



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*

Intitulé :

---

*L'activité biologique des polyphénols vis-à-vis  
de la toxicité testiculaire induite par la  
doxorubicine*

---

Présenté et soutenu par :

Le : 17/09/2020

Beddoua Afaf

Ferra Kenza

Boukredera Maroua

Jury d'évaluation :

**Rapporteur :** Mme N. BOUBEKRI

MCB. Université Mentouri-Constantine

**Examineurs 1:** Mr K. LALAOU

Prof. Université Mentouri-Constantine

**Examineurs 2 :** Mme S. IHOUEL

MCB. Université Mentouri-Constantine

*Année universitaire  
2019- 2020*

# ***Remerciements***

*Nous remercions tout d'abord **DIEU**, le tout puissant de nous avoir donné la santé, la patience et la volonté pour achever ce modeste travail.*

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

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

*Nous remercions l'ensemble des membres du jury pour avoir accepté de juger ce travail, notamment : **Pr LALAOUI K. (Examineur), Mme IHOUEL SAFIA (Examinatrice).***

*Sans oublier tous nos enseignants du département des Sciences de la Nature et de la Vie.*

*Nous remercions nos parents pour leur grand soutien et leur mise en place des conditions appropriées pour que ce travail se termine.*

*A toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement, à la réalisation de ce travail.*

# ***Dédicaces***

*J'ai avec plaisir dédié ce modeste travail à :*

*Mes chers parents mon père **Beddouda Ahmed** et ma mère **Beddouda Dalila**, en témoignage de ma reconnaissance pour leur patience, leur sacrifice et leur soutien indéfectible tout au long de mes études. Que dieu leur prête santé.*

*Mes chers frères « **Samir, Mohammed tayab, Fouad** ».*

*Pour leur affection, compréhension et patience tous simplement je voudrais leur dire je l'aime de tout mon cœur.*

*Toute la famille **Beddouda** et mes proches.*

*Et spécialement mes chers amies « **Chaima, Lamia, Rayhana, Kenza, Maroua, Rawane, Djaouahir, Aya, Mounia, Imane, Amira, Massouda, Djohaina, Soumia Houda, Hanane, Asma, Basma, Ahlam, Mariem, Nabila, Hiba, Hana, Wissame, Safa, Kaoutar, Yamina, Amina, Zhour, Samah, Khaoula, Naila, Rahma, Ikram, Aida, Assia, Hayat, Saadia, Ibtihel** ».*

*A tous mes amies et collègues de promotion de Biologie 2019-2020.*

*Et à toute personne qui me connais.*

**Afaf**

# ***Dédicaces***

*Je tiens à rendre grâce à Allah qui m'a guidé sur le bon chemin.*

*De mes profondes sensations de sincérité je dédie ce travail :*

*A mes chers parents « **hamza** » et « **Samia** ».*

*Merci de m'avoir toujours encouragé et cru en moi.*

*Merci de m'avoir toujours soutenu dans mes études, dans ma vie.*

*Merci pour tout ce que vous m'avez appris et apporté.*

*A mes sœurs « **Rihab** » et « **Rawane** ».*

*A mes frères « **Abdallah** » et « **Abdellmouheimene** ».*

*En fin, ce travail est le fruit d'une diligence, c'est la fin d'un long*

*Parcours, mais aussi le début d'un nouveau départ.*

***Maroua***

# ***Dédicaces***

*Je dédie ce travail :*

*A mon père bachagha : cher père tout les expressions de remerciements sont insuffisants pour vos efforts et vos sacrifiés et vos conseils durant tout mes études depuis le primer jusqu'a aujourd'hui et tout une réussite que Jai eu dans ma vie c'est grâce a toi, je souhait que un jour je pourrai te rendre ou moine un peu de ce que vous avez fait pour moi merci infiniment.*

*A ma mère karima : cher mère merci de m'avoir appris que l'amour est la plus grande force existe au monde. Merci pour ton soutien que tu ma porté depuis mon enfance et j'espère que ton bénédiction m accompagne toujours et que le Dieu te protège pour moi avec une longue vie.*

*A mes adorables sœurs « Imane, Sofia, Houda, Chames el Assil, et ma petite nièce Hanine ».*

*A mon cher frère « Mohammed ».*

*A mes cousins « Assia, Adila, Salima, Abir, Bouthina, Rania, Aya, Amani, Asma ,Malak, Chaima, Amira, Romaisa, Inesse ».*

*A mes amies « Wissam, Nesrine, Chaima, Siham, Afaf, Maroua ».*

*A tout mes amis et tous mes collègues.*

*A tout ma famille Ferra et mes proches.*

*A tous ceux qui me connaissent.*

***Kenza***

## *Sommaire*

### Liste des abréviations

### Liste des figures

### Liste des tableaux

Introduction.....1

### Chapitre I : Les testicules

1. Tractus génital mâle.....3

1.1. Les testicules.....3

1.2. Histologie et fonctions des testicules.....4

1.2.1. Les tubes séminifères.....4

1.2.1.1. Les cellules de Sertoli .....5

1.2.1.2. La spermatogénèse .....7

1.2.2. L'espace interstitiel et sa fonction.....9

1.3. Régulation de la spermatogénèse .....11

1.3.1. Régulation hormonale .....11

1.3.2. La régulation paracrine.....14

### Chapitre II : Doxorubicine et stress oxydatif

1. Historique.....16

2. Structure et propriétés physico-chimique des anthracyclines .....16

2.1. Doxorubicine.....17

2.1.1. Structure et propriétés-chimique.....17

2.1.2. Pharmacocinétique de la doxorubicine.....18

2.1.3. Mécanisme d'action.....20

2.1.3.1. L'interaction avec les bases azotées de l'ADN.....20

2.1.3.2. Inhibition de l'enzyme topo-isomérase II.....20

2.1.3.3. Inhibition de l'enzyme hélicase .....20

2.1.3.4. Toxicité directe sur les membranes cellulaires.....20

2.1.3.5. Production des radicaux libres.....21

2.1.3.6. Apoptose.....21

2.2. Le Stress oxydatif.....23

2.2.1. Les systèmes antioxydants.....24

2.2.1.1. Les systèmes antioxydants enzymatiques .....24

2.2.1.2. Les systèmes antioxydants non-enzymatique.....25

|  |           |
|--|-----------|
| 3. Doxorubicine et stress oxydatif.....  | 27        |
| 3.1. Voie enzymatique.....   | 27        |
| 3.2. Voie non enzymatique.....   | 28        |
| 4. L'infertilité masculine et Doxorubicine.....  | 30        |
| 4.1. Les causes d'infertilité masculine.....   | 30        |
| 4.1.1. Les infertilités obstructives.....  | 30        |
| 4.1.2. Les obstructions post infectieuses.....   | 31        |
| 4.1.3. Les causes endocriniennes.....  | 31        |
| 4.1.4. Les causes testiculaires.....   | 31        |
| 4.1.4.1. Malformations anatomiques.....  | 31        |
| 4.1.4.2. L'auto-immunisation anti-spermatozoïdes.....  | 32        |
| 4.1.4.3. Les causes chromosomiques.....  | 32        |
| 4.1.5. La chimiothérapie.....  | 32        |
| 4.1.5.1. Les différentes classes de chimiothérapie.....  | 33        |
| 4.1.5.2. Les effets des agents cytotoxiques de chimiothérapie sur la fertilité masculine.....                          | 34        |
| <b>Chapitre III : Les polyphénols.....</b>   | <b>39</b> |
| 1. Les polyphénols.....  | 39        |
| 1.1. Introduction.....   | 39        |
| 1.2. Définition.....   | 39        |
| 1.3. Biosynthèse des composés phénoliques.....   | 40        |
| 1.4. Classification des polyphénols.....   | 41        |
| 1.4.1. Acides phénoliques.....   | 41        |
| 1.4.2. Alcools phénoliques.....  | 41        |
| 1.4.3. Les tanins.....   | 41        |
| 1.4.4. Les flavonoïdes.....  | 41        |
| 1.4.4.1. Classification des flavonoïdes.....   | 42        |
| 1.4.4.2. Pharmacocinétique des flavonoïdes.....  | 44        |
| 1.4.4.3. Les activités biologiques des polyphénols.....  | 45        |
| 1.5. Le rôle protecteur des composés phénoliques contre la toxicité induite par la doxorubicine dans le testicule..... | 49        |
| <b>Conclusion.....</b>   | <b>51</b> |
| <b>Références bibliographiques.....</b>  | <b>52</b> |
| <b>Résumé en français.....</b>   | <b>67</b> |
| <b>Résumé en anglais.....</b>  | <b>68</b> |

**Résumé en arabe.....69**

*Liste des abréviations*

|                                   |   |
|-----------------------------------|---|
| <b>8-OHDG :</b>                   | 8-Oxo-2'-deoxyguanosine                               |
| <b>Aal :</b>                      | Alignment of spermatogonia                            |
| <b>ABP :</b>                      | Androgen binding protein                              |
| <b>ADN :</b>                      | Deoxyribonucleic acide                                |
| <b>AMH :</b>                      | Anti-müllerian hormone                                |
| <b>AMPc :</b>                     | Adenosine monophosphate cyclic                        |
| <b>Apaf-1 :</b>                   | Apoptosis activating factor-1                         |
| <b>Apr :</b>                      | Paired spermatogonia                                  |
| <b>ARN :</b>                      | Ribonucleic acide                                     |
| <b>As :</b>                       | Spermatogonia   |
| <b>ATP :</b>                      | Adenosine-5'-triphosphate                             |
| <b>Bax :</b>                      | Proapoptotic mediator                                 |
| <b>Bcl-XL :</b>                   | B-cell lymphoma-extra large                           |
| <b>CAT :</b>                      | Catalase  |
| <b>CFTR :</b>                     | Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator   |
| <b>CoA :</b>                      | Coenzyme A  |
| <b>Cu Zn-SOD :</b>                | Superoxide dismutase, form coupled to copper and zinc |
| <b>Cu(II) :</b>                   | Copper (II) ion                                       |
| <b>DHT :</b>                      | Dihydrotestosterone                                   |
| <b>DNR :</b>                      | Daunorubicine   |
| <b>DOXO :</b>                     | Doxorubicine  |
| <b>EGF :</b>                      | Epidermal growth factor                               |
| <b>ERN :</b>                      | Reactive nitrogen species                             |
| <b>ERO :</b>                      | Reactive oxygen species                               |
| <b>Fe<sup>2+</sup> :</b>          | Ferrous ion   |
| <b>Fe<sup>3+</sup> :</b>          | Ferric ion  |
| <b>FGF :</b>                      | Fibroblast growth factor                              |
| <b>FSH RKO :</b>                  | Follicle-stimulating hormone receptor knock-out       |
| <b>FSH <math>\beta</math>KO :</b> | Follicle-stimulating hormone beta knock-out           |
| <b>FSH :</b>                      | Follicule stimulating hormone                         |
| <b>GnRH :</b>                     | Gonadotrophin releasing hormone                       |
| <b>GPx :</b>                      | Glutathione peroxidase                                |

|                                     |   |
|-------------------------------------|---|
| <b>GR :</b>                         | Glutathione reductase                           |
| <b>GSH :</b>                        | Glutathione                                     |
| <b>GSI :</b>                        | Gonadosomatic index                             |
| <b>GSSG :</b>                       | Glutathione disulfide                           |
| <b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> :</b> | Hydrogen peroxide                               |
| <b>IGF-1 :</b>                      | Insulin growth factor-1                         |
| <b>IL-1 :</b>                       | Interleukin-1                                   |
| <b>IL-6 :</b>                       | Interleukin-6                                   |
| <b>iNOS :</b>                       | Inducible nitric oxide synthase                 |
| <b>LDL :</b>                        | Low density lipoprotein                         |
| <b>LH :</b>                         | Luteinizing hormone                             |
| <b>MDR :</b>                        | Multi drug resistance                           |
| <b>Mg(II) :</b>                     | Magnesium (II) ion                              |
| <b>Mn-SOD :</b>                     | Superoxide dismutase, form coupled to manganese |
| <b>NADH :</b>                       | Nicotinamide adenine dinucleotide               |
| <b>NADPH :</b>                      | Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate     |
| <b>NF-κB :</b>                      | Nuclear factor-kappa B                          |
| <b>NRF2 :</b>                       | Nuclear factor 2                                |
| <b>O<sub>2</sub> :</b>              | Dioxygen  |
| <b>O<sub>2</sub><sup>•-</sup> :</b> | Superoxide ion                                  |
| <b>OH :</b>                         | Hydroxyl group                                  |
| <b>OH<sup>•</sup> :</b>             | Hydroxyl radical                                |
| <b>P450 :</b>                       | Peak 450  |
| <b>p53 :</b>                        | Protein 53                                      |
| <b>PBS :</b>                        | Phosphate buffered saline                       |
| <b>PEP :</b>                        | Phosphoenolpyruvate                             |
| <b>ROOH :</b>                       | Hydroperoxides                                  |
| <b>ROS :</b>                        | Reactive oxygen species                         |
| <b>SCF :</b>                        | Stem cell factor                                |
| <b>SOD :</b>                        | Superoxide dismutase                            |
| <b>TEX11 :</b>                      | Testis expressed 11                             |
| <b>TGF-α :</b>                      | Transforming growth factor-α                    |
| <b>TGF-β :</b>                      | Transforming growth factor-β                    |
| <b>TNFα :</b>                       | Tumor necrosis factor-α                         |

**Liste des figures**

**Figure 1** : Structure de l'appareil reproducteur masculin chez l'homme.....3

**Figure 2** : Représentation schématique de la structure interne du testicule.....4

**Figure 3** : Schéma d'une cellule de Sertoli : étroite interaction avec les cellules germinales.....5

**Figure 4** : Schéma de spermiogenèse.....8

**Figure 5** : Biosynthèse des stéroïdes sexuels chez l'homme.....10

**Figure 6** : Contrôle hormonale de spermatogenèse.....12

**Figure 7** : Régulation endocrine de l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique.....13

**Figure 8** : Structure chimique des anthracyclines.....16

**Figure 9** : Structure chimique de la doxorubicine.....17

**Figure 10** : Voie métabolique de la doxorubicine.....19

**Figure 11** : Les diverses actions moléculaires de la doxorubicine.....22

**Figure 12** : Principaux systèmes enzymatiques antioxydants impliqués dans le contrôle des ROS.....25

**Figure 13** : Le système d'antioxydant du glutathion.....26

**Figure 14** : Formation des ERO par réduction à un électron de la doxorubicine.....28

**Figure 15** : Formation des ERO par voie non enzymatique.....29

**Figure 16** : Structure du noyau phénol.....40

**Figure 17** : Squelette de base des flavonoïdes.....42

**Figure 18** : Structures chimiques de flavonols.....42

**Figure 19** : Structure chimique des flavanones.....43

**Figure 20** : Structures chimiques de certains flavan-3-ols.....43

**Figure 21** : Structure chimique de quelques anthocyanidines courantes.....44

**Liste des Tableau**

**Tableau 1** : Principales espèces réactives de l'oxygène et de l'azote.....23

**Tableau 2** : Principales classes de chimiothérapie et effets de chaque agent sur la spermatogenèse chez l'homme D'après.....35

# Introduction

## Introduction

Dans le règne animal et spécialement chez les mammifères, la présence d'un appareil génital est liée à la reproduction sexuée. Le testicule est un organe du système reproducteur masculin ayant deux fonctions principales, soit la production des gamètes mâles et la production de l'hormone masculinisante testostérone (Mawhinney and Mariotti, 2013).

La doxorubicine (DOXO), est l'un des antibiotiques antitumoraux, les plus efficaces appartenant à la classe des anthracyclines, est la base de nombreux protocoles chimiothérapies avec un large spectre d'activité antitumorale leucémie, lymphome malin, cancer du sein, et diverses tumeurs solides (Sahna *et al.*, 2003 ; Machado *et al.*, 2010). Le rôle principal de la doxorubicine est : L'interaction avec les bases azotées de l'ADN, et capable également générer des radicaux libres ou inhiber la topoisomérase II, au niveau de l'ADN mènent à l'activation du P53, l'arrêt du cycle cellulaire puis à l'apoptose (Hanna *et al.*, 2011 ; Alkuraishy *et al.*, 2017).

La doxorubicine a long temps été largement utilisée pour sa puissante efficacité dans le traitement contre le cancer (Thorn *et al.*, 2011). Cependant, son utilisation clinique s'est accompagnée d'effets indésirables sur le système reproducteur masculin (Sridevi *et al.*, 2012). L'accumulation du DOXO dans les testicules induite des effets indésirables sur la fertilité masculine en interférant avec le processus de spermatogenèse, en provoquant une altération de la structure et de la fonction des cellules germinales (Yang *et al.*, 2017). Et aussi, la toxicité induite par la doxorubicine a été attribuée aux formation des ROS dans les tissus testiculaires, ce qui conduit finalement à l'infertilité masculine en imposant un stress oxydatif et une apoptose cellulaire (Yeh *et al.*, 2007). De plus, après une exposition à la chimiothérapie, la fonction cellulaire de Leydig peut être altérée chez les survivants de cancer à long terme associés à une augmentation du taux sanguin de LH et à une concentration de testostérone faible ou normale (Gerl *et al.*, 2001).

Le stress oxydatif testiculaire induit par la doxorubicine peut être dû à un système de défense antioxydant faible dans le tissu testiculaire et le sperme (Yeh *et al.*, 2007). Alors, les scientifiques ne cessaient de rechercher et penchent vers les plantes médicinales riches en multiples substances phytothérapeutiques tel que les flavonoïdes qui peuvent être permettant de faire face à la toxicité de la DOXO et le stress oxydant. Les flavonoïdes sont des substances naturelles qui acquièrent diverses propriétés pharmacologiques et des applications thérapeutiques, ils sont endossée aux structures phénoliques qui ont l'efficacité antioxydante et de limiter les processus médités par les radicaux libres. Les flavonoïdes sont composés de plusieurs classes, y compris flavonols, flavones, flavanols et flavans (Brown *et al.*, 2007).

Notre étude vise à connaître les effets protecteurs des polyphénols et flavonoïdes en réduisant la toxicité de la doxorubicine au niveau des testicules. Pour cela notre mémoire est divisé en trois chapitres :

- Chapitre I : Les testicules
- Chapitre II : Doxorubicine et stress oxydatif
- Chapitre III : Les polyphénols

# Chapitre I :

# Les testicules

## 1-Tractus génital mâle

L'appareil reproducteur mâle (figure 1) est constitué: de deux testicules (ou gonades mâles), des voies excrétrices (canaux efférents, épидидymes, canaux déférents) permettant la sécrétion des spermatozoïdes vers l'extérieur, des glandes annexes (vésicules séminales, prostate et glandes de Cowper) sécrétrices du liquide qui permet de constituer avec les spermatozoïdes le sperme et du tractus uro-génital formé par l'urètre (prostatique, périnéal et pénien) qui s'ouvre à l'extérieur par le méat urinaire (Manuel, 2010).

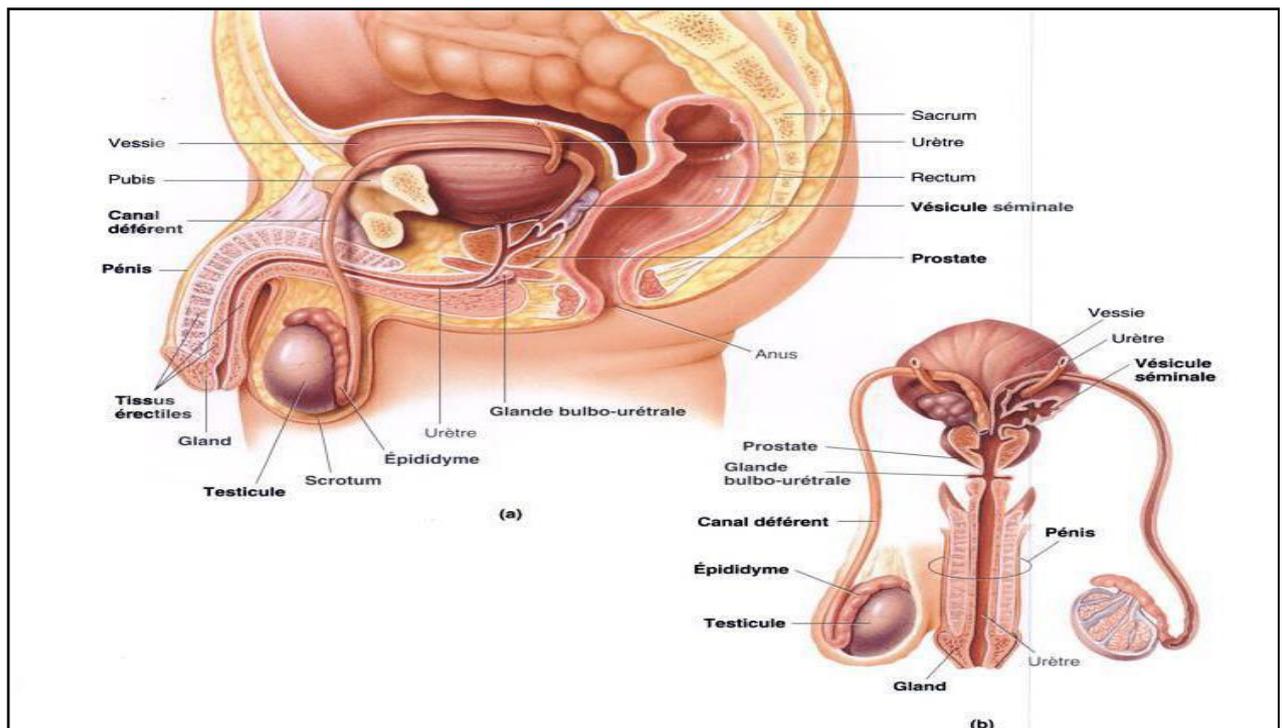


Figure 1 : Structure de l'appareil reproducteur masculin chez l'homme (Manuel, 2010).

### 1-1-Les testicules

Le testicule représente la glande génitale male, est un organe pair chez les mammifères qui se développe dans la paroi dorsale de la cavité péritonéale, migrent vers le canal inguinal pour se loger dans le scrotum entre 5 et 6 mois de la vie intra utérine (Bourenane, 2015).

Les testicules sont situés en annexe de la verge, à l'extérieur de la cavité pelvienne dans une poche entourée d'une peau plissée appelée "scrotum". Ils sont directement entourés d'un tissu conjonctif solide et protecteur appelé "albuginée". Le fait que les testicules soient à l'extérieur du corps diminue leur température d'environ 2°C par rapport à la température corporelle. Les testicules mesurent en moyenne 3x2x5 centimètres, pour un poids d'environ 20 grammes. Les testicules sont divisés en plusieurs lobules testiculaires qui contiennent les tubes

séminifères, lieu de la spermatogénèse. Entre les tubes séminifères se situe le tissu interstitiel réalisant la fonction endocrine (Lakhdari, 2013) (figure 2).

Deux fonctions distinctes :

-Exocrine : formation des spermatozoïdes assurée par les tubes séminifères.

-Endocrine : synthèse d'hormones androgénèse par la tissu interstitiel (Bourenane, 2015).

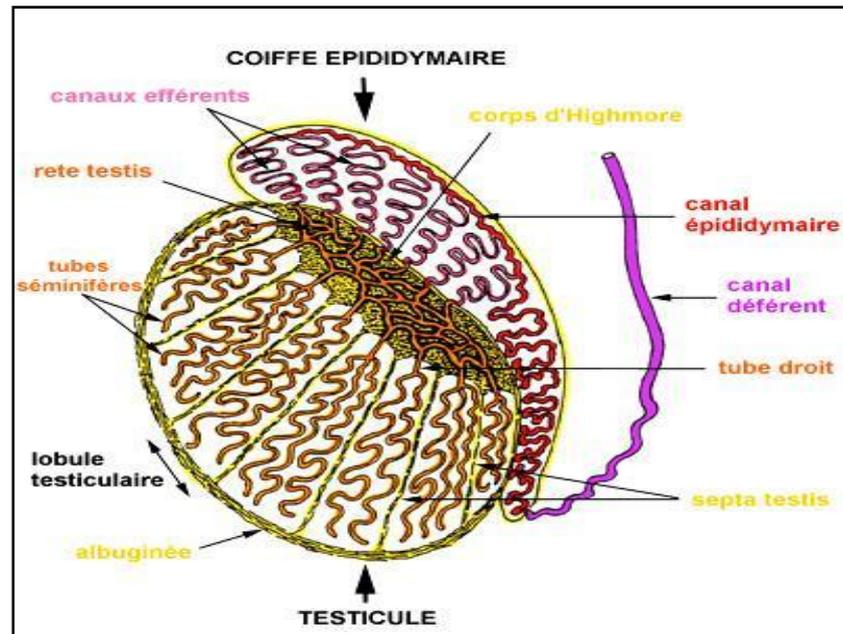


Figure 2 : Représentation schématique de la structure interne du testicule (Blanc and Porcu, 2002).

