REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

جامعة الشاذلي بن جديد – الطارف

UNIVERSITÉ CHADLI BENDJEDID D'EL-TARF

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie

Mémoire présenté en vue de l'obtention d'un Diplôme de Master II

Spécialité : Toxicologie appliquée

THEME

EVALUATION DE LA CAPACITE ANTIOXYDANTE DU LYCOPENE CHEZ DES RATS TRAITES A L'ADRIAMYCINE : ASPECTS BIOCHIMIQUE, HEMATOLOGIQUE ET HISTOPATHOLOGIQUE

par :

Randa BENSAMMA* et *Chahra CHABI

Devant le jury :

Présidente :	**Dr. DJABALI Nacira**	**MCB ; Univ. d'El-Tarf**
Examinatrice :	**Dr. REKIOUA Nawel**	**MCB ; Univ. d'El-Tarf**
Promotrice :	**Dr. TOUMI-MERZOUG Sameha**	**MCB ; Univ. d'El-Tarf**

Année Universitaire : 2015- 2016

REMERCIEMENTS

Notre premier remerciement va à **ALLAH** SOUBHANAHOU WATAALA.

Nous tenons à remercier vivement la présidente du jury, Madame le **Docteur Nacira DJABALI**.

Nos vifs remerciements vont également à notre encadreur, Madame le **Docteur Sameha TOUMI-MERZOUG**, *qui nous a bien voulu assurer notre encadrement, et nous a fourni les meilleures conditions pour la bonne réalisation de ce travail de fin d'études. Nous lui attachons notre profond respect.*

Nous exprimons nos remerciements les plus sincères à l'examinatrice de notre travail, Madame le **Docteur Nawel REKIOUA**.

Nous tenons à remercier chaleureusement, Madame le **Docteur Nabila BEHAR-BENOSMANE,** responsable du laboratoire d'anatomie et de cytologie pathologiques-ANNABA, pour la réalisation des coupes histologiques.

DEDICACES

Après cinq ans de diligence, aujourd'hui, je ramassais le fruit de mes années de labeur.

Je tiens à remercier sincèrement **Dieu**, de m'avoir accordé la force et le courage durant toutes ces années d'études

Je rends un grand hommage, à travers ce modeste

Travail, en signe de respect et de reconnaissance envers :

Mes chers parents pour tous les sacrifices et leur soutien Pour atteindre mes objectifs.

Maman, papa « Que Dieu vous protège ».

Une spéciale dédicace pour ;

Mon **grand-père**, ma tante **Faiza**, mon seul frère **Ahmed** et mes sœurs **Nedjwa** et **Manar**. Je vous aime ma petite famille.

Je remercie aussi mon oncle **Nabil**, ma tante **Mouna**, et leur enfants **Poutchi** et **Razan**, qui m'ont accueilli dans leur maison pendant ces deux ans d'études en Master.

Mes copines : **Mouna** et **Rahma**, je vous remercie pour le temps que nous avons passé ensemble.

Sans oublier mon ami **jebayr**, je lui dis merci pour tout.

A ma copine, **Chahra**, avec laquelle j'ai partagé ce travail.

En un mot, à toute ma famille, mes amis et tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à ma formation.

Randa BENSAMMA

DEDICACES

A l'aide de Dieu, tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail que je la dédie :

A mes chers parents, Kamel, Rabiaa

A ma sœur, Rafika et mon frère, Ahmed

A toutes les familles ; Chabbi et Wannase

A mes amis, Hayatte, khawla, Amira, Rim, Hala

A ma copine de travail, Randa

A mes professeurs

A toute proche ou éloignée

Et

A vous. . . .

ملـــخص

رغم تعدد أثاره الجانبية، يعتبر الأدرياميسين من أكثر أدوية العلاج الكيمائي استعمالا ضد الأورام السرطانية. يهدف هذا البحث، من جهة، إلى دراسة تأثير جرعة متوسطة من الأدرياميسين (7مغ/كغ من وزن الحيوان) على المؤشرات البيوكميائية ومكونات الدم بالإضافة إلى دراسة أنسجة الكبد والكلى لدى ذكور الجرذان من سلالة ويستار. ومن جهة أخرى، تقييم مدى فعالية مضاد الأكسدة (الليكوبين) في الوقاية من الأعراض الجانبية التي يسببها الأدرياميسين. من خلال النتائج، نلاحظ تغيرات في المؤشرات البيوكميائية التي تتميز بزيادة الغلوكوز، ثلاثي الغليسيريد والكولسترول على مستوى مصل الدم، وكذلك زيادة في البولة وانخفاض نسبة الكرياتينين لدى الجرذان المعالجة بالأدرياميسين مقارنة بالشواهد. وعلاوة على ذلك، تبين لنا أن الأدرياميسين يسبب نقصان كريات الدم البيضاء ونسبة خضاب الدم والصفائح الدموية. كذلك، كشفت لنا فحوصات الأنسجة تغيرات بنيوية في كبد وكلى الجرذان التي حقنت بالأدرياميسين. تضمنت مقاطع الكبد تضرر النسيج، مع تضخم ووضوح سيتوبلازم الخلايا الكبدية، بالإضافة الى احتقان الأوعية الدموية. التغيرا ت المورفولوجية لنسيج الكلى تمثلت في احتقان الكبيبة مع زيادة في فضاء بومان، انحطاط وتوسع في جميع أنواع الأنابيب الكلوية. بينما أن معالجة الجرذان بمضاد الأكسدة، الليكوبين، يعدل الاخلال بالعوامل التابعة للوزن، البيوكميائية والدموية بالإضافة الى تحسين التضرر النسيجي الذي لوحظ في كبد وكلى الجرذان المعالجة بالأدريامسين.

الكلمات المفتاحية: الأدرياميسين، التغيرات البيوكميائية، التغيرات الدموية، التشريح المرضي، الليكوبين.

ABSTRACT

Adriamycine (ADR) is a chemotherapeutic agent widely employed in the treatment of various cancerous diseases; however, its use is limited by side effects. This study intends to appreciate, on one hand, the effects of an acute exposure to an average dose of ADR (7mg / kg body weight) on the biochemical, haematological and histopathological aspects in male Wistar rats, and on the other hand, the capacity of an antioxidant (lycopene) to restore the disruption caused by ADR. Our results have noted an important body weight loss following chemotherapeutic treatment. The determination of biochemical parameters indicates an increase in serum glucose, triglycerides, and cholesterol, as well as an increase in urea and a decrease in creatinine levels in ADR-treated rats when compared to controls. Furthermore, ADR significantly depleted total white blood cells; haemoglobin and platelets counts. Histopathological examination revealed various structural changes in the liver and kidneys of ADR-injected animals. Indeed, the hepatic tissue presented elementary lesions, hepatocytes' ballonisation and cytoplasmic clarification, accompanied with vascular congestion. The morphological changes of renal tissues were represented by glomerular congestion with an increase in Bowman's space, degeneration and expansion of all types of renal tubules. However, the supplementation lycopene considerably reversed the weight gain, biochemical and haematological disorders as well as tissue damage registered in ADR-treated rats.

Keywords: Adriamycin; Biochemical alterations; Hematology, Histopathology; Lycopene.

RESUME

L'adriamycine (ADR) est un agent chimiothérapeutique largement employé dans le traitement de diverses maladies cancéreuses, cependant son utilisation est limitée par ses effets secondaires. Cette étude tend à apprécier d'une part, les effets d'une exposition aigue à une dose moyenne d'ADR (7mg/kg de poids corporel) sur l'aspect biochimique, hématologique et histopathologique des rats mâles Wistar, et d'autre part, la capacité d'un antioxydant (lycopène) à restaurer les perturbations causées par l'ADR. Nos résultats ont noté une perte pondérale importante après traitement au médicament chimiothérapeutique. La détermination des paramètres biochimiques indique une augmentation de la concentration sérique en glucose, triglycérides, et en cholestérol, ainsi qu'une augmentation de l'urée et une diminution de la créatinine chez les rats traités à l'ADR comparativement aux témoins. Par ailleurs, l'ADR a diminué significativement les leucocytes totaux, le taux d'hémoglobine et des plaquettes. L'examen histopathologique a révélé divers changements structuraux dans le foie et les reins des rats traitées à l'ADR. En effet, le tissu hépatique a présenté des lésions élémentaires avec ballonisation et clarification cytoplasmique des hépatocytes, ainsi qu'une congestion vasculaire. Les modifications morphologiques des tissus rénaux sont représentées par une congestion glomérulaire avec augmentation de l'espace de Bowman et une dégénérescence et une dilatation de tous les types des tubules rénaux. Toutefois, la supplémentation du lycopène a considérablement reversé les désordres pondéraux, biochimiques et hématologiques ainsi que les détériorations tissulaires observés chez les animaux traités à l'ADR.

