



لجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE



التعليم  
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

قسنطينة  
كلية الطبيعة الحياة

**Département : Biologie animale**

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

**Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie**

**Filière : Sciences Biologiques**

**Spécialité : Immunologie et oncologie**

Intitulé :

---

**Evaluation de l'effet antioxydant et anticarcinogène des extraits aqueux des plantes *Lepidium sativum* et *Urtica dioica***

---

**Présenté et soutenu par : LOUCIF Oumayma Rokeya**

**Le : 30/06/2015**

**TARTOUGA Maya Abir**

**Jury d'évaluation :**

**Président du jury :** Mme *Naimi. D* (Pr. Ecole National Supérieur de Biotechnologie- Constantine).

**Rapporteur :** Melle *El ouar. I* (MCB - Université des Frères Mentouri -Constantine).

**Examineurs :** Mme *Rahmoune. H* (MAA -Université des Frères Mentouri -Constantine).

*Année universitaire*  
**2014 - 2015**

## **Dedicace**

**A mes parents, ma maman chérie** : la source de tendresse. Grâce à toi j'ai compris ce que ça voulait dire Sacrifier pour les gens qu'on aime, merci pour toutes tes sacrifices pour ton soutien, ta compréhension et ton amour. Je t'aime très fort que le Dieu te garde pour nous.

**Mon papa adoré** : Merci d'être présent quand j'avais besoin de toi. Te rendre fier est ma plus belle des récompenses. Je t'aime.

**A ma petite sœur**, la meilleure sœur qu'une sœur puisse espérer, mon amie, ma confidente. Merci pour les moments de folie qu'on a passé ensemble, merci pour ton soutien et surtout merci de croire en moi et faire de moi ton amie et ton modèle. Je t'aime ma belle

**A mon frère**, tu me manques trop fort. Je te souhaite beaucoup de réussite et de bonheur. Je t'aime (PS : tu resteras toujours mon petit adorable frère. Je suis fière de toi)

**A ma grand-mère**, merci pour ta tendresse, tes câlins, tes conseils et tes prières. Je t'aime

**A mes tantes**, vous êtes adorables les TRODIs je vous adore, Merci

**A mon amie**, ma confidente, merci pour ta fameuse expression elle avait un effet sorcier. Je t'aime

**A mes cousins et mes amis**, merci pour les bons souvenirs et le soutien.

**A la mémoire de Papy**, mon roi, tu resteras toujours dans mon cœur RABI YARHMEK.

A tous mes enseignants sans exception.

## **Dédicace**

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect, la reconnaissance, c'est tous simplement que : Je dédie ce Mémoire de Master

**A Ma tendre Mère** Wahida : Tu représente pour moi la source de tendresse et l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager. Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études.

**A Mon très cher Père** Nassreddine: Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail et le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation le long de ces années.

A la mémoire de **ma grand -mère** : mon ange, mon âme tu es toujours dans mon cœur.

**A mon cher frère** : Aymen.

**A mes chères sœurs** : Amina, Daloula et Rayouna.

A mes **oncles** et **leurs femmes**, mes **tantes** et **leurs époux**

A mes **cousins** et mes belles **cousines** (Chicha, Hana, Imene, Hanan, Mouna, Lina, Joujou, Amira, Aya )

A **mes petits anges** : Fadi, Tasnim, Afnen, Alaa, Maria, Abderrahmen, Adib.  
Que DIEU vous garde.

**A mon amie** qu'elle était avec moi à chaque étape, elle est devenue comme un membre de la famille, nous avons eu de beaux souvenirs ensemble, je t'aime

A mes **chères amies** (Oumayma, Dana Wissem, Manal, Sousou, Mouna, Houda)

A tous mes enseignants depuis mes premières années d'études.

A tous ceux qui me sens chers et que j'ai omis de citer.

**MAYA**

## REMERCIEMENTS

*Tout d'abord, nous tenons à remercier DIEU le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.*

*Nous tenons à remercier tout d'abord notre cher encadreur Mlle EL OUAR. I, pour ses enseignements qui nous ont éclairés, pour ses encouragements et ses précieux conseils, pour l'orientation, la confiance, la gentillesse, sa compréhension et son aide sans lequel ce travail n'aurait pas pu être mené au bon port.*

*Nous adressons nos vifs remerciements à Mme NAIMI. D de nous avoir accueillies au sein de laboratoire de biologie et physiologie cellulaire et moléculaire et pour sa gentillesse.*

*Nous exprimons nos remerciements également aux membres de jury chapotés par Mme NAIMI.D, Mme Rahmoune.H qui nous font l'honneur de faire partie du jury.*

*Nos vifs remerciements s'adressent à tous nos enseignants sans exceptions, à Mr Madassi, à tout le personnel du laboratoire d'anatomo-pathologie de l'hôpital militaire spécialement Dr Aouissate. Med Faouzi, nos familles, merci pour le soutien et pour vos efforts avec nous, on vous adore.*

*Enfin je remercie tous ceux et celles qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail.*

# SOMMAIRE

## *INTRODUCTION*

## PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

### **CHAPITRE 1 : PLANTES MEDICINALES**

1. Définition d'une plante médicinale.....	3
2. Principes actifs des plantes médicinales.....	3
2.1. Les polyphénols.....	4
2.2. Les alcaloïdes.....	4
2.3. Les terpènes.....	5
2.4. Les huiles essentielles.....	5
3. Cytotoxicité des plantes médicinales.....	6

### **CHAPITRE 2 : STRESS OXYDANT**

1. Définition de stress oxydant.....	7
2. Les espèces réactives dans la cellule .....	7
3. Mécanismes de production des principales ROS de l'organisme .....	9
4. Dommages macromoléculaires occasionnés par les ROS .....	10
4.1. Altération de l'ADN.....	10
4.2. Altération des lipides.....	10

4.3. Altération des protéines.....	11
4.4. Altération des métaux de transition.....	11
4.5. Altération des polysaccharides.....	11
5. Les marqueurs biologiques de stress oxydant.....	12
6. Les défenses cellulaires contre le stress oxydant.....	13
6.1. Les système antioxydants enzymatiques.....	13
6.1.1. Superoxyde dismutase SOD.....	13
6.1.2. Glutathion peroxydase GPX.....	13
6.1.3. Catalase CAT.....	14
6.1.4. Systèmes enzymatiques accessoires.....	14
6.2. Les systèmes antioxydants non enzymatiques liposolubles.....	14
6.3. Les systèmes antioxydants non enzymatiques hydrosolubles.....	14
7. Les maladies liées au stress oxydatif.....	15
8. Implication des espèces oxygénées activées dans le développement du cancer .....	15

### **CHAPITRE 3 : CANCEROGENESE**

1. Définition du cancer.....	18
2. Les causes des cancers.....	18
2.1. Les agents physiques .....	18
2.2. Agents chimiques .....	19
2.3. Agents biologiques .....	22

3. Processus de cancérogenèse .....	23
4. Cancer du sein.....	26
4.1. Anatomie du sein.....	26
4.2. Physiologie .....	27
4.3. Statut clinique du cancer du sein.....	29

## PARTIE PRATIQUE

### Matériels et méthodes

1. Matériels biologiques .....	30
1.1. <i>Lepidium sativum</i> (Cresson alénois).....	30
1.2. <i>Urtica dioica</i> (La grande ortie) .....	31
1.3. Les souris .....	32
2. Traitement des souris .....	32
3. Prélèvement des organes.....	33
4. Evaluation de l'activité anti-oxydante d'extrait de plantes.....	33
4.1. Test DPPH .....	33
4.2. Piégeage H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> peroxyde d'hydrogène .....	34
5. Dosage des polyphénols totaux des deux plantes .....	35
6. Etude histologique des organes.....	36

### Résultats

1. Propriétés anti-oxydantes des extraits .....	38
1.1. Test DPPH .....	38
1.2. Piégeage H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	39
2. Dosage des polyphénols totaux .....	39

3. Etude histologique des glandes mammaires.....	40
3.1. L'effet du carcinogène sur l'histologie des glandes mammaires.....	40
3.2. L'effet des extraits des plantes sur l'histologie des glandes mammaires...	42
3.2.1. L'effet de l'extrait de la plante <i>L. sativum</i> .....	42
3.2.2. L'effet de l'extrait de la plante <i>U.dioica</i> .....	43
3.3. L'effet des traitements combinés carcinogène +extraits des plantes sur l'histologie des glandes mammaires.....	43
3.3.1. L'effet du traitement carcinogène + l'extrait de la plante <i>L. sativum</i> ....	43
3.3.2. L'effet du traitement carcinogène + l'extrait de la plante <i>U. dioica</i> ....	44
4. Etude histologique du foie .....	45
4.1. L'effet du carcinogène sur l'histologie du .....	45
4.2. L'effet des extraits des plantes sur l'histologie du foie.....	46
4.2.1. L'effet de l'extrait de la plante <i>L. sativum</i> .....	46
4.2.2. L'effet de l'extrait de la plante <i>U. dioica</i> .....	47
4.3. L'effet de traitement combiné carcinogène+ extraits des plantes .....	48
4.3.1. L'effet du carcinogène + l'extrait de la plante <i>L. sativum</i> .....	48
4.3.2. L'effet du carcinogène + l'extrait de la plante <i>U.dioica</i> .....	48

**Discussion**

**Conclusion**

**Références**

**Webographie**

**Résumé**



## Listes des tableaux :

<b>Tableau 1:</b> Exemple de produits dosés couramment pour rendre compte de l'oxydation d'une cible moléculaire donnée.....	12
<b>Tableau 2 :</b> Quelques exemples de substances classifiées par le CIRC.....	22
<b>Tableau 3:</b> Valeurs EC50 des extraits des plantes <i>L. sativum</i> et <i>U. dioica</i> .....	38

## Listes des figures :

<b>Figure 1 :</b> Balance radicaux libres /antioxydants.....	7
<b>Figure 2 :</b> Transfert d'électrons lors d'une réaction rédox entre un oxydant et un réducteur.....	8
<b>Figure 3 :</b> Transfert de protons lors d'une réaction rédox entre un oxydant et un réducteur.....	9
<b>Figure 4 :</b> Oxydation au sens large du glucose.....	12
<b>Figure 5 :</b> Effet de l'attaque du radical hydroxyle (OH.) sur la guanine, base constitutive de l'ADN.....	16
<b>Figure 6 :</b> Induction de la cancérogenèse via l'activation du facteur transcriptionnel NF- B induite par le stress oxydatif.....	17
<b>Figure 7:</b> Etapes de la carcinogenèse.....	24
<b>Figure 8 :</b> Changements phénotypiques associés au développement tumoral.....	25

<b>Figure 9 :</b> Anatomie (A) et quelques structure du sein, (B) lobule, (C) Acinus (alvéole), (D) différents types de lobes.....	27
<b>Figure 10:</b> Evolution de la glande mammaire féminine au cours de la vie.....	28
<b>Figure 11 :</b> Plante (A) et graines (B) de <i>Lepidium sativum</i> .....	30
<b>Figure 12 :</b> Plante (A) et feuille (B) d' <i>Urtica dioica</i> .....	31
<b>Figure 13 :</b> Capacité des extraits de plantes <i>L. sativum</i> et <i>U. dioica</i> à réduire le DPPH, exprimée en %.....	38
<b>Figure 14:</b> Capacité des extraits de <i>L. sativum</i> et <i>U. dioica</i> à piéger le H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , exprimée en %.....	39
<b>Figure 15:</b> Gamme d'étalonnage des polyphénols réalisée avec l'acide gallique.....	40
<b>Figure 16:</b> Coupe histologique de la glande mammaire, colorée avec l'Hematoxyline- Eosine, d'une souris contrôle.....	41
<b>Figure 17:</b> Coupe histologique de la glande mammaire, colorée avec l'HE, d'une souris traitée avec le carcinogène .....	41
<b>Figure 18:</b> Coupe histologique de la glande mammaire, colorée avec l'HE, d'une souris traitée avec l'extrait de la plante <i>L. sativum</i> .....	42
<b>Figure 19 :</b> Coupe histologique de la glande mammaire, colorée avec l'HE, d'une souris traitée avec l'extrait de la plante <i>U. dioica</i> .....	43
<b>Figure 20 :</b> Coupe histologique de la glande mammaire, colorée avec l'HE, d'une souris traitée avec carcinogène + l'extrait de la plante <i>L. sativum</i> .....	44
<b>Figure 21 :</b> Coupe histologique de la glande mammaire, colorée avec l'HE, d'une souris traitée avec carcinogène + l'extrait de la plante <i>U. dioica</i> .....	45

<b>Figure 22 :</b> Coupe histologique du foie, colorée avec l'HE, d'une souris traitée avec le carcinogène.....	46
<b>Figure 23 :</b> Coupe histologique du foie, colorée avec l'HE, d'une souris traitée avec l'extrait de la plante <i>L. sativum</i> .....	47
<b>Figure 24 :</b> Coupe histologique du foie, colorée avec l'HE, d'une souris traitée avec l'extrait des feuilles de la plante <i>U. dioica</i> .....	47
<b>Figure 25:</b> Coupe histologique du foie, colorée avec l'HE, d'une souris traitée avec carcinogène + l'extrait de feuilles de la plante <i>L.sativum</i> .....	48
<b>Figure 26 :</b> Coupe histologique du foie, colorée avec l'HE, d'une souris traitée avec carcinogène + l'extrait de feuilles de la plante <i>U. dioica</i> .....	49

# INTRODUCTION

La médecine traditionnelle réunit l'ensemble des connaissances, compétences et pratiques basées sur les théories, croyances et expériences auxquelles différentes cultures ont recours pour entretenir la santé ainsi que pour prévenir, diagnostiquer, soulager ou soigner des maladies physiques et mentales (OMS, 2009).

Ces dernières années, le recours à la médecine traditionnelle s'est répandu partout dans le monde et a gagné en popularité, non seulement les populations des pays en développement qui y ont accès, mais aussi ceux des pays où la biomédecine occupe une grande place dans les systèmes de santé. L'étude de ces connaissances ancestrales par les sciences modernes révèle progressivement quelques secrets de la nature qui permettent à l'homme de poursuivre son évolution.

Une grande partie de l'intérêt des recherches actuelles porte sur l'étude de molécules antioxydantes naturelles qui agissent comme capteurs de radicaux libres. Ces derniers sont produits quotidiennement par l'organisme. Ce sont des composés très réactifs comportant un électron célibataire et nécessaires à des mécanismes vitaux. La surproduction de ces radicaux peut être néfaste pour l'organisme. En effet, ils endommagent de nombreux composants cellulaires aussi divers tels que les protéines, les lipides ou l'ADN en entraînant un stress oxydatif.

Les composés antioxydants font actuellement l'objet de nombreuses études car, en plus d'un intérêt dans le traitement de certaines pathologies, ils sont aussi utilisés pour la conservation des denrées comestibles pour l'industrie agroalimentaire (par exemple empêcher l'oxydation des lipides) (Pan et al., 2008).

Au bout des dernières années les antioxydants commerciaux utilisés étaient des antioxydants synthétiques tels que le butylhydroxyanisole (BHA), butylhydroxytoluène (BHT), le tertibutylhydroquinone (TBHQ) et le propylgallate (PG) ; mais ils ont été suspectés de posséder une certaine toxicité et qu'ils étaient responsables de dommages causés dans le foie et de carcinogénèse. De ce fait, l'importance des antioxydants s'est focalisée sur le développement de la recherche et l'isolation des antioxydants naturels à partir des végétaux et cela pour remplacer ceux qui sont synthétiques (Pan et al., 2008; Atmani et al., 2009).

En outre, beaucoup d'études sont en faveur d'une relation entre les paramètres du stress oxydant et le risque de carcinogénèse (Medart, 2005; Taylor et al., 2009; Aldini et al., 2010; Sotgia et al. 2011). En effet, des résultats intéressants révèlent que les espèces oxygénées réactives (ROS: **R**eactive **O**xygen **S**pecies) sont impliquées dans la phase d'initiation, de promotion et de progression de la carcinogénèse où se passe une inactivation ou perte de certains gènes suppresseurs des tumeurs (Taylor et al., 2009; Aldini et al., 2010). L'importance des dommages oxydatifs induits par les ROS peut être aggravée par l'affaiblissement ou la réduction des mécanismes de défense antioxydante (Salido et Rosado, 2009; Aldini et al., 2010).

Dans ce contexte l'objectif de notre travail est d'étudier les propriétés antioxydantes et thérapeutiques de deux plantes, largement utilisées en médecine traditionnelle Algérienne, *Lepidium sativum* et *Urtica dioica*. La première plante est utilisée pour contrôler l'hypertension, le diabète, ainsi que les maladies respiratoires et rénales (Jouad et al., 2001). Des études récentes ont également montré une activité protectrice du *L. sativum* contre certains composés carcinogènes (Kassie et al., 2003). La deuxième plante est généralement utilisée pour traiter les inflammations de la peau et l'eczéma, l'anémie, les affections du tube digestif et de la prostate.

Cependant notre travail comporte deux parties. Nous commençons d'abord par l'évaluation de l'activité anti oxydante, des extraits aqueux préparés à partir de ces deux plantes, par des tests *in vitro*. Nous procédant ensuite à l'étude de leurs effets thérapeutiques. Pour cela nous avons choisi un modèle *in vivo* de carcinogénèse de glande mammaire et nous avons étudié l'effet des deux plantes sur l'histologie des glandes. Nous avons également testé l'effet des deux extraits sur la structure histologique du foie.

# PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

## **1. Définition d'une plante médicinale :**

On qualifie de plante médicinale toute plante possédant des propriétés agissant sur l'organisme humain ou animal de façon bénéfique. Les plantes médicinales sont utilisées en médecine naturelle. Généralement, seule une partie de la plante est utilisée, que ce soit le bulbe, les racines, les feuilles, les graines, les fruits ou les fleurs. La branche de la médecine qui utilise des plantes médicinales est appelée phytothérapie.

Cependant, il existe cinq points essentiels à connaître pour être en mesure d'utiliser une plante médicinale (OMS: Organisation mondiale de la santé, 2000):

1. L'identification de la plante (basée sur l'observation des fleurs, feuilles, fruits, etc. mais aussi sur l'odeur, le goût...).
2. Le mode de préparation (partie de la plante à utiliser, type de préparation, dosage de la préparation).
3. La posologie c'est-à-dire la quantité de préparation à absorber par jour.
4. La durée du traitement.
5. Les restrictions, contre-indications et précautions à observer.

## **2. Principes actifs des plantes médicinales :**

La plante est le siège d'une intense activité métabolique aboutissant à la synthèse de principes actifs les plus divers. Ce processus métabolique est lié aux conditions mêmes de vie de la plante : la plante doit faire face à de multiples agressions de l'environnement dans lequel elle vit : prédateurs, microorganismes pathogènes, etc. On conçoit donc que la plante puisse développer un métabolisme particulier lui permettant de synthétiser les substances les plus diverses pour se défendre : les métabolites secondaires (Kansole, 2009).

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes, ils sont divisés principalement en trois grandes familles: les polyphénols, les alcaloïdes, les terpènes et les huiles essentielles (Lutge et al., 2002; Abderrazak et Joël., 2007).

