



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 : Biologie Animale

قسم : بيولوجيا الحيوان

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 :

Les polyphénols de l'extrait ethanologique de Thé vert (*Camellia sinensis*): Evaluation de leur pouvoir antioxydant et protecteur vis-à-vis la toxicité cardiaque de la doxorubicine.

Présenté et soutenu par : Saadallah Nesrine
Kebabi Sara

Le : 15 /06/2015

Jury d'évaluation :

Président du jury : Menad Ahmed (Pr- UFM Constantine).

Rapporteur : Amrani Amel (MC- UFM Constantine).

Examineurs I: Benchaabane Samia (MA- UFM Constantine).

Examineurs II : Bouldjadje Radouane (MA-CUFM Constantine).

Année universitaire
2014 - 2015

Remerciement

En préambule à ce mémoire, nous souhaitons adresser nos remerciements les plus sincères aux personnes qui nous ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce mémoire ainsi qu'à la réussite de cette formidable année.

Notre remerciement s'adressent en particulier à M^d : AMRANI AMEL, qui, en tant que Directrice de mémoire, s'est toujours montré à l'écoute et très disponible tout au long de la réalisation de ce mémoire, ainsi pour l'inspiration, l'aide et le temps qu'il a bien voulu nous consacrer et sans qui ce mémoire n'aurait jamais vu le jour.

Nous tenons aussi à remercier les a le membre de jury qui en bien voulu accepter de valoriser ce travail. Le président de jury monsieur MENAD AHMED de nous avoir fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire . Nous tenons aussi à remercier les autre membre de jury M^d. BEN CHAABANE Samia et Mr. BOULDJADJE Redouen

Sans oublier l'aide de ses personnes : Djebbari Radja ... M^d. BOULBAKRI Nassima ... GHAZI Kahina et Maya

*Enfin, On adresse nos plus sincères remerciements à tous nos proches et amis, qui nous ont toujours soutenue et encouragée au cours de la réalisation de ce mémoire.
Merci à toutes et à tous.*



Dédicace

*Je commence ma dédicace au nom du dieu et le salut sur
Mohamed le messager de dieu*

Je voudrais dédie ce modeste travail à

*Toi MA MÈRE, l'être le chère dans ma vie, toi qui est
toujours là à me consoler, me soulager et m'encourager, toi
qui donner le précieux de toi pour me voir réussir de jour en
jour, MÈRE tu es*

« La cause de ma réussite dans la vie »

*L'être que j'aime tant, toi PÈRE qui a veillé toujours pour
mon bien-être*

« Toi PÈRE la lueur de mon chemin »

« Mes adorables frères et sœurs »

Rima, khaled, ahlem, kheireddine, salaheddine et yasser

« A mes tantes et à mes oncles et mes voisins. »

« A chaque cousins et cousines. »

*A mes chers amies Imen, Meriem, mimi, Fati , Lilia, Kenza,
Halima, Merri .*

« A Mon partenaire Sarah »

« A tout mes professeurs »

Et a tout mes collègues de l'institut

« A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin »

Nesrin





Dédicace



Je commence ma dédicace au nom du dieu et le salut sur Mohamed le messager de dieu

Je voudrais dédie ce modeste travail à

Toi MA MÈRE, l'être le chère dans ma vie, toi qui est toujours là à me consoler, me soulager et m'encourager, toi qui donner le précieux de toi pour me voir réussir de jour en jour, MÈRE tu es « La cause de ma réussite dans la vie »

L'être que j'aime tant, toi PÈRE qui a veillé toujours pour mon bien être « Toi PÈRE la lueur de mon chemin »

A ma grande mère décédée : fatima ezzahraa

A ma grande mère : rokaya

A ma grand père :tahare

A mes chers frères: Walide...Aymen....et ma sœur Rania. Pour leur soutien moral et leurs sacrifices le long de ma formation.

A mon marie qui m'a guidé tout au long de ce projet avec son amour incessant et son dévouement envers ma réussite

A ma nouvelle famille : Hafiani

A mes tantes et à mes oncles et mes voisins.

A chaque cousins et cousines.

A mes meilleurs amis(es) : Nacera ,Soumia, Yasmine ...

A Tous mes professeurs

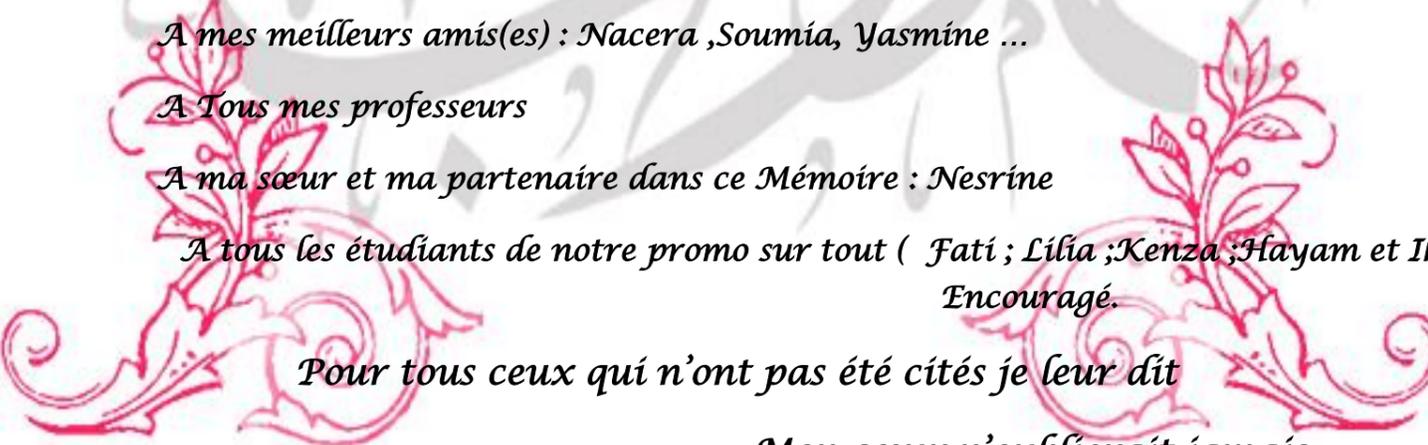
A ma sœur et ma partenaire dans ce Mémoire : Nesrine

A tous les étudiants de notre promo sur tout (Fatí ; Lília ;Kenza ;Hayam et Ikram)A tous ceux qui m'ont Encouragé.

Pour tous ceux qui n'ont pas été cités je leur dit

Mon cœur n'oublierait jamais

SARAH



SOMMAIRE

Introduction

Chapitre1 : Le Thé Vert

<i>1. Nomenclature et taxonomie</i>	<i>03</i>
<i>2. Classification systématique</i>	<i>03</i>
<i>3. Description botanique</i>	<i>03</i>
<i>4. Fabrication et consommation de thés vert dans le monde</i>	<i>04</i>
<i>5. Les constituants chimiques</i>	<i>06</i>
<i>5.1. Composés phenoliques et polyphenols</i>	<i>08</i>
<i>5.2. Les différentes familles chimiques des polyphénols</i>	<i>09</i>
<i>5.2.1. Les flavonoides</i>	<i>09</i>
<i>5.2.1.1. Les flavanols</i>	<i>09</i>
<i>5.2.1.2. Les flavonols</i>	<i>11</i>
<i>5.2.1.3. Les acides-phénols</i>	<i>12</i>
<i>5.2.1.4. Les tanins</i>	<i>13</i>
<i>5.2.1.5. Les théaflavines</i>	<i>13</i>
<i>5.2.2. Biosynthèse des catéchines de thé vert</i>	<i>14</i>
<i>5.2.3. Biodisponibilité orale et élimination des catéchines</i>	<i>14</i>
<i>5.3. Les Bases Puriques</i>	<i>16</i>
<i>5.3.1. Les alcaloïdes</i>	<i>16</i>
<i>5.3.2. La caféine</i>	<i>16</i>
<i>5.3.3. La théophylline et la théobromine</i>	<i>17</i>
<i>5.4. Les Vitamines</i>	<i>17</i>
<i>5.5. Les Composés minéraux</i>	<i>18</i>
<i>5.5.1. Le potassium</i>	<i>18</i>
<i>5.5.2. Le fluor</i>	<i>18</i>

5.5.3. L'aluminium.....	18
5.5.4. Les éléments minéraux à concentration mineure.....	18
5.6. Les Acides amines	19
5.7. Les Glucides	19
5.8. Les Lipides	19
5.9. L'huile Essentielle	19
5.9. L'huile Essentielle	19
5.10. Les Caroténoïdes	20
6. Activité pharmacologique des flavonoïdes de thé.....	20
6.1. Pouvoir anti-oxydant.....	20
6.1.1. Relation structure-activité	20
6.1.2. Inhibition de la peroxydation lipidique.....	21
6.1.3. Effets cardiovasculaires	22
6.1.4. Flavonoïdes et modulation de l'expression des gènes dans la cellule.....	23
7. Action de la caféine sur le système cardiovasculaire	23
7.1. Effets centraux	23
7.2. Effets périphériques.....	23
 Chapitre 2 : La cardiotoxicité de la doxorubicine	
1. La doxorubicine	24
1.1. Historique	24
1.2. Pharmacologie	24
1.2.1. Structure moléculaire	24
1.2.2. Absorption/élimination	25
1.2.3. Pharmacocinétique	26
1.3. Principaux mécanismes d'action.....	27
1.3.1. Intrcalation dans la molécule d'ADN.....	27
1.3.2. Inhibition de l'enzyme topoisomérase II.....	28
1.3.3. Inhibition de la synthèse d'ADN.....	28

1.3.4. Interaction avec les membrane plasmique.....	29
1.4. Indications thérapeutiques et toxicité.....	29
2. Toxicité cardiaque	30
2.1. Principaux mécanismes de la cardiotoxicité des anthracyclines.....	30
2.1.1 Production de radicaux libres par les anthracyclines.....	30
2.1.1.1. Formation des espèces activé de l'oxygene.....	31
2.1.1.2. Formation des espèces activé de l'azote.....	32
2.1.1.3. Effet toxique cellulaire de la production des RL.....	32
2.1.2. Apoptose cellulaire induite par les anthracyclines.....	34
2.1.3. Perturbation de l'homéostasie calcique.....	34
2.1.4. Modulation de l'expression de certains gènes.....	34
2.2. Conséquences anatomo-pathologiques.....	35
2.3. Aspects cliniques de la cardiotoxicité des anthracyclines.....	36
2.3.1. Cardiotoxicité aiguë.....	36
2.3.2. Cardiotoxicité subaiguë.....	37
2.3.3. Cardiotoxicité chronique.....	37
2.3.4. Cardiotoxicité tardive.....	38
2.4. Facteurs de risque cardiovasculaire.....	38
2.5. Prévention et réduction de la toxicité cardiaque des anthracyclines.....	39
2.5.1. La cardioprotection.....	40
2.5.1.1. Antioxydants.....	40
2.5.1.2. Chélateurs de fer.....	41
2.5.1.3. Accélérateurs de la dégradation des peroxy-nitrites.....	42

Chapitre 3 : Matériels et Methodes

1-Dosage des composés phénoliques totaux.....	43
2-Dosage des flavonoïdes totaux.....	43
3-Dosage de l'activité antiradicalaire DPPH.....	43
4-Modèle experimentalin vivo.....	44

<i>4-1-Évaluation de la peroxydation lipidique</i>	<i>44</i>
<i>4-2- Dosage du glutathion</i>	<i>44</i>
<i>4-3-Évaluation de l'activité enzymatique de GPx</i>	<i>45</i>
<i>4-4-Evaluation de l'activité enzymatique de la catalase (CAT)</i>	<i>45</i>
<i>4-5-Évaluation de l'activité enzymatique d'aspartate transaminase</i>	<i>45</i>
<i>4-6-Évaluation statistique</i>	<i>45</i>
 Chapitre4 :Résultat et Discussion	 47
 <i>1-Dosage des composés phénoliques et flavonoides totaux</i>	 <i>47</i>
<i>2-Évaluation du pouvoir antioxydant</i>	<i>47</i>
<i>3-Effet de la doxorubicine sur les cellules cardiaque et l'action cardioprotecteur de l'extrait .ethanolique de thé vert.</i>	 <i>48</i>
<i>4-L'action protecteur de l'extrait ethanolique de thé vert vis a vis la peroxydation lipidique</i>	<i>48</i>
<i>5-Effet de la doxorubicine, de l'extrait ethanolique sur le niveau de GSH cardiaque</i>	<i>49</i>
<i>6-Effet de la doxorubicine, de l'extrait ethanolique sur l'activité enzymatique de GPx</i>	<i>50</i>
<i>7-Evaluation du systèmeantioxydant (catalase) dans le cytosol</i>	<i>50</i>
 Discussion	 51
 Conclusion	 53

Liste des figures :

Figure 1 : La plante *Camellia sinensis*

Figure 2 : Principaux pays producteurs

Figure 3 : Les principales étapes du traitement des feuilles de théières après récolte

Figure 4 : Structure de base des catéchines

Figure 5 : Epicatéchine (EC)

Figure 6 : Gallate d'epicatéchine

Figure 7 : Epigallocatechine (EGC)

Figure 8 : Gallate d'epigallocatechine (EGCg)

Figure 9 : Structure générale des flavonols

Figure 10 : Acide caféique

Figure 11 : Acide gallique

Figure 12 : Théaflavine

Figure 13 : Théaflavine-3-gallate (TF-2)

Figure 14 : Biosynthèse des catéchines dans les feuilles de « *Camellia sinensis* »

Figure 15 : Caféine

Figure 16 : Théophylline

Figure 17 : Théobromine

Figure 18 : Théanine

Figure 19 : Structure chimique des anthracyclines

Figure 20 : Modèle de transport d'une molécule d'anthracycline par flip-flop (changement de position des molécules d'un feuillet de la bicouche à l'autre)

Figure 21 : Représentation schématique des trois étapes du mécanisme de translocation nucléaire du complexe Doxorubicine- Protéasome

Figure 22 : Mécanisme de toxicité cellulaire (l'inhibition de l'enzyme topoisomérase II) et structure moléculaire de la doxorubicine

Figure 23 : Production de radicaux super-oxydes ($O_2^{\cdot-}$) par réaction enzymatique d'oxydoréduction de la fonction quinone des anthracyclines et formation de peroxynitrites (ONOO).

Figure 24 : Mécanisme de toxicité cardiaque de la doxorubicine dans les cardiomyocytes

Figure 25 : Coupes histologiques à travers le myocarde de rat. A. Coeur contrôle B. Coeur ayant reçu une injection unique de DOX (2.5 mg/kg) C. Coeur ayant reçu une dose cumulative de DOX durant 7 jours (15 mg/kg)

Figure26: Stratégies pour prévenir la cardiotoxicité induite par l'administration des anthracyclines.

Figure27 : Pourcentage de l'activité antiradicalaire de l'extraitethanolique de *Camellia sinensis*vis-à-vis du radical libre DPPH.

Figure28 : Effet de la doxorubicine, de l'extrait ethanolique de *thé vert* sur la fonction cardiaqueet sa libération des transaminases (TGO).

Figure29 :Effet de l'extrait ethanolique de thé vert sur la production du MDA dans les cellules cardiaques.

Figure30 : Effet de l'extrait ethanolique de *camellia sinensis*sur le niveau de GSH dans le cœur.

Figure31 : Effet préventif de l'extrait ethanolique de *Camilliasinensis* sur la défense enzymatique antioxydant (GPx) dans le coeur, sous l'effet d'un stress oxydant induit par la doxorubicine chez les rats.

Figure32: Effet préventif des flavonoids de thé vert et de la vitamine E sur la defense enzymatique antioxydant (catalase) dans le cœur, sous l'effet d'un stress oxydant induit par La doxorubicine chez les rats.

La liste des tableaux :

Tableau 1: Composition chimique de la feuille de thé, exprimée en pourcentage par rapport au poids sec de la drogue.

Tableau 2: Evolution de la composition chimique lors de la maturation de la feuille de thé, exprimée en croix

Tableau 3 : Principales catéchines du thé et leurs substitutions relatives

Tableau 4 : Principaux flavonols du thé et leurs substitutions relatives

Tableau 5 : Composition de la feuille de thé en vitamines du groupe B

Tableau 6: Composition chimique de la feuille de thé, exprimée en pourcentage par rapport au poids sec de la drogue

Tableau 7: Evolution de la composition chimique lors de la maturation de la feuille de thé, exprimée en croix

Tableau 8 : Principales catéchines du thé et leurs substitutions relatives

Tableau 9 : Principaux flavonols du thé et leurs substitutions relatives

Tableau 10 : Composition de la feuille de thé en vitamines du groupe B

Liste des Abréviations

AMPc	Adenosine monophosphate cyclique
BAD	Bcl-2 Associated Death promoter
BAV	Bloc auriculo-ventriculaire
BAX	Bcl-2 Associated X protein
Bcl-2	B-cell lymphoma 2
Bcl-xL	B- cell lymphoma XI
C	Carbone
C°	Degré celsius
Caspases	CysteinyI-dependent aspartate specific proteases
DCT	Dose cumulée totale
DTNB	5, 5' - dithiobis 2-nitrobenzoïque
DO	Densité optique
DOX	Doxorubicine
EC	Épicatéchine
ECG	Gallate Épicatéchine
ECG	Électrocardiogramme
EDTA	Ethylene diamine tetraacetic acid
EGC	Épigallocatechine
EGCG	Gallate Épigallocatechine-
FDA	Food and Drug Administration
Fe⁺²	Ferreux
Fe⁺³	Ferrique
FEVG	La fraction d'éjection du ventricule gauche
GPx	Les glutathion peroxydases
GSH	Glutathion réduit
GSSH	Glutathion oxydé
H₂O₂	Peroxyde d'hydrogène
I %	Pourcentage d'inhibition
I.p	Intrapéritonéale
IC	Insuffisance cardiaque
KaG	Glucoside de Kaempferol

LDL	Low density lipoprotein
MDA	Malondialdehyde
Mn-SOD	superoxydes dismutases a manganèse
MyG	Glucoside de Myricitine
NAC	la N-acétylcystéine
NADH	Reduced nicotinamide dinucleotide
NADPH	Reduced nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate
NO°	Nitric oxide radical
NOS	Nitric oxide synthase
O2°-	Superoxide ion radical
OH°	Hydroxyl radical
ONOO-	Peroxynitrite
PCD	programmed cell death
PH	Hydrogen ion concentration
QuG	Glucoside de Qercetine
Redox	Reduction-Oxidation
RL	radicaux libres
RLO	radicaux libres de l'oxygene
RNA	Ribonucleic acid
ROS	Reactive oxygen species
SOD	Superoxyde dismutase
TBA	Thiobarbituric acid
TCA	Trichloroacetic acid
TGO	Glutamic-oxalo acetic transaminase
TNB	l'acide thionitrobenzoïque
UV	Ultraviolet
Vit C	acide ascorbique
Vit E	tocochromanol

INTRODUCTION

Introduction

La doxorubicine (DOX), appartenant à la famille des anthracyclines, est l'un des agents chimiothérapeutiques le plus efficace utilisé dans le traitement d'une variété de tumeurs solides et hématologiques malignes [1]. Son efficacité antitumorale est dose dépendante, mais son utilisation clinique est limitée par le développement de cardiomyopathies et d'insuffisances cardiaques congestives [2, 3].

Au niveau cellulaire, le mécanisme par lequel la DOX exerce leur cardiotoxicité est encore mal compris. En effet, pour les cellules tumorales, il est classiquement admis que le mécanisme principal de cytotoxicité est lié à l'interaction du produit avec l'ADN, en particulier avec la topoisomérase II nucléaire. Or, cette enzyme est très peu exprimée dans les cellules quiescentes sur le plan prolifératif, comme le sont les cellules cardiaques. Ce constat a encouragé la recherche d'autres mécanismes susceptibles de rendre compte de la toxicité cardiaque. Ainsi, une accumulation de Ca^{2+} intracytosolique, des altérations de la transcription de gènes codant pour certaines protéines de l'appareil sarcomérique, la stimulation de différentes protéine-kinases ou encore l'induction d'un *stress* oxydant ont été incriminés. En effet, la sensibilité particulière du cœur aux anthracyclines serait liée à un déficit relatif des défenses anti-oxydantes des myocytes cardiaques par comparaison à d'autres tissus, ce que traduisent un taux relativement bas de superoxydedismutase et de catalase et un faible taux de renouvellement du glutathion [4].

Une des hypothèses qui pourrait expliquer la perte progressive des myocytes cardiaques dans certaines situations telles que l'insuffisance cardiaque repose sur la survenue d'un processus d'apoptose dans le myocarde atteint. L'apoptose des myocytes cardiaques peut être induite *in vitro* par une incubation courte (1h) de myocytes ventriculaires de rat adulte avec de faibles concentrations de doxorubicine (0,1-0,5 μ M), semblables à celles qui sont obtenues *in vivo* au pic de concentration plasmatique après administration en *bolus* de doses conventionnelles, entraînant une apoptose cellulaire tardive, culminant à sept jours de culture [7, 8]. Cependant, les voies de signalisation mises en jeu au cours de cette apoptose restaient à identifier. Une des approches utilisées pour déterminer la nature, la fonction et la régulation de molécules pouvant jouer un rôle dans la transmission du signal apoptotique, repose sur l'utilisation de molécules cardioprotectrices [4].

Dans ce cadre, de nombreuses molécules antioxydantes ont été proposées comme protectrices de la cardiotoxicité comme la N-acétyl-cystéine, le coenzyme Q10 ou la vitamine

Introduction

Equi a montré un intérêt dans la prévention de la cardiotoxicité de la DOX. Plus récemment, de nombreuses équipes se sont intéressées à des composés chimiques mimant l'activité des antioxydants enzymatiques (la SOD, La catalase et de la glutathion réductase), des enzymes clés dans la détoxification et la protection antioxydante de la cellule [5, 6].

Au cours des dernières décennies, et malgré la découverte de nouveaux composés en chimie de synthèse, les sources naturelles restent le principal fournisseur de nouveaux médicaments et de nouvelles structures chimiques. Nous assistons donc à un regain de la phytothérapie surtout pour les produits riches en polyphénols, et principalement en flavonoïdes qui ont montré des propriétés biologiques antioxydants intéressantes [7, 3].

Des études très récentes chez l'animal (rats et souris) ont montré que les extraits de thé vert (*Camellia sinensis*) étaient un agent cardioprotecteur efficace, réduisant significativement l'incidence et la gravité des lésions cardiaques induites par la doxorubicine et augmentant l'activité des antioxydants enzymatiques et le taux de glutathion comparativement au groupe témoin [8, 9, 10, 11].

Notre projet de mémoire vise à appréhender sur un modèle animal:

- 1) La cardiotoxicité aiguë induite par la doxorubicine par injections intra-péritonéales chez le rat.
- 2) La potentialité de cardioprotection d'un composé naturel agissant sur le niveau du stress oxydatif (extrait éthanolique de *Camellia sinensis*).

Chapitre I

LE THE VERT

Le thé vert

Le thé est la deuxième boisson la plus bue dans le monde après l'eau. De nombreux bénéfices du thé vert ont été constatés sur la santé de l'organisme notamment sur la santé de la peau, **du cœur** et le contrôle du poids. D'autres bénéfices du thé vert sont en train d'émerger à travers des recherches scientifiques et retiennent l'attention des médias, comme dans le domaine du cancer ou des **maladies cardiovasculaire**. Ces bénéfices du thé vert, qu'ils soient récemment déterminés ou connus de longue date, reposent sur des fondements plus ou moins solides, ils ne sont pas encore formellement établis mais l'attention est portée sur les associations positives sur la santé retrouvées chez les consommateurs de thé vert. Le bénéfice le plus exploité est le comportement du thé vert comme antioxydant *in vitro*. De nombreux nouveaux produits font référence au potentiel antioxydant du thé vert. [12]

1. Nomenclature et taxonomie

Le nom signifie *sinensis chinois* en Amérique. *Camellia* est tiré du nom latin de Re Georg Kamel, SJ (1661-1706), un d'origine tchèque prêtre qui devient à la fois un botaniste éminent et un missionnaire à l' Philippines. Bien que Kamel n'ait pas découvert ou nommé l'usine, CARL VON LINNE a choisi son nom pour le genre d'honorer les contributions de Kamel à la science. Les noms de l'usine de thé comprennent *BOHEA Thea*, *Thea sinensis* et *Thea viridis*. [13]

2. Classification systématique

La classification selon Cronquist établie en 1981 est la suivante :

Embranchement : *Spermatophytes*

Sous-embranchement : *Angiospermes*

Classe : *Dicotylédones ou Magnoliopsidae*

Ordre : *Théales*

Famille : *Theaceae*

Genre : *Camellia*

Espèce : *Camellia sinensis* (L) O. Kuntze, syn. *Thea sinensis* L.

