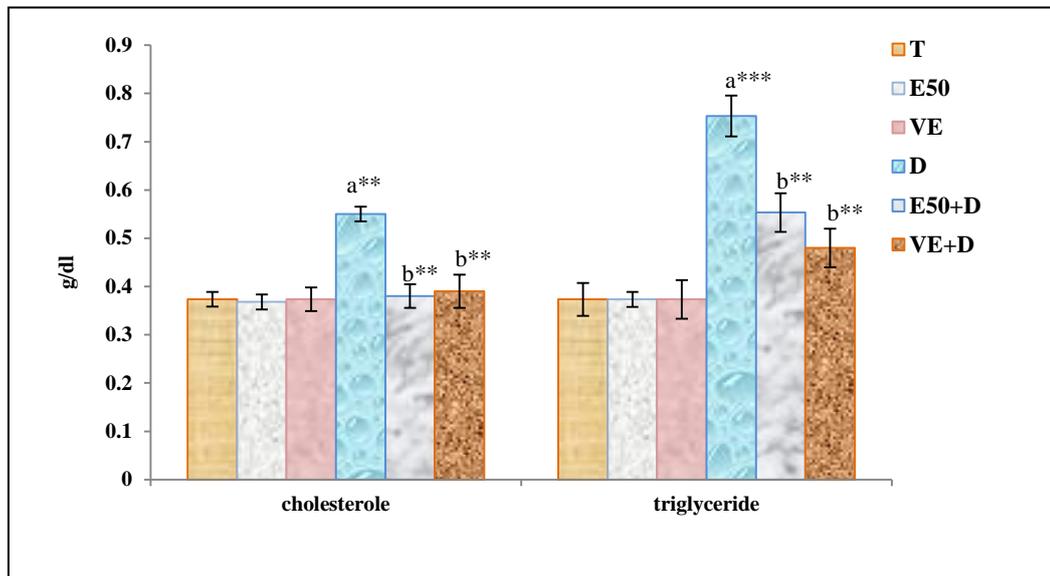


**Figure 14 : Effet de la Doxorubicine et l'extrait butanolique de la plante *Genista sp.* sur la fonction hépatique et sa libération des transaminases ASAT et ALAT. Les valeurs sont données en moyenne  $\pm$  Ecart type. \*\* ;  $P < 0.01$ , \*\*\* ;  $P < 0.001$ ,  
 a : Groupes comparés au groupe témoin.  
 b : Groupes comparés au groupe DOXO.**

L'effet de la Doxorubicine sur les fonctions hépatiques avec ou sans l'extrait butanolique et la VE est illustré par la figure 14. Sur cette figure on constate une élévation très significative ( $p < 0.001$ ) du taux sérique d'AST chez les rats traités par DOXO contre le groupe témoin non traité.

L'administration de l'extrait temporelise l'effet de la Doxorubicine et normalise la valeur de cette enzyme contre le groupe traité par DOXO seulement ( $p < 0.01$ ). Chez le groupe traité par la VE et la DOXO, nous avons constaté une diminution significative du taux sérique d'AST ( $p < 0.01$ ). Les mêmes remarques pour les variations de l'ALT : avec l'extrait butanolique de plante *Genista sp.* Et la VE préservent le foie contre la toxicité provoquée par la DOXO.

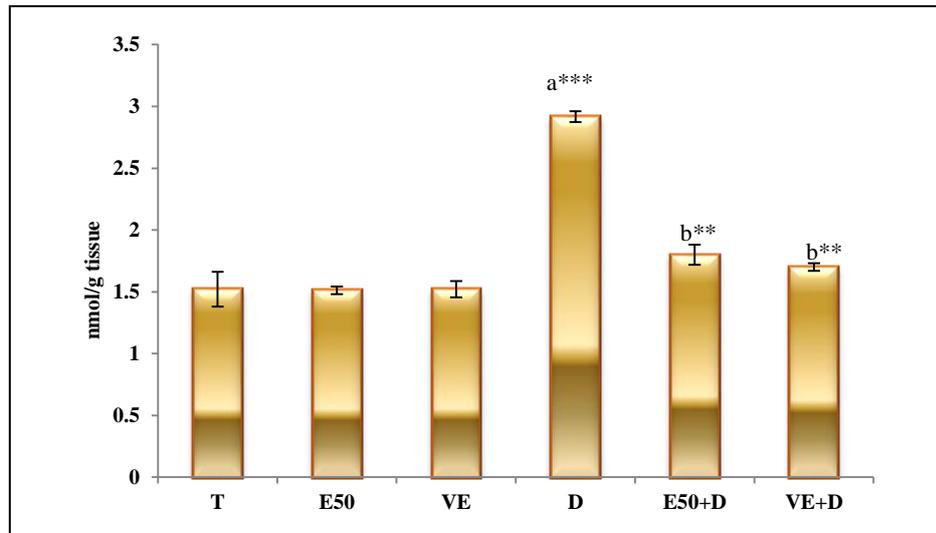
## I-2-Effet de la Doxorubicine sur cholestérol et triglycérides et l'action protectrice de l'extrait butanolique de la plante *Genista sp.*



**Figure 15 : Influence de l'administration de l'extrait butanolique de la plante *Genista sp.* et la vitamine E sur le taux du cholestérol et triglycéride chez les différents lots. Les valeurs sont données en moyenne  $\pm$  Ecart type. \*\* :  $P < 0.01$ , \*\*\* :  $P < 0.001$ , a : Groupes comparés au groupe témoin.**

Selon les résultats présentés dans la figure 15, on distingue que le taux du cholestérol augmente significativement ( $p < 0.01$ ) chez les rats traités par la Doxorubicine par rapport au groupe témoin. Par contre le traitement des rats par l'extrait butanolique (50mg/kg) + DOXO (ou par la VE), a tempéré significativement ( $p < 0.01$ ) l'effet de la DOXO et il a normalisé le taux du cholestérol.

Les mêmes remarques pour les variations des triglycérides: une élévation significative ( $p < 0.001$ ) du taux des triglycérides chez les rats traité par la DOXO seule. L'extrait butanolique réduit ces taux, Ce qui prouve que notre extrait butanolique a un effet efficace diminuant d'excès du cholestérol et des Triglycérides dans le sang.

I-3-Effet de l'extrait butanolique de la plante *Genista sp.* Sur la peroxydation lipidique

**Figure 16 : Influence de l'administration de l'extrait butanolique de la plante *Genista sp.* sur la concentration hépatique en MDA. Les valeurs sont données en moyenne  $\pm$  Ecart type. \*\* :  $P < 0.01$ , \*\*\* :  $P < 0.001$ ,  
 a : Groupes comparés au groupe témoin.  
 b : Groupes comparés au groupe DOXO.**

La figure 16 illustre l'effet de l'extrait butanolique sur la variation du MDA dans le foie chez les rats traités par DOXO et l'extrait.

Nous avons constaté (dans le foie) une élévation très hautement significative ( $p < 0.001$ ) d' MDA chez les rats recevant DOXO par rapport au groupe témoin normal. Par ailleurs, aucune variation significative du MDA n'est constatée chez les rats recevant DOXO et traités par l'extrait (n'ont aucune différence significative avec celle obtenue avec le témoin normal). Ce résultat explique probablement la protection des rats par l'extrait butanolique de la plante *Genista sp.* Contre le stress oxydatif dans le foie. Les mêmes résultats obtenus dans le groupe traité par la VE et DOXO.

Le prétraitement par l'extrait butanolique diminue l'oxydation des lipides chez les rats et normalise la valeur du MDA comparé au groupe DOXO.