## **2.1. Les polyphénols :**

Les polyphénols sont des métabolites secondaires présents chez toutes les plantes vasculaires. (Lebham, 2005).

Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieures (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) ; et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogénèse, la germination des graines et la maturation des fruits (Boizot et Charpentier, 2006).

Ils regroupent un vaste ensemble de plus de 8000 molécules, divisés en une dizaine de classes chimiques, qui présentent tous un point commun : la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles OH (Hennebelle et al., 2004).

Les polyphénols ont une multitude d'activités biologiques dépendant de leur structure chimique.

Ils constituent une importante famille d'antioxydants dans les plantes, les fruits et les légumes puisqu'elles comprennent plus de 6000 molécules. Contrairement aux antioxydants synthétiques comme le butylhydroxyanisole (BHA) et le butylhydroxytoluène (BHT). Les polyphénols n'ont aucun effet nuisible sur la santé humaine (Bounatirou et al., 2007).

Ces composés montrent des activités anti-carcinogènes, anti-inflammatoires, antiathérogènes, anti-thrombotiques, analgésiques, antibactériens, antiviraux, anticancéreux, anti-allergènes et vasodilatateurs (Falleh et al., 2008).

## **2.2. Les alcaloïdes :**

Les alcaloïdes sont un groupe de composés azotés et faiblement basiques issus principalement des végétaux (Kansole, 2009). En raison de leur puissante activité biologique, la plupart des alcaloïdes connus, environ 12.000, ont été exploités en tant que médicaments,



# CHAPITRE 1: LES PLANTES MEDICINALES

---

stimulants, narcotiques et comme poisons. Contrairement à la plupart des autres types de métabolites secondaires, les nombreuses classes d'alcaloïdes ont des origines biosynthétiques uniques (Ziegler et Facchini, 2008).

Les alcaloïdes sont des substances particulièrement intéressantes pour leurs activités pharmacologiques qui s'exercent dans les domaines les plus variés :

- Au niveau du système nerveux central comme antidépresseurs (morphine, scopolamine) ou stimulants (strychnine, caféine).
- Au niveau du système nerveux autonome : sympathomimétiques (éphédrine) ou sympatholytiques, anti-cholinergiques et ganglioplégiques. On notera aussi l'existence de curarisants, d'anesthésiques locaux, d'anti-fibrillants, d'antitumoraux, et d'antipaludiques (Bruneton, 1999).

## **2.3. Les terpènes (les terpénoïdes):**

Les terpénoïdes sont des métabolites secondaires synthétisés par les plantes, organismes marins, les champignons et même les animaux, ils résultent de l'enchaînement de plusieurs unités isopréniques (Bhat et al., 2005).

## **2.4. Les huiles essentielles:**

Une huile essentielle contient souvent de 50 à 100 molécules différentes et peut à l'extrême en comprendre jusqu'à 300 travaillant en synergie pour donner à l'huile essentielle ses propriétés (Lahlou, 2004). Sa composition biochimique n'est par ailleurs jamais rigoureusement identique.

Ces composés sont des molécules volatiles appartenant pour la grande majorité à la famille des terpènes (Bakkali et al., 2008; Afssaps, 2008).

## CHAPITRE 1: LES PLANTES MEDICINALES

---

Les propriétés antioxydantes des huiles essentielles sont depuis peu massivement étudiées. Les huiles essentielles de cannelle, de muscade, de clou de girofle, d'origan et de thym possèdent de puissants composés antioxydants (Edris, 2007). Le thymol et le carvacrol sont les composés les plus actifs (Bouhdid et al., 2006).

Les huiles essentielles sont également utilisées en milieu clinique pour soigner des maladies inflammatoires telles que les rhumatismes, les allergies ou l'arthrite (Inouye, 2007).

Ils inhibent la croissance des bactéries, des moisissures et des levures (Bouaoun et al., 2007; Oussala et al., 2006; Doughari et Obidah, 2008).

### **3. Cytotoxicité des plantes médicinales :**

L'emploi des plantes médicinales peuvent poser des problèmes d'empoisonnement, les atteintes toxiques concernent la plus part des organes, ce sont essentiellement les atteintes hépatiques qui sont les plus remarquables (Larrey, 1998; Larrey, 1997).

Une plante est considérée toxique lorsqu'elle contient une ou plusieurs substances nuisibles pour l'homme ou pour les animaux et dont l'utilisation provoque des troubles variés plus ou moins graves voire mortels (Fournier, 2001).

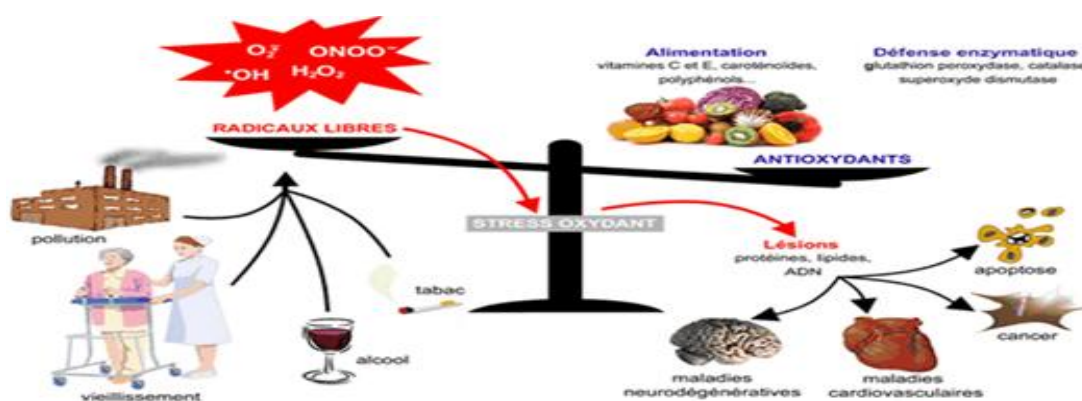
Parmi l'ensemble des plantes réputées toxiques, certaines présentent un danger réel en cas d'ingestion alors que d'autres ne provoquent que des troubles mineurs, principalement digestifs. Tous les organes de la plante contiennent les principes toxiques, mais surtout les racines et les graines, renferment des alcaloïdes dits terpéniques dont le principal est l'aconitine qui a une toxicité principalement neurologique et cardiaque (Flesch, 2005).

# CHAPITRE 2:STRESS OXYDANT

## 1. Définition du stress oxydant :

Dans les systèmes biologiques, le stress oxydant est la conséquence d'un déséquilibre entre la production des radicaux libres et leur élimination par des systèmes de défenses antioxydantes autrement dit c'est un déséquilibre de la balance pro-oxydant/antioxydant. (Fig.1).

Les radicaux libres peuvent engendrer des dommages importants sur la structure et le métabolisme cellulaire en dégradant de nombreuses cibles : protéines, lipides et acides nucléiques. (Wolin et al., 2005 ).



**Figure 1 :** Balance radicalaire /antioxydant

(<http://www.nature-algues.com>)

## 2. Les espèces réactives dans la cellule :

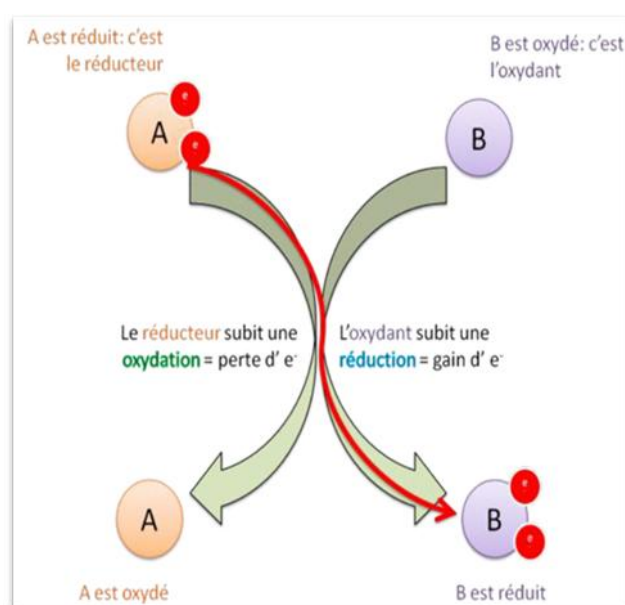
L'oxygène est un élément vital au bon fonctionnement cellulaire car il permet la formation d'énergie utilisable par la cellule. Pour autant il n'en reste pas moins dangereux dans la mesure où il est source de nombreuses espèces réactives dérivées de l'oxygène ou reactive oxygen species (ROS). Ces dernières sont des molécules très réactives, avec un potentiel oxydant élevé, ils ont la propriété d'attaquer et altérer les composants moléculaires de la cellule.

Pour comprendre cette réactivité importante, il faut se pencher sur la structure électronique de ces molécules : en effet la plupart d'entre elles sont des radicaux libres « tels

## CHAPITRE 2:STRESS OXYDANT

l'anion superoxyde  $O_2^-$ , le radical hydroxyl  $HO^\bullet$ , L'oxyde nitrique  $NO^\bullet$  » à savoir qu'elles possèdent sur leur couche externe un ou plusieurs électrons non appariés (radical) et capable d'exister seules en tant que telle (libre) (Mandelker, 2008). Ainsi pour devenir plus stables elles ont tendance à compléter leur couche externe, en arrachant spontanément des électrons à d'autres molécules : on retrouve bien le caractère oxydant qui consiste à prendre des électrons à une espèce réductrice qui, elle, en donne.

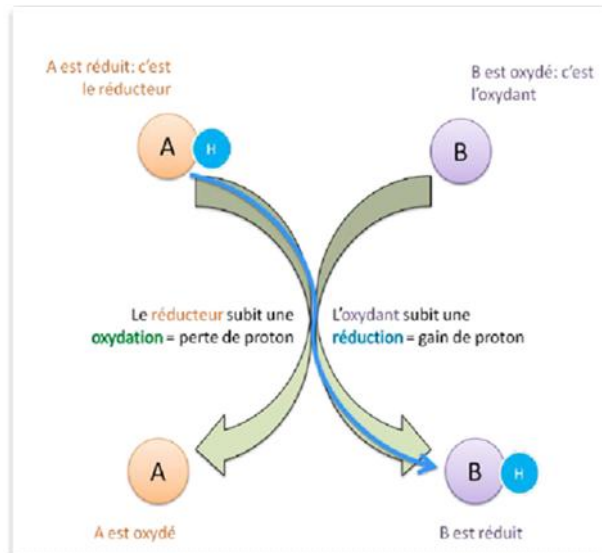
Les réactions rédox sont considérées comme des transferts d'électrons où l'espèce oxydante prend des électrons alors que l'espèce réductrice en donne (Fig.2). Il est aussi possible de considérer ces réactions rédox comme des échanges de protons : l'espèce oxydante prend des protons, alors que l'espèce réductrice en donne. Ainsi biologiquement une oxydation correspond souvent à une déshydrogénation (Fig.3) (Lehninger et al., 1993). L'oxygène  $O_2$  par exemple est considéré comme un radical, ou plus exactement comme un bi-radical puisqu'il possède 2 électrons non appariés. Cela explique son fort pouvoir oxydant. En outre il existe également des espèces non radicalaires ayant tout de même une réactivité accrue, caractère oxydant, et qui peuvent donner après une réaction chimique des radicaux libres : c'est le cas du peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$ , de l'oxygène singulet  $^1O_2$ , peroxydinitrite  $NO_2^\bullet$ . (Powers and Jackson, 2008).



**Figure 2** : Transfert d'électrons lors d'une réaction rédox entre un oxydant et un réducteur.

D'après (Lehninger et al. ,1993).

## CHAPITRE 2:STRESS OXYDANT

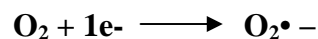


**Figure 3 :** Transfert de protons lors d'une réaction rédox entre un oxydant et un réducteur.

D'après (Lehninger et al., 1993).

### **3. Mécanismes de production des principales ROS de l'organisme :**

L'une des sources majeures des ROS est la chaîne respiratoire mitochondriale. Cette production résulte de l'addition d'un électron à l'oxygène moléculaire. Une telle réaction est catalysée par le cytochrome oxydase mitochondrial. (Marfak, 2003).



L'inflammation est par ailleurs une source importante de radicaux oxygénés produits directement par les cellules phagocytaires activées qui sont le siège d'un phénomène appelé explosion oxydative consistant en l'activation du complexe de la NADPH oxydase, enzyme capable d'utiliser l'oxygène moléculaire pour produire de grandes quantités d'anions superoxydes au niveau de la membrane cellulaire. Ce mécanisme, lorsqu'il est contrôlé, est capital dans la lutte anti-infectieuse car il permet la phagocytose des bactéries et des corps étrangers. (Yoshikawa et al., 2000).

## CHAPITRE 2:STRESS OXYDANT

---

### **4. Dommages macromoléculaires occasionnés par les ROS :**

Les cibles principales des ROS sont l'ADN et les lipides membranaires, et de manière moins importante les protéines et les glucides.

#### **4.1. Altérations de l'ADN :**

Ces attaques sont essentiellement causées par le radical hydroxyl HO . Elles sont de différents types (Grandjean, 2005) :

- modification de base azotée, en particulier la guanine qui peut être transformée en 8-hydroxy-2'-deoxyguanine (celle-ci peut constituer un marqueur du Stress Oxydant) ou encore la thymine en thymine glycol. Cela entraîne un non-appariement des bases, ou un mauvais appariement, ou encore un blocage de la réplication de l'ADN.
- destruction de la liaison entre la base et le désoxyribose, à l'origine d'un site dépourvu de base ou « abasique », qui s'avère être non fonctionnel.
- destruction du désoxyribose, responsable d'une cassure de brin, létale pour la cellule.
- formation de pontages avec des protéines, ou avec des dérivés d'oxydation lipidique (tel que le MDA).

Ainsi ces dommages peuvent participer à une mutagenèse, à un arrêt des divisions cellulaires par blocage des mécanismes de réplication, à un arrêt de la synthèse protéique par blocage des mécanismes de transcription /traduction, et enfin à une mort cellulaire.

#### **4.2. Altérations des lipides :**

L'action du radical hydroxyl HO sur un acide gras responsable de la formation d'un radical peroxy ROO , celui-ci pouvant se stabiliser soit par des remaniements structuraux, soit en arrachant un hydrogène à un acide gras voisin. Cette dernière modalité correspond à une réaction en chaîne de peroxydation des lipides. Cette peroxydation touche essentiellement les acides gras polyinsaturés constitutifs des phospholipides membranaires. Elle fragilise la chaîne carbonée, qui finit par casser (Grandjean, 1997).

## CHAPITRE 2:STRESS OXYDANT

---

Dès lors la fluidité et la résistance membranaires sont diminuées, les échanges transmembranaires modifiés, la perméabilité au calcium augmentée, la fixation aux récepteurs altérée. Tout ceci peut conduire à l'apoptose si les dégâts sont importants. (Michael, 2007).

L'oxydation des lipides par les ROS peut aussi concerner des lipides circulants : elle aboutit à la formation de lipoprotéines de faible densité ou LDL oxydés, qui participent au dépôt lipidique dans les vaisseaux (plaque d'athérome) (Grandjean, 2005).

### **4.3. Altérations des protéines :**

Les ROS provoquent une dénaturation des protéines : altération des groupements thiols, formation de ponts disulfures, accentuation du caractère hydrophobe d'où agrégation des protéines qui les rend plus résistantes à la protéolyse physiologique (Grandjean, 2005). Cela concerne en particulier les enzymes cytosoliques et les protéines de transport qui perdent leurs fonctionnalités à la suite de ces modifications délétères.

### **4.4. Altérations des métaux de transition :**

Les métaux de transition se trouvent fixés sur des protéines de transport. L'action des ROS sur leur site de fixation entraîne un relargage de ces dernières : ils sont alors capables de renforcer les effets néfastes des espèces radicalaires en réagissant avec eux (échange d'électrons) (Grandjean, 2001).

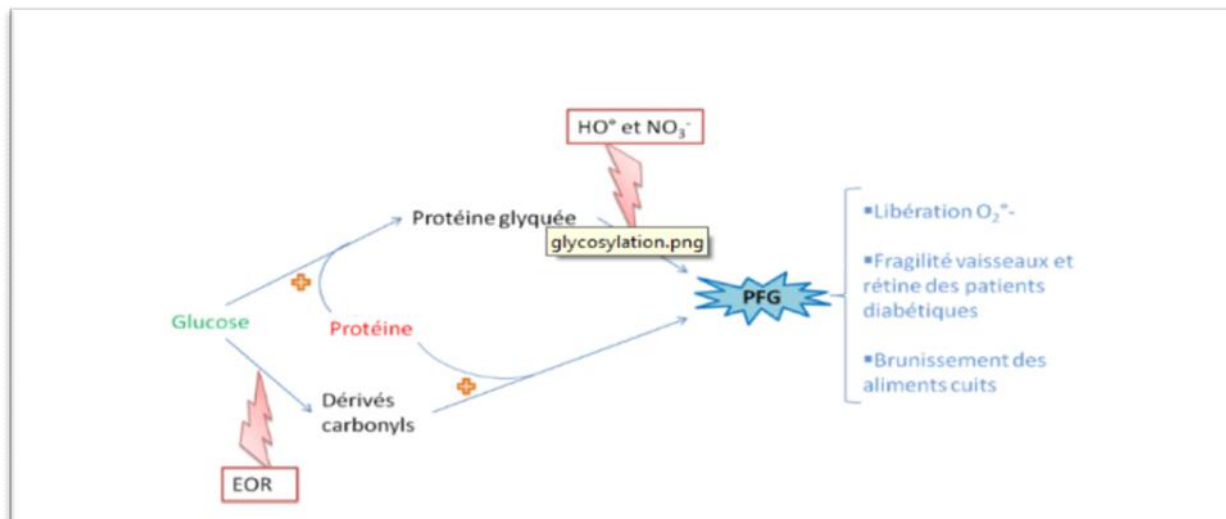
### **4.5. Altérations des polysaccharides :**

Les cibles glucidiques sont essentiellement le glucose et les protéoglycanes du cartilage. L'oxydation au sens large du glucose est aussi appelée « glycosoxydation » et regroupe en fait 2 mécanismes possibles (Halliwell and Gutteridge, 2007) :

- Soit oxydation au sens strict du glucose, donnant des dérivés carbonyles susceptibles de réagir avec une protéine, pour aboutir à la formation de « produits finaux de glycosylation » ou PFG (AGEs en anglais pour « *advanced glycation end-products* ») (Fig.4)

## CHAPITRE 2:STRESS OXYDANT

- Soit formation d'une liaison covalente entre un ose et les groupements aminés libres d'une protéine : on parle de « glycosylation non-enzymatique des protéines ». Cela forme une protéine glyquée, qui peut être attaquée par des ROS telles que HO<sup>•</sup> ou NO<sub>3</sub><sup>-</sup> pour former des PFG (Fig.4).