3. Description botanique

A l'état naturel, le théier est un petit arbre très rameux, de 5 à 10 mètres de haut et pouvant atteindre 15 mètres. Les fleurs sont odorantes, axillaires et solitaires. Leur taille varie et peut aller jusqu'à 3 centimètres (cm). Elles sont dialypétales (les pétales sont indépendants entre

eux), pentamères (formées de cinq pétales), actinomorphes (l'agencement des pièces florales est symétrique par rapport à l'axe de la fleur), et bisexuées. Les pétales sont blancs, légèrement adhérents à la base et forment une corolle spiralée (figure 1).[14]

Le calice, formé de cinq sépales, est également spiralé. Le nombre d'étamines, jaunes, peut aller jusqu'à 200. Elles sont polyadelphes, c'est-à-dire soudées en faisceau par la base de leurs filets. Le fruit est une capsule loculicide trigone (avec trois loges uniséminées), ne renfermant qu'une ou deux graines oléagineuses, exalbuminées, entourées d'un tégument sans arille. [15],[16]



Figure 1 : La plante *Camellia sinensis* [17]

4. Fabrication et consommation de thés vert dans le monde

Le thé est aujourd'hui produit dans de nombreux pays et principalement en Inde et en Chine. Voici par ordre d'importance, en pourcentage de la production mondiale les pays producteurs de thé : Inde (34%), Chine (19%), Sri Lanka (11%), Kenya (10%), Japon (6%), Bangladesh (5%), Indonésie (5%), Turquie (2%), Iran (1%), Argentine (1%), Malawi (1%), Taiwan (1%), Georgie (1%), Mozambique (1%) (figure 2).[18]

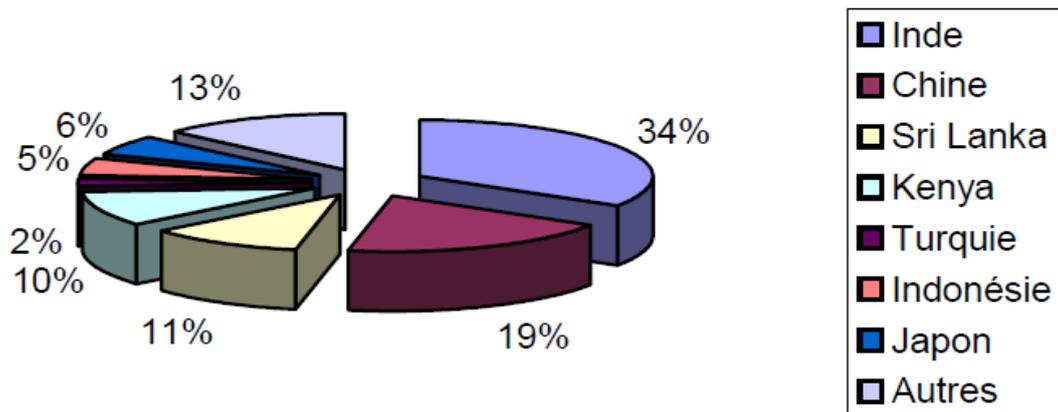


Figure2 : Principaux pays producteurs [19]

Le thé vert est un thé non fermenté, son processus de fabrication est donc plus court. Après le ramassage des feuilles il faut détruire l'enzyme responsable de la fermentation en jetant les feuilles dans de l'eau bouillante pendant 20 à 30 secondes. Les feuilles sont ensuite roulées puis séchées afin d'éviter toute moisissure.[20]

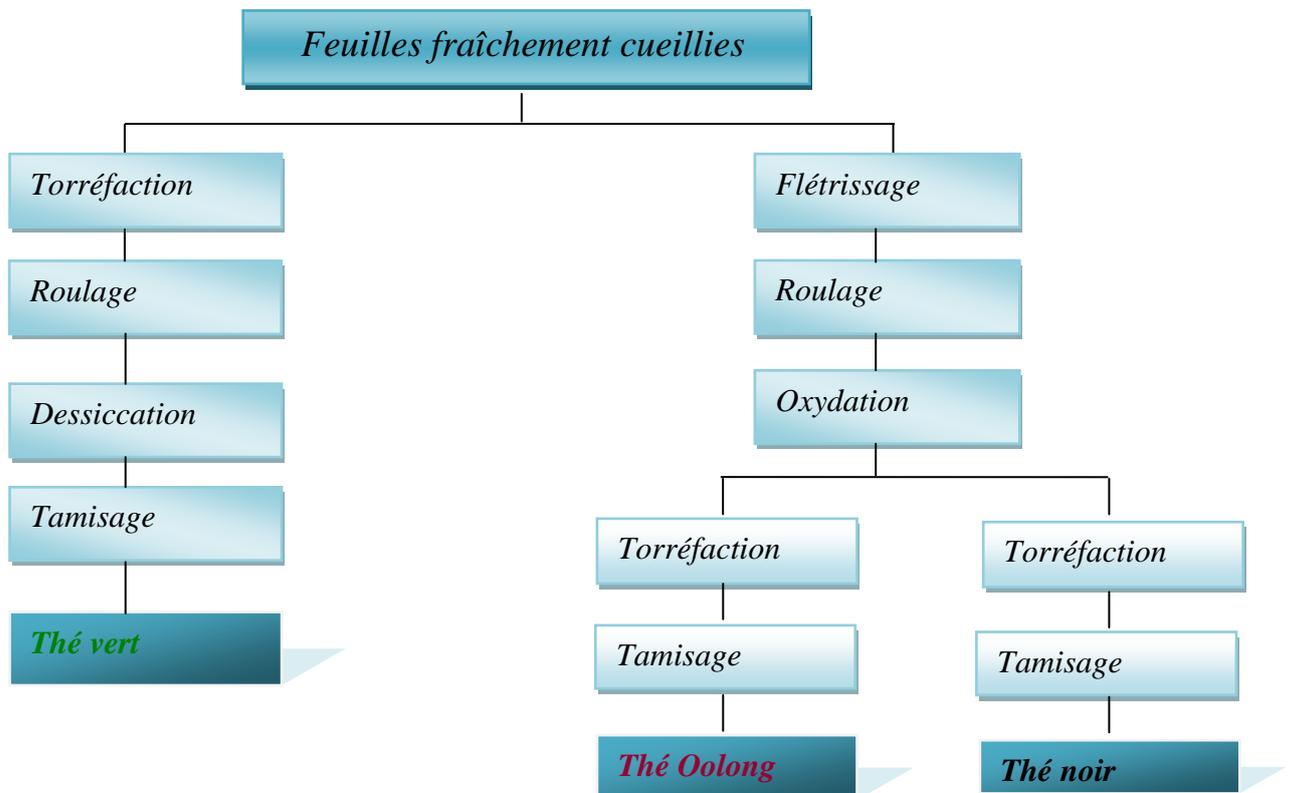


Figure 3 : Les principes étapes du traitement des feuilles de théières après récolte. [20]

Entre 1998 et 2000, environ 2.9 millions de tonnes de thé furent consommées par an. Le thé est une boisson traditionnelle chez la plus part des pays producteurs de thé, ils sont donc aussi les plus grands consommateurs. En effet, la consommation domestique représente plus de la moitié de la production soit 56%, et parfois ce pourcentage peut se rapprocher des 100% comme par exemple au Japon où 97% de ce qui est produit est auto consommé. [20]

5. Les constituants chimiques

Actuellement, de nombreuses recherches scientifiques montrent que le thé est une source d'antioxydants qui renforcent les défenses naturelles.[21] La feuille du thé ne contient pas moins de 350 constituants. [22]

Mille vertus sont attribuées à la consommation du thé. Il est donc intéressant de savoir quels sont les constituants organiques et minéraux à la base de ces effets. Depuis longtemps des chercheurs analysent la composition des feuilles de thé, ainsi que de leur infusé ; au cours des siècles, les connaissances se sont de plus en plus concrétisées.

Parmi les principaux constituants de la feuille de thé, on retrouve :

- Les polyphénols : il s'agit d'une classe très vaste, regroupant plusieurs familles chimiques :

Les flavonoïdes : catéchines ou flavanols, flavonols

Les acides-phénols

Les tanins

- Les bases puriques :

La caféine, le composant majeur de cette famille chimique

La théophylline et la théobromine en concentrations nettement inférieures

- Les acides aminés :

Au nombre de 19 dont la théanine, principal acide aminé du thé.

D'autre part, on a pu isoler divers constituants, moins abondants, mais non moins importants.

- Des vitamines : acide nicotinique, acide ascorbique et vitamines du groupe B

- Des composés minéraux :

Fluor

Potassium

Aluminium et autres.

- Des hydrates de carbone, 15 à 20% de protéines et lipides.

- Certains triterpènes

- Des caroténoïdes

Au fur et à mesure que les feuilles deviennent matures, la teneur des constituants chimiques varie [23], notamment les polyphénols, les bases puriques et les acides aminés. Or, ces composés, principalement les polyphénols et les bases puriques, jouent un rôle essentiel dans l'activité pharmacologique du thé.

Finalement, il faut distinguer la composition chimique de la feuille de thé fraîche de celle de l'infusé, obtenu à partir de feuilles de thé travaillées et sèches (Tableau 1). Il ne faut pas oublier que la saison, le climat et la variété influencent la composition chimique du thé. [24]

Tableau 1: Composition chimique de la feuille de thé, exprimée en pourcentage par rapport au poids sec de la drogue. [25, 26, 27]

COMPOSÉS DE LA FEUILLE DE THÉ FRAÎCHE	POURCENTAGE DE LA MATIÈRE SÈCHE
Polyphénols	20% à 36%
Flavonols	25%
Acides phénols	3%
Bases puriques	/
Caféine	2 à 4% ou plus
Théophylline	0.02 à 0.04%
Théobromine	0.15 à 0.2%
Glucides	5% (25%)
Protéines	15%
Acides aminés	3 à 4%
Lipides	2 à 3%
Minéraux	3 à 5%
Cellulose	7%
Caroténoïdes	<0.1%
Chlorophylle	0.5%
Composés volatils	0.01 à 0.02%
Cendres	5%

5.1. Composés phénoliques et polyphénols

Aujourd'hui les polyphénols représentent une classe chimique vaste, regroupant plusieurs familles chimiques. Le squelette chimique de base est composé d'un enchaînement de cycles aromatiques sur lequel est greffé un hydroxyle phénolique comme principal groupement fonctionnel.

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires végétaux. Ils peuvent être définis comme des molécules indirectement essentielles à la vie des plantes (d'où la dénomination de métabolites secondaires). Par opposition aux métabolites primaires qui alimentent les grandes voies du métabolisme basal, mais ils sont essentiels dans l'interaction de la plante avec son environnement. [28]

Les polyphénols sont en effet doués de multiples vertus thérapeutiques, pharmaceutiques, cosmétologiques et agroalimentaires : ils jouent un rôle très important, principalement, dans la lutte contre les cancers, **les maladies cardiovasculaires** et la peroxydation lipidique. Expliquant de ce fait leur grande utilisation dans la fabrication des médicaments.[29]

Les concentrations en polyphénols varient de 20 à 36% (Tableau 1), exprimées par rapport au poids sec de la drogue. Ils représentent les principaux constituants des feuilles de thé ; les jeunes feuilles et bourgeons sont les plus riches, suivis par les feuilles plus âgées (Tableau 2) et puis la tige. D'où l'intérêt de boire du thé de haute qualité, pour profiter au mieux des effets bénéfiques des polyphénols. [30]

Tableau 2: Evolution de la composition chimique lors de la maturation de la feuille de thé, exprimée en croix [23]

Composants chimiques	Feuille jeune	Feuille mature
Polyphénols	++	+
Caféine	++	+
Théobromine	++	+
Acides aminés	++	+
Lipides	+	+
Minéraux	+	+
Caroténoïdes	+	+
Chlorophylle	+	+
Composants volatils	+	+

5.2. Les différentes familles chimiques des polyphénols

La classification des différentes familles de polyphénols est basée sur la complexité du squelette de base. [31]

5.2.1. Les flavonoïdes

L'expression flavonoïde a été introduite en 1952 par Geissman et Hinreiner pour désigner les pigments ayant un squelette (C6-C3-C6), provenant du mot latin flavus qui signifie jaune [34]. Les flavonoïdes sont des pigments hydrosolubles responsables de la couleur des végétaux [35]. Les flavonoïdes possèdent un squelette de base à 15 atomes de carbone. Ce dernier est constitué de deux cycles en C6 (A et B) reliés par une chaîne en C3, on parle alors de chalcones. Ces dernières représentent le précurseur commun de tous les autres flavonoïdes. [32]

Il en existe plus de 4000 variétés regroupées en 6 classes principales. Ils appartiennent au groupe des polyphénols et ont des propriétés antioxydantes supérieures à celles des vitamines. Ils sont universellement présents dans la cuticule foliaire et dans les cellules épidermiques des feuilles, et sont susceptibles d'assurer la protection des tissus contre les effets nocifs du rayonnement UV ; ce qui explique une grande part de leur intérêt commercial dans l'industrie alimentaire et des colorants.[33]

Les principaux flavonoïdes du thé sont les flavanols et les flavonols.

5.2.1.1. Les flavanols

Cette sous-famille est la plus abondante du thé, de l'ordre de 25% par rapport au poids sec de la drogue. Il s'agit de dérivés hydrosolubles, essentiellement représentés par les catéchines ou flavan-3-ols, incolores.

Les catéchines sont des polyphénols, Caractérisés par la présence dans leur structure de noyaux phénoliques. Elles appartiennent au groupe des flavonoïdes et au sous-groupe des flavanols, qui peuvent être à leur tour des monomères ou de polymères (on les appelle alors des pro- anthocyanidines) [66]. Les catéchines sont stockées dans les vacuoles cellulaires. [23] Les flavanols sont les principaux polyphénols responsables de la saveur âpre du thé. Leur passage de la feuille de thé vers l'infusé est facilité par leur caractère hydrosoluble.

Différentes substitutions sur le squelette de base (figures 4) sont à l'origine des quatre principales épicatechines, les deux premières étant plus astringentes par rapport aux autres :

- l'**épicatechine (EC)** (figures 5)
- le **gallate d'épicatechine (ECg)** (figures 6)
- l'**épigallocatechine (EGC)** (figures 7)
- le **gallate d'épigallocatechine (EGCg)** (figures 8)

L'ester d'acide gallique se forme au niveau de l'hydroxyle en 3 sur le cycle pyrane. [26]
L'acide gallique est présent au niveau cellulaire et s'estérifie avec les catéchines vacuolaires.[23]

Le terme « épi » désigne la position en β de l'hydrogène du groupement hydroxyle en 3. Ce groupement hydroxyle confère à la molécule un caractère acide. [31]

Une deuxième particularité de l'hydroxyle en 3 est la capacité d'oxydation en quinone en présence d'oxygène [27] ; cette particularité confère, notamment à l'EGCg et à l'ECg une puissante activité anti-oxydante.

Alors que les feuilles fraîches de thé sont les plus riches en EGC et EGCg, le processus de fermentation élève les concentrations des autres catéchines EC et ECg. [23]

Les thés fermentés sont plus fortement concentrés en acide gallique, le processus de fermentation clivant l'unité gallate des gallocatéchines. [36]

Une tasse d'infusé de thé vert contient de 300 à 400 mg de catéchines, dont 10 à 30 mg d'EGCg. Les teneurs en catéchines peuvent différer selon les variétés de thé : ainsi des études [23] ont révélé une teneur de 30% pour la variété *Camellia assamica*, tandis que d'autres variétés chinoises, telles que *Camellia sinensis*, renferment 20% de catéchines. On peut classifier leur présence par ordre décroissant : EGCg, suivie de l'ECg, de l'EGC, et de l'EC.

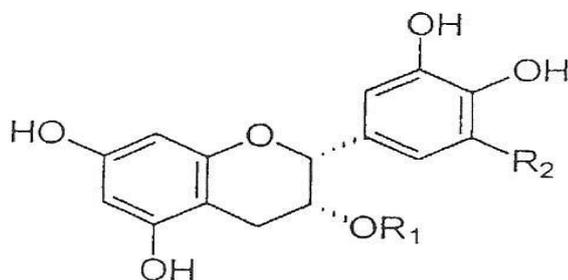


Figure 4: Structure de base des catéchines [27]

Plusieurs hydroxyles substituent les cycles A et B [27] :

- cycle A : en position 5 et 7
- cycle B : en position 3', 4' ± 5'
- l'ester avec l'acide gallique se forme en position 3 du cycle C

Tableau 3 : Principales catéchines du thé et leurs substitutions relatives [27]

		R1	R2
Gallate d'épigallocatechine	EGCg	Gallate	OH
Gallate d'épicatéchine	ECg	Gallate	H
Epigallocatechine	EGC	H	OH
Epicatéchine	EC	H	H

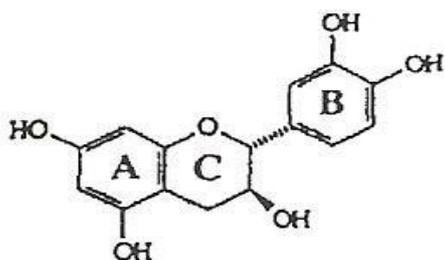


Figure 5 : Epicatechine (EC) [27]

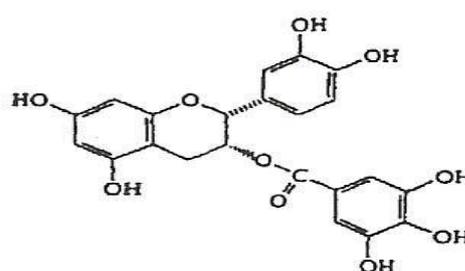


Figure 6 : Gallate d'épicatéchine (ECg) [27]

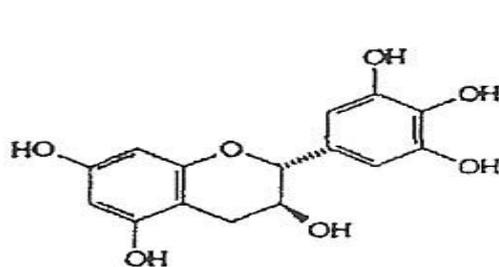


Figure 7 : Epigallocatechine (EGC) [27]

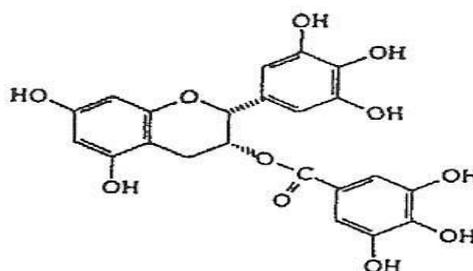


Figure 8 : Gallate d'épigallocatechine (EGCg) [27]

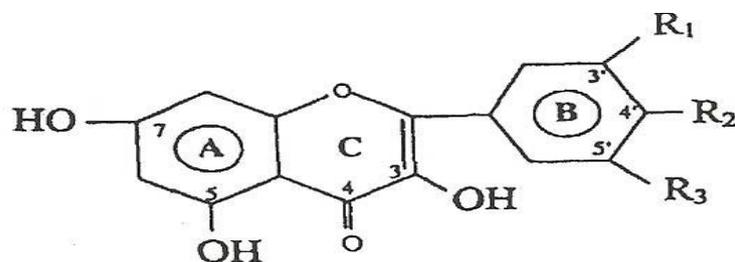
5.2.1.2. Les flavonols

Les flavonols ont une structure chimique proche des flavanols ; seul le cycle pyrane est substitué par un cycle carboné 4-oxo-3-hydroxy (figures 9). [27]

Trois flavonols principaux, ainsi que leurs glycosides, ont été isolés à partir des feuilles de *Camellia sinensis* :

- la quercétine, ainsi que son glycoside, la rutine
- le kaempférol
- la myricétine

Le glycoside est greffé au niveau de l'hydroxyle en position 3 du cycle C. Par leur plus forte hydrosolubilité, les glycosides des flavonols sont plus abondants au niveau de l'infusé (des extraits secs en contiennent 2 à 3%) [24], contrairement à leurs analogues non substitués. [27]



$R_1 = R_2 = R_3 = OH$: Myricétine

$R_1 = R_2 = OH ; R_3 = H$: Quercétine

$R_1 = R_3 = H ; R_2 = OH$: Kaempférol

Figure 9 : Structure générale des flavonols [27]

Tableau 4 : Principaux flavonols du thé et leurs substitutions relatives [27]

		R1	R2	R3
Glycoside de kaempférol	KaG	H	OH	H
Glycoside de Quercétine	QuG	OH	OH	H
Glycoside de myricétine	MyG	OH	OH	OH

5.2.1.3. Les acides-phénols

Tous les acides-phénols sont extraits à l'aide d'un solvant organique, dans un milieu légèrement acide.

Deux acides aromatiques sont à la base de la synthèse des acides-phénols :

A. Les dérivés hydroxylés de l'acide cinnamique : l'acide caféique

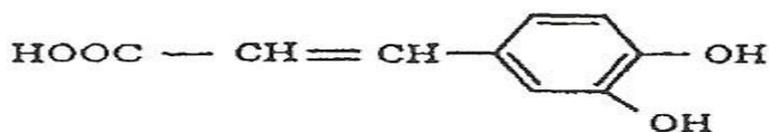


Figure 10 : Acide caféique [26]

B. Les dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque : l'acide gallique

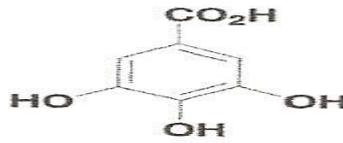


Figure 11 : Acide gallique [26]

5.2.1.4. Les tanins

En 1962, une définition, la plus communément admise aujourd'hui, a été proposée : ce sont des composés phénoliques naturels, métabolites secondaires des plantes supérieures, hydrosolubles, d'une masse moléculaire comprise entre 500 et 3000 Da. (15 certains polyphénols ayant la propriété de se condenser avec un sucre ou une autre molécule à fort poids moléculaire. [25], [31] Dans un premier temps on distingue les tanins hydrolysables

5.2.1.5. Les théaflavines

Les théaflavines sont des composés mineurs de la feuille de thé. On peut retrouver des teneurs de 0,3 à 2% [27], alors que d'autres auteurs [37] mentionnent des concentrations allant jusqu'à 30%.

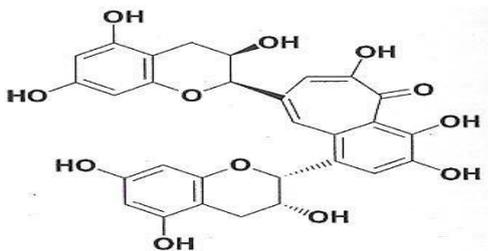


Figure 12 : Théaflavine (TF-1) [25]

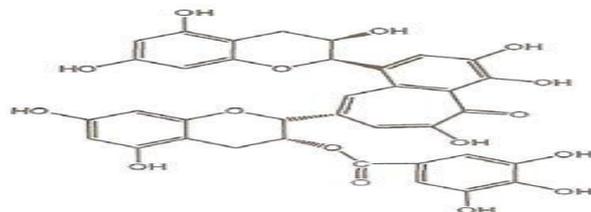


Figure 13 : Théaflavine-3-gallate (TF-2) [62]

5.2.2. Biosynthèse des catéchines de thé vert

La croissance des feuilles de *Camillia sinensis* s'accompagne de changements quantitatifs et qualitatifs du contenu phénolique. La **figure 14** résume les voies de synthèse des principaux catéchines, d'après les données fournies par la littérature.