Mots clés : Adriamycine ; Altérations biochimique ; Hématologie ; Histopathologie ; Lycopène.

LISTE DES TABLEAUX

N°	Titre du Tableau	Page
01	La principale source de production des radicaux libres	20
02	Le contenu en lycopène de différents aliments	26
03	Lotissement et traitement des animaux	29
04	Propriété physico-chimique de l'Adriamycine	30
05	Propriétés physicochimiques du Lycopène.	32

LISTE DES FIGURES

N°	Titre de la Figure	Page
01	Structure chimique des anthracyclines	11
02	Structure chimique de l'Adriamycine	30
03	Structure chimique du lycopène	31
04	Représentation récapitulative du protocole expérimental.	33
05	Variation pondérale (g) chez les rats témoins et traités.	41
06	Variation des poids absolu et relatif du foie et des reins chez les rats témoins et traités.	42
07	Variation de la concentration de glucose, cholestérol et triglycérides sériques chez les rats témoins et traités.	43
08	Variation de la concentration de l'urée et de la créatinine sériques chez les rats témoins et traités.	44
09	Variation des paramètres hématologiques chez les rats témoins et traités.	45
10	Observations microscopiques des coupes histologiques du foie des rats.	47
11	Observations microscopiques des coupes histologiques des reins des rats.	48

LISTE DES ABREVIATIONS

Abréviation	Signification
ADN	Acide Désoxyribonucléique
ADR	Adriamycine
ARN	Acide ribonucléique
ARNm	Acide ribonucléique messager
ATP	Adénosine triphosphate
CB	Capsule de Bowman
DO	Densité Optique
EB	Espace de Bowman
EDTA	Acide éthylène diamine tétra acétique
EPO	Erythropoïétine
ERO (ROS)	Espèce Réactive dérivées de l'Oxygène
FDA	Food and Drug Administration
Fu	Fluorouracil
G	Glomérule
GPx	Glutathion Peroxyde
H	Hépatocytes
HCT	Hématocrite
Hgb	Hémoglobine
L	Lycopène
LDL	Low density lipoproteins
PA	Poids absolue
PCT	Plaquettocrite
PLT	Plaquette
PR	Poids relatif
RBC	Globules rouges
ROW	Indice de distribution des globules rouges
S	Sinusoïdes
SEM	Standard Error of the Mean
SOD	Superoxyde dismutase
T	Témoin
TCD	Tube contourné distal
TCP	Tube contourné proximal
VC	Veine centrale
VLDL	Very Low Density Lipoproteins
WBC	Globules blancs

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION 01

CH 01. LUMIERE BIBLIOGRAPHIQUE 05

I. LA CHIMIOTHERAPIE 05

1. RAPPEL SUR LE CANCER 05

2. LES TRAITEMENTS CHIMIOTHERAPEUTIQUES 05

2.1. Définition de la chimiothérapie 05

2.2. Les agents chimiothérapeutiques 06

2.2.1. Les agents cytotoxiques 06

2.2.1.1. Les alkylants 07

2.2.1.2. Les intercalants 07

2.2.1.3. Les scindants 07

2.2.1.4. Les inhibiteurs des topoisomérases 07

2.2.1.5. Les antimétabolites 08

2.2.1.6. Les inhibiteurs de la transcription et de la réplication 09

2.2.1.7. Les antimitotiques 09

2.2.1.8. Divers 09

2.2.2. Les thérapies ciblées 09

2.3. Les effets secondaires de la chimiothérapie 09

2.3.1. Les effets secondaires hématologiques 10

2.3.2. Les effets secondaires digestifs 10

2.3.3. L'alopécie 10

3. LES ANTHRACYCLINES 10

3.1. Structure et propriétés physico-chimiques 11

3.1.1. Structure 11

3.1.2. Propriétés physico-chimiques 11

3.2. Méthodes de détection des anthracyclines 12
3.3. Mécanismes d'action 12
3.3.1. Intercalation dans l'ADN 12
3.3.2. Inhibition de la synthèse des macromolécules 13
3.3.3. Formation d'adduits d'ADN et liaisons-croisées 13
3.3.4. Inhibition de l'hélicase 13
3.3.5. Inhibition de la topoisomérase II 13
3.3.6. Production des radicaux libres 14
3.4. Les effets secondaires des anthracyclines 14
4. L'ADRIAMYCINE 15
4.1. Mécanisme d'action 16
4.2. Les effets secondaires majeurs 16
II. LES ANTIOXYDANTS 18
1. RAPPEL SUR LES RADICAUX LIBRES 18
1.1. Définition 18
1.2. Nature des radicaux libres 18
1.2.1. Les espèces réactives dérivées de l'oxygène (ERO) 18
1.2.2. Les espèces libres non oxygénées 19
1.3. Production de radicaux libres 20
2. LES ANTIOXYDANTS 20
2.1. Définition 20
2.2. Mécanisme d'action des antioxydants 21
2.3. Les antioxydants d'origine alimentaire 22
2.3.1. La vitamine E 22
2.3.2. La vitamine C 22
2.3.3. Les caroténoïdes 22
2.3.4. Les polyphénols et flavonoïdes 23
2.3.5. La taurine 23

2.3.6. Les oligo-éléments 23
2.3.7. Minéraux 24
3. LE LYCOPENE 25
3.1. Historique 25
3.2. Définition 25
3.3. Les sources alimentaires de lycopène 26
3.4. Propriétés 27
3.4.1. Propriétés physicochimiques 27
3.4.2. Propriétés générales du lycopène 28
CH 02. ETUDE EXPERIMENTALE 29
1. MATERIEL ET METHODES 29
1.1. MATERIEL BIOLOGIQUE 29
1.1.1. Animaux 29
1.1.2. Elevage 29
1.2. METHODES 30
1.2.1. Traitement à l'Adriamycine 30
1.2.1.1. Définition 30
1.2.1.2. Mode de traitement 31
1.2.2. Traitement au Lycopène 31
1.2.2.1. Définition 31
1.2.2.2. Mode de traitement 32
1.2.3. Prélèvements 32
1.2.4. Hématologie 32
1.2.5. Dosages biochimiques 34
1.2.5.1. Dosage du glucose 34
1.2.5.2. Dosage du cholestérol 34
1.2.5.3. Dosage des triglycérides 35
1.2.5.4. Dosage de l'urée 36

1.2.5.5. Dosage de la créatinine 37
1.2.6. Technique histologique 38
1.2.6.1. Fixation du matériel 38
1.2.6.2. Liquide d'attente 38
1.2.6.3. Déshydratation 39
1.2.6.4. Inclusion 39
1.2.6.5. Coupes et coloration 39
1.2.7. Analyse statistique des données 40
2. RESULTATS 41
2.1. VARIATION DU POIDS CORPOREL 41
2.2. VARIATION DES POIDS DES ORGANES 41
2.3. VARIATION DES PARAMETRES BIOCHIMIQUES 42
2.4. VARIATION DES PARAMETRES HEMATOLOGIQUES 44
2.4. HISTOLOGIE HEPATIQUE 46
2.5. HISTOLOGIE RENALE 46
3. DISCUSSION 49
CONCLUSION ET PERSPECTIVES 53
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

INTRODUCTION

Loin d'être une maladie récente, les premières descriptions connues du cancer datent de la haute antiquité. Le cancer peut se définir comme la prolifération de nouveaux tissus à l'intérieur du corps. Ces derniers sont le résultat d'une croissance excessive et anarchique d'une seule cellule mutée, subissant une modification permanente de son ADN transmissible aux cellules filles. Les mutations susceptibles de causer un cancer peuvent être spontanées lors de la réplication, mais elles peuvent également être induites par des agents biologiques, chimiques ou physiques. En effet, l'exposition à certains virus, des radiations, des stress environnementaux ou encore à des médicaments anticancéreux peut être la cause de mutations induites (Alberts *et al*., 2002).