**Figure 4 :** Oxydation au sens large du glucose ou « Glycosoxydation », selon les 2 voies principales : glycosylation non enzymatique des protéines en haut, et oxydation au sens strict du glucose en bas. PFG : produits finaux de glycosylation. (Halliwell et Gutteridge ,2007).

### 5. Les marqueurs biologiques de stress oxydant cellulaire :

La production excessive des radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques : oxydation de l'ADN, des protéines, de lipides et des glucides, mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides. La mise en évidence des dérivés de l'oxydation de ces différents substrats seront donc des marqueurs de la présence d'un stress oxydant (Cano et al., 2007).

**Tableau 1:** exemple de produits dosés couramment pour rendre compte de l'oxydation d'une cible moléculaire donnée (Cano et al., 2007).

Cible	Produits	Exemples
Protéine	Protéines oxydées	Groupes carbonyle, tyrosine hydroxylée
ADN	ADN oxydé	8-hydroxy-2, déoxyguanosine
Lipides	Lipide peroxydés	Malondialdéhyde(MDA),isoprostanés



### **6. Les défenses cellulaires contre le stress oxydant :**

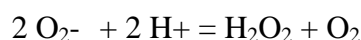
Compte tenu de la toxicité des ROS l'organisme dispose de systèmes de défense, regroupés sous le terme d'antioxydants. Un antioxydant correspond à une substance qui peut, à faible concentration, supprimer ou empêcher l'oxydation de ceux-ci. (Halliwell and Gutteridge, 1990). Les stratégies de défense vis-à-vis du stress oxydant sont variées :

On distingue classiquement 2 catégories d'antioxydants : les systèmes enzymatiques et les systèmes non-enzymatiques :

#### **6.1. Les systèmes antioxydants enzymatiques :**

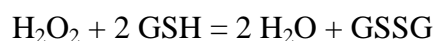
##### **6.1.1. Superoxyde dismutase SOD :**

Il s'agit de la première ligne de défense car elle accélère considérablement la réaction de transformation de l'anion superoxyde  $O_2^-$  en peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$  et dioxygène  $O_2$ . Elle agit en fait tel un catalyseur. (Mandelker, 2008)



##### **6.1.2. Glutathion peroxydase GPX :**

Il s'agit d'une enzyme sélénodépendante, dont il existe là aussi plusieurs isoformes, réparties différemment dans la cellule. Elle catalyse la réaction de transformation des peroxydes d'hydrogène  $H_2O_2$  et lipidiques ROOH respectivement en eau et alcool ROH. Cette réaction met en jeu une molécule antioxydante non enzymatique, le glutathion, sous sa forme réduite GSH. En réalité 2 molécules de GSH sont nécessaires et formeront la forme oxydée du glutathion à savoir le glutathion disulfide GSSG. (Powers and Jackson, 2008)

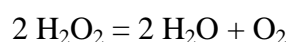


## CHAPITRE 2:STRESS OXYDANT

---

### **6.1.3. Catalase CAT :**

La catalase se trouve dans les peroxysomes essentiellement. Elle assure la transformation en eau et dioxygène du peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, pour lequel elle a une moins forte affinité que la GPX. (Powers and Jackson, 2008). Elle fonctionne avec un cofacteur : le fer (Tessier and Marconnet, 1995).



### **6.1.4. Systèmes enzymatiques accessoires :**

A côté des 3 principales enzymes antioxydantes, on trouve d'autres enzymes dont le rôle est moins important (Powers and Jackson, 2008) :

**-Glutaredoxine** : elle assure la protection des groupements thiols, par une réaction redox entre un NADPH et un substrat disulfide. (Berndt et al., 2007)

**-Peroxiredoxine** : il s'agit d'une peroxydase, c'est-à-dire qu'elle est capable de réduire un peroxyde lipidique ROOH, ou un peroxyde nitrique NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, à partir de la thioredoxine. (Rhee et al., 2005)

**-Paraoxonases** : ce sont des estérases calcium-dépendantes dont le nom vient de leur capacité à détruire un métabolite toxique issu du parathion : le paraoxon. Elles constituent une des principales défenses contre la neurotoxicité des organophosphorés (Goswami et al., 2009).

### **6.2. Les systèmes antioxydants non enzymatiques liposolubles :**

Etant liposolubles ils se répartissent au sein des membranes cellulaires. On trouve dans cette catégorie : la vitamine E, les caroténoïdes, et l'ubiquinol. (Halliwell and Gutteridge, 1990).

### **6.3. Les systèmes antioxydants non enzymatiques hydrosolubles :**

Ces antioxydants sont répartis dans le cytosol, le plasma et le milieu extracellulaire. On y retrouve : la vitamine C, le glutathion, l'acide urique, la bilirubine, l'acide -lipoïque et les flavonoïdes. (Halliwell and Gutteridge, 1990).

## CHAPITRE 2:STRESS OXYDANT

---

### **7. Les maladies liées au stress oxydatif:**

En faisant apparaître des molécules biologiques anormales et en sur exprimant certains gènes, le stress oxydant sera la principale cause initiale de plusieurs maladies: cancer, cataracte, syndrome de détresse respiratoire aigu (SDRA), oedème pulmonaire, vieillissement accéléré, alzheimer, parkinson, infections intestinales, rhumatisme, l'athérosclérose, le diabète (Atawodi, 2005; Georgetti *et al.*, 2003).

### **8. Implication des espèces oxygénées activées dans le développement du cancer :**

La cancérogenèse est un processus complexe multi-séquentiel menant une cellule de l'état sain à un état précancéreux et, finalement, à un stade précoce de cancer. Le développement du cancer se divise en trois grandes étapes (initiation, promotion et progression) dans lesquelles le stress oxydatif est impliqué.

Dans la première étape des lésions peuvent se produire sous l'effet de radiations ionisantes ou de rayonnements ultraviolets par exemple. Dans ce cas, les ROS jouent un rôle important dans l'altération du matériel génétique des cellules (Fig.5) (Pincemail *et al.*, 1998), le radical hydroxyle s'attaque à la guanine, base purique constitutive de l'ADN, qui se transforme en 8 hydroxy-2' déoxyguanosine (poulsen *et al.*,1998). Ceci a comme conséquence l'apparition d'une mutation au niveau de l'ADN (Fig.5). L'oxygène singulet réagit aussi avec la guanine pour former un autre dérivé oxydé, la 8-oxo-7, 8-dihydroguanine. Les ROS peuvent aussi agir comme messagers secondaires (*Palmer, 1997*) en modifiant dans la cellule la régulation rédox du glutathion (GSH). Il en résulte une activation de la thiorédoxine (TRX) qui active le facteur de transcription qu'est le NF-KB normalement dans un état inactif dans le cytoplasme. Une fois activé, le NF-KB migre dans le noyau de la cellule où il peut transactiver des gènes cibles. Il participe de la sorte à la synthèse de nombreux médiateurs comme des protéines d'adhésion impliquées dans le processus du développement du cancer (Fig.6).

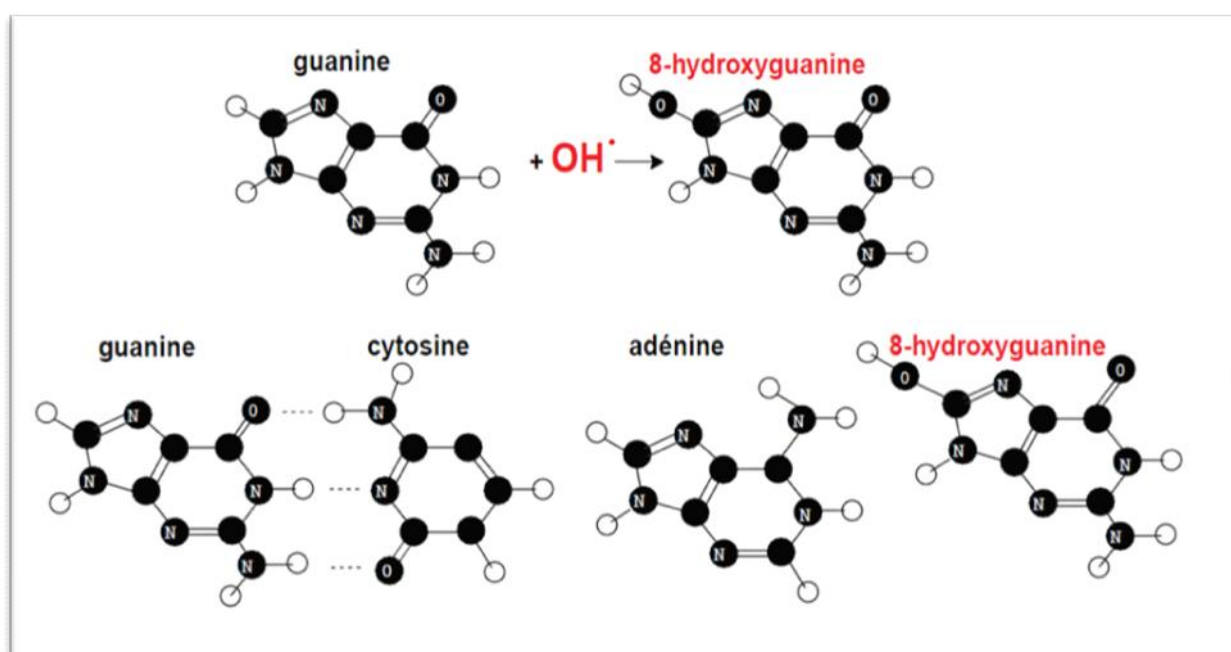
La promotion peut se produire spontanément ou être induite par un promoteur tumoral comme les lipides alimentaires, les hormones ou même une inflammation (une source

## CHAPITRE 2:STRESS OXYDANT

importante de production des ROS). Ces facteurs vont permettre le maintien du caractère immortel de la cellule lors de sa multiplication.

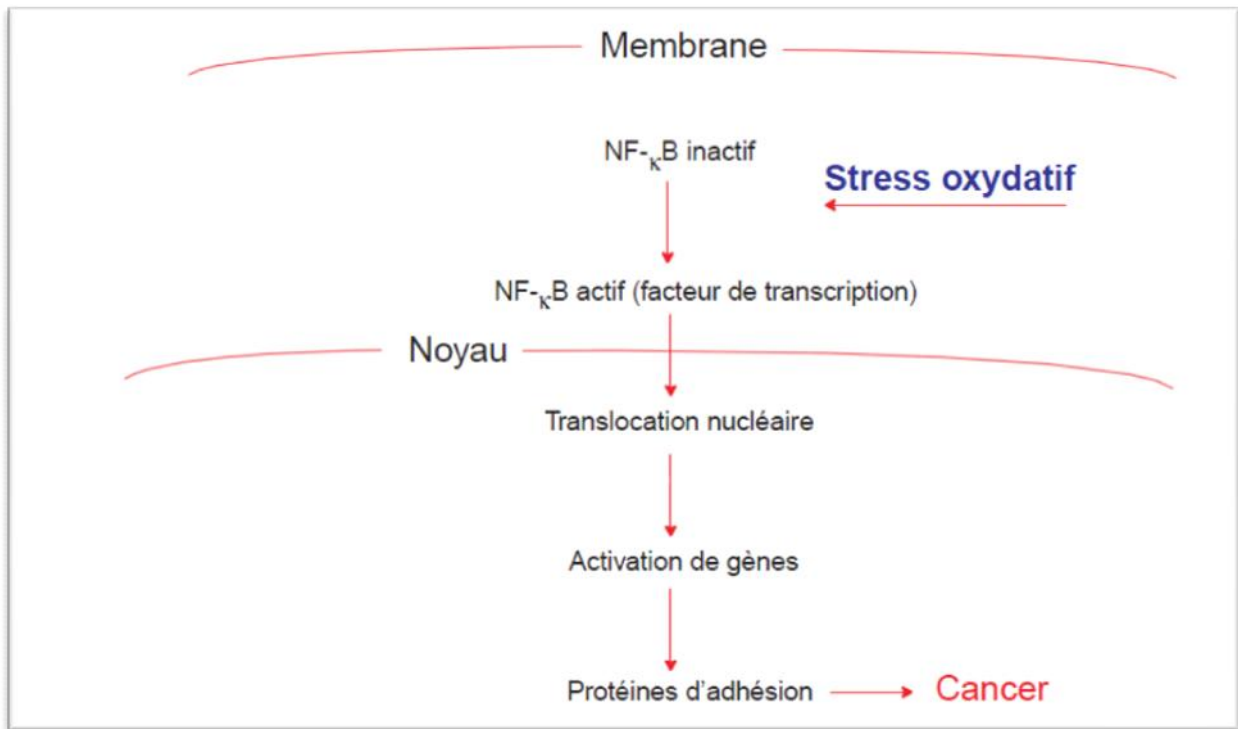
Au cours de la dernière phase les cellules pré-néoplasiques évoluent en cellules cancéreuses dû à l'incapacité de l'organisme de reconnaître comme anormales les cellules cancéreuses, à la persistance du facteur causal ou à des perturbations dans les mécanismes de défense (systèmes de réparation de l'ADN permettant, par exemple, l'excision des bases oxydées) induites par une augmentation du stress oxydatif.

En outre le stress oxydant stimule la surexpression du facteur de croissance endothélial vasculaire VEGF un facteur important de l'angiogenèse tumorale et la néovascularisation. (Schafer et al., 2003). Des données cumulées suggèrent que le stress oxydatif contribue directement à la progression néoplasique et les métastases. (Khamis et al., 2012).



**Figure 5:** Effet de l'attaque du radical hydroxyle ( $\text{OH}^\bullet$ ) sur la guanine, base constitutive de l'ADN. Au cours de la réplication de celui-ci, la guanine s'associe normalement avec la cytosine. Par contre, la guanine oxydée (8 hydroxy-2'deoxyguanosine) se fixe avec une autre base purique, en l'occurrence l'adénine, ce qui provoque une mutation G(uanine)-T(hymine) dans le brin fille de l'ADN.

## CHAPITRE 2:STRESS OXYDANT



**Figure 6:** Induction de la cancérogenèse via l'activation du facteur transcriptionnel NF- B induite par le stress oxydatif

## **CHAPITRE 3 : CANCEROGENESE**

---

### **1. Définition du cancer :**

Le cancer est un terme général utilisé pour définir un grand groupe de pathologies pouvant affecter différentes parties de l'organisme (Organisation mondiale de la santé, 2012). Ces maladies sont aussi appelées tumeurs malignes et/ou néoplasiques. Ce sont des dysfonctions d'origine génétique, mais pas nécessairement héréditaires. Elles consistent essentiellement en une prolifération cellulaire anormalement élevée, puis en l'activation de plusieurs signaux favorisant le maintien et la survie de ces nouvelles cellules tumorales. (Amélie, 2012).

### **2. Les causes des cancers :**

Les substances carcinogènes sont par définition des agents qui «causent le cancer». On affirme que certains produits chimiques ou certaines toxines dans nos aliments, dans l'environnement, dans les cosmétiques ou dans les produits d'hygiène personnelle ou de consommation générale, peuvent causer le cancer. (Barnard et al., 1997).

#### **2.1. Les agents physiques :**

##### **2.1.1. Irradiation :**

Il existe une augmentation significative du nombre de cancers, qui varie selon les tissus irradiés. Les tissus les plus touchés sont la moelle osseuse, la glande thyroïde, le sein et l'os. Les leucémies apparaissent en moyenne 8 ans après l'irradiation causale, les sarcomes 20 ans après, les autres tumeurs 30 ou 40 ans après. Les accidents de Tchernobyl et de Fukushima sont des exemples plus récents de cancers induits par irradiation. (André, 2011).

## **CHAPITRE 3 : CANCEROGENESE**

---

### **2.1.2. Rayonnements:**

Le rôle des UV (rayons ultraviolets), en particulier des UVB, les plus courts et les plus nocifs, dans l'apparition de tumeurs cutanées a été mis en évidence à la fois par des observations épidémiologiques (fréquence élevée des mélanomes en Australie par exemple) et par des modèles expérimentaux. (Chaillol, 2011).

### **2.2. Agents chimiques :**

#### **2.2.1. Alcool :**

Chez l'homme, l'alcool est un cofacteur de risque pour les cancers de la cavité buccale, du pharynx, de l'œsophage et du foie (augmentation de risque variant de 2 à 15 selon les quantités bues et les organes atteints). Un certain nombre d'études montrent une augmentation de risque du cancer du sein chez les femmes consommant des boissons alcoolisées. (Josiane et al., 2007).

#### **2.2.2. Tabac :**

L'explosion spectaculaire des cancers broncho-pulmonaires attira l'attention, il y a une quarantaine d'années, sur le rôle du tabac. Selon de nombreuses enquêtes épidémiologiques, le tabac est responsable de plus de 90 % des cancers bronchiques. Le risque est d'autant plus important qu'on fume beaucoup, depuis longtemps, qu'on inhale la fumée et qu'on a commencé jeune. Enfin, il faut mentionner une augmentation du risque de cancers broncho-pulmonaires chez les personnes vivant dans un environnement enfumé (fumeurs passifs).

Le tabac est responsable de 30 % des décès par cancer chez l'homme et de l'incidence croissante des cancers bronchiques chez la femme. (Clément et al., 2010).

## CHAPITRE 3 : CANCEROGENESE

---

### **2.2.3. Alimentation :**

Des études ont attiré l'attention sur le rôle de l'alimentation dans la genèse de certains cancers, les aliments étant incriminés en tant que tels (graisses), par déficience « fibres, vitamines » ( Le rôle des graisses ''acide gras'' dans la carcinogénèse est suspecté principalement dans le cas de cancers colorectaux, mais également dans les cancers du sein, de l'endomètre et de la prostate ) ou par contamination intermédiaire (aflatoxine, nitrites).

Le mode d'alimentation a une grande influence sur le risque d'être exposé aux composés nitroso- (*N-nitroso compounds* ou « *NOC* » pour les anglophones) (composés contenant le groupe NO) et à leurs effets. (Joosen et al., 2010). La présence de précurseurs alimentaires permettant la nitrosation augmente le risque de cancer par mutation de cellules de l'épithélium intestinal (Shephard et al., 1989), ainsi que d'autres cancers : cancer de l'estomac, cancer de l'œsophage, cancers de la sphère nasopharyngée et cancer de la vessie. (Mirvish, 1995).

### **2.2.4. Médicaments cancérigènes :**

L'attention sur le rôle cancérigène des hormones fut attirée par l'apparition de cancer du vagin chez les filles nées de mères ayant reçu du diéthylstilbestrol (œstrogène) pendant les 3 premiers mois de la grossesse. Lorsque les œstrogènes sont utilisés en tant que contraceptifs, c'est-à-dire associés à des progestatifs, le risque de voir apparaître un cancer du sein est sensiblement le même chez les utilisatrices et les non-utilisatrices. L'utilisation des contraceptifs oraux soulève quelques réserves, portant sur la durée de l'utilisation, l'utilisation avant une première grossesse et l'utilisation chez les femmes atteintes d'une affection bénigne du sein. Toutefois, des enquêtes américaines, réalisées auprès d'une population de femmes ménopausées ayant reçu un traitement œstrogénique, ont montré une augmentation, de l'ordre de 4 à 8 fois, du risque de cancer du corps de l'utérus – cette augmentation étant directement liée à la dose et à la durée de la prise d'œstrogènes. (Bamigboye et al., 2009).