Les catéchines du thé vert sont issues de la condensation de molécule d'acide acétique malonique et d'acide shikimique. L'acide gallique présent dans les feuilles de *Camillia sinensis* est produit par la voie de l'acide shikimique.

La (-)-épigallocatechine est produite par hydroxylation de la molécule (-)-épicatéchine alors que la (-)-épicatéchine gallate et l'épigallocatechine gallate sont synthétisées par estérification de la (-)-épicatéchine avec l'acide gallique.

La présence de la lumière favorise l'augmentation de la production des catéchines dans les feuilles du thé. Ce phénomène est relié essentiellement à l'activité de la phénylalanine-ammonia-lyase (PAL) qui est l'enzyme clé dans la biosynthèse des catéchines (noyau B). Quand les feuilles du thé sont couvertes (absence de la lumière), l'activité de cet enzyme décroît rapidement.[39]

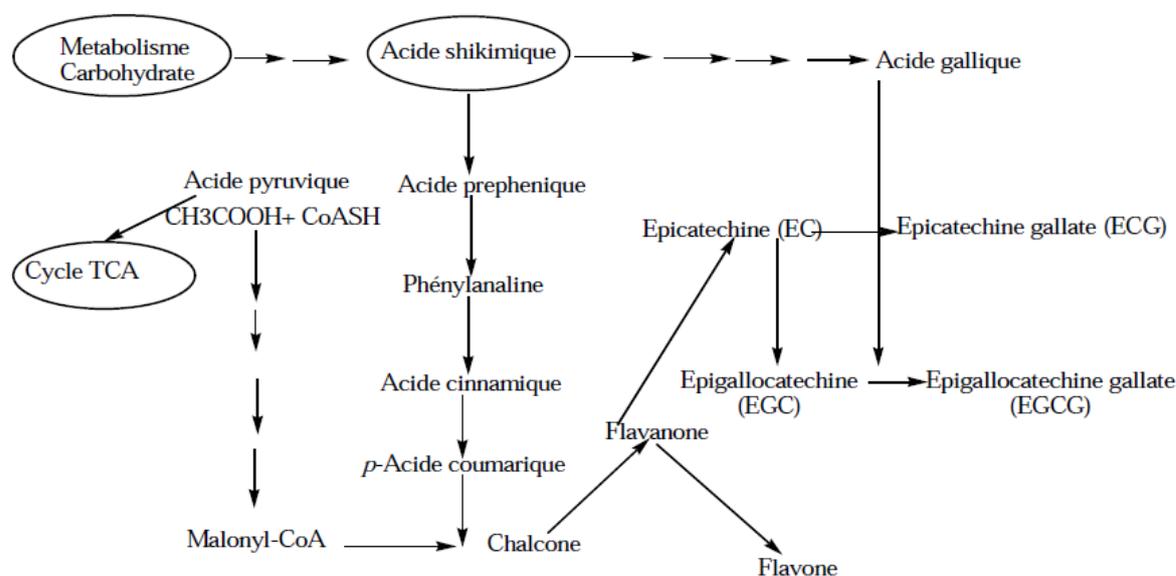


Figure 14: Biosynthèse des catéchines dans les feuilles de « *Camellia sinensis* »[40]

5.2.3. Biodisponibilité orale et élimination des catéchines

Plusieurs études, ont démontré leur absorption intestinale, dose-dépendante, jusqu'à un seuil variable en fonction des individus. Or, les concentrations circulantes de catéchines dosées sont inférieures à celles dans l'infusé. Toutefois, on ignore encore les concentrations sanguines nécessaires à un réel effet thérapeutique.

Les dosages ont été réalisés en moyenne deux heures après l'absorption d'une tasse de thé vert, contenant 235 milligrammes (mg) de catéchines. Pour réaliser les dosages, ils ont choisi l'hypothèse d'une relation positive entre l'absorption intestinale des catéchines et leur excrétion rénale sur 24 heures.

Il faut savoir que l'absorption orale des catéchines est 2 fois plus rapide que la plasmatisque ; leur demi-vie d'élimination est également accélérée. Lors d'un contact prolongé avec la muqueuse buccale, une estérase salivaire convertit l'EGCg en EGC. Il a été recommandé

de boire lentement les infusions de thé pour qu'un maximum de catéchines soit absorbé, notamment dans le traitement des cancers buccaux et oesophagiens. [41], [42]

Avant de passer dans le compartiment plasmatique, les catéchines sont transformées par les enzymes bactériennes de la flore intestinale ainsi que les variations locales des valeurs de pH. Ces processus, ainsi que la capacité des catéchines à se lier aux protéines [41], expliquent leur faible absorption.[43] L'élimination des catéchines est rapide [44], leur présence dans le plasma ne dépassant pas les 24 heures, avec un pic au bout de 1,4 à 2,4 heures, suivant l'ingestion d'un extrait de thé vert. Une consommation régulière de thé.

Tandis que l'EGC et l'EC sont éliminées par voie urinaire à 90% en 8 heures, l'EGCg semble être éliminé par voie biliaire en 6 heures ; on suppose que certains métabolites de celui-ci suivent un cycle entéro-hépatique. D'autre part on a soupçonné une perte du groupement gallate de l'EGC lors de son métabolisme ; la modification du degré de méthylation et d'hydroxylation des catéchines n'avait pas été étudiée au moment de la publication des résultats. [41], [44]

- Considérons maintenant la biodisponibilité des théaflavines, ayant également un pouvoir antioxydant. Il s'agit de polymères trop volumineux pour être absorbés tels quels. Seuls les monomères à trimères de catéchines peuvent être absorbés au niveau intestinal. On peut supposer que la flore bactérienne intestinale dépolymérise les structures volumineuses, ou les transforme en acides phénoliques simples, plus facilement absorbables.

Normalement, les polyphénols sont complexés par les fibres alimentaires. On a donc avancé l'hypothèse que leur biodisponibilité orale augmente lors d'une administration à jeun. [45]

Dans une étude de 2005 [45], un mélange de catéchines, principalement l'EGCg, extraites de thé vert décaféiné, fut administré à des volontaires sains associé ou non à un petit-déjeuner composé d'un muffin et d'un verre d'eau. Les résultats ont montré que l'EGCg fut 3,5 fois mieux absorbé à jeun qu'en présence d'un aliment ; la tolérance est généralement bonne, sauf quelques cas de nausées.

D'autre part les fibres alimentaires activent la flore bactérienne, diminuant ainsi le pH intestinal qui va stabiliser les flavonoïdes. A côté, la production enzymatique bactérienne est accrue, favorisant l'hydrolyse des flavonoïdes volumineux. Pour conclure, il faut noter qu'on ne connaît pas encore le rôle exact de ces paramètres dans l'absorption des flavonoïdes. La vitamine C stabilise les catéchines *in vitro* et pourrait augmenter leur biodisponibilité *in vivo*. [45]

Abordons finalement l'ajout de lait dans l'infusé, pratique donnant lieu à des opinions divergentes. On a avancé l'hypothèse d'une formation de complexes entre les polyphénols et les protéines du lait, et donc l'inhibition de leur absorption [43], ainsi qu'une équipe de recherche

Allemande [44] ont démontré que les catéchines sont complexées par les protéines du lait, réduisant principalement l'activité vasodilatatrice de ces premières. L'équipe Allemande a demandé à seize jeunes femmes d'absorber à jeun et à trois jours d'intervalle, 500 mL d'eau chaude, de thé Darjeeling pur ou additionné de lait. Avant l'absorption et deux heures après, ils ont mesuré par un échogramme le pouvoir d'adaptation de l'endothélium vasculaire aux variations de la pression artérielle.

La principale protéine responsable des complexes serait la caséine, les autres protéines étant certainement dénaturées par la chaleur de l'infusé.[26]

Différents essais, avec des infusions réalisées avec du thé noir ou du thé vert, sous forme de feuilles ou en sachets, à des températures variant entre 20°C et 90°C et sur une durée allant de 25 secondes à 15 minutes, ont montré que la quantité de substances antioxydantes libérées augmente avec la température. L'ajout de lait de vache entier fait diminuer ce pouvoir bénéfique du thé : il semble que la matière grasse du lait soit responsable de cette baisse, car le pouvoir antioxydant est maintenu avec du lait écrémé.[46]

5.3. Les Bases Puriques

5.3.1. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances naturelles et organiques provenant essentiellement des plantes et qui contiennent au moins un atome d'azote dans leur structure chimique, avec un degré variable de caractère basique. Les alcaloïdes sont généralement retrouvés dans les tissus périphériques des plantes, sous forme de sels solubles ou combinés à des tanins.[25]

5.3.2. La caféine

La caféine, ou 1, 3,7-triméthylxanthine (figures 15), a été isolée la première fois en 1820 à partir de graines de café. [11]



Figure 15 : Caféine [11]

En 1827, Oudry isola un alcaloïde des feuilles de thé ; il l'appela « théine ». Ce fut en 1898, que des analyses approfondies démontrèrent que la caféine et la théine ne formaient qu'une seule substance. On retint alors le nom de « caféine » pour désigner cette base purique.

La caféine est la principale base xanthique retrouvée dans les feuilles de *Camellia sinensis*. Les teneurs en caféine calculées par rapport à la drogue desséchée, suite à une dessiccation à chaud des jeunes feuilles, varient selon les auteurs. On peut trouver des taux de 2,5% , de 2 à 4% [25], de 2,5 à 5,5% [23] ou de 1 à 5%. [39]

Toutefois, le thé noir est légèrement plus riche en caféine par rapport au thé vert ; le flétrissage des feuilles lors de la préparation du thé noir réduit leur poids, les concentrant ainsi en caféine. [30]

La grande solubilité des bases puriques dans l'eau chaude explique le passage de la caféine de la feuille de thé vers l'infusé. On retrouve ainsi des concentrations de 60 mg de caféine par 100 mL d'infusé. [49]

5.3.3. La théophylline et la théobromine

La théophylline, ou 1,3-diméthylxanthine (figures 16) n'est présente qu'en faible quantité dans les feuilles de théier. [23] La teneur varie de 0.02 à 0.04 % [47] par rapport au poids sec de la drogue. Or, cette faible quantité ne diminue guère l'importance pharmacologique de la théophylline.

La théobromine ou 3,7-diméthylxanthine (figures 17), est retrouvée en faible quantité, légèrement supérieure à celle de théophylline. On a isolé des teneurs de 0.15 à 0.2 % [47] par rapport au poids sec. La théobromine possède essentiellement un effet diurétique; les effets stimulants et bronchodilatateurs sont mineurs.[48]

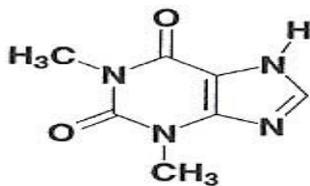


Figure 16 : Théophylline [11]

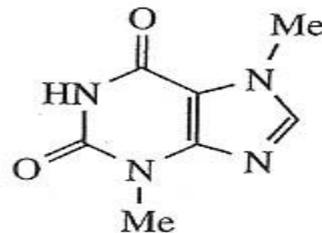


Figure 17 : Théobromine [49]

5.4. Les Vitamines

On peut citer la vitamine C ou acide ascorbique, avec une teneur de 2 à 2,5 g/kg de feuilles desséchées de thé vert, et en moindre quantité pour celles du thé Oolong [50], la vitamine E, ainsi que certaines vitamines du groupe B (Tableau 5). Le thé vert protégeait les équipages des clippers du scorbut pendant le transport maritime de cette denrée au 16e et 17e siècle.

Tableau 5 : Composition de la feuille de thé en vitamines du groupe B [36]

Quantité en microgrammes (μg) par 100 g de feuille de thé noir, vert et oolong	
Thiamine (vitamine B1)	135
Riboflavine (vitamine B2)	1266
Niacine (vitamine B3)	7500
Acide panthoténique (vitamine B5)	1260
Inositol (vitamine B7)	1000
Biotine (vitamine B8)	82
Acide folique (vitamine B9)	76

5.5. Les Composés minéraux

5.5.1. Le potassium

Parmi les minéraux entrant dans la composition de la feuille de thé, ainsi que de l'infusé, on peut majoritairement citer le potassium. On dose des concentrations de l'ordre de 20 milligrammes (mg)/g ou 9000-34000 ppm. [23]

5.5.2. Le fluor

On note une abondance de l'ion fluorure, de l'ordre de 3-200 ppm [23], la teneur étant proportionnelle à l'âge de la feuille [51]. En moyenne, une tasse d'infusion de thé de 225 millilitres (ml) contient 1 mg de fluor [31]. On en déduit les effets protecteurs du thé envers la formation de caries.

5.5.3. L'aluminium

On a dosé des concentrations de 20-11000 ppm d'ion aluminium. [23] Les connaissances sur la neurotoxicité, ainsi que l'éventuelle implication de cet ion dans le développement de la maladie d'Alzheimer inquiète les chercheurs. Or, des recherches ont démontré la faible concentration de l'ion Al^{3+} au niveau de l'infusé, ainsi qu'une absorption intestinale de 0,1% de la quantité journalière d'aluminium ingéré [31]. Cette faible présence d'ion libre résulte de la complexation avec, entre autres, les polyphénols de l'infusé.

5.5.4. Les éléments minéraux à concentration mineure

A côté de ces trois principaux composés minéraux, on a pu isoler des concentrations de l'ordre du mg/g de calcium, magnésium, manganèse, fer.

D'autres minéraux sont présents à des concentrations de l'ordre du $\mu\text{g/g}$: zinc, cuivre, nickel.

5.6. Les Acides amines

Seule la théanine ou γ -n-éthyl-glutamine (figures 18) est propre au thé, représentant presque la moitié des acides aminés de la feuille de thé vert [36], et peut servir à son identification. [51] Il faut savoir que la théanine est le facteur déterminant de la qualité du thé vert et donc de son prix de vente.

La théanine, ainsi que les polyphénols non oxydés sont principalement responsables de l'arôme du thé vert. [36]

La théanine a également la capacité de contrecarrer les effets stimulants des bases xanthiques, notamment de la caféine [23, 36], l'effet relaxant du thé vert, riche en théanine, étant prouvé. A côté, la théanine semble jouer un rôle dans l'immunité, dans la protection neuronale et comme adjuvant des chimiothérapies. [36]

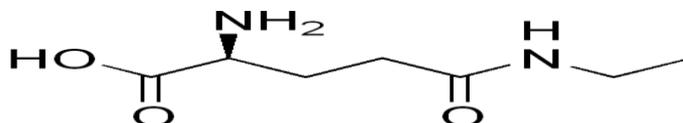


Figure 18: Théanine [53]

Parmi les autres acides aminés isolés on peut citer : L'acide γ -aminobutyrique, l'acide aspartique, la sérine, l'asparagine, l'arginine, l'acide glutamique, la lysine, l'histidine, la leucine, la valine, la glutamine, la cytidine, la thréonine, l'alanine, le tryptophane, l'isoleucine, la phénylalanine, des traces de proline et de glycine.

On peut retenir que la théanine, l'acide glutamique, l'acide aspartique et l'arginine sont les principaux acides aminés retrouvés dans les feuilles du printemps et au début de l'été. [53]

5.7. Les Glucides

La feuille de thé renferme environ 25 à 30% de glucides, dont un tiers sont des fibres de cellulose. Seuls 5% des glucides vont être solubilisés et passer dans l'infusé. Cette teneur confère au thé une valeur nutritionnelle, certes faible. [36]

5.8. Les Lipides

La teneur globale en lipides varie de 4 à 16,5% [53], alors que différentes familles sont abondantes en fonction de l'âge de la feuille de thé. Ainsi la jeune feuille est particulièrement riche en phosphatidyl éthanolamine et phosphatidylcholine. Plus la feuille vieillit, plus elle s'enrichit en mono- et digalactosylglycéride. [23]

5.9. L'huile Essentielle

L'huile essentielle joue un rôle primordial dans le développement de l'arôme et du goût du thé [23]. L'hydrolyse de certaines substances lors de la production du thé vert donne

naissance à plus de 75 substances volatiles identifiées par chromatographie en phase gazeuse (CPG) : le linalol, l'oxyde de trans-linalol, le néridol et la cis-jasmone. [52]

5.10. Les Caroténoïdes

Quatorze caroténoïdes, pigments jaunes orangés de la famille des tétraterpènes, ont été mis en évidence, essentiellement au niveau de la feuille âgée. Or, leur teneur, par rapport à la composition chimique totale du thé, reste faible. Il n'en est pas de même pour l'importance pharmacologique de certains caroténoïdes.[36] On peut citer : lycopène, γ -carotène, phytoène, phytofluène, cryptoxanthine, violaxanthine, lutéine, zéaxanthine .[53]

6. Activité pharmacologique des flavonoïdes de thé

Les flavonoïdes, dont les flavonols (quercétine, rutin, kaempférol et myricétine) et principalement les flavanols ou catéchines (EGC, EGCg, EC, ECg), sont plus abondants au niveau de la feuille de thé vert, comme décrit précédemment. L'activité pharmacologique recherchée sera donc principalement obtenue par des infusions de thé vert ou des extraits de *Camellia sinensis* non fermentés, et en moindre mesure par les formes fermentées.

La principale propriété initialement reconnue aux flavonoïdes est d'être "veino-actifs", c'est-à-dire capables de diminuer la perméabilité des capillaires sanguins et de renforcer leur résistance. [54]

6.1. Pouvoir anti-oxydant

6.1. 1. Relation structure-activité

Les flavonoïdes du thé sont nettement plus antioxydants que ceux des fruits et légumes.[50]

Les flavonoïdes expriment les propriétés anti-oxydantes par : Le piégeage direct des ROS La suppression de la formation des ROS par l'inhibition de quelques enzymes ou par chélation des ions métalliques, impliqués dans leur production, La protection des systèmes de défense antioxydants de l'organisme.[55]

L'analyse de la structure moléculaire des catéchines et flavonols a permis de mettre en évidence leur pouvoir donneur d'électron, et par conséquent leur activité antioxydante par des réactions d'oxydo-réduction

Les caractéristiques essentielles sont :

- le groupement ortho-dihydroxycatéchol (en position 3', 4') sur le cycle B des catéchines et des flavonols di- ou tri-hydroxylés, sert de donneur d'électrons. Une délocalisation électronique efficace favorise la formation d'un groupe phénoxy stable. [50]

- la dihydroxylation du cycle A des deux familles renforce l'activité antioxydante. [27]

- Les catéchines, et principalement les gallocatéchines, imputent leur activité oxydoréductrice à la structure catéchol et au groupement hydroxy en 5' du cycle B, ainsi qu'au groupement hydroxy substitué en 3 du cycle C.

- D'autre part, l'activité antioxydante des flavonols est imputée à la présence d'une double liaison en C2-C3 associée à un groupement carbonyle en C4 du cycle C et à la structure hydroxypyranone.

La mesure du potentiel redox des différentes catéchines et flavonols a permis d'établir leur capacité à céder un électron, sachant que la perte d'un électron est facilitée par un potentiel redox faible.[27]

Ainsi le groupement 5'-OH du cycle B des gallocatéchines et la substitution gallique des catéchines, au niveau du même cycle, conduisent à des potentiels redox plus faibles que ceux des catéchines non estérifiées. D'autre part, les épicatechines ont une activité antioxydante plus importante que leurs catéchines correspondantes. [27]

Les flavonols non glycosylés ont une activité antioxydante plus élevée que leurs formes substituées ; la quercétine est le flavonol le plus antioxydant. En effet, le nombre et la position des groupements hydroxyyles sont identiques à ceux des gallates d'épicatechines. A côté, une double liaison en position 2,3 du cycle C et un groupement 4-oxo augmentent encore le potentiel antioxydant. [27]

6.1.2. Inhibition de la peroxydation lipidique

Les catéchines sont les principaux composés responsables de l'inhibition de la peroxydation lipidique, notamment l'EGCg [56]. Une classification légèrement différente de l'activité décroissante des théés est proposée ici [37] : thé vert > thé noir > thé Oolong.

L'analyse des autres composés phénoliques a permis de définir l'acide gallique comme le composant le moins efficace.

Selon les auteurs, on peut retrouver différentes classifications des catéchines, généralement basées sur leurs activités respectives :

Le thé vert étant le plus riche en catéchines, on a retenu leur classification décroissante suivante : EGC = EGCg >> ECg = EC. [37]

Des études *in vitro* par contre, ont abouti à une classification légèrement différente des catéchines du thé vert :

(-)-EGCg > (-)-ECg > (-)-EC > (-)-EGC [120] ou EGCg > ECg > EGC > EC. [57]

Certains auteurs [23] ont rangé les composés capteurs de l'anion superoxyde et du radical peroxyde suivant l'ordre décroissant :

EGCg > EGC > ECg > acide gallique > EC > catéchines > théaflavines ou ECg > EGCg > EC

> EGC. [37]

D'autres auteurs [57] ont établi l'effet capteur de radicaux libres décroissant suivant : ECg > EGCg > EC > EGC ; la classification pour le radical hydroxyle diffère : ECg > EC > EGCg >> EGC.

Outre l'effet capteur de radicaux libres - notamment l'anion superoxyde, réduisant Fe⁺⁺⁺ en Fe⁺⁺, catalyseur de la réaction de Fenton [58] - les catéchines ont également le pouvoir de complexer les ions du fer dans la réaction de Fenton [37]. Par ordre décroissant, le pouvoir chélateur du fer a été rangé selon l'ordre EGC > EGCg > ECg > EC. [57]

Résultats observés lors des différentes études, Chez des rats, on a observé une inhibition de la peroxydation lipidique cardiaque.[59]

6.1.3. Effets cardiovasculaires

Récemment, beaucoup d'études se sont concentrées sur les effets cardiovasculaires des flavonoïdes. Les rapports épidémiologiques ont démontré que les gens peuvent avoir une incidence plus limitée en maladies du coeur, s'ils ont une ingestion diététique élevée en flavonoïdes.

Parmi les 17 flavonoïdes examinés par les chercheurs les agents de relaxation vasculaires les plus efficaces sont l'apigénine, lutéoline, **kaempferol** et la génisteine. Cette relaxation est attribuée à l'action directe des flavonoïdes sur le muscle lisse vasculaire. [60]

La consommation des flavonoïdes se traduit par une augmentation transitoire de la capacité antioxydante du plasma dans les heures qui suivent le repas. Parvenus au niveau des artères, ils préviennent l'oxydation des lipoprotéines de faible densité (Low Density Lipoproteins ou LDL), qui est l'un des facteurs clé du processus physiopathologique de l'athérosclérose (épaississement des artères qui contribue à réduire le flux sanguin et peut conduire à l'asphyxie des tissus irrigués). En inhibant l'oxydation des LDLs, ils limitent leur incrustation dans les parois des artères qui contribue à l'épaississement des parois et à réduire le flux de sang qui parvient au niveau des tissus. Les flavonoïdes agiraient aussi en inhibant l'agrégation plaquettaire impliquée dans le phénomène de thrombose qui peut conduire à l'occlusion des artères [61].

Les flavonoïdes possèdent des effets préventifs contre les risques de thrombose limiteraient les risques d'infarctus du myocarde [62] et sont capables de diminuer la perméabilité des capillaires sanguins et de renforcer leur résistance. [63]

6.1.4. Flavonoïdes et modulation de l'expression des gènes dans la cellule :

La nature des récepteurs ou enzymes interagissant avec les catéchines est largement inconnue. Ces voies métaboliques activées ou inhibées par les catéchines pourraient aussi jouer

un rôle indirect dans le contrôle du statut redox de la cellule. Par exemple, l'expression du gène codant la γ -glutamyl cystéine synthase, enzyme clé de la synthèse du glutathion, principal antioxydant endogène dans la cellule, peut être induite par des flavonoïdes, avec augmentation de la concentration de cet antioxydant à l'intérieur de la cellule. Les effets des catéchines in vivo ont également été étudiés. Différents auteurs ont montré sur des modèles de rongeurs développant spontanément des maladies cardiovasculaires des effets protecteurs de l'ajout de thé ou de catéchine dans le régime. L'épicatéchine ou l'EGCG administrés à des volontaires sains permet aussi d'améliorer la fonction endothéliale et le fonctionnement des artères, limitant ainsi le risque d'athérosclérose.[64]

7. Action de la caféine sur le système cardiovasculaire

La caféine affecte le système cardiovasculaire central et périphérique.