La chimiothérapie consiste en l'administration de molécules anticancéreuses afin d'éliminer les tumeurs invasives ayant tendance à se propager dans l'ensemble des tissus, pour former des métastases (Kesic, 2006). De nos jours, une spécificité implique la destruction des cellules cancéreuses, tout en épargnant le plus possible les cellules saines environnantes (Hajdu, 2005). Environ une cinquantaine de médicaments sont disponibles, la plupart agissant sur les cellules qui ont commencé un cycle cellulaire et qui s'apprêtent à se diviser. Ces médicaments sont distribués en plusieurs familles selon leur mode d'action ; les agents alkylants interagissent avec l'ADN par l'extrémité de leurs chaines déficientes en électrons (Chlorambucil, Melphalan, Cyclophosphamide). Les antimétabolites entrent en compétition avec un substrat nécessaire à l'activité d'une enzyme impliquée dans la synthèse de l'ADN (5-Fluorouracil, 6-Thioguanine, Méthotrexate). Plusieurs types de produits naturels et leurs dérivés, qui agissent eux aussi sur l'ADN ; les taxanes (Paclitaxel, Docetaxel), les anthracyclines (Adriamycine, Daunorubicine, Epirubicine), les alkaloides vinca (Vinblastine, Vincristine) et autres agents (Cisplatine, carboplatine) (Tannock et Hill, 1998).

Parmi les agents chimiothérapeutiques, l'adriamycine (ADR) est un médicament anticancéreux de la famille des anthracyclines. Produite tout naturellement par des actinobactéries du genre *Streptomyces*, elle a été isolée pour la première fois en 1960 et approuvée par la Food and Drug Administration (FDA) en 1974 (Hande, 1998 ; Minotti *et al*., 2004). Depuis, l'ADR est le meilleur antinéoplasique connu et le plus utilisé, entre autres dans le traitement de cancers tels que les leucémies et les tumeurs solides (Mizutani *et al*., 2005).

Toutefois, l'utilisation clinique de l'ADR dans la chimiothérapie est limitée en raison de ses effets cytotoxiques, les plus importantes étant cardiaque, rénale et testiculaire (Al-Shabanach *et al*., 1998 ; Badary *et al*., 2000 ; Kang *et al*., 2002 ; Yilmaz *et al*., 2006).

L'adriamycine a été employé avec succès seul ou en association avec d'autres agents chimiothérapeutiques homologues, en vue d'obtenir la régression d'affections néoplasiques telles que la leucémie lymphoblastique aigue, la leucémie myéloïde aigue, la tumeur de Wilms, le neuroblastome, le sarcome des tissus mous, l'ostéosarcome, les cancers du sein, de l'appareil reproducteur féminine, des testicules, du poumon, de la thyroïde, de la vessie et de l'estomac, ainsi que l'épithélium spiono-cellulaire de la tête et du cou (Anonyme#1, 2014).

Comme c'est le cas avec d'autres agents cytotoxiques, l'utilisation de l'ADR peut entrainer une dépression médullaire importante, d'où la nécessité d'effectuer un bilan hématologique comprenant une formule leucocytaire, avant et pendant chaque cycle de traitement par l'ADR. La leucopénie ou la granulocytopénie (neutropénie) liées à la dose administrée et réversibles sont les principales manifestations de toxicité hématologique associées à l'ADR et constituent les effets toxiques aigus limitant les doses les plus fréquentes pour ce type de médicament. La leucopénie et la neutropénie atteignent généralement leur « nadir » de 10 à 14 jours après le traitement et auront cédé le 21ème jour dans la plupart des cas. La thrombopénie et l'anémie sont également possible. Les conséquences cliniques d'une dépression médullaire profonde comprennent la fièvre, l'infection, la septicémie, le choc septique, l'hémorragie et la mort. Les manifestations de toxicité hématologique peuvent exiger la diminution de la dose, l'interruption du traitement ou le report de celui-ci. Une dépression profonde et tenace de la fonction médullaire peut se traduire par une surinfection ou une hémorragie (Anonyme#1, 2014).

L'ADR est largement métabolisée par le foie et éliminée principalement par voie hépatobiliaire. L'insuffisance hépatique accentue la toxicité des doses recommandées de l'ADR. Il est donc recommandé d'évaluer la fonction hépatique avant et pendant le traitement, en dosant les paramètres biologiques classiques comme l'ALAT, l'ASAT, les phosphatases alcalines et la bilirubine. La clairance de l'ADR peut être plus lente et s'accompagner d'une toxicité globale accrue chez les patients dont la bilirubinémie est élevée. L'administration de doses plus faibles de l'ADR est recommandée chez ces patients. L'apparition d'une jaunisse, éventuellement associée à une modification de la coloration des urines (coloration rouge Durant 1 ou 2 jours après l'administration) et des selles, témoigne d'une altération du fonctionnement du foie dont les causes peuvent être encore variées (Anonyme#1, 2014).

Plusieurs types de molécules à activité antioxydante sont synthétisés par l'organisme tel que la superoxyde dismutase, les glutathion peroxydases et la catalase. De plus, divers composés antioxydants d'origine alimentaire constituent un apport journalier important. Ces antioxydants exogènes sont représentés par les vitamines A, C et E ; les caroténoïdes comme le lycopène et la

lutéine ; la taurine ; les polyphénols ; certains minéraux et oligoéléments comme le magnésium, le zinc, le sélénium et le manganèse. Ces systèmes antioxydants interviennent en protégeant les cellules des dommages oxydatifs induits par les radicaux libres. Le principe de leur emploi pour prévenir l'apparition et le développement de certaines maladies dans lesquelles sont impliqués des phénomènes oxydatifs semble séduisant (Pastre et Priymenko, 2007).

Les caroténoïdes sont présents chez de nombreux êtres vivants, végétaux, animaux et micro- organismes. Les animaux sont incapables de les synthétiser aussi que les procurent-ils par leur alimentation. Ce sont des pigments photosynthétiques d'apparence orangée ou jaune, liposolubles, appartenant à la famille des terpénoïdes en C40. Plus de six cent formes de caroténoïdes ont été répertoriées à ce jour. Ils sont divisés en deux grandes familles : les carotènes, uniquement composés de carbone et d'hydrogène, et les xanthophylles qui sont synthétisés à partir des carotènes et possèdent en plus des atomes d'oxygène. Dans le chloroplaste, on distingue deux formes principales de carotènes (α-carotène et β-carotène) et cinq de xanthophylles (lutéine, zéaxanthine, violaxanthine, anthéraxanthine et néoxanthine) (Féret, 2009 ; Lichtenthaler, 1987).

Parmi les caroténoïdes, le lycopène est principalement contenu dans les tomates et leurs produits dérivés, dans les abricots séchés, le melon d'eau et le pamplemousse rose (WCRF, 2007 ; Shareck, 2008). La transformation et la cuisson des tomates dans l'huile augmentent la biodisponibilité du lycopène (Krinsky et Johnson, 2005 ; Rao et Agarwal, 2000). Il ne présente pas une activité équivalente à celle de la vitamine A (Rao et Agarwal, 2000), mais il possède des propriétés antioxydantes puissantes démontrées dans des modèles expérimentaux (Rao et Agarwal, 2000) et il joue un rôle dans la communication intercellulaire (Sharoni *et al*., 2004 ; Heber et Lu, 2002).

Le lycopène serait l'un des antioxydants les plus puissants parmi toutes les substances caroténoïdes, lui conférant ainsi un rôle dans la prévention des cancers et de l'athérosclérose en diminuant les dommages causés par l'oxydation tant au niveau des lipides et des lipoprotéines que des protéines et de l'acide désoxyribonucléique (ADN). Il serait également la substance caroténoïde prédomi nante dans le plasma humain. Le lycopène étant liposoluble, il se retrouve généralement à l'intérieur des membranes cellulaires et dans diverses composantes lipidiques telles que les lipoprotéines de basse densité (LDL pour low density lipoproteins) et les lipoprotéines de très basse densité (VLDL pour very low density lipoproteins). Il serait donc logique de penser que son pouvoir de captation des radicaux libres est optimal dans un environnement lipidique. Le lycopène se retrouve également dans les glandes surrénales, les

testicules, le foie et la prostate. La distribution du lycopène dans les tissus spécifiques est importante à l'action bénéfique du lycopène (Agarwal et Rao, 2000).