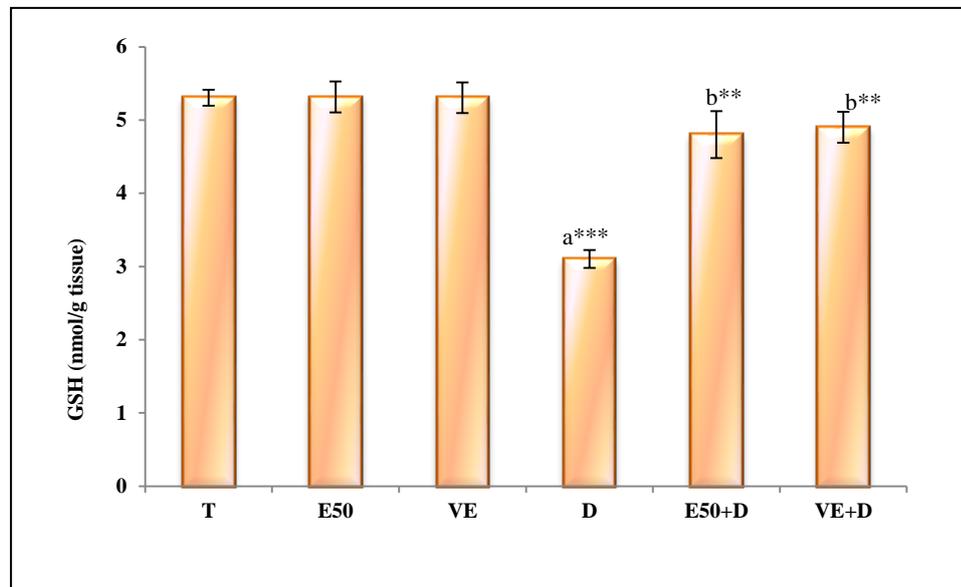
I-4-Effet de l'extrait butanolique de la plante *Genista sp.* Sur le GSH

Figure 17 : Effet de l'extrait butanolique de la plante *Genista sp.* sur le niveau de GSH dans le foie. Les valeurs sont données en moyenne  $\pm$  Ecart type. test de Student t: \*\*\* :  $p < 0.001$ , \*\* :  $P < 0.01$ . a : Groupes comparés au groupe témoin.

b : Groupes comparés au groupe DOXO.

Au niveau de la figure 17 Nous avons remarqué au niveau du foie une diminution très hautement significative ( $p < 0.001$ ) du GSH chez les rats recevant la DOXO par rapport au groupe témoin normal. Par contre, aucune variation significative du GSH n'est constatée chez les rats recevant la DOXO et prétraités par l'extrait butanolique par rapport au groupe témoin normal.

L'administration de l'extrait butanolique a augmenté le taux du glutathion réduit (GSH) dans le groupe qui a reçu l'extrait butanolique (50mg /kg) +DOXO par rapport au groupe DOXO. Une variation significative

( $p < 0.01$ ) du GSH chez les rats recevant DOXO et la VE par rapport au groupe DOXO.

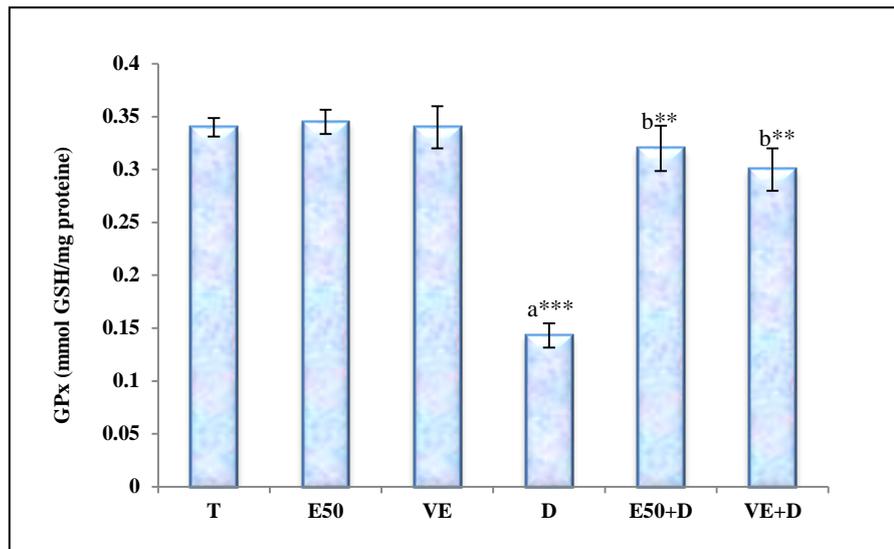
I-5-Effet de l'extrait butanolique de la plante *Genista sp.* Sur l'activité de la GPx

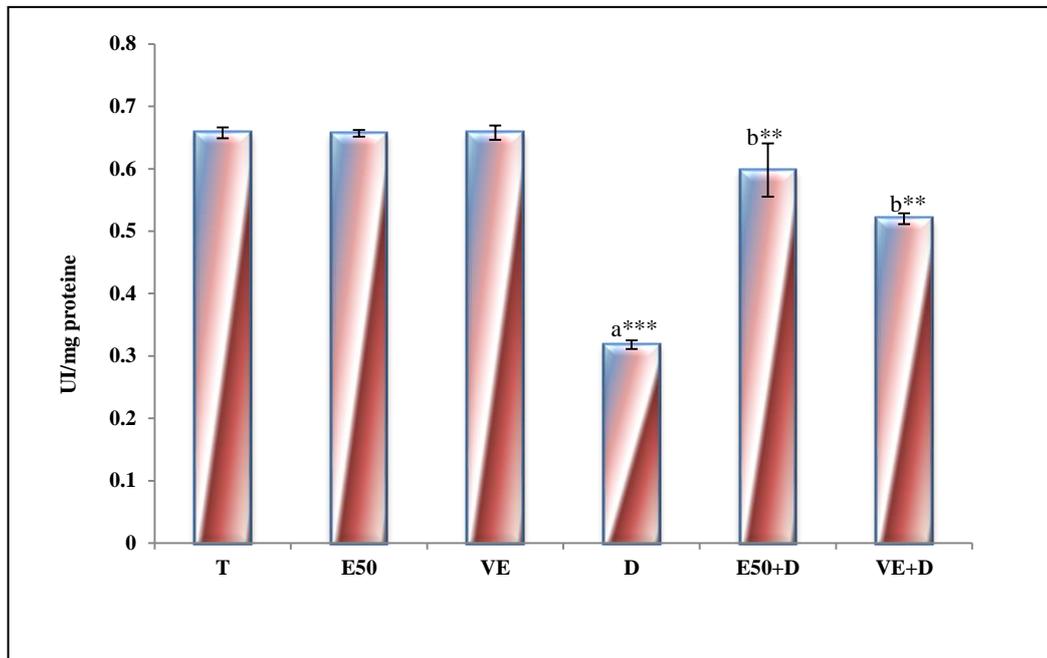
Figure 18 : Effet de l'extrait butanolique de la plante *Genista sp.* sur l'activité de la GPx dans le foie. Les valeurs sont données en moyenne  $\pm$  Ecart type. test de Student t: \*\*\* :  $p < 0.001$ , \*\* :  $P < 0.01$ .

a : Groupes comparés au groupe témoin.

b : Groupes comparés au groupe DOXO.

La figure 18 illustre que L'activité de la GPx dans l'homogénat du foie a diminuée ( $p < 0.001$ ) chez les rats traités par DOXO seul par rapport à celle mesurée chez les rats témoins. L'activité enzymatique de ce système antioxydant est conservée à son niveau normal chez les rats prétraités par l'extrait butanolique de la plante *Genista sp.*

Par rapport au groupe DOXO ( $p < 0.001$ ) (les même résultats obtenue dans le groupe prétraité pat la VE).

I-6-Effet de l'extrait butanolique de la plante *Genista sp.* Sur l'activité de la Catalase

**Figure 19 :** Effet de l'extrait butanolique de la plante *Genista sp.* Sur l'activité de la Catalase dans le foie. Les valeurs sont données en moyenne  $\pm$  Ecart type. test de Student *t*: \*\*\* :  $p < 0.001$ , \*\* :  $P < 0.01$ .  
*a* : Groupes comparés au groupe témoin.  
*b* : Groupes comparés au groupe DOXO.