7.1. Effets centraux

La caféine entraîne un effet hypertenseur généralisé par stimulation des centres vasomoteurs centraux. La stimulation cardiaque résulte de l'action sur les centres cardioaccélérateurs et cardiomodérateurs. [65]

7.2. Effets périphériques

La caféine stimule principalement la fonction cardiaque. Plusieurs mécanismes ont été incriminés :

- L'inhibition de la recapture calcique par le réticulum sarcoplasmique favorise des effets inotropes et chronotropes positifs. A côté de la stimulation cardiaque, la consommation d'oxygène par le myocarde est accrue. [65]
- L'augmentation d'AMPc provoquée par l'inhibition des PDE active la phosphorylase myocardique. Il en résulte un effet inotrope positif.

En cas de surdosage, on ressentira les effets tachycardisants de la caféine.

Les effets vasculaires périphériques de la caféine ne sont que modérés : on observe une faible diminution de la résistance périphérique. [65], [37]

Lors d'une consommation régulière de caféine, on a observé une atténuation de ses effets hypertenseurs.

Chapitre II

LA CARDIOTOXICITE

DE LA DOXORUBICINE

1-La doxorubicine

1.1. Historique

La doxorubicine (ou adriamycine) est un médicament antibiotique anticancéreux de la famille des anthracyclines. L'histoire de la doxorubicine peut être rapportée aux années 1950, lorsqu'un laboratoire italien "FarmitaliaResearchLaboratories" était à la recherche d'un composé anticancéreux. Dans ce cadre, une nouvelle souche de bactérie *Streptomycespeuceetius* a été découverte, produisant un pigment rouge brillant qui a été isolé. L'antibiotique fabriqué par cette bactérie a présenté une activité anticancéreuse importante contre certains modèles de tumeurs murines. Ainsi, la première anthracycline découverte et utilisée fut la daunorubicine. Le suffixe -rubicine rappelle la couleur rouge intense. Les essais cliniques ont débuté en 1960 et le médicament reconnu un succès dans le traitement des leucémies aiguës et des lymphomes. Mais, en 1967 il a été démontré que la daunorubicine produit une toxicité cardiaque fatale. Des modifications ont été réalisées sur la machinerie génétique des *Streptomyces* pour produire un antibiotique différent.

Ils nommèrent le nouveau composé adriamycine, puis a été changé en doxorubicine pour devenir conforme avec la convention pharmaceutique et approuvée par la Food and Drug Administration (FDA) en 1974. En 1976, il est apparu une troisième génération. de ces molécules avec l'idarubicine, d'origine synthétique, obtenue en supprimant le radical méthoxyl de la daunorubicine. [67][68]

À ce jour, la doxorubicine est la molécule de référence la plus utilisée en chimiothérapie malgré sa cardiotoxicité élevée. Elle possède un large spectre anticancéreux y compris les leucémies, les lymphomes (maladie de Hodgkin) et les tumeurs solides (cancer du sein et de l'ovaire, sarcomes osseux et tissulaires, neuroblastomes). [69]

1.2 Pharmacologie

1.2.1 Structure moléculaire

La structure des anthracyclines comprend deux parties (Figure 19):

- * Une aglycone (Adriamycinone) composée d'un noyau tétracyclique hydrophobe quasi planportant des fonctions quinones et hydroquinones, et d'une chaîne latérale.
- * Un sucre (Daunosamine) lié au carbone C7 de l'aglycone.

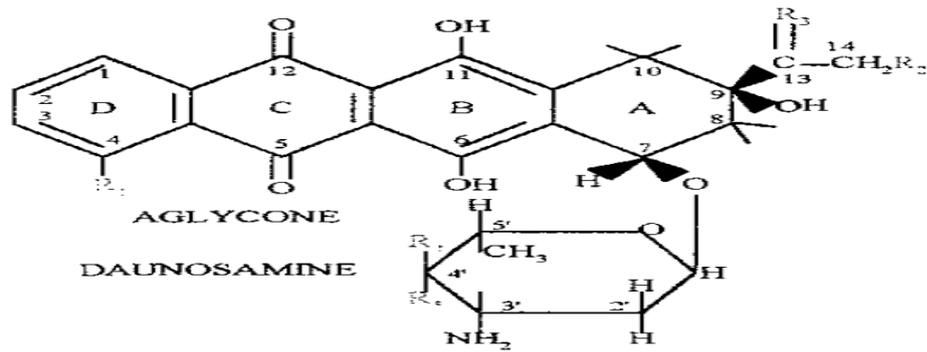


Figure 19: Structure chimique des anthracyclines [70]

La doxorubicine (ou adriamycine) a une masse moléculaire de 578.98 Da, elle est composée d'un noyau tétracyclique chromophore relié par une liaison glycosidique à un substitut glucosamine; c'est l'anthracycline de référence. La structure particulière des anthracyclines, en l'occurrence la DOXO, leur permet d'interagir avec l'ADN et de s'intercaler entre deux paires de bases du double hélice, ainsi qu'avec les lipides pour lesquels elles ont une forte affinité. Ces molécules réactives sont sensibles aux oxydoréductions cellulaires. [71]

1.2.2 Absorption/élimination

Son administration se fait par voie intraveineuse afin d'atteindre rapidement la tumeur sans être trop dégradée. [72] Les demi-vies de la doxorubicine sont: de 8 à 25 minutes, de 1h30 à 10h et de 24h à 48h. La présence de la deuxième phase de demi-vie serait due au métabolisme du médicament au niveau du foie, en doxorubicinol, et la troisième phase serait attribuable au relâchement du médicament des sites de liaison dans les tissus

La courbe d'élimination de la doxorubicine est multiphasique, et le temps d'élimination est de 30 h Ces substances sont rapidement captées par différents organes : principalement le cœur, Seraient excrétés majoritairement par la bile. Cependant, 5% serait excrété par les voies urinaires ce qui expliquerait la coloration rouge de l'urine. [73]

1.2.3 Pharmacocinétique

L'hydrophobicité de la doxorubicine associée à sa nature de base faible non chargée au pH physiologique lui permet de diffuser passivement à travers la membrane plasmique par un Mouvement de flip-flop du feuillet externe au feuillet interne. [74]

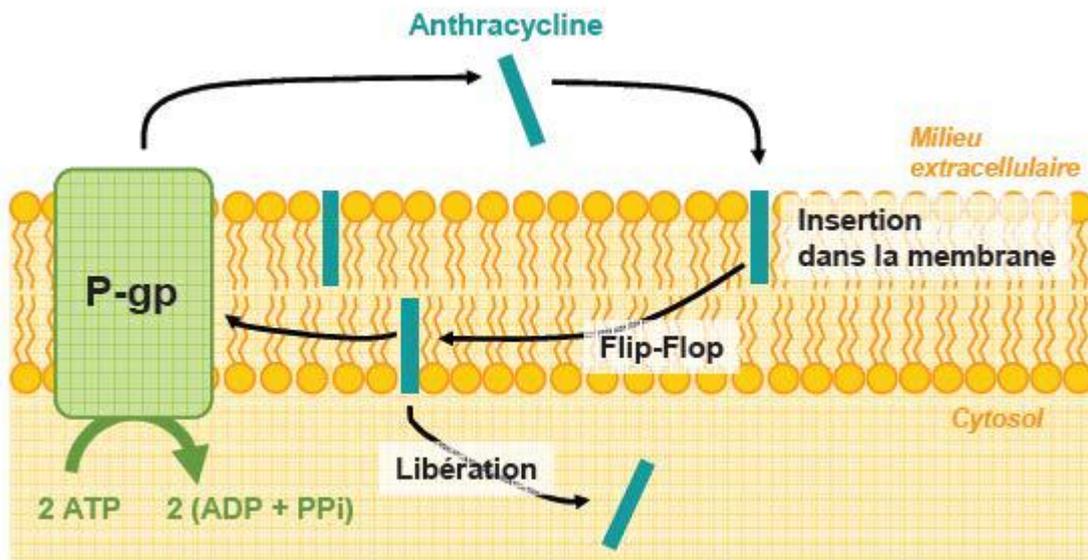


Figure20 : Modèle de transport d'une molécule d'anthracycline par flip-flop (changement de position des molécules d'un feuillet de la bicouche à l'autre). [75]

Elle atteint le noyau toujours par diffusion pour enfin se lier à l'ADN. Au pH physiologique intracellulaire (7.2-7.4). Une liaison de forte affinité entre la doxorubicine et le protéasome a été récemment décrite.

Un modèle d'interaction a même été proposé, où celui-ci joue le rôle de transporteur jusqu'au noyau, avec une translocation du complexe doxorubicine- protéasome par les pores nucléaires. La plus forte affinité de la drogue pour l'ADN permettrait la dissociation du complexe. [76, 77,78]

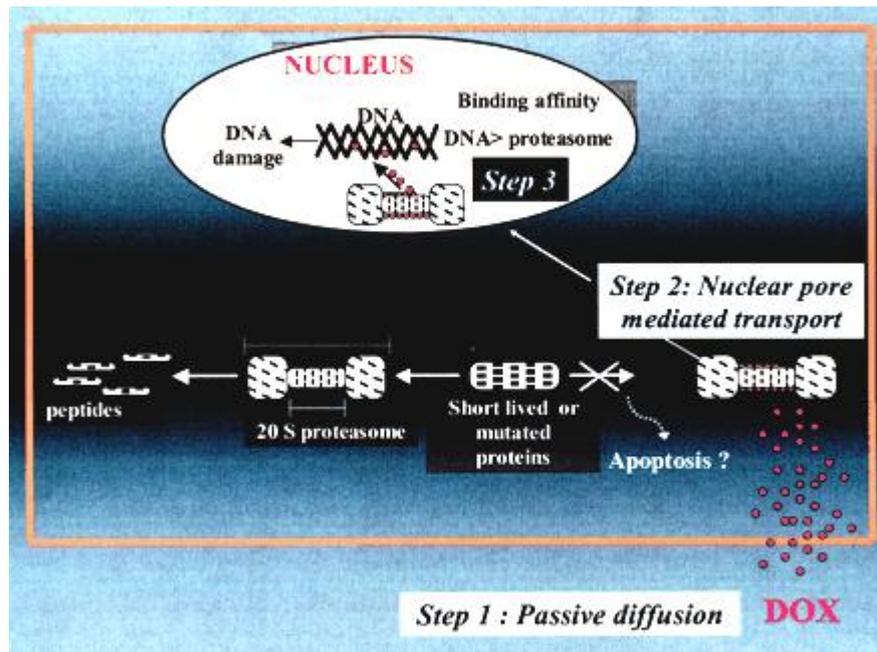


Figure 21: Représentation schématique des trois étapes du mécanisme de translocation nucléaire du complexe Doxorubicine- Protéasome [79]

La doxorubicine entre dans les cellules cancéreuses par une simple diffusion, un complexe Doxorubicine-protéasome se forme et migre du cytoplasme au noyau.

1.3. Principaux mécanisme d'action

La compréhension de l'action anticancéreuse des anthracyclines a considérablement progressé avec le développement de la biologie et de la pharmacologie cellulaire. Les anthracyclines s'intercalent entre les paires de bases azotées de l'ADN et inhibent l'activité de la topoisomérase II, d'où le nom d'intercalants donné à ce groupe de substances.

Le noyau, les mitochondries et les membranes cellulaires des cellules tumorales sont les cibles potentielles des anthracyclines. La plupart d'entre elles forment des RLO responsables de leur toxicité, mais pas de leur activité antitumorale. Plusieurs mécanismes sont impliqués dans leur activité anticancéreuse:

1.3.1. Intercalation dans la molécule d'ADN

Les anthracyclines se lient de façon covalente aux doubles-brins de l'ADN pour former un complexe [ADN-anthracycline]. Ces liaisons se font principalement sur les résidus guanine de l'ADN. Leur structure multicyclique plane leur permet de former des adduits ou ponts (crosslink) en s'interposant entre deux paires de bases adjacentes dans la double hélice et d'y contracter des

liaisons hydrophobes et électrostatiques. En s'intercalant dans l'ADN, les anthracyclines inhibent la réplication, la transcription et donc la synthèse protéique . [80]

1.3.2. Inhibition de l'enzyme topoisomérase II

Les topoisomérases de classe II induisent des cassures doubles brins transitoires de l'ADN afin de permettre à un segment de l'ADN de passer à travers un autre. Ces dernières enzymes consomment de l'énergie par hydrolyse d'ATP pour reverser la liaison de l'enzyme à l'ADN et permettre plusieurs cycles catalytiques. Leur fonction est essentielle durant de nombreuses étapes du métabolisme de l'ADN incluant: la réplication, la transcription, la suppression des recombinaisons, la ségrégation et la condensation des chromosomes pendant la mitose et probablement la méiose. [72]

Les cassures de l'ADN par les anthracyclines sont principalement double-brins et s'effectuent par l'intermédiaire de complexes [ADN-anthracycline-protéine] ont mis en évidence *in vitro* sans cellule et sur cellules intactes, que la protéine associée à ces complexes est la topoisomérase II.

Les anthracyclines en s'intercalant à l'ADN stabilisent le complexe transitoire de clivage [DNA-enzyme] et empêchent de façon réversible la religation des brins. [81]

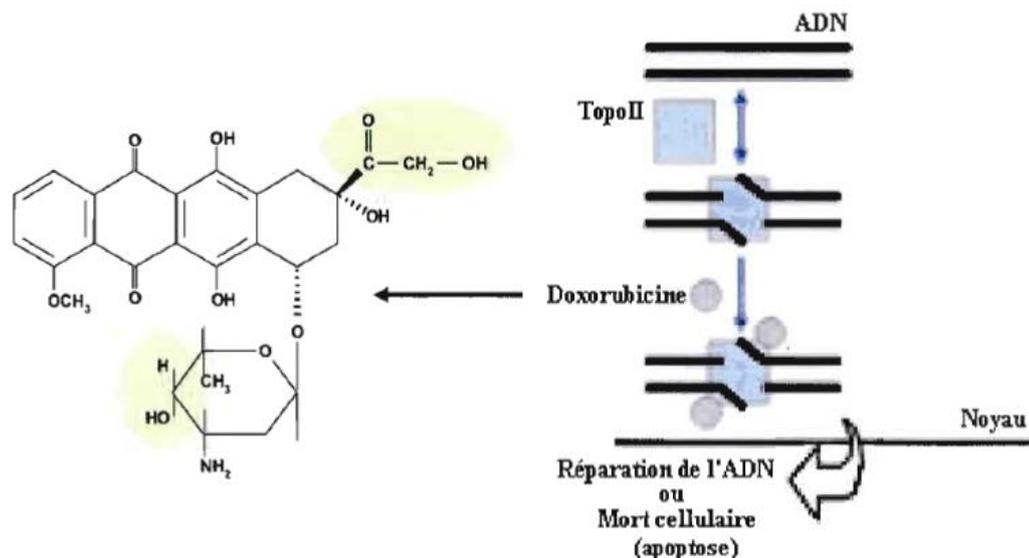


Figure 22 : Mécanisme de toxicité cellulaire (l'inhibition de l'enzyme topoisomérase II) et structure moléculaire de la doxorubicine[72]

La stabilisation et l'inhibition de l'activité de l'enzyme topoisomérase II par la doxorubicine mène à l'arrêt du cycle cellulaire qui permet l'activation de la réparation de l'ADN ou la mort cellulaire par apoptose, si les dommages à l'ADN sont irréparables (figure 22). [72]

1.3.3. Inhibition de la synthèse d'ADN

Les différents travaux menés à ce sujet sur un panel de lignées cellulaires, principalement Pour la daunorubicine et/ou la doxorubicine, ont montré une inhibition de la synthèse de l'ADN et de l'ARN. L'action pro-apoptotique des anthracyclines est en partie initiée par une voie de signalisation impliquant la protéine P53.

En effet, la doxorubicine peut induire l'expression de cette protéine de manière dose dépendante. La p53 se fixe sur l'ADN, y active la transcription du gène Bax (médiateur pro-apoptotique), qui induit la libération du cytochrome c par ouverture des pores mitochondrial, et inhibe celle du gène Bcl-xL (médiateur anti-apoptotique). La synthèse d'ADN est donc inhibée. [79]

1.3.4. Interaction avec les membranes plasmiques

La doxorubicine et les anthracyclines en général ont une très forte affinité pour les membranes lipidiques à travers lesquelles elles diffusent passivement. Elles s'associent directement avec les phospholipides par interactions ionique.

La présence d'anthracyclines au sein de la bicouche lipidique peut altérer la structure et la fonction membranaire en modifiant les interactions lipides-lipides et lipides-protéines, notamment les protéines membranaires impliquées dans les voies de signalisation cellulaires. La doxorubicine peut ainsi exercer son action cytotoxique directement en modifiant les propriétés de fluidité membranaire. [82]

1.4. Indications thérapeutiques et toxicité

Le schéma d'administration de la doxorubicine est modulé par la dose, selon la toxicité cardiaque potentielle. Généralement les anthracyclines sont utilisées en association ou en relais avec d'autres agents chimiothérapeutiques comme par exemple, le 5-fluorouracile, le cyclophosphamide, le paclitaxel ou la vincristine. La posologie moyenne est de 40 à 75 mg/m² tous les 3 à 4 semaines. Les cycles sont répétés jusqu'à une dose totale maximale de 550 mg/m². On administre la dose de doxorubicine en 3 à 5 min dans la tubulure d'une perfusion intraveineuse

de solution de chlorure de sodium isotonique ou de solution de glucose à 5% en une ou deux fois au cours de la journée. [83]

Les indications de la doxorubicine sont assez nombreuses : Cancer du sein (taux de réponse 40 à 50%), Cancer de l'ovaire, Cancer de la prostate, Cancer du foie, Cancer de l'estomac, Cancer de la vessie, Cancer du poumon, Tumeurs solides de l'enfant, Sarcome des os, Leucémies aiguës et chroniques, Maladie de hodgkin, Lymphome non hodgkinien et neuroblastome. [84]

Les effets secondaires de la doxorubicine sont :

1. Les effets secondaires divers: alopecie, nausée, diarrhée, vomissement, mucite, oedème, toxicité hématologique (anémie, leucopénie et thrombopénie), neurotoxicité, troubles digestifs, fatigue et immunodépression.
2. Les effets secondaires spécifiques aux anthracyclines : toxicité rénale et cardiaque. La toxicité cardiaque est cumulative et liée à la dose, avec une dose totale maximale tolérée de 550 mg/m² pour la doxorubicine. [85]

2-la toxicité cardiaque

La cardiotoxicité des agents antitumoraux tels que les anthracyclines est un des principaux facteurs limitant leur utilisation prolongée. Cliniquement elle se traduit par une cardiomyopathie conduisant à une insuffisance cardiaque congestive irréversible, dont la mortalité est élevée. Les mécanismes moléculaires qui pourraient expliquer la toxicité cardiaque sont complexes mais semblent distincts du mécanisme anticancéreux. [86]

2.1. Principaux mécanismes de la cardiotoxicité des anthracyclines

Les études ont montré que les anthracyclines ont deux mécanismes d'actions distincts. En effet, l'activité antitumorale et la cardiotoxicité correspondent à des cibles intracellulaires différentes. L'action anticancéreuse est rapportée à un effet intercalant du médicament au niveau de l'ADN et à l'inhibition de l'enzyme nucléaire, la topoisomérase II, inhibant ainsi la transcription et la synthèse protéique. Cependant, cette enzyme est très peu exprimée dans les cellules cardiaques. Ce constat a conduit à la recherche d'autres mécanismes susceptibles de rendre compte de la toxicité cardiaque des anthracyclines. [87]

2.1.1. Production de radicaux libres par les anthracyclines

Le métabolisme de la doxorubicine entraîne l'apparition de radicaux libres, principalement l'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$ et le radical hydroxyle OH^{\cdot} [88]. Ces molécules chargées négativement sont très instables et responsables de l'oxydation des lipides polyinsaturés, avec désorganisation membranaire et dysfonctionnement de la respiration mitochondriale. Les cellules myocardiques sont particulièrement sensibles aux radicaux libres car elles sont pauvres en agents antioxydants comme la catalase et la super oxyde dismutase. [89]

Les oxydants appartiennent à deux familles principales: les espèces réactives d'oxygène, dont le parent est $O_2^{\cdot-}$, et les espèces réactives d'azote, dont le parent est le NO^{\cdot} (figure23)

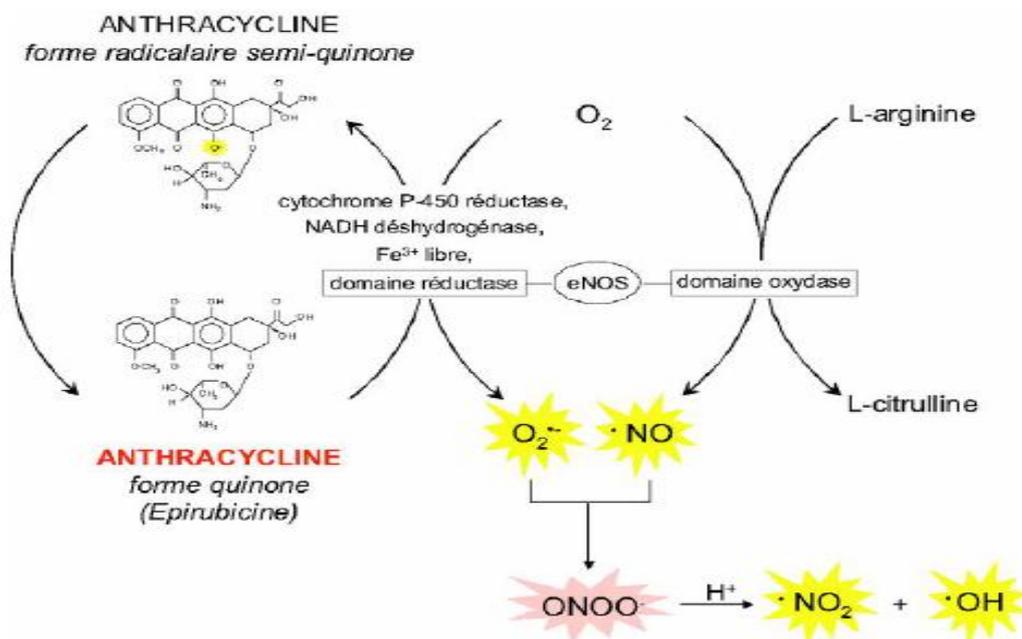


Figure 23 : Production de radicaux super-oxydes ($O_2^{\cdot-}$) par réaction enzymatique d'oxydoréduction de la fonction quinone des anthracyclines et formation de peroxy-nitrites ($ONOO^{\cdot}$). [90]

2.1.1.1. Formation d'espèces activées de l'oxygène

Les RL sont créés par deux voies différentes :

La voie de la réduction

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 (cytochrome P450 réductase, NADH déshydrogénase), pour aboutir à la

formation d'un dérivé semi-quinone radicalaire .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 super-oxydes $O_2^{\bullet-}$ [79].(figure 23)

La voie non enzymatique

par la réaction d'Haber-Weiss avec liaison du cation Fe^{3+} avec trois molécules de doxorubicine puis réduction du Fe^{3+} en Fe^{2+} avec transfert d'électrons. [91] Cette voie fait intervenir la formation d'un complexe entre les anthracyclines et le fer. Dans la cellule, l'ion ferrique Fe^{3+} est libéré de ses sites de stockage, transferrine et ferritine, par l'attaque des anthracyclines.