## 1-2-Histologie et fonctions des testicules

### 1-2-1-Les tubes séminifères

Les tubes séminifères sont le lieu de la production des gamètes mâles, spermatogénèse. La paroi de chaque tube est constituée par l'épithélium séminifère, où sont associées les cellules somatiques de Sertoli et les cellules de la lignée germinale, reposant sur une enveloppe pérítubulaire ou lamina propria (Kohler, 2011).

L'enveloppe pérítubulaire est composée d'une lame basale et de trois ou quatre couches concentriques de cellules pérítubulaires séparées par du matériel fibrillaire et collagène. Les cellules pérítubulaires, contractiles, permettent la progression du contenu luminal vers les voies excrétrices. Les altérations de cette enveloppe sont un signe d'accompagnement constant des atteintes de la spermatogénèse (Lakhdari, 2013).



**-Rôle de structure :** les cellules de Sertoli enveloppent les cellules germinales en développement et constituent un support physique, type "échafaudage", permettant le maintien des cellules germinales dans le compartiment adluminal. Elles participent également à la constitution de la matrice extracellulaire en entraînant la formation de jonctions cellulaires spécialisées, et maintiennent l'architecture de l'épithélium séminifère (Wong and Cheng, 2005).

**-Rôle dans la progression des cellules germinales :** Elles exercent des fonctions mécaniques, par leur cytosquelette associé à des protéines contractiles, elles permettent aux cellules germinales de migrer au fur et à mesure de leur maturation, en direction de la lumière du tube séminifère (Mruk and Cheng, 2004 ; Kohler, 2011).

**-Rôles sécrétoires :** Les cellules de Sertoli possèdent une activité de sécrétion essentielle au bon déroulement de la spermatogenèse, qui leur permet de communiquer directement et simultanément avec les autres cellules, leur conférant un rôle prépondérant dans le contrôle de l'activité de l'épithélium séminifère. Les cellules de Sertoli sécrètent notamment le fluide testiculaire, des nutriments, des protéines ainsi que différents facteurs de croissance (Mruk and Cheng, 2004).

Les cellules de Sertoli ont une activité de sécrétion importante notamment pour le soutien et la maturation des cellules germinales. Parmi les protéines qui sont sécrétées on retrouve des protéases (ex: cathepsines D, L et S), des anti-protéases (ex: cystatin C), des hormones, des substrats énergétiques, des facteurs de croissance (ex: TGF- $\alpha$ , FGF), des facteurs autocrines et paracrines (ex: SCF, inhibin B, IL-1) et des composants de la matrice extracellulaire (ex: collagène, laminine). L'une des premières protéines à avoir été identifiée est l'Androgen Binding Protein (ABP) permettant le transport de la testostérone depuis la partie basale vers les cellules germinales chez les rongeurs. Parmi les protéines synthétisées par les cellules de Sertoli, nécessaires au contrôle de la prolifération, la différenciation et au métabolisme des cellules germinales (Lakhdari, 2013):

**-L'inhibine et l'activine** sont des glycoprotéines hétérodimères. L'inhibine est constituée de deux sousunités  $\alpha$  et  $\beta$  reliées par deux ponts disulfures. L'activine est un homodimère de 2 sous-unités  $\beta$ , l'inhibine et l'activine sont principalement produites par les cellules de Sertoli. La sécrétion d'inhibine par la cellule de Sertoli est directement influencée par la FSH qui stimule la production de la sous-unité  $\alpha$  sans modifier celle de la sous-unité  $\beta$ . À côté de leur action hormonale sur la sécrétion des gonadotrophines hypophysaires, l'inhibine et l'activine sont des facteurs paracrines, intervenant au cours du développement embryonnaire du testicule et dans la régulation des fonctions testiculaires. Elles sont respectivement responsables de l'activation et l'inhibition de la stéroïdogénèse (de Kretser *et al.*, 2004).

### ***1-2-1-2-La spermatogénèse***

La spermatogénèse consiste en une série d'évènements qui se déroulent dans les tubes séminifères et mènent à partir de cellules germinales diploïdes, les spermatogonies souches, à la production des gamètes mâles haploïdes, les spermatozoïdes. Sur le plan fonctionnel, la spermatogénèse peut être scindée en trois phases : la phase proliférative, la phase méiotique et la spermiogénèse (Hermo *et al.*, 2010). La spermatogénèse se fait de façon centripète dans le tube séminifère sous le contrôle de deux hormones gonadotrophines : LH (*Luteinizing Hormone*) et FSH (*Follicle Stimulating Hormone*). La durée de la spermatogénèse est constante pour une espèce donnée et chaque étape à une durée constante. Cette durée est indépendante de toute action hormonale. Chez l'Homme, il faut 74 jours pour aboutir à un spermatozoïde mature à partir d'une spermatogonie, chez la souris 35 jours sont nécessaires (Luangpraseuth-Prosper, 2015).

#### ***-La phase proliférative***

C'est la première phase de la spermatogénèse reposant sur la mitose des cellules germinales souches : les spermatogonies. La division mitotique des spermatogonies de type A à lieu de manière continue et permet le maintien et le renouvellement de l'épithélium séminifère. Au départ, une spermatogonie indifférenciée et isolée de type  $A_s$  (single) appartenant au stock de cellules germinales souches se divise de manière asymétrique en 2 cellules filles: une spermatogonie de type  $A_s$  qui permet le maintien du pool de spermatogonies souches et une spermatogonie de type appariée  $A_{pr}$  (paired). Ces dernières subissent plusieurs cycles de divisions mitotiques successifs en passant par différents stades de spermatogonies A ( $A_{pr} \rightarrow A_{a1} \rightarrow A_1 \rightarrow A_2 \rightarrow A_3 \rightarrow A_4$ ) et aboutit aux spermatogonies  $I_n$ , intermédiaires, qui se divisent en spermatogonies de type B. Une mitose finale des spermatogonies de type B permet de donner naissance aux spermatocytes primaires (spermatocytes I) dits préleptotènes (Hermo *et al.*, 2010).

#### ***-La phase méiotique***

La méiose est ainsi constituée d'une succession de deux divisions cellulaires consécutives. La première division méiotique (méiose I) ou division réductionnelle comporte une prophase I longue (se subdivisant en 5 stades : leptotène, zygotène, pachytène, diplotène et diacinèse), la métaphase I, l'anaphase I et la télophase I. Au cours de la prophase I a lieu le brassage génétique (par crossing-over) qui assure la diversité génétique des gamètes. De cette manière, les spermatocytes I (2n chromosomes, 2 chromatides) donnent des spermatocytes II (n

chromosomes, 2 chromatides). Ces spermatocytes II subissent la seconde division méiotique (méiose II) ou division équationnelle où les chromatides sœurs se répartissent entre les deux cellules filles pour donner les spermatides rondes (n chromosomes, 1 chromatide) (Luangpraseuth-Prosper, 2015).

**-La spermiogenèse**

Au cours de cette phase les spermatides rondes immatures se différencient en spermatozoïdes (figure 4). Lors de leur différenciation en spermatozoïde, les spermatides subissent plusieurs modifications et changements morphologiques. Tout d'abord, leur noyau se condense et se place en position sous-membranaire. On assiste également au remplacement des histones par des protéines nucléaires plus basiques, les protamines. L'acrosome se forme par le rassemblement des vésicules de l'appareil de Golgi, il contiendra notamment les enzymes protéolytiques nécessaires lors de la fécondation. Au niveau de la partie proximale, les mitochondries s'assemblent en spirale au niveau de la pièce intermédiaire. Le flagelle se développe à partir du centriole distal. Des microtubules se développent en arrière de l'acrosome et les corps résiduels (fragments de cytoplasme non utilisés) seront éliminés par la cellule puis phagocytés par les cellules sertoliennes. Au cours de la spermiogenèse, la tête des spermatides fait face au compartiment basal des tubes séminifères et la dernière étape consiste en la translocation des spermatozoïdes de la partie adluminale du tube séminifère vers la lumière du tube. Cette phase de libération des spermatozoïdes matures, où ils se détachent de la cellule de Sertoli dans la lumière du tube séminifère, est appelée spermiation (Jan *et al.*, 2012 ; Luangpraseuth-Prosper, 2015).

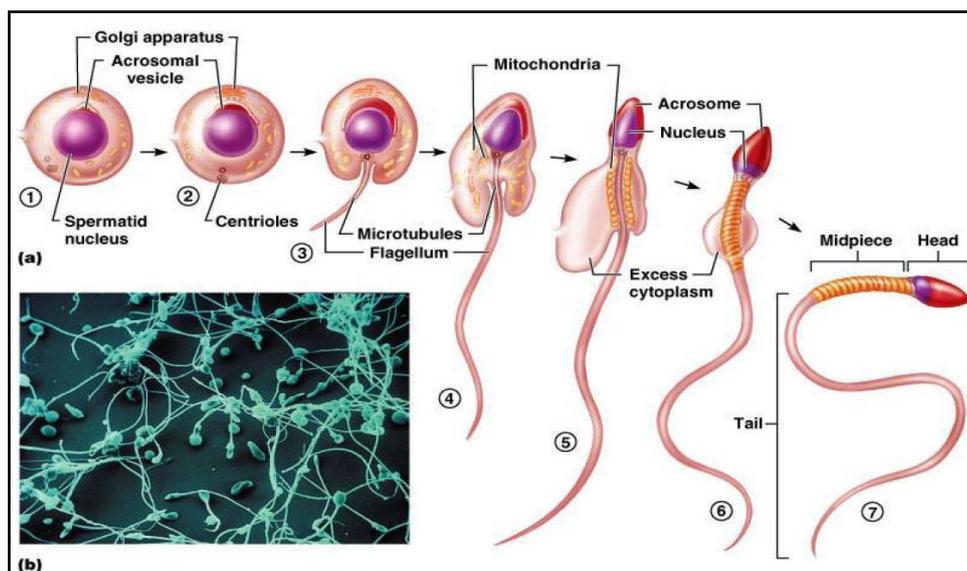


Figure 4 : Schéma de spermiogenèse (Kohler, 2011)

### ***1-2-2-L'espace interstitiel et sa fonction***

Ce compartiment est constitué par les cellules de Leydig situées dans le tissu conjonctif lâche entre les espaces intertubulaires. Sur le plan histologique, les cellules de Leydig apparaissent comme des cellules polyédriques de 10 à 15 µm de diamètre groupées autour des capillaires sanguins et entourées par une lame basale discontinue. La présence dans le cytoplasme d'un abondant réticulum endoplasmique lisse, de nombreuses mitochondries à crêtes lamellaires ou tubulaires, d'un appareil de Golgi développé et d'inclusions lipidiques sont caractéristiques d'une activité de stéroïdogénèse. Elles renferment également des enclaves pigmentaires et des inclusions protéiques spécifiques (cristalloïdes de Reinke). Les fonctions endocrines consistent de la production des hormones stéroïdes (95 % de la testostérone plasmatique) est assurée par les cellules de Leydig (Ludwig, 2011).

### ***-La fonction endocrine des cellules de Leydig***

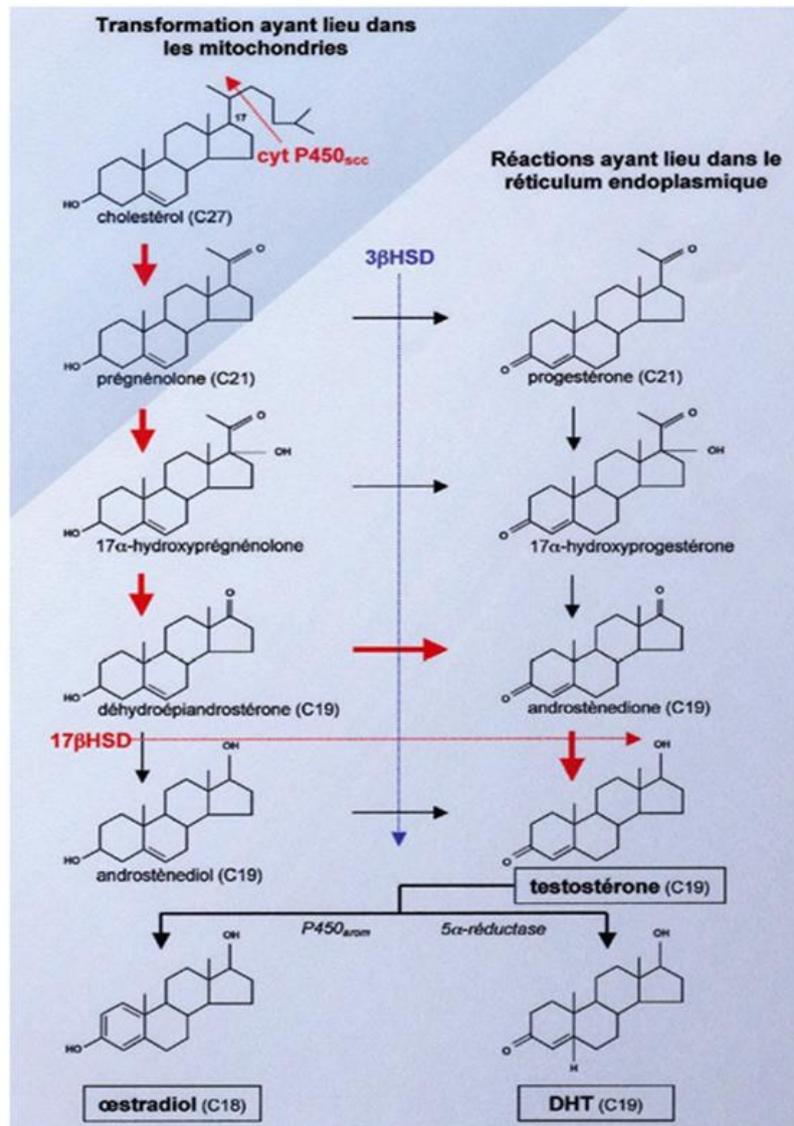
La cellule de Leydig a été décrite pour la première fois en 1850 par Franz Leydig. C'est seulement en 1903 que Bouin et Ancel apportent les premiers éléments montrant que la cellule de Leydig est une cellule glandulaire endocrine, contrôlant le développement des caractères sexuels secondaires mâles.

La cellule de Leydig est une cellule polygonale au noyau ovoïde proéminent. Elle possède une ultrastructure caractéristique des cellules synthétisant des stéroïdes : cytoplasme riche en citernes de réticulum endoplasmique lisse, mitochondries de taille variable et peu nombreuses garnies de crêtes généralement lamellaires, et enclaves lipidiques abondantes dans le cytoplasme des cellules matures. Les cellules de Leydig sont soit isolées, soit groupées en amas autour des capillaires sanguins, et entourées par une lame basale discontinue. La proximité de ces cellules avec les tubes séminifères facilite la sécrétion de fortes concentrations de testostérone, qui sont nécessaires à l'initiation et au maintien de la spermatogénèse (Haider, 2004 ; Ludwig, 2011).

Dans la cellule de Leydig, la stéroïdogénèse est initiée par la LH. En se liant à son récepteur couplé à la protéine G situé sur la membrane plasmique, la LH stimule l'adénylate cyclase qui catalyse la transformation d'ATP en AMPc. L'AMPc ainsi généré, active alors une protéine kinase A qui phosphoryle une cholestérol estérase neutre cytosolique. Son activation hydrolyse finalement les esters de cholestérol stockés dans les gouttelettes lipidiques cytoplasmiques (Ludwig, 2011).

Les cellules de Leydig synthétisent la testostérone et des substances intermédiaires de testostérone. Ces hormones sont issues d'un précurseur commun, le cholestérol. Différentes

enzymes permettent la transformation du cholestérol en trois principaux stéroïdes testiculaires: la testostérone, la dihydrotestostérone et le 17- $\beta$ -œstradiol (Amann, 2011) (figure 5).



Les flèches rouges pleines indiquent la voie préférentielle de la stéroïdogenèse dans les cellules de Leydig (Abréviations : *cyt P450<sub>scc</sub>* : enzyme de clivage de la chaîne latérale du cholestérol; *3 $\beta$ HSD* : 3 $\beta$ -hydroxystéroïde déshydrogénase/*Δ5-Δ4* isomérase). La flèche bleue discontinue indique les réactions catalysées par la *3 $\beta$ HSD* et sépare schématiquement la voie  $\Delta 5$  à gauche de la voie  $\Delta 4$  à droite (*17 $\beta$ HSD* : 17 $\beta$ -Hydroxystéroïde déshydrogénase). La flèche rouge discontinue indique les réactions catalysées par cette enzyme.

Figure 5 : Biosynthèse des stéroïdes sexuels chez l'homme (Lakhdari, 2013).

La testostérone est le principal androgène circulant. La sécrétion globale de la testostérone est de 5 à 7,5 mg / 24h chez l'homme adulte normal. Quand à la dihydrotestostérone, c'est l'androgène actif au niveau des tissus périphériques (prostate, épидидyme, vésicule séminale) grâce à la présence de l'enzyme 5- $\alpha$  réductase dans ces tissus. Elle résulte de la réduction de la testostérone par la 5- $\alpha$  réductase. La DHT produite au sein du testicule intervient dans la régulation de la spermatogenèse mais la quantité libérée dans la circulation est négligeable au regard de la production par les tissus périphériques. Le 17- $\beta$ -estradiol sécrété par le testicule mais ne représente que 20 % du 17- $\beta$ -estradiol circulant (le reste provenant de la conversion périphérique de la testostérone).

Les androgènes ont pour principales fonctions la différenciation sexuelle masculine, le développement des organes génitaux internes et externes (action conjointe de l'AMH), le développement et le maintien des caractères sexuels secondaires. La testostérone agit directement pour la différenciation des canaux de Wolff, le développement et le maintien des caractères sexuels secondaires. Mais la testostérone doit être métabolisée en DHT pour induire la virilisation du sinus urogénital et des organes génitaux externes, le développement de la prostate et du follicule pilosébacé à la puberté. La testostérone a, par ailleurs, une action anabolisante au niveau de tous les tissus, en particulier musculaire et osseux, et intervient dans le dimorphisme sexuel cérébral et la physiologie du comportement sexuel. En association avec la FSH, la testostérone est essentielle pour l'initiation et le maintien de la spermatogenèse. Elle agit sur les cellules de Sertoli, et sur les cellules péritubulaires, via des récepteurs spécifiques, stimulant indirectement la spermiogenèse par une voie paracrine (Lakhdari, 2013).

### ***1-3- Régulation de la spermatogenèse***

La spermatogenèse est un processus cyclique complexe comprenant des divisions mitotiques et méiotiques, ainsi qu'une différenciation terminale. Elle se déroule dans le tube séminifère, et elle est sous le contrôle très précis de gonadotrophines hypophysaires et de facteurs locaux.

#### ***1-3-1- Régulation hormonale***

Sous l'influence de l'hormone GnRH (Gonadotropin Releasing Hormone), l'hypophyse sécrète deux hormones appelées gonadotrophines : FSH et LH. Ces deux hormones sont indispensables à la spermatogenèse puisqu'en leur absence chez l'homme, lors de cas d'hypophysectomie, il y a un arrêt de la spermatogenèse.

Dans la gonade pubère, LH stimule les cellules de Leydig au niveau de ses récepteurs. Ces récepteurs sont de la famille des récepteurs à 7 domaines transmembranaires couplés à une protéine G intracellulaire. Le signal passe ensuite par la formation d'AMPc. En réponse à ce signal, les cellules de Leydig produisent et sécrètent la testostérone. Cette hormone est l'androgène principal chez la plupart des espèces de mammifères. Elle agit hors du testicule sur les organes sexuels et les caractères sexuels secondaires (Luangpraseuth-Prosper, 2015).

Avant la puberté, FSH stimule la prolifération des cellules de Sertoli. C'est un rôle fondamental pour la fertilité car c'est le nombre de cellules de Sertoli qui définit le nombre de spermatozoïdes pouvant être produit. En plus de ce rôle sur la prolifération, FSH joue également un rôle sur la maturation et la différenciation des cellules de Sertoli. De plus, FSH est la principale hormone impliquée dans l'initiation de la spermatogenèse à la puberté. L'invalidation du gène codant pour FSH (Souris FSH $\beta$ KO) ou pour son récepteur (FSHRKO) ne provoque pas de stérilité mais induit une diminution du nombre de cellules germinales ainsi que de la qualité du sperme. FSH augmente donc le nombre de spermatogonies, en augmentant la prolifération des cellules de Sertoli et ainsi leur capacité à nourrir les cellules germinales (figure 6 et 7) (Wreford *et al.*, 2001 ; Luangpraseuth-Prosper, 2015).

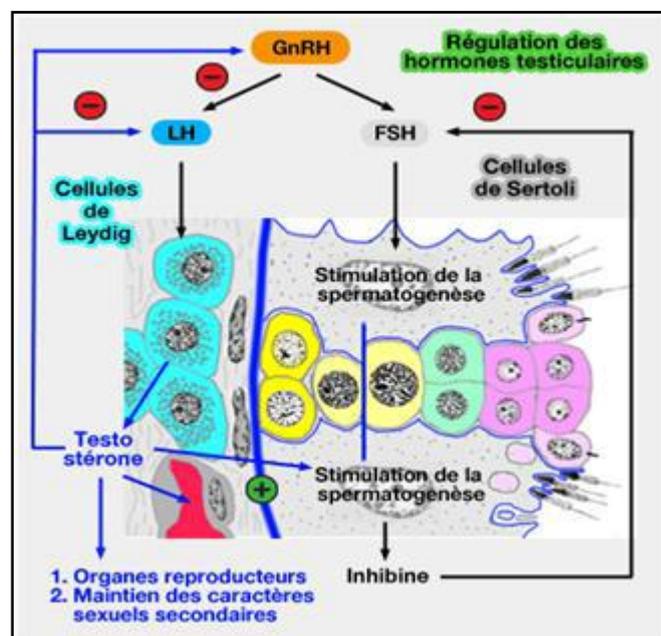


Figure 6 : Contrôle hormonale de spermatogenèse (Lakhdari, 2013).

D'autres hormones circulantes peuvent participer à la régulation de la spermatogénèse. La prolactine module la production de testostérone, mais le mécanisme de cette action n'est pas encore bien élucidé. Chez l'homme, l'hyperprolactinémie chronique se traduit par une inhibition de l'axe hypothalamo-hypophysaire et à une diminution de la sécrétion de testostérone. Chez l'adulte, la spermatogénèse est entièrement dépendante de la présence de LH / testostérone (qualité), et aussi de la FSH (quantité de spermatozoïdes). En effet, il existe une bonne corrélation entre le taux de FSH et le nombre de spermatogonies. Le contrôle exercé par l'axe hypothalamo-hypophyso-testiculaire est modulée par un rétrocontrôle assuré par les hormones testiculaires de nature stéroïdienne (testostérone) ou protéique (inhibine).

La régulation de la spermatogénèse dépend en premier lieu de l'axe hypothalamo-hypophysaire, toutefois, elle implique aussi un système de régulation locale qui module les effets du système endocrine. Cette régulation locale fait intervenir non seulement les contacts cellulaires (entre cellules de Leydig et cellules de Sertoli, entre cellules de Sertoli et cellules germinales, entre cellules germinales elles-mêmes) mais aussi des facteurs de régulation ayant une action de type paracrine ou autocrine (Semet *et al.*, 2017).