La figure 19 illustre l'effet de l'extrait butanolique sur l'activité du Catalase dans foie chez les rats traités par DOXO et l'extrait butanolique.

Nous avons constaté (dans le foie) une diminution très hautement significative ( $p < 0.001$ ) du catalase chez les rats recevant DOXO par rapport au groupe témoin normal. Par ailleurs, L'activité enzymatique de ce système antioxydant est conservée à son niveau normal chez les rats prétraités avec l'extrait par rapport au groupe DOXO ( $p < 0.001$ ).

Ce résultat explique probablement la protection des rats par l'extrait butanolique de la plante *Genista sp.* Contre le stress oxydatif dans le foie. Les mêmes résultats obtenus dans le groupe traité par la VE et DOXO.

## II-Discussion

DOXO a montré des effets hépatotoxique chez les animaux. Il est connu que les anticancéreux comme DOXO cause une perte de poids [126-127]. Pour cette raison, leur usage prolongé et l'over dosage cause la mort.

Cela et en bon accord avec les résultats de notre étude dans la quelle on a observé une perte significatif de poids chez le lot traité par la doxorubicine par rapport au lot témoin et au lot traité par l'extrait butanolique.

Ces médicaments perturbent le métabolisme basal en montrant l'effet toxique surtout dans le foie et les tissus cardiaque. Nos constatations biochimiques ont montré que la DOXO cause une hépatotoxicité. Au cours de nos expériences, aucun des rats n'est mort. Cela démontre que nous avons utilisé des doses adaptés de la DOXO (15mg /kg).

Deux façons différentes de la formation des radicaux libres par la DOXO ont été décrites. La première implique la formation d'un radicale libre semi-quinone par l'action de Plusieurs NADPH réductase qui produisent une réduction à un électron de la DOXO cela correspond à la DOXO semi-quinone. En présence de l'oxygène.

Dans la deuxième les Radicaux libres de la DOXO proviennent d'un mécanisme non enzymatique qui implique des réactions avec le fer. Par exemple,  $Fe^{3+}$  réagit avec la DOXO dans une réaction redox après laquelle l'atome de fer accepte un électron et un complexe

$Fe^{2+}$ -DOXO donc un radical libre est produit. Ce complexe (fer-DOXO) peut réduire l'oxygène pour la formation du peroxyde d'hydrogène et d'autres espèces actifs de l'oxygène [128].

DOXO génèrent le radical anion superoxyde, le peroxyde d'hydrogène, et les radicaux hydroxyles à la suite du métabolisme oxydatif chez les rats [129].

Les dommages au niveau de la cellule par les oxydants sont atténuée par les enzymes antioxydant comme la GPx et CAT, Dans notre étude les activités enzymatiques du GPx et de la CAT, diminuent d'une façon hautement significative ( $p < 0,001$ ) chez le lot traité par la dose 15mg/kg de la DOXO, Cela est contrairement au lot témoin. On a aussi constaté une augmentation significative ( $p < 0,001$ ) du GPx et de la CAT dans les lots prétraités par l'extrait butanolique et par la VE cela et par rapport au lot traité par la DOXO seul. Ces résultats on montré que la DOXO produit des radicaux libres ainsi qu'ils expliquent l'effet protecteur de l'extrait butanolique de la plante *Genista sp.* Contre le stress oxydatif induit par la DOXO au niveau du foie.

DOXO non seulement augmente la production des radicaux libres dans les tissus hépatique, mais aussi diminue également leur capacité de détoxification d'espèces réactives de l'oxygène.

L'Augmentation des activités du GPx, CAT dans les tissus hépatique indiquent que DOXO a des effets hépatotoxiques. Nous pensons que les changements observés dans la capacité de défense antioxydante sont le résultat d'hépatotoxicité induite par la DOXO.

Les taux des transaminases sériques ont été toujours considérés comme des marqueurs sensibles des dommages du foie. La perméabilité membranaire et la fonction de transport sont altérées par les hépatocytes endommagés, ce qui conduit à la fuite des enzymes des cellules donc a la diminution des taux d'ALT et d'AST à l'intérieure des cellules et a l'augmentation de ces taux dans le sérum [130]. Dans cette étude les rats traités par La DOXO ont montré augmentation hautement significative ( $p < 0,001$ ) des taux sériques ALT et AST en comparaison avec le lot témoin non traité [131-132]. Dans le lot prétraité par la VE (VE+DOXO) on a constaté une diminution significative ( $p < 0,01$ ) des taux sérique ASAT et ALAT bien que le prétraitement par l'extrait butanolique (E50+D) a temporisé l'effet de la DOXO et a normalisé les taux d'ASAT et d'ALAT par rapport au groupe traité par la DOXO uniquement.

L'MDA est l'un des principaux produits de l'oxydation des acides gras polyinsaturés, son élévation est un indicateur important de la peroxydation des lipides.

Dans notre étude l'augmentation hautement significative ( $p < 0,001$ ) du niveau de l'MDA chez les rats traités par DOXO par rapport au groupe témoin normale peut être un indicateur des dommages au niveau des tissus hépatiques. Cela et contrairement au taux du GSH qui a subit une diminution très hautement significative ( $p < 0,001$ ) et qui peut être un signe D'excès des radicaux libres produisent par la DOXO.

Aucune variation significative dans le niveau d'MDA n'est constatée chez les rats recevant la VE +DOXO mais une augmentation significative du GSH a été observée.

Pour les rats recevant extrait butanolique comme prétraitement V50 +DOXO on a remarqué une normalisation du niveau de l'MDA et une augmentation significative du GSH réduit ce qui entraine une diminution de la peroxydation lipidique.

De nombreuses études ont prouvées que la vitamine E est capable de neutraliser la peroxydation lipidique par son effet piègeur de l'oxygène [128-133]. Mais certains chercheurs ont mentionnés précédemment, que l'effet de la vitamine E est observé uniquement avec une dose journalière de 200 mg / kg / jour [134-127].

La vitamine E protège les cellules et les structures sous-cellulaires contre les dommages oxydatifs en réduisant les niveaux d'MDA. La VE n'avait pas d'effets toxiques aux doses prescrites, ce qui est en accord avec les résultats de notre étude, dans les quelles on a remarqué que le niveau de l'MDA, les taux du GPx et CAT se réduisent ou gardent leur valeurs d'origines

dans le groupe prétraité par la VE +DOXO par rapport au groupe traité par la Doxorubicine seulement. Ceci indique que la VE est capable de piéger les ROS et principalement l'oxygène singulet.

En outre, la VE est utilisée seule ou en conjonction avec un traitement Doxorubicine Pour éviter l'hépatotoxicité induite par la Doxorubicine.

Les flavonoïdes contenus dans notre extrait butanolique ont été choisie pour cette étude en raison de leurs propriétés antioxydante et chélateur du fer. Il semble que non seulement la capacité de se débarrasser efficacement des métabolites d'oxygène mais aussi la capacité d'éliminer le fer jouent un rôle important dans la protection des tissus hépatiques contre la toxicité induite par la DOXO [134-135].

On a constaté aussi bien une augmentation significative ( $p < 0,01$ ) au niveau du cholestérol et une augmentation hautement significative ( $p < 0,001$ ) des taux des triglycérides chez le groupe traité par la DOXO seul cela est contrairement au groupe témoin mais les rats prétraités par l'extrait butanolique ou par la VE ont des taux du cholestérol et des triglycérides normaux cela prouve que l'extrait butanolique et la VE ont temporisées significativement ( $p < 0,01$ ) le taux du cholestérol ainsi que celui des triglycérides .

En conséquence, nos études biochimiques ont prouvés que la DOXO a causé une hépatotoxicité qui a été empêché par l'extrait butanolique et par la vitamine E. on distingue aussi que l'extrait butanolique à un pouvoir diminuant de l'excès du cholestérol et des triglycérides au niveau du sang.