Les caroténoïdes, en particulier le lycopène, améliorent les réponses immunitaires chez l'homme (Briviba *et al*., 2004 ; Watzl *et al*., 1999 ; Watzl *et al*., 2003) et des animaux de laboratoire (Kim *et al*., 2004), et augmentent la résistance de l'organisme contre les infections bactériennes. L'activité immuno-stimulatrice du lycopène s'applique sur les diverses cellules immunitaires, y compris les lymphocytes, les macrophages et les cellules tueuses naturelles. Par ailleurs, le lycopène augmente la synthèse et la sécrétion des facteurs tumoraux cytotoxiques par les cellules immunitaires.

Dans cette optique, notre étude vise à appréhender les propriétés bénéfiques du lycopène chez le rat mâle adulte traité à l'ADR, en évaluant les aspects suivants :

- ❖ Etude de la variation pondérale corporelle, du foie et des reins.
- ❖ Mesure de la concentration de quelques paramètres biochimiques sériques.
- ❖ Détermination des paramètres hématologiques.
- ❖ Etude histologique hépatique et rénale.

CHAPITRE 01. LUMIERE BIBLIOGRAPHIQUE

I. LA CHIMIOTHERAPIE

1. RAPPEL SUR LE CANCER

Le cancer est une maladie qui prend des millions de cellules, regroupées en tissus et en organes tels que les muscles, les os, les poumons, le foie, etc. chaque cellule contient des gènes qui régissent son développement, son fonctionnement, sa reproduction et sa mort. Habituellement, les instructions sont claires ; nos cellules obéissent et nous demeurons en bonne santé. Il arrive que les instructions deviennent confuses et qu'une cellule se comporte de manière anormale. Après un certain temps, les groupes de cellules anormales forment une masse appelée tumeur (Anonyme #2, 2004).

Les tumeurs peuvent être bénignes (non cancéreuses) ou malignes (cancéreuses). Les cellules, formant des tumeurs bénignes, demeurent localisées dans une partie du corps et ne mettent généralement pas la vie en danger (Anonyme #2, 2004).

Les cellules à l'origine des tumeurs malignes peuvent envahir les tissus qui les entourent et se répandre dans d'autres parties du corps. Les cellules cancéreuses qui se propagent dans d'autres parties du corps sont appelées métastases. Le premier signe de cet envahissement est souvent l'enflure des ganglions lymphatiques situés près de la tumeur, mais les métastases peuvent atteindre pratiquement toutes les parties du corps. Les tumeurs malignes peuvent être dangereuses, il est important de les détecter et de les traiter rapidement (Anonyme #2, 2004).

2. LES TRAITEMENTS CHIMIOTHERAPEUTIQUES

2.1. Définition de la chimiothérapie

La chimiothérapie consiste en l'administration de molécules anticancéreuses afin d'éliminer les tumeurs invasives qui ont tendance à se propager dans l'ensemble des tissus, pour former des métastases. Pour ce qui est généralement utilisée à des stades avancés, seule ou en combinaison avec la radiothérapie (Kesic, 2006).

Pendant la première guerre mondiale, on découvrit aussi un effet thérapeutique à la moutarde azotée, un gaz asphyxiant. En effet, elle diminuait considérablement les taux de globules blancs dans le sang et fut alors utilisée dans le traitement des leucémies (Hajdu, 2005).

De nos jours, une spécificité du traitement chimiothérapeutique est davantage recherchée et implique la destruction des cellules cancéreuses, tout en épargnant le plus possible les cellules saines environnantes (Hajdu, 2005). Les cellules cancéreuses se développent de manière

incontrôlée. Les médicaments chimiothérapeutiques peuvent ralentir ou même bloquer le développement des cellules cancéreuses et ainsi les empêcher de se multiplier ou d'envahir d'autres parties du corps.

La chimiothérapie est un traitement puissant possédant des effets sur tout le corps. Par conséquent, elle peut également endommager les cellules saines. Ces dommages provoquent des effets secondaires. La plupart du temps, ces dommages sont temporaires et les cellules saines se réparent d'elles-mêmes (Anonyme #2, 2004).

L'administration d'une chimiothérapie peut poursuivre les objectifs suivants :

- *Destruction du cancer :* La chimiothérapie, utilisée seule ou associé à d'autres traitements, vise à détruire les cellules cancéreuses dans le corps. De nombreux types de cancer peuvent être traités par une association de médicaments chimiothérapeutiques (chimiothérapie d'association).
- *Réduction de la taille d'une tumeur avant d'autres traitement :* Elle est parfois utilisée pour réduire la taille d'une chirurgie ou une radiothérapie (Chimiothérapie néoadjuvante).
- *Destruction des cellules cancéreuses après d'autres traitements :* La chimiothérapie est souvent utilisée en plus d'une chirurgie ou d'une radiothérapie des cellules cancéreuses qui auraient échappé au bistouri ou aux rayons X (Chimiothérapie adjuvante).

2.2. Les agents chimiothérapeutiques

2.2.1. Les agents cytotoxiques

Les cytotoxiques entrainent des lésions de l'ADN de la cellule lorsque celle-ci entre en division ou mitose. Les lésions occasionnées déclenchent soit la mort immédiate ou nécrose de la cellule, soit un arrêt du cycle cellulaire avec deux possibilités : la réparation de l'ADN lésé ou, en cas de réparation impossible, le suicide cellulaire par apoptose. Le processus de division existe pour toutes les cellules, tumorales ou non, d'où la non spécificité des chimiothérapies. Cependant, les cellules tumorales, par perte de contrôle du cycle cellulaire, se divisent plus rapidement que les cellules normales, ainsi elles sont sensiblement plus atteintes que ces dernières (Chauvergne et Hoerni, 2001).

La règle la plus fréquente est la poly-chimiothérapie. L'association de plusieurs molécules a pour but de majorer l'activité cytotoxique sans majorer sa toxicité. Les anticancéreux choisis en association auront un effet cytotoxique additif voir synergique, seront actifs individuellement et par des mécanismes d'action différents et n'auront pas de résistances croisées connues. Afin de minimiser la toxicité envers les tissus sains, les associations de molécules à même cible de

toxicité sont proscrites et les interactions pharmacocinétiques sont évitées (Cazin et Robert, 2008).

Les molécules cytotoxiques sont classées selon leur mode d'action. On distingue les classes interagissant directement avec l'ADN des autres classes d'interaction indirecte (Cazin et Robert, 2008 ; Méric *et al*., 2004) :

A. AGENTS À INTERACTION DIRECTE AVEC L'ADN

2.2.1.1. Les alkylants

L'alkylation est l'action de remplacer un hydrogène (proton) par un groupement alkyle (méthyl, éthyle, propyle, etc.… en fonction du nombre des atomes de carbone). A priori, cette alkylation peut se faire sur toutes les molécules hydrogénées. Toutefois, en cancérologie, on considère que seule l'alkylation du matériel génétique concoure à l'effet cytostatique. Les alkylants sont extrêmement réactifs et vont produire des lésions covalentes entre les brins d'ADN, ce qui a pour effet d'entraver les processus de réplication et de transcription. De nombreux produits font partie de cette famille. Le **cisplatine** qui, au titre de la famille des organoplatines, et vu son utilisation large (cancers : ovaire ; testicule ; prostate ; vessie et poumon), peut être considéré comme un chef de file de cette famille (Monassier, 2012).

2.2.1.2. Les intercalants

Les médicaments intercalants se placent dans les sillons de l'ADN et forment un complexe trimérique entre le médicament, l'ADN et la topoisomérase de type II. Cette formation concoure au blocage de la transcription. Par soucis de clarté, nous les séparons ici des inhibiteurs directs des topoisomérases. Les deux chefs de file de cette famille sont l'**adriamycine** et la **daunorubicine** qui ont donné naissance au groupe des anthracyclines (Monassier, 2012).

2.2.1.3. Les scindants

Le principal médicament scindant est la **bléomycine**. Ce produit est, lui aussi, un antibiotique d'origine naturelle. Elle agit en induisant des coupures monocaténaires de l'ADN mais tous ses effets ne sont pas connus (Monassier, 2012).