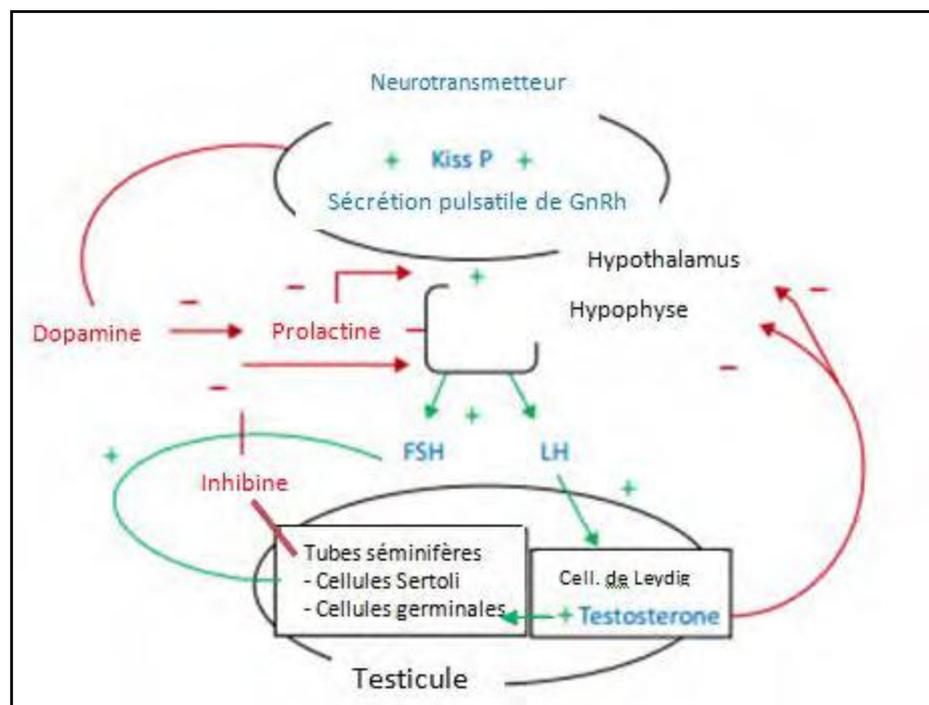


Figure 7 : Régulation endocrine de l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique (Semet *et al.*, 2017)

### ***1-3-2-La régulation paracrine***

En plus d'être régulées par les hormones, les fonctions des différentes cellules du testicule sont soumises à une régulation paracrine au cours de la spermatogenèse. On appelle facteur de régulation paracrine un facteur produit par un type cellulaire et qui régule (prolifération ou différenciation) un autre type cellulaire adjacent au sein du même organe. Le testicule, de par son architecture complexe, est typiquement le genre d'organe cible à régulation paracrine. La cellule de Sertoli a, comme décrit précédemment, plus particulièrement un rôle primordial dans la régulation de la spermatogénèse car elle se localise entre le milieu interstitiel et la lumière du tube séminifère, en contact avec les différents types cellulaires du testicule. Il existe un nombre important d'interrelations spécifiques entre ces différents types cellulaires au sein du testicule. On s'intéressera à trois d'entre elles : cellules de Sertoli et cellules germinales, cellules de Leydig et cellules de Sertoli, cellules péritubulaires et cellules de Sertoli (Semet *et al.*, 2017).

Elle est due à des substances (protéines, peptides...), sécrétées par une cellule ou un groupe de cellules, qui agissent sur des cellules voisines à l'intérieur du testicule. Ces substances sont responsables d'interactions réciproques entre les cellules de Leydig, les cellules de Sertoli et cellules germinales. La cellule de Sertoli synthétise un grand nombre de substances, notamment:

#### ***-Les inhibines et activines***

Dans le contexte de la régulation paracrine du testicule, elles ont un rôle opposé: l'inhibine est sécrétée lorsque la production de spermatozoïdes est élevée. Cette protéine inhibe la synthèse d'ADN et les mitoses des spermatogonies.

En revanche, l'activine favorise les mitoses de spermatogonies ( de Kretser *et al.*, 2004 ; Ludwig, 2011).

**-L'IGF-1** joue un rôle important dans la régulation des fonctions endocrine et exocrine du testicule. La part respective de l'IGF-1 circulant et de l'IGF-1 produit in situ par les cellules de Leydig et Sertoli sous influence de LH et FSH, est difficile à préciser. L'IGF-1 a une action mitogène sur les cellules somatiques et germinales. Il augmente le nombre de récepteurs à LH et la capacité stéroïdogénique de la cellule de Leydig. Il stimule, dans la cellule de Sertoli, la production de lactate et de l'activateur du plasminogène, facteurs importants d'interaction avec les cellules germinales.

**-Le TGF- $\beta$**  est produit et agit sur les cellules somatiques en inhibant leurs fonctions différenciées en réponse aux gonadotrophines. Il diminue l'activité de plusieurs enzymes de la

stéroïdogénèse et la production de testostérone de la cellule de Leydig ; il inhibe la production de lactate de la cellule de Sertoli. Il a des effets opposés à l'IGF I.

**-L'EGF et TGF- $\alpha$**  sont deux peptides proches agissant via le même récepteur et pourraient être des modulateurs de la spermiogénèse et des fonctions leydigiennes et sertoliennes.

**-Les IL-1 et IL-6** sont sécrétées principalement par les cellules de Sertoli où elles interviendraient comme régulateurs essentiels des stades précoces de la spermatogénèse (Syed *et al.*, 1993 ; Ludwig, 2011).

# Chapitre II :

## Doxorubicine et stress oxydatif

## 1-Historique

Au début des années 60, des chercheurs Français et Italiens ont isolé simultanément la même molécule antibiotique à partir de souches de *Streptomyces caeruleorubidus* et *peucetius*. Le nom italien de cet antibiotique fut daunomycine, et le nom français fut rubidomycine (Pein, 1995) pour enfin de compte être actuellement distribué sous le nom de daunorubicine ou daunomycine. L'activité antitumorale de cet antibiotique fut rapidement mise en évidence et il devint le chef de file d'une famille d'anticancéreux appartenant à la famille des anthracyclines. La doxorubicine (adriamycine), un analogue 14 hydroxy de la daunorubicine, fut isolée d'une souche mutante de *Streptomyces peucetius* (*var. caesius*). Depuis les années 70 de nombreuses anthracyclines ont été développées au cours d'études *in vitro* et *in vivo*, et ont montré une large diversité dans leurs actions biologiques et chimiques (Hortobágyi, 1997).

## 2-Structure et propriétés physico-chimique des anthracyclines

La structure chimique des anthracyclines inclut deux composants un composant polycyclique aromatique (tétracycline) correspondant à la portion *aglycone* (*anthraquinone*), et un composant sucré (glucosamine) correspondant à la *daunosamine* (figure 8).

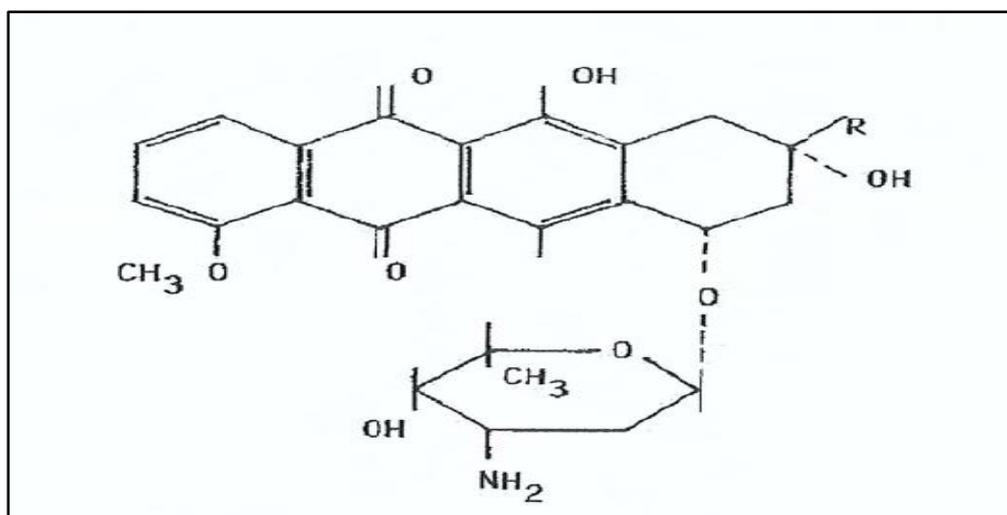


Figure 8 : Structure chimique des anthracyclines (Geneviève, 2004).

Les agents cytotoxiques de cette classe ont tous une structure quinone et hydroquinone. Les structures moléculaires des diverses anthracyclines, elles diffèrent en radical comme : Daunorubicine  $R = CO-CH$ , Doxorubicine  $R = CO-CH_2OH$ . Les anthracyclines sont des composés relativement stables et cristallins, habituellement rouge-orangé. Elles sont solubles dans l'eau, le méthanol et les solutions alcooliques. Elles sont insolubles dans la plupart des solvants organiques. Ce sont des composés fluorescents possédant une fluorescence maximale

dans une longueur d'onde supérieure à 500 nanomètres. Cette propriété peut être exploitée dans un certain nombre d'études pharmacocinétiques, Le poids moléculaire est de 527530 pour la daunorubicine (DNR), 543510 pour la doxorubicine (DOXO) (Hortobàgyi, 1997 ; Geneviève, 2004).

## 2-1-Doxorubicine

La DOXO appartient à la famille des antibiotiques anthracyclines, et produite par la bactérie *Streptomyces peucetius*, DOXO est un médicament anticancéreux, aussi connu sous le nom Adriamycine ou Adriblastine utilisé en chimiothérapie pour de nombreux types de tumeurs telles que le cancer du sein, le cancer de l'ovaire, la leucémie et d'autres types de cancers (Zhou and Chowbay, 2002 ; Granados *et al.*, 2010 ; Meredith and Dass, 2016).

### 2-1-1-Structure et propriétés-chimique

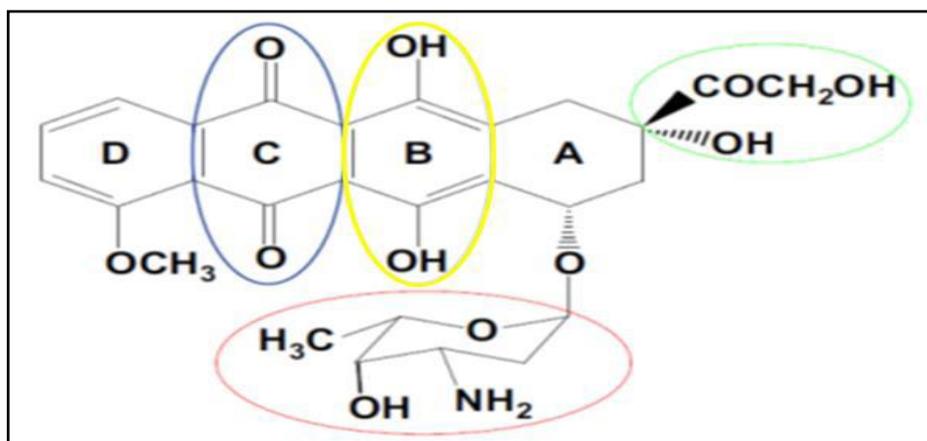


Figure 9 : Structure chimique de la doxorubicine (Kalyanaraman, 2013).

Le groupement tétracycline de la doxorubicine est composé des quatre cycles A-D. Les principaux groupements fonctionnels qui y sont rattachés sont : la quinone sur le cycle C (bleu), l'hydroquinone sur le cycle B (jaune), la chaîne latérale acyclique (vert) et le sucre daunosamine (rouge) sur le cycle A.

La formule chimique brute de la doxorubicine est C<sub>27</sub>H<sub>29</sub>NO<sub>11</sub> et sa masse moléculaire est de 543,52 g/mol. La doxorubicine possède une structure poly-aromatique plane. Elle est composée d'une fraction chromophore aglycone (adriamycinone : C<sub>21</sub>H<sub>18</sub>O<sub>9</sub>), tétracycle avec des groupements adjacents quinone-hydroquinone, qui leur permet de fonctionner comme accepteur et donneur d'électrons, un substituant méthoxy et une chaîne courte avec un groupement carbonyle se terminant par un alcool primaire, reliés par une liaison glycosidique avec un

aminosucrose (daunosamine :  $C_6H_{13}NO_3$ ) (figure 9), responsable de l'hydrosolubilité de la DOXO. La forme utilisée en clinique est le chlorhydrate de DOXO, un sel rouge hydrosoluble (Abidli, 2004 ; Sheela *et al.*, 2005 ; Meredith and Dass, 2016).

### ***2-1-2-Pharmacocinétique de la doxorubicine***

#### ***-Absorption et distribution***

La doxorubicine est administrée par voie intraveineuse afin d'atteindre rapidement la tumeur sans être trop dégradée, et en injection rapide, pour éviter une extravasation à côté de la veine qui endommagerait les tissus. Ces substances possèdent une importante diffusion tissulaire et sont rapidement captées par différents organes: cœur, reins, poumons, foie et rate, mais ne traversent pas la barrière hémato-encéphalique car à son caractère lipophile (Hande, 1998). La doxorubicine est liée aux protéines plasmatiques est d'environ 75%, surtout l'albumine. La DOXO pénètre dans les cellules par diffusion passive, et que l'accumulation intracellulaire des concentrations est de 10 à 500 fois supérieure par rapport à celle du milieu extracellulaire (Lal *et al.*, 2010). La demi-vie de distribution initiale d'environ 5 minutes, tandis que son élimination est lente à partir des tissus qui se traduisent par une demi-vie terminale de 20 à 48 heures (Campos *et al.*, 2012).

#### ***-Métabolisme***

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

- Réduction de la fonction carbonyle ( $C = O$ ) de l'atome de carbone numéro 13 dans la chaîne latérale de la Doxorubicine à un groupement alcoolique (OH) et cela par stimulation de l'enzyme cytoplasmique (NADPH-dépendant Aldo-céto réductase) et formation du métabolite hydroxy doxorubicine (figure 10), nommé doxorubicinol qui est le principal métabolite actif de ce médicament.
- Déglycosylation en activant l'enzyme cytochrome P450 réductase et formation de hydroxy aglycones ou déoxy aglycones.
- Ensuite la doxorubicine et ses métabolites sont excrétés par la bile sous forme de doxorubicine ou doxorubicinol après 24 heures d'absorption ou bien sous forme de sulfates et glucuronides après 48 heures (Zhou and Chowbay, 2002).

**-Elimination**

L'élimination est biliaire. Environ 40% de la dose apparaît dans la bile en 5 jours, alors que seulement 5 à 12% du médicament et de ses métabolites apparaît au cours de la même période de temps dans l'urine (Zhou and Chowbay, 2002), ce qui explique la coloration rouge de l'urine, quelques jours après le traitement (Lauzon, 2008 ; Alkuraishy *et al.*, 2017).

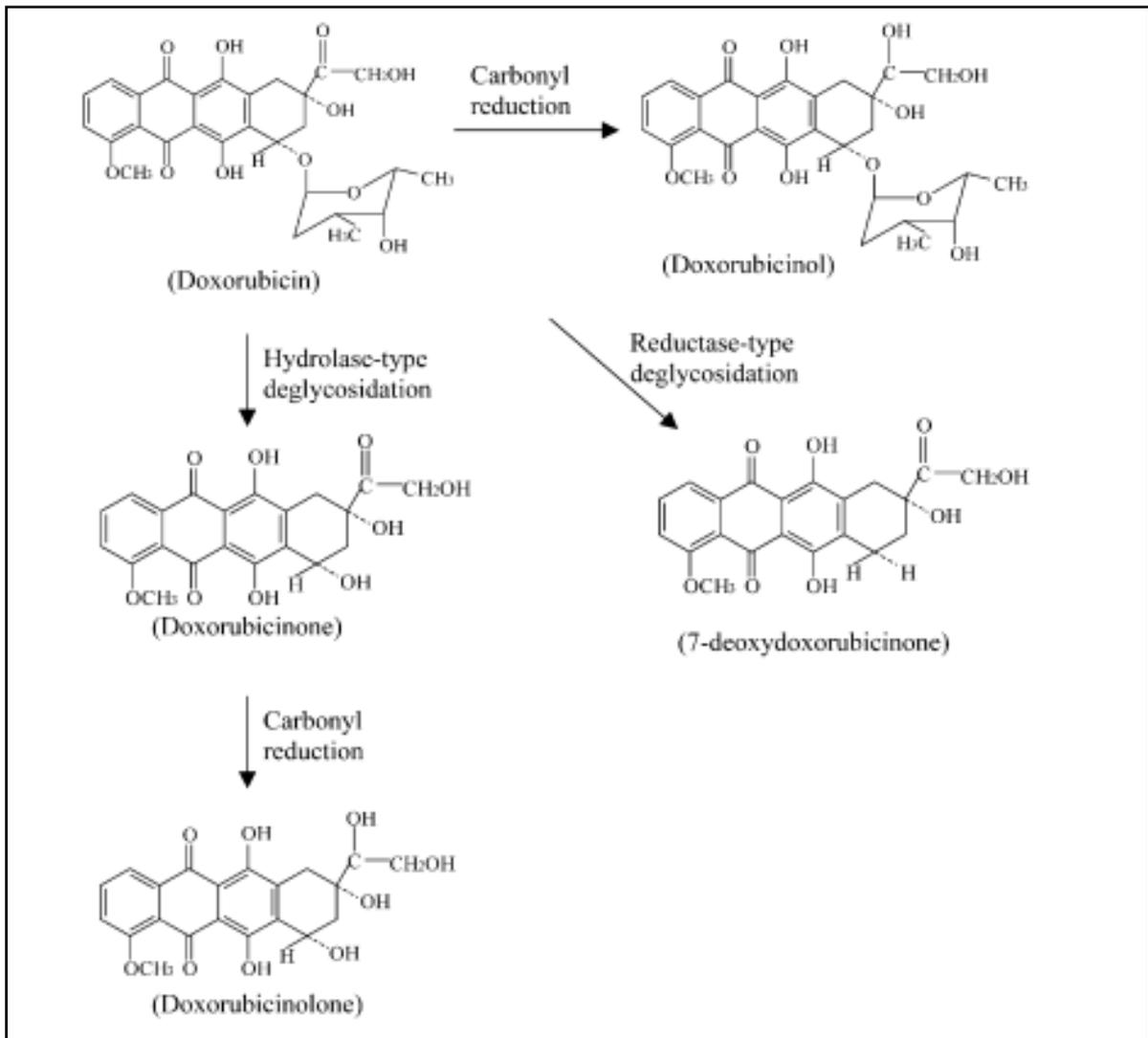


Figure 10 : Voie métabolique de la doxorubicine (Sheela *et al.*, 2005).

### **2-1-3-Mécanisme d'action**

La doxorubicine possède divers action moléculaire, elle pénètre la cellule par le récepteur pore MDR (multi drug resistance), puis est transportée au noyau sur un protéasome (transport nucléaire) (Minotti *et al.*, 2004).

#### **2-1-3-1-L'interaction avec les bases azotées de l'ADN**

La doxorubicine s'intercale entre deux paires de bases azotées de la double hélice de l'ADN, modifiant ainsi la structure de l'ADN (Phillips *et al.*, 1996). Ce changement conduit à entraver la corrélation enzymatique, les enzymes de réplication de l'ADN polymérase, des enzymes de clonage ARN polymérase, les enzymes de réparation de l'ADN, ce qui inhibent la réplication de l'ADN ainsi que sa transcription en ARN (figure 11). Cette interruption du cycle cellulaire conduit à la mort de la cellule (Outomuro *et al.*, 2007 ; Tacar *et al.*, 2013).

#### **2-1-3-2-Inhibition de l'enzyme topo-isomérase II**

La doxorubicine est capable d'inhiber les topo-isomérases II. Ces enzymes nucléaires assurent la torsion et la détorsion de la molécule d'ADN au fur et à mesure de la réplication et de la transcription via des coupures transitoires des deux brins d'ADN suivies de religations de ces mêmes brins. En stabilisant le complexe de clivage ADN-topo-isomérase II obtenu après la coupure des brins d'ADN par l'enzyme, la doxorubicine empêche l'étape de religation, formant ainsi un complexe topo-isomérase II-ADN-DOXO (figure 11), ce qui conduit à une coupure définitive des brins d'ADN (Lansiaux et Pourquier, 2011), au niveau de l'ADN mènent à l'activation du P53, l'arrêt du cycle cellulaire puis à l'apoptose (Lauzon, 2008 ; Alkuraishy *et al.*, 2017).

#### **2-1-3-3-Inhibition de l'enzyme hélicase**

Hélicase est une enzyme qui catalyse le désenroulement de la double hélice d'ADN pour permettre la réplication. Des nouvelles études estiment l'inhibition de cet enzyme par la doxorubicine (Bouaouina *et al.*, 2017).

#### **2-1-3-4-Toxicité directe sur les membranes cellulaires**

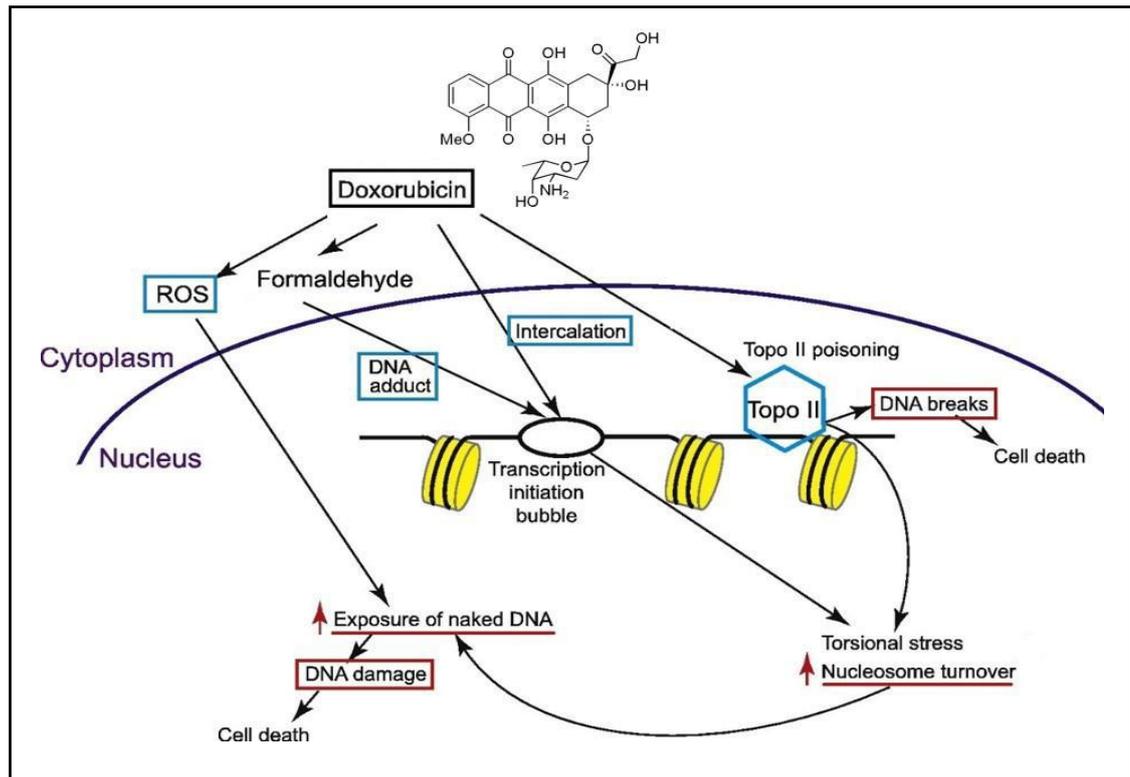
Cette toxicité intervient avant même la pénétration dans les cellules car la doxorubicine à une grande affinité pour les lipides membranaires. La DOXO altèrent la fluidité des membranes liposomales, altèrent le transport d'électrons à travers la membrane mitochondriale. De plus, elles élèvent la concentration intracellulaire du calcium par troubles de la perméabilité au calcium (Geneviève, 2004).

### **2-1-3-5-Production des radicaux libres**

Les composés de dégradation de la doxorubicine entraîneraient la formation de radicaux libres tels que l'anion superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ), le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), et le radical hydroxyle ( $OH^{\bullet}$ ). Ces radicaux libres endommageraient l'ADN (figure 11), les protéines et les constituants des membranes cellulaires (Iarussi *et al.*, 2001).

### **2-1-3-6-Apoptose**

L'action proapoptotique de la doxorubicine est en partie initiée par les radicaux libres, qui activent la protéine p53 et sa fixation sur l'ADN. La p53 y active la transcription du gène Bax (médiateur proapoptotique), inhibe celle du gène Bcl-XL (médiateur antiapoptotique). Bax induit la libération du cytochrome c par la mitochondrie, par ouverture du pore mitochondrial, tandis que Bcl-XL a l'effet inverse. Cette libération du cytochrome c entraîne la formation de l'apoptosome, complexe Apaf-1 (effecteur comprenant l'apoptosis activating factor-1), et le cytochrome c et la pro-caspase-9, ce complexe conduit à l'apoptose. La p53 interagit aussi avec la topoisomérase II, dont elle inhibe la fonction ligase (Minotti *et al.*, 2004).



*Figure 11: Les diverses actions moléculaires de la doxorubicine (Yang et al., 2014). La doxorubicine peut former des espèces réactives à l'oxygène (ROS) pouvant induire des réactions toxiques pour l'ADN. La métabolisation peut entraîner la production de molécule de formaldéhyde impliqué dans l'intercalation d'une molécule de doxorubicine dans l'ADN. Enfin, la doxorubicine peut fixer la topoisomérase II induisant des torsions de l'ADN et des cassures doubles brins de l'ADN.*

## 2-2-Le Stress oxydatif

Pour mieux comprendre le phénomène du stress oxydant il faut tout d'abord connaître que signifie les radicaux libres et qui peuvent être défini autant qu'espèces chimiques instable, très réactive. Comprend d'un ou plusieurs électrons non appariés sur sa couche externe, ce qui leur confère un fort degré de réactivité (Migdal and Serres, 2011). La présence de cette électron non apparié permet à ces molécules d'avoir une grande instabilité, qui est exprimée par une réactivité extrême et une vie très courte et qui leur permet de jouer un rôle d'accepteurs d'électrons en soustrairont les électrons à d'autres molécules, cette perte d'électrons coïncide au processus de l'oxydation (Gilgun-Sherki *et al.*, 2001).