Le Fe^{3+} se lie alors à trois molécules d'anthracyclines pour former un complexe très stable : $[Fe^{3+}(\text{anthracycline})^3]$ Ce complexe subit un cycle d'oxydoréduction, donnant naissance à un complexe radicalaire $[Fe^{2+}(\text{anthracycline})^3]$. Ce dernier peut céder son électron supplémentaire à l'oxygène moléculaire et aboutir ainsi à la formation de radicaux $O_2^{\bullet-}$. [68] (Figure 23 et 24)

En absence de métaux de transition libres (fer, cuivre), les radicaux $O_2^{\bullet-}$ ne sont pas très toxiques pour les structures environnantes, car ils sont normalement transformés en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) par la super oxyde dismutase (SOD). L' H_2O_2 peut ensuite être décomposé en eau et oxygène moléculaire grâce à l'action des catalases et des glutathions peroxydases (GSH-PX). [92]

Certains travaux ont montré, dans les cœurs de rats, que les anthracyclines étaient capables d'induire une déplétion en enzymes anti oxydantes, notamment en SOD et en GSH-PX. Il en résulte une accumulation de radicaux $O_2^{\bullet-}$ et de H_2O_2 , à l'origine d'une production accrue de radicaux hydroxyles (OH^{\bullet}) par la voie de Fenton, d'autant que le complexe $[Fe^{3+}(\text{anthracycline})^3]$ se comporte comme un puissant catalyseur de la réaction. Cela explique que le tissu cardiaque, dont les défenses anti oxydantes sont amoindries par la présence de l'anthracycline, soit particulièrement sensible au stress oxydatif engendré par cette dernière.

2.1.1.2. Formation d'espèces activées de l'azote

Du fait du contexte inflammatoire induit par les anthracyclines, une grande quantité de monoxyde d'azote (NO) est produite à partir de la L-arginine grâce à l'activation de la forme inductible des NO synthases présente au niveau des macrophages et des cellules vasculaires.

Il a été démontré que la production concomitante de grandes quantités d' $O_2^{\bullet-}$ et de NO^{\bullet} pouvait induire la formation de peroxynitrite ($ONOO^-$), qui pouvait lui-même générer le radical OH indépendamment de la mise en jeu des processus faisant intervenir le fer. (Figure 23 et 24)

2.1.1.3. Effets toxiques cellulaires de la production des RL

La production de radicaux libres par les anthracyclines, au sein des cellules myocardiques, entraîne une peroxydation lipidique responsable de l'altération des fonctions membranaires. L'homéostasie calcique est alors perturbée. Ce qui entraîne une diminution de la contractilité myocardique ainsi qu'un défaut de relaxation par excès du calcium. De plus, les lésions de la paroi des organites engendrées par les radicaux libres entraînent aussi une surcharge calcique mitochondriale. En effet, le stress oxydatif associé au traitement par les anthracyclines peut induire des lésions mitochondriales ayant pour conséquence une évolution de la cellule vers l'apoptose.

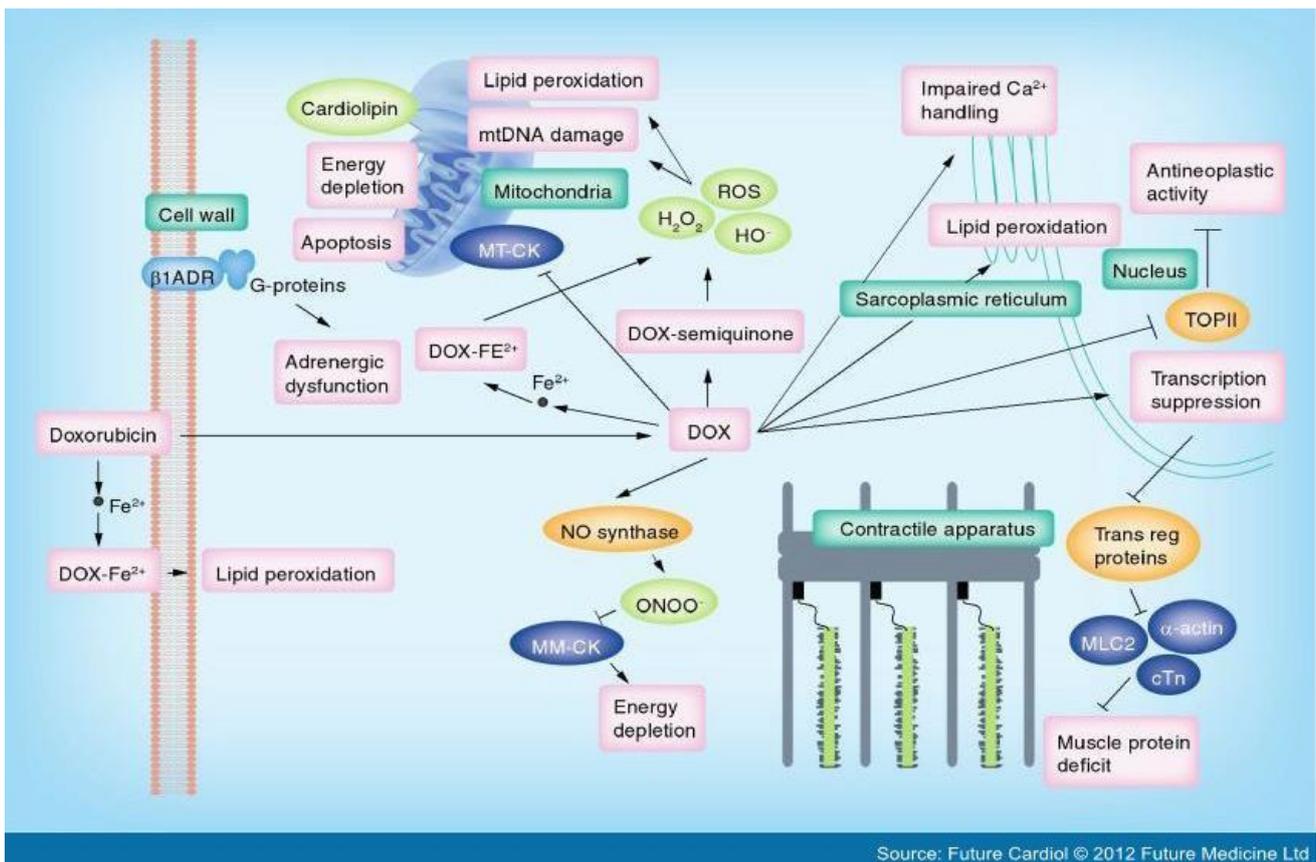


Figure 24 : Mécanisme de toxicité cardiaque de la doxorubicine dans les cardiomyocytes [93]

Dégradation des fonctions membranaires

Elle altère la physiologie des membranes cellulaires en induisant une diminution de leur fluidité membranaire ; modifie leur perméabilité aux ions ; entraîne l'inactivation d'enzymes et de récepteurs...

L'oxydation des acides aminés

Modifie les structures secondaires et tertiaires des protéines ; entraîne des dénaturations ; des fragmentations et la formation d'agrégats. [82]

La formation de ONOO⁻, au sein des cardiomyocytes, pourrait également jouer un rôle très important dans la cardiotoxicité induite par les anthracyclines, du fait du spectre de ses actions toxiques.

2.1.2. Apoptose cellulaire induite par les anthracyclines

L'apoptose est un processus de mort cellulaire programmée (programmed cell death ou PCD) qui implique le « suicide » des cellules à l'état individuel en faveur du bon fonctionnement de l'organisme dans son ensemble.

Parmi les nombreuses hypothèses qui ont été évoquées pour rendre compte des mécanismes impliqués dans le développement de l'insuffisance cardiaque, quelle que soit son origine physiopathologique, le degré de la mort cellulaire par apoptose occupe une place de choix. Même si l'apoptose affecte moins de 1 % des myocytes cardiaques, dix semaines après la dernière injection de substances antitumorales, de nombreuses études in vitro et in vivo ont montré que les anthracyclines pouvaient conduire à une perte de cellules cardiaques par apoptose.

Il a été démontré chez le rat traité par une dose cumulative de 20 mg/kg de DOX, que l'apoptose peut être induite via une activation de la caspase , une augmentation de Bad et une diminution de Bcl-2 [94]. In vitro, une incubation de myocytes ventriculaires de rat adulte pendant une heure avec de faibles concentrations de DOX (0.1–0.5 µM) entraîne l'apoptose cellulaire. [95]

La cardiotoxicité provient de l'action pro-apoptotique initiée par les RLO qui activent la protéine p53. En effet, l'anion superoxyde O₂^{•-} entraîne l'activation de p53 qui à son tour active Bax pour ensuite permettre l'induction de la cascade pro-apoptotique par ouverture des pores mitochondrial et libération du cytochrome c. [96]

Ainsi, il a été prouvé que l'apoptose induite par la DOX dans les cardiomyocytes est médiée par les RLO via la voie intrinsèque mitochondriale et l'activation des caspases. De plus, l'induction de lésions de l'ADN mitochondrial est à l'origine d'une dysfonction de la chaîne respiratoire mitochondriale entraînant l'apoptose. [97]

2.1.3. Perturbation de l'homéostasie calcique

Les anthracyclines sont aussi responsables d'un largage intracellulaire de Ca^{2+} à partir du réticulum endoplasmique.[98] Cette augmentation de la concentration de Ca^{2+} intracytoplasmique permet l'activation d'enzymes lytiques protéases et lipases calcium dépendantes .[99]

2.1.4. Modulation de l'expression de certains gènes

Il est aussi constaté une inhibition par les anthracyclines de l'expression des gènes actine, troponine et myosine codant des protéines qui participent à la contraction du myocarde. [99]

2.2. Conséquences anatomo-pathologiques

L'administration d'anthracyclines entraîne des lésions au niveau des cardiomyocytes et du tissu interstitiel cardiaque.

Macroscopiquement, le coeur endommagé par les anthracyclines est flasque et ses ventricules sont souvent dilatés. L'administration de DOX entraîne des remaniements importants de la matrice extracellulaire : raréfaction, voir disparition du réseau fibreux périmyocytaire, remplacé par des plaques de tissu fibreux cicatriciel dense.

Microscopiquement, la turgescence du réticulum sarcoplasmique peut conduire à une coalescence, avec un aspect vacuolaire Une dégénérescence cellulaire avec des myofibrilles de plus en plus rares et d'occasionnelles « cellules fantômes » sont diffusément répandues dans le myocarde, qui montre par ailleurs un oedème interstitiel. Les myocytes perdus par nécrose ne sont pas remplacés, mais les myocytes restant augmentent de taille pour compenser. A un stade avancé, il y a une augmentation du tissu interstitiel et la fibrose s'installe. [100]

La microscopie électronique peut révéler une déplétion en granules de glycogène et une augmentation des mitochondries, avec une turgescence et une perturbation des membranes et des crêtes mitochondriales. On peut découvrir également une concentration accrue de la chromatine nucléaire avec des nucléoles anormaux, qui peut aller jusqu'à la dégénérescence nucléaire.

Ces anomalies sont classées selon un score indiquant 3 stades de gravité :

*Le stade I correspond aux modifications histologiques

*Le stade II correspond à des anomalies portant sur 5 à 35 % des cellules

*Le stade III représente une toxicité cardiaque certaine, incompatible avec la poursuite du traitement. Les lésions cellulaires portent sur plus de 35 % des cellules avec altérations sévères: perte totale des myofibrilles, des organites intracellulaires, dégénérescence nucléaire et mitochondriale. [100]

Des études anatomo-pathologiques réalisées sur des coeurs de rats ayant reçu la DOX d'une façon aiguë, montre des changements structuraux au niveau des myocytes tel que la réduction de la densité des myofibrilles, altération des stries Z et vacuolisation cytoplasmique. Les dommages s'accroissent en cumulant les doses de DOX (Figure 26).

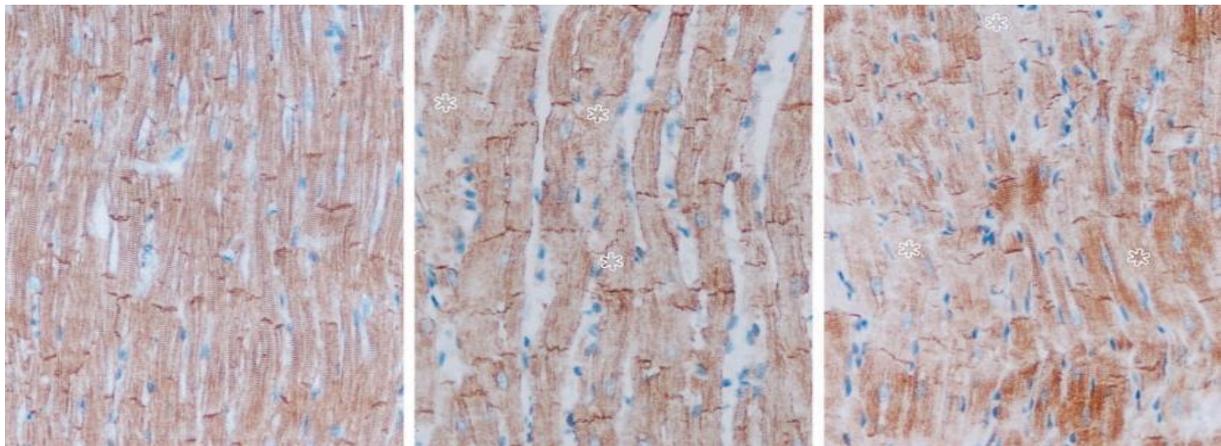


Figure 26 : Coupes histologiques à travers le myocarde de rat. A. Coeur contrôle B. Coeur ayant reçu une injection unique de DOX (2.5 mg/kg) C. Coeur ayant reçu une dose cumulative de DOX durant 7 jours (15 mg/kg) [101]

2.3. Aspects cliniques de la cardiotoxicité des anthracyclines

La cardiotoxicité induite par les anthracyclines peut revêtir plusieurs aspects cliniques, bien différents dans leurs manifestations et leurs conséquences.

En fonction de leur délai d'apparition par rapport à l'introduction de l'anthracycline, quatre formes cliniques de cardiotoxicité ont été décrites. [102]

2.3.1. Cardiotoxicité aiguë:

Les manifestations immédiates de la cardiotoxicité des anthracyclines sont constatées chez près de 30 % des patients. [103] principalement représentées par:

Des troubles du rythme (tachycardie sinusale, extrasystoles rarement fibrillations auriculaires)

Des altérations de la repolarisation portant sur le segment ST et de l'onde T , De rares troubles de la conduction BAV. (Appelé le bloc auriculo-ventriculaire), Des troubles de la repolarisation, Un microvoltage du complexe QRS, Une augmentation de l'intervalle QT (est une des données électriques de l'électrocardiogramme).

Ces modifications électrocardiographiques sont très fréquentes et indépendantes de la dose et du type d'anthracycline administrée. Elles peuvent apparaître pendant l'administration de l'anthracycline mais surviennent plus fréquemment dans les heures qui suivent la perfusion. De ce fait la réalisation d'un ECG et d'un ionogramme sanguin à la recherche de troubles électrolytiques concomitants pouvant favoriser ces troubles sont importants.

Cette forme de toxicité aiguë, qui est rarement grave sur le plan clinique, ne permet habituellement pas de prédire la survenue de manifestations de toxicité chronique et n'est généralement pas une cause d'abandon du traitement.

2.3.2. Cardiotoxicité subaiguë:

Certaines complications aiguës, beaucoup plus rares, comme les troubles du rythme ventriculaires ou d'IC aiguë, peuvent être en revanche particulièrement graves et engager le pronostic vital. Cette forme de toxicité subaiguë peut s'observer quelques jours ou quelques semaines après la dernière injection de l'anthracycline.

Les troubles du rythme ventriculaire, tachycardie ou fibrillation, surviennent parfois après l'apparition d'une fibrillation auriculaire, et peuvent être responsables de mort subite. L'IC aiguë se manifeste par une péricardite et/ou une myocardite.

Cliniquement, un œdème pulmonaire aigu associé à un collapsus ou un état de choc cardiogénique peut survenir. À l'échocardiographie, le ventricule gauche apparaît peu dilaté mais très hypokinétique avec une augmentation de l'épaisseur du septum et de la paroi postérieure liée à la présence d'un œdème. L'amélioration sans séquelle est possible en quelques jours avec un traitement adapté.

2.3.3. Cardiotoxicité chronique

Cette complication redoutable est observée, selon les études, chez 0,4 à 23 % des patients traités et se traduit par une IC congestive, à prédominance gauche, dont la mortalité est élevée. La survenue des signes cliniques est décalée par rapport à l'administration de l'anthracycline. Cette forme de toxicité chronique apparaît le plus souvent plusieurs semaines ou plusieurs mois (un à trois mois) après la dernière cure de chimiothérapie, délai pouvant aller, selon certains

auteurs, jusqu'à deux ans. Les manifestations cliniques de l'IC induite par les anthracyclines sont celles d'une cardiomyopathie dilatée, comprenant :

*des signes cliniques fonctionnels qui combinent : une dyspnée d'effort, puis de décubitus ; Un oedème aigu du poumon caractérisé par une dyspnée intense, des sueurs et une toux incessante.

*des signes de dysfonction cardiaque se caractérisant par : une diminution de la fraction d'éjection du ventricule gauche (FEVG) ; un accroissement de la taille des cavités ; un remodelage du ventricule gauche.

*une augmentation de la pression de remplissage diastolique.

L'ECG ne montre que des anomalies non spécifiques et transitoires, telles que l'aplatissement de l'onde T, le sous-décalage du segment ST, survenant jusqu'à deux semaines après l'administration d'une dose ou d'un cycle d'anthracycline.

2.3.4. Cardiotoxicité tardive

Le suivi à long terme des patients traités par les anthracyclines a montré, en particulier chez les enfants, qu'une forme de toxicité cardiaque pouvait être diagnostiquée plusieurs années, voire des décennies après la dernière perfusion d'anthracycline et notamment chez des patients ayant reçu des doses cumulées plus faibles que celles classiquement rapportées comme toxiques.

2.4. Facteurs de risque

Certains facteurs de risque prédisposent à l'apparition d'une toxicité cardiovasculaire lors de l'administration des anthracyclines. Les facteurs propres au traitement sont la dose cumulée des anthracyclines, la durée de perfusion, le rythme d'administration, l'utilisation antérieure ou concomitante de plusieurs agents pouvant entraîner une toxicité cardiaque. Les facteurs propres au patient sont les antécédents d'irradiation médiastinale, les facteurs de risque cardiovasculaires classiques (sexe masculin, âge élevé, dyslipidémies, tabagisme, surpoids, antécédents personnels et familiaux vasculaires), l'existence d'une cardiopathie ou d'une pathologie pulmonaire sous-jacente entraînant une altération de la fonction respiratoire, les troubles biologiques pouvant favoriser la survenue de troubles cardiaques : l'anémie, l'hypokaliémie, l'hypomagnésémie, une dysthyroïdie. Les facteurs propres à la tumeur sont l'existence d'un envahissement cardiaque par la tumeur ou leur contiguïté et le retentissement de la tumeur sur la fonction respiratoire.

Dans une étude portant sur 115 enfants traités par la doxorubicine pour une leucémie aiguë, 57 % des patients présentaient des anomalies de contractilité du ventricule gauche et 10 % souffraient d'insuffisance cardiaque congestive lors de la première année suivant la fin du traitement. [104]

D'autre part, dans le cancer du sein, la limite de 65 ans a été avancée comme le seuil majorant la cardiotoxicité de la doxorubicine,[105][106]La radiothérapie préalable est aussi retrouvée comme facteur de risque de la cardiotoxicité des anthracyclines. [107]

Une étude à l'Institut National des Tumeurs de Milan portant sur 637 patientes traitées avec la doxorubicine montre une cardiotoxicité de 3% avec irradiation mammaire gauche contre 0,4% sans irradiation mammaire. [108] Il a été montré que les femmes seraient plus vulnérables à la toxicité cardiaque des anthracyclines, avec un risque multiplié par deux par rapport aux hommes. [109]

Enfin, l'agression du myocarde dans d'autres situations comme le diabète, l'hypercholestérolémie et l'existence préalable de tares cardiovasculaires telles que l'hypertension artérielle ou une cardiomyopathie ischémique, favorise l'apparition d'une IC après traitement par des anthracyclines. [110]

2.5. Prévention et réduction de la toxicité cardiaque des anthracyclines

Les études de suivi évaluent à environ 5 % les patients traités par des anthracyclines et développant une insuffisance cardiaque plusieurs années après le traitement. Il est donc nécessaire d'anticiper le risque de cardiotoxicité dès le début du traitement, en choisissant un schéma d'administration optimal, en respectant la dose cumulée maximale, en favorisant l'emploi d'anthracyclines moins cardiotoxiques ou en prescrivant un **cardioprotecteur**. Il faut également savoir que la cardiotoxicité potentielle de l'anthracycline pourra être majorée par les thérapies concomitantes. La surveillance attentive en cours du traitement et lors du suivi post-thérapeutique permet le diagnostic précoce de la cardiotoxicité et l'adaptation thérapeutique. [111]

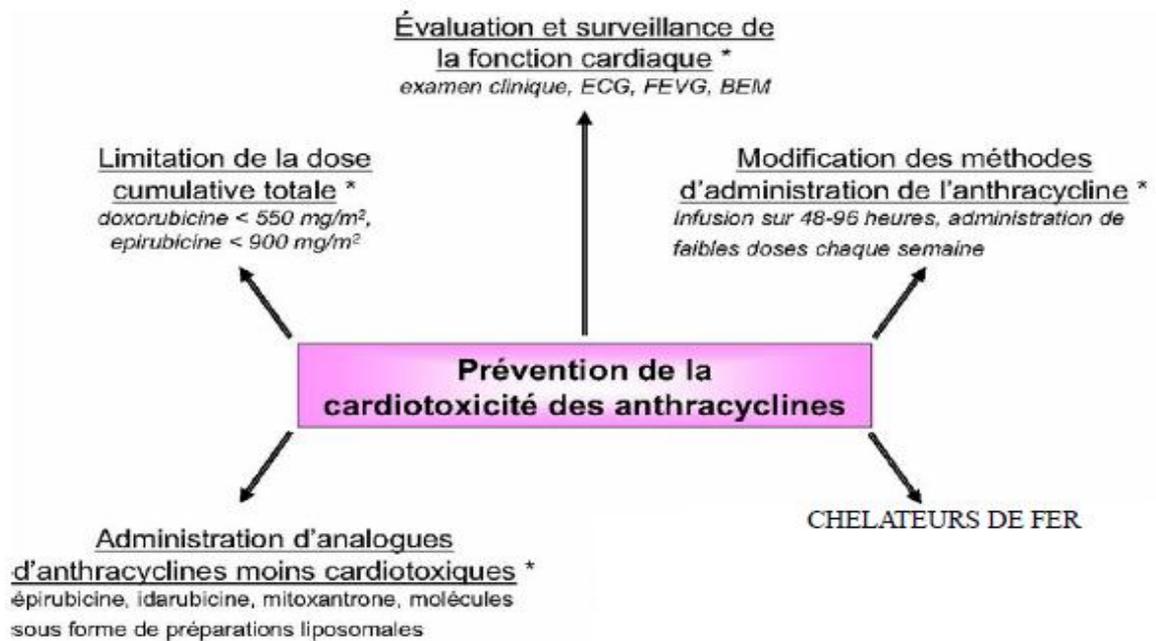


Figure 25 : Stratégies pour prévenir la cardiotoxicité induite par l'administration des anthracyclines [112]

2.5.1. La cardioprotection

L'utilisation d'agents protecteurs vis-à-vis de la toxicité cardiaque des anthracyclines et les voies de protection potentiellement envisagées seront abordées.

2.5.1.1. Antioxydants

Les mécanismes de la toxicité myocardique des anthracyclines reposent sur la production de RL, plusieurs thérapies Antioxydants ont été donc proposées afin de limiter la production d'O₂•-, H₂O₂ et OH•. Les recherches se sont orientées vers plusieurs composés, ayant des propriétés antioxydantes et cardioprotecteurs *in vitro*. En revanche les approches *in vivo* sont apparues parfois décevantes.