## **CHAPITRE 3 : CANCEROGENESE**

---

### **2.2.5. Pollution de l'air :**

La pollution de l'air atmosphérique a été classée « cancérogène certain » par l'organisation mondiale de la santé (OMS) en 2013, le gazole et les particules fines ayant été rangés dans cette même catégorie en 2012. Les études portant sur des milliers de personnes pendant plusieurs décennies ont montré que l'exposition à la pollution de l'air provoque le cancer du poumon et serait associée à un risque accru de cancer de la vessie. (Myrto, 2009).

### **2.2.6. Substances cancérogènes :**

C'est en 1775 que le médecin et chirurgien anglais Percival Pott établit la relation entre l'exposition à la suie chez les ramoneurs et l'apparition d'un cancer du scrotum. En 1885, le chirurgien allemand Ludwig Rehn signalait un grand nombre de cancers de la vessie chez les ouvriers de l'industrie des colorants. Les plus récentes évaluations du Centre international de recherche sur le cancer montrent que, sur 707 substances ou procédés industriels testés, 7 procédés et 23 substances se sont révélés cancérogènes pour l'homme. (Bernardinelli et al., 1987).

### **Classification des substances chimiques cancérogènes :** (Pierre, 2004).

Plusieurs organismes ont la mission de statuer sur la cancérogénicité des produits auxquels la population est exposée. (Tab. 2)

Les sujets d'étude sont choisis en fonction de deux critères :

- il existe une exposition attestée chez l'être humain.
- il existe des présomptions de cancérogénicité.

## CHAPITRE 3 : CANCEROGENESE

**Tableau 2: Quelques exemples de substances classifiées par le CIRC (Pierre, 2004).**  
*Groupe 1 : L'agent est cancérigène pour l'homme. Le mode d'exposition à cet agent risque de causer le cancer chez l'homme. Exceptionnellement, un agent peut être placé dans cette catégorie lorsque les indications de cancérigénicité ne sont pas tout à fait suffisantes chez l'homme; mais le sont chez l'animal. Groupe 2A : L'agent est probablement cancérigène pour l'homme, et l'exposition est suffisante. Groupe 2B : L'agent est peut être cancérigène pour l'homme. Groupe 3 : L'agent ne peut être classé si les données sont insuffisantes chez l'être humain et l'animal. Groupe 4 : L'agent n'est probablement pas cancérigène pour l'homme.*

<b>Groupe 1</b>	<b>Amiante</b> <b>Benzène</b> <b>Neutrons</b> <i>Helicobacter pylori</i>
<b>Groupe 2A</b>	<b>Acrylamide</b> <b>Adriamycine</b> <b>Formaldéhyde</b> <b>Chloramphénicol</b>
<b>Groupe 2B</b>	<b>Chloroforme</b> <b>Fibres de verre</b> <b>Griséofulvine</b> <b>Styrène</b>
<b>Groupe 3</b>	<b>Acyclovir</b> <b>Acide chlorhydrique</b> <b>Captan</b> <b>Bisulfites</b>
<b>Groupe 4</b>	<b>Caprolactame</b>

\* Centre international de recherche sur le cancer (CIRC)

### 2.3. Agents biologiques :

#### 2.3.1. Prédispositions familiales :

La majorité des cancers n'ont aucun caractère héréditaire. Lorsqu'elles existent, les prédispositions sont liées à l'addition de nombreux facteurs de risque, dont l'intérêt prédictif est faible, voire négligeable. On rencontre, cependant, des formes familiales de

## CHAPITRE 3 : CANCEROGENESE

---

cancer chez l'enfant (rétinoblastome, néphroblastome), rares, et des formes familiales de cancer chez l'adulte (cancer du côlon), fréquentes. (Garber et al., 2005).

### 2.3.2. Virus :

Des preuves expérimentales et épidémiologiques ont permis d'associer au moins huit virus à différents cancers. Deux types de cancers prédominent et alourdissent le fardeau du cancer dans le monde, ce sont le cancer du col utérin (causé par le VPH «virus du papillome humain») et le cancer du foie (causé par le VHB «virus de l'hépatite B» et le VHC «virus de l'hépatite C») (Franceschi, 2000).

L'infection par le virus d'immunodéficience humaine (VIH) favorise l'apparition de cancers, en particulier certaines formes de sarcomes cutanés, cancers du système lymphatique. (Butel, 2000).

### 3. Processus de cancérogenèse :

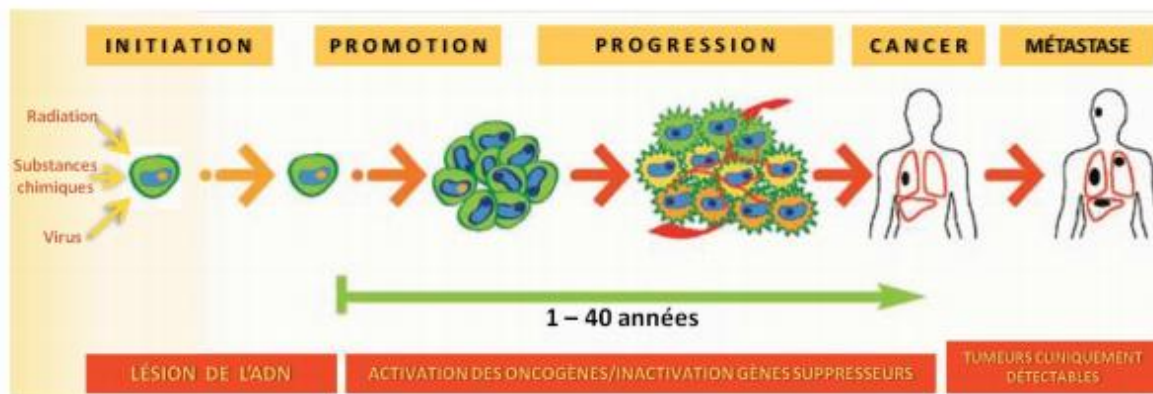
Le cancer se développe à partir d'une cellule qui a subi une mutation puis se transforme en transitant par trois principales étapes (fig.7).

La cancérogenèse débute par une phase d'initiation. C'est-à-dire que la conséquence d'une mutation dans l'ADN résulte en un changement fonctionnel de la cellule atteinte. Cette cellule entre en phase de promotion pendant laquelle la synthèse d'ADN est augmentée. Il y'a une surproduction de prostaglandines, de protéines Ras, d'oncoprotéines et de facteurs de croissance tels PDGF, TGF et , EGF et FGF. La transduction du signal est augmentée par l'activation de protéine G membranaire (Brandt et Pincus, 1998). L'activité métabolique des cellules transformées est altérée. Les cellules tumorales se multiplient de façon incontrôlée.

Pendant la dernière phase de progression, la prolifération continue et les gènes suppresseurs de tumeur perdent leur activité normale. Il y'a une suractivation de métalloprotéases permettant le remodelage de la matrice extracellulaire (Gialeli et al., 2011). Des nouveaux vaisseaux se forment afin d'alimenter la tumeur. L'invasion vers des sites

## CHAPITRE 3 : CANCEROGENESE

secondaires est initiée pour en arriver à la formation de métastases (Abel et Digiovanni, 2008; Croce, 2008).



**Figure 7 : Etapes de la carcinogenèse.** Des agents néfastes affectent une cellule normale et l'initient à la carcinogenèse. La cellule entre en phase de promotion tumorale. Elle subit des lésions au niveau de l'ADN et cela déclenche la prolifération incontrôlée. Des oncogènes sont activés et des gènes suppresseurs sont inactivés pour amener les cellules en phase de progression qui peut durer des années. Finalement, le cancer s'établit et peut être diagnostiqué. (Béliveau et Gingras, 2007).

Il a été proposé par Weinberg et Hanahan que le passage de la cellule normale à la cellule cancéreuse correspond à l'acquisition par la cellule normale de six propriétés (Hanahan and Weinberg, 2000; Hanahan and Weinberg, 2011) :

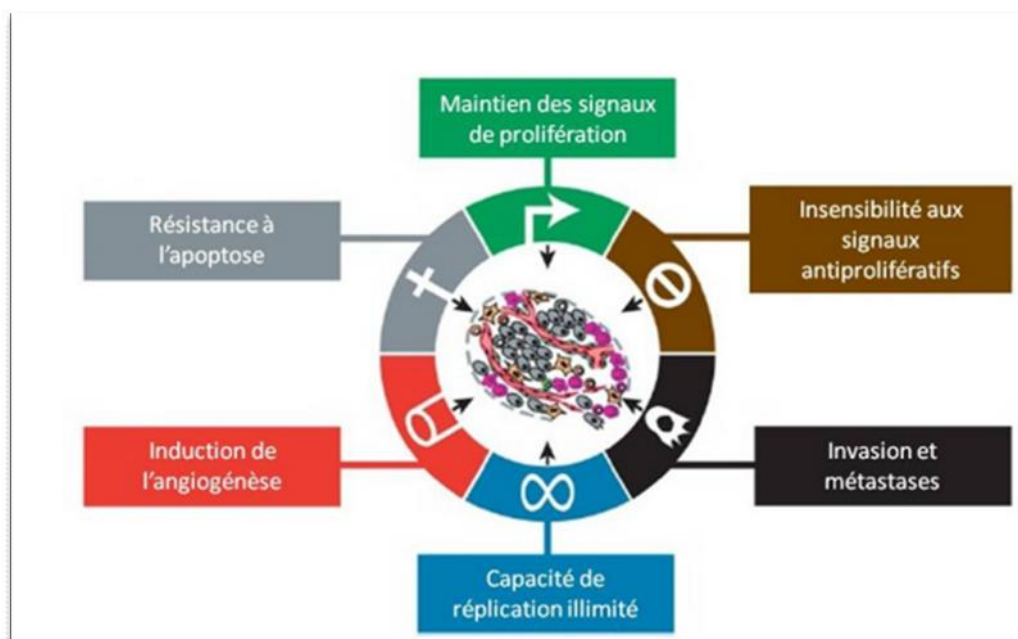
En suivant les stades de développement, les tumeurs acquièrent des caractéristiques qui définissent leurs changements phénotypiques (Fig.8). Premièrement, elles deviennent indépendantes des signaux normaux de prolifération cellulaire. Deuxièmement, elles sont insensibles aux signaux antiprolifératifs. Les cellules cancéreuses doivent échapper à divers mécanismes moléculaires régulant négativement la prolifération cellulaire. (Aqeilan et al., 2007). La plupart de ces mécanismes dépendent de gènes dits suppresseurs de tumeurs. Ces gènes sont capables d'inhiber la prolifération cellulaire en induisant soit la sénescence (état viable et non prolifératif) soit la mort cellulaire programmée ou apoptose. (Salah et al., 2010).

Les voies de signalisation spécifiques de ces facteurs antiprolifératifs sont très majoritairement altérées dans les tumeurs. (Andresand, 2009).

## CHAPITRE 3 : CANCEROGENESE

Troisièmement, il s'installe une résistance à l'apoptose. Quatrièmement, elles adoptent une capacité anormale d'angiogénèse, qui correspond à la formation de neovaisseaux sanguins à partir du réseau vasculaire existant (Carmeliet et Collen, 1999). Ce processus est différent de la vasculogénèse qui est la formation d'un plexus vasculaire de novo (Risau, 1997). L'angiogénèse est indispensable durant l'organogénèse. En revanche, une fois le tissu formé, l'angiogénèse devient transitoire. Les cellules tumorales ont un besoin important en oxygène et nutriments pour survivre. Elles vont donc stimuler la formation de nouveaux vaisseaux sanguins. La capacité à induire et à maintenir l'angiogénèse est acquise au cours du développement de la tumeur, et ce, dès que la tumeur atteint une taille d'environ  $1\text{mm}^3$  (Folkman, 2006).

Cinquièmement, elles deviennent invasives et mènent à la formation de métastases. Sixièmement, leur capacité de réplication de l'ADN est illimitée (Hanahan et Weinberg, 2000).



**Figure 8 : Changements phénotypiques associés au développement tumoral.** *Le développement néoplasique confère aux cellules des mécanismes moléculaires adaptatifs régulant des voies de prolifération, de survie et d'invasion pour former le cancer. Ces caractéristiques spécifiques sont nommées en fonction des phases de développement et des biomarqueurs impliqués dans la génération de lésions malignes. (Hanahan et Weinberg, 2000)*

## CHAPITRE 3 : CANCEROGENESE

---

### **4. Cancer du sein :**

La notion de « cancer du sein » relève d'une nomenclature générique qui fait référence à tout un ensemble de proliférations néoplasiques de la glande mammaire qui diffèrent tant du point de vue histologique qu'en ce qui concerne leur comportement évolutif. Le terme de « cancer du sein » ne désigne que les tumeurs malignes du sein, potentiellement agressives, tandis que le terme de « tumeur du sein » désigne à la fois les tumeurs malignes et bénignes. (Hamdan, 2013).

#### **4.1. Anatomie du sein :**

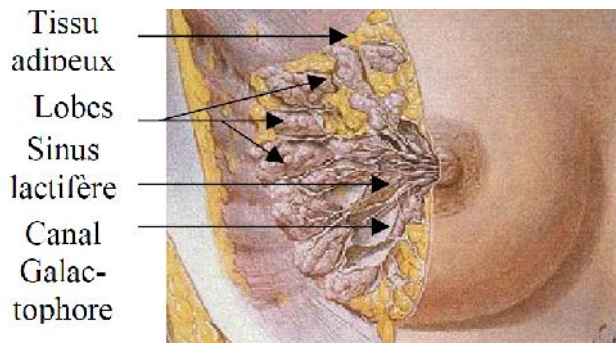
Le sein contient de 10 à 15 canaux galactophores, s'abouchant pour constituer un pore mamelonnaire après une dilatation appelée sinus lactifère. Ces canaux se ramifient en canaux secondaires jusqu'aux lobules (Fig.9 : A). Les lobules sont constitués d'un canalicule extralobulaire se prolongeant par un canalicule intra-lobulaire dans lequel se jettent plusieurs canalicules terminaux ou acini (Fig.9 : B). La paroi des acini est constituée par une couche de cellules épithéliales bordant la lumière des acini et reposant sur des cellules myoépithéliales à activité contractile. L'ensemble se dispose sur une membrane basale (Fig.9 : C). Les lobes sont classés en quatre types selon le nombre de lobules qui les constituent. Les lobes de type 1 sont les premiers à se former et sont ceux qui contiennent le moins de lobules, 11 lobules pour 80 lobules dans les lobes de types 3. Le type 4 ne sera présent que durant la gestation et la lactation et correspond à la période de différenciation maximale des cellules épithéliales (Fig.9 : D). (Russo et al., 2004).

Les acini sont entourés d'un tissu conjonctif lâche tandis que le tissu conjonctif extralobulaire est dense avec peu de cellules. Un tissu adipeux en proportion variable entoure tous ces constituants.

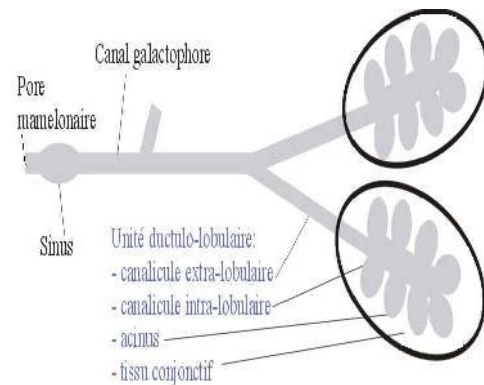
Les vaisseaux sanguins et lymphatiques circulent dans le tissu conjonctif et adipeux. Le sein est vascularisé par plusieurs artères dont les artères mammaires. Le drainage par les vaisseaux lymphatiques s'effectue vers la chaîne mammaire interne, les ganglions axillaires et sus claviculaires. (Payre, 2008).

## CHAPITRE 3 : CANCEROGENESE

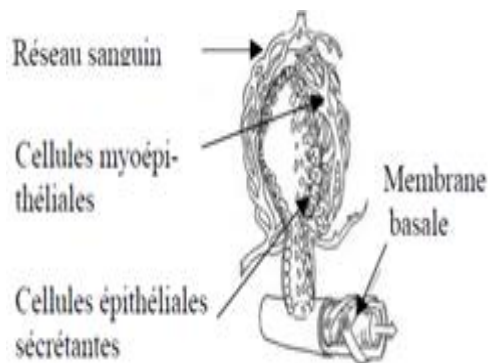
A



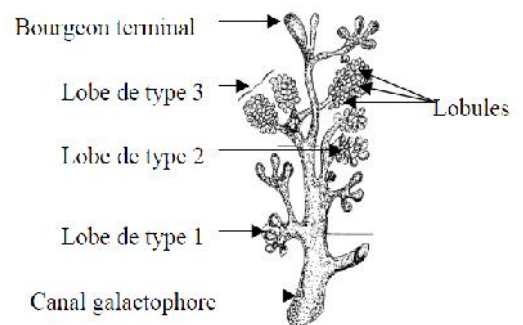
B



C



D



**Figure 9:** Anatomie (A) et quelques structure du sein, (B) lobule, (C) Acinus (alvéole), (D) différents types de lobes.

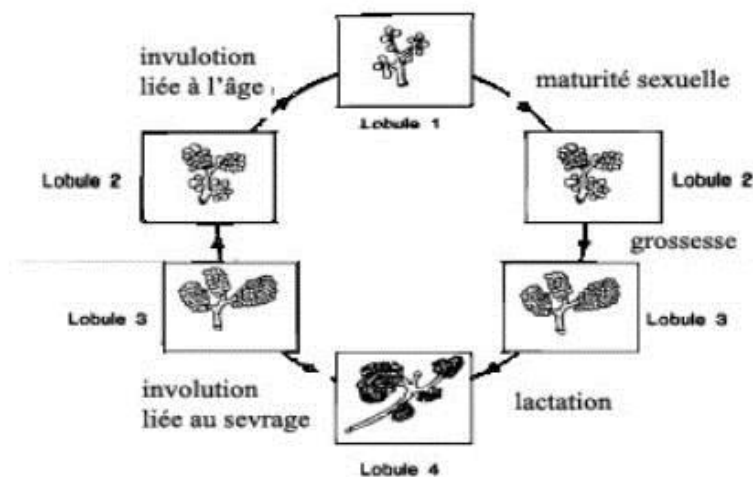
### 4.2. Physiologie :

La glande mammaire est un organe spécialisé dans la nutrition du nourrisson. Le développement de la glande mammaire durant l'embryogenèse est identique chez l'homme et chez la femme. Le développement spécifique du sein de la femme commence à la puberté et est dépendant des œstrogènes produits par les ovaires ainsi que de la progestérone et de la prolactine. Après la puberté, la croissance et l'involution (régression du tissu) de la glande mammaire sont régulées par les cycles menstruels, la grossesse et la lactation.