Les radicaux libres provoquent le stress oxydant qui est défini comme un déséquilibre de la balance entre les prooxydants et les antioxydants en faveur des premiers, conduisant à une perturbation du contrôle et de la signalisation redox des cellules et/ou à des dommages moléculaires. Le système pro-oxydant comprend les espèces réactives de l'oxygène (ERO) et de l'azote (ERN) (tableau 1). Celles-ci sont composées en grande partie de radicaux libres, et de molécules non-radicalaires mais néanmoins oxydantes. Une augmentation de la présence des ERO et ERN est le résultat d'une augmentation de leur production et/ou d'une diminution du système antioxydant chargé de les neutraliser (Sies and Jones, 2007).

**Tableau 1 : Principales espèces réactives de l'oxygène et de l'azote (Devasagayam *et al.*, 2004).**

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

### 2-2-1-Les systèmes antioxydants

Un antioxydant est défini comme étant toute substance capable, à concentration relativement faible, d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats, il existe deux types de système antioxydant (Berger, 2006).

#### 2-2-1-1-Les systèmes antioxydants enzymatiques

##### -Les superoxydes dismutases (SOD)

La superoxyde dismutase (SOD) constitue la première ligne de protection contre les dérivés radicalaires de l'oxygène (Vergely and Rochette, 2003). Les superoxydes dismutases se différencient en Mn SOD qui se trouve au niveau des mitochondries, et le Cu Zn SOD au niveau du cytosol et des érythrocytes (Kalyanaraman, 2013). Elle catalyse la dismutation de l'anion superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ) en  $O_2$  et peroxyde d'hydrogène (Valko *et al.*, 2006) (figure12).



##### -Les catalases (CAT)

Présentent principalement au niveau des peroxysomes (Boonstra and Post, 2004), elles se situent dans de nombreux tissus et particulièrement abondante dans le foie et les globules rouges. Elle catalyse la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire (Valko *et al.*, 2006) (figure12), mais elles ne l'éliminent pas totalement en effet elles jouent un rôle très important en permettant d'éliminer l'excès de peroxyde d'hydrogène afin que la réaction de Fenton ne puisse pas s'amplifier et surtout en présence d'ions ferreux (Kalyanaraman, 2013).



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

Les GP<sub>X</sub> connues sont des Enzymes à sélénium. Pour leur fonctionnement elles utilisent le glutathion réduit (GSH) comme cofacteur sur lequel elles transfèrent l'oxygène, et le transformant en glutathion oxydé (GSSG) (Vitoux *et al.*, 1996 ; Kaneko *et al.*, 2002). Elles agissent en réduisant le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) (figure12) et les peroxydes organiques (ROOH) toxiques formés par l'oxydation des acides gras ou du cholestérol (Favier, 2003).

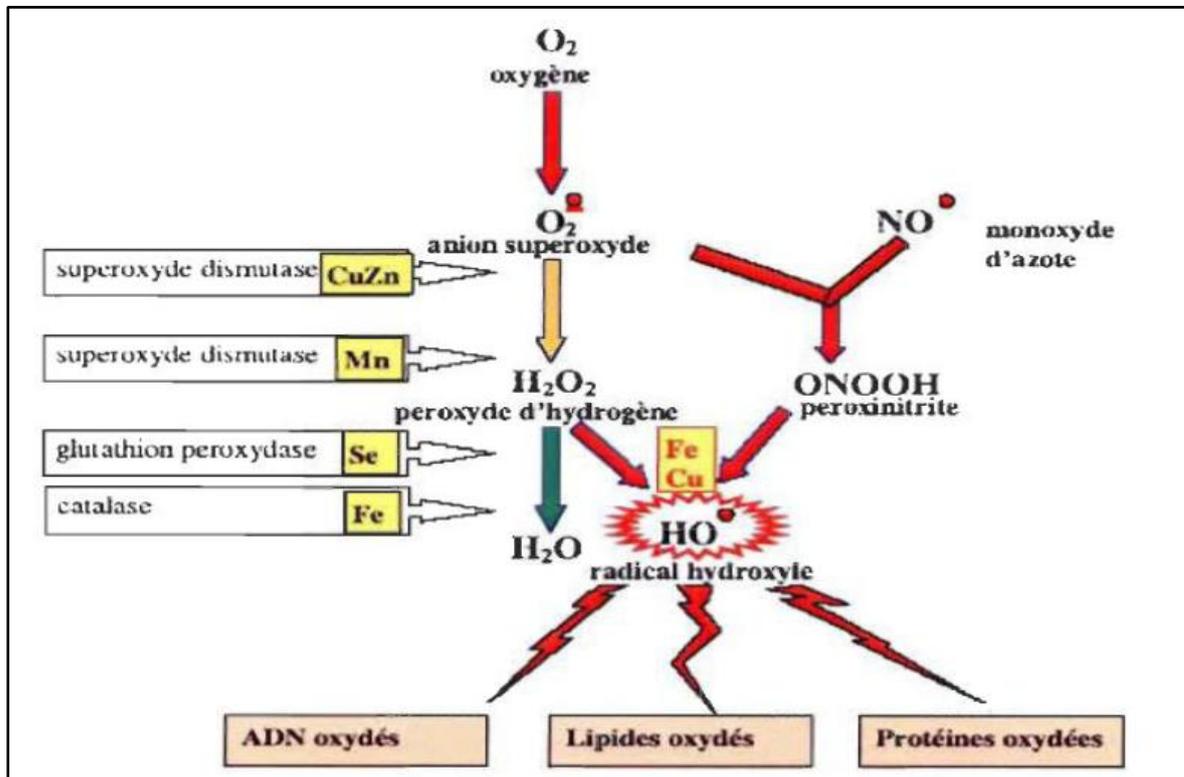


Figure 12 : Principaux systèmes enzymatiques antioxydants impliqués dans le contrôle des ROS (Favier, 2006).

### 2-2-1-2-Les systèmes antioxydants non-enzymatique

#### -Vitamine E

La vitamine E est un antioxydant principale liposoluble, elle est attaché à la membrane utilisé par la cellule pour inhiber la peroxydation lipidique (Proyor, 2000). La vitamine E très active dans la résistance à l'oxydation des LDL (López *et al.*, 2005).

#### -Vitamine C (Acide ascorbique)

La vitamine C est un antioxydant puissant hydrosoluble, Elle réagit avec les espèces réactives de l'oxygène comme ( $\text{OH}^\bullet$ ) ou ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ) (Vertuani *et al.*, 2004). Elle est un réducteur

susceptible de limiter la peroxydation lipidique et intervient dans la régénération des autres antioxydants tels que les  $\alpha$ -tocophérol (Vitamine E) (Greff, 2011).

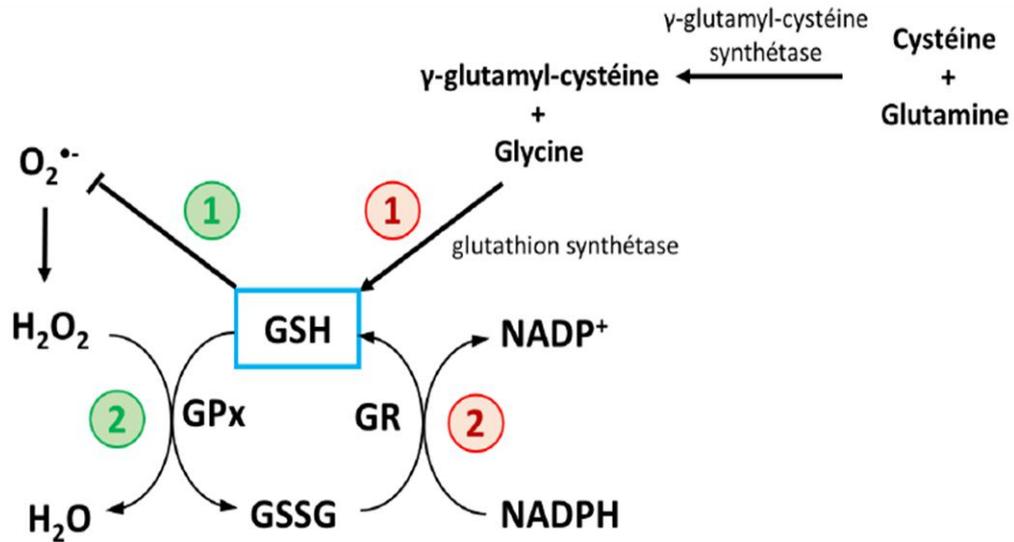


Figure 13 : Le système d'antioxydant du glutathion (Kalyanaraman, 2013).

Les niveaux de glutathion réduit (GSH) sont maintenus par deux voies indiquées par les cercles rouges: 1- la voie de synthèse de novo à partir d'acides aminés et 2- le recyclage du glutathion oxydé (GSSG) via la glutathion réductase (GR) NADPH-dépendante. L'activité antioxydant du GSH implique deux principaux mécanismes indiqués par les cercles verts: 1- la capture des radicaux libres comme l'anion superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ) et 2- la detoxification du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) par l'enzyme glutathion peroxydase ( $GP_x$ ).

#### -Le b-carotène

La principale source du B-carotène est l'alimentation, il peut agir comme un précurseur pour la vitamine A. Aussi il a le pouvoir de capter l'oxygène singulet sous faible pression d'oxygène et il s'oppose à la génotoxicité de nombreux agents en protégeant les structures cellulaires contre l'agression oxydante (Allard *et al.*, 1994).

#### -Glutathion (GSH)

Le système du GSH est un acteur important dans la défense antioxydant des cellules. Il fait intervenir des enzymes et des antioxydants non-enzymatiques (Luczaj *et al.*, 2017). Le GSH est un tri-peptide composé de glutamine, cystéine et glycine. Il a deux fonctions principales, soit le contrôle du stress oxydatif (Dalto and Matte, 2017) et la detoxification de diverses molécules

(Kaneko *et al.*, 2002). Le GSH est considéré comme un antioxydant non-enzymatique car il peut directement piéger les radicaux libres (Sebastia *et al.*, 2003) (figure13). De plus, il agit comme un donneur d'électrons pour la séléno-enzyme GP<sub>x</sub>, qui détoxifie l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Kaneko *et al.*, 2002). Lors de ce processus, le GSH passe de sa forme réduite à oxydée, en donnant son électron au peroxyde qui devient alors de l'eau (Kalyanaraman, 2013).

### 3-Doxorubicine et stress oxydatif

La DOXO est capable d'induire du stress oxydatif dans les cellules cibles par différents mécanismes (Kalyanaraman, 2013 ; Rochette *et al.*, 2015) :

#### 3-1-Voie enzymatique

La voie principale commence par la réduction de la forme quinone de la DOXO, catalysée par les flavines réductases (NADPH-cytochrome P-450 réductase, NADH déshydrogénase), pour aboutir à la formation d'un dérivé semi-quinone radicalaire par le gain d'un électron (figure 14). En présence de dioxygène, ce dérivé radicalaire est rapidement oxydé, et donne son électron au dioxygène moléculaire pour former un anion superoxyde (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>), suivit du retour de la DOXO sous sa forme quinone initiale. L'anion superoxyde est transformé en peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) par le superoxyde dismutase (SOD) ou peut se produire de façon spontanée, puis l'O<sub>2</sub><sup>•-</sup> réagir avec H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> selon la réaction de Haber Weiss, et conduit à la formation de radicaux hydroxyles (OH<sup>•</sup>), un des radicaux libres les plus réactifs et destructifs (Iarussi *et al.*, 2001).

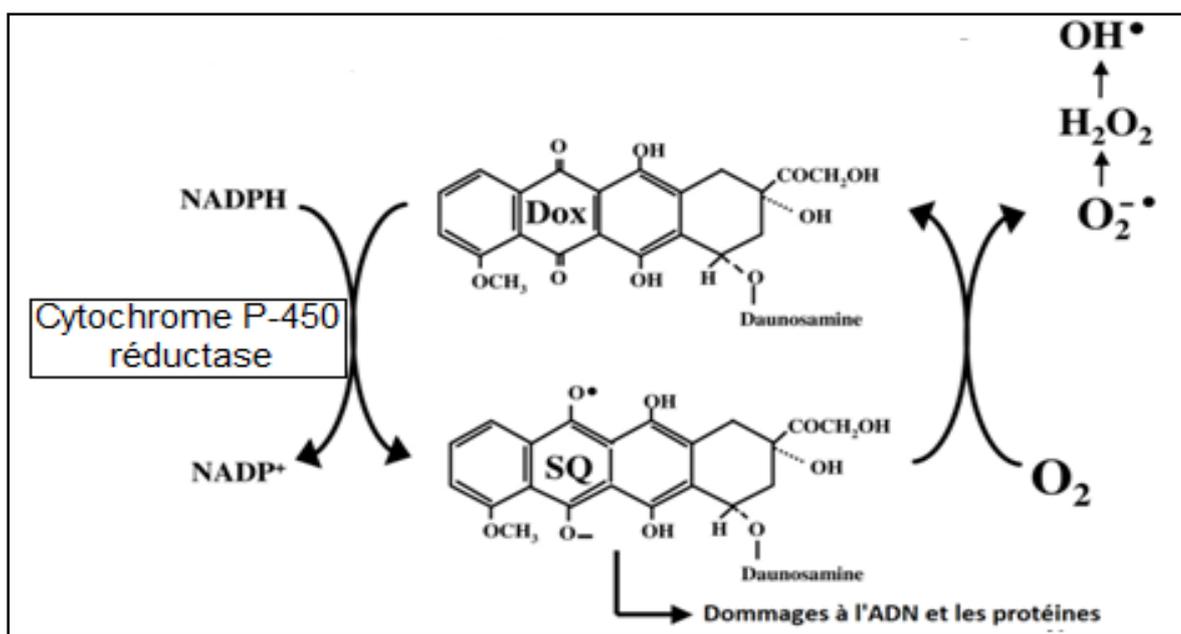


Figure 14 : Formation des ERO par réduction à un électron de la doxorubicine (Meciad, 2019).

### 3-2-Voie non enzymatique

Le fer est un déterminant majeur de l'oxydoréduction cellulaire. Il participe à la réaction de Fenton comme donneur d'électron à peroxyde d'hydrogène, aboutissant à la formation d'une espèce radicalaire puissante, le radical hydroxyle (Gudjoncik *et al.*, 2014). la doxorubicine réagit avec le fer après l'avoir libéré de ses sites de stockage par attaque les protéines ferritine et transferrine, provoquant ainsi la libération de ces ions (Kara *et al.*, 2018).

Le Fe<sup>3+</sup> se lie alors à trois molécules de DOXO à partir des fonctions cétone hydroxyle des cycles B et C, pour former un complexe ternaire très stable : Fe<sup>3+</sup>-(DOXO)<sub>3</sub> (figure 15). Ce complexe subit un cycle interne d'oxydoréduction, donnant naissance à un complexe Fe<sup>2+</sup>-(DOXO)<sub>3</sub>. Ce dernier peut céder son électron supplémentaire à l'oxygène moléculaire et aboutir ainsi à la formation de O<sub>2</sub><sup>•-</sup> et par la suite la formation des autres radicaux libres (Kara *et al.*, 2018).

Aussi le complexe doxorubicine-fer réagit également avec la membrane plasmique induisant la peroxydation des lipides et production des ERO qui conduit leurs accumulations dans le milieu intracellulaire. L'ensemble de ces événements causent des dommages à la cellule pouvant induire l'apoptose (Rochette *et al.*, 2015).

D'autres ions métalliques telles que le cuivre Cu(II) ou le magnésium Mg(II) peuvent se substituer le fer (III) pour former un complexe avec la doxorubicine et mener à la formation des

ERO. Les chélateurs du fer pourraient représenter une nouvelle approche pour interrompre le cycle du stress oxydatif induit par le fer (Meciad, 2019).

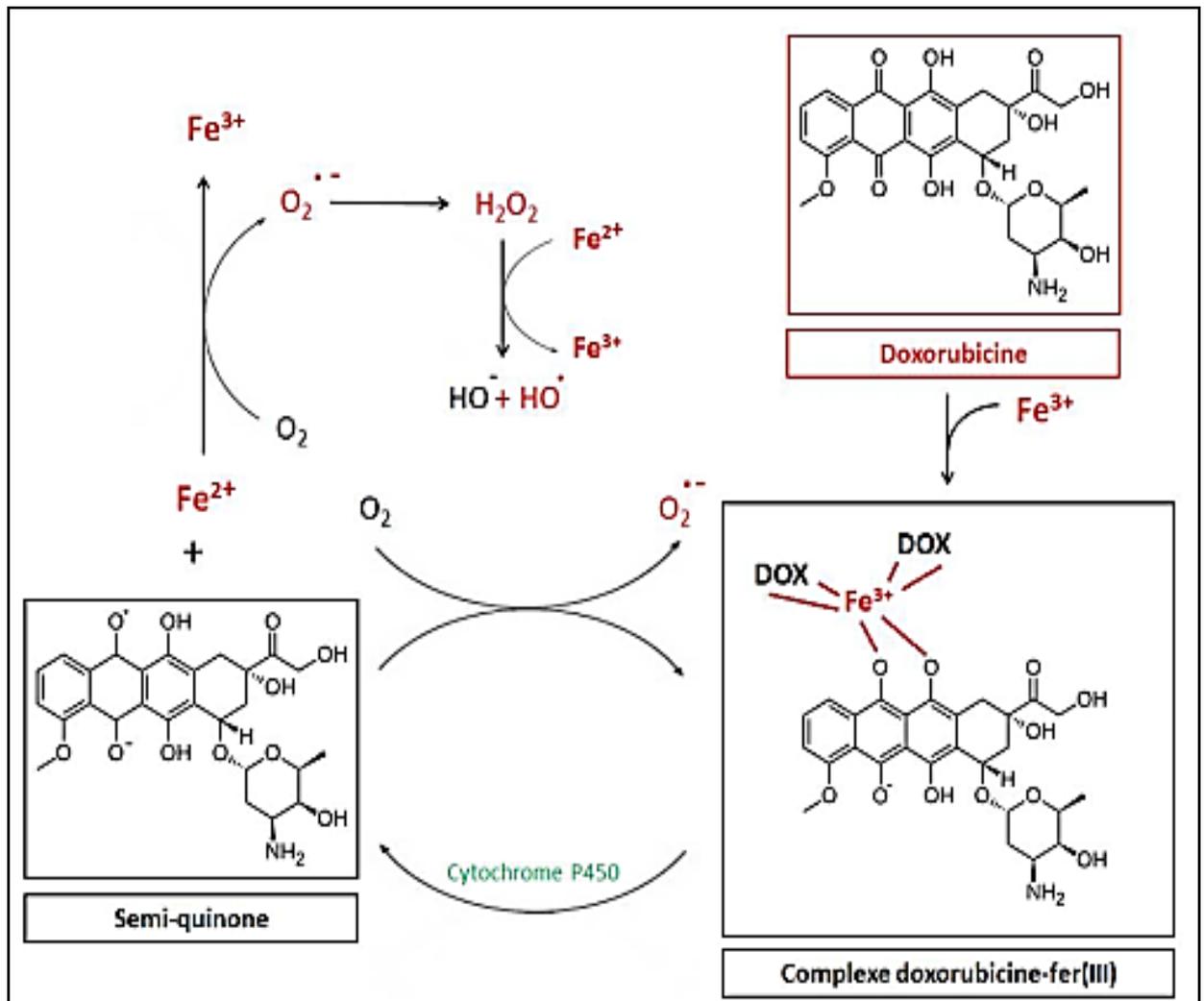


Figure 15 : Formation des ERO par voie non enzymatique (Meciad, 2019)

Finalement, il ne faut pas négliger le fait que le métabolisme de la DOXO peut affecter ses propriétés et donc impliquer d'autres voies de production de stress oxydatif. Par exemple, la formation de doxorubicine aglycone plus lipophile lui permet de diffuser dans la membrane mitochondriale et de s'y accumuler, ce qui crée plus d'ERO à partir de la chaîne respiratoire mitochondriale (Granados *et al.*, 2010).

Il est important de noter que les mécanismes d'induction de dommages à l'ADN et de stress oxydatif de la DOXO ne sont pas complètement indépendants l'un de l'autre. Par exemple, la production de radicaux libres hautement réactifs comme l'hydroxyle radical peut mener à des cassures dans l'ADN (Accord Healthcare Limited, 2017). De plus, la formation d'adduits à l'ADN passe en grande partie par les ERO, qui peuvent réagir avec les désoxyguanosines, désoxyadénosines et désoxycytidines de l'ADN (Granados *et al.*, 2010).

Les ERO, peu importe leur mécanisme de production, l'accumulation d'ERO intracellulaires est généralement suivie de la mort cellulaire par apoptose (Meredith and Dass, 2016).

#### **4- L'infertilité masculine et Doxorubicine**

L'infertilité masculine est l'impossibilité pour un homme d'assurer une procréation du fait d'une défaillance des paramètres spermatiques.

Les infertilités masculines acquises portant atteintes à la morphologie, la mobilité ou au pouvoir fécondant des spermatozoïdes, peuvent être d'origine médicamenteuse (Schlosser *et al.*, 2007). C'est pourquoi les études sont réalisées afin d'évaluer l'impact des médicaments sur les paramètres spermatiques et leurs effets plus ou moins réversibles sur la fertilité (Millsop *et al.*, 2013). Donc l'infertilité est l'incapacité à procréer est peut être primaire ou secondaire :

**Primaire :** C'est l'absence de grossesse après un minimum d'un an de rapports sexuels non protégés chez une femme n'ayant jamais eu de grossesse.

**Secondaire :** chez une femme qui a déjà eu une grossesse (Bouchelaghem and Serour, 2017).

##### **4-1- Les causes d'infertilité masculine**

L'infertilité masculine en différentes causes car le mécanisme de production du sperme étant un processus complexe toute altération de ce processus peut entraîner une infertilité :

###### **4-1-1- Les infertilités obstructives**

Agénésie vésiculo-déférentielle bilatérale congénitale : c'est une forme génitale de la mucovixidose, elle est due à la mutation de gène de la mucovixidose CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator). On peut également retrouver une agénésie unilatérale ou une agénésie des canaux éjaculateurs (Barthelemy, 2003 ; Schlosser *et al.*, 2007).

#### **4-1-2- Les obstructions post infectieuses**

La cicatrisation évolue vers l'obstruction sur le trajet du sperme l'obstruction est souvent asymétrique. Les infections urinaires récidivantes surtout lorsqu'elles s'accompagnent d'orchio-épididymites sont également une cause d'obstruction post-infections spécifique comme la tuberculose uro-génitale et autre peuvent être en cause (Bouchelaghem and Serour, 2017).

#### **4-1-3- Les causes endocriniennes**

Les causes d'infertilités pré-testiculaires sont majoritairement liées à un hypogonadisme hypogonadotrope, c'est-à-dire une diminution de la synthèse des hormones sexuelles due à une diminution de la sécrétion des hormones gonadotropes LH et FSH. Cette diminution entraîne une altération de la production de spermatozoïdes (Roze *et al.*, 2009).

Les tumeurs hypothalamiques, les adénomes hypophysaires, l'hémochromatose et la radiothérapie de la hypothalamo-hypophysaires. Ces causes provoquent en générale une insuffisance de sécrétion de l'ensemble des hormones hypophysaires (Bouchelaghem and Serour 2017).

#### **4-1-4- Les causes testiculaires**

Le processus pathologique se situe au niveau de testicule avec diminution de la production de spermatozoïdes, et les problèmes de fertilité sont associés à une plusieurs anomalies du sperme (Leaver, 2016).

Une asthénozoospermie, oligozoospermie et tératozoospermie, les causes de ces anomalies, au niveau de testicule sur les canaux conducteurs des spermatozoïdes qui amènent une réduction de la testostérone qui affecte la maturation des spermatozoïdes (Junguirth *et al.*, 2012), et la réduction de la circulation sanguine des testicules et des canaux déférentes, qui peuvent être endommagés ou obstrués peuvent empêcher le transport des spermatozoïdes vers l'extérieur (Lindsay and Vitrikas, 2015).

##### **4-1-4-1- Malformations anatomiques**

- **Varicocèle** : est une dilatation variqueuse des veines (varices) du cordon spermatique (situées dans les bourses, au-dessus de chaque testicule), elle peut être symptomatique d'une tumeur abdominale, en particulier une tumeur du pôle inférieur du rein droit.

La varicocèle est responsable d'une altération de la spermatogenèse sous forme d'une oligo asthénospermie la perturbation de la fonction endocrine sera confirmée par un taux de FSH élevé, enfin la varicocèle entraîne très fréquemment une hypotrophie testiculaire homolatérale (El Hajjami, 2017).