2.2.1.4. Les inhibiteurs des topoisomérases

Les topoisomérases sont des enzymes clés dans les processus de réplication. Elles permettent de couper les brins d'ADN pour les dérouler (ADN gyrases ou topoisomérases II) et d'induire des coupures bicaténaires pour séparer les chromosomes avant la mitose (topoisomérase I). Ces deux types de topoisomérases sont ciblées par des anticancéreux. Le

produit le plus utilisé est l'**irinotécan**. Il entre dans des protocoles d'associations d'agents anticancéreux (Monassier, 2012).

B. INTERACTION INDIRECTE AVEC L'ADN

2.2.1.5. Les antimétabolites

Ces sont des analogues structuraux des bases nucléiques ou faux substrats qui vont s'incorporer dans l'ADN à la place des bases puriques (adénine, guanine) ou pyrimidiques (thymine, cytosine, uracile), ou inhiber des voies métaboliques participant à la biosynthèse de ces bases (inhibition de la synthèse d'acide folique par les antifoliques) (Monassier, 2012).

a. Les inhibiteurs de la synthèse de l'acide folique (les antifoliques)

L'acide folique ou vitamine B9 est une substance indispensable à la synthèse de l'ARN et de l'ADN. Les besoins sont particulièrement importants pour toutes les cellules normales en croissance rapide mais aussi, bien entendu, pour les cellules cancéreuses. Elle va subir plusieurs réductions permettant de générer de l'acide tétra-hydrofolique qui est un cofacteur indispensable à la synthèse des bases puriques (adénine, guanine) et de la thymine (base pyrimidique) passant par la thymidylate synthase (Monassier, 2012).

b. Les antipyrimidiques

Pour la plupart, ces substances exercent des effets complexes passant par l'inhibition d'enzymes impliquées dans la synthèse de l'ADN, mais aussi en s'incorporant dans l'ADN et/ou l'ARN à la place des nucléotides normaux. On retrouve le **5-fluorouracil** (5-FU) comme chef de file de cette famille puisque deux de ces métabolites ; le fluorodéoxyuridine monophosphate et le 5-fluorouracile triphosphate, peuvent s'incorporer respectivement dans l'ADN et l'ARN pour en altérer le métabolisme et la fonction. La **gemcitabine** s'incorpore dans l'ADN et cette fixation induit des erreurs irréversible sur le cadre de lecture. De la même manière, l'**azacitidine**, en s'incorporant dans l'ADN va réduire le niveau de méthylation de ce dernier et donc produire des anomalies de l'expression génique. Finalement, l'incorporation de la **cytarabine** est responsable de l'inhibition de l'ADN polymérase et donc de la synthèse du matériel génétique (Monassier, 2012).

c. Les antipuriques

Ces médicaments ont des modes d'action très voisins des antipyrimidiques puisqu'ils entrent dans les cellules pour y être métabolisés et agir comme faux substrats de la voie de biosynthèse des purines. Ils vont donc altérer la synthèse de l'adénine et de la guanine puis s'incorporer dans l'ADN et l'ARN comme de « fausses bases ». Les plus vieux chefs de file sont la **mercaptopurine** « PURINETHOL® » et la **thioguanine** « LANVIS® ». Ces produits sont des

analogues de la guanine utilisés principalement dans la prise en charge des leucémies (Monassier, 2012).

2.2.1.6. Les inhibiteurs de la transcription et de la réplication

Par inhibition des ADN topoisomérases I ou II, ils induisent des anomalies conformationnelles de l'ADN (Monassier, 2012).

2.2.1.7. Les antimitotiques

Leur cible est la tubuline cytoplasmique dont la polymérisation/dépolymérisation est indispensable à la formation du fuseau mitotique. Le résultat final sera le blocage de la cellule en mitose. Deux classes se distinguent par leur mode d'action (Monassier, 2012) :

- *Les alcaloïdes de la Pervenche ou vinca-alcaloïdes :* surnommés « Poisons du fuseau », ils inhibent la polymérisation de la tubuline.
- *Les taxanes :* ils inhibent la dépolymérisation de la tubuline.

2.2.1.8. Divers (Monassier, 2012)

- *L'Hydroxycarbamide :* est un inhibiteur de la ribonucléotide réductase.
- *L'Asparaginase :* est une enzyme catalysant l'Asparagine, acide aminé non synthétisé par les cellules tumorales.
- *Le Bortézomib :* est un inhibiteur du protéasome stimulant l'apoptose des cellules tumorales.

2.2.2. Les thérapies ciblées

Les thérapies ciblées, venues s'ajouter à la chimiothérapie cytotoxique plus tardivement, ciblent des protéines impliquées dans le contrôle de la prolifération et de la mort cellulaire autrement dit ciblent une cause de l'anomalie à l'origine du cancer et non plus l'effet qui en résulte. Elles sont particulièrement efficaces lorsque l'anomalie moléculaire ciblée est déterminante dans l'oncogenèse. Souvent, les tumeurs solides résultent d'accumulation d'anomalies moléculaires. Les thérapies ciblées sur une seule anomalie n'auront qu'un effet transitoire. Ciblées sur une protéine, ces thérapies sont également ciblées sur des patients sélectionnés sur des critères moléculaires : la cible doit être présente et active dans la tumeur à traiter (Tubiana, 2011).

2.3. Les effets secondaires de la chimiothérapie

Les traitements de chimiothérapie s'attaquent aux cellules qui se multiplient rapidement. C'est le cas des cellules cancéreuses mais, malheureusement, c'est aussi celui de certaines cellules saines de l'organisme (cheveux, cellules du sang, cellules de la muqueuse gastrique...). Ce

phénomène explique pourquoi la chimiothérapie est associée à de nombreux effets secondaires (ARC, 2009).

2.3.1. Les effets secondaires hématologiques

Certaines chimiothérapies conduisent à la destruction des cellules de la moelle osseuse qui donnent naissance aux cellules du sang : globules rouges, globules blancs et les plaquettes. La diminution du nombre des globules rouges et du taux d'hémoglobine entraine principalement une fatigue intense. Un traitement par l'érythropoïétine (EPO) ou par transfusion sanguine est envisagé. La leucopénie (diminution du nombre des globules blancs ou leucocytes) réduit la résistance de l'organisme aux infections. Un traitement à base d'antibiotique et la thrombopénie (diminution du nombre des plaquettes sanguines) augmentent le risque d'hémorragies (ARC, 2009).

2.3.2. Les effets secondaires digestifs

Les nausées et vomissements induits par certains médicaments chimiothérapeutiques peuvent désormais être prévenu grâce à des traitements dits « antiémétique ». De même, l'administration de « ralentisseurs de transit » ou au contraire de laxatifs permet de lutter contre les diarrhées et les épisodes de constipations qui peuvent être provoqués par certaines chimiothérapies (ARC, 2009).

Les chimiothérapies peuvent, en outre, altérer la muqueuse de la bouche. Il faut alors limiter au maximum l'installation de la sécheresse buccale en buvant régulièrement de l'eau, en suçant ou mastiquant des gommes à mâcher ou des glaçons (ARC, 2009).

2.3.3. L'alopécie

La chute des cheveux demeure l'un des effets indésirables des chimiothérapies le plus redouté. Il faut savoir que tous les médicaments de chimiothérapie n'induisent pas une chute des cheveux et que, dans tous les cas, le phénomène est réversible à l'arrêt du traitement (ARC, 2009).

3. LES ANTHRACYCLINES

Au début des années soixante, des chercheurs français et italiens ont isolé simultanément la même molécule antibiotique à partir de souches de *Streptomyces caerolearubidus* et *peucetius*. Le nom italien de cet antibiotique fut **daunomycine** (Di marco *et al*., 1965), et le nom français fut **rubidomycine** (Dubost *et al*., 1963) pour enfin de compte être actuellement distribué sous le nom de **daunorubicine** ou **daunomycine**. L'activité anti tumorale de cet antibiotique fut rapidement mise en évidence et il devient le chef de file d'une famille d'anticancéreux

appartenant à la famille des anthracyclines. La **doxorubicine** (**adriamycine**), un analogue 14_hydroxy de la daunorubicine fut isolée d'une souche mutante de *Streptomyces peucetius* (*var caesius*) (Arcamon *et al*., 1969). Depuis les années soixante-dix, de nombreuses anthracyclines ont été développés au cours de différentes études *in vitro* et *in vivo*, durant lesquelles ces produits ont montré une large diversité dans leurs actions biologiques et chimiques. Parmi les analogues testés dans des études précliniques, beaucoup se sont avérés décevants en phase d'essais cliniques I et II (Muggia et Green, 1991).