## CHAPITRE 3 : CANCEROGENESE

Chez la souris, le développement de la glande mammaire commence durant l'embryogenèse et n'est pas complètement terminé à la puberté. Le dimorphisme sexuel commence chez la souris à peu près au 12<sup>ème</sup> jour du développement embryonnaire, avec une réponse aux androgènes différente (Sakakura, 1987). Le développement de la glande mammaire chez le mâle subit une inhibition alors que chez la femelle l'invasion cellulaire continue et s'accompagne d'une différenciation cellulaire formant des canaux en forme de branche dès la troisième semaine (Stranges, 2001).

Chez la femme, le développement du sein se caractérise par la formation progressive des canaux et des lobes à partir de bourgeons terminaux (fig.10). A chaque cycle menstruel la formation de cette structure progresse un peu et ce, jusqu'à l'âge de 35 ans. Les bourgeons terminaux forment les bourgeons alvéolaires qui formeront les acini au moment de la différenciation maximale qui a lieu durant la gestation et la lactation. (Payre, 2008).



**Figure 10:** Evolution de la glande mammaire féminine au cours de la vie.

([http://www.unilim.fr/theses/2003/sante/2003limo0100e/these\\_body.html](http://www.unilim.fr/theses/2003/sante/2003limo0100e/these_body.html))



## CHAPITRE 3 : CANCEROGENESE

---

### **4.3. Statut clinique du cancer du sein :**

Le terme « carcinome » ou « épithélioma » est parfois utilisé, comme synonyme de «cancer ». En réalité le carcinome est un terme spécifique de morphologie microscopique (histologique) qui désigne les types les plus fréquents du cancer du sein d'origine épithéliale.

La plupart des tumeurs malignes du sein sont des adénocarcinomes développés soit à partir des cellules épithéliales des lobules glandulaires (carcinomes lobulaires), soit à partir des cellules épithéliales des canaux galactophores (carcinomes canaux) et représentent environ 98% des carcinomes mammaires. (Hamadan, 2013).

#### **4.3.1. Les cancers in situ :**

On reconnaît deux formes de cancer In situ: le carcinome canalaire in situ (CCIS) et le carcinome lobulaire in situ (CLIS). (OMS, 2003)

Il s'agit d'une lésion précancéreuse dont les cellules néoplasiques restent confinées à l'intérieur du galactophore. Il n'ya donc pas d'envahissement du tissu conjonctif (Page et al., 1995).

#### **4.3.2. Les cancers infiltrants :**

L'invasion est le principal signe de malignité d'une tumeur, celle-ci déborde son siège d'origine (la forme in situ) pour s'étendre dans les tissus voisins et éventuellement à distance (métastase). Ce caractère infiltrant traduit la perte des propriétés habituelles d'une cellule. Les cellules cancéreuses perdent ces propriétés normales pour en acquérir de nouvelles. Elles acquièrent une mobilité qui leur permet de se détacher du canal d'origine et de s'infiltrer dans les tissus voisins (Puddu et Tafforea, 2005).

# PARTIE PRATIQUE

### **1. Matériels biologiques :**

#### **1.1. *Lepidium sativum* (Cresson alénois) :**

*Lepidium sativum* (Cresson alénois) est une plante annuelle, à saveur âcre, dont la tige est de 20 à 50 cm est dressée et rameuse, les fleurs sont de couleur blanche, les graines sont petites et de structure lisse de couleur rougeâtre.



**Figure 11 :** Plante (A) et graines (B) de *Lepidium sativum*

#### **Position systématique :**

Règne :	<u>Plantae</u>
Sous-règne :	<u>Tracheobionta</u>
Division :	<u>Magnoliophyta</u>
Classe :	<u>Magnoliopsida</u>
Sous-classe :	<u>Dilleniidae</u>
Ordre :	<u>Capparales</u>
Famille :	<u>Brassicaceae</u>
Genre :	<u><i>Lepidium</i></u>
Espèce :	<i>sativum</i> <u>(Carl von Linné, 1753)</u>

### 1.1.1. Préparation de l'extrait de la plante *Lepidium sativum*:

0.8 g de graines moulues sont mélangées avec 100 ml d'eau distillée. Après macération une nuit à température ambiante, l'extrait est centrifugé à 6000 tours pendant 15 minutes. Le surnageant est utilisé pour traiter les souris.

### 1.2. *Urtica dioica* (La grande ortie) :

C'est une plante vivace herbacée de 60 à 150 cm de hauteur, formant des colonies grâce à ses longs rhizomes. Tous ses organes sont recouverts de deux types de poils : de longs poils urticants et de petits poils souples. Ses tiges sont dressées et non ramifiées.

Les **feuilles** vert foncé, opposées, ovales à lancéolées, sont en général deux fois plus longues que larges. Elles sont bordées de fortes dents triangulaires.

Les **fleurs** sont unisexuées, minuscules et réunies en grappes, mâles et femelles sur des pieds différents.



**Figure 12:** Plante (A) et feuille (B) d'*Urtica dioica*

### **Position systématique :**

Règne :	<u>Plantae</u>
Classe :	<u>Magnoliopsida</u>
Ordre :	<u>Urticales</u>
Famille :	<u>Urticaceae</u>
Genre :	<u>Urtica</u>
Espèce :	<i>dioica</i> ( <u>Carl von Linné, 1753</u> )

### **1.2.1. Préparation de l'extrait de la plante *Urtica dioica* :**

Les feuilles de la plante sont séchées à l'air libre, puis broyées et une quantité de 0.36 g de la poudre est ensuite mélangée avec 100 ml d'eau distillée. Après une macération une nuit à température ambiante, le mélange est centrifugé à 6000 tours pendant 15 minutes.

Le surnageant est utilisé pour traiter les souris.

### **1.3. Les souris :**

L'étude a été effectuée sur un groupe des souris femelles *Mus musculus*, âgées de 1 mois et demi ayant un poids entre 18g et 23g. L'élevage des souris a été réalisé dans des cages en plastiques au niveau de l'animalerie de l'université Constantine 1, dans une température ambiante et un régime alimentaire standard.

## **2. Traitement des souris :**

Les souris sont réparties en 6 lots, chaque lot contient 10 souris, le traitement a été réalisé, pour une période de 45 jours, comme suit :

- **1<sup>er</sup> lot:** est un lot contrôle qui ne reçoit aucun traitement.
- **2<sup>ème</sup> lot:** les souris reçoivent, chaque semaine une injection du carcinogène, pendant une période de 21 jours.

- **3<sup>ème</sup> lot:** les souris reçoivent par voie orale, 1ml de l'extrait aqueux de la plante *L. sativum*.
- **4<sup>ème</sup> lot:** les souris sont traitées avec 1 ml de l'extrait aqueux de la plante *U. dioica*. L'extrait administré également par voie orale.
- **5<sup>ème</sup> et 6<sup>ème</sup> lot:** les souris sont traitées avec le carcinogène+ l'extrait d'une des deux plantes. Le carcinogène est administré en premier. L'extrait est ensuite administré par gavage,

### **3. Prélèvement des organes:**

Les souris sont disséquées après 15, 30 et 45 jours et les organes sont conservés dans du formol à 10%.

Une étude macroscopique et microscopique a été réalisée sur les glandes mammaires et le foie afin de détecter d'éventuels changements morphologiques.

Une évaluation du statut oxydant a été réalisée également sur des homogénats du foie.

### **4. Evaluation de l'activité anti-oxydante d'extrait de plantes :**

#### **4.1. Test DPPH :**

##### **4.1.1. Principe :**

Le DPPH (1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyl) est un radical libre stable de couleur violacée qui absorbe la lumière à 517nm. En présence de composés anti-radicalaires, le radical DPPH est réduit et change de couleur en virant au jaune. Les absorbances mesurées à 517 nm servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH, qui est proportionnel au pouvoir antiradicalaire de l'échantillon.

##### **4.1.2. Préparation de la solution DPPH :**

3,9 mg de DPPH ont été dissous dans 3,0 ml de méthanol, la solution a été protégée de la lumière, en la recouvrant avec une feuille d'aluminium.

### **4.1.3. Mode opératoire :**

Le test consiste à mélanger, dans un tube, 3900 µl de solution DPPH (0,1 mM) avec 100 µl d'extraits aux dilutions 20%, 40%, 60%, 80% , 100%. Après avoir laissé incuber la réaction à l'obscurité pendant 30 min. L'absorbance est mesurée à 517 nm contre un blanc contenant du méthanol à la place de l'extrait.

La capacité de piégeage du radical libre est ensuite calculée à travers le pourcentage d'inhibition :

$$\text{Le pourcentage d'inhibition} = (A_{\text{blanc}} - A_{\text{extrait}} / A_{\text{blanc}}) \times 100.$$

$A_{\text{blanc}}$  : présente l'absorbance de la solution DPPH en présence du méthanol.

$A_{\text{extrait}}$  : présente l'absorbance de la solution DPPH en présence de l'extrait.

La valeur  $EC_{50}$  (Efficient concentration 50) présente la concentration d'inhibiteur nécessaire pour balayer 50% des radicaux libres.

## **4.2. Piégeage $H_2O_2$ peroxyde d'hydrogène :**

### **4.2.1. Principe :**

Une des méthodes les plus communes pour évaluer la capacité du piégeage du peroxyde d'hydrogène est basée sur l'absorption de cette molécule dans le domaine de l'UV.

Comme la concentration de  $H_2O_2$  diminue par les composés piègeurs, la valeur d'absorbance de ce dernier à 230 nm diminue également.

$$\% \text{ de piégeage } H_2O_2 = [(A0-A1)/A0] \times 100$$

**A0** : est l'absorbance du Contrôle (acide ascorbique).

**A1** : est l'absorbance en présence de l'extrait.

### **5. Dosage des polyphénols totaux des deux plantes (par le réactif folin-ciocalteu):**

#### **5.1. Principe :**

L'ensemble des composés phénoliques est oxydé par le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce dernier est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ) qui est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en mélange d'oxydes bleus de tungstène ( $W_8 O_{23}$ ) et de molybdène ( $Mo_8 O_{23}$ ). La coloration bleue produite possède une absorption maximum aux environs de 750 nm. Elle est proportionnelle au taux de composés phénoliques.

#### **5.2. Mode opératoire :**

Un volume de 0,5 ml de chaque extrait de plante ou d'acide gallique est mélangé à 5 ml du réactif de Folin-ciocalteu diluée au  $1/10^{\text{ème}}$  avec de l'eau distillée et 4 ml de carbonate de sodium ( $Na_2CO_4$ ), afin de favoriser un milieu alcalin pour démarrer la réaction d'oxydoréduction. (L'acide gallique est l'antioxydant de référence).

Après 60 minutes d'incubation à une température ambiante, l'absorbance est lue au spectrophotomètre à 765 nm.



### **6. Etude histologique des organes:**

Les glandes mammaires et le foie ont été l'objet d'une étude microscopique. La réalisation des lames histologiques passe par plusieurs étapes :

#### **1<sup>ère</sup> étape : se fait dans un automate est inclut:**

- La déshydratation : les échantillons sont déshydratés dans 6 bains d'éthanol :
  - 1<sup>er</sup> bain : éthanol de 50%
  - 2<sup>ème</sup> bain : éthanol de 60%
  - 3<sup>ème</sup> bain : éthanol de 70%
  - 4<sup>ème</sup> bain : éthanol de 80%
  - 5<sup>ème</sup> bain : éthanol de 90%
  - 6<sup>ème</sup> bain : éthanol de 100%

La durée de chaque bain est d'1h30min.

- L'éclaircissement : dans cette étape les échantillons sont passés dans 3 bains de xylène, la durée de chaque bain est 1h30min.
- L'inclusion dans la paraffine chaude : les échantillons sont mis dans deux bains successifs de paraffine chaude pendant 3h pour chacun.

**2<sup>ème</sup> étape : la préparation des blocs** : les blocs sont ensuite refroidi dans un congélateur à -60°C.

**3<sup>ème</sup> étape** : réalisation des coupes à l'aide d'un microtome (épaisseur de 3µm).

**4<sup>ème</sup> étape** : coloration double à hématoxyline-éosine HE. Cette coloration se fait dans un automate selon le protocole :

- Bain de xylène : 18min.
- Bain d'éthanol : 18min.
- Rinçage avec de l'eau distillée.
- Bain d'hématoxyline : 6min.

## Matériels et méthodes

---

- Rinçage.
- Bain d'éosine : 3min.
- Rinçage.
- Bain d'éthanol : 8min.
- Bain de xylène : 10min.

**5<sup>ème</sup> étape** : montage et lecture.

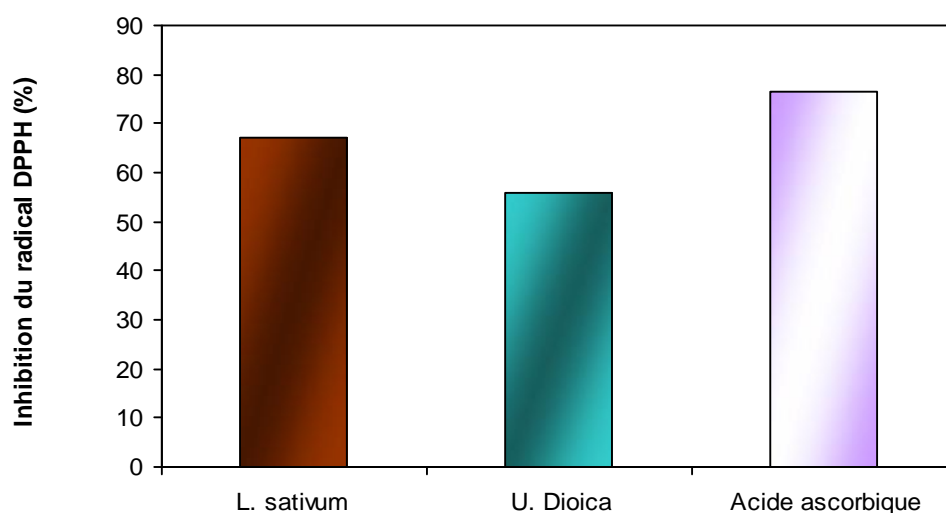
## RESULTATS

### 1. Propriétés anti-oxydantes des extraits :

#### 1.1. Test DPPH :

L'extrait des graines de la plante *L. sativum* montre un pourcentage d'inhibition du radical DPPH de l'ordre de 65.25% pour une concentration de 8 mg/ml alors que l'extrait des feuilles de la plante *U. dioica* montre un pourcentage d'inhibition de l'ordre de 55.84% pour une concentration de 3.6 mg/ml. (Fig. 13)

La comparaison des valeurs  $EC_{50}$  des deux plantes (Tab. 3), montre que la plante *L. sativum* possède plus d'activité antioxydante avec un pouvoir réducteur très proche de celui de l'acide ascorbique. (Tab. 3)



**Figure 13** : Capacité des extraits de plantes *L. sativum* et *U. dioica* à réduire le DPPH, exprimée en %.

**Tableau 3** : Valeurs  $EC_{50}$  des extraits des plantes *L. sativum* et *U. dioica*

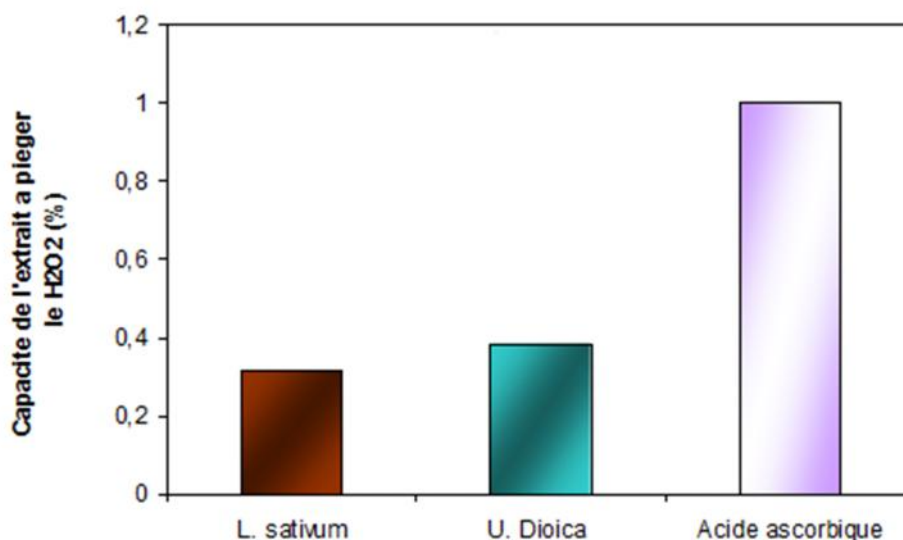
	Les valeurs $EC_{50}$
Acide ascorbique	37.32%
<i>L. sativum</i>	33.62%
<i>U. dioica</i>	27.92%

## RESULTATS

### 1.2. Piégeage H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> :

Les extraits des plantes *L. sativum* et *U. dioica* révèlent une faible activité de piégeage du radical H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> par rapport à celle d'acide ascorbique.

L'extrait des graines de la plante *L. sativum* montre un pourcentage faible de l'ordre de 31.4% alors que celui de l'extrait des feuilles de la plante *U. dioica* présente un pourcentage de l'ordre de 38.23%. (Fig. 14)

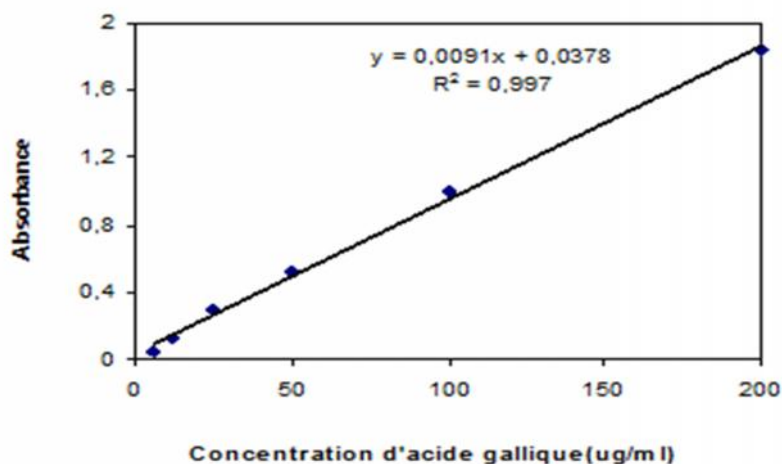


**Figure 14:** Capacité des extraits de *L. sativum* et *U. dioica* à piéger le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, exprimée en %.

### 2. Dosage des polyphénols totaux :

L'extrait aqueux de grains de *L. sativum* contient une quantité de polyphénols totale de l'ordre de 109,4 mg d'équivalent d'acide gallique dans 1 ml. (Ce qui correspond à 109,4 mg équivalent d'acide gallique dans 0.8 g). L'extrait aqueux de feuilles d'*U. dioica* contient par contre moins de polyphénols, cependant la quantité de polyphénols totaux est de 17,9 mg équivalent d'acide gallique/ml (qui est l'équivalent de 17,9 mg équivalent d'acide gallique dans 0.36g). (Fig. 15)

## RESULTATS



**Figure 15:** Gamme d'étalonnage des polyphénols réalisée avec l'acide gallique

### **3. Etude histologique des glandes mammaires:**

#### **3.1. L'effet du carcinogène sur l'histologie des glandes mammaires :**

##### **3.1.1. Etude macroscopique :**

Le carcinogène entraîne une vascularisation des glandes mammaires à partir du 15<sup>ème</sup> et une déléation du canal reliant les deux glandes. A partir du 30<sup>ème</sup> on observe une présence d'une masse au niveau d'une des glandes inférieures de quelques souris.