#### **4-1-4-2- L'auto-immunisation anti-spermatozoïdes**

Il s'agit d'une anomalie de physiopathologie ma connue ou il y a production d'autoanticorps anti-spermatozoïdes par l'homme. Ces anticorps provoquent l'agglutination des spermatozoïdes entre eux ce qui diminue leur mobilité et leur pouvoir fécondant. Les épидидymites et la vasectomie en seraient des facteurs favorisants (Skakkebaek, 2003).

#### **4-1-4-3- Les causes chromosomiques**

Parmi les causes chromosomiques on retrouve le syndrome de Klinefelter, aneuploïdie caractérisée par un chromosome sexuel X supplémentaire. Ce syndrome entraîne une augmentation des taux de gonadotrophines donc un taux de testostérone faible (Ploton *et al.*, 2010). Elle est l'anomalie cytogénétique la plus fréquente dans ce cadre, un développement insuffisant du pénis et de scrotum, une descente incomplète des testicules ainsi qu'une azoospermie ou une oligospermie sévère (Rock *et al.*, 2014).

D'autres causes monogéniques très rares altérant la spermatogenèse ont été mises en évidence comme la mutation du récepteur de la FSH découvertes il y a près de 20 ans et qui empêchent la stimulation des cellules de Sertoli par cette gonadotrophine et la mutation de TEX11 un gène situé dans le chromosome X et impliqué dans la méiose des cellules germinales (Yatsenko *et al.*, 2015).

#### **4-1-5- La chimiothérapie**

La chimiothérapie est une stratégie thérapeutique qui fait appel à l'aptitude d'agents antiméoplasiques qui favorisent la mort des cellules tumorales via une variété de processus tels que l'arrêt du cycle cellulaire (Teuffel *et al.*, 2013), elle a été initialement utilisée dans les tumeurs solides métastatiques et dans les néoplasies hématologiques (leucémies et lymphomes) (Marianne, 2015).

La chimiothérapie assure la simulation de l'apoptose et l'inhibition des voies métaboliques essentielles à la croissance des cellules tumorales (Teuffel *et al.*, 2013). Comme elle peut référer aussi aux médicaments traitant certaines autre maladie non néoplasiques. Ces médicaments peuvent être classés en quatre catégories : les inhibiteurs de l'activité protéine tyrosine kinase, les modificateurs de la réponse immune, les hormones et les agents cytotoxiques (Lagha and Smali, 2016). Plusieurs classes médicaments on peut distinguer les cytotoxiques qui peuvent provoquer la mort des cellules entraînant l'altération de l'ADN donc la chimiothérapie est un traitement majeur du cancer (Thirion, 2017).

#### 4-1-5-1- Les différents classes de chimiothérapie

La chimiothérapie inhibe la croissance tumorale, où il se trouve une multitude de drogues utilisées en chimiothérapie, classées en deux grandes catégories :

**-Les médicaments cytotoxiques** : permettant de bloquer la synthèse, le fonctionnement ou la multiplication cellulaire.

**-Les médicaments non cytostatiques** : qui bloquent certaines fonctions anormales des cellules cancéreuses et leur microenvironnement (Charlier *et al.*, 2005).

- **Les agents cytotoxiques** ont été classés : les agents alkyltants, les anti métabolites, les agents antimicrotubules, les inhibiteurs des topoisomérase I et II, les vinca-alcaloïdes (Vuillet *et al.*, 2014).

➤ **Les agents alkyltants** : altèrent la fonction cellulaire, ils provoquent une lésion biochimique dans l'ADN (la molécule à la base des gènes) du noyau et altèrent ainsi la cellule cancéreuse (Bouchard, 2005), les agents alkyltants forment les liaisons covalentes avec nucléotides de la chaîne ADN et inhibent ainsi la réplication (Desplat, 2016).

#### ➤ **Inhibiteurs des topoisomérase**

Les topoisomérase sont des enzymes permettent de séparer les brins d'ADN, ils sont ciblés par les anticancéreuse, les Inhibiteurs des topoisomérase permettent de bloquer l'activité des enzymes de stabiliser les coupures transitoires de l'ADN et une inhibition de la réplication (Marlène, 2017).

➤ **Les antimétabolites** : Les antimétabolites sont des analogues structuraux de métabolites impliqués dans la synthèse de l'ADN et l'ARN (Hori *et al.*, 2010). Ils trompent la cellule en imitant ses substances indispensables à la division et à la survie des cellules (Bouchard, 2005). Les antimétabolites exercent leur activité cytotoxique agissant comme inhibiteur compétitifs, ils divisent en trois sous groupe : analogue de l'acide folique, analogue de la pyrimidine, analogue de la purine, et leur principales molécules sont : Méthotrexate, cytarabine, Gemcitabine, Fludarabine, et 6 thio-guanine (Monassier, 2012).

➤ **Anthracyclines** : les anthracyclines sont des antibiotiques qui s'intercalent à l'ADN, ils peuvent également générer un stress oxydatif ou inhiber la topoisomérase II (Hanna *et al.*, 2011), et leur principales molécules sont : Doxorubicine, Epirubicine, la daunorubicine, la Pirarubicine (Gustafson *et al.*, 2002 ; Teuffel *et al.*, 2013) et la Doxorubicine demeure l'une

des anthracyclines les plus utilisés grâce à son large éventail d'effets thérapeutiques contre de nombreux types de tumeurs (Thorn *et al.*, 2011).

#### ***4-1-5-2- Les effets des agents cytotoxiques de chimiothérapie sur la fertilité masculine***

La chimiothérapie cytotoxique est un traitement utilisé contre le cancer, elle altère la multiplication cellulaire en ciblant l'ADN, cette cytotoxicité touche les cellules cancéreuses et les cellules non malades en phase de division, l'atteinte des tissus normaux est une limite à l'utilisation des chimiothérapies (Chauvergne and Hoerni, 2001).

La chimiothérapie est également connue comme étant une arme majeure du traitement du cancer du testicule, elle interrompt des mécanismes cellulaires très présents dans les cellules en division rapide, expliquant la sensibilité des cellules germinales (El Hajjami, 2017) et l'utilisation d'une combinaison d'agent de chimiothérapies permet de cibler les cellules cancéreuses par différents mécanismes d'action. Les agents sont répartis en différentes classes en fonction de leur mode d'action ou de leur structure moléculaire, tel que le doxorubicine est un inhibiteur de topoisomérase (Aghaee *et al.*, 2013).

La plupart des molécules de chimiothérapie ont été classées selon à leur risque gonadotoxique, c'est-à-dire selon le degré d'altération de la spermatogenèse allant de l'oligozoospermie à l'azoospermie non obstructive après récupération (tableau 2) (Lee *et al.*, 2006 ; Wyns *et al.*, 2010). Cette classification indique les risques d'infertilité après une exposition à la chimiothérapie.

**Tableau 2 : Principales classes de chimiothérapie et effets de chaque agent sur la spermatogenèse chez l'homme D'après (Meistrich, 2013).**

| Classe de chimiothérapie               | Agent  | Effet sur la spermatogenèse                        |
|--|--|--|
| <b>Agent alkylant</b>                  | Cyclophosphamide (>10g/m <sup>2</sup> )<br>Moutarde azotée<br>Procarbazine (>4g/m <sup>2</sup> ) Cisplatine (>500mg/m <sup>2</sup> ) | Azoospermie prolongée                              |
|  | Busulfan (>600mg/m <sup>2</sup> )  | Azoospermie potentielle<br>Effet additif potentiel |
| <b>Anthracycline,<br/>Antibiotique</b> | Doxorubicine (>770mg/m <sup>2</sup> )  | Réduction temporaire<br>Effet additif potentiel    |
| <b>Antibiotique</b>                    | Bléomycine   | Réduction temporaire<br>Effet additif potentiel    |
| <b>Antimétabolite</b>                  | 6-Mecaptopurine<br>Méthotrexate  | Réduction temporaire<br>Effet additif potentiel    |
| <b>Alcaloïde</b>                       | Vincristine<br>Vinblastine (>50mg/m <sup>2</sup> )<br>Étoposide  | Réduction temporaire<br>Effet additif potentiel    |
| <b>Corticostéroïde</b>                 | Prednisone   | Pas d'effet toxique                                |

La doxorubicine est capable d'entraver le processus de spermatogenèse dans le testicule, en provoquant une altération de la structure et de la fonction des cellules germinales (Yang *et al.*, 2017). Parmi les cellules les plus affectées par l'action cytotoxique de la DOXO, se trouvent les spermatogonies A et les spermatocytes I (Kang *et al.*, 2002), le traitement par le DOXO affecte l'épithélium par : une inhibition de la synthèse de l'ADN spermatogonial et une migration des spermatogonies de type A vers la membrane basale (Hou *et al.*, 2005), et par la peroxydation lipidique et production d'énergie des cellules germinales qui contribue à la perte de la spermatogenèse associée à l'apoptose démesurée des cellules germinales (Peluso *et al.*, 2000), et par une perturbation du processus de maturation des spermatozoïdes (Meistrich *et al.*, 1990).

➤ **Effet du doxorubicine sur la spermatogénèse**

L'infertilité masculine est un effet secondaire d'une chimiothérapie (Valli *et al.*, 2014). L'accumulation du DOXO dans les testis induit des effets indésirables sur la fertilité masculine qui affecte sur le mouvement du sperme, le contenu du sperme et la morphologie des spermatozoïdes (Kato *et al.*, 2001). Pour examiner les effets causés par la doxorubicine sur les testicules on doit dépendre sur une expérience (Silva *et al.*, 2018) :

• **Expérience**

Choisissez 20 rats pesant (250-300g), on divise les rats en deux groupes, Le premier groupe (A) contient (16 rats) traité par une dose (7.5mg /kg) du DOXO, le deuxième groupe (B) contient (4 rats) traité par une dose (0.15mg/kg) du PBS, Le traitement dure 28 jours avec les mêmes conditions. Après le traitement, les rats sont disséqués, les testicules prélevés et coupés en 5 µm, placer sur lame de verre et coloré avec l'hématoxyline et à l'éosine, finalement une observation avec un microscope (X 1000) (Silva *et al.*, 2018).

• **Observations de cette expérience**

- a. Le poids corporel entre les rats du groupe (A) et (B) n'a pas changé, par contre une perte de poids dans les testis et les gonadosomatique indice (GSI) seulement dans le groupe traité par le DOXO (Silva *et al.*, 2018).
- b. toutes les étapes du cycle d'épithélium séminifère ont été modifiées dans les rats (A) traités par le DOXO dans le 7 et le 14 jours du traitement par rapport aux rats (B). Jusqu'au le 21 et 28 jours la quantité des cellules germinales dans le groupe (A) est diminuée (Silva *et al.*, 2018).
- c. La numération des spermatocytes dans le groupe traité par le PBS a été normale, la forme des spermatides, les spermatogonies, les cellules de Sertoli sont normales par contre dans le groupe traité par le DOXO la forme des spermatides au début ont été ronds après, ils ont été allongés à la fin plusieurs corps résiduels vacuoles ont été trouvés, Au 28 jours, les spermatogonies étaient plus rares dans les tubules (Silva *et al.*, 2018).
- d. Les rats traités au DOXO ont présenté une diminution significative du diamètre tubulaire et hauteur de l'épithélium à 7, 14, 21 et 28 jours par rapport au groupe témoin. Des réductions significatives du diamètre tubulaire et de la hauteur de l'épithélium ont également été trouvées dans le groupe expérimental, des diminutions significatives du compartiment intertubulaire ont été observées dans les rats traités au DOXO à sept jours et augmentations significatives chez les évaluations réalisées chez les rats à 14, 21 et 28 jours par rapport au groupe témoin. Le compartiment tubulaire et intertubulaire également présentaient des

différences significatives dans le groupe expérimental à 7,14, 21 et 28 jours (Silva *et al.*, 2018).

➤ **Effet du DOXO sur les cellules de Sertoli**

DOXO pourrait causer des dommages transitoires dans la fonction cellulaire de Sertoli, et comme les cellules de Sertoli sont responsables de la synchronisation du cycle de l'épithélium séminifère, des altérations de ces cellules peuvent provoquer problèmes de progression des étapes au cours du cycle, et l'échec de la libération de spermatozoïdes et même l'apoptose des cellules germinales car ils subissent des divisions cellulaires (Brilhante *et al.*, 2012).

➤ **Effet du DOXO sur l'ADN**

La doxorubicine est toxique pour les organes reproducteurs mâles et les spermatozoïdes en induisant des dégâts et des mutations sur l'ADN (Kang *et al.*, 2002). La toxicité induite par la doxorubicine a été attribuée à la formation des ROS qui favorisent la nécrose et l'apoptose dans les tissus testiculaires (Vapa *et al.*, 2012). Car une augmentation de l'expression du TNF $\alpha$ , NF- $\kappa$ B, caspase-3, iNOS dans les testicules (Magalhães *et al.*, 2017 ; Kabel, 2018). Également l'inhibiteur de l'ADN topoisomérase II a conduit à des altérations morphologiques et nucléaires, entraînant une vacuolisation cytoplasmique et une condensation anormale de la chromatine (Brilhante *et al.*, 2012). Des dommages à l'ADN des télomères, associés à une inhibition de l'activité de la télomérase, ont été mis en évidence que leur dysfonctionnement pourrait agir sur les types de cellules germinales les plus différenciés et contribuer à l'infertilité masculine (Liu *et al.*, 2014). L'exposition à la DOXO pour modifier la méthylation de l'ADN des spermatozoïdes a été mise en évidence dans des modèles animaux. Anomalies de la tête dans près de 50% des spermatozoïdes, associées à une perturbation du compactage de la chromatine (Romerius *et al.*, 2010).

➤ **Effet du DOXO sur les hormones**

La DOXO conduit à un dysfonctionnement de la cellule de Sertoli avec diminution de la production de protéine de liaison aux androgènes (ABP) et de transferrine, deux protéines impliquées dans la régulation de la spermatogenèse (Stumpp *et al.*, 2006). De plus, la réduction du nombre de spermatozoïdes chez les mâles était systématiquement associée à une augmentation des taux d'hormone folliculo-stimulante (FSH) à cause d'un dysfonctionnement de FSH feedback, reflétant indirectement l'altération des cellules de Sertoli (Van *et al.*, 2009).

➤ *Insuffisance cellulaire de Leydig après chimiothérapie cytotoxique*

Les cellules de Leydig, qui sécrètent de la testostérone, ont souvent été considérées comme plus résistantes à la chimiothérapie que les cellules germinales et les cellules de Sertoli. Cependant, il a été montré que la fonction cellulaire de Leydig peut être altérée chez les survivants de cancer à long terme associés à une augmentation du taux sanguin de LH et à une concentration de testostérone faible ou normale (Gerl *et al.*, 2001). De plus, il a été émis l'hypothèse que l'altération de l'épithélium séminifère pourrait entraîner une diminution du volume testiculaire et du débit sanguin et, par conséquent, limiter le taux de testostérone à la sortie du testicule (Setchell and Galil, 1983). Cette réduction du débit sanguin peut être compensée par les cellules de Leydig en augmentant la concentration de testostérone intra-testiculaire. De plus, la réduction du flux artériel conduit à une perturbation du contrôle paracrine des cellules de Leydig et à une réduction de la réponse stimulante à la LH (Howell and Shalet, 2001).

# Chapitre III :

# Les polyphénols

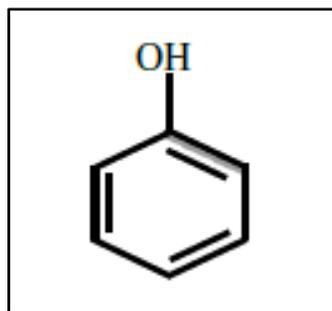
## 1- Les Polyphénols

### 1-1- Introduction

Depuis leur apparition sur Terre, les plantes ont toujours fait partie de L'alimentation humaine puisqu'il n'est physiologiquement pas possible pour l'Homme de se nourrir exclusivement de produits d'origine animale (Debuigne, 2006). Durant les dernières décennies, de grandes firmes pharmaceutiques, des universités et d'autres organismes recensent et développent les usages traditionnels de tous les végétaux possibles en questionnant les populations et, en particulier, les "guérisseurs" afin d'isoler de nouvelles molécules bioactives issues de plantes. C'est ainsi que nous assistons à l'émergence d'une médecine nutritionnelle qui vise à conserver le plus longtemps possible la santé en optimisant les fonctions des cellules, des tissus et des organes sous l'action de nutriments de qualité. Parmi la grande diversité des molécules bioactives retrouvées dans les plantes, de nombreuses recherches se sont concentrées sur les effets physiologiques des phytonutriments, plus particulièrement les polyphénols. Les phytonutriments sont des métabolites présents à l'état naturel dans les aliments d'origine végétale, nécessaires à l'organisme humain et agissant en combinaison avec d'autres nutriments essentiels (Roche, 2017). Les polyphénols sont impliqués dans diverses fonctions physiologiques du règne végétal à savoir la croissance, la lignification, la pigmentation, la pollinisation de même que dans la protection contre le rayonnement ultraviolet et la résistance face aux prédateurs exogènes tels que les insectes nuisibles ou les microorganismes (Duthie *et al.*, 2003).

### 1-2- Définition

Les polyphénols, dénommés aussi composés phénoliques, sont des molécules spécifiques du règne végétal et qui appartiennent à leur métabolisme secondaire (Chen *et al.*, 2008). C'est une classe constituée d'environ 8 000 composés, divisés en plusieurs catégories (Wollgast and Anklam, 2000). On les trouve dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits. Leurs fonctions ne sont pas strictement indispensables à la vie du végétal, cependant ces substances jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement, contribuant ainsi à la survie de l'organisme dans son écosystème. Le terme « phénol » englobe approximativement 10000 composés naturels identifiés (Druzyńska *et al.*, 2007). L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau phénolique à 6 carbones (figure 16), auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle (OH) libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester ou hétéroside (Balasundram *et al.*, 2006).



*Figure 16 : Structure du noyau phénol (Sarni-Manchado and Cheynier, 2006).*

Les composés phénoliques des végétaux sont issus de deux grandes voies d'élaboration de cycles aromatiques, la voie shikimate (également responsable de la synthèse des acides aminés Phe et Tyr) et la voie polyacétate, qui consiste en la condensation de molécules d'acétylcoenzyme A. Cette biosynthèse a permis la formation d'une grande diversité de molécules qui sont spécifiques d'une espèce de plante, d'un organe, d'un tissu particulière (Bruneton, 2008).

### **1-3- Biosynthèse des composés phénoliques**

Les flavonoïdes sont synthétisés au niveau du chloroplaste et participent à la phase lumineuse de la photosynthèse comme transporteurs d'électrons. Certains quittent le chloroplaste et s'accumulent dans les vacuoles (Elicoh-Middleton *et al.*, 2000). Les composés de départ de la biosynthèse des flavonoïdes sont le malonyl CoA et les dérivés CoA de l'acide cinnamique, le cinnamoyl CoA (Gerhard, 1993). Ces composés sont formés suite à deux voies complémentaires, voie acétate malonate et voie shikimate (Hollman *et al.*, 1999 ; Elicoh Middleton *et al.*, 2000). La voie shikimate conduit à la synthèse de l'acide cinnamique et donc au cycle B et à la chaîne en C3 qui formera le cycle oxygéné C de la structure de base des flavonoïdes. Les précurseurs de cette voie sont l'érythrose 4-phosphate de la voie des pentoses et le PEP résultant de la glycolyse (Marfak, 2003). La voie acétate malonate constitue la voie de synthèse du noyau A. Ce système aromatique est formé par condensation répétée d'unités d'acétate (Gerhard, 1993). Ces deux voies sont alors condensées pour engendrer un précurseur commun la 4,2',4',6' tétrahydroxychalcone avec la catalyse de la chalcone synthase (Elicoh-Middleton *et al.*, 2000). Ce pigment jaune est métabolisé en différentes classes des flavonoïdes sous l'action d'enzymes spécifiques. Des réactions post-biosynthétiques sont enfin effectuées pour donner la structure finale aux flavonoïdes telles que la glycosylation, l'acylation formes natives sur lesquelles se trouvent *in vivo* (Marfak, 2003).

### 1-4- Classification des polyphénols

La classification des polyphénols est basée essentiellement sur la structure, le nombre de noyaux aromatiques et les éléments structuraux qui lient ces noyaux. on peut distinguer (D'archivio *et al.*, 2007) :

#### 1-4-1- Acides phénoliques

Ce sont des composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Ils sont représentés par deux sous-classes les dérivés de l'acide hydroxybenzoïque et de l'acide hydroxycinnamique (Bruneton, 2008).

#### 1-4-2- Alcools phénoliques

Un alcool phénolique est un composé organique possédant au moins un alcool aliphatique et un hydroxyle phénolique. Le tyrosol (4-hydroxyphenylethanol) et hydroxytyrosol (3,4 dihydroxyphenylethanol) sont les principales molécules de cette classe. Ces composés sont très abondants dans l'olive (fruit et feuille), libres ou associés à l'acide élénolique (Micol *et al.*, 2005 ; Silva *et al.*, 2010).

#### 1-4-3- Les tanins

Le terme « tanin » regroupe des composés polyphénoliques caractérisés par leurs propriétés de combinaison aux protéines ils représentent une classe très importante de polyphénols localisés dans les vacuoles, sont divisés en deux groupes, tanins hydrolysables et tanins condensés (Aguilera-Carbo *et al.*, 2008) :

**-Tanins hydrolysables** : ce sont des esters du D-glucose et de l'acide gallique ou de ses dérivés, en particulier l'acide ellagique, Ces substances sont facilement hydrolysables par voie chimique ou enzymatique (O'Connell and Fox, 2001).

**-Tannins condensés** : les tannins condensés ou les proanthocyanidines sont des polymères constitués d'unités flavane reliées par des liaisons entre les carbones C4 et C8 ou C4 et C6 (O'Connell and Fox, 2001).

#### 1-4-4- Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés possédant un squelette de base à quinze atomes de Carbone, constitués de deux noyaux aromatiques et d'un hétérocycle central de type pyrane, formant une structure C6-C3-C6 (Ghedira, 2005) (figure 17). Ce sont les composés les plus abondants parmi tous les composés phénoliques. Ils interviennent dans la pigmentation des fleurs et dans les processus de défense contre le rayonnement UV, les herbivores et les attaques

microbiennes, Les flavonoïdes sont présents dans une grande variété d'aliments (fruits et légumes, céréales, jus de fruits, thé) (Crozier, 2003).

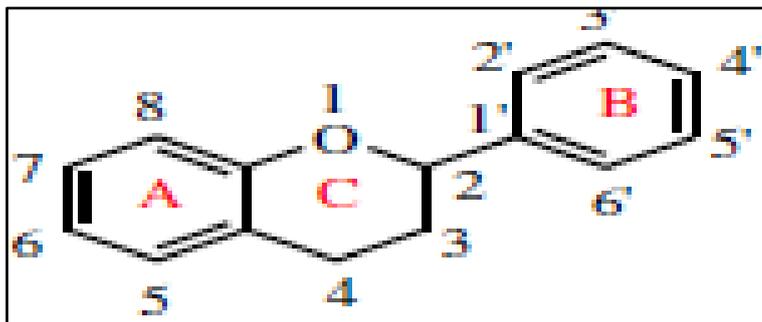


Figure 17 : Squelette de base des flavonoïdes (Crozier, 2003).

Il existe plusieurs classes de flavonoïdes, dont les principales sont les flavones, les flavonols, les flavan-3-ols, les isoflavones, les flavanones et les anthocyanidines. La structure de base de ces différents flavonoïdes peut subir de nombreuses substitutions, les groupements hydroxyles étant généralement en positions 4, 5 et ces substances existent généralement sous forme de glycosides (Chira *et al.*, 2008).

#### 1-4-4-1- Classification des flavonoïdes

##### - Flavonols

Les flavonols se distinguent par la présence d'un groupement OH en position C3 et d'une double-liaison en C2-C3. Ils peuvent exister soit sous forme d'aglycones, soit sous forme d'hétérosides. Les sucres les plus souvent impliqués sont des aldoses : D-glucose et L-rhamnose (figure 18), (Crozier, 2003).

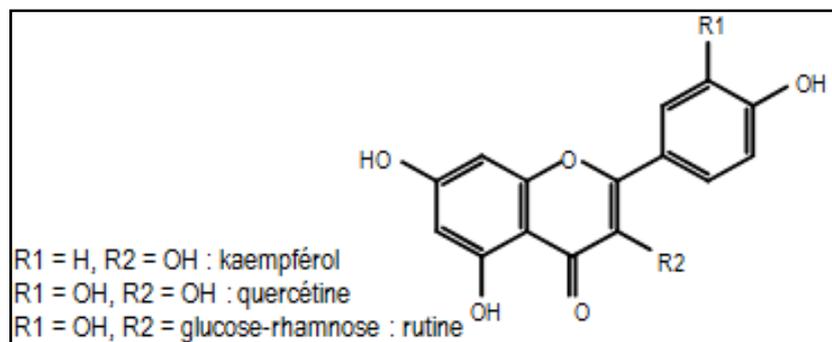


Figure 18 : Structures chimiques de flavonols (Crozier, 2003).