# Conclusion et perspectives

***Conclusion et perspectives***

Dans notre étude, l'évidence de l'hépatotoxicité sous l'effet de la Doxorubicine est confirmée. Cet anticancéreux est susceptible de causer des dommages profonds suite à la production intensive des radicaux libres provoquant un déséquilibre dans le statut redox cellulaire ou profit des prooxydants. En effet, il a été constaté que le système de défense antioxydant a diminué significativement, laissant la place aux prooxydants responsables de la lipoperoxydation et la destruction des structures membranaires. Les cellules hépatiques une fois lésées et leurs membranes perforées libèrent des enzymes transaminases (ASAT et ALAT) dans le sang.

L'extrait butanolique de la plante *Genista sp.* joue un rôle chémoprotecteur vis-à-vis du stress oxydatif produit dans le foie, lors de l'administration de la Doxorubicine aux rats de laboratoire. Par son pouvoir scavenger contre les espèces réactives de l'oxygène, il possède une activité antioxydante.

Il ressort clairement de notre étude que l'extrait butanolique de la plante *Genista sp.* a un effet antioxydant et chémoprotecteur contre la toxicité induite par la Doxorubicine.

Néanmoins, ce travail reste préliminaire et plus superficiel, et il nécessite donc d'autres études approfondies pour mieux se concentrer sur les effets révélés. Et de caractériser précisément les types d'altérations hépatiques s'ils vont être développés en cirrhose, fibrose ou bien stéatose en cas d'une toxicité chronique.

# Résumé

**Résumé**

Doxorubicine (DOXO) est un médicament anticancéreux utilisé dans le traitement de nombreuses affections malignes humaines. Toutefois, son utilisation clinique est limitée en raison de plusieurs effets secondaires comme la cardiotoxicité, la néphrotoxicité et l'hépatotoxicité.

Dans la présente étude, nous avons étudié l'efficacité protectrice de *Genista sp.* Contre le stress oxydatif et l'hépatotoxicité induites par DOXO chez des rats Wistar mâles à l'aide des approches biochimiques.

Rats Wistar ont été soumis à un traitement oral de l'extrait butanolique de *Genista sp.* (50 mg/kg) contre l'hépatotoxicité induite par une injection intrapéritonéale unique de DOXO (15 mg/kg). L'hépatotoxicité a été évaluée en mesurant le taux sérique d'AST, d'ALT et Les activités des enzymes antioxydants GPx, CAT et les niveaux d'MDA et du GSH, nous avons mesuré aussi les niveaux de cholestérol et de triglycérides.

L'activité enzymatique du GPx et de la CAT diminue dans le groupe traité par la doxorubicine comparativement au groupe témoin. L'activité du GPx a augmenté dans le groupe traité avec l'extrait butanolique et la VE, comparativement au groupe traité par la doxorubicine. Le niveau d' MDA a augmenté dans le groupe traité par la doxorubicine par rapport au groupe témoin et a diminué dans le groupe traité avec l'extrait butanolique-doxorubicine aussi dans le groupe traité avec la VE.

Les niveaux du cholestérol et de triglycérides ont augmenté dans le groupe traité avec la doxorubicine par rapport au groupe témoin, et diminue dans le groupe traité avec l'extrait butanolique et doxorubicine aussi bien dans le groupe traité avec la VE-doxorubicine comparativement au groupe traités avec la doxorubicine. D'après les constatations biochimiques, nous concluons que l'extrait butanolique et la vitamine E réduisent considérablement l'hépatotoxicité induite par la doxorubicine chez les rats.

**Mots clés :** doxorubicine, hépatotoxicité, stress oxydatif, *Genista sp.*

**Abstract**

Doxorubicin (DOXO) is an anticancer drug used in the treatment of many human malignancies. However, its clinical use is limited because of several side effects like cardiotoxicity, nephrotoxicity and hepatotoxicity.

In the present study, we investigated the protective efficacy of butanol extract of *Genista sp.* against DOXO induced oxidative stress and hepatotoxicity in male Wistar rats using biochemical approaches.

Wistar rats were subjected to oral treatment by gavages with butanol extract (50 mg/kg) against Hepatotoxicity induced by single intra-peritoneal injection of DOXO (15 mg/kg). Hepatotoxicity was assessed by measuring the level of serum, AST, ALT, The activities of antioxidants enzymes: GPx, CAT and the level of MDA and GSH we measured also the levels of cholesterol and triglyceride.

GPx and catalase activity decreased in the doxorubicin-treated group compared to control. Glutathione peroxidase levels increased in group treated with butanol extract and VE, compared to the doxorubicin-treated group. Malondialdehyde levels increased in the doxorubicin-treated group compared to control and decreased in group treated with butanol extract + doxorubicin also in the VE-treated group.

Cholesterol and triglyceride levels increased in the doxorubicin-treated group compared to control, and decreased in group treated with butanol extract and doxorubicin also in the VE-doxorubicin treated group compared to the doxorubicin-treated group. From biochemical findings, we conclude that butanol extract and VE significantly reduce doxorubicin-induced hepatotoxicity in rats.

**Key Words:** doxorubicin, hepatotoxicity, oxidative stress, *Genista sp.*

## المخلص

دوكسوروبيسين DOXO هو دواء مضاد للسرطان يستخدم في علاج العديد من الأورام الخبيثة في جسم الإنسان، ومع ذلك فإن الاستخدام السريري لهذا الدواء بات محدودا بسبب العديد من الآثار الجانبية مثل السمية القلبية، الكلوية والكبدية. قمننا في هذه الدراسة بتقييم الفعالية البيولوجية للمستخلص البيتانولي لنبات *Genista sp* ضد السمية الكبدية المحرصة بـ DOXO عند ذكور الجرذان من سلالة *Wistar albinos* .

عوملت الجرذان بالمستخلص البيتانولي بجرعة (50ملغ / كلغ) عن طريق الفم و بدواء DOXO في اليوم السابع من التجربة بواسطة حقنه تحت السفاق ( 15ملغ / كلغ). تمت معايرة النشاط الإنزيمي لكل من ALT، AST، GPx و CAT وتقدير مستوى كل من MDA، GSH و كذلك قيم كل من الكولسترول و الدهون الثلاثية.

سجلنا انخفاض في نشاط كل من CAT و GPx في المجموعة التي عوملت بـ DOXO بالمقارنة مع المجموعة الشاهدة. في حين سجل ارتفاع في نشاط هذين الإنزيمين في المجموعتين المعاملتين بالمستخلص البيتانولي و فيتامين E مقارنة بالمجموعة المعاملة بـ DOXO . بالمقابل لذلك سجل ارتفاع في مستوى MDA، الكولسترول و الدهون الثلاثية عند المجموعة المعاملة بـ DOXO و انخفاض في GSH. في حين انخفض مستوى MDA ، الكولسترول و الدهون الثلاثية ، ارتفع مستوى GSH عند المجموعة المعاملة بالمستخلص البيتانولي و DOXO و المجموعة المعاملة بفيتامين E . سجل ارتفاع في نشاط كل من ALT و AST عند المجموعة المعاملة بـ DOXO مقارنة بالمجموعة الشاهدة في حين انخفض عند المجموعة المعاملة بالمستخلص النباتي. من خلال النتائج البيوكيميائية ، نستنتج أن المستخلص البيتانولي لنبات *Genista sp* و فيتامين E ساهما في التقليل من السمية الكبدية للجرذان المعاملة بـ DOXO .