##### **3.1.2. Etude microscopique :**

La figure 16 montre la structure histologique d'une glande mammaire d'une souris contrôle. On voit sur la figure un canal galactophore entouré par une couche de cellules épithéliales et une couche des cellules myoépithéliales.

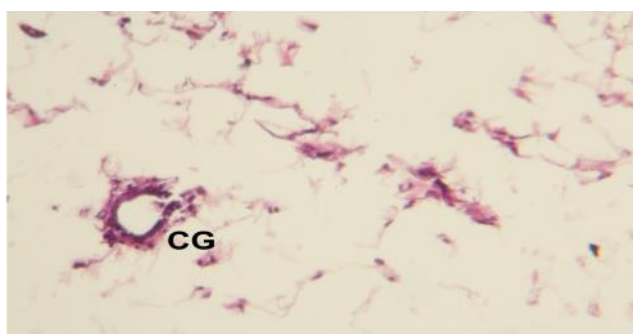
Après 15 jours de la dernière injection du carcinogène, on note une infiltration des neutrophiles (Fig. 17 A) au niveau de l'épithélium des glandes mammaires, témoignant l'installation d'une réponse inflammatoire.

Après 30 jours, on observe un rétrécissement (Fig. 17 B) des canaux galactophores avec altérations des couches épithéliales et myoépithéliales entourant les canaux galactophores. La

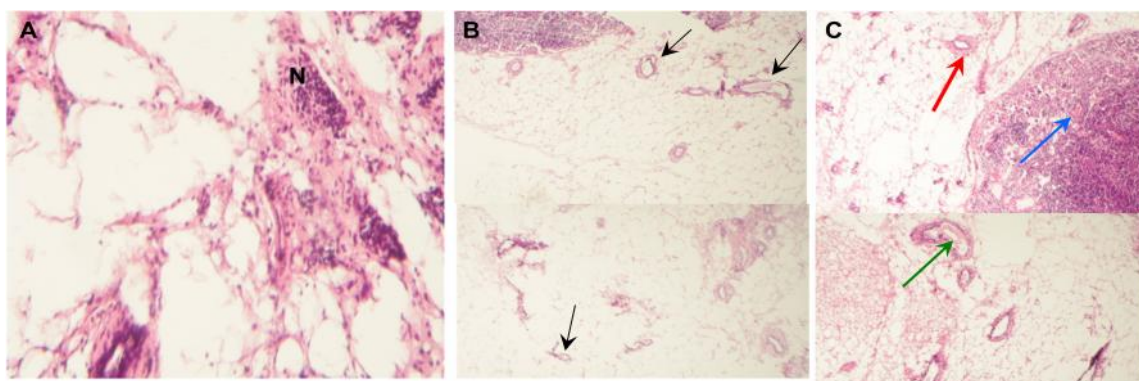
## RESULTATS

couche épithéliale est devenue très fine alors que la myoépthéliale est lésée à différents niveaux des canaux (Fig. 17B, flèches noires).

Après 45 jours, l'analyse histologique montre une prolifération de la couche myoépthéliale (Fig. 17 : C, flèche rouge), apparition de liquide (Fig. 17: C flèche verte) à l'intérieur des canaux galactophores avec des lésions au niveau des acini (Fig. 17 : C flèche bleue).



**Figure 16:** Coupe histologique de la glande mammaire, colorée avec l'Hematoxyline- Eosine, d'une souris contrôlée. (GX 100) CG : canal galactophore.



**Figure 17:** Coupe histologique de la glande mammaire, colorée avec l'HE, d'une souris traitée avec le carcinogène pour une période de 15 (A), 30 (B) et 45 (C) jours. (GX 100) . N : *neutrophile*

## RESULTATS

### 3.2. L'effet des extraits des plantes sur l'histologie des glandes mammaires :

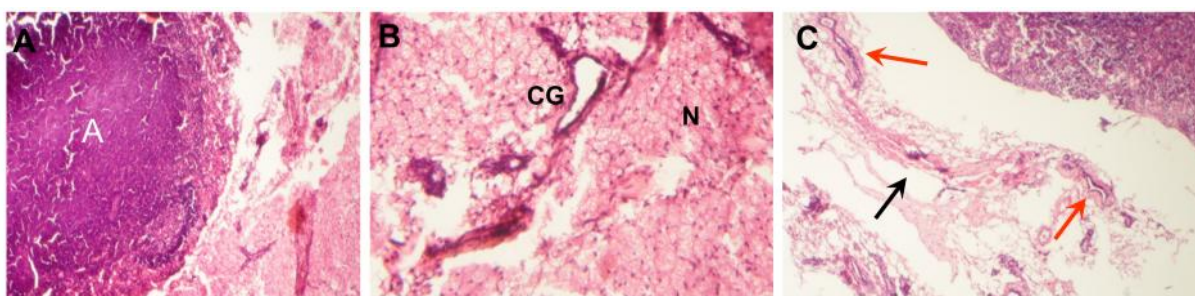
#### 3.2.1. L'effet de l'extrait de la plante *L. sativum* :

##### 3.2.1.1. Etude macroscopique :

L'administration de l'extrait des graines de la plante *L. sativum* entraîne une vascularisation des glandes mammaires de quelques souris, avec une atrophie du canal reliant les deux glandes.

##### 3.2.1.2. Etude microscopique :

Après 15 jours de traitement, on ne voit aucune altération de la structure de la glande (Fig. 18A). Après 30 jours par contre, l'extrait de la plante *L. sativum* entraîne une prolifération de l'épithélium glandulaire (Fig. 18 B). Après 45 jours, l'extrait entraîne une lésion de l'épithélium (Fig. 18 C, flèche noire) avec un rétrécissement des canaux galactophores et une apparition de liquide dans quelques uns (Fig. 18 C, flèche rouge).



**Figure 18:** Coupe histologique de la glande mammaire, colorée avec l'HE, d'une souris traitée avec l'extrait de la plante *L. sativum* pour une période de 15 (A), 30 (B) et 45 (C) jours. (GX 100). *A* : acinus, *CG* : canal galactophore, *N* : nécrose.

## RESULTATS

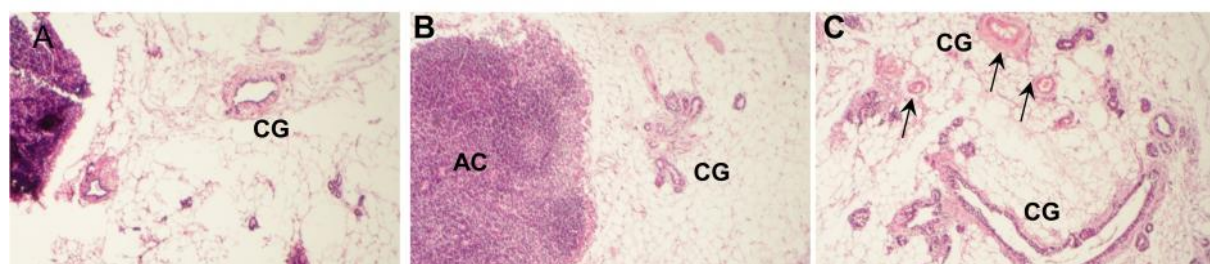
### **3.2.2. L'effet de l'extrait de la plante *U.dioica* :**

#### **3.2.2.1. Etude macroscopique :**

L'administration de l'extrait de la plante *U. dioica* entraîne une vascularisation des glandes mammaires à partir du 15<sup>ème</sup> jour du traitement.

#### **3.2.2.2. Etude microscopique :**

L'analyse histologique de la figure suivante montre que l'extrait des feuilles de la plante *U. Dioica* n'a pas d'effet sur la structure des glandes mammaires après 15 et 30 jours de traitement (Fig. 19A, B). Après 45 jours on observe une prolifération de la couche myoépithéliale de certains canaux galactophores (fig. 19 : C, flèche noire)



**Figure 19 :** Coupe histologique de la glande mammaire, colorée avec l'HE, d'une souris traitée avec l'extrait de la plante *U. dioica* pour une période de 15 (A), 30 (B) et 45 (C) jours. (GX 100). CG : canal galactophore, AC : acinus.

### **3.3. L'effet des traitements combinés carcinogène+ extraits des plantes sur l'histologie des glandes mammaires :**

#### **3.3.1. L'effet du traitement carcinogène + l'extrait de la plante *L. sativum* :**

##### **3.3.1.1. Etude macroscopique :**

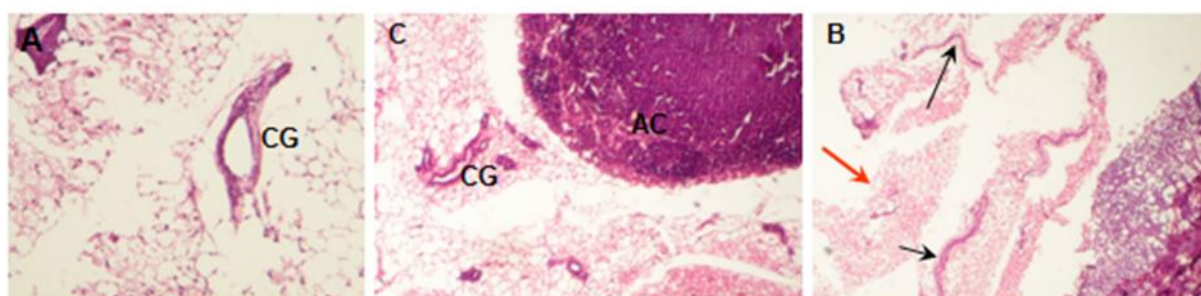
Le traitement combiné entraîne une vascularisation des glandes et une atrophie du canal reliant les deux glandes inférieures.



## RESULTATS

### **3.3.1.2. Etude microscopique :**

La figure suivante (Fig. 20) montre l'effet de l'administration de l'extrait de la plante *L. sativum* après le carcinogène. L'analyse histologique ne montre aucune altération de la structure de la glande après 15 et 30 jours (Fig. 20 A, B). C'est après 45 jours qu'on voit une altération de l'épithélium glandulaire (Fig. 20 : C, flèche rouge) avec rétrécissement des canaux galactophores (Fig. 20 : C, flèche noire).



**Figure 20 :** Coupe histologique de la glande mammaire, colorée avec l'HE, d'une souris traitée avec carcinogène + l'extrait de la plante *L. sativum* pour une période de 15 (A), 30 (B) et 45 (C) jours. (GX 100) **CG:** canal galactophore, **AC:** acinus.

### **3.3.2. L'effet du traitement carcinogène + l'extrait de la plante *U. dioica* :**

#### **3.3.2.1. Etude macroscopique :**

Le traitement combiné entraîne une vascularisation des glandes. Ainsi, une lésion du canal reliant les deux glandes inférieures. Une présence d'une masse au niveau de la glande mammaire chez quelques souris (2 souris sur 10 souris présentent une masse) à partir du 45<sup>ème</sup> jour du traitement.

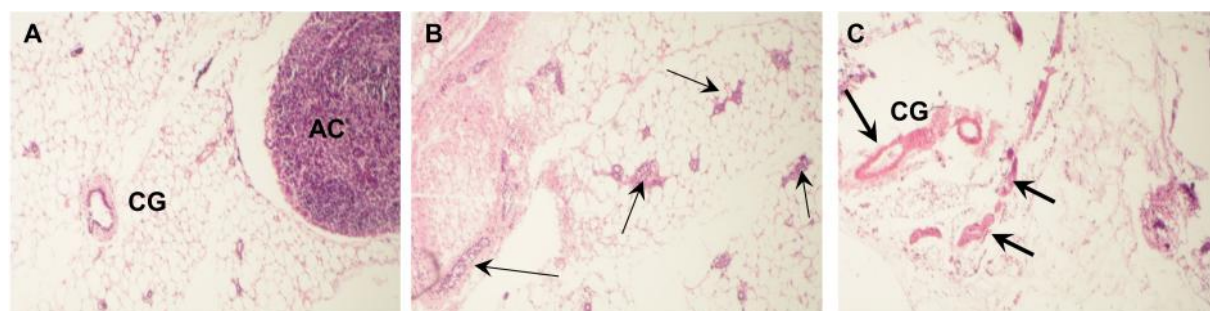
#### **3.3.2.2. Etude microscopique :**

La figure suivante (Fig. 21), montre l'effet du traitement combiné, carcinogène + l'extrait de la plante *U. dioica*. Les résultats montrent qu'après 15 jours le traitement entraîne

## RESULTATS

une prolifération de la couche myoépithéliale autour des canaux galactophores (Fig. 21). Après 30 jours on observe, une atrophie de canaux galactophores (Fig. 21 : B, flèches noires).

Après 45 on a toujours une atrophie des canaux (Fig. 21 : C, flèches noires) et les canaux persistant présentent une atrophie de la couche épithéliale avec une prolifération de la couche myoépithéliale.



**Figure 21 :** Coupe histologique de la glande mammaire, colorée avec l'HE, d'une souris traitée avec carcinogène + l'extrait de la plante *U. dioica* pour une période de 15 (A), 30 (B) et 45 (C) jours. (GX 100). *AC*: acinus, *CG*: canal galactophore.

### **4. Etude histologique du foie :**

#### **4.1. L'effet du carcinogène sur l'histologie du foie :**

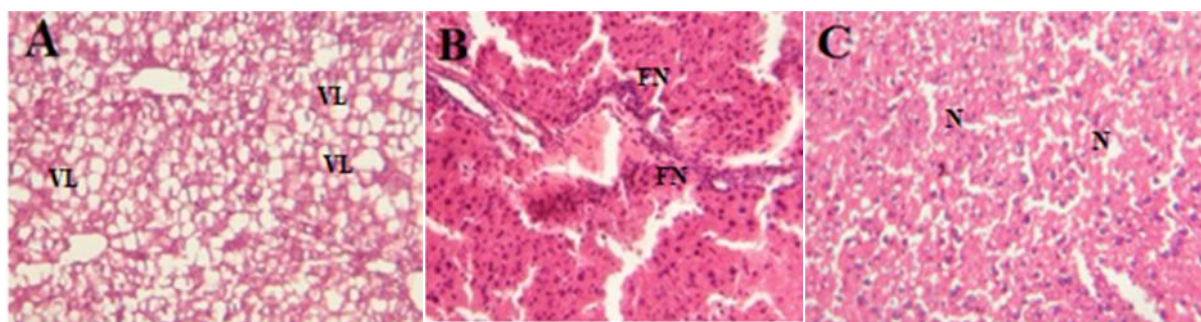
##### **4.1.1. Etude macroscopique :**

Le carcinogène n'a pas d'effet macroscopiquement observé sur le foie.

##### **4.1.2. Etude microscopique :**

La figure suivante (Fig. 22) montre l'effet du carcinogène sur la structure du foie. Le carcinogène entraîne des altérations au niveau du tissu hépatique. En effet on note après 15 jours (Fig. 22 A) du traitement l'apparition des vacuoles lipidiques qui caractérisent la stéatose hépatique. Après 30 jours (Fig. 22 : B), on observe une infiltration des neutrophiles ce qui témoigne l'installation d'une réponse inflammatoire. Après 45 jours (Fig. 22 : C), on voit une absence de neutrophiles avec présence d'un grand nombre d'hépatocytes en nécrose.

## RESULTATS



**Figure 22 :** Coupe histologique du foie, colorée avec l'HE, d'une souris traitée avec le carcinogène pour une période de 15 (A), 30 (B) et 45 (C) jours. *VL* : vacuole lipidique, *FN* : infiltration des neutrophiles, *N* : nécrose

### **4.2. L'effet des extraits des plantes sur l'histologie du foie :**

#### **4.2.1. L'effet de l'extrait de la plante *L. sativum* :**

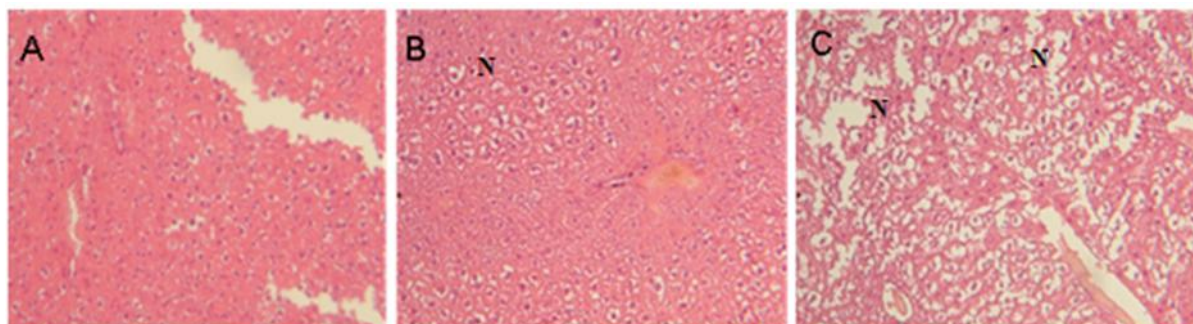
##### **4.2.1.1. Etude macroscopique :**

L'extrait des graines de la plante *L. sativum* n'a aucun effet macroscopiquement observé sur le foie.

##### **4.2.1.2. Etude microscopique :**

La figure 23 montre l'effet de l'extrait des graines de *L. sativum*. L'extrait n'a pas d'effet sur la structure histologique du foie durant les premiers 15 jours du traitement (Fig. 23 A), après 30 et 45 jours du traitement (Fig. 23B, C), on observe l'apparition d'hépatocytes en nécrose et le nombre des cellules en nécrose augmente avec la durée du traitement.

## RESULTATS



**Figure 23 :** Coupe histologique du foie, colorée avec l'HE, d'une souris traitée avec l'extrait de la plante *L. sativum*, pour une période de 15 (A), 30 (B) et 45 (C) jours. (GX100). *N* : nécrose

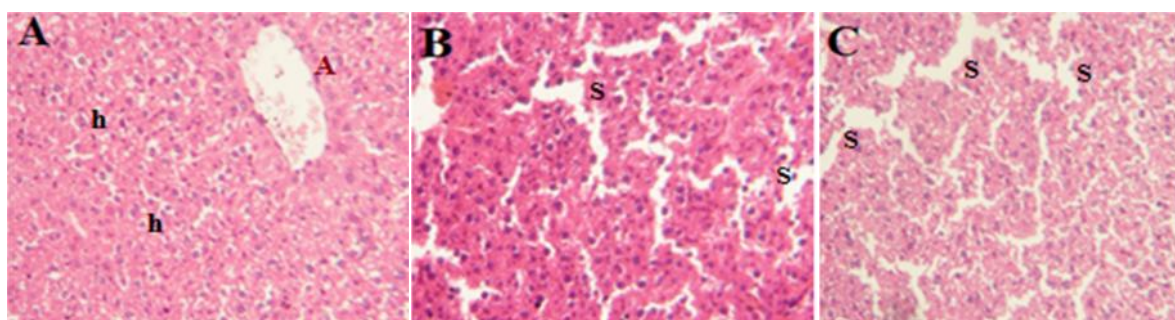
### **4.2.2. L'effet de l'extrait de la plante *U. dioica* :**

#### **4.2.2.1. Etude macroscopique:**

L'extrait de la plante *U. dioica* entraîne une diminution de la taille du foie et une couleur foncée remarquable.