### - Flavanones

Les flavanones sont caractérisées par l'absence de la double liaison entre C2 et C3 et par la présence d'un centre de chiralité en C2 (Bruneton, 2008 ; Chira *et al.*, 2008). Les agrumes constituent la principale source alimentaire de flavanones. Les principaux aglycones sont l'ériodictyol dans le citron, la naringénine dans le pamplemousse et l'hésperétine dans l'orange (figure 19) (Manach *et al.*, 2004).

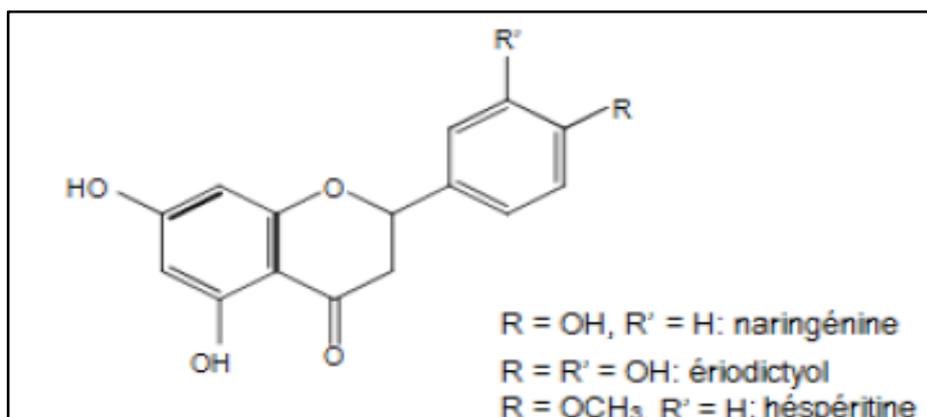


Figure 19 : Structure chimique des flavanones (Crozie, 2003).

### - Flavan-3-ols

Les flavan-3-ols ou dérivés de catéchine sont la catégorie de flavonoïdes la plus complexe. Ces composés vont des simples monomères, (+)-catéchine et son isomère (-) épicatechine, jusqu'aux oligomères et polymères, les proanthocyanidines. De plus, les flavan 3-ols peuvent être estérifiés par l'acide gallique ou hydroxylés pour former les gallocatéchines (épicatechine gallate, épigalocatechine, épigalocatechine gallate) (figure 20), (Chira *et al.*, 2008). Les catéchines sont présentes dans le chocolat, le thé et les fruits comme l'abricot (Hollman *et al.*, 1999).

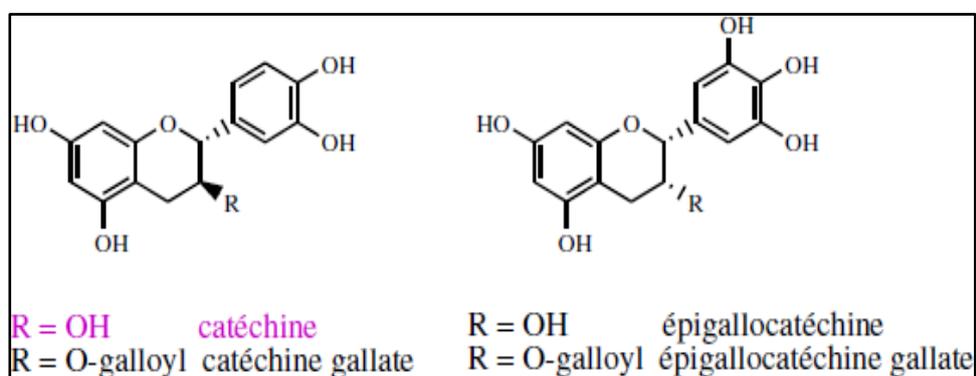


Figure 20 : Structures chimiques de certains flavan-3-ols (Chira *et al.*, 2008).

- **Anthocyanidines**

Ce sont des pigments, principalement sous formes de glycosides stables et hydrosolubles, rouges en milieu acide, virant au bleu-violet en milieu neutre ou faiblement alcalin (Košir *et al.*, 2004) (figure 21). Les composés les plus courants sont la pélagonidine, la cyanidine et la malvidine (Vitrac *et al.*, 2005).

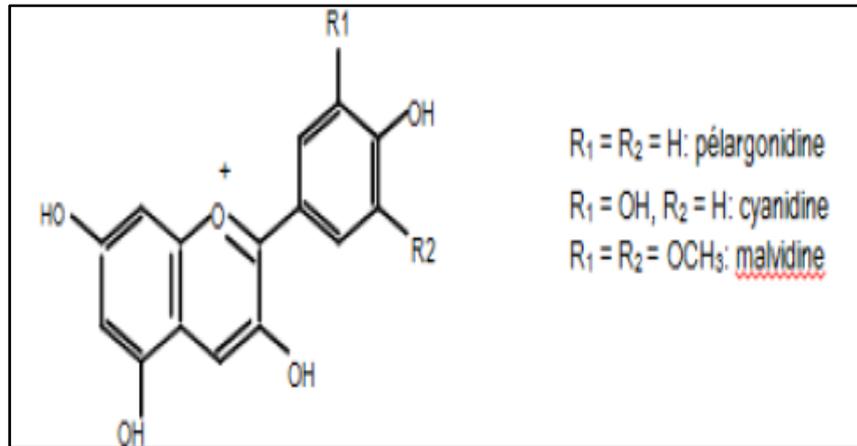


Figure 21 : Structure chimique de quelques anthocyanidines courantes (Han *et al.*, 2007).

**1-4-4-2- Pharmacocinétique des flavonoïdes**

- **Biodisponibilité**

Les études de (Vanessa *et al.*, 2003) montrent que cette biodisponibilité dépend de trois facteurs essentiels : la capacité de transport à travers la bordure en brosse des anthérocytes, l'intensité de la sécrétion intestinale des flavonoïdes conjugués vers la lumière intestinale et vers le sang et de la capacité de la sécrétion biliaire. Les flavonoïdes présentent une faible biodisponibilité avec une élimination lente qui diffère d'un flavonoïde à l'autre. En prenant comme exemple, la quercétine, le principal flavonoïde consommé par l'homme dans ses aliments (persil, oignon, myrtilles, cerises) (Remesy *et al.*, 1996), après 174 min, un temps de demi-vie d'absorption de 52 min, de distribution de 228 min et d'élimination de 1008 min. In vitro, le pouvoir antioxydant de nombreux flavonoïdes est supérieur à celui de la vitamine C et de la vitamine E (Elicoh-Middleton *et al.*, 2000).

- **Absorption intestinale et métabolisme**

Les flavonoïdes sont présents dans notre alimentation sous plusieurs formes. Cette particularité va leur conférer des métabolismes différents. Les formes libres (aglycones) peuvent être directement absorbées au niveau de l'intestin grêle, tandis que les formes glycosylées doivent être hydrolysées, sous l'influence des glycosidases, par la flore intestinale au niveau du côlon avant d'être absorbées (Manach *et al.*, 2004). Cependant les formes libres issues de cette

hydrolyse peuvent également être dégradées par la microflore en acide phénolique, lui-même absorbé ou éliminé via les fèces (Williams *et al.*, 2004). Les principaux sites de métabolisme sont la flore intestinale et le foie (Haslam, 1998). Les métabolites, glucuro- et sulfoconjugués des flavonoïdes absorbés sont éliminés principalement par la bile, l'excrétion urinaire ne représentant que 3 à 6 % de l'élimination totale. En effet, les flavonoïdes sont transformés, dans l'entérocyte, en flavonoïdes conjugués par méthylation, sulfatation, glucuronidation (Crespy *et al.*, 2004). Une partie de ces flavonoïdes est déversée dans le sang tandis qu'une autre est destinée vers la lumière intestinale ce qui constitue l'un des mécanismes de contrôle de l'absorption intestinale de ces substances phénoliques (Gee *et al.*, 2000 ; Crespy *et al.*, 2004).

Dans le sang, les flavonoïdes ne sont pas présents sous leur forme native car ils ont été transformés, à cause de leur transformation au niveau du foie et de la cellule intestinale. La fraction des flavonoïdes conjugués destinée finalement vers les tissus pourrait avoir un effet biologique potentiel ou serait éliminée dans les urines. Cependant, d'autres flavonoïdes conjugués pourraient être déversés dans l'intestin via la bile et y être hydrolysés par les enzymes de la flore intestinale libérant ainsi de nouveaux aglycones en constituant probablement un recyclage entérohépatique des flavonoïdes qui permet le maintien d'une concentration non négligeable dans le sang (Manach *et al.*, 1995 ; Rechner *et al.*, 2000).

#### - *Distribution des flavonoïdes*

Les flavonoïdes se répartissent dans les organes aériens jeunes (jeunes feuilles, boutons floraux) où ils sont localisés dans les tissus superficiels (assise palissadique), et parfois dans les racines (Milane, 2004). Au niveau cellulaire, les flavonoïdes de type hétérosides, sont dissous dans le suc vacuolaire ou localisés dans les chloroplastes et les membranes des végétaux (Bruneton, 1993). Chez les angiospermes la diversité structurale des flavonoïdes est maximale avec une trentaine de flavonoïdes identifiés chez les Astéracées. En définitive, les flavonoïdes possèdent une large répartition dans le monde végétal. Le tableau 2 illustre la répartition des 4-oxo-flavonoïdes dans quelques fruits et légumes (Bruneton, 1993 ; Milane, 2004).

#### **1-4-4-3- Les activités biologiques des polyphénols**

##### - *Activité antioxydant*

Les antioxydants sont définis comme des composés qui peuvent inhiber ou empêcher l'oxydation des matières oxydables par les radicaux libres et en diminuant le stress oxydatif. Ils sont des composés qui protègent les cellules du corps des dommages causés par les radicaux libres (Ames *et al.*, 1993 ; Willcox *et al.*, 2004).

Les flavonoïdes sont des composés avec une activité anti-oxydante prononcée (Hodek *et al.*, 2002), qui sont considérés comme des agents antioxydants très puissants en raison de leur structure, se rapportant en particulier à la position des groupements hydroxyles sur les noyaux aromatiques et la capacité des composés aromatiques à supporter une délocalisation électronique importante (Liyana – Pathirana and Shahidi, 2006 ; Wang *et al.*, 2010 ; Soocheon *et al.*, 2013), les flavonoïdes expriment les propriétés anti-oxydante par : le piégeage direct des espèces réactive de l'oxygène (ERO), La suppression de la formation des ERO par l'inhibition de quelques enzymes ou par chélation des ions métalliques impliqués dans leur production (Boudiaf, 2006).

Et les principaux facteurs qui déterminent la capacité de piègeur de radicaux :

- l'ortho-dihydroxy structure sur le cycle B, qui a la meilleure propriété électro-donneuse et confère une plus grande stabilité à la forme radicale et participe à délocalisation des électrons (Bouabid and Zatout, 2015).

- La 2,3 double liaison avec une fonction 4 – oxo dans l'anneau C, qui est responsable de délocalisation des électrons de l'anneau B (Bouabid and Zatout, 2015).

- Les 3 et 5 groupes hydroxyle avec la fonction 4-oxo dans les anneaux A et C, qui sont essentiels pour un maximum potentiel piègeur de radicaux (Bouabid and Zatout, 2015).

- Le groupe 3-hydroxyle est important pour l'activité antioxydante. Les 3-glycosylations réduit leur activité lorsque ils sont comparées avec aglycones correspondantes (Bouabid and Zatout, 2015).

C'est pourquoi les propriétés anti-oxydantes des polyphénols son souvent associées, à leur potentiel anti radicalaire. De nombreuses études soutiennent le fait que l'activité antioxydant des polyphenols est essentiellement liée à leur capacité de réduire les espèces réactives de l'oxygène comme les supéroxyde, hydroxyles, peroxylys, et alkoxylys par transfert d'hydrogène (Fiorucci, 2006).

D'autre part ; les flavonoïdes sont capables d'inhiber la peroxydation lipidique causée par les ERO dans la bicouche phospholipidique, du fait leur caractère hydrophile, ils peuvent interférer avec les réactions en chaine à l'interface des membranes et prévenir ainsi la propagation de ces réactions en chaine (Cillard, 2006).

#### - *Activité pro-oxydante*

Parfois les flavonoïdes jouent un rôle de Pro-oxydants. En effet, plusieurs d'entre eux ont été décrits comme responsables d'auto-oxydation et de la génération de radicaux oxygénés actifs, comme le proxy de l'hydrogène. Certains flavonoïdes pourraient accéder la survenue de l'atteinte oxydative de l'ADN, des protéines et des glucides in vitro (Milane, 2004).

L'effet pro-oxydant des flavonoïdes à la capacité de ces flavonoïdes à s'auto-oxyder, en engendrant les formes semiquinones et quinones ainsi que la production de ERO (Van Der Wound *et al.*, 2005 ; Award *et al.*, 2015) et la présence d'une double liaison en position 2, 3 et de la fonction carbonyle en position 4 permet une isomérisation de la forme quinone en méthides de quinones connues pour être responsables d'altérations sur les acides nucléiques et les acides aminés (Hadj Salem, 2009).

Et l'activité pro-oxydante des substances est le résultat de leur capacité à réduire les métaux comme le  $Fe^{+3}$  pour donner  $Fe^{+2}$  lequel réagira avec  $O_2$  ou  $H_2O_2$  avec génération d'initiateurs de l'oxydation (Kessler *et al.*, 2002).

#### - **Activité antimicrobienne**

Les polyphénols sont doués d'activités antimicrobiennes importantes et diverses, probablement du à leurs diversités structurales. Les sites et le nombre des groupes hydroxyles sur les groupes phénoliques sont supposés être reliés à leur relative toxicité envers les microorganismes, avec l'évidence que le taux d'hydroxylation est directement proportionnel à la toxicité (Cowan, 1999).

L'activité antimicrobienne est donc anti-infectieuse des flavonoïdes a été démontrée par de nombreuses études, cette activité est due principalement à la capacité des ces molécules à inhiber l'expression de l'ADN et la synthèse de certaines enzymes et protéines membranaires des microorganismes (Ulanowska *et al.*, 2006), et les flavonoïdes affecteraient la réplication intracellulaire et atténueraient les propriétés infectieuse de bactéries et virus (Ghedira, 2005).

#### - **Activité anti-inflammatoire**

Les flavonoïdes possèdent entre autre une capacité anti-inflammatoire (Kim *et al.*, 2004), ils sont susceptibles de diminuer la libération d'histamine des basophiles et des mastocytes. La quercitrine a une effet anti-inflammatoire en inhibant quelques enzymes de synthèse tel que la cyclooxygénase (Gonzalez *et al.*, 2007).

A doses élevées, les flavonoïdes inhibent les fonctions lymphocytaires mais à concentrations plus faibles, ils pourraient agir comme immunostimulant chez les sujets immunodéprimés, et la capacité des flavonoïdes pour inhiber la formation des eicosanoïdes et de l'histamine et de leur pouvoir piègeur des radicaux libre d'autre part (Ghedira, 2005).

#### - **Emplois thérapeutiques des flavonoïdes**

L'utilité thérapeutique de ces composés à été démontrée dans les hémorragies gastro intestinales, avortement habituel, ménorragie, cystite saignante, tuberculose hémoptysie, la

maladie de Meniere, épistaxis, rétinopathie, hémorroïdes et syndrome de Raynaud. Ils ont été fréquemment combinés avec la vitamine K et l'acide ascorbique (Laboudi, 2012).

Dans le domaine capillaro-veineux que l'on utilise les flavonoïdes; ce sont les constituants habituels des vasculo-protecteurs et veinotoniques et des toniques utilisés en phlébologie (Billami, 2016). Et la plupart des spécialités actuellement disponibles ont des indications ou propositions d'emploi suivantes:

- Traitement des symptômes en rapport avec l'insuffisance veino-lymphatique (jambes lourdes, douleurs, impatiences des primo-décubitus).
- Traitement des signes fonctionnels liés à la crise hémorroïdaire.
- Amélioration des troubles de la fragilité capillaire au niveau de la peau.
- Traitements des métrorragies lors de la contraception par micro-progestatifs et des métrorragies dues au port du stérilet.
- Traitement du lymphoedème du membre supérieur après traitement radio-chirurgical du cancer du sein (Bruneton, 1999).

#### - ***Le rôle des flavonoïdes contre le cancer***

Les polyphénols pourraient être utilisés comme des agents de prévention de différentes maladies cancéreuses (Stagos *et al.*, 2010), ils sont des composés bioactifs puissants qui interfèrent avec l'initiation, le développement et la progression du cancer par des processus critiques (Yang *et al.*, 2013).

Les propriétés anticancéreuses des flavonoïdes peuvent être expliquées par les mécanismes suivants :

- Induction de l'apoptose des cellules tumorales (Tabar, 2011).
- Protection contre les dommages oxydatifs sur l'ADN grâce à leur capacité de réduction des radicaux libres (Tabar, 2011), et la catéchine, quand à elle, est un inhibiteur de certaines réactions d'oxydation donnant un ADN anormal, elle inhibe la formation du 8-hydroxydesoxyguanosine (8-OHDG), un marqueur des dommages oxydatifs de l'ADN (Pietta, 2000 ; Tomofujiat *et al.*, 2009). Les polyphénols peuvent agir comme agents bloquants au stade de l'initiation. Ils influencent le métabolisme des procarcinogènes en modulant l'expression des enzymes du cytochrome P450 impliquées dans leur activation à des agents cancérogènes. Ils peuvent également faciliter leur excrétion en augmentant l'expression des enzymes conjuguantes de phase II (Scalbert *et al.*, 2005).

### 1-5-Le rôle protecteur des composés phénoliques contre la toxicité induite par la doxorubicine dans le testicule

La doxorubicine est le composé de chimiothérapie qui a été le plus étudié pour l'induction de stress oxydatif testiculaire (Chen *et al.*, 2007), elle augmente les dommages aux protéines et l'ADN cause aussi la peroxydation des lipides qui résultant à l'augmentation des ERO. Et le facteur p53 joue un rôle ambigu concernant la régulation du stress et capable de répondre au stress oxydatif en déclenchant l'apoptose et d'autre part de réguler le stress oxydant par des mécanismes de défense. La glutaminase 2 (GS2), et le NRF2 (est un facteur de croissance majeur de la réponse antioxydant) sont permettant la régulation de plusieurs antioxydants (Prahalthan *et al.*, 2006).

Les composés phénoliques peuvent inhiber le stress oxydatif et éliminer les radicaux libre et améliorer les mécanismes de défense antioxydants cellulaires dans les cellules, La forte tendance des composés phénoliques à chélate les métaux joue un rôle important dans leur activité antioxydant, les composés possèdent des groupes hydroxyle et carboxyle qui sont jouer un rôle dans la génération des ROS. D'autre part, les composés phénoliques piègent le radical alcoyle lipidique et inhibent ensuite la peroxydation lipidique (Amedjoudj *et al.*, 2017).

Les flavonoides ont des activités antioxydants et le doxorubicine réagit également avec le membrane plasmique induisent la peroxydation des lipides et la production des ERO (Rochette *et al.*, 2015).

La doxorubicine a long temps été largement utilisée pour sa puissante efficacité dans le traitement des tumeurs malignes solides et non solides (Thorn *et al.*, 2011). Cependant, son utilisation clinique s'est accompagnée d'effets indésirables sur le système reproducteur masculin (Sridevi *et al.*, 2012). Le mécanisme exact de la toxicité testiculaire induite par la doxorubicine est peu connu, mais des études antérieures ont fourni des preuves que la doxorubicine retarde la croissance testiculaire, empêche le processus de spermatogenèse, ce qui conduit finalement à l'infertilité masculine en imposant un stress oxydatif et une apoptose cellulaire (Yeh *et al.*, 2007). Le médicament s'intercale dans les brins d'ADN et entraîne des ruptures d'ADN double brin et la mort cellulaire (Gewirtz, 1999 ; Thorn *et al.*, 2011).

Le stress oxydatif testiculaire induit par la doxorubicine peut être dû à un système de défense antioxydant faible dans le tissu testiculaire et le sperme (Gu and Hecht, 1997 ; Yeh *et al.*, 2007). Sur la base de ce concept, une variété d'antioxydants ont été utilisés pour protéger les testicules des lésions de la doxorubicine (Attia *et al.*, 2010 ; Shalizar Jalali and Hasanzadeh, 2013).

Plusieurs études ont prouvé le rôle des plantes médicinales riches en polyphénols et flavonoïdes dans la réduction de la toxicité de la doxorubicine au niveau des testicules. L'extrait aqueux du fruit de la plante *Crataegus monogyna* a été étudié, car cet extrait est riche en proanthocyanidines et flavonoïdes (Ljubuncic *et al.*, 2005), et de nombreux composés phénoliques ayant des propriétés cytoprotectrices par piégeage des radicaux (Bahorun *et al.*, 1994). Le co-traitement *Crataegus monogyna* compenserait efficacement l'impact oxydatif imposé par la doxorubicine sur les paramètres testiculaires et spermatozoïdes grâce à la restauration du système de défense antioxydant (Shalizar Jalali and Hasanzadeh, 2013). Aussi, une expérience a montré que les extraits de thé vert atténuent les troubles spermatogénés induites par la doxorubicine en conjonction avec une activité télomérase plus élevée chez les souris. Donc le thé est un polyphénols permettent de neutraliser les radicaux libres, inhibent les dommages oxydatifs et dysfonctionnement cellulaire en agissant comme agents chimiopréventifs (Kenji *et al.*, 2010). Des résultats similaires ont également été décrits dans l'extrait du fruit de la plante *Rosa canina*, car cet extrait est riche en proanthocyanidines et flavonoïdes (Chrubasik *et al.*, 2008), ont un effet protecteur dans la réduction de la mutagenèse induite par la doxorubicine et des changements de prolifération cellulaire dans les cellules somatiques et germinales, ainsi que dans l'amélioration des paramètres du sperme des souris car elle sert de piègeurs de radicaux libres et d'antioxydants (Attia *et al.*, 2010 ; Nowrouzi *et al.*, 2019).

conclusion

### Conclusion

Le fonctionnement normal des organes nécessite un équilibre entre les antioxydants et les pro-oxydant, un déséquilibre peut être rectifié par des systèmes internes comme le superoxyde dismutase (SOD), les catalases (CAT). Ces systèmes sont insuffisants en cas d'une chimiothérapie donc la combinaison entre des sources internes et d'autre externe pour l'élimination la menace.

Le traitement avec la doxorubicine indirectement a affecté les testicules par provoquer un stress oxydatif ce qui a conduit à des plusieurs problèmes au niveau des testicules tels que: une infertilité masculine et même le cancer.

Les polyphénols sont majoritairement issus de sources végétales, qui permettent de lutter contre la formation des radicaux libre qui conduite a une infertilité masculine défini par un problème de spermatogenèse qui se traduit par : incapacité des cellules germinales de se divisés ou proliférés, déficit de mobilité, malformation des spermatozoïdes, les polyphénols a une capacité de réparé ce problème par la diminution de la quantité massive des radicaux libres donc équilibre dans l'organe. D'autre coté de l'infertilité défini par un problème hormonale, aussi les polyphénols a peut réparer par la diminution du taux des radicaux libre et exercé un feed-back qui contrôle la libération du LH et FSH. Aussi Les polyphénols préviennent la formation des tumeurs, ils empêchent la formation des agents à l'origine des mutations génétiques nocives. Donc la doxorubicine est un agent chimio-toxique pour les testicules qui empêche leurs fonctionnements normaux.