**الكلمات المفتاحية:** *Genista sp* ، دوكسوروبيسين ، السمية الكبدية ، التوتر التأكسدي .

# REFERENCES

- [1] **Sahna E, Parlakpınar H, Ozer MK, Ozturk F, et al (2003)**. Melatonin protects against myocardial doxorubicin toxicity in rats: role of physiological concentrations. *J Pineal Res* 35:257–61.
- [2] **Machado NG, Baldeiras I, Pereira GC, et al (2010)**. Sub-chronic administration of doxorubicin to Wistar rats results in oxidative stress and unaltered apoptotic signaling in the lung. *Chem Biol Interact* 188:478–86.
- [3] **Thippeswamy AH, Shirodkar A, Koti BC, et al (2011)**. Protective role of Phyllanthus niruri extract in doxorubicin-induced myocardial toxicity in rats. *Indian J Pharmacol* 43:31–5.
- [4] **Yilmaz S, Atessahin A, Sahna E, et al (2006)**. Protective effect of lycopene on adriamycin-induced cardiotoxicity and nephrotoxicity. *Toxicology* 218:164–71.
- [5] **Injac R, Boskovic M, Perse M, et al (2008)**. Acute doxorubicin nephrotoxicity in rats with malignant neoplasm can be successfully treated with fullereneol C60(OH) 24 via suppression of oxidative stress. *Pharmacol Rep* 60:742–9.
- [6] **Mohan M, Kamble S, Gadhi P, Kasture S (2010)**. Protective effect of Solanum torvum on doxorubicin-induced nephrotoxicity in rats. *Food Chem Toxicol* 48:436–40.
- [7] **Lee CK, Son SH, Park KK, et al (2008)**. Licochalcone A inhibits the growth of colon carcinoma and attenuates cisplatin-induced toxicity without a loss of chemotherapeutic efficacy in mice. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 103:48–54.
- [8] **Aydin B, Unsal M, Sekeroglu ZA, Gu'lbahar Y (2011)**. The antioxidant and antigenotoxic effects of pycnogenol\_ on rats treated with cisplatin. *Biol Trace Elem Res* 142:638–50.
- [9] **Reddy PN, Reddy PS, Rao MR (2007)**. Studies on the effect of doxorubicin on MDA, NO<sub>2</sub>, NO<sub>3</sub>, Se-GSH peroxidase and SOD levels in albino rat tissues. *Afr J Biotechnol* 6:2303–9.
- [10] **Oz E, Ilhan MN (2006)**. Effects of melatonin in reducing the toxic effects of doxorubicin. *Mol Cell Biochem* 286:11–15.
- [11] **Brown E, Hurd NS, McCall S, Ceremuga TE (2007)**. Evaluation of the anxiolytic effects of chrysin, a Passiflora incarnata extract, in the laboratory rat. *AANA J* 75:333–7.
- [12] **Pieri F, Kirkiacharian S (1986)**. Pharmacologie et thérapeutique. *Marketing éd, Paris*: 457-488.
- [13] **Yaker A. Cancérologie générale (1983)**. Anatomie pathologique. *Office des publications universitaires, Alger*, 17-63.
- [14] **Carraz G, Calop J. Pharmacodynamie spéciale (1988)**. *Marketing éd, Paris*: 180-225.
- [15] **DENIS Stora (2010)** :anti cancéreux. In “Pharmacologie B.P”.Ed. Wolters Kluwer. Eds Porphyre. France.71,73,76 pp.
- [16] **Pinkerton CR, Philip T (1996)**. Treatment strategies in paediatric cancer. *Consultant series. 7*: 1-5.

- [17] **Zhou Q, Chowbay B (2002)**. Determination of doxorubicin and its metabolites in rat serum and bile by LC: application to preclinical pharmacokinetic studies. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. ; 30 : 1063-1074.
- [18] **Giorgio M, et al (2004)**. Anthracyclines: Molecular Advances and Pharmacologic Developments in Antitumor Activity and Cardiotoxicity. *Pharmacological Reviews* ; 56 : 2 185-229 .
- [19] **Abidli N (2004)**. effect of verapamil on resistance to doxorubicin in mice bearing Ehrlich Ascites Carcinoma cells. Its influence on dox-induced cardiotoxicity and hepatotoxicity. *Thèse de doctorat de l'université de Mentouri de constantine, Algérie*; pp : 28-39.
- [20] **Chen Y, Jungsuwadee P, Vore M, Butterfield DA, Clair DKS (2007)**. Collateral Damage in cancer Chemoterapy: Oxidative stress in Nontargeted Tissues. *Molecular interventions*.; 7 (3): 147-156.
- [21] **Mross K, Mayer U, Hamm K, Burk K, Hossfeld DK (1990)**. Pharmacokinetics and metabolism of iodo-doxorubicin and doxorubicin in humans. *EurJ Clin Pharmacol*. ; 39 : 507-513.
- [22] **Phillips et al, (1996 )**.Adriamycin-induced DNA Adducts Inhibit the DNA Interactions of Transcription Factors and RNA Polymerase . *The Journal of Biological Chemistry*, 271,5422-5429.
- [23] **Outomuro D, Grana DR, Azzato F, Milei J (2007)**.Adriamycin-induced myocardial toxicity: New solutions for an old problem. *International journal o cardiology*. 117: 6-15.
- [24] **Jacintha O, et al (2006)**.Telomere Length in the Colon Declines with Age: a Relation to Colorectal Cancer *Epidemiol Biomarkers Prev*March ;15: 573.
- [25] **Hames BD, Hooper NM, Houghton JD (1999)**. L'essentiel en biochimie. *Berti éd.*: 155-160.
- [26] **Andrieu-Abadie N, Levade T, Laurent G, Hatem S, Mercadier J (1999)**. Le céramide à l'origine de la cardiotoxicité de la doxorubicin?. *Médecine/sciences*. ; 15 : 1322-4.
- [27] **Hurley H (2002)**. DNA and its associated processes as targets for cancer therapy. *Nature Reviews Cancer* ; 188-200 .
- [28] **Iarussi et al.Recent Advances (2001)**. In the Prevention of Anthracycline Cardiotoxicity in Childhood *Current Medicinal Chemistry*, Volume 8, Number 13 , pp. 1649-1660(12).
- [29] **Rhiouani H, El-Hilaly J, Israili ZH, & Lyoussi B (2008)**. Acute and sub-chronic toxicity of an aqueous extract of the leaves of *Herniaria glabra* in rodents. *Journal of Ethnopharmacology*, 118: 378-386.
- [30] **Gérolani R (2005)**. Manifestations de l'action des toxiques au niveau hépatique. In: *Toxicologie*. 2nd ed. *Lavoisier* (Paris), 167-172

- [31] **Wallace AD & Meyer SA (2010)**. Hepatotoxicity. In: A Textbook of Modern Toxicology. 4th ed. *John Wiley & Sons, Inc* (Hoboken, New Jersey), 277-290.
- [32] **Hodgson E & Rosee RL (2010)**. Metabolism of Toxicants. In: A Textbook of Modern Toxicology. 4th ed. *John Wiley & Sons, Inc* (Hoboken, New Jersey), 115-167.
- [33] **Kaplowitz, N, J Hepatol (2000)**. Mechanisms of liver cell injury ,32,39-47.
- [34] **Durak, I., Ozturk, H.S., Kavutcu, M., Birey, M., Yel, M., Guven, T., Olcay, E., Kacmaz, M., Canbolat, O (1998)**. Protective role of antioxidant vitamins on adriamycin-induced free radical production and cardiotoxicity in guinea pigs. *Cancer Res. Ther. Cont.* 5, 133-141.
- [35] **Bagchi, D., Bagchi, M., Hassoun, E.A., Kelly, J., Stohs, S.J (1995)**. Adriamycin-induced hepatic and myocardial lipid-peroxidation and DNA-damage, and enhanced excretion of urinary lipid metabolites in rats. *Toxicology* 95, 1-9.
- [36] **Marchand, D.J., Renton, K.W (1981)**. Depression of cytochrome P-450-dependent drug biotransformation by adriamycin. *Toxicol.Appl. Pharmacol.* 58, 83-88.
- [37] **Babson, J.R., Abell, N.S., Reed, D.J. (1981)**. Protective role of glutathione redox cycle against adriamycin-mediated toxicity in isolated hepatocytes. *Biochem. Pharmacol.* 30, 2299-2304.
- [38] **Wu D & Cederbaum A (2003)**. Alcohol, Oxidative Stress, and Free Radical Damage. *Alcohol Research and Health*, 27: 277-284.
- [39] **Halliwell B (1996)**. Mechanisms involved in the generation of free radicals. *Pathologie Biologie*; 44: 6-13.
- [40] **Gilgun-Sherki, Y., Melamed, E., and Offen, D (2001)**. Oxidative stress induced-neurodegenerative diseases: the need for antioxidants that penetrate the blood brain barrier. *Neuropharmacology* 40: 959-975.
- [41] **Sies, H. and Jones, D. P (2007)**. Oxidative stress and redox signalling: an update . *Polish Journal of Food and Nutrition Science* : 1230-0322 .
- [42] **Devasagayam, T. P., Tilak, J. C., Bloor, K. K., Sane, K. S., Ghaskadbi, S. S. and Lele, R. D (2004)**. Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *J Assoc Physicians India.* 52: 794-804.
- [43] **Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, & Telser J (2007)**. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 39: 44-84
- [44] **Salvayre R, Auge N and Nègre-Salvayre A (2003)**. Rôle de l'oxydation dans la genèse et la progression de l'athérosclérose. *L'athérosclérose : Physiopathologie, Diagnostics,*