#### **4.2.2.2. Etude microscopique :**

Après 15 jours de traitement la plante *U. dioica* n'a pas d'effet sur la structure du foie, à partir de 30<sup>ème</sup> jour, la plante entraîne une dilatation des sinusoides qui persiste jusqu'aux 45 jours. (Fig. 24)



**Figure 24 :** Coupe histologique du foie, colorée avec l'HE, d'une souris traitée avec l'extrait des feuilles de la plante *U. dioica* , pour une période de 15 (A), 30 (B) et 45 (C) jours.

*h*: hépatocyte, *A* : artère, *S* : sinusoiide dilaté.

### **4.3. L'effet de traitement combiné carcinogène+ extraits des plantes :**

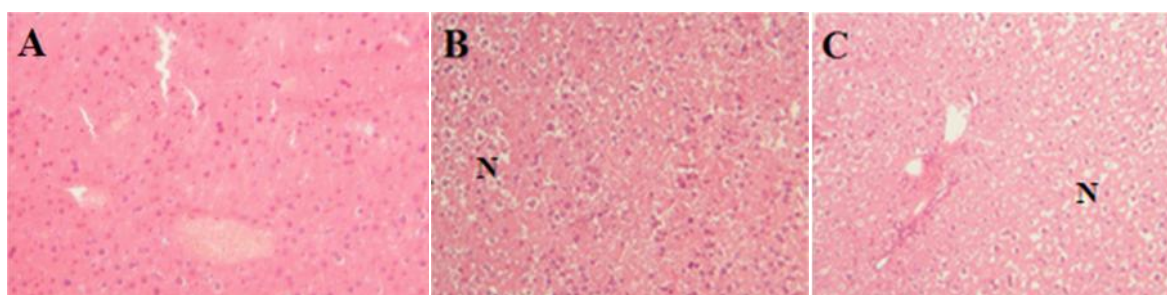
#### **4.3.1. L'effet du carcinogène + l'extrait de la plante *L. sativum* :**

##### **4.3.1.1. Etude macroscopique :**

Aucune altération n'est observée.

##### **4.3.1.2. Etude microscopique :**

La figure 25 montre la structure histologique de foie d'une souris traitée avec le carcinogène suivi de l'extrait de la plante *L. sativum*. Après 15 jours de traitement on ne voit aucune altération de la structure hépatique, Après 30 et 45 jours l'analyse histologique montre la présence de cellules en nécrose



**Figure 25:** Coupe histologique du foie, colorée avec l'HE, d'une souris traitée avec carcinogène + l'extrait de feuilles de la plante *L. sativum* pour une période de 15 (A), 30 (B) et 45 (C) jours. N : nécrose.

#### **4.3.2. L'effet du carcinogène + l'extrait de la plante *U. dioica* :**

##### **4.3.2.1. Etude macroscopique:**

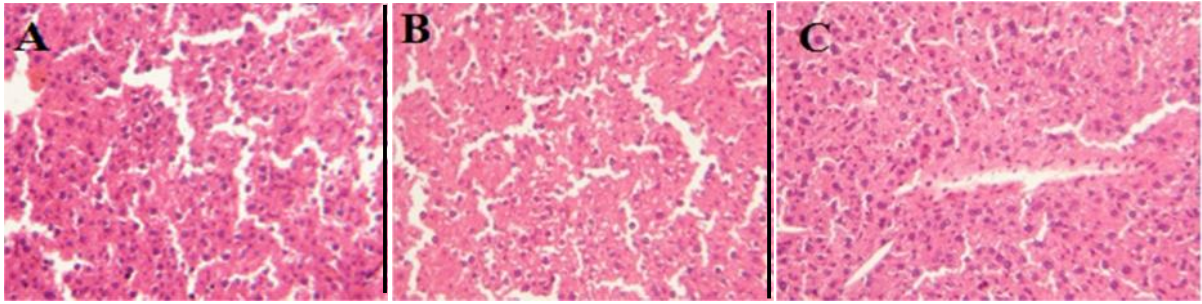
Le traitement combiné carcinogène+ l'extrait de la plante *U. dioica* entraîne un aspect mou du foie à 45 jours.

##### **4.3.2.2. Etude microscopique :**

La figure (26) montre que l'administration de l'extrait des feuilles d'*U. dioica*, après le carcinogène entraîne une protection contre l'effet du carcinogène. Néanmoins la plante garde toujours son effet hépatotoxique qui se manifeste par la dilatation des sinusoides.

## RESULTATS

---



**Figure 26** : Coupe histologique du foie, colorée avec l'HE, d'une souris traitée avec carcinogène + l'extrait de feuilles de la plante *U. dioica*, pour une période de 15 (A), 30 (B) et 45 (C) jours.

### **1. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de plantes:**

L'objectif de notre travail était de tester les effets d'extraits préparés à partir de deux plantes, les graines de *L. sativum* et les feuilles d'*U. dioica* sur un modèle de carcinogénèse. Les deux plantes sont largement utilisées en médecine traditionnelle algérienne pour traiter différentes maladies. Les grains de *L. sativum* sont utilisés pour traiter les affections respiratoires comme les allergies et l'asthme. Alors que les infusions d'*U. dioica* sont utilisées pour purifier le sang et traiter les inflammations de la peau et l'eczéma.

La première partie de notre travail a pour but de tester l'activité anti radicalaire, anti oxydante des deux extraits. Nos résultats montrent que les extraits des deux plantes *L. sativum* et *U. dioica* possèdent une activité antioxydante importante comparativement à l'acide ascorbique malgré que la plante *L. sativum* a plus d'effet. Au contraire les deux plantes possèdent une faible capacité de piéger le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Généralement l'activité anti radicalaire est corrélée avec la teneur en polyphénols des plantes.

Les deux plantes contiennent une quantité de polyphénols de 109,4 mg d'équivalent d'acide gallique dans un 1 ml pour *L. sativum* et de 17,9 mg d'équivalent d'acide gallique par 1 ml pour l'*U. dioica*. Les polyphénols constituent les principaux composés antioxydants naturels. Ils représentent la base de nombreux produits pharmaceutiques, additifs alimentaires et même des pesticides. Différents études ont rapporté que la différence dans les activités antioxydantes d'extraits de plantes est due à différentes compositions qualitatives et quantitatives des composés phénoliques. Par exemple, l'activité antioxydante des acides phénoliques et leurs dérivés, tels que les esters, dépendent du nombre de groupes hydroxyles dans les molécules (Soobrattee et al., 2005 ; Shahidi et Marian, 2003).

Les plantes médicinales contiennent généralement des concentrations élevées de polyphénols. En effet, des extraits aqueux de grains du raisin rouge contiennent une quantité de 92,19 mg/100ml (Kopjar *et al.*, 2009), le thé vert contient une quantité de 1g/ 100ml, la plante *adhatoda vasica* présente une quantité de 92,4 mg/g (Maurya & Singh, 2010). 256.36 mg/100 mg dans *Zea mays* (Nurhanan *et al.*, 2012). Comparativement à ces plantes les plantes qu'on a utilisées sont très riches en polyphénols. Ce qui leur donne la possibilité d'être de bonne anti inflammatoire.

## DISCUSSION

---

### **2. Effet des différents traitements sur l'histologie des glandes mammaires :**

Dans ce travail nous avons étudié l'effet d'un carcinogénèse des glandes mammaires et vu que la durée de notre stage était limitée nous étions obligés de sacrifier les souris après 45 jours c.à.d. avant le développement de tumeurs qui est selon la bibliographie sera palpable après au moins 153 jours après la dernière injection (Liska et al., 2000).

Après 15 jours du traitement, on note l'apparition d'une réponse inflammatoire avec infiltration des neutrophiles, ce qui est logique puisque le processus de carcinogénèse débute toujours par une réaction inflammatoire. Après 30 jours, on observe une altération des couches épithéliales et myoépithéliales entourant les canaux galactophores et apparition de liquide à l'intérieur des canaux après 45 jours. Les altérations qu'on a obtenues donc sont le résultat d'une perturbation du profil hormonal. En effet, la prolifération de la couche épithéliale dépend des hormones œstrogènes (Briskin et O'Malley, 2010).

Après 45 jours, on note une prolifération de la couche myoépithéliales, qui caractérise la myoépithéliose est qui est une lésion bénigne de la glande mammaire.

Le traitement avec la plante *L. sativum* entraîne une prolifération de l'épithélium glandulaire et apparition de liquide à l'intérieur des canaux galactophores. Apparemment cet effet résulte de l'effet de la plante sur la prolactine (l'hormone du lait). On n'a pas trouvé d'étude sur cet effet mais la plante est utilisée par les populations de l'Est d'Asie pour stimuler la lactation chez la femme.

L'administration de la plante *L. sativum* après le carcinogène provoque une altération de l'épithélium glandulaire qui semble aussi être un résultat de la perturbation hormonale.

La plante *U. dioica* entraîne une prolifération de la couche myoépithéliale, l'effet semble être du à l'effet de la plante sur les estrogènes. Cette plante administrée après le carcinogène entraîne une atrophie des canaux galactophores. Il semble que la combinaison augmente la production de la progestérone qui est une hormone anti ostrogénique, qui bloque le développement des canaux galactophores.



### **3. L'effet des différents traitements sur l'histologie du foie :**

Le traitement des souris avec le carcinogène entraîne des lésions hépatiques, le foie est le siège de la détoxification des xénobiotiques mais aussi c'est le premier organe qui sera lésé par ces composés. Nos résultats montrent que le carcinogène entraîne une nécrose hépatique. Il a été rapporté que ce carcinogène a plusieurs effets, il entraîne une hyperplasie des hépatocytes, une congestion de la veine centrale avec dilatation des sinusoides et apparition des vacuoles au niveau des hépatocytes.

Après 15 jours de l'injection du carcinogène, on observe l'apparition des vacuoles lipidiques qui caractérisent la stéatose hépatique. Cette dernière est une lésion plus ou moins grave du foie caractérisée par la présence des triglycérides dans les hépatocytes. Il semble que la stéatose dans notre cas est le résultat d'une perturbation du métabolisme au niveau des hépatocytes, provoquée par le carcinogène.

Après 30 jours, on note la présence d'une réponse inflammatoire avec pénétration des neutrophiles.

Nos résultats montrent également, que la plante *L. sativum* entraîne des lésions hépatiques à partir du 30<sup>ème</sup> jour, les plantes contiennent différents composés actifs qui peuvent être toxiques. L'effet toxique de la plante *L. sativum* a été rapporté par (Bafeel et Ali, 2009), cette étude a montré que les graines de la plante *L. sativum* possèdent un effet hépatotoxique à des concentrations de 2, 4 et 8 g/100ml. Adam, 1999 a montré également que le traitement des rats albinos avec l'extrait des graines de cette plante à une dose de 10% pendant 6 semaines entraîne des lésions hépatiques.

La toxicité de la plante est apparemment dépendante de la dose administrée et la durée du traitement.

Selon nos résultats la plante *L. sativum* présente un effet hépatoprotecteur contre le carcinogène, l'administration de l'extrait suite au carcinogène montre une disparition des vacuoles lipidiques. Le rôle hépatoprotecteur de l'extrait de *L. sativum* à des doses de 200mg/kg et 400mg/kg a été prouvé chez des rats présentant une altération du foie induite par le CCI4 (Afaf et al., 2008).

L'extrait de la plante *U. dioica* à son tour possède un effet toxique, se traduisant par une dilatation des sinusoides.

## DISCUSSION

---

Lorsque la plante *U. dioica* est injectée après le carcinogène elle entraîne une réparation du tissu hépatique surtout après 45 jours du traitement. Il a été rapporté par (Lebdev et al., 2001) que *l'Urtica dioica* prévient les dommages du foie chez les rats.

## CONCLUSION

Dans ce travail nous avons évalué l'activité antioxydante et thérapeutique des extraits aqueux, des graines et des feuilles des deux plantes *Lepidium sativum* et *Urtica dioica* respectivement, sur le processus de carcinogénèse des glandes mammaires induit par un carcinogène. Nous avons étudié également les effets de ce composé sur la structure histologique du principal organe de détoxification ; le foie.

Nos résultats ont montré que:

- Les deux plantes possèdent une activité antioxydante intéressante, les valeurs EC<sub>50</sub> du test DPPH ont montré que la plante *L. sativum* possède plus d'activité réductrice du radical que la plante *U. dioica*.
- Les deux plantes présentent à la fois un effet hépatoprotecteur vue qu'elles suppriment l'effet du carcinogène, et un effet toxique dépendant de la durée du traitement.
- Sur les glandes mammaires, le carcinogène entraîne une inflammation au niveau des glandes mammaires avec altération des canaux galactophores. Les deux plantes possèdent un effet anti inflammatoire, ils empêchent l'inflammation de l'épithélium glandulaire. La plante *L. sativum* entraîne une prolifération de l'épithélium glandulaire avec stimulation de la production du lait dans les canaux galactophores. De même la plante *U. dioica* entraîne la prolifération de la couche myoépithéliale des canaux galactophores.

A l'avenir il serait intéressant:

- De prolonger la durée du traitement jusqu'au développement complet des tumeurs afin de mieux voir l'existence ou non d'un effet anti tumoral.
- De bien développer les propriétés anti oxydantes des extraits et les étudier sur des enzymes de stress oxydant comme la catalase, le glutathion peroxydase.....etc.

## REFERENCES :

**Abderrazak M. et Joël R.** (2007). La botanique de A à Z. Ed. Dunod. Paris, pp 177.

**Abel, E.L. et Digiovanni, J.** (2008). The molecular basis of cancer : Environnemental carcinogenesis, Philadelphia, Saunders Elsevier, 91.

**Adam SE.** (1999). Effects of various levels of dietary *Lepidium sativum* Linn. in rats. *Am J. Chin. Med.* 27: 397-405/ Bafeel SO, Ali SS (2009). The potential liver toxicity of *Lepidium sativum* seeds in albino rats. *Res. J. Biol. Sci.* 4 (12): 1250-1258.

**AFSSAPS (Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé).** (2008). Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles.

**ALDINI G., KYUNG-JIN Y, ETSUO N, RUSSEL M.** (2010). Biomarker for anti oxidant Defense and oxidative Damage. Wiley-Black well 363p.

**Amélie Vézina .** (2012). Impact du statut de différenciation des cellules promyélocyaires HL - 60 sur l'efficacité anticancéreuse et anti inflammatoire de l'EGCG. These de Maîtrise des sciences en Physiologie option Physiologie et biophysique moléculaires. Université de Montréal.

**André Aurengo - SPS.** (2011). Tchernobyl à Fukushima, les risques de la radioactivité,n° 298.

**Andresand V. Gonzalez J. M.** (2009). Role of A-type lamins in signaling, transcription, and chromatin organization. *J Cell Biol* 187: 945-57.

**Aqeilan, R. I., and Croce, C. M.** (2007). *J Cell Physiol* 212, 307-310.

**Atawodi S. E.** (2005). Antioxidant potential of African plants. *African J. of Biotec.* Vol.4 (2); pp 128-133.

**Atmani, D., Chaher, N., Berboucha, M., Ayouni, K., Lounis, H., Boudaoud, H., Debbach, N., Atmani, D.** (2009). Antioxydant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants, *Food Chemistry*, Vol. 112; pp 303- 309.

**Bakkali F, Averbek S, Averbek D.** (2008). Review MI-Biological effects of essential oils-A review *Food and Chemical Toxicology* ; Vol 64, pp 446-475.

**Bamigboye AA, Morris J.** (2009). Supplémentation en œstrogènes, principalement en diéthylstilbestrol, pour prévenir les fausses couches et d'autres complications de la grossesse. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, Issue 1. Art. No.: CD004353.

**Banerjee, A., Dasgupta, N & De, B.** 2005. In vitro study of antioxidant activity of syzygium cumini fruit. *Food Chemistry*, 90, 727–733.

**Barnard, Neal D., Kaufman, Stephen R.** (1997). Animal Research Is Wasteful And Misleading, *Scientific American*, Vol. 276/2 .

**Béliveau, R. et Gingras, D.** (2007). Role of nutrition in preventing cancer. *Can Fam Physician*, 53, 1905 -11.

**Bernardinelli I, De Marco R, Tinelli C.** (1987). Cancer mortality in an Italian rubber factory. *Br J Ind Med*, 44 :187-91.

**Berndt, C., C. H. Lillig, et al.** (2007). Thiol-based mechanisms of the thioredoxin and glutaredoxin systems: implications for diseases in the cardiovascular system." *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 292: 1227-1236.

**Bhat S.V., Nagasampigi B.A. Sivakumar M.**(2005). *Chemistry of Natural Products*; Ed 1: NAROSA, SPRINGER, pp: 115-252.

**Boizot, N ; Charpentier, J.P.** (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Méthodes et outils*

pour d'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques, INRA, pp 79-82.

**Bouaoun D., Hilan C., Garabeth., F.Sfeir R.** (2007). Etude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'une plante sauvage Prangos asperula Boiss-Phytothérapie, Vol. 5 ; pp 129-134.

**Bouhdid S., Idaomar, M. ; Zhiri, A.; Bouhdid, D.; Skali, N. S. ; Abrini, J.** (2006). Thymus essential oils: chemical composition and in vitro antioxidant and antibacterial activities. Biochimie, Substances Naturelles et environnement, Congrès International de biochimies, Agadir. pp 324-327.

**Bounatirou S., Smiti S., Miguel M.G., Flleiro L., Rejeb M.N., Neffati M., Costa M.M., Figueiredo A.C., Barosso J.G., Pedro L.G.** (2007). Chemical composition and antibacterial activities of the essential oils isolated from Tunisian Thymus capitatus Hoff.et Link. Food Chemistry, Vol. 105; pp 146-155.

**Brandt-Rauf, P.W. et Pincus, M.R.** (1998). Molecular markers of carcinogenesis. Pharmacol Ther, 77, 135-48.

**Brisken C & O'Malley B.** (2010). Hormone action in the mammary gland. Cold Spring Harb Perspect Biol 2, a003178.

**Bruneton. J.**( 1999). Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, 3e édition, Edition Lavoisier TEC et DOC.

**Butel JS.** (2000). Viral Carcinogenesis: revelation of molecular mechanisms and etiology of human disease carcinogenesis. Carcinogenesis: 21 (3) ; 405-26.

**Butel JS.** (2000). Viral Carcinogenesis: revelation of molecular mechanisms and etiology of human disease carcinogenesis. Carcinogenesis: 21 (3) ; 405-26.

**Cano N., Barnoud D., Schneider SM., Vasson MP., Hasselmann M., Lerverve X.** (2007). Traité de nutrition artificielle de l'adulte 3ème édition, XVII, pp 1189.