# Références bibliographiques

## Références bibliographiques

- Abidli N. (2004).** Effect of verapamil on resistance to doxorubicin in mice bearing Ehrlich Ascites Carcinoma cells. Its influence on dox-induced cardiotoxicity and hepatotoxicity. Thèse de doctorat de l'université de Mentouri de constantine, Algérie; pp : 28-39.
- Accord Healthcare Limited. (2017).** Résumé des caractéristiques du produit: Doxorubicin Accord Healthcare. Royaume-Uni, <http://bijsluiters.fagg-afmps.be/DownloadLeafletServlet?id=105335> (Consulté le 22 janvier 2018).
- Aghae F., Islamian JP., Baradaran B., Mesbahi A., Mohammadzadeh M., Jafarabadi MA. (2013).** Enhancing the Effects of Low Dose Doxorubicin Treatment by the Radiation in T47D and SKBR3 Breast Cancer Cells, *Journal of breast cancer* 16 (2), 164-170.
- Aguilera-Carbo A., Augur C., Prado-Barragan L. A., Favela-Torres E., Aguilar C N. (2008).** Microbial production of ellagic acid and biodégradation of ellagitannins. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 78: 189-199.
- Alkuraishy HM., Al-Gareeb AI., AL-Hussaniy HA. (2017).** Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity: Molecular Mechanism and protection by Conventional Drugs and Natural Products. *International Journal of Clinical Oncology and cancer Research*, 2(2):31-44.
- Allard J., Royall D., Kurian R., Muggli R., Jeejeebhoy K. (1994).** Effects of  $\beta$ -carotene supplementation on lipid peroxidation in humans. *Am J Clin Nutr*; 59: 884-90.
- Amann RP. (2011).** Physiology and Endocrinology. In: Mc KINNON AO, SQUIRES EL, VAALA WE, VARNER DD (eds), *Equine Reproduction*, 2ed. United Kingdom: Wiley-Blackwell, pp. 881-908.
- Amedjoudj N., Bounal R., Menzer M. (2017).** Les polyphénols de l'extrait n-butanol d'une plante médicinale de la famille des Rosacées: Evaluation de leur pouvoir antioxydant et protecteur vis-à-vis la toxicité de la doxorubicine. Université des Frères Mentouri Constantine, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Département de Biologie Animale P :32.
- Ames B.N., Shigenaga M.K., Hagen T.M. (1993).** Oxidants, Antioxidants, and the Degenerative Diseases of Aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 90, 7915-7922.
- Attia S.M., Al-Bakheet S.A., Al-Rasheed N.M. (2010).** Proanthocyanidins produce significant attenuation of doxorubicin-induced mutagenicity via suppression of oxidative stress. *Oxid Med Cell Longev* 2010, 3(6), 404-413.
- Award H. M., Boersma M. G., Boeren S., Van Bladeren P. J., Vervoort J., Rietjens I. M. C. M. (2015).** Structure- Activity study on the quinone/quinone methide chemistry of flavonoids. *chem. Res toxicol*. 14 398-408.

- Bahorun T., Trotin F., Pommery J., Vasseur J., Pinkas M. (1994).** Antioxidant activities of *Crataegus monogyna* extracts. *Planta Medica* 1994, 60(4), 323–328.
- Bakker M., Graaf W. T. A. V. D., Groen H. J. M., Smit E. F., Vries E. G. E. D. (1995).** Anthracyclines Pharmacology and resistance, a review. *ResearchGate* 1(1): 133-144. Bensakhria A. 2018. TOXICITÉ AIGUË. Chapitre II. Research Gate.
- Balasundram N., Sundram K., Samman S. (2006).** Phenolic compounds in plants and agriindustrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*. 99 : 191–203.
- Barthelemy C. (2003).** Indications de la recherche des anticorps antispermatozoïdes. *Andrologie*, 13: 70-80.
- Berger M. M. (2006).** Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances. *Nutr. Clin. Métabolisme* 20:48-53.
- Billami CH. (2016).** Mémoire de fin d'étude du master, université Abdelhamid Ibnbadis – Mostaghanem, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Département de biologie P (12).
- Blanc B and Porcu G. (2002).** Stérilité. Collection stratégie diagnostique et thérapeutique en gynécologie. Editions : Arnette. 19-462 p.
- Boonstra J and Post JA. (2004).** Molecular events associated with reactive oxygen species and cell cycle progression in mammalian cells. *Gene* 337:1-13.
- Bouabid M and Zatout N. (2015).** l'activité biologique de l'extrait butanolique de la plante Geista SP : Effet sur l'hépatotoxicité induit par la doxorubicine, université des Frères Mentouriconstantine, Faculté des sciences de la nature et de la vie, département de biologie, p :25.
- Bouaouina D., Boulhabel H, R., Bousba E. (2017).** L'effet préventif de la plante médicinale Algérienne *Salvia Officinalis* contre la toxicité cardiaque induite par la Doxorubicine. Mémoire de Master. Constantine : Université des Frères Mentouri, (101 p).
- Bouchard L. (2005).** Ce qu'il faut savoir sur la chimiothérapie. Université de Montréal, faculté des sciences infirmières, p : 9-10.
- Bouchelaghem A and Serour M. (2017).** Etude Prospective de 110 cas d'infertilité masculine dans la wilaya de Bouira. Université Akli Mohand Oulhadj – Bouira. Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre. Département de Biologie. P : 19-29.
- Boudiaf K. (2006).** Etude des effets anti-xanthine oxydoreductase et anti-radicalaires des extraits des graines de *Nigella sativa*. Mémoire de magister -Université de Sétif Algérie.
- Bourenane N. (2015).** L'appareil génital masculin. Cours Embryologie Humaine. Faculté de Médecine. Département de Médecine, (1 p).

- Brilhante O., Okada F.K., Sasso-Cerri E., Stumpp T., Miraglia S.M. (2012).** Late morfofunctional alterations of the Sertoli cell caused by doxorubicin administered to prepubertal rats. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 10, 79.
- Brown E., Hurd NS., McCall S., Ceremuga TE. (2007).** Evaluation of the anxiolytic effects of chrysin, a *Passiflora incarnata* extract, in the laboratory rat. *AANA J* 75:333–7.
- Bruneton J. (1999).** *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. In: *Technique et Documentation Lavoisier*, Paris.
- Bruneton J. (1993).** *Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. La Voisier TEC et DOC*, Paris. 2ème édition. p.268-277.
- Bruneton J. (2008).** Acides phénols. In: *Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. Ed: Tec & Doc. Lavoisier, Paris.* pp 198-260.
- Campos F. C., Panis C., De Rossi T., Victorino V. J., Cecchini A., Cecchini A., Cecchini R. (2012).** Aspects related to oxidative stress-mediated toxicity of doxorubicin during chemotherapy treatment. *Applied Cancer Research* 32(1).
- Charlier HA., Olson RD., Thornock CM., Mercer WK., Broyles TS. (2005).** Investigations of calsequestrin as a target for anthracyclines: comparison of functional effects of daunorubicin, daunorubicinol, and trifluoperazine, *Molecular pharmacology* 67, 1505-1512.
- Chauvergne J and Hoerni B. (2001).** *Chimiothérapie anticancéreuse*. Paris :Masson.
- Chen H.Q., Jin Z.Y., Wang X.J., Xu X.M., Deng L., Zhao J.W. (2008).** Luteolin protects dopaminergic neurons from inflammation-induced injury through inhibition of microglial activation. *Neurosci Lett*.
- Chen Y., Jungsuwadee P., Vore M., Butterfield DA., Clair DKS. (2007).** Collateral Damage in cancer chemotherapy: oxidative stress in Nontargeted tissues. *Molecular interventions* ;7 (3): 147 -156.
- Chira K., Such J., Saucier C., Teissèdre L. (2008).** Les polyphénols du raisin. *Ed : Springer.* 6 :75-82.
- Chrubasik C., Roufogalis B.D., Müller-Ladner U., Chrubasik S. (2008).** A systematic review on the *Rosa canina* effect and efficacy profiles. *Phytother Res* 2008, 22(6), 725–733.
- Cillard J and Cillard P. (2006).** Mécanismes de la peroxydation lipidique et de Anti-oxydation Oléagineux- corps gras – lipides, 13: 24-29. *trends Pharmacol saci* 36 (6) 326-48.
- Cowan M. M. (1999).** Plant products as antimicrobial agents. *ClinicalMicrobiologieRev.*12(4):564-82.

- Crespy V., Morand C., Besson C., Manach C., Denigne C., Remesy C. (2004).** Comparaison of the intestinal absorption of quercetin, phloretin and their glucosides in rats. *J Nutr*, 131: 2109-2114.
- Crozier A. (2003).** Classification and biosynthesis of secondary plant products: an overview. In *Plants' Diet and Health*. Ed. Goldberg. pp: 27-48.
- D'archivio M., Filesi C., Di Benedetto R., Gargiulo R., Giovannini C., Masella R. (2007).** Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Annali-dell'Istituto-Superiore-di-Sanità*. 43(4) : 348-361.
- Dalto DB and Matte JJ. (2017).** Pyridoxine (Vitamin B(6)) and the Glutathione Peroxidase System; a Link between One-Carbon Metabolism and Antioxidation. *Nutrients* 9(189):1-13.
- de Kretser D M., J J Buzzard., Y Okuma., A E O'Connor., T Hayashi., Shyr-Yeu Lin., J R Morrison., K L Loveland., M P Hedger. (2004).** *The role of activin, follistatin and inhibin in testicular physiology*. *Mol Cell Endocrinol*, 2004. 225(1-2): p. 57-64.
- Debuigne G. (2006).** Petit Larousse des plantes qui guérissent: 500 plantes. ISBN 13 9782035822567.
- Desplat L. (2016).** Exposition du personnel des établissements de soin aux médicaments anticancéreux, mémoire de master PRNT, Faculté de pharmacie, p : 06.
- Devasagayam T. P., Tilak J. C., Boloor K. K., Sane K. S., Ghaskadbi S. S. Lele R. D. (2004).** Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *J Assoc Physicians India*. 52: 794-804.
- Druzyńska B., Stepińska A., Wolosiak R. (2007).** The influence of time and type of solvent on efficiency of the extraction of polyphenols from green tea and antioxidant properties obtained extracts. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*. 6: 27-36.
- Duthie G. G., Gardner P. T., Kyle J. A. (2003).** Plant polyphenols: are they the new magic bullet? *Proc Nutr Soc* 62, 599-603, doi:10.1079/PNS2003275.
- El Hajjami H. (2017).** Infertilité masculine : Profil épidémiologique et clinique., Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, faculté de médecine et de pharmacie. P 59-71.
- Elicio-Middleton Jr., Chithan K., Theoharis C., (2000).** Effect of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart diseases and cancer. *Pharmacology and Experimental therapeutics*, 4(52): 673-751.
- Favier A. (2003).** Le Stress Oxydant. Intérêt Conceptuel Et Expérimental Dans La Compréhension Des Mécanismes Des Maladies Et Potentiel Thérapeutique. *L'actualité Chimique*-Novembre-Décembre. P: 108-115.
- Favier A. (2006).** Oxidative stress in human diseases. *Ann. Pharm. Fr.* 64: 390-396.

- Fiorucci S. (2006).** Activités biologiques de composés de la famille des flavonoïdes : Approches par des méthodes de chimie quantique et de dynamique moléculaire.
- Gee J., Dupont M. S., Day A. J., Plumb G. W., Williamson G., Johnson I. J. (2000).** Intestinal transport of quercetin glucosides in rats involves both deglycosylation and interaction with the hexose transport pathways. *J Nutr*, 130:2765-2771.
- Geneviève WILLSON-PLAT. (2004).** Etude épidémiologique de la cardiotoxicité des anthracyclines chez l'enfant : série Personnelle de 249 enfants. Thèse De Doctorat. Université Henri Poincaré, Nancy 1. Faculté De Médecine De Nancy, (26-28 p).
- Gerhard R. (1993).** Métabolisme des végétaux, physiologie et biochimie. *Lavoisier Tec and Doc*, pp 333-339.
- Gerl A., Mühlbayer D., Hansmann G., Mraz W., Hiddemann W. (2001).** The impact of chemotherapy on Leydig cell function in long term survivors of germ cell tumors. *Cancer* 2001, 91, 1297–1303.
- Gewirtz D.A. (1999).** A critical evaluation of the mechanisms of action proposed for the antitumor effects of the anthracycline antibiotics adriamycin and daunorubicin. *Biochem Pharmacol* 1999, 57(7), 727–741.
- Ghedira K. (2005).** Les flavonoïdes: structures, propriétés biologiques, rôles prophylactiques et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*. 04: 162-169.
- Gilgun-Sherki Y., Melamed E., Offen D. (2001).** Oxidative stress induced neurodegenerative diseases: the need for antioxidants that penetrate the blood brain barrier. *Neuropharmacology* 40: 959-975.
- Gonzalez J., Hernandez J., Ibarra O., Gomez J., Fuentes V. (2007).** *Poultry By-Product Meal as a Feed Supplement* in Mid-Lactation Dairy Cows. *J. Anim. Vet. Adv*, 6:139-194.
- Granados-Principal S., Quiles JL., Ramirez-Tortosa CL., Sanchez-Rovira P., Ramirez-Tortosa MC. (2010).** New advances in molecular mechanisms and the prevention of adriamycin toxicity by antioxidant nutrients. *Food Chem Toxicol* 48(6):1425-1438.
- Greff M. (2011).** Post'U FMC-HGE, Springer Edition. 39.
- Gu W and Hecht N.B. (1997).** The enzymatic activity of Cu/Zn superoxide dismutase does not fluctuate in mouse spermatogenic cells despite mRNA changes. *Exp Cell Res* 1997, 232(2), 371–375.
- Gudjoncik A., Guenancia C., Zeller M., Cottin Y., Vergely C., Rochette L. (2014).** Iron, oxidative stress, and redox signaling in the cardiovascular system. *Molecular nutrition & food research*, 58(8), 1721-1738.

- Gustafson D.L., Rastatter J.C., Colombo T., Long M. E. (2002).** Doxorubicin pharmacokinetics: Macromolecule binding, metabolism, and excretion in the context of a physiologic model. *J Pharm Sci* 91(6): 1488-501.
- Hadj Salem J. (2009).** Extraction, identification, caractérisation des activités biologiques de flavonoïdes de *Nitrariaretusa* et synthèse de dérivés acylés de ces molécules par voie enzymatique, Institut National Polytechnique De Lorraine, Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires, Laboratoire des Sciences du Génie Chimique. P :37.
- Haider S.G. (2004).** *Cell biology of Leydig cells in the testis.* *Int Rev Cytol.* 233: p. 181-241.
- Han X.H., Hong S.S., Hwang J.S., Lee M.K., Hwang B.Y., Ro J.S. (2007).** Monoamine oxidase inhibitory components from *Cayratia japonica*. *Archives Pharmacal Research.* 30:07-13.
- Hande K. R. (1998).** Clinical applications of anticancer drugs targeted to topoisomerase II. *BiochimBiophysActa*, 1400: 173-184.
- Hanna AD., Janczura M., Cho E., Dulhunty AF., Beard NA. (2011).** Multiple actions of the anthracycline daunorubicin on cardiac ryanodine receptors. *Molecular pharmacology.* 80:538-549.
- Haslam E.T. (1998).** Bitterness and astringency. In: *Practical polyphenolics* (from structure to molecular recognition and physiological action) *Cambridge University Press*, pp. 178-225.
- Hermo L., Pelletier R-Marc., Daniel G Cyr., Charles E Smith. (2010).** Surfing the wave, cycle, life history, and genes/proteins expressed by testicular germ cells. Part 1: background to spermatogenesis, spermatogonia, and spermatocytes. *Microsc Res Tech.* 73(4): p. 241-78.
- Hodek P., Trefil P., Stiborova M. (2002).** Flavoides potent and versatile biologically.
- Hollman P. C., Bijlsman M. N., Van-Gameren V., Gnossen E. P., De Vris J. H., Hatan M. B., (1999).** The sugar moiety is a major determinant of the absorption of dietary flavonoids glycosides in man. *Free radical Res.* 31: 569-573.
- Hori T., Ono K., Nishi H., Nagao K., Kinoshita M., Watanabe S. (2010).** Acute doxorubicin cardiotoxicity is associated with miR-146a-induced inhibition of the neuregulin-ErbB pathway, *Cardiovasc Res.* 2010; 87(4): 656-64.
- Hortobágyi GN. (1997).** Anthracycline in the treatment of cancer. *Drugs.* 54(suppl.4) : 1-7.
- Hou M., chryss D., Nurmio M., Parvienen M., Eksborg S., Soder O., Jahnukainen K. (2005).** Doxorubicin induces apoptosis in germ line stem cells in the immature rat testis and amifostine cannot protect against this cytotoxicity. *Cancer Res* 65(21), 9999-10005.
- Howell S.J and Shalet S.M. (2001).** Testicular function following chemotherapy. *Hum. Reprod. Updat.* 2001, 7, 363–369.

- Iarussi et al. Recent Advances. (2001).** In the Prevention of Anthracycline Cardiotoxicity in Childhood *Current Medicinal Chemistry*, Volume 8, Number 13 , pp. 1649-1660 (12).
- Jan S.Z., Hamer G., Repping S., de Rooij D.G., van Pelt, A.M.M., Vormer T.L. (2012).** Molecular control of rodent spermatogenesis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* 1822, 1838–1850.
- Jungwirth A., Giwercman A., Tournay H., Diemer T., Kopa Z., Dohle G., Krausz C. (2012).** European Association of Urology guidelines on male infertility the 2012 update *European Urology*, 62(2), 324-332.
- Kabel AM. (2018).** Zinc/alogliptin combination attenuates testicular toxicity induced by doxorubicin in rats: Role of oxidative stress, apoptosis and TGF- $\beta$ 1/NF- $\kappa$ B signaling. *Biomed Pharmacother*, 97:439-449.
- Kalyanaraman B. (2013).** Teaching the basics of redox biology to medical and graduate students: Oxidants, antioxidants and disease mechanisms. *Redox Biol* 1:244-257.
- Kaneko T., Iuchi Y., Kobayashi T., Fujii T., Saito H., Kurachi H., Fujii J. (2002).** The expression of glutathione reductase in the male reproductive system of rats supports the enzymatic basis of glutathione function in spermatogenesis. *European journal of biochemistry* 269(5):1570-1578.
- Kang J., Lee Y., No K., Jung E., Sung J., Kim Y., Nam S. (2002).** Ginseng intestinal metabolite-I (GIM-I) reduces doxorubicin toxicity in the mouse testis. *Reprod Toxicol* 16(3), 291- 298.
- Kara A Wahiba. (2018).** Effet des extraits de la plante médicinale *Ruta montana* (الفيجل) sur la cardiotoxicité induite par la doxorubicine et sur la multi-drug résistances (MDR) des cellules cancéreuses ovarien (A2780). Thèse De Doctorat. Constantine : Université des Frères Mentouri, (184 p).
- Kato M., Makino S., Kimura H., Ota T., Furuhash T., Nagamura Y. (2001).** Sperm motion analysis in rats treated with adriamycin and its applicability to male reproductivetoxicity studies. *J Toxicol Sci* 26:51–9.
- Kenji Sato., Kou Sueoka., Reiko Tanigaki., Hiroto Tajima., AkiraNakabayashi., Yasunori Yoshimura., Yoshihiko Hoso. (2010).** Green tea extracts attenuate doxorubicin-induced spermatogenic disorders in conjunction with higher telomerase activity in mice, *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*.
- Kessler RC., Andrews G., Colpe LJ., Mroczek DK., LiseNormnd S. (2002).** Short screening scales to monitor population prevalences and trends in non-specific psychological distress. *Psychological Medicine*. 32(6): 959-76.

- Kim YO., Park S.J., Balaban R.S., Nirenberg M., Kim Y. (2004).** A functional genomic screen for cardiogenic genes using RNA interference in developing *Drosophila* embryos. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 101(1): 159-164.
- Kohler CH. (2011).** L'appareil génital masculin. Collège universitaire et hospitalier des histologistes, embryologistes, cytologistes et cytogénéticiens (CHEC). Université Médicale Virtuelle Francophone.
- Košir I-J., Lapornik B., Andrenšek S., Wondra A., Vrhovšek U., Kidric J. (2004).** Identification of anthocyanins in wines by liquid chromatography, liquid chromatography-mass spectrometry and nuclear magnetic resonance. *Analytica Chimica Acta* . 513: 277-282.
- Laboudi W. (2012).** L'extraction des composés phénoliques à partir des zestes d'agrumes et l'étude de leur activité antiradicalaire, MEMOIRE DE FIN D'ETUDES Pour l'Obtention du Diplôme de Master Sciences et Techniques, Faculté des Sciences Dhar El Mahraz, P :30.
- Lagha S and Smali k. (2016).** Evaluation de l'effet protecteur de l'extrait éthanolique des graines de *Pistacia lentiscus* sur le cancer secondaire induit par le cyclophosphamide sur un modèle animal, Université Abderrahmane Mira de Bejaïa, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Département de Biologie Physico-chimique, P : 04.
- Lakhdari Nadjem. (2013).** Programmation néonatale de l'infertilité mâle : rôle de la dérégulation de l'expression des microarns dans l'apoptose des cellules germinales. Thèse de doctorat. Université paris-sud école doctorale : signalisation et réseaux intégratifs en biologie. P : 21-22.
- Lal S., Mahajan A., Chen WN., Chowbay B. (2010).** Pharmacogenetics of target genes across doxorubicin disposition pathway: a review. *Curr Drug Metab*, 11(1):115-28.
- Lansiaux A and Pourquier P. (2011).** Mécanismes moléculaires et déterminants de la réponse aux inhibiteurs de topo-isomérases II. *Bulletin du cancer* 98(11):1299-1310. Lapointe G. 2004. *Notions de toxicologie* . 2<sup>ème</sup> édition, Bibliothèque nationale du Québec, P.8.
- Lauzon C. (2008).** Etude des mécanismes de toxicité induite par l'adriamycine et sensibilisation des cellules cancéreuses par le choc thermique. Thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire. UNV du Claude-Bernard – Lyon I- Montréal : 124.
- Leaver RB. (2016).** Male infertility: an overview of causes and treatment options, *British Journal of Nursing* (Mark Allen publishing), 25(18), s 35- s 40.
- Lee S.J., Schover L.R., Partridge A.H., Patrizio P., Wallace W.H., Hagerty K., Beck L.N., Brennan L.V., Oktay K. (2006).** American Society of Clinical Oncology Recommendations on Fertility Preservation in Cancer Patients. *JCO* 2006, 24, 2917–2931.
- Lindsay TJ and Vitrikas KR. (2015).** Evaluation and treatment of infertility. *American Family physician* (5), 308-314.

- Liu M., Hales B.F., Robaire B. E. (2014).** Ects of four chemotherapeutic agents, bleomycin, etoposide, cisplatin, and cyclophosphamide, on DNA damage and telomeres in a mouse spermatogonial cell line. *Biol. Reprod.* 90, 72.
- Liyana – Pathirana CM and shahidi F . (2006).** Antioxidant properties of commercial soft and hard winter wheats (*triticum aestivum L* ) and their milling fractions. *Journalo of the science of food and agriculture* ,86 (3): 477-485.
- Ljubuncic P., Azaizeh H., Portnaya I., Cogan U., Said O., Saleh K.A. et al. (2005).** Antioxidant activity and cytotoxicity of eight plants used in traditional Arab medicine. *J Ethnopharmacol* 2005, 99(1), 43–47.
- López G. V., Batthyány C., Blanco F., Botti H., Trostchansky A., Migliaro, E., Rubbo H. (2005).** Design, synthesis, and biological characterization of potential antiatherogenic nitric oxide releasing tocopherol analogs. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 13(20): 5787–5796.
- Luangpraseuth-Prosper Alix. (2015).** *Topaz1*, un gène indispensable à la spermatogénèse. Thèse de doctorat. UNIVERSITE EVRY-VAL-D'ESSONNE. P :36-37.
- Luczaj W., Gegotek A., Skrzydlewska E. (2017).** Antioxidants and HNE in redox homeostasis. *Free Radic Biol Med* 111:87-101.
- Ludwig Sophie. (2011).** Comportement d'un "Perturbateur Endocrinien" et d'un "non Perturbateur Endocrinien" vis-à-vis de la toxicité testiculaire chez le rat. Thèse De doctorat. Université PARIS-SUD 11. P : 84.
- Machado NG., Baldeiras I., Pereira GC.et al. (2010).** Sub-chronic administration of doxorubicin to Wistar rats results in oxidative stress and unaltered apoptotic signaling in the lung. *Chem Biol Interact* 188:478–86.
- Magalhães J., Ascensao A., Padrao AI., Aleixo IM., Santos-Alves E., Rocha-Rodrigues S., Ferreira A., Korrodi-Gregorio L., Vitorino R., Ferreira R., Fardilha M. (2017).** Can exercise training counteract doxorubicin-induced oxidative damage of testis proteome? *Toxicol lett*, 280:57-69.
- Manach C., Morand C., Texier O., FavierM. L., Agullo G., Regerat F., Remesy C. (1995).** Quercetin metabolites in plasma of rats fed diets contaming rutin or quercetin. *J Nutr*, 125: 1911-1922.
- Manach C., Scalbert A., Morand C., Remesty C., Jimenez L., (2004).** Polyphenols: Sources and bioavaiblability. *Amj chin Nutr*, 79 (5): 727-747.
- Manuel T. (2010).** D'anatomie et de physiologie humaines 2eme édition, Gerard J Tortora, Brayen Derrickson.