*Thérapeutiques.*, J.F., Toussaint, M.P., Jacob, L., Lagrost, J., Chapman, Eds. Masson: Paris, 14, 269-290.

[45] **Monique Gardès-Albert, Dominique Bonnefont-Rousselot, Zohreh Abedinzadeh et Daniel Jore (2003)**. Espèces réactives de l'oxygène. l'actualité chimique ; 91-95

[46]-**Koechlin- Ramonatxo (2006)** . Oxygen , oxidative stress and antioxidant supplementation , or an other way for nutrition in respiratory diseases. *Nutrition Clinique et Métabolisme* ; 20, 4 : 165–177.

[47] **Michelson AM (1982)**. Oxygen radicals. *Agents Actions* (suppl.); 11:179 201.

[48] **Perret et Coll (1983)**. Mécanismes cellulaires de la protection contre la toxicité de l'oxygène. *Arch Fr Pediatr*; 40:585-595.

[49] **Carroll E, et al (1987)** . *Ann Intern Med* ;107(4):526-545

[50] **Favier,A ( 2006)**. Oxidative stress in human diseases. *Ann.Pharm.Fr.* 64: 390-396.

[51] **Mc Cord JM, Fridovich I (1988)**. Superoxide dismutase: the first twenty years. *Free Rad Biol Med*; 5: 363-9.

[52] **Lindau-Sehpard B, Shaffer J (1993)**. Expression of human catalase in acatalasemic murine SVB2 cells confers protection from oxidative damage. *Free Rad Biol Med*; 15: 581-8.

[53] **Powers, S. and M. Jackson (2008)**. "Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production." *Physiol Rev* **88**: 1243-1276.

[54] **Vitoux D, Chappuis P, Arnaud J, Bost M, Accominotti M, Roussel AM (1996)**. S616nium, glutathion peroxydase, peroxydes et fonctions plaquettaires. *Ann Biol Clin*; 54: 181-7.

[55] **Michiels C, Raes M, Houbion A, Remade J (1991)**. Association of antioxidant systems in the protection of human fibroblasts against oxygen derived free radicals. *Free Rad Biol Med*; 14: 323-34.

[56] **Escobar JA, Rubio MA, Lissi EA (1996)**. Superoxide dismutase and catalase inactivation by singlet oxygen and peroxy radicals. *Free Rad Biol Med*; 20: 285-90.

[57] **Meydani M (1995)**. Vitamin E. *Lancet*; 345: 170-5.

[58] **Azzi A, Boscoboinik D, Marilley D, Ozer NK, St/iuble B, Tasinato A (1995)**. Vitamin E: a sensor and an information transducer of the cell oxidation status. *Am J Clin Nutr*; 62 (suppl): 1337S-46S.

[59] **Nenseter MS, Drevon CA (1996)**. Dietary polyunsaturates and peroxidation of low density lipoprotein. *Current Opinion in Lipidology*; 7:8 -13.

[60] **Allard J, Royall D, Kurian R, Muggli R, Jeejeebhoy K (1994)**. Effects of  $\beta$ -carotene supplementation on lipid peroxidation in humans. *Am J Clin Nutr*; 59: 884-90.

- [61] Nelson SK, Bose SK, Mc Cord JH (1994) . The toxicity of high dose superoxide dismutase suggests that superoxide can both initiate and terminate lipid peroxidation in the reperfused heart. *Free Rad Biol Med*; 16: 195-200.
- [62] Vertuani, S., Angusti, A., Manfredini, S (2004). The antioxidants and pro-oxidants network: an overview. *Curr Pharm Des.* Vol 10: 1677-1694.
- [63] Stamler JS, Slivka A (1996). Biological chemistry of thiols in the vasculature and in vascular-related disease. *Nutr Rev*; 54: 1-30.
- [64] Gérard-Monnier D, Chaudière J (1996). Métabolisme et fonction antioxydante du glutathion. *Path Biol*; 44:77-85
- [65] Dalloz F, Maingon P, Cottin Y, Briot F, Horiot JC, Rochette L (1999) . Effects of combined irradiation and doxorubicin treatment on cardiac function and antioxidant defences in the rat. *Free Radic Biol Med*;26:785–800.
- [66] Quiles, J.L., Huertas, J.R., Battino, M., Mataix, J., Ramirez-Tortosa, M.C (2002). Antioxidant nutrients and adriamycin toxicity. *Toxicology* 180, 79–95.
- [67] S. Delemasure, et al (2006) . Prévention de la cardiotoxicité des anthracyclines : approche fondamentale des mécanismes mis en jeu ; relations avec les données cliniques. *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie* ; 55 ; 2 : 104–112
- [68] Kris-Etherton PM, Hecker KD, Bonamone A, et al (2002). Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *Am J Med* 113: 716 886
- [69] Wollgast J, Anklam E (2000). Polyphenols in chocolate: is there a contribution to human health , *Food Research International* 33: 449-59
- [70] Crozier, A.; Jaganath, I.B.; Clifford, M.N (2009). Dietary phenolics: Chemistry, bioavailability and effects on health. *Nat. Prod. Rep.*, 1001–1043.
- [71] Cheynier, V (2005) . Polyphenols in foods are more complex than often thought. *Am. J. Clin. Nutr.*, 81, 223S–229S.
- [72] Manach, C.; Scalbert, A.; Morand, C.; Remesy, C.; Jimenez, I. (2004). Polyphenols: Food sources and bioavailability. *Am. J. Clin. Nutr.*, 79, 727–747.
- [73] Cicerale, S.; Conlan, X.A.; Sinclair, A.J.; Keast, R.S (2009). Chemistry and health of olive oil phenolics. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 49, 218–236.
- [74] Butterfield, D.A.; Castegna, A.; Pocernich, C. B.; Drake, J.; Scapagnini, G.; Calabrese, V (2002). Nutritional approaches to combat oxidative stress in Alzheimer's disease. *J. Nutr. Biochem.*, 13, 444-461.
- [75] Xiuzhen Han, Tao Shen and Hongxiang Lou. (2007). Dietary Polyphenols and Their Biological Significance. *Int. J. Mol. Sci.* 8, 950-988.