Plusieurs essais de médicaments cardioprotecteurs ont fait l'objet de publications. Ainsi des substances antioxydantes comme :

***la N-acétylcystéine(NAC) :**est un acide aminé non essentiel, qui stimule la production de glutathion, un antioxydant. L'acétylcystéine est un thiol, qui peut s'oxyder en réduisant la quantité de radicaux libres.

***le coenzyme Q** : également connue sous le nom d'**ubiquinone**, est une 1,4-benzoquinone pour laquelle **Q** fait référence au groupe quinone et **10** au nombre d'unités isopréniques dans sa chaîne latérale.

Les enzymes antioxydants comme :

***Les Mn-SOD (superoxydesdismutases a manganèse) :**

Sont présentes dans les mitochondries et sont constituées d'un tétramère de 96 KDa

***Les catalases :** Les catalases sont également des enzymes catalysant une dismutation, celle du peroxyde d'hydrogène en eau et dioxygène. [113]

***Les glutathion peroxydases (GPx) :** Cette enzyme est chargée de réduire le glutathion oxydé en utilisant du NADPH comme donneur d'électrons. Elle tient une place importante dans la cellule dans la mesure où elle est chargée de la quasi-totalité de la conversion du peroxyde d'hydrogène en H₂O et O₂

Les molécules antioxydantes comme :

***La vitamine E** (ou Les tocochromanols) On appelle vitamine E les deux familles d'isomères qui sont les tocotriénols et les tocophérols [48].L' α -tocophérol se transforme en tocophéryle-quinone moins réactif qui pourra à son tour être pris en charge par une autre molécule anti-oxydante. Le gamma-tocophérol est encore plus efficace pour la protection radicalaire, capable de bloquer les espèces réactives de l'azote. [114]

* **La vitamine C** (ou acide ascorbique) présente principalement sous forme ionisée à pH physiologique : L-ascorbate.

L'ascorbate peut céder un électron à n'importe quelle espèce oxydante se trouvant dans un environnement immédiat, tel que l'anion superoxyde et le radical hydroxyle.

Ces substances possèdent des effets bénéfiques sur des modèles de cardiotoxicité induite par les anthracyclines chez l'animal; mais, ils ne préviennent pas les dommages myocardiques chez l'homme. [114]

Il a été montré, chez des animaux surexprimant des enzymes possédant une activité antioxydante comme la catalase [115] ou la MnSOD [116], que les effets cardiotoxiques de la doxorubicine étaient atténués. En effet, la catalase limite le degré des lésions cardiaques après incubation des cellules en présence de doxorubicine. Le rôle des radicaux libres dans la toxicité cardiaque des anthracyclines a été donc confirmé. [117]

2.5.1.2. Chélateurs de fer

Le fer, complexé avec les anthracyclines, joue un rôle important dans la formation de radicaux libres $O_2^{\cdot-}$ et OH^{\cdot} impliqués dans le mécanisme de la cardiotoxicité des anthracyclines. Ainsi, l'utilisation de molécules telles que le dexrazoxane (Cardioxane®) capables de chélater le fer intracellulaire libre, de diminuer la formation du complexe $[Fe^{3+}(anthracycline)^3]$ et par conséquent de réduire la production de radicaux libres, apparaît comme une voie prometteuse pour limiter la cardiotoxicité des anthracyclines. [118]

Lorsque le dexrazoxane est administré en même temps qu'une anthracycline comme la DOX, le complexe anthracycline/fer formé dans la cellule hydrolyse le dexrazoxane en métabolites dont la structure est proche de celle de l'EDTA.

Ainsi, le dexrazoxane est indiqué dans la prévention de la cardiotoxicité chronique cumulative liée à l'utilisation de la DOX. Ce médicament, doit être administré par perfusion intraveineuse brève environ 30 minutes avant l'administration de l'anthracycline à une dose égale à 20 fois celle de l'équivalent de DOX. [119]

Récemment, la coadministration d'anthracycline et de carvedilol, bêtabloquant utilisé en clinique dans le traitement de l'IC a conduit à des résultats très intéressants dans la protection de la cardiotoxicité mitochondriale induite par les anthracyclines chez le rat. Cet effet protecteur serait lié à son activité antioxydante attribué à sa capacité de chélater le fer libre. [120]

2.5.1.3. Accélérateurs de la dégradation des peroxy-nitrites

Une production excessive de peroxy-nitrite ($ONOO^-$) joue un rôle clé dans les lésions impliquant un stress oxydatif telles que l'insuffisance cardiaque. La formation de peroxy-nitrite est suspectée en pathologie au niveau cardiaque en altérant la fonction cardiaque et dénaturant les protéines contractiles.

Dans ces conditions, diverses métallo porphyrines de synthèse capables de dégrader le peroxy-nitrite en nitrate, ont montrés d'importants effets bénéfiques cardioprotecteurs chez l'animal, et pourraient ainsi représenter de nouveaux agents pharmacologiques dans le traitement de la cardiotoxicité de la DOX.

Ces molécules, contenant un métal de transition localisé au centre de leur structure, peuvent mimer l'activité de la SOD et de la catalase. Ils peuvent être efficaces pour prévenir ou traiter les dommages oxydatifs suite à la production d'espèces activées de l'oxygène et de l'azote dans le contexte de l'administration d'anthracycline. [121]

CHAPITRE III

MATERIELS ET METHODES

Matériels et méthodes

1-Dosage des composés phénoliques totaux

La teneur en composés phénoliques totaux dans l'extrait a été déterminée en utilisant le réactif de Folin- Ciocalteus selon la méthode de Singleton et al., 1999. [122] 20 µl de l'extrait (1mg/ml) a été mélangé avec 100 µl de réactif de Folin- Ciocalteus et 1580 µl d'eau distillée, après 3 min on ajoute 300 µl de carbonate de sodium (Na₂CO₃) 20%. Le mélange a été agité et l'absorbance a été mesurée à 765 nm après 2 h de réaction à la température ambiante. Tous les tests ont été effectués en triple. L'acide gallique a été utilisé comme standard. La courbe d'étalonnage (standard) a été préparé en utilisant 0, 50, 100, 150, 200, 250, 500 mg / L des solutions d'acide gallique dans le méthanol: eau (10:90 , v / v) . La concentration des composés phénoliques totaux dans l'extrait a été déterminée en µg d'équivalents d'acide gallique (GAE) par 1 mg de l'extrait à l'aide de l'équation suivante obtenue à partir d'une courbe standard d'acide gallique (R² = 0,991).

2-Dosage des flavonoïdes totaux

Le teneur totale en flavonoïdes a été estimée selon la méthode décrite par Wang et al ., 2008.[123] En bref, à 0,5 ml d'échantillon, on a ajouté 0,5 ml de solution à 2% d'AlCl₃. Après 1 h d'incubation à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 420 nm. Le teneur totale en flavonoïdes a été calculée en µg d'équivalents de quercétine (QE) pour 1 mg de l'extrait à l'aide de l'équation suivante obtenue à partir d'un graphique de la quercétine standard (R² = 0,983).

3-Évaluation du pouvoir antiradicalaire

La capacité des échantillons d'essai de donneur d'hydrogène a été examiné en présence de radical DPPH (1,1- diphényl-2 - picrylhydrazyl) en utilisant la méthode décrite par Braca et al ., 2001.[124] 3 ml d'une solution méthanolique 0,004 % du DPPH a été ajouté à différentes concentrations (1, 2,5, 5, 10, 15, 20, 30, 50, 75 µg / ml) des échantillons d'essai. Après 30 minutes d'incubation à température ambiante l'absorbance a été mesurée à 517 nm. Le pourcentage d'inhibition de radical DPPH (I%) a été calculé comme suit :

$$I\% = (DO \text{ contrôle} - DO \text{ échantillon} / DO \text{ contrôle}) \times 100 .$$

l'acide ascorbique a été utilisé comme contrôle.

4-Modèle expérimental *in vivo*

Notre étude expérimentale a porté sur des rats *Wistar albinos* adultes, pesant $180 \text{ g} \pm 200 \text{ g}$ (Institut Pasteur, Alger), acclimatées à une température ambiante. Les rats ont eu un régime standard de laboratoire et l'eau est donnée *ad libitum*.

Une cardiotoxicité expérimentale est induite par la doxorubicine à raison de 10 mg/kg. Les rats sont réparties en 6 lots expérimentaux à raison de 6 rats par lot:

- témoins (control),
- traité par la doxorubicine (DOX) par injection intrapéritonéale (1dose) à raison de 10 mg/kg,
- traité par l'extrait ethanolic de thé vert (GTE) par gavage à raison de 100 mg/kg dissous dans l'eau distillée pendant 10 jours,
- traité par l'extrait ethanolic de thé vert et la doxorubicine à raison de 10 mg/kg le 10^{ème} jour,
- traité par la vitamine E (Vit E) par gavage à raison de 100 mg/kg dissous dans l'eau distillée (Vit E) pendant 10 jours,
- traité par la vitamine E et la doxorubicine à raison de 10 mg/kg le 10^{ème} jour,

4-1-Évaluation de la peroxydation lipidique

La peroxydation lipidique dans le cœur est évaluée par le dosage de malondialdéhyde (MDA) selon la méthode d'Uchiyama and Mihara. [125] 1 g de cœur est additionné à 5 ml de solution de KCl (1.15%) puis homogénéisés. À 0,5 ml de l'homogénat, 3 ml d'acide phosphorique (1 %) et 1 ml d'acide thiobarbiturique (TBA, 0,67%) sont additionnés. Le mélange est chauffé à 100 °C pendant 45 min, refroidi puis additionné de 4 ml de *n*-butanol. Après centrifugation de 15 min à 3000 tours/minute, l'absorbance est déterminée sur le surnageant à 532nm. Les résultats du dosage sont exprimés en nmol/gr de cœur.

4-2- Dosage du glutathion

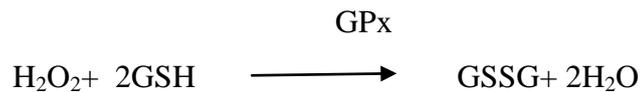
Le dosage du glutathion (GSH) est déterminé par la méthode colorimétrique d'Ellman. [126] Le principe est basé sur la réaction d'oxydation du GSH par l'acide 5, 5'- dithiobis 2-nitrobenzoïque (DTNB) libérant ainsi l'acide thionitrobenzoïque (TNB) absorbant à 412 nm. Pour ce dosage, le cœur est homogénéisé dans cinq volumes de TCA 5% puis centrifugé à 2000 rpm. 200 µl de surnageant sont dilués dans 1.8 ml de tampon phosphate (0.1 M, pH 8). À 2ml du mélange de dilution, 100µl de DTNB (0.01M) sont additionnés. L'absorbance est lue à 412 nm contre un

Chapitre III : Matériels et Méthodes

blanc préparé dans les mêmes conditions avec le TCA 5 %. Les concentrations sont exprimées en mmol/gr de cœur.

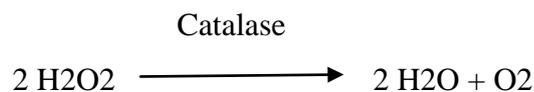
4-3-Évaluation de l'activité enzymatique de GPx

L'activité enzymatique de GPx est déterminée par la méthode de Flohe et Gunzler, 1984.[127] Cette méthode est basée sur la réduction de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en présence de glutathion réduit (GSH), ce dernier est transformé en (GSSG) sous l'influence de la GPx selon la réaction suivante:



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

L'activité enzymatique de CAT est déterminée par la méthode de Clairborne (1985). [128] Le principe est basé sur la disparition de H_2O_2 en présence de la source enzymatique à 25 °C selon la réaction suivante



Pour l'évaluation de l'activité enzymatique de CAT, un mélange est constitué de 1 ml de tampon phosphate (KH_2PO_4 , 0.1 M, pH 7.2), 0.975 ml de H_2O_2 fraîchement préparé (0.091 M) et de 0.025 ml de la source d'enzyme (l'homogénat). L'absorbance est lue à 240nm 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).

Le dosage des protéines dans l'homogénat est réalisé par la méthode de Lowry, 1951.[129]

4-5-Évaluation de l'activité enzymatique d'aspartate transaminase

L'activité enzymatique d'aspartate transaminase (ASAT) est déterminée selon la méthode de Bergmeyer et al[130] en utilisant des kits commerciaux (Quimica Clínica Aplicada S.A, Spain).

4-6-Évaluation statistique

Les résultats sont donnés sous forme de moyennes et d'écart-types. L'évaluation statistique est effectuée en utilisant le test t de Student.

CHAPITRE VI

RESULTAT ET DISCUSSION

Résultats

1-Dosage des composés phénoliques et flavonoïdes totaux

Les résultats obtenus montrent la richesse de *Camellia sinensis* en polyphénols et en flavonoïdes dont la teneur est $673 \pm 56,58$ μg d'équivalents d'acide gallique/mg d'extrait et $36,382 \pm 2,04$ μg d'équivalents de quercétine/mg extrait respectivement.

2-Évaluation du pouvoir antioxydant

Les résultats figurant dans la courbe (figure 27) illustrent les pourcentages de l'activité antiradicalaire de l'extrait Ethanolique de *Camellia sinensis* vis-à-vis du radical libre DPPH.

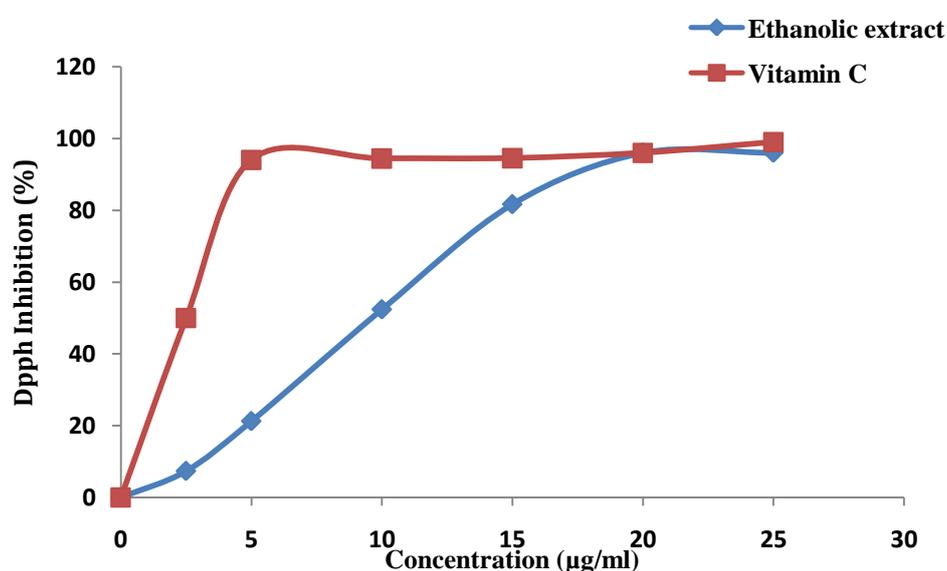


Fig. 27. Pourcentage de l'activité antiradicalaire de l'extrait éthanolique de *Camellia sinensis* vis-à-vis du radical libre DPPH, classés selon l'ordre décroissant suivant (20 $\mu\text{g/ml}$): Vitamine C (94.42%) \geq extrait Ethanolique (81.66%).

La capacité antiradicalaire de l'extrait éthanolique de *Camellia sinensis* et de l'acide ascorbique (témoin positif) est dose-dépendante. Les valeurs d' IC_{50} , calculées sur une moyenne de trois essais, sont les suivantes: acide ascorbique ($\text{IC}_{50} = 5 \pm 1.9$ $\mu\text{g/ml}$), extrait Ethanolique ($\text{IC}_{50} = 10.29 \pm 0.39$ $\mu\text{g/ml}$). Le pouvoir antioxydant de l'extrait vis à vis du DPPH°, le plus élevé (96%) est observé avec une dose de 20 $\mu\text{g/ml}$; pouvoir équivalent à celui qu'exerce la vitamine C (96%) à la même concentration. Ces résultats expliquent la propriété antioxydante des composés phénoliques de thé vert démontrés dans plusieurs

Chapitre IV : Résultats et Discussion

travaux. L'activité antiradicalaire de l'extrait éthanolique de *Camellia sinensis* est probablement liée à leur richesse en composés phénoliques et en flavonoïdes.

3-Effet de la doxorubicine sur les cellules cardiaque et l'action cardioprotecteur de l'extrait éthanolique de thé vert.

L'effet de la doxorubicine sur les cellules cardiaque avec ou sans l'extrait éthanolique est illustré par la figure.28 Une elevation significative ($p < 0.01$) du niveau sérique de TGO (aspartate transaminase) est observée chez les rats traités par la doxorubicine contre le groupe témoin.

L'administration de l'extrait éthanolique temporise l'effet de la doxorubicine et normalise la valeur de cette enzyme.

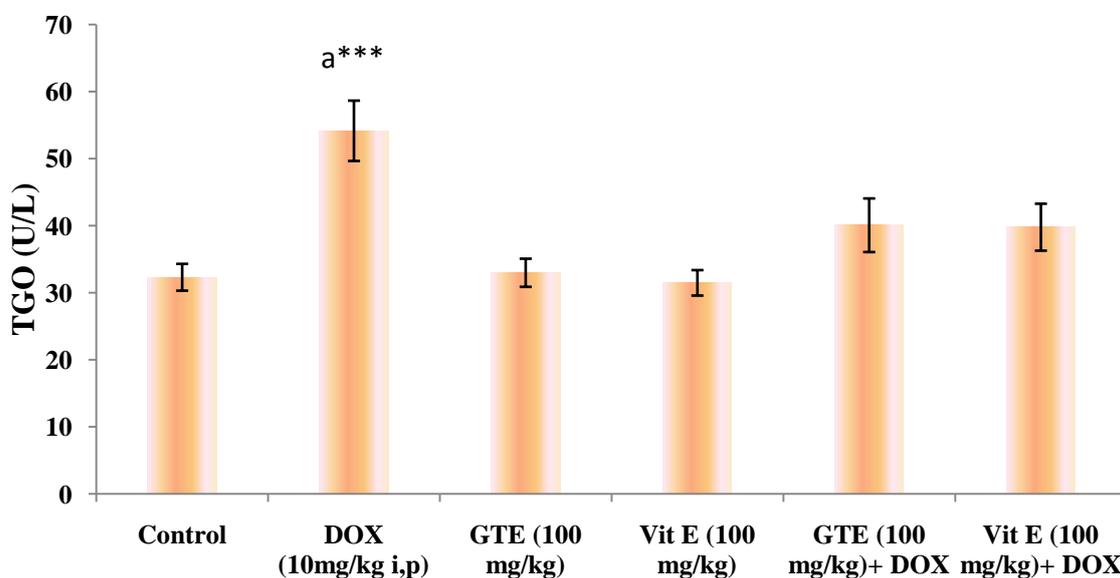


Fig. 28. Effet de la doxorubicine, de l'extrait éthanolique de *thé vert* sur la fonction cardiaque et sa libération des transaminases (TGO). Les valeurs sont données en moyenne \pm écart type. a*** $p < 0.001$, comparativement au groupe témoin.

4-L'action protecteur de l'extrait éthanolique de thé vert vis à vis la peroxydation lipidique.

L'effet de la doxorubicine sur la peroxydation des lipides est illustré par la figure .29 La lipo peroxydation est matérialisée par une augmentation significative du MDA ($p < 0.01$), comparé au groupe témoin. Le prétraitement par l'extrait éthanolique diminue l'oxydation des lipides chez les rats.

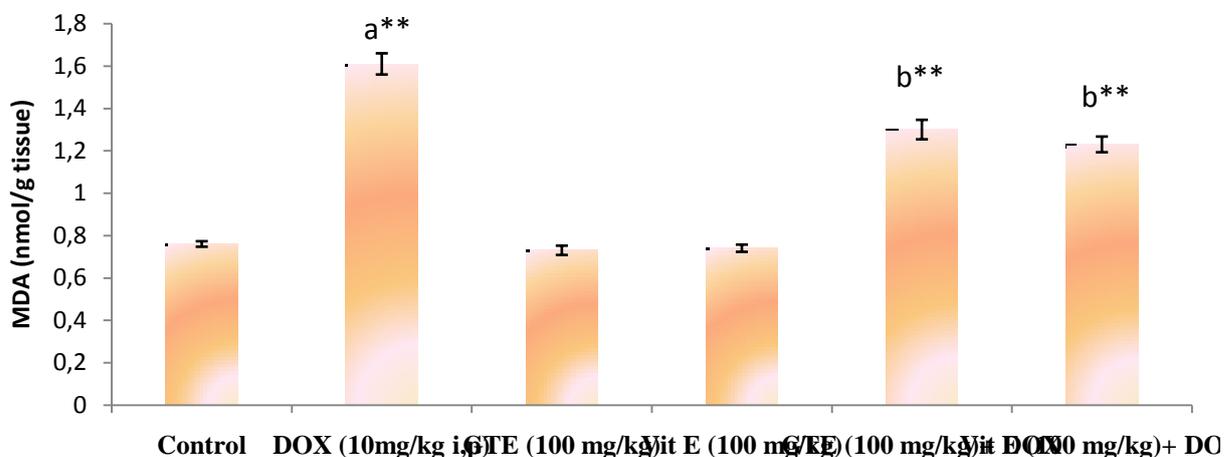


Fig.29. Effet de l'extrait éthanolique de thé vert sur la production du MDA dans Les cellules cardiaque. Les valeurs sont données en moyenne \pm Ecart type.

Test se student : * $p < 0.05$ comparativement au groupe témoin b** comparativement au groupe traité par la doxorubicine.

5-Effet de la doxorubicine, de l'extrait éthanolique sur le niveau de GSH cardiaque

La figure.30 illustre l'effet de l'extrait éthanolique de thé vert sur la variation de glutathion (GSH) dans les cellules cardiaque chez les rats recevant la doxorubicine, prétraitées ou non par l'extrait butanolique.

Nous avons remarqué une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) de GSH chez les rats recevant la doxorubicine par rapport au groupe témoin. Par contre, chez les rats recevant la doxorubicine et traitées par l'extrait éthanolique on constate une elevation significative ($p < 0.05$) de GSH par rapport au groupe recevant la doxorubicine.

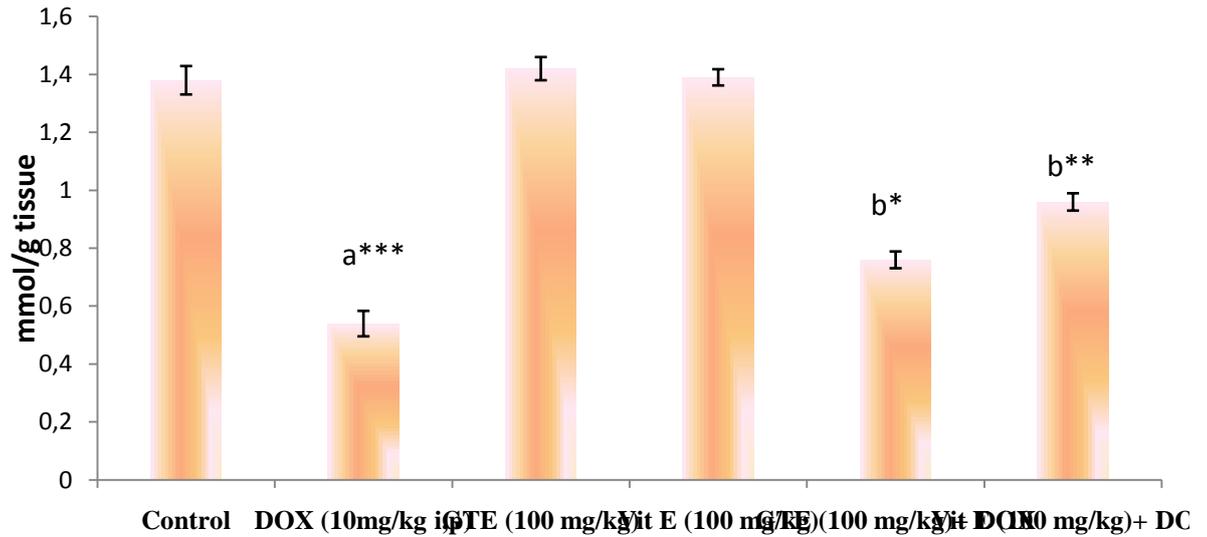


Fig.30. Effet de l'extrait ethanologique de *camellia sinensis* sur le niveau de GSH dans le cœur. Les valeurs sont données en moyenne \pm écart type. Test de Student: a*** $p < 0.001$ comparativement au groupe témoin. b* $p < 0.05$ comparativement au groupe traité par la doxorubicine.