- Marfak A. (2003).** Radiolyse gamma des flavonoides: Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools: formation des depsides. Thèse de doctorat de l'Universités de Limoges, pp. 24-42.
- Marianne H. (2015).** Etude de la cardiotoxicité induite par les traitements anticancéreux : Rôle d'Epac dans la cardiotoxicité induite par la Doxorubicine, Université Paris –Saclay, Ecolendocrale N° 569ITFA. P :42.
- Marlène C. (2017).** Prise en charge des effets indésirables de la chimiothérapie anticancéreuse à l'officine par homéopathie, aromathérapie et phytothérapie. Université Toulouse III - Paul Sabatier. faculte des sciences pharmaceutiques p 42.
- Mawhinney M and Mariotti A. (2013).** Physiology, pathology and pharmacology of the male reproductive system. *Periodontology 2000* 61(1):232-251.
- Meciad M. (2019).** Etude comparative de la réactivité de la doxorubicine et de son complexe avec l'acide ascorbique par la DFT conceptuelle. Mémoire de Master. Université de Guelma 8 Mai 1945. Faculté des Mathématiques et de l'Informatique et des Sciences de la Matière Département des Sciences de la Matière, (8-9 p).
- Meistrich ML. (2013).** Effects of chemotherapy and radiotherapy on spermatogenesis in humans. *Fertil. Steril.* 100, 1180–1186.
- Meistrich ML., Van Beek ME., Liang JC., Johnson SL., Lu J. (1990).** Low levels of chromosomal mutations in germ cells derived from doxorubicin-treated stem spermatogonia in the mouse. *Cancer Res*, 50: 370-374.
- Meredith AM and Dass CR. (2016).** Increasing role of the cancer chemotherapeutic doxorubicin in cellular metabolism. *J Pharm Pharmacol* 68(6):729-741.
- Micol V., Caturia N., Perez-Fons L., Mas V., Perez L., Estepa A. (2005).** The olive leaf extract exhibits antiviral activity against viral haemorrhagic septicaemia Rhadovirus (VHSV). *Antiviral Research.* 66: 129-136.
- Migdal C and Serres M. (2011).** Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant.
- Milane H. (2004).** La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Thèse de doctorat de l'université de Louis Pasteur ; pp. 13-36.
- Millsop JW., Heller MM., Eliason MJ., Murase JE. (2013).** Dermatological medication effects on male fertility. *Dermatolther*; 26(4): 337-46.
- Minotti G., Menna P., Salvatorelli E., Cairo G., Gianni L. (2004).** Anthracyclines: molecular advances and pharmacologic developments in antitumor activity and cardiotoxicity. *Pharmacological reviews* 56(2):185-229.
- Monassier L. (2012).** Les anticancéreux – DCE M3 pharmacologie à strasbourg.

- Mruk D.D. and C.Y. Cheng. (2004).** *Sertoli-Sertoli and Sertoli-germ cell interactions and their significance in germ cell movement in the seminiferous epithelium during spermatogenesis.* *Endocr Rev*, 2004. 25(5): p. 747-806.
- Nowrouzi F., Azadbakht M., Kalehoei E., Modarresi M. (2019).** Protective effect of Rosa canina extract against doxorubicin-induced testicular toxicity in mice. *Brazilian Archives of Biology and Technology*,62.
- O'Connell J.E and Fox P.F. (2001).** Signification and applications of phénolic compounds in the production and quality of milk dairy products: a review. *International Dairy Journal*. 11(3): 103-120.
- Outomuro D., Grana D. R., Azzato F., Milei J. (2007).** Adriamycin-induced myocardial toxicity: New solutions for an old problem. *International journal of cardiology* 117: 6-15. overview. *Curr Pharm Des*.Vol 10: 1677-1694.
- Pein F., Vassal G., Sakiroglu C., Tournade MF., Lemerle J. ( 1995).** Aspects pédiatriques de la toxicité cardiaque des anthracyclines et implications pratiques pour sa prévention. *Archives Pédiatriques*. 2(10) : 988-999.
- Peluso G., Nicolai R., Reda E., Benatti P., Barbarisi A., Calvani M. (2000).** Cancer and anticancer therapy-induced modifications on metabolism mediated by carnitinesystem .*J Cell Physiol* 2000; 182: 339-350.
- Phillips D. R., Sturm R. A., Parsons P. G., Cutts S. M. (1996).** Adriamycin-induced DNA Adducts Inhibit the DNA Interactions of Transcription Factors and RNA Polymerase. *The Journal of Biological Chemistry*, 271:5422-5429.
- Pietta PG. (2000).** Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, 63: 1035-1042.
- Ploton I., Brosse A., lejeune H. (2010).** Faut il modifier la prise en charge du syndrome de klinefelter pour améliorer les chances de paternité *Annal endocrinol* ; 71 :494 -504 .
- Prahalathan C., Sevakumar E., Thandavan P. (2006).** Chemoprotective effect of lipoic acid against cyclophosphamide-induced changes in the rat sperm, *Toxicology*. ( 1) 71-78.
- Proyor W. A. (2000).** Vitamine E and heart disease basic science to chemical intervention trials. *free Rad .Biol. Med* 28:141-164.
- Rechner A. R., Spencer J. P. E., Kuhine G., Rice-Evans C. (2000).** Novel biomarkers of the metabolism of cafeic acid and derivatives in vivo. *Free Radic Biol Med*, 30: 1213-1222.
- Remesy C., Manach C., Demigne C., Texier O., Regerat F. (1996).** Intérêt nutritionnel des flavonoïdes. *Méd. Nut.* 32 (1) :17-27.
- Roche A. (2017).** Representative literature on the phytonutrients category: Phenolic acids. *Crit Rev Food Sci Nutr* 57, 1089-1096, doi:10.1080/10408398.2013.865589.

- Rochette L., Guenancia C., Gudjoncik A., Hachet O., Zeller M., Cottin Y., Vergely C. (2015).** Anthracyclines/trastuzumab: new aspects of cardiotoxicity and molecular mechanisms. *Trends Pharmacol Sci* 36(6): 326-348.
- Rock A., Marcelli F., Robin G- M itchell V., leroy C., Rigot J-M. (2014).** Clinical and Paraclinical features of klinefelter syndrome consulting for male infertility. *Progurol* ; 24:751 -63.
- Romerius P., Stahl O., Moell C., Relander T., Cavallin-Stahl E., Gustafsson H., Lofvander Thapper K., Jepson K., Spano M., Wiebe T. (2010).** Sperm DNA Integrity in Men Treated for Childhood Cancer. *Clin. Cancer Res.*16, 3843–3850.
- Roze C., Touraine P., Leger J., Roux N. (2009).** De hypogonadisme hypogonadotrope congénital. *Annal Endocrinol* ; 70 : 2-13.
- Sahna E., Parlakpınar H., Ozer MK., Ozturk F.et al. (2003).** Melatonin protects against myocardial doxorubicin toxicity in rats: role of physiological concentrations. *J Pineal Res* 35:257–61.
- Sarni-Manchado P and Cheynier V. (2006).** Les polyphénols en agroalimentaire. *Ed Tec et Doc Lavoisier*. pp : 02-11.
- Scalbert A., Manach C., Morand C., Rémésy C., Jiménez L. (2005).** Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Crit Rev Food Sci Nutr.*, 287-306.
- Schlosser J., Nakibi Carré-pigeon F., staverman F. (2007).** Infertilité masculine: définition et physiopathologie. *Encycle Med Chir (Elsevier SAS, Paris), Urologie*, 18-760-A-10 : 6p.
- Sebastia J., Cristofol R., Martin M., Rodriguez-Farre E., Sanfeliu C. (2003).** Evaluation of fluorescent dyes for measuring intracellular glutathione content in primary cultures of human neurons and neuroblastoma SH-SY5Y. *Cytometry A* 51(1):16-25.
- Semet M., Paci M., Saïas-Magnan J., Metzler-Guillemain C., Boissier R., Lejeune H., Perrin J. (2017).** The impact of drugs on male fertility: a review. *Andrology*; 5(4): 640-63.
- Setchell B and Galil K. (1983).** Limitations imposed by testicular blood flow on the function of Leydig cells in rats in vivo. *Aust. J. Biol. Sci.* 1983, 36, 285–293.
- Shalizar Jalali A and Hasanzadeh S. (2013).** Crataegus monogyna fruit aqueous extract as a protective agent against doxorubicin-induced reproductive toxicity in male rats. *Avicenna J Phytomed* 2013, 3(2),159–170.
- Sheela A. A., Dawn N. W., Lawrence D. M., Pieter R. C., Thomas D. M., Marcel B. B. (2005).** The Liposomal Formulation of Doxorubicin. *METHODS IN ENZYMOLOGY* 391:71-97.
- Sies H and Jones D. P. (2007).** Oxidative stress and redox signalling: an update . *Polish Journal of Food and Nutrition Science* : 1230-0322.

- Silva Robson Campos., Daniella Maria Coelho Brittoa., Wagner de Fátima Pereirab., Gustavo Eustáquio Alvin Brito-Melob., Cristiane Tolentino Machadao., Marcelo Mattos Pedreirac. (2018).** Effect of short- and medium-term toxicity of doxorubicin on spermatogenesis in adult Wistar rats. *Reproductive Biology* 169–176.
- Silva S., Gomes L., Leitao F., Bronse M., Caelho A.V., Boas V. (2010).** Secoiridoids in olive seed: characterization of nüzhenide and 11-methyl oleosides by liquid chromatography with diode array and mass spectrometry. *Grassasy Aceittes*. 61 (02): 157-164.
- Skakkebaek N. (2003).** Testicular dysgenesis syndrome . *Horm Res* , 60 (suppl 3) :49.
- Soocheon C., Jai-Heon L., Sang U P. (2013).** Recent studies on flavonoids and their antioxidant activities . *Experimental and clinical sciences* . 12 :255-230.
- Sridevi T., Nisha P.V., Appavu Arulnathan G. (2012).** Effect of Doxorubicin on the morphology, histology and karyology of male reproductive system of white mice, *Mus musculus*. *Indian J Sci Technol* 2012, 5, 2614–2618.
- Stagos D., Chen Y., Brocher C., Donalds E., Brian C., David J. (2010).** Aldehyde dehydrogenase 131 : molecular cloning and characterisation of a novel mitochondrial acetaldehyde – metabolizing enzymz. *Drug Metabolism and Disposition* 38 (10), 1679-1687.
- Stumpp T., Freymüller E., Miraglia S.M. (2006).** Sertoli cell function in albino rats treated with etoposide during prepubertal phase. *Histochem. Cell. Biol.*126, 353–361.
- Syed V., Gérard N., Kaipia A., Bardin C W., Parvinen M., Jégou B. (1993).** *Identification, ontogeny, and regulation of an interleukin-6-like factor in the rat seminiferous tubule.* *Endocrinology*. 132(1): p. 293-9.
- Tabar TJ. (2011).** Optimisation et caractérisation d'un extrait de cassis riche en antioxydant utilisable comme complément alimentaire et étude de ses effets sur la vasorelaxation dépendante de l'endothélium. Thèse de doctorat, Académie Universitaire Wallonie-Europe, 29.
- Tacar O., Sriamornsak P., Dass C. R. (2013).** Doxorubicin : an update on anticancer molecular action, toxicity and novel drug delivery systems. *Journal of pharmacy and pharmacology* 65:157-170.
- Teuffel O., Leibundgaut K., Lehrnbecher T., Alonzo TA., Beyene J., Sung L. (2103).** Anthracyclines during induction therapy in acute myeloid leukemia :a systematic review and meta analysis . *Br J Haematol* 161 (2) 191- 203.
- Thirion A. (2017).** Prise en charge des effets indésirables chez les patients atteints de cancer et traités par radiothérapie, universié de lorraine, faculté de pharmacie, p : 13.
- Thorn C.F., Oshiro C., Marsh S., Hernandez – Boussard T., Mcleod H, Klein TE., Altman RB. (2011).** Doxorubicin pathways: pharmacodynamics and adverse effects, *Pharmacogenetics and genomics*, 21 (7), 440-6.

- Tomofuji T., Ekuni D., Irie K., Azuma T., Endo Y., Tamaki N., Sanbe T., Murakami J., Yamamoto T., Morita M. (2009).** Preventive effects of a cocoa-enriched diet on gingivaloxidative stress in experimental periodontitis. *J.Periodontol*, 80 (11) :1799-808.
- Ulanowska K., Traczyk A., Konopa G., Wegrzym G. (2006).** Differential antibacterial activity of genistein arising from global inhibition of DND, RNA and protein synthesis in some bacterial strains. *Arch. Microbiol.*, 184 (5): 271-8.
- Valko M., Rhodes C. J., Moncol J., Izakovic M., Mazur M. (2006).** "Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer." *ChemBiolInteract* 160(1):1-40.
- Valli H., Phillips BT., Shetty G., Byrne JA., Clark AT., Meistrich ML. (2014).** Germline stem cells: toward the regeneration of spermatogenesis. *Fertil Steril* 101(1):3–13.
- Van Casteren N.J., van der Linden G.H.M., Hakvoort-Cammel F.G.A.J., Hählen K., Dohle G.R., van den Heuvel-Eibrink M.M. E. (2009).** Effect of childhood cancer treatment on fertility markers in adult male long-term survivors. *Pediatr. Blood Cancer*, 52, 108–112.
- Van Der Wound H., Alink G. M., Van Rossum B. E. J., Walle K., Van Steeg H., Walle T., Rietjens I. M .C. M. (2005).** Formation of transient covalent protein and DNA Adducts by quercetin in cells with and without oxidative enzyme Activity . *Them RES, toxicol* ; 18, 1907-1916.
- Vanessa C., Christine M., Catherine B., Nicole C., (2003).** The splanchnic metabolism of flavonoids highly differed according to the nature of compound. *Am J Physiol*, 284: G980- 988.
- Vapa I., Torres VM., Djordjevic A., Vasovic V., Srdjenovic B., Simic VD., Popović JK. (2012).** Effect of fullerene C 60 (OH) 24 on lipid peroxidation of kidneys, testes and lungs in rats treated with doxorubicine. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*, 37:301-307.
- Vergely C and Rochette L. (2003).** Stress oxydant dans le domaine cardiovasculaire/médecine thérapeutique cardiologique 1(1).
- Vertuani S., Angusti A., Manfredini S. (2004).** The antioxidants and pro-oxidants network: an overview. *Curr Pharm Des*.Vol 10: 1677-1694.
- Vitoux D., Chappuis P., Arnaud J., Bost M., Accominotti M., Roussel AM. (1996).** S616nium, glutathion peroxydase, peroxydes et fonctions plaquettaires. *Ann Biol Clin*; 54: 181-7.
- Vitrac X., Bornet A., Vanderlinede R. (2005).** Determination of stilbenes (Delta-viniferin, trans-ascorbinic acid, trans-piceid, cis- and trans-resveratrol, epsilon-niferin) in Brazilian wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53 (14): 5664-5669.
- Vuillet A., Ciles H., Lagarde A., Buxerand J. (2014).** La chimiothérapie cytotoxique. *Actualités pharmaceutiques* 53 (540) : 16-24.

- Wang D., Tang W., Yang G.M., Cai B.C. (2010).** Anti-inflammatory Antioxidant and cytotoxic activities of flavonoids from oxytropis falacata Bunge . Chinese Journal of Natural Medicines, 6(8): 461-465.
- Willcox JK., Ash SL., Catignani GL. (2004).** Antioxidants and prevention of chronic disease. Crit Rev Food SciNutr 44, 275-295.
- Williams R. I., Spencer J. P., Rice-Evans C. (2004).** Flavonoids: Antioxidants or signalling molecules. *Free Radic Biol Med*, 36(7): 838-849.
- Wollgast J and Anklam E. (2000).** Polyphenols in chocolate: is there a contribution to human health , Food Research International 33: 449-59.
- Wong C.H. and C.Y. Cheng. (2005).** *The blood-testis barrier: its biology, regulation, and physiological role in spermatogenesis.* Curr Top Dev Biol, 2005. 71: p. 263-96.
- Wreford N.G., Rajendra Kumar T., Matzuk M.M., de Kretser D.M. (2001).** Analysis of the testicular phenotype of the follicle-stimulating hormone beta-subunit knockout and the activin type II receptor knockout mice by stereological analysis. *Endocrinology* 142, 2916–2920.
- Wyns C., Curaba M., Vanabelle B., Van Langendonckt A., Donnez J. (2010).** Options for fertility preservation in prepubertal boys. Hum. Reprod. Updat. 2010, 16, 312–328.
- Yang CC., Chen YT., Chen CH., Chiang JY., Zhen YY., Yip HK. (2017).** Assessment of doxorubicin induced mouse testular damage by the novel second-hormonic generation microscopy Am J transl Res 9(12), 5275-5288.
- Yang F., Teves SS., Kemp CJ., Henikoff S. (2014).** Doxorubicin, DNA torsion, and chromatin dynamics. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer* 1845 84-89.
- Yang J., Yumin D., Ronghua H., Yunyang W., Yan W. (2013).** The structure anticoagulant activity relationships of sulfated lacquer polysaccharide. Effect of carboxyl group and position of sulfation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 36: 9–15.
- Yatsenko AN et al. (2015).** N EnglJMed, 372: 2097.
- Yeh Y.C., Lai H.C., Ting C.T., Lee W.L., Wang L.C., Wang K.Y., et al. (2007).** Protection by doxycycline against doxorubicin-induced oxidative stress and apoptosis in mouse testes. *Biochem Pharmacol* 2007, 74(7), 969–980.
- Zhou Q and Chowbay B. (2002).** Determination of doxorubicin and its metabolites in rat serum and bile by LC: application to preclinical pharmacokinetic studies. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.* ; 30 : 1063-1074.

résumé

## Résumé

Le testicule est un organe du système reproducteur masculin ayant deux fonctions principales, soit la production des gamètes mâles et la production de l'hormone masculinisante testostérone. Un impact des chimiothérapies sur cet organe a donc le potentiel d'induire des conséquences significatives sur la fonction reproductrice masculine.

La DOXO appartient à la famille des antibiotiques anthracyclines et est considérée parmi les composés de chimiothérapie les plus efficaces de nos jours. La forme utilisée en clinique est le chlorhydrate de DOXO, un sel rouge hydrosoluble produit par la bactérie *Streptomyces peucetius*. La DOXO possède deux principaux mécanismes d'action, l'action anticancer est surtout associée au blocage de la synthèse et à l'induction de dommages à l'ADN, et les effets secondaires comme la cardiotoxicité sont principalement associés à l'induction de stress oxydatif. Le stress oxydatif est un mécanisme connu d'induction d'effets secondaires par la DOXO. L'impact négatif de la DOXO sur la fertilité masculine pourrait donc lui aussi être lié à une induction de stress oxydatif dans le testicule. Le stress oxydatif testiculaire induit par la doxorubicine peut être dû à un système de défense antioxydant faible dans le tissu testiculaire et le sperme. Sur la base de ce concept, une variété d'antioxydants ont été utilisés pour protéger les testicules des lésions de la doxorubicine.

Plusieurs études ont prouvé le rôle des plantes médicinales riches en polyphénols et flavonoïdes dans la réduction de la toxicité de la doxorubicine au niveau des testicules. Les plantes ont toujours été utilisées à des fins médicinales et sont la principale source de composés phytochimiques présents dans les médicaments. Chez l'homme, ces molécules traces jouent un rôle important en agissant directement sur la qualité nutritionnelle des fruits et légumes et leur impact sur la santé des consommateurs (effet antioxydant, effet protecteur contre l'apparition de certains cancers...).

**Mots clé:** Doxorubicine; Stress oxydatif; Testicules; Antioxydant; Flavonoïdes.

**Abstract**

The testis is an organ of the male reproductive system with two main functions, the production of male gametes and the production of the masculinizing hormone testosterone. An impact of chemotherapy on this organ therefore has the potential to induce significant consequences on male reproductive function.

DOXO belongs to the anthracycline family of antibiotics and is considered to be among the most effective chemotherapy compounds today. The form used clinically is DOXO hydrochloride, a water soluble red salt produced by the bacterium *Streptomyces peucetius*. DOXO has two main mechanisms of action, the anticancer action is mostly associated with blocking synthesis and induction of DNA damage, and side effects like cardiotoxicity are mainly associated with induction of oxidative stress. Oxidative stress is a known mechanism of induction of side effects by DOXO. The negative impact of DOXO on male fertility could therefore also be linked to an induction of oxidative stress in the testis. Doxorubicin-induced oxidative stress in the testicle may be due to a weak antioxidant defense system in testicular tissue and semen. Based on this concept, a variety of antioxidants have been used to protect the testes from doxorubicin damage.

Several studies have proven the role of medicinal plants rich in polyphenols and flavonoids in reducing the toxicity of doxorubicin in the testis. Plants have always been used for medicinal purposes and are the main source of phytochemicals found in medicines. In humans, these trace molecules play an important role by acting directly on the nutritional quality of fruits and vegetables and their impact on the health of consumers (antioxidant effect, protective effect against the appearance of certain cancers,...).

**Key words:** Doxorubicin; Oxidative stress; Testicles; Antioxidant; Flavonoids.

## ملخص

الخصية هي عضو في الجهاز التناسلي الذكري له وظيفتان رئيسيتان و هما إنتاج الأمشاج الذكرية وكذلك إنتاج الهرمون الذكري التستوستيرون. كما أثبتت الدراسات أن للعلاج الكيميائي تأثيرا سلبيا على وظائف هذا العضو.

ينتمي دوكسوروبيسين إلى عائلة الأنثراسيكلين ويعتبر من أكثر مركبات العلاج الكيميائي فعالية اليوم. الشكل المستخدم سريريًا هو هيدروكلوريد، وهو ملح أحمر قابل للذوبان في الماء تنتجه البكتيريا *Streptomyces peucetius* و يعمل بآليتين مختلفتين، الآلية المضادة للسرطان حيث يعمل على تثبيط بناء جزيء الحمض النووي المنقوص الأكسجين و كذلك تحريض تلف الحمض النووي، كما ترتبط الآثار الجانبية مثل السمية القلبية بشكل أساسي بتحريض الإجهاد التأكسدي. يسبب أيضا دوكسوروبيسين تأثيرات سلبية على خصوبة الذكور و ذلك بتحريض الإجهاد التأكسدي في الخصية، حيث يمكن أن يكون هذا الإجهاد التأكسدي ناتجًا عن ضعف النظام الدفاعي المضاد للأكسدة في أنسجة الخصية والسائل المنوي. بناءً على هذا المفهوم ، تم استخدام مجموعة متنوعة من مضادات الأكسدة لحماية الخصيتين من التلف الناتج عن دوكسوروبيسين.

أثبتت العديد من الدراسات دور النباتات الطبية الغنية بالبوليفينول والفلافونويد في تقليل سمية دوكسوروبيسين في الخصيتين. لطالما استخدمت النباتات للأغراض الطبية وهي المصدر الرئيسي للمواد الكيميائية النباتية الموجودة في الأدوية. حيث تلعب هذه الجزيئات دورًا مهمًا من خلال التأثير المباشر على الجودة الغذائية للفواكه والخضروات وتأثيرها على صحة المستهلكين (التأثير المضاد للأكسدة ، التأثير الوقائي ضد ظهور بعض أنواع السرطان ،...).

**الكلمات المفتاحية:** دوكسوروبيسين ؛ الإجهاد التأكسدي ؛ الخصيتين؛ مضادات الأكسدة ؛ الفلافونويد.

*L'activité biologique des polyphénols vis-à-vis  
de la toxicité testiculaire induite par la doxorubicine*

**Résumé**

Le testicule est un organe du système reproducteur masculin ayant deux fonctions principales, soit la production des gamètes mâles et la production de l'hormone masculinisante testostérone. Un impact des chimiothérapies sur cet organe a donc le potentiel d'induire des conséquences significatives sur la fonction reproductrice masculine.

La DOXO appartient à la famille des antibiotiques anthracyclines et est considérée parmi les composés de chimiothérapie les plus efficaces de nos jours. La forme utilisée en clinique est le chlorhydrate de DOXO, un sel rouge hydrosoluble produit par la bactérie *Streptomyces peucetius*. La DOXO possède deux principaux mécanismes d'action, l'action anticancer est surtout associée au blocage de la synthèse et à l'induction de dommages à l'ADN, et les effets secondaires comme la cardiotoxicité sont principalement associés à l'induction de stress oxydatif. Le stress oxydatif est un mécanisme connu d'induction d'effets secondaires par la DOXO. L'impact négatif de la DOXO sur la fertilité masculine pourrait donc lui aussi être lié à une induction de stress oxydatif dans le testicule. Le stress oxydatif testiculaire induit par la doxorubicine peut être dû à un système de défense antioxydant faible dans le tissu testiculaire et le sperme. Sur la base de ce concept, une variété d'antioxydants ont été utilisés pour protéger les testicules des lésions de la doxorubicine.

Plusieurs études ont prouvé le rôle des plantes médicinales riches en polyphénols et flavonoïdes dans la réduction de la toxicité de la doxorubicine au niveau des testicules. Les plantes ont toujours été utilisées à des fins médicinales et sont la principale source de composés phytochimiques présents dans les médicaments. Chez l'homme, ces molécules traces jouent un rôle important en agissant directement sur la qualité nutritionnelle des fruits et légumes et leur impact sur la santé des consommateurs (effet antioxydant, effet protecteur contre l'apparition de certains cancers...).

**Mots clé:** Doxorubicine; Stress oxydatif; Testicules; Antioxydant; Flavonoïdes.