Les anthracyclines représentent une famille de médicament anticancéreux d'origine naturelle, isolés sous forme d'antibiotiques à partir de microorganismes. Leur suffixe « **rubicine** » rappelle leur couleur rouge intense bien visible dans les flacons de poudre pour solution injectable. Elles agissent en s'intercalant entre les paires de bases azotées de l'ADN et inhibent l'activité de la topoisomérase II.

3.1. Structure et propriétés physico-chimiques

3.1.1. Structure

Les anthracyclines possèdent la structure poly aromatique des tétracyclines, avec un amino-sucre, la daunosamine, étant attachée par une liaison glycosidique. Les agents cytostatiques de cette classe ont tous une structure quinone et hydroquinone, qui leur permet de fonctionner comme accepteur et donneur d'électrons.

La structure chimique des anthracyclines inclut deux composants : un composant polycyclique aromatique (tétracycline) correspondant à la portion aglycone (anthraquinone) et un composent sucré (glucosamine) correspondant à la daunosamine (Fig.1).

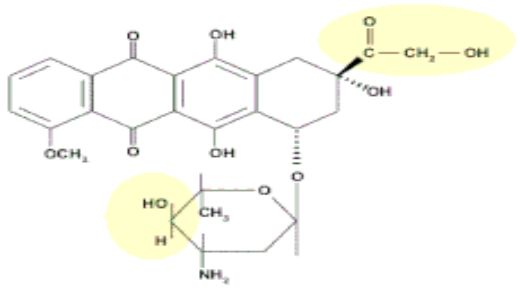

Figure 1. Structure chimique des anthracyclines (Prat *et al*., 1994).

3.1.2. Propriétés physico-chimiques

Les anthracyclines sont amphiphiles, et des bases faibles avec un pKa approximatif de 8,6 (Gallois *et al*., 1996) pour les molécules indiquées dans la figure 1. De ce fait, ces molécules à pH

physiologique (7,2-7,4) et à 20°C portent une seule charge positive au niveau du groupe amine de la daunosamine, et son neutre au niveau de la structure polycyclique. Ces molécules se différencient par leur caractère lipophile défini par leurs substituants. L'évaluation des coefficients de partition met en évidence des molécules de caractère hydrophobe faible pour l'adriamycine, intermédiaire pour la daunorubicine et élevé pour l'indarubicine (Gallois *et al*., 1996). Les anthracyclines dans l'eau, le méthanol et les solutions hydroalcooliques.

La structure polycyclique aromatique attribue à cette famille d'anticancéreux un groupe chromophore porteur d'une propriété de fluorescence. Les mesures de l'intensité de fluorescence permettent d'évaluer la concentration des anthracyclines. De plus, l'analyse des modifications des spectres de ces molécules permet également la mise en évidence d'interactions entre elles ou avec leur environnement. Les différents travaux fondamentaux de l'équipe de Garnier-Suillerot ont porté sur les variations spectroscopiques d'une série d'anthracyclines (Gallois *et al*., 1996 ; Gallois *et al*., 1998 ; Laigle *et al*., 1996). En solution éthanolique, les spectres mesurés indiquent un état monomère de référence. En solution aqueuse les résultats varient en fonction de la concentration. A forte concentration pour la doxorubicine et la daunorubicine l'intensité de fluorescence n'est plus corrélée à la concentration et les ratios de fluorescence sont modifiés, impliquant un état d'équilibre entre les formes monomères et dimères (Laigle *et al*., 1996), alors que l'indarubicine même à forte concentration reste sous forme monomère (Gallois *et al*., 1998).

3.2. Méthodes de détection des anthracyclines

Lorsque l'anthracycline est marquée par un isotope (tel que le tritium), il est possible de réaliser des quantifications absolues (Merlin *et al*., 1995 a). Il est également possible d'exploiter les propriétés de fluorescence des anthracyclines par cryométrie en flux (Merlin *et al*., 1994), et/ou absolues par spectroscopie de fluorescence classique, microspectrofluorimétrie (Belhoussine *et al*., 1998 ; Gallois *et al*., 1996), et par des techniques de chromatographie (Brenner *et al*., 1985). Les interactions entre elles ou avec les compartiments cellulaires peuvent être étudiées par les techniques de spectroscopie de fluorescence (Gallois *et al*., 1998 ; Gallois *et al*., 1996 ; Laigle *et al*., 1996). Enfin, leur distribution subcellulaire peut être analysée par les techniques d'imagerie en microscopie de fluorescence (Duffy *et al*., 1996 ; Lampidis *et al*., 1997 ; Merlin *et al*., 1995 a).

3.3. Mécanismes d'action

3.3.1. Intercalation dans l'ADN

Les anthracyclines se lient de façon non covalente aux doubles-brins de l'ADN pour former un complexe [ADN-antracycline]. Les interactions dans ce complexe sont de deux ordres,

hydrophobes et électrostatiques. Les interactions électrostatiques impliquent d'une part, le groupe amine chargé positivement en C'_3 de la daunosamine des anthracyclines, et d'autre part le groupe phosphate chargé négativement de l'ADN (Priebe et Perez-soler, 1993). Les interactions hydrophobes impliquent la structure anthraquinone des anthracyclines, par l'intermédiaire des cycles aromatiques B, C et D, et les paires de bases de l'ADN (Booser et Hortorbagyi, 1994). Les liaisons hydrophobes se traduisent par un empilement (*Staking*), qui pourrait expliquer l'atténuation de la fluorescence émise par les anthracyclines en présence d'ADN (Barthwal *et al*., 1994). Les sites d'intercalation ne sont pas spécifiques mais sélectifs pour les triplets de bases (Pyrimidine-Adénine-Pyrimidine), et se situent préférentiellement dans des régions associées à des délétions et de substitutions de bases (Anderson *et al*., 1991).

3.3.2. Inhibition de la synthèse des macromolécules

Les différents travaux menant à ce sujet sur un panel de lignées cellulaires, principalement pour la daunorubicine et/ou la doxorubicine, ont montré une inhibition de la synthèse de l'ADN et de l'ARN pour des concentrations respectivement de l'ordre de 0,2 à 5 µM (Dano *et al*., 1972 ; Di Marco *et al*., 1965) et 2 à 100 µM (Momparler *et al*., 1976). Cependant, la relation entre l'inhibition de synthèse de l'ADN et l'effet cytostatique reste discutée, en particulier pour les faibles concentrations (Siegfried *et al*., 1983).

3.3.3. Formation d'adduits d'ADN et liaisons-croisées

Les hypothèses concernant les voies d'inhibition de la biosynthèse des acides-nucléiques (ADN et ARN) reposent sur une intercalation directe des anthracyclines et (ou par inhibition de l'activité de l'ADN-polymérase (Gewirtz, 1999). Cependant, la formation d'adduits ou de liaisons croisées d'ADN n'a été montrée que pour des concentrations inhibant 90% de la croissance (IC_{90}) (Skladanowski et Konopa, 1994).

3.3.4. Inhibition de l'hélicase

La mise en évidence de l'altération, par les anthracyclines, de l'enroulement ou de la séparation des brins de l'ADN par inhibition de l'hélicase a été effectuée uniquement dans des expérimentations en solution sans cellules (Gewiritz, 1999).

3.3.5. Inhibition de la topoisomérase II

Les topoisomérases sont des enzymes chargées de réguler les conversions topologiques de l'ADN et de permettre le bon fonctionnement nucléaire. Elles sont classées en deux types d'enzymes I et II. Les topoisomérases de classe I produisent des cassures simples brins transitoires de l'AND selon un mécanisme ATP-indépendant, et sont principalement actives pendant la transcription et l'élongation. Les topoisomérases de classe II induisent des cassures

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

Les cassures de l'ADN par les anthracyclines sont principalement double-brins et s'effectuent par l'intermédiaire de complexe [ADN-anthracycline-protéine]. Tewey *et al.* (1984) ont mis en évidence in vitro sans cellules et sur cellules intactes, que la protéine associée à ces complexes est la topoisomérases II. Les anthracyclines, en s'intercalant à l'ADN, stabilisent le complexe transitoire de clivage [ADN-enzyme] et empêchent de façon réversible la relégation des brins. L'inhibition de cette enzyme provoque un arrêt du cycle cellulaire en G_2/M, puis des aberrations chromosomiques, des échanges entre chromatides sœurs el la mort cellulaire.