- [76] **Manach C, Regeat F, Texier O, Agullo G, Demigne C, Remesy C (1996).** Bioavailability, Metabolism and physiological impact of 4- oxo-Flavonoids. *Nutrition Research*; 16(3): 517-544.
- [77] **Rong Tsao (2010)** .Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. *Nutrients*, 2, 1231-1246 .
- [78] **Wang, H.; Murphy, P.A (1994).** Isoflavone content in commercial soybean foods. *J. Agric. Food Chem*, 42, 1666-1673.
- [79] **Mazur, W.M.; Duke, J.A.; Wahala, K.; Rasku, S.; Adlercreutz, H (1998).** Isoflavonoids and lignans in legumes: Nutritional and health aspects in Humans. *J. Nutr. Biochem* , 9, 193-200.
- [80] **Garazd, M.M.; Garazd, Y.L.; Khilya, V.P (2003).** Neoflavones. 1. Natural distribution and spectral and biological properties. *Chem. Nat. Comp*, 39, 54-121.
- [81] **Tsao, R.; Yang, R.; Young, J.C.; Zhu, H (2003)** . Polyphenolic profiles in eight apple cultivars using high-performance liquid chromatography (HPLC). *J. Agric. Food Chem*, 51, 6347-6353.
- [82] **Zhao, F.; Watanabe, Y.; Nozawa, H.; Daikonnya, A.; Kondo, K.; Kitanaka, S (2005).** Prenylflavonoids and phloroglucinol derivatives from Hops (*Humulus lupulus*). *J. Nat. Prod.*, 68, 43-49.
- [83] **Bohm H, Boeing H, Hempel J (1998).** Flavonols, flavone and anthocyanins as natural antioxidants of food and their possible role in the prevention of chronic diseases. *Z Ernährungswiss* 37(2): 147-63 .
- [84] **Crozier A (2003).** Classification and biosynthesis of secondary plant products: An overview. In: Goldberg G (ed) *Plants: Diet and Health*. British Nutrition Foundation, Chapman Hall, Londres, pp. 27-48 .
- [85] **Grayer, R.J.; Veitch, N.C (2006).** Flavanones and dihydroflavonols. In *Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications*; Anderson, O.M., Markham, K.R., Eds.; CRC Press/Taylor & Francis Group: Boca Raton, FL, USA ; pp. 918-1002.
- [86] **Kawaii, S.; Tomono, Y.; Katase, E.; Ogawa, K.; Yano, M(1999)** . Quantitation of flavonoid constituents in citrus fruits. *J. Agric. Food Chem*, 47, 3565-3571.
- [87] **K. Chira, J.-H. Suh, C. Saucier, P.-L. Teisse`dre (2008).** Les polyphé`nols du raisin. *Phytothé`rapie* 6: 75–82 .
- [88] **Rong Tsao (2010)** .Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. *Nutrients* , 2, 1231-1246 .
- [89] **P. C. H. Hollman, M. N. C. P. Buijsman, Y. van Gameren, P. J. Cnossen, J. H. M. de Vries, and M. B. Katan (1999).**“The sugar moiety is a major determinant of the absorption of dietary flavonoid glycosides in man,” *Free Radical Research*, vol. 31,no. 6, pp. 569– 573,

- [90] **A. J. Day, F. J. Canada, J. C. Diaz et al (2000)**. “Dietary flavonoid and isoflavone glycosides are hydrolysed by the lactase site of lactase phlorizin hydrolase,” *FEBS Letters*, vol. 468, no. 2-3, pp. 166–170 .
- [91] **Scheline R (1973)**. “Metabolism of foreign compounds by gastrointestinal microorganisms,” *Pharmacological Reviews*, vol. 25, no. 4, pp. 451–532 .
- [92] **L. Bravo (1998)**. “Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance,” *Nutrition Reviews*, vol. 56, no. 11, pp. 317–333 .
- [93] **P. C. H. Hollman (2004)**. “Absorption, bioavailability and metabolism of flavonoids,” *Pharmaceutical Biology*, vol. 42, pp. 74–83 .
- [94] **J. E. Spencer, F. Chaudry, A. S. Pannala, S. K. Srail, E. Debnam, and E. C. Rice (2000)**. “Decomposition of cocoa procyanidins in the gastric milieu,” *Biochemical and Biophysical Research Communications*, vol. 272, no. 1, pp. 236–241.
- [95] **Wilhelm Stahl a, Henk van den Berg b, John Arthur c, Aalt Bast d, Jack Dainty e, Richard M. Faulks e, Christine G€artner f, Guido Haenen d, Peter Hollman g, Birgit Holst e, Frank J. Kelly h, M. Cristina Polidori a, Catherine Rice-Evans i, Susan Southon e, Trinette van Vliet j, Jos\_e Vi-na-Ribes k, Gary Williamson e, Si^an B. Astley e (2002)**. Bioavailability and metabolism. *Molecular Aspects of Medicine* ;23 :39–100.
- [96] **W. Zhu, Q. Jia, Y. Wang, Y. Zhang, and M. Xia, (2012)**. “The anthocyanin cyanidin-3-O- $\beta$ -glucoside, a flavonoid, increases hepatic glutathione synthesis and protects hepatocytes against reactive oxygen species during hyperglycemia: involvement of a cAMP/PKA-dependent signaling pathway,” *Free Radical Biology and Medicine*, vol. 52, no. 2, pp. 314–327 .
- [97] **J. Sonnenbichler and I. Zetl (1986)**. “Biochemical effects of the flavonolignan silibinin on RNA, protein and DNA synthesis in rat livers,” in *Progress in Clinical and Biological Research*, V. Cody, E. Middleton, and J. B. Karborne, Eds., vol. 213, pp. 319–331 .
- [98] **Q. He, J. Kim, and R. P. Sharma (2004)**. “Silymarin protects against liver damage in balb/c mice exposed to fumonisin b1 despite increasing accumulation of free sphingoid bases,” *Toxicological Sciences*, vol. 80, no. 2, pp. 335–342 .
- [99] **R. Saller, R. Meier, and R. Brignoli (2001)** . “The use of silymarin in the treatment of liver diseases,” *Drugs*, vol. 61, no. 14, pp. 2035–2063 .
- [100] **Y. Wu, F. Wang, Q. Zheng et al (2006)** . “Hepatoprotective effect of total flavonoids from *Laggera alata* against carbon tetrachloride induced injury in primary cultured neonatal rat hepatocytes and in rats with hepatic damage,” *Journal of Biomedical Science*, vol. 13, no. 4, pp. 569–578 .
- [101] **Ames, B.N.; Shigenaga, M.K.; Hagen, T.M (1993)**. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90, 7915-7922.
- [102] **Rice-Evans, C.A.; Miller, N.J.; Paganga, G (1996)**. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radic. Biol. Med.* , 20, 933-956.

- [103] **Dziedzic, S.Z.; Hudson, B.J.F (1983)**. Polyhydroxy chalcones and flavanones as antioxidants for edible oils. *Food Chem.*, 12, 205-212.
- [104] **Shahidi, F.; Wanasundara, P.K (1992)**. Phenolic antioxidants. *Crit Rev. Food Sci. Nutr*, 32, 67- 103.
- [105] **Bors, W.; Michel, C (2002)**. Chemistry of the antioxidant effect of polyphenols. *Ann. N. Y. Acad. Sci* , 957, 57-69.
- [106] **Yoshino, M.; Murakami, K (1998)**. Interaction of iron with polyphenolic compounds: application to antioxidant characterization. *Anal. Biochem*, 257, 40-44.
- [107] **Perron, N.R.; Brumaghim, J.L (2009)**. A review of the antioxidant mechanisms of polyphenol compounds related to iron binding. *Cell Biochem. Biophys*, 53, 75-100.
- [108] **Hudson, B.J.F.; Lewis, J.I (1983)**. Polyhydroxy flavonoid antioxidants for edible oils. Structural criteria for activity. *Food Chem* , 10, 47-55.
- [109] **Rice-Evans, C.A.; Miller, N.J.; Paganga, G (1997)**. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends Plant Sci*, 2, 152-159.
- [110] **Khokhar, S.; Apenten, R.K.O (2003)**. Iron binding characteristics of phenolic compounds: Some tentative structure-activity relations. *Food Chem*, 81, 133-140.
- [111] **Scalbert, A.; Manach, C.; Morand, C.; Remesy, C.; Jimenez, L (2005)**. Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr*, 45, 287-306.
- [112] **Fraga, C.G (2007)**. Plant polyphenols: how to translate their *in vitro* antioxidant actions to *in vivo* conditions. *IUBMB Life*, 59, 308-315.
- [113] **Cotelle, N (2001)**. Role of flavonoids in oxidative stress. *Curr. Top. Med. Chem*, 1, 569-590.
- [114] **Huang, D.; Ou, B.; Prior, R.L (2005)**. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J. Agric. Food Chem*, 53, 1841-1856.
- [115] **Hagerman, A.E.; Riedl, K.M.; Jones, G.A.; Sovik, K.N.; Ritchard, N.T.; Hartzfeld, P.W.; Riechel, T.L (1998)**. High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxidants. *J. Agric.Food Chem*, 46, 1887-1892.
- [116] **Baumann J, von Bruchhausen F, Wurm G (1980)**. Flavonoids and related compounds as inhibition of arachidonic acid peroxidation. *Prostaglandins* ;20:627–39.
- [117] **Yoon JH, Baek SJ (2005)**. Molecular targets of dietary polyphenols with anti-inflammatory properties. *Yonsei Med J*;46:585–96.
- [118] **Blay M, Espinel AE, Delgado MA, Baiges I, Blade´ C, Arola L, et al (2010)**. Isoflavone effect on gene expression profile and biomarkers of inflammation. *J Pharm Biomed Anal*;51:382–90.