**CARMELIET P. & COLLENS D.** (1999). Role of vascular endothelial growth factor and vascular endothelial growth factor receptors in vascular development. *Curr Top Microbiol Immunol.* 237: 133-58.

**CHAILLOL Isabelle.** (2011). Mesure de l'exposition au rayonnement ultraviolet solaire pour les études épidémiologiques. L'université Claude Bernard Lyon 1 diplôme de doctorat.

**Clément-Duchêne , F. Guillemin , C. Paris , D. Régent , Y. Martinet.** (2010), *Revue des Maladies Respiratoires*, Volume 27, numéro 4, pages : 314-328.

**Croce, C.M.** (2008). Oncogenes and cancer. *The New England journal of medicine*, 358, 502 -11.

**Doughari J.H., Obidah J.S.** (2008). In vitro antifungal activity of stem bark extracts of *Leptadenia lancifolia*- *International Journal of Integrative Biolog*, Vol. 3; N° 2; pp 111.

**Edris A.E.** (2007). Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: A review-*Phytother. Res*, Vol. 21; pp 308-323.

**Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Abdelly, C.** (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities .*C. R. Biologies*. Vol. 331 ; pp 372-379.

**Flesch F.** (2005). Intoxication d'origine végétale plant poisoning F.Flesch (Praticien hospitalier) Centre antipoison, hopitaux universitaires de Strsbourg.

**Folkman J.** (2006). Angiogenesis. *Annu Rev Med* 57: 1-18

- Fournier P.** (2001). Les quatre flores de France. Lachevalier. Paris. Vol II.2.
- Franceschi S.** (2000). Strategies to reduce the risk of virus-related cancers. *Ann Oncol* ; 11 (9) : 1091-6.
- Garber JE, Offit K.J Clin Oncol.** (2005). Hereditary cancer predisposition syndromes. Jan 10, 23(2):276-92. Review.
- Georgetti S.R., Casagrande R., Di Mambro V. M., Azzolini Ana ECS et Fonseca Maria J.V.** (2003). Evaluation of the antioxidant activity of different flavonoids by the chemilumin escence medhod. *AAPS Pharm Sci.* Vol. 5 (2): pp 5.
- Gialeli, C., Theocharis, A.D. et Karamanos, N.K.** (2011). Roles of matrix metalloproteinases in cancer progression and their pharmacological targeting. *FEBS J*, 278, 16-27.
- Goswami, B., D. Tayal, et al.** (2009). Paraoxonase: a multifaceted biomolecule. *Clinica Chimica Acta* 410: 1-12.
- Grandjean, D.** (1997). Conséquences biologiques et nutritionnelles du travail en haute altitude chez le chien de recherche, Expédition scientifique. Chiens des Cimes - Licancabur 1996. *Rec Méd Vét* 172(11/12): 601-621.
- Grandjean, D.** (2001). Le stress oxydatif cellulaire chez le chien: conséquences et prévention nutritionnelle. *Bull Acad Vet de France* 154: 49-61.
- Grandjean, D.** (2005a). Comprendre le stress oxydatif cellulaire chez le chien. *Le Nouv Prat Vét* 22: 11-15.
- Halliwell, B. and J. M. Gutteridge.** (1990). The antioxidants of human extracellular fluids. *Arch Biochem Biophys* 280: 1-8.
- Halliwell, B. and J. M. Gutteridge.** (2007). *Free Radicals in Biology and Medicine*, Oxford University press.



**Hamdan Lamia.** (2013). Resvératrol et dérivés cyclisés : extraction, synthèse et pharmacologie. These de doctorat Telemcen. Faculté des Sciences UAB.

**Hanahan, D. et Weinberg, R.A.** (2000). The hallmarks of cancer. *Cell*, 100, 57-70.

**Hanahan, D. et Weinberg, R.A.** (2011). Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, 144, 646-74.

**Hennebelle T, Sahpaz S, Bailleul F.** (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothér.* Vol. 1 ; pp 3 – 6.

**Inouye S., Abe S.** (2007). Nouvelle approche de l'aromathérapie anti-infectieuse- *Phytothérapie* ; 2007, Vol. 1 ; pp 2-4.

**Joosen AM, Lecommandeur E, Kuhnle GG, Aspinall SM, Kap L, Rodwell SA.** (2010). Effect of dietary meat and fish on endogenous nitrosation, inflammation and genotoxicity of faecal water. *Mutagenesis*, 25(3):243-7.

**Josiane Steinmetz, Yves Spycerelle, René Guéguen, Caroline Dupré.** (2007). Le tabac et l'alcool augmentent le risque d'adénomes et de cancers colorectaux, *La Presse Médicale*, Volume 36, Issue 9, Pages 1174-1182.

**Jouad, H., Haloui, M., Rhiouani, H., El Hilaly, J., Eddouks, M.** (2001). Ethnobotanical survey of medicinal plants used for the treatment of diabetes, cardiac and renal diseases in the North centre region of Morocco (Fez-Boulemane). *Journal of Ethnopharmacology* 77, 175– 182.

**Kansole, M.M.R.** (2009). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkina Faso: cas de *Leucas martinicensis* (Jacquin) R. Brown, *Hoslundia opposita* vahl et *Orthosiphon pallidus* royle ex benth. Mémoire pour obtenir un diplôme d'Etudes Approfondies (D.E.A) en Sciences Biologiques Appliquées, Burkina Faso.

**Kassie, F., Laky, B., Gminski, R., Mersch-Sundermann, V., Scharf, G., Lhoste, E., Kansmuller, S.** (2003). Effects of garden and water cress juices and their constituents, benzyl and phenethyl isothiocyanates, towards benzo(a)pyrene-induced DNA damage: a model study with the single cell gel electrophoresis/Hep G2 assay. *Chemical Biology Interactions* 3, 285–296.

**Khamis Z.I. Sahab Z.J. sang Q.X.** (2012). Active roles of tumor stroma in breast cancer metastasis *Int. J0 Breast Cancer*. 574025 22482059.

**Kumar P., Verma P.C & Tiwari.** (2011). Induction of mammary gland tumour in rats using N-methyl-N-nitroso urea and their histopathology. *Indian J. Vet. Pathol.*, 35(2) : 142-146.

**Lahlou M.** (2004). *Methods of Study the Phytochemistry and Bioactivity of Essential oils*. *Phytotherapy Research* 18. WILEY & SONS, pp: 435- 448

**Larrey D.** ( 1998). *Phytothérapie et hépatotoxicité. Service d'hépatogastroentérologie et de transplantation hépatique. Hospital Faint-Eloi. Montpellier.*

**Larrey D.** (1997). Hypatotoxicity of herbal. *Tretement ief .J.Hypatol*, 26(1) :47-51.

**Lebham.** (2005). *Thèse au laboratoire d'Ecophysiologie et de Biotechnologie des Halophytes et des Algues au sein de l'Institut Universitaire Européen de la Mer. (IVEM). Université de Bretagne Occidentale (UBO).*

**Lehninger, A. L., D. L. Nelson, et al.** (1993). *Bioénergétique et Métabolisme (Partie III). Principes de Biochimie. M.-S. Flammarion, Worth Publishers: 384-390.*

**LISKA J., GALBAY S., MACEJOVA D., ZLATOS J., BRTKO j.** (2000). Histopathology of mammary tumours in female rats treated with 1-methyl-1-nitrosourea. *Endocrine regulations*. 34: 91 :96.

**Lutge U., Kluge M., Bauer G.** (2002). *Botanique 3ème Ed : Technique et documentation*. Lavoisier .Paris, pp 211

**Mammen J. Abraham I & A. Sundararaj.** **Experimental carcinogenicity studies of n-nitrosomethylurea in rats.** *J. Vet. Anim.Sci.* (2011). 42 : 42-44

**Mandelker, L.** (2008). Introduction to oxidative and mitochondrial dysfunction. *Vet Clin : Small Anim Practice*. f. r. Oxidative stress: the role of mitochondria, and antioxidants, Elsevier Inc. 38: 1-30.

**Marfak A.** (2003). Radiolyse Gamma des Flavonoïdes. Etude de Leur Réactivité avec Les Radicaux issus des Alcools : Formation de depsides. Thèse de doctorat. Université de LIMOGES, pp187

**Mc Michael, M.** (2007). Oxidative stress, antioxidants, and assessment of oxidative stress in dogs and cats. *JAVMA* 231(5): 714-720.

**MEDART J.** (2005). *Manuel pratique de nutrition. L'alimentation préventive et curative*. Ed DE e Boeck & Larcier. 278p

**Mirvish SS.** (1995). Role of N-nitroso compounds (NOC) and N-nitrosation in etiology of gastric, esophageal, nasopharyngeal and bladder cancer and contribution to cancer of known exposures to NOC, *Cancer Lett.* 29;93(1):17-48.

**Myrto Valari.** (2009). Modélisation de la pollution atmosphérique urbaine et impact sur la santé, thèse de doctorat.

**Oussala M., Caillet S., Saucier L., Lacroix M.** (2006). Antimicrobial effects of selected plant essential oils on the growth of a *Pseudomonas putida* strain isolated from meat-Meat Science, Vol. 73; pp 236-244.

**PAGE D.L., STEEL C.M., & DIXON J.M.** (1995). ABC of breast diseases. Carcinoma in situ and patients at high risk of breast cancer. *BMJ*. 310(6971): 39-42.

**Palmer HJ, Paulson KE.** (1997). *Nutr Rev* :55: 353-61.

**Pan, Y., Wang, K., Huang, S., Wang, H., Mu, X., He, C., Ji, X., Zhang, J., Huang, F.** (2008). Antioxydantactivity of microwave-assisted extract of longan (*Dimocarpus Longan* Lour.) peel, *Food Chemistry*. Vol.106; pp 1264-1270.

**PAYRE Bruno.** (2008). Identification de nouvelles cibles du Tamoxifène impliquées dans son activité pharmacologique. L'université de Toulouse. These de doctorat.

**Pierre L. Auger.** (2004). *Le Médecin du Québec*, volume 39, numéro 8.

**Pincemail J, Meurisse M, Limet R,Defraigne JO.** (1998).*Medi-Sphere* 1998; 83: 23-7.

**Poulsen HE, Prieme H, Loft S .** (1998). *Eur J Cancer Prev*, 7: 9-16

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

**PUDDU M. &TAFFOREAU J.** (2005). Opportunité de dépistage du cancer du sein chez les femmes de 40 à 49ans Etat des connaissances et données disponibles pour le développement d'une politique de santé en Belgique. *IPH/EPI Reports* N r. 001.

**Rhee, S. G., H. Z. Chae, et al.** (2005). Peroxiredoxins: A historical overview and speculative preview of novel mechanisms and emerging concepts in cell signaling. *Free Radical Biology and Medicine* 38(12): 1543-1552.

**RISAU W.** (1997). Mechanisms of angiogenesis. *Nature*. PMID:9109485.

**Ruch R.J., Cheng S.J & Klaunig J.E.** 1989. Prevention of cytotoxicity and inhibition of intercellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea. *Carcinogenesis*, 1989, 10, 1003 – 1008.

**Russo J., I. Russo.** (2004). Development of the human breast. *Maturitas*, Vol.49, 2-15.

**SAKAKURA T.** (1987). The mammary gland : developpement, régulation and function. New-York : plenium press, 37-66.

**Salah, Z., Aqeilan, R., and Huebner, K.** (2010). *Future Oncol* 6, 249-259.

**SALIDO.G.M.ROSADOJ.A.** (2009). Apoptosis: Invovement of Oxidative Stress and Intracellular Ca<sup>2+</sup> Homeostasis. Springer. 235p.

**Schafer G. Cramer T. Suske G. Kemmner W. wIEDENMANN B. Hocker M.** (2003). Oxidative stress regulates vascular endothelial growth factor- A gene transcription throught Sp1- and Sp3- dependent activation of two proximal GC-rich promoter elements *J. Biol. Chem.* 278 8190 8190 8198 10.1074/jcb.M21199920012509426.

**Shahidi, F., & Marian, N.** (2003). Phenolics in food and nutraceuticals (vol. 1). Boca Raton, FL: CRS Press LLC. pp. 144–150

**Shephard SE, Lutz WK.** (1989). Nitrosation of dietary precursors, *Cancer Surv.* ,8(2):401-21. Review.

**Singleton, V.L., Orthofer R., Lamuela-Raventos, R.M.** 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol.* 299: 152-178.

**Soobrattee, M. A., Neergheen, V. S., Luximon-Ramma, A., Aruoma, O. I., & Bahorun, T.** (2005). Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: Mechanism and actions. *Mutation Research*, 579, 200–213.

**SOTGIA F., MARTINEZ-OUTSCHOORN U.E. LISANTI M.P.** (2011). Mitochondrial oxidative stress drives tumor progression and metastasis: should we use antioxidants as a key component of cancer treatment and prevention? *BMC Med.* 9-62: 23.

**STRANGES R, M. T., THACKRAY L, AND DANG MARY.** (2001). Apoptosis in normal and neoplastic mammary gland development. *Microscopy research and technique.* **52**, 171-181.

**TAYLOR. FRANCIS GROUP.** (2009). Dietary modulation of cell signaling pathways. CRC Press. 481p.

**Tessier, F. and P. Marconnet.** (1995). Radicaux libres, systèmes antioxydants et exercice. *Science & Sports* 10: 1-13.

**Wolin, M.S. Ahmed, M. Gupte, S.A.** 2005. Oxidant and redox signaling in vascular oxygen sensing mechanisms : basic concepts ,current conteroversies ,and potential importance of cytosolic NADPH. *Am J Physiol Lung Cell MolPhysiol.* Vol 289 159-173

**Yoshikawa T., Yamamoto Y., Naito Y.** (2000). Free radicals in chemistry, Biology and Medicine. Ed. Oica International, Londres.

**Ziegler J, Facchini PJ.** (2008). Alkaloid Biosynthesis : Metabolism and Trafficking. *Annu Rev Plant Biol.* Vol. 59; pp 735 – 769.

## Webographie :

[http://www.unilim.fr/theses/2003/sante/2003limo0100e/these\\_body.html](http://www.unilim.fr/theses/2003/sante/2003limo0100e/these_body.html)

<http://www.nature-algues.com>

## RESUME

Notre travail consiste à évaluer l'effet antioxydant et anticarcinogène des extraits aqueux des plantes *Lepidium Sativum* et *Urtica dioica*. Les effets thérapeutiques des deux plantes ont été étudiés sur un modèle de tumeur de glande mammaire. Les extraits des deux plantes *L. sativum* et *U. dioica* présentent des propriétés antioxydantes avec un grand pouvoir réducteur du radical DPPH. Les valeurs EC<sub>50</sub> ont montré que l'extrait de la plante *L. sativum* possède plus d'activité antiradicalaire (avec un pourcentage de 33.62%) que l'extrait de la plante *U. dioica* qui présente un pourcentage de 27.92%. En plus, l'extrait de la plante *L. sativum* contient plus de polyphénols. L'étude histologique des glandes mammaires a révélé que les deux plantes possèdent un effet anti inflammatoire, elles empêchent l'inflammation de l'épithélium glandulaire, la plante *L. sativum* entraîne une prolifération de l'épithélium glandulaire avec stimulation de la production du lait dans les canaux galactophores. La plante *U. dioica* entraîne la prolifération de la couche myoépithéliale des canaux galactophores.

Les extraits des deux plantes présentent un effet hépatoprotecteur contre le carcinogène et un effet toxique dépendant de la durée du traitement.



## ABSTRACT

The aim of our study is to evaluate the antioxidant and anticarcinogenic effect of aqueous extracts of plants *Lepidium sativum* and *Urtica dioica*. The therapeutic effects of the two plants were studied on a mammary gland tumor mice model. The extracts of the two plants *L. sativum* and *U. dioica* have antioxidant properties with great reducing capacity of DPPH radical. The EC50 values showed that the extract of the plant *L. sativum* has more anti-radical activity (with a percentage of 33.62%) as the extract of the plant *U. dioica* which shows a percentage 27.92%. In addition, the extract of *L. sativum* plant contains more polyphenols. Histological examination of mammary glands showed that both plants have an anti inflammatory effect, they prevent inflammation of the glandular epithelium, *L. sativum* plant leads a proliferation of the glandular epithelium with stimulating the of milk production in the lactiferous ducts. *U. dioica* plant causes the proliferation of myoepithelial cells of the lactiferous ducts. The extracts from two plants show hepatoprotective effect against carcinogen and toxic effects depending on treatment duration.

<p style="text-align: center;"><b>Master 2</b></p> <p style="text-align: center;"><b>Immunologie et Oncologie</b></p>	<p style="text-align: center;"><b>LOUCIF</b></p> <p style="text-align: center;"><b>Oumaima Rokeya</b></p>	<p style="text-align: center;"><b>TARTOUGA</b></p> <p style="text-align: center;"><b>Maya Abir</b></p>
<p><b>Promoteur : Dr EL OUAR Ibtissem</b></p>		
<p style="text-align: center;"><b>Evaluation de l'effet antioxydant et anticarcinogénique des extraits aqueux des plantes <i>Lepidium Sativum</i> et <i>Urtica Dioica</i></b></p>		
<p style="text-align: center;"><b>RESUME</b></p>		
<p>Notre travail consiste à évaluer l'effet antioxydant et anticarcinogène des extraits aqueux des plantes <i>Lepidium Sativum</i> et <i>Urtica dioica</i>. Les effets thérapeutiques des deux plantes ont été étudiés sur un modèle de tumeur de glande mammaire. Les extraits des deux plantes <i>L. sativum</i> et <i>U. dioica</i> présentent des propriétés anti oxydantes avec un grand pouvoir réducteur du radical DPPH. Les valeurs EC<sub>50</sub> ont montré que l'extrait de la plante <i>L. sativum</i> possède plus d'activité antiradicalaire (avec un pourcentage de 33.62%) que l'extrait de la plante <i>U. dioica</i> qui présente un pourcentage de 27.92%. En plus, l'extrait de la plante <i>L. sativum</i> contient plus de polyphenols. L'étude histologique des glandes mammaires a révélé que les deux plantes possèdent un effet anti inflammatoire, elles empêchent l'inflammation de l'épithélium glandulaire, la plante <i>L. sativum</i> entraine une prolifération de l'épithélium glandulaire avec stimulation de la production du lait dans les canaux galactophores. La plante <i>U. dioica</i> entraine la prolifération de la couche myoépithéliale des canaux galactophores. Les extraits des deux plantes présentent un effet hépatoprotecteur contre le carcinogène et un effet toxique dépendant de la durée du traitement.</p>		
<p><b><u>Mot clés</u> : <i>Lepidium Sativum</i>, <i>Urtica dioica</i>, carcinogène, stress oxydant.</b></p>		
<p><b><u>Structure de recherche</u> :</b> Laboratoire de biologie physiologie cellulaire et moléculaire; labo d'immunologie (Université Constantine 1); laboratoire centrale unité d'anatomo-pathologie hôpital militaire (Constantine).</p>		
<p><b>Date de soutenance : 30/07/2015.</b></p>		