6-Effet de la doxorubicine, de l'extrait ethanologique sur l'activité enzymatique de GPx

La figure.31 montre que l'administration de la doxorubicine provoque une augmentation significative ($p < 0.001$) de l'activité de GPx chez les rats traités par la doxorubicine comparés au groupe normal. Par ailleurs, le traitement des animaux par l'extrait ethanologique (100 mg/kg) et la vitamin E associés avec la doxorubicine, a augmenté la teneur cellulaire en ce facteur antioxydant dans le cœur.

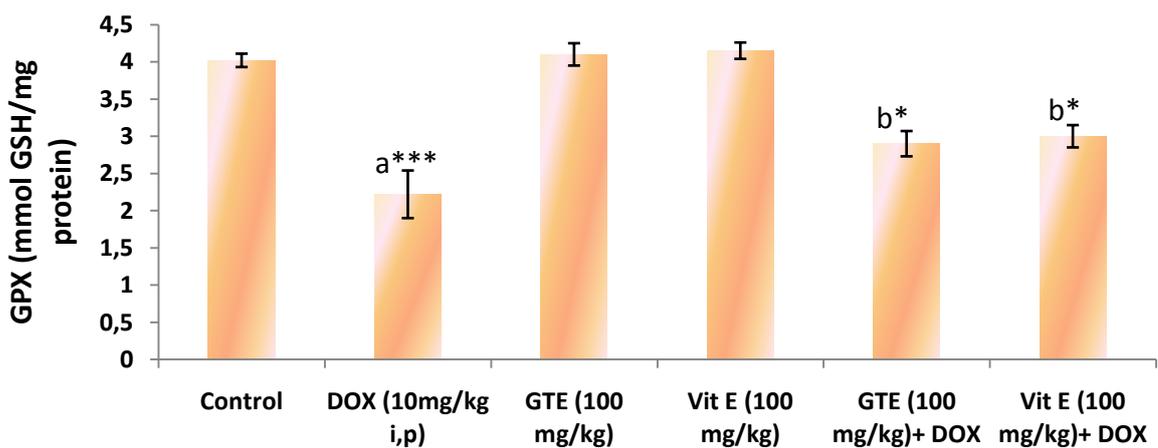


Fig.31. Effet préventif de l'extrait ethanologique de *Camillia sinensis* sur la défense enzymatique antioxydant (GPx) dans le coeur, sous l'effet d'un stress oxydant induit par la doxorubicine chez les rats. Les valeurs sont données en moyenne \pm écart type. Test de Student: *** $p < 0.001$ comparativement au groupe témoin.

7-Evaluation de système antioxydant (catalase) dans le cytosol

La fig.32 montre que l'administration de la doxorubicine provoque une diminution significative ($p < 0.001$) des niveaux de CAT chez les rats traités par la doxorubicine comparés au groupe normal. Par ailleurs, le traitement des animaux par l'extrait éthanolique (100 mg/kg) et la vitamine E (100 mg/kg) associés avec la doxorubicine, a normalisé la teneur cellulaire en ce facteur antioxydant le cœur.

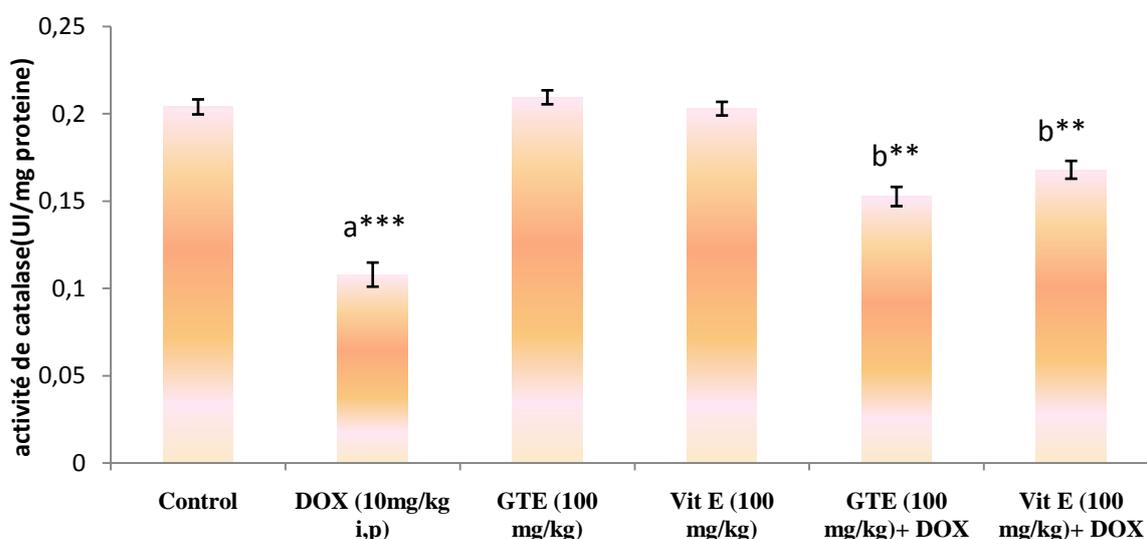


Fig.32: Effet préventif des flavonoïdes de thé vert et de la vitamine E sur la défense enzymatique antioxydant (CAT) dans le cœur, sous l'effet d'un stress oxydant induit par La doxorubicine chez les rats. Les valeurs sont données en moyenne \pm écart type. Test de Student: *** $p < 0.001$ comparativement au groupe témoin.

Chapitre IV : Résultats et Discussion

Discussion

La cardiotoxicité de la doxorubicine (agents antitumoraux de la famille des anthracyclines) est un des principaux facteurs limitant leur utilisation prolongée. Cliniquement elle se traduit par une cardiomyopathie conduisant à une insuffisance cardiaque (IC) congestive irréversible, dont la mortalité est élevée. Les mécanismes moléculaires qui pourraient expliquer la toxicité cardiaque sont complexes mais semblent distincts du mécanisme anticancéreux. Plusieurs hypothèses ont été avancées mais il apparaît que l'induction d'un stress oxydatif au sein du tissu myocardique constitue le dénominateur commun de ces mécanismes. La prévention de cette cardiotoxicité repose sur une surveillance cardiaque étroite. Dans le contexte de la protection myocardique, l'emploi d'agents cardioprotecteurs couplés à la chimiothérapie, tels que des composés pharmacologiques agissant sur le niveau du stress oxydatif fait actuellement l'objet de recherches intensives en vue d'une utilisation optimale des anthracyclines. [131]

La présente étude a été conduite pour évaluer le stress oxydatif au niveau du cœur après traitement aiguë des rats par la doxorubicine avec une dose de 10 mg/Kg par voie intrapéritonéale. L'effet de la doxorubicine sur le cœur est évalué par la mesure du taux de MDA, l'activité des enzymes antioxydantes (la CAT et la glutathion peroxydase), le taux de GSH et de TGO sérique où les résultats obtenus sont illustrés dans les figures 3 et 4.

La peroxydation lipidique a été suggérée en tant qu'un des mécanismes moléculaires impliqués dans la toxicité induite par la doxorubicine. Elle a été employée comme une mesure de stress oxydatif induit par ce xénobiotique. [132] Dans notre travail, le taux de MDA dans le cœur des rats traités par la doxorubicine est significativement élevé par rapport aux rats témoins. De nombreux auteurs ont mis en évidence une augmentation de la peroxydation lipidique après traitement par la doxorubicine. [133, 134, 135, 136] La sensibilité du cœur à la doxorubicine est attribuée à la diminution des défenses anti-oxydantes (GSH, CAT, SOD). [137]

Le traitement par l'extrait du thé vert et la vitamine E a réduit significativement l'effet peroxydatif de la doxorubicine au niveau du cœur par rapport à celle des rats traités par la doxorubicine seule. Cet effet antioxydant est certainement dû à la présence dans l'extrait de thé vert des polyphénols et des flavonoïdes, ainsi qu'à leur capacité de piégeage des radicaux libres. [138]

Chapitre IV : Résultats et Discussion

Les valeurs moyennes des activités de la TGO (figure 3) confirme l'atteinte cardiaque due à la doxorubicine, alors que l'association doxorubicine-extrait a permis de rétablir les activités normales de cet enzyme comme dans le cas d'un traitement préventif par la Vit E.

Il est maintenant admis que la cardiotoxicité de la doxorubicine repose essentiellement sur une majoration d'un processus oxydatif mettant en jeu la production d'espèces radicalaires. Cette surproduction de radicaux libres induit au niveau de toutes les structures cellulaires une augmentation de la peroxydation lipidique qui conduit à une altération des fonctions membranaires. Cette dernière provoque la libération des transaminases cardiaques (TGO) et leur augmentation significative dans le sang.

La déplétion du GSH cardiaque est souvent associée à la cardiotoxicité des anthracyclines. [139] Dans cette présente étude, le résultat a révélé une déplétion significative du GSH cardiaque chez les animaux traités par la doxorubicine. Par contre, la teneur cardiaque de ce tripeptide est maintenue à son niveau cellulaire normal quand les rats sont traités par la doxorubicine associée à l'extrait éthanolique et à la vitamine E. Cet effet démontre le pouvoir protecteur antiradicalaire des polyphénols de thé vert. Ces molécules sont donc capables d'empêcher la chute du GSH et stimulent sa régénération à partir de GSSG [140] suite à la neutralisation des ROS. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus dans l'étude de l'activité cardioprotectrice de Theanine de *thé vert*. [141]

La glutathione peroxydase et la catalase décomposent H_2O_2 en O_2 et H_2O . Ces réactions constituent un ensemble soutenu contre les ROS. [142] La réduction de l'activité de la catalase et de la glutathione peroxydase est observée chez les animaux traités avec la doxorubicine où nous avons observé une chute importante. Ce résultat peut expliquer une production intensive de H_2O_2 suite au traitement des animaux par le médicament. Par contre, le prétraitement des animaux par l'extrait éthanolique et la vitamine E atténue ces effets. Ces résultats expliquent la propriété antioxydante et cardioprotectrice des polyphénols de thé vert démontrés dans plusieurs travaux. [143, 144]

Conclusion

La diminution des défenses anti-oxydantes dans les tissus cardiaque laissant la place aux prooxydants responsables de la lipo peroxydation et par conséquent des dommages tissulaires. Cette dernière provoque lalibération des transaminases cardiaques (TGO) et leur augmentation significative dans le sang. L'extrait du thé vert joue un rôle protecteur contre le stress oxydatif induit par la doxorubicine par leur pouvoir scavenger contre les espèces réactives de l'oxygène.

Résumé

La présente étude avait pour objectifs d'évaluer le stress oxydatif induits par la doxorubicine dans le cœur et étudié l'effet antioxydant et cardioprotecteur de l'extrait éthanolique du thé vert.

La toxicité cardiaque aigüe de la doxorubicine a été évaluée chez les rats par injection intra péritonéal a raison de 10 mg/kg en présences ou absence de l'extrait éthanolique de thé vert (100 mg/Kg) ou de la vitamine E (100 mg/Kg). Les rats sont traités pendant 10 jours (voie orale) avec de l'extrait et la vitamine E.

D'après les résultats biochimiques; il apparaît que l'extrait de thé vert et la vitamine E protègent le cœur contre la toxicité aigüe de la doxorubicine en activant les enzymes antioxydants: GPx et catalase, en augmentant le niveau de GSH et en inhibant la peroxydation lipidique ce qui empeche la libération des transaminases cardiaque (TGO) dans le sang.

Conclusion : Ces résultats suggèrent un effet cardioprotecteur de l'extrait éthanolique de thé vert et de la vitamine E en raison de ses propriétés antioxydants.

Le thé vert, la doxorubicine, la cardiotoxicité, les rats.

Abstract

The objective of the present study was to investigate the ability of ethanolic extract of green tea to modulate doxorubicin-Induced toxicity and oxidative damage in cardiac tissues of rats. ethanolic extract of green tea (100 mg/Kg per day) and vitamin E (100mg/Kg per day) were administered by gavage to groups of Rats for 10 day prior to doxorubicin administration (intraperitoneal injection of 10mg/kg per day, single dose). After 1 day of the last dose experimental period, blood samples and heart tissues were taken from all groups. Cardiac tissues homogenised and used for determination of lipid peroxidation (LPO) using TBARS method. In addition catalase (CAT), glutathione peroxidases (GPx), reduced glutathione (GSH) were estimated to assess cardiac damage.

Administration of doxorubicin caused cardiotoxicity associated with an antioxidant deficiency. Pretreatment with ethanolic extract of green tea and Vitamin E protected the heart from the toxic effects of doxorubicin by reducing the elevated level of biomarkers and diagnostic enzymes like AST to normal levels. Green tea extract and Vitamin E increased the GSH level, GPx and CAT activities and decreased the MDA levels in cardiac tissue.

Conclusion: These results suggest a cardioprotective effect of ethanolic extract of green tea and Vitamin E due to its antioxidant properties.

Green Thé, cardiotoxicity, doxorubicin, rats.

المخلص

تناولت هذه الدراسة التأثير الوقائي للمستخلص الإيثانولي للشاي الأخضر اتجاه التسمم القلبي الممرض لدى الجرذان بدواء doxorubicine وتتبع الأثر السمي لهذا الدواء و علاقته بالتوتر التأكسدي وما يترتب عنه من اضطرابات بيوكيميائية. لهذا الغرض تعطى الجرذان دواء doxorubicin (10 مغ/كغ)، الحقن تحت الصفاق بمعدل جرعة واحدة) كما تعطى فيتامين E(100 مغ/كغ)، أو المستخلص الفينولي(100 مغ/كغ) عن طريق الفم لمدة 10 أيام. تقتل الجرذان في اليوم 11 ، نقوم بدراسة الاضطرابات في مسارات الاستقلاب الممرض بدواء doxorubicine من خلال تقدير تركيز إنزيمات TGO في المصل و تقدير مستوى أو نشاط مضادات الأكسدة GSH ،GPx ،Catalase بالإضافة إلى تقدير [MDA] باستعمال طريقة (TBARs) على مستوى القلب.

أشارت نتائج الدراسة البيوكيميائية و الإنزيمية إلى حدوث خلل في العمليات الاستقلابية و يترجم ذلك بارتفاع معنوي في تركيز إنزيمات TGO ،MDA، و انخفاض معنوي في مستوى أو نشاط مضادات الأكسدة GSH ،GPx ،catalase في قلب الجرذان المعاملة بدواء doxorubicine . أدت المعاملة بالمستخلص الإيثانولي للشاي الأخضر و فيتامين E إلى الوقاية من هذه الاضطرابات بواسطة قدرتها على اقتناص الجذور الحرة، و تحفيزها للنظام المضاد للأكسدة من خلال الزيادة المعنوية في مستوى GSH و نشاط الإنزيمات المضادة للأكسدة GPx ،catalase. تشير هذه النتائج الى الدور الوقائي لمستخلص الشاي الأخضر و فيتامين E و التي ترجع لخصائصها المضادة للأكسدة.

الشاي الأخضر، الدوكسوروبسين، التسمم القلبي، الجرذان.

La liste des références :

- [1]- Judson I, Verweij J, Gelderblom H, Hartmann JT, Schöffski P and Blay JY. Doxorubicin alone versus intensified doxorubicin plus ifosfamide for first-line treatment of advanced or metastatic soft-tissue sarcoma: a randomised controlled phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2014. 15(4): 415-23.
- [2]- Chatterjee K, Zhang J, Hombo N and Karliner J. Doxorubicin Cardiomyopathy. *Cardiology.* 2010, 115(2): 155-62.
- [3]- Chahine N. Effet protecteur du safran contre la cardiotoxicité de la doxorubicine en condition ischémique. Thèse de Doctorat de de Reims Champagne-Ardenne. 2014
- [4]- Andrieu-Abadie N, Levade T, Laurent G, Hatem S, Mercadier J-J. Le céramide à l'origine de la cardiotoxicité de la doxorubicine ?1999 *médecine/sciences*; 15 : 1322-1324.
- [5]- <http://www.pharmacie-principale.ch>. Antioxydants et cancers: état des lieux
- [6]- Castel M, Despas F, Modesto A, Gales C, Honton B, Galinier M, Senard J-M, Pathak A. Effets indésirables cardiaques des chimiothérapies. *Presse Med.* 2013, 42: 26 –39
- [7]- Georgiev V, Ananga A and Tsoleva V. Recent advances and uses of grape flavonoids as nutraceuticals. *Nutrients.* 2014, 21;6(1):391-415..
- [8]- Khan G, haque S E, Anwer T, Ahsan MN, Safhi M M and Alam M F. Cardioprotective effect of green tea extract on doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats. *Acta Poloniae Pharmaceutica & Drug Research.* 2014, 71 (5) : 861-868.
- [9]- Patil LJ, Bothara SB, Balaraman R. Effect of chronic administration of green tea extract on chemically induced electrocardiographic and biochemical changes in rat heart. *Int J Green Pharm* 2010;4:170-3
- [10]- Saeed NM, El-Naga RN, El-Bakly WM, Abdel-Rahman HM, El-Demerdash E. Epigallocatechin-3-gallate pretreatment attenuates doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats: A mechanistic study. *Biochem Pharmacol.* 2015 in press
- [11]- Sugiyama T, Sadzuka Y, Theanine, a specific glutamate derivative in green tea, reduces the adverse reactions of doxorubicin by changing the glutathione level. *Cancer Letters* 2014 ,212 : 177–184
- [12]- Graham, H. N. (1992) Green tea composition, consumption, and polyphenol chemistry, *Preventive medicine* .1992,21 : 334-350.
- [13]- Wachira F.N., Tanaka J. Takeda Y. Genetic variation and differentiation in tea germplasm revealed by RAPD and AFLP variation. *J Hort Sci Biotechnol.* 2001, 76.
- [14]- Sanchez-Alonso I, Jimenez-Escrig A, Saura-Calixto F, Borderias A. *J. FoodChem.*2007, 101 :372-378.

- [15]- Mc Kenna D J, Jones K, Hughes K, Humphrey S. Botanical Medicines: The Desk Reference for Major Herbal Supplements. 2e édition: The Haworth Herbal Press®. 2002, p. 597-656.
- [16]- Spichiger R E, Savolainen V, Figeat M, Jeanmond . Botanique systématique des plantes à fleurs : Une approche phylogénétique nouvelle des Angiospermes des régions tempérées et tropicales. 2e édition, Lausanne : Presses Polytechniques et Universitaires romandes. 2002, p. 296-297.
- [17]-Ashida H, Furuyashiki T, Nagayasu H, Bessho H, Sakakibara H, Hashimoto T, Kanazawa K. Anti-obesity actions of green tea : possible involvements in modulation of the glucose uptake system and suppression of the adipogenesis-related transcription factors. Biofactors. 2004, 22(1-4):135-40.
- [18]- « Le livre de l'amateur de thé », Sabine Yi, Jacques Jumeau, Robert Laffont, octobre 1983, Paris, p239 : 124,128,140. cité par Elise hameury-IUP.SIAL-mars2004 projet marketing
- [19]- site : www.r0.unctad.org consulter le 29-03-2015 à 16 :34 cité par Elise hameury-IUP.SIAL-mars2004 projet marketing.
- [20]- Xerfi, secteur France 2002.cité par Elise hameury-IUP.SIAL-mars2004 projet marketing.
- [21]- Graham, H. N. Green tea composition, consumption, and polyphenol chemistry, Preventive medicine. 1992 , 21 : 334-350.
- [22]- Van Acker S, van Balen GP, van Den Berg DJ, Bast A, van der Vijgh WJF. Influence of iron chelation on the antioxidant activity of flavonoids. Biochem Pharmacol 1998, 56:935–943.
- [23]- Banerjee B, Chaudhuri T.C. Therapeutic Effects of Tea. Enfield: Science Publishers, Inc. 2005, p 206.
- [24]- Garel E. Sources et intérêt de la théanine présente dans le thé et ses préparations, p.1-85. Thèse : Pharmacie : Université de Rennes I. 2006 : p.1-85.
- [25]- Bruneton J. Pharmacognosie. Phytochimie : Plantes médicinales. 3e édition, Paris : Editions TEC & DOC, Cachan : Editions Médicales Internationales. 1999 : p. 239-249, p. 309-327, p. 369-388, p. 1070-1079.
- [26]- Manach C, Azaïs-braesco V, Remesy C, Morand C. Biodisponibilité des polyphénols du thé. Cah. Nutr. Diét.2000, 35(1) : 1S46-1S55
- [27]- BALENTINE D.A., WISEMAN Sheila A., BOUWENS Lisbeth C.M., MALVY D. Chimie des flavonoïdes du thé, Cah. Nutr. Diét., 2000, vol. 35, supplément 1, p. 1S13-1S21.
- [28]- Urquiaga I. N. E. S. and Leighton F. E. D. E. Plant Polyphenol Antioxidants and Oxidative Stress. Biol. Res. 2000, 33: 55-64.
- [29]- Nurulain T. Zaveri. Green tea and its polyphenolic catechins:

Medicinal uses in cancer and noncancer applications. *Life Sciences*.2006, 78:2073-2080

[30]- MONTSEREN Jean. Guide de l'amateur de thé. Paris, Solar, 1999, 4-287 p.

[31]- MOSSION Aurélie. Etude de la composition minérale et organique des liqueurs de thé et de leurs caractéristiques organoleptiques : Influence des paramètres physico-chimiques de l'eau. Thèse : Sciences de la Matière : Institut National de Polytechnique de Toulouse .2007 , 213 p.

[32]- Hooper L, Kroon PA, Rimm EB, Cohn JS, Harvey I, Le Cornu KA, Ryder JJ, Hall WL, Cassidy A. Flavonoids, flavonoid-rich foods, and cardiovascular risk: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr*. 2008,88:38-50.

[33]- Haqqi TM, Anthony DD, Gupta S, Ahmed N, Lee MS, Kumar GK, Mukhtar H. Prevention of collagen-induced arthritis in mice by a polyphenolic fraction from green tea. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999; 96(8):4524-9.

[34]-Sanchez-Alonso I., Jimenez-Escrig A., Saura-Calixto F., Borderias A. *J. FoodChem*. 2007, 101,372-378.

[35]- Spichiger R-E, Savolainen V, Figeat M, Jeanmond D. Botanique systématique des plantes à fleurs : Une approche phylogénétique nouvelle des Angiospermes des régions tempérées et tropicales. 2e édition, Lausanne : Presses Polytechniques et Universitaires romandes. 2002, p. 296-297.

[36]- GAREL Emile. Sources et intérêt de la théanine présente dans le thé et ses préparations, Thèse : Pharmacie : Université de Rennes I : 2006, p.1-85.

[37]- Zhen Y, Chen Z, Cheng S, Chen M. Tea : Bioactivity and Therapeutic Potential / ed. by. London and New York : Talor & Francis, Medicinal and Aromatic Plants – Industrial Profiles. 2002, 7 : vii-267 .

[38]-Lin CL, Huang HC, Lin JK. Theaflavines attenuate hepatic lipid accumulation through activating AMPK in human HepG2 cells. *Journal of Lipid Research*, November2007, 48 : 2334-2343.

[39]- Sweetman S C. Martindale The Complete Drug Reference. Thirty-third Edition, London-Chicago : Pharmaceutical Press, 2002, p. 761-763, p. 777-785, p. 1681.