3.3.6. Production des radicaux libres

Les radicaux libres dérivés de l'oxygène sont générés par le cycle redox des dérivés quinine des anthracyclines (Part *et al*., 1994). Ils sont modifiés par une réduction à un électron en semiquinone ou à deux électrons en dérivés dihydroquinone (Part *et al*., 1994). Ces dérivés peuvent soit léser directement l'ADN, soit interagir avec l'oxygène moléculaire pour produire des radicaux anions superoxydes ($O_2^{\bullet-}$), hydroxyles (**.**OH) ou de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), qui sont cytotoxiques au niveau des mitochondries, de l'ADN et des membranes. La voie majeure de production de radicaux hydroxyles apparait par deux réactions dépendantes du fer (Fe). Elles sont présentées pour l'adriamycine. Le premier mécanisme est une réduction de fer (III) en fer (II) par l'anion superoxyde ou le dérivé semiquinone, suivie d'une réaction entre Fe (III) et le H_2O_2. Le second mécanisme implique une réaction directe entre le complexe [anthracycline-Fe (III)] et le H_2O_2.

3.4. Les effets secondaires des anthracyclines

Généralement les anthracyclines sont utilisées en association ou en relais avec d'autres agents chimiothérapeutiques comme par exemple, le 5-fluorouracile, le cyclophosphamide, le paclitaxel et la vincristine. La toxicité des composés utilisés en chimiothérapie est en général importante. En effet, les substances antimitotiques agissent préférentiellement sur les cellules à division rapide. Ce type de cellules peut être cancéreux, ce qui correspond à l'indication thérapeutique, ou non et dans ce cas la toxicité et les effets secondaires se manifestent. Les effets

secondaires rencontrés peuvent être identifiés comme communs aux agents antimitotiques, ou spécifiques à cette famille d'anticancéreux (Prat *et al*., 1994).

- Les effets secondaires divers : alopécie, toxicité hématologique (leuco-et thrombo-cytopénie), troubles digestifs, immunodépression.
- Les effets secondaires spécifiques aux anthracyclines : toxicité rénale et toxicité cardiaque.

La toxicité cardiaque est cumulative et liée à la dose avec une dose totale maximum tolérée de 550 mg/m^2 pour l'adriamycine et de 900 mg/m^2 pour la daunorubicine (Pral *et al*., 1994). Afin de réduire ces toxicités cardiaques majeures, différentes stratégies thérapeutiques ont été employées. L'utilisation d'anthracyclines moins cardiotoxiques, a été favorisée comme l'épirubicine ou l'indarubicine (Muggia et Green, 1991). L'optimisation des protocoles thérapeutiques a permis de déterminer les paramètres à considérer tels que les voies parentérales (intraveineuse ou intrapéritonéale : standard, intra-artérielle ou –vésical : loco-régionale), et les schémas d'administration (dose, fréquence et durée de la perfusion).

Enfin, des radio-protecteurs peuvent également être associés aux traitements. Ceux–ci sont soit des inhibiteurs des radicaux libres (ex : α-tocophérol) peu efficaces, ou plutôt des chélateurs de fer (ex : dexrazozane) inhibant la production de radicaux libres sans inhiber l'effet antitumoral des anthracyclines (Part *et al*., 1994).

4. L'ADRIAMYCINE

L'adriamycine (ADR) est un antibiotique anticancéreux de la famille des anthracyclines. Produite tout naturellement par des actinobactéries du genre *Streptopmyces*, elle a été isolée pour la première fois en 1960 et approuvée par la Food and Drug Administration (FDA) en 1974 (Hande, 1998 ; Minotti *et al*., 2004). Depuis, c'est le meilleur antinéoplasique connu et le plus utilisé, entre autres dans le traitement d'une variété de tumeurs malignes, en particulier les lymphomes, les leucémies et les tumeurs gastro-intestinaux (young *et al*., 1981). Son administration se fait par voie intraveineuse afin d'atteindre rapidement la tumeur sans être trop dégradée (Hand, 1998). Les demi-vies de l'adriamycine sont : de 8 à 25 minutes, de 1h30 à 10h et de 24h à 48h. La présence de la deuxième phase de demi-vie serait due au métabolisme du médicament au niveau du foie, en doxorubicinol, et la troisième phase serait attribuable au relâchement du médicament des sites de liaison dans les tissus (Tannok et HILL, 1998). L'adriamycine ainsi que ses métabolites seraient excrétés majoritairement par la bile. Cependant, 5% serait excrété par voies urinaires ce qui expliquerait la coloration rouge de l'urine, soit la couleur de ce médicament, quelques jours après le traitement (Tannock et Hill, 1998).

4.1. Mécanisme d'action

L'ADR agirait sur les cellules selon plusieurs modes d'action. Tout d'abord, près de 99,8% de son accumulation se ferait au niveau du noyau chez des cellules sensibles à cause de sa très grande affinité avec l'ADN (Cutts et Phillips, 1995). Sa structure plane, lui permettrait de s'insérer entre deux paires de bases azotées modifiant ainsi la structure de l'ADN (Cutts et Phillips, 1995 ; Hande, 1998 ; Iarussi *et al*, 2001).

Cette modification inhiberait l'action de la topoisomérase II, qui est une enzyme nucléaire chargée de modifier l'ADN lors de la transcription, la réplication et la mitose (Potter et Rabinovith, 2005).

La stabilisation de l'enzyme par l'intercalation de l'ADN causerait l'arrêt du cycle cellulaire par activation de « *Check points* », responsables d'activer la réparation de l'ADN où ses dommages sont trop importants, d'activer la mort de la cellule par apoptose (Koivusalo *et al*., 2005 ; Potter et Rabinovith, 2005). Finalement, les composes de dégradation de l'ADR entraineraient la formation de radicaux d'hydrogène (H_2O_2), et le radical hydroxyle (-OH) (Singl *et al*., 1997). Ces radicaux libres endommageraient l'ADN, les protéines et les constituants des membranes cellulaires (Iarussi *et al*., 2001).

4.2. Les effets secondaires majeurs

Le traitement chimiothérapeutique implique l'usage d'agents toxiques dans le but de tuer les cellules tumorales. Cependant, dans certains cas, le traitement peut aussi affecter les cellules saines. Par exemple, la cardiotoxicité est une des désavantages majeurs de l'utilisation de l'adriamycine comme agent anticancéreux. En effet, ce médicament anticancéreux, administré à des doses totales cumulées de 550mg/m^2 entrainerait des problèmes cardiaques chez plus de 7% des patients traités (Hande, 1998 ; Iarussi *et al*., 2001 ; Kim *et al*., 2003). Le mécanisme impliqué reste irrésolu, mais certains groupes de recherches ont observé une diminution de GATP-4, un facteur de transcription cardiaque important dans la différenciation lors du développement et essential à la survie, et son ARNm ce qui induirait l'apoptose des cardiomyocytes (Aries *et al*., 2004 ; Kim *et al*., 2003). Une autre équipe verrait aussi l'implication de Fas/FasL dans l'apoptose des cardiomyocytes (Jeremias *et al.,* 2005). Cependant d'autres auteurs ont rapporté que les radicaux libres produits par l'adriamycine seraient majoritairement responsable de la cardiotoxicité (Hand, 1998 ; Iarussi *et al*., 2001 ; Tannock et Hill, 1998).

De façon aigue, on observe souvent des modifications électrocardiographiques plus ou moins transitoires (comme des modifications du segment ST, des troubles de la repolarisation et

des troubles du rythme). Ces altérations doivent renforcer la surveillance cardiaque, mais n'imposent pas l'arrêt de l'adriamycine (Heron, 2003).

La cardiomyopathie chronique est par contre plus redoutable et doit faire arrêter immédiatement l'adriamycine. On estime le risque élevé à partir de doses supérieures à 500 mg/m^2, parfois moins en raison de l'âge ou de l'association avec la radiothérapie ou à l'endoxam. Une telle cardiomyopathie peut être dépistée par des examens réguliers de la fonction ventriculaire. D'autres antimitotiques pourraient avoir se compliquer de nécroses myocardiques, mais de façon plus rare (Heron, 2003).