- [119] **Martinez J, Moreno JJ (2000)**. Effect of resveratrol, a natural polyphenolic compound, on reactive oxygen species and prostaglandin production. *Biochem Pharmacol*;59:865–70.
- [120] **Moreno JJ (2003)**. Effect of olive oil minor components on oxidative stress and arachidonic acid mobilization and metabolism by macrophages RAW 264.7. *Free Radic Biol Med*;35:1073–81.
- [121] **Ashour Osama M., Elberry Ahmed A., Alahdal Abdulrahman M., Al Mohamadi Ameen M., Nagy Ayman A., Abdel-Naim Ashraf B., Abdel-Sattar Essam A., Mohamadin Ahmed M. (2011)**. Protective effect of bilberry (*Vaccinium myrtillus*) against doxorubicin-induced oxidative cardiotoxicity in rats. *Med Sci Monit*; 17(4): 110-115.
- [122] **Uchiyama M. and Mihara M (1978)**. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thriobarbituric acid test. *Analytical Biochemistry*. 86, 271-278.
- [123] **Ellman GL. (1959)**. Plasma antioxidants. *Arch. Biochemistry and Biophysics*. 82: 70-77.
- [124] **Flohé L., Gunzler W.A. (1984)**. Assays of glutathione peroxidase. *Methods Enzymol*, 105:114–121.
- [125] **Claiborne A. (1985)**. Catalase activity. In *CRC Handbook of Methods for Oxygen Radical Research*, ed. Greenwald RA, pp. 283–284.
- [126] **Durak, I., Ozturk, H.S., Kavutcu, M., Birey, M., Yel, M., Guven, T., Olcay, E., Kacmaz, M., Canbolat, O (1998)**. Protective role of antioxidant vitamins on adriamycin-induced free radical production and cardiotoxicity in guinea pigs. *Cancer Res. Ther. Cont.* 5, 133–141.
- [127] **Kalender, S., Kalender, Y., Ates, A., Yel, M., Olcay, E., Candan, S (2002)**. Protective role of antioxidant Vitamin E and catechin on idarubicin-induced cardiotoxicity in rats. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 35, 1379–1387.
- [128] **Quiles, J.L., Huertas, J.R., Battino, M., Mataix, J., Ramirez-Tortosa, M.C (2002)**. Antioxidant nutrients and adriamycin toxicity. *Toxicology* 180, 79–95.
- [129] **Doroshov, J.H (1983)**. Anthracycline antibiotic-stimulated superoxide hydrogen peroxide and hydroxyl radical production by NADH dehydrogenase. *Cancer Res.* 43, 4543–4551.
- [130] **Mohan M, Kamble S, Satyanarayana J, et al (2011)**. Protective effect of *Solanum torvum* on Doxorubicin- induced hepatotoxicity in rats. *Int J Drug Dev Res* 3:131–8.
- [131] **Ras'kovic' A, Stilinovic' N, Kolarovic' J, et al (2011)**. The protective effects of silymarin against doxorubicin-induced cardiotoxicity and hepatotoxicity in rats. *Molecules* 16:8601–13.
- [132] **Saad SY, Najjar TA, Al-Rikabi AC (2001)**. The preventive role of deferoxamine against acute doxorubicin-induced cardiac, renal and hepatic toxicity in rats. *Pharmacol Res* 43:211–18.

[133] **Kalender, S., Kalender, Y., Ogutcu, A., Uzunhisarcikli, M., Durak, D., Acikgoz, F (2004).** Endosulfan-induced cardiotoxicity and free radical metabolism in rats: the protective effect of Vitamin E. *Toxicology* 3, 227–235.

[134] **Kozluca, O., Olcay, E., Su“ru“cu“, S., Gu“ran, Z., Kulaksız, T., U“ skent, N (1995).** Prevention of doxorubicin induced cardiotoxicity by catechin. *Cancer Lett.* 98, 1–6.

[135] **Hodnick, W.F., Kung, F.S., Roettger, W.J., Bohmont, C., Pardini, R.S (1986).** Inhibition of mitochondrial respiration and production of toxic oxygen radicals by flavonoids. *Biochem. Pharmacol.* 35, 2345–2357.

Mlle BOUABID MERIEM  
Mlle ZATOUT NESRINE

Encadreur : Mme BOUBEKRI NASSIMA

**Thèse : L'activité biologique de l'extrait butanolique de la plante  
*Genista sp.* : Effet sur  
L'hépatotoxicité induite par la Doxorubicine**

**Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de master 2**

**Résumé**

Doxorubicine (DOXO) est un médicament anticancéreux utilisé dans le traitement de nombreuses affections malignes humaines. Toutefois, son utilisation clinique est limitée en raison de plusieurs effets secondaires comme la cardiotoxicité, la néphrotoxicité et l'hépatotoxicité.

Dans la présente étude, nous avons étudié l'efficacité protectrice de *Genista sp.* Contre le stress oxydatif et l'hépatotoxicité induites par DOXO chez des rats Wistar mâles à l'aide des approches biochimiques.

Rats Wistar ont été soumis à un traitement oral de l'extrait butanolique de *Genista sp.* (50 mg/kg) contre l'hépatotoxicité induite par une injection intrapéritonéale unique de DOXO (15 mg/kg). L'hépatotoxicité a été évaluée en mesurant le taux sérique d'AST, d'ALT et Les activités des enzymes antioxydants GPx, CAT et les niveaux d'MDA et du GSH, nous avons mesuré aussi les niveaux de cholestérol et de triglycérides.

L'activité enzymatique du GP<sub>x</sub> et de la CAT diminue dans le groupe traité par la doxorubicine comparativement au groupe témoin. L'activité du GP<sub>x</sub> a augmenté dans le groupe traité avec l'extrait butanolique et la VE, comparativement au groupe traité par la doxorubicine. Le niveau d' MDA a augmenté dans le groupe traité par la doxorubicine par rapport au groupe témoin et a diminué dans le groupe traité avec l'extrait butanolique-doxorubicine aussi dans le groupe traité avec la VE.

Les niveaux du cholestérol et de triglycérides ont augmenté dans le groupe traité avec la doxorubicine par rapport au groupe témoin, et diminue dans le groupe traité avec l'extrait butanolique et doxorubicine aussi bien dans le groupe traité avec la VE-doxorubicine comparativement au groupe traités avec la doxorubicine. D'après les constatations biochimiques, nous concluons que l'extrait butanolique et la vitamine E réduisent considérablement l'hépatotoxicité induite par la doxorubicine chez les rats.

**Mots clés** : doxorubicine, hépatotoxicité, stress oxydatif, *Genista sp.*

*Laboratoire de recherche : laboratoire de biologie animale université Mentouri Constantine*