[40]- Nkhili E-Z. Polyphenolsde l'alimentation : extraction, interaction avec les ions de fer et du cuivre, oxidation et pouvoir antioxydant. Diplôme de doctorat specialit science des aliments Université d'Avignon-France et Universiité Cadi Ayyad-Marrakech. 2009, p. 64-68, 307.

[41]-Spencer JP. Metabolism of tea flavonoids in the gastrointestinal tract. *J Nutr*. 2003, 133(10):3255S-3261S.

- [42]- Yang CS, Lee MJ, Chen L. Human salivary tea catechin levels and catechin esterase activities : implication in human cancer prevention studies. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* January. 1999, 8(1):83-9.
- [43]- Lee MJ, Maliakal CL, Meng X, Bondoc FY, Prabhu S, Lambert G, Mohr S, Yang CS. Pharmacokinetics of tea catechins after ingestion of green tea and (-)- epigallocatechin-3-gallate by humans : formation of different metabolites and individual variability. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* October 2002, 11 (10 Pt 1):1025-32.
- [44]- Yang CS, Chen L, Lee MJ, Balentine D, Kuo MC, Schantz SP. Blood and urine levels of tea catechins after ingestion of different amounts of green tea by human volunteers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1998, 7(4):351-4.
- [45]- Chow HH, Hakim IA, Vining DR, Crowell JA, Rnager-Moore J, Chew WM, Celaya CA, Rodney SR, Hara Y, Alberts DS. Effects of dosing condition on the oral bioavailability of green tea catechins after single-dose administration of Polyphenon E in healthy individuals. *Clin Cancer Res.* June 2005,11(12):4627-33.
- [46]- Langley-Evans SC. Antioxidant potential of green and black tea determined using the ferric reducing power (FRAP) assay. *Int J Food Sci Nutr.* May 2000, 51(3):181-8.
- [47]- Gruenwald J, Brendler , Jaenicke C. PDR for herbal medicines, Fourth Edition, Muntvale : Edition Thomson. 2007, p. 414-422.
- [48]- Cooper, R. Green tea and theanine: health benefits, *International journal of food sciences and nutrition.* 2012, 6(1): 90-97.
- [49]- Dewick P M. Medicinal natural products: A Biosynthetic Approach. England (West Sussex) : John Wiley & Sons Ltd. 1997, p. 135-138, p. 368.
- [50]- Chassagne N. Le thé : Historique, Composition et Nouvelles Perspectives Thérapeutiques, Thèse : Pharmacie : Clermont I. 2005, p. 1-140.
- [51]- Wichtl M, Anton R. Plantes thérapeutiques : Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. 4e édition allemande, 2e édition française, Paris : Editions TEC & DOC, Cachan: Editions Médicales Internationales.2003, p.550-553.
- [52]- Cattan M. Le thé à l'officine. Thèse : Pharmacie : Université de la Méditerranée Aix-Marseille II. 2007, p. 1-54.
- [53]- Dewick Paul M. Medicinal natural products : A Biosynthetic Approach. England (West Sussex) : John Wiley & Sons Ltd., 1997, p. 135-138, p. 368. [54]- Bruneton Jean. Pharmacognosie. Phytochimie : Plantes médicinales. 4e édition, Paris : Editions © 2015 Lavoisier S.A.S. 2009.

- [54]- Bruneton Jean. Pharmacognosie. Phytochimie : Plantes médicinales. 4e édition, Paris : Editions © 2015 Lavoisier S.A.S. 2009.
- [55]- Girotti-channu C. Etude de la lipolyse et de synthèse des composés du Derme sous l'effet de la Cirsimarine ,Flavone extraite de *Microtea Debilis*. Thèse de Doctorat .Institut national des sciences appliquées de Lyon.2006,p127.
- [56]- Tipoe GL, Leung TM, Hung MW, Fung ML. Green tea polyphenols as an antioxidant and anti-inflammatory agent for cardiovascular protection. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets*. June 2007, 7(2):135-44.
- [57]- GUO Q, ZHAO B, LI M, SHEN S, XIN W. Studies on protective mechanisms of four components of green tea polyphenols against lipid peroxidation in synaptosomes. *Biochim Biophys Acta*. December. 1996,1304(3):210-22.
- [58]- Higuchi A, Yonemitsu K, Koreeda A, Tsunenari S. Inhibitory activity of epigallocatechin gallate (EGCg) in paraquat-induced microsomal lipid peroxidation—a mechanism of protective effects of EGCg against paraquat toxicity. *Toxicology*. February 2003, 183(1-3):143-9.
- [59]- Ross I A. *Medicinal Plants of the World: Chemical Constituents, Traditional and Modern Medicinal Uses*. Totowa, New Jersey: Editions Humana Press, 2005,3:1-27.
- [60]- Xiuzhen, H.,Tao, S.,Hongxiang, L. Dietary Polyphenols and Their Biological Significance. *International Journal of Molecular Sciences*.2007, 8: 950-988.
- [61]- Scalbert, A.,Williamson,G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *Journal of Nutrition*.2000, 130: 2073-2085.
- [62]- Zhou, H-Y.,Hong, J-L.,Shu, P.,Juan Ni, Y.,Qin, M. J. A new dicoumarin and anticoagulant activity from *Viola yedoensis* Makino. *Fitoterapia*. 2009, 80 : 283–285.
- [63]- Bruneton, J. *Pharmacognosie-Phytochimie,plantes médicinales, (4e éd),revue etaugmentée, Tec & Doc - Éditions médicales internationales, Paris. 2009, p 1288 .*
- [64]- Saulet S., lecoupeau J-P.,Vercauteren J. Implication chimique et biologique de la présence de polyphenols dans le cacao. Deuxième journée scientifique de l'UFR de sciences pharmaceutiques. *Pharm.Bordeaux*. 2001, 140:127-166.
- [65]- Cohen Y., Jacquot C. *Pharmacologie*. 6e édition, Issy-les-Moulineaux : Elsevier Masson. 2008, p. 198- 202
- [66]- Pooja Bhardwaj, Deepa Khanna. Green tea catechins: defensive role in cardiovascular Disorders. *Chinese Journal of Natural Medicines*. 2013, 11(4): 0345–0353
- [67]- Kufe D, Pollock R, Weichselbaum R, Bast R, Gansler T, Holland J and Frei E. *Holland-Frei Cancer Medicine, 6th edition American Cancer Society, BC Decker, Hamilton. 2003*

- [68]- Minotti G, Cairo G, Monti E. Role of iron in anthracycline cardiotoxicity: new tunes for an old song ? 1999, 13:199-212
- [69]- Tacar O, Sriamornsak P and Dass CR. Doxorubicin: an update on anticancer molecular action, toxicity and novel drug delivery systems. *J Pharm Pharmacol*.2013, 65(2):157-70
- [70]- Prat w, Ruffon R, Ensminger W, Maybaum J. *Principles of cancer chemotherapy*. Oxford University Press Inc, New York. (1994) Vol. sec edition
- [71]- Hortobàgyi GN. Anthracyclines in the treatment of cancer. An overview. *Drugs*. 1997, 54(4):17.
- [72]- Hande K . Clinicat applications of anticancer drugs targeted to topoisomerase II. *Biochim Biophys Acta*. 1998, 1400 : 173-184.
- [73]- Tannock, Ian, Richard P, Hill. *The basic science of oncology*, New York: McGraw-Hill Health Professions Division. 1998, 539 p.
- [74]- Regev R, Eytan GD. Flip-flop of doxorubicin across erythrocyte and lipid membranes. *Biochem Pharmacol*.1997, **54**:1151.
- [75]- Borst P, Evers R, Kool M , Wijnholds J. A family of drug transporters: the multidrug resistance-associated proteins. *J Natl Cancer Inst*.2000 , **92**:1295-302.
- [76]- Kiyomiya K, Matsuo S, Kurebe M. Mechanism of specific nuclear transport of adriamycin: the mode of nuclear translocation of adriamycin-proteasome complex. *CancerRes* .2001, **61**:2467.
- [77]- Kiyomiya KI, Matsuo S et Kurebe M.In situ photoaffinity labeling of proteasome withphotoactive adriamycin analogue. *Biochem Biophys Res Commun* .2000 ; 273:928-32.
- [78]- Kiyomiya K, Matsuo S, Kurebe M. Proteasome is a carrier to translocate doxorubicinfrom cytoplasm into nucleus. *Life Sci*.1998, **62**:1853-60.
- [79]- Minotti G, Menna P, Salvatorelli E, Cairo G and Gianni L. Anthracyclines: molecular advances and pharmacologic developments in antitumor activity and cardiotoxicity. *Pharmacol Rev*. 2004, 56:185-229.
- [80]- Szulawska A and Czyz M. Molecular mechanisms of anthracyclines action. *Postepy Hig Med Dosw*. 2006,60:78-100.
- [81]- Isaacs RJ, Davies S1, Wells NJ and Harris A. Topoisomerase II α and β as therapy targets in breast cancer. *Anti-Cancer Drugs*.1995, 6:195-211.
- [82]- Lubgan D, Marczak A, Walczak M, Distel L , Józwiak Z. Pharmacological mechanisms of Doxorubicin activity (DOX) - current state of knowledge. *Przegl Lek*.2006, 63(9):782-8.
- [83]- Pfizer Laboratories Div Pfizer. Doxorubicin hydrochloride for injection, USP.

- [84]- Polovich M, White JM , Kelleher LO. Chemotherapy and biotherapy guidelines and recommendations for practice (2nd. ed.) Pittsburgh, PA: Oncology Nursing Society. 2005.
- [85]- Bonita R and Pradhan R. Cardiovascular toxicities of cancer chemotherapy. *Semin Oncol.* 2013,40:156-67.
- [86]- Dlemasure S,Vergely C ,Zeller M ,Cottin Y ,Rochette L .Preventing the cardiotoxic effects of anthracyclins. From basic concepts to clinical data .2006, 55 :104-112.
- [87]- Zhang D, Contu R, Latronico MV, Zhang J, Rizzi R, Catalucci D, Miyamoto S, Huang K, Ceci M, Gu Y, Dalton ND, Peterson KL, Guan KL, Brown JH,Chen J, Sonenberg N and Condorelli G. MTORC1 regulates.
- [88]- Olson RD, Boerth RC, Gerber JG, Nies AS. Mechanism of adriamycin cardiotoxicity : Evidence for oxidative stress.*Life Sci.* 1981 , 29 : 1393-401
- [89]- Cummings J, Willmott N, Smyth J.The molecular pharmacology of doxorubicin in vivo. *Eur J Cancer.* 1991, 27- 29.
- [90]- figure25
- [91]- Sen, C. K., Khanna, S., and Roy, S. 'Tocotrienols: Vitamin E beyond tocopherols', *Life Sci* .2006,78 (18) : 2088-98
- [92]- Li T, Singal PK. Adriamycin induced early changes in myocardial antioxydant enzymes and their modulation by probucol. *Circulation.* 2000,102: 2105–10.
- [93]- Thannickal VJ , Fanburg BL. Reactive oxygen species in cell signaling. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2000, 279 : 1005-1028.
- [94]- Childs AC, Phaneuf SL, Dirks AJ, Phillips T , Leeuwenburgh C. Doxorubicin treatment in vivo causes cytochromes C release and cardiomyocyte apoptosis, as well as increased mitochondrial efficiency, superoxide dismutase activity, and Bcl-2: Bax ratio. *Cancer Res.* 2002, 62:4592-8.
- [95]- Depty E, Hatem SN, Andrieu N, De Vaumas C, Henaff M , Rucker-Martin C. Doxorubicin induces slow ceramide accumulation and late apoptosis in cultured adult rat ventricular myocytes. *Cardiovasc Res.*1999, 43:398-407.
- [96]- Collins L, Zhu T, Guo J, Xiao ZJ and Chen CY. Phellinus linteus sensitises apoptosis induced by doxorubicin in prostate cancer. *British Journal of Cancer.*2006, 95:282-288.
- [97]- Lebrecht D, Setzer B, Ketelsen UP, Haberstroh J , Walker UA. Time dependent and tissue-specific accumulation of mtDNA and respiratory chain defects in chronic doxorubicin cardiomyopathy. *Circulation.*2003, 108:2423-9.

- [98]- Yeh E, Tong A, Lenihan D, Yusuf S, Swafford J, Champion C, Durand JB, Gibbs H, Zafarmand A, Ewer M. Cardiovascular Complications of Cancer Therapy. Diagnosis, Pathogenesis, and Management. 2004, *Circulation*. 109:3122-3131.
- [99]- Zucchi R, Danesi R. Cardiac toxicity of antineoplastic anthracyclines. *Curr Med Chem-Anti-Cancer Agents*. 2003, 3 : 151-71.
- [100]- Kusuoka H, Futaki S, Koretsune Y, Kitabatake A, Suga H, Kamada T, et al. Alterations of intracellular calcium homeostasis and myocardial energetics in acute adriamycin-induced heart failure. *J Cardiovasc Pharmacol* 1991, 18 : 437-44.
- [101]- Olli A, Antti S, Kari P, et al. Acute Doxorubicin Cardiotoxicity Involves Cardiomyocyte Apoptosis. *Cancer Res*. 2000, 60:1789-1792.
- [102]- Wojtacki J, Lewicka-Nowak E, Lesniewski-Kmak K. Anthracycline induced cardiotoxicity: clinical course, risks factors, pathogenesis, detection and prevention: review of the literature. *Med Sci Monit*. 2000, 6:411.
- [103]- Goldwasser F. Traitements anti-tumoraux chez le patient cardiaque Réflexions en Médecine Oncologique. 2008, N° 22 - Tome 5.
- [104]- Lipshultz SE, Colan SD, Gelber RD, Perez-Atayde AP, Sallan SE, Sanders SP. Late cardiac effects of doxorubicin therapy for acute lymphoblastic leukemia in childhood. *N Engl J Med*. 1991, 324:808-15.
- [105]- Doyle JJ, Neugut AI, Jacobson JS, Hershman DL. Chemotherapy and cardiotoxicity in older breast cancer patients: a population-based study. *J Clin Oncol*. 2006, 23:8597-8605.
- [106]- Fumoleau P, Roché H, Kerbrat P, Bonneterre J, Fargeot P, Namer M. Cardiac toxicity in operable breast cancer patients after adjuvant chemotherapy with epirubicin : 7-year analysis in 3577 patients of French Adjuvant Study Group trials. *Br Cancer Res Treat*. 2000, 76 (1):640.
- [107]- Ryberg M, Nielsion D, Skovsgaard T. Epirubicin cardiotoxicity an analysis of 469 patients with metastatic breast cancer. *J Clin Oncol*. 1998, 16:3502-8.
- [108]- Zambetti M, Moliterni A, Materazzo C, Stefanelli M, Cipriani S, Valagussa P. Long-term cardiac sequelae in operable breast cancer patients given adjuvant chemotherapy with or without doxorubicin and breast irradiation. *J Clin Oncol*. 2001, 19:37-43.
- [109]- Lipshultz SE, Lipsitz SR, Mone SM, Goorin AM, Sallan SE, Sanders SP. Female sex and drug dose as risk factors for late cardiotoxic effects of doxorubicin therapy for childhood cancer. *N Engl J Med*. 1995, 332:1738-43.
- [110]- Chahine N. Prévention et réduction de la toxicité cardiaque des anthracyclines Thèse de Doctorat de de Reims Champagne-Ardenne. 2014

- [111]- Valdivieso M, Burgess MA, Ewer MS, Mackay B, Wallace S, Benjamin RS, et al. Increased therapeutic index of weekly doxorubicin in the therapy of non small cell lung cancer : a prospective randomised study. *J Clin Oncol* .1984 ,2 : 207-14.
- [112]- Mates J M, Perez-Gomez C, Nunez de Castro I. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin Biochem*. (1999), 32 (8) :595-603.
- [113]- Christen, S., et al. gamma-tocopherol traps mutagenic electrophiles such as NO(X) and complements alpha-tocopherol: physiological implications. *Proc Natl Acad Sci U S A*.1997, 94 (7) :3217-22.
- [114]- Lee V, Randhawa AK ,Singal PK. Adriamycin-induced myocardial dysfunction in vitro is mediated by free radicals. *Am J Physiol*.1991 , 261(4):989-995.
- [115]- Dorr R. Chemoprotectants for cancer chemotherapy.1991, *Semin Oncol*. 18:48-58.
- [116]- Yen HC, Oberley TD, Vichitbandhas S, Ho YS ,Clair DK. The protective role of manganese superoxide dismutase against adriamycin-induced acute cardiac toxicity in transgenic mice. *J Clin Invest*.1996 , 98:1253-60.
- [117]- Tebbi CK, London WB, Friedman D, Villaluna D, De Alarcon PA , Constine LS. Dexrazoxane-associated risk for acute myeloid leukemia/myelodysplastic syndrome and other secondary malignancies in pediatric Hodgkin's disease. *J Clin Oncol*. 2007, 25:493-500.
- [118]- Kang, S. W., et al. Mammalian peroxiredoxin isoforms can reduce hydrogen peroxide generated in response to growth factors and tumor necrosis factoralpha.*J Biol Chem*.1998,273 (11) :6297-302.
- [119]- Swain SM, Whaley FS, Gerber MC, Weisberg S, York M and Spicer D. Cardioprotection with dexrazoxane for doxorubicin-containing therapy in advanced breast cancer. *J Clin Oncol*. 1997, 15:1318-1332.
- [120]- Oliveira PJ, Bjork JA, Santos MS, Leino RL, Froberg MK, Moreno AJ, et al. Carvedilol-mediated antioxidant protection against doxorubicin induced cardiac mitochondrial toxicity. *Toxicol Appl Pharmacol* .2004,200:159–68.
- [121]- Pacher P, Liaudet L, Bai P, Mabley JG, Kaminski PM, Virág L, Deb A, Szabó E, Ungvári Z, Wolin MS, Groves JT , Szabó C. Potent metallo-porphyrin peroxynitrite decomposition catalyst protects against the development of doxorubicin-induced cardiac dysfunction. *Circulation*.2003, 18;107(6):896-904.
- [122]-Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM (1999) Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin–Ciocalteu reagent. In: Packer L, editor. *Methods in enzymol: oxidant and antioxidants (part A)*, vol. 299. San Diego, CA: Academic Press p: 152–78

- [123]- Wang H, Dong Gao X, Zhou GC, Cai L., Yao WB. In vitro and in vivo antioxidant activity of aqueous extract from *Choerospondias axillaris* fruit. *Food Chem* 2008; 106:888-895.
- [124]- Braca A, De Tommasi N, Di Bari L, Pizza C, Politi M, Morelli Antioxidant principles from *Bauhinia terapotensis*. *J. Nat. Prod* 2001; 64:892-895
- [125]- Uchiyama M, Mihara M Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal. Biochem* 1978;86: 271-278
- [126]- Ellman GL (1959) Plasma antioxidants. *Arch. Biochemistry & Biophysics* 82: 70-77
- [127]- Flohé L., Gunzler W.A. Assays of glutathione peroxidase. *Methods Enzymol* 1984; 105:114–121.
- [128]- Claiborne A. Catalase activity. In *CRC Handbook of Methods for Oxygen Radical Research*, ed. Greenwald RA, 1985; pp. 283–284.
- [129]- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem* 1951;193: 265-275
- [130]- Bergmeyer HU, Scheibe P and Wahlefeld AW Methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes. *Clin. Chem* 1978; 24: 58-73
- [131]- Delemasure S, Vergely C, Zeller M, Cottin Y, Rochette L. Prévention de la cardiotoxicité des anthracyclines: approche fondamentale des mécanismes mis en jeu ; relations avec les données cliniques. *Annales de cardiologie et d'angéiologie*. 2006
- [132]- Hrelia S, Bordoni C, Angeloni E, Leoncini T, Gallina Toschi G, Lercker P, Biagi L. Green tea extracts can counteract the modification of fatty acid composition induced by doxorubicin in cultured cardiomyocytes. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 2002; 66:(5-6), 519-524.
- [133]- Zhang ZM, Geng BQ, Dingguo Y. Effect of tea polyphenols on doxorubicin induced cardiotoxicity in rats. *Chinese Pharmaceutical Journal* 1998-07.
- [134]- Patil LJ, Bothara SB, Balaraman R. Protective effect of green tea extract on doxorubicin induced cardiotoxicity in rats. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine* 2005; 5(2), 137-143
- [135]- Patil LJ, Bothara SB, Balaraman R. Effect of Green Tea Extract on Doxorubicin Induced Cardiovascular Abnormalities: Antioxidant Action. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research* 2011; 10 (1): 89-96
- [136]- Ayaz A, Binayak D, Haque S E, Khan G, Shahzad N. Role of green tea extract against doxorubicin induced cardiotoxicity in rats. *IJRPS* 2011,1(1),44-56
- [137]- Al-Sowayan N S, Mahmoud N H. The Protective Effect of Grape Seed Extract on Cardiotoxicity Induced by Doxorubicin Drug in Male Rats. *Advances in Bioscience and Biotechnology* 2014; 5: 1078-1089

- [138]- Espinosa C, López-Jiménez JÁ, Cabrera L, Larqué E, Almajano M P, Arnao M B, Zamora S, Protective effect of white tea extract against acute oxidative injury caused by adriamycin in different tissues. *Food Chemistry* 134 (2012) 1780–1785
- [139]- Vergely C, Delemasure S, Cottin Y, Rochette L. Preventing the cardiotoxic effects of anthracyclines: from basic concepts to clinical data. *Heart Metab.* 2007;35:1–7.
- [140]-Chen L, Yang X, Jiao H, Zhao B. Effect of tea catechins on the change of glutathione levels caused by Pb(++) in PC12 cells. *Chem Res Toxicol.* 2004; 17(7):922-8.
- [141]- Sugiyama T, Sadzuka Y, Theanine, a specific glutamate derivative in green tea, reduces the adverse reactions of doxorubicin by changing the glutathione level. *Cancer Letters* 212 (2004) 177–184
- [142]- Halliwell B, Gutteridge J, 2007. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Fourth Edition, Oxford University Press, UK
- [143]- Saeed NM, El-Naga R N, El-Bakly W M, . Abdel-Rahman H M, El-Demerdash E. Epigallocatechin-3-gallate pretreatment attenuates doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats: A mechanistic study. *Biochemical Pharmacology*. Available online 19 February 2015
- [144]- Khan G, haque S E, Anwer T, Ahsan MN, Safhi M M and Alam M F. Cardioprotective effect of green tea extract on doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats. *Acta Poloniae Pharmaceutica & Drug Research*. 2014, 71 (5) : 861-868.

Saadallah Nesrine & Kabebi Sara

Date de soutenance : 15/06/2015

Thème : Les polyphénols de l'extrait éthanolique de Thé vert (*Camellia sinensis*): Evaluation de leur pouvoir antioxydant et protecteur vis-à-vis la toxicité cardiaque de la doxorubicine.

Nature du diplôme : Master.

Domaine : science de la nature et de la vie.

Mention : Toxicologie et Santé.

Résumé :

La présente étude avait pour objectifs d'évaluer le stress oxydatif induits par la doxorubicine dans le cœur et étudier l'effet antioxydant et cardioprotecteur de l'extrait éthanolique du thé vert.

La toxicité cardiaque aigüe de la DOX a été évaluée chez les rats par injection intraperitoneal a raison de 10 mg/kg en présence ou absence de l'extrait éthanolique de thé vert ou de la vitamine E. les rats traités pendant 10 jours avec de l'extrait (voie orale) et la la vitamine E.

D'après les résultats biochimiques; il apparaît que l'extrait de thé vert protègent le cœur contre la toxicité aigüe de la doxorubicine en activant les enzymes antioxydants : GPx et catalase, en augmentant le niveau de GSH et en inhibant la peroxydation lipidique ce qui empeche la libération des transaminases cardiaque (TGO) dans le sang.

Mots clés : Le thé vert, la doxorubicine, la carditoxicité, les rats

Jury d'évaluation :

Président du jury : Menad Ahmed (Pr- UFM Constantine).

Rapporteur : Amrani Amel (MC- UFM Constantine).

Examineurs I : Benchaabane Samia (MA- UFM Constantine).

Examineurs II : Bouldjadje Radouane (MA- UFM Constantine).