II. LES ANTIOXYDANTS

1. RAPPEL SUR LES RADICAUX LIBRES

1.1. Définition

Un radical est une molécule ou un fragment moléculaire qui contient un électron (ou plus) non apparié. De part sa structure particulière, il a tendance à attirer les électrons d'autres atomes et molécules pour gagner sa stabilité. Plusieurs éléments peuvent être à l'origine de radicaux libres. Il existe deux grandes voies de formation de ses deniers (Turens *et al.*, 1985) :

- La première voie se résume dans le transfert d'électrons catalysés par les métaux de transition (Fe, Cu). Ils transforment le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en radical hydroxyle (OH°), encore plus toxique, en accélérant la peroxydation lipidique.
- La deuxième voie se fait au niveau de la scission homolytique des liaisons covalentes des molécules. Cette voie nécessite de l'énergie qui pourra être fournie par les radiations ionisantes, par la lumière, la chaleur et les ultrasons.

1.2. Nature des radicaux libres

1.2.1. Les espèces réactives dérivées de l'oxygène (ERO)

L'oxygène doit sa grande réactivité à sa structure particulière. En effet, il possède deux électrons radicalaires non appariés sur sa couche orbitale externe. Cette molécule est essentielle au bon fonctionnement de l'organisme. Les mitochondries utilisent la plus grande part de l'oxygène inspiré pour la production d'énergie. Cependant, 3 à 5% de cet oxygène utilisé par les mitochondries lors de l'activité métabolique normale est inévitablement à l'origine de radicaux libres oxygénés, hautement toxiques (Pastre, 2005).

- **Ion super oxyde : O_2**

L'ion super oxyde (O_2°-) est un dérivé très réactif de l'oxygène. Il est produit au cours du métabolisme mitochondrial à la suite de la réaction suivante.

$$^{\circ}O\text{-}O^{\circ} + e^- \longrightarrow O\text{-}O^{\circ} (O_2^{\circ}\text{-})$$

Relativement stable, il n'est pas très toxique pour l'organisme. Mais il est à l'origine de cascades de réactions conduisant à la production de molécules très nocives.

- **Radical libre hydroxyle : OH°**

Le radical libre hydroxyle (OH°) est très réactif. Son temps de demi-vie en milieu aqueux est de 10-6 secondes. Il peut réagir avec de nombreuses molécules comme l'ADN, les glucides, les nucléotides, les protéines et être à l'origine de lésions de nécrose. C'est un dérivé de l'ion superoxyde. Il peut être produit à la suite de diverses réactions. Nous en citerons deux à titre d'exemple, comme :

- la réaction d'Haber-Weiss : $O_2^{\circ}- + H^+ + H_2O_2 + Fe^{3+} \longrightarrow HO^{\circ} + H_2O + Fe^{2+}$
- la réaction de Fenton : $H_2O_2 + Fe^{2+} + H^+ \longrightarrow Fe^{3+} + H_2O + HO^{\circ}$

- **L'oxygène singlet : $^1O_2$**

Lorsque de l'énergie est apportée à l'oxygène, celui-ci passe à l'état singlet qui représente la forme activée. C'est une forme très énergétique de grande réactivité qui peut oxyder de nombreuses molécules. Il est formé à partir de l'ion superoxyde selon la réaction suivante :

$^{\circ}O\text{-}O^{\circ} \longrightarrow -O_2$. (sous l'action de la lumière)

- **Le radical peroxyde: H_2O_2**

Le radical peroxyde est considéré comme une espèce réactive dérivée de l'oxygène (ROS) même s'il n'a pas une structure radicalaire car il est capable d'initier ou de propager des dommages oxydatifs. Il peut être produit au cours des mécanismes illustrés par les équations suivantes :

$O_2{}^{-\circ} + H^+ \longrightarrow HO_2^{\circ}$

puis $2\ HO_2^{\circ} \longrightarrow H_2O_2 + O_2$

1.2.2. Les espèces libres non oxygénées

Les espèces libres non oxygénées sont les produits des réactions de certaines molécules avec les ROS. Ils peuvent à leur tour réagir avec d'autres molécules et être à l'origine de la multiplication des réactions d'oxydation et de la propagation de dommages oxydatifs. Nous citerons, par exemple, les acides gras peroxydés, résultats de l'action des espèces oxygénées sur les membranes biologiques. Les fractions protéiques, les acides aminés et les acides nucléiques peuvent aussi réagir avec les ROS générant des molécules réactives et nocives (Pastre, 2005).

1.3. Production de radicaux libres

La production de ces espèces oxydantes est une conséquence inévitable du métabolisme aérobique. En effet, l'organisme a besoin d'O_2 pour produire de l'énergie au cours des réactions dites de respirations oxydatives. Cependant, une faible partie de l'oxygène échappe à sa réduction en eau, au niveau de la mitochondrie. Elle peut alors être à l'origine de la production de radicaux libres oxygénés (Pastre, 2005).

Les autres sources de production de radicaux libres sont représentées dans le tableau 1. Elles sont classées en deux catégories :

- les sources endogènes : les radicaux libres sont des produits des réactions de l'organisme.
- les sources exogènes : les êtres vivants sont exposés quotidiennement à des polluants (fumée de cigarette, rayons ultraviolets, radiations…) susceptibles d'être à l'origine de la production de radicaux libres, une fois dans l'organisme.

Tableau 1 : Les principales sources de production des radicaux libres.

Sources endogènes	Sources exogènes
Production de radicaux libres lors des respirations oxydatives (mitochondries) Cellules phagocytaires Métabolisme de l'acide arachidonique Système xanthine/Xanthine oxydase Sources exogènes	Rayonnement électromagnétique Métaux de transition Pesticides Médicaments…

2. LES ANTIOXYDANTS

L'oxydation fait partie d'une réaction d'oxydo-réduction qui transfère des électrons d'une substance vers un agent oxydant. Cette réaction peut produire des radicaux libres qui entraînent des réactions en chaines destructrices. Les antioxydants sont capables de stopper ou de retarder ces réactions en chaines en se réduisant avec les radicaux libres et inhibant ainsi leur action. Ces propriétés se trouvent beaucoup dans les familles des thiols et des phénols (Fodhil-Bouhadjra, 2011).

2.1. Définition

Un antioxydant est une molécule qui diminue ou empêche l'oxydation d'autres substances chimiques. Il est défini comme « toute substance qui, en faible concentration par rapport aux

susceptibles d'être oxydé, prévient ou ralenti l'oxydation de ce substrat ». C'est une molécule étant capable de neutraliser les formes actives de l'oxygène et permet de maintenir au niveau de la cellule et de l'organisme des niveaux non cytotoxiques de radicaux libres (Halliwell, 1999).

2.2. Mécanisme d'action des antioxydants

Il y a deux options pour retarder la réaction d'oxydation (Kouame, 2004) :

- Soit intercepter les radicaux libres responsables de la réaction en chaine.
- Soit éviter la décomposition des hydro peroxydes dans les radicaux libres.

Ces deux options fournissent la base de la classification des antioxydants sous forme primaire ou sous forme secondaire selon leur mécanisme d'action.

- **Les antioxydants primaires**

La cellule est pourvue d'enzymes antioxydantes qui sont des systèmes de défense très efficaces. Cette ligne de défense est constituée de superoxyde dismutase (SOD), de catalase et de peroxydase (glutathion et ascorbate) (Favier, 2006). Ces enzymes antioxydantes permettent l'élimination des radicaux libres primaires, selon les réactions suivantes :

$$2O_2 + 2H^+ \xrightarrow{\text{supreoxyde dismutase}} H_2O^2 + O_2$$

$$2H_2O_2 \xrightarrow{\text{Catalase}} 2H_2O + 0_2$$

$$H_2O_2 + 2GSH \xrightarrow{\text{Glutation peroxydase}} 2H_2O + GSSG$$

De ce fait, elles préviennent la formation de radicaux libres organiques à partir des lipides membranaires notamment et contribuent donc à la protection des membranes de la peroxydation lipidique (Dacosta, 2003).

- **Les antioxydants secondaires**

Ce sont des molécules exogènes. Contrairement aux enzymes antioxydantes, une molécule d'antioxydant piège un seul radical libre. Pour pouvoir fonctionner à nouveau, cette molécule d'antioxydant doit donc être régénérée par d'autres systèmes (Dacosta, 2003). Plusieurs substances pouvant agir en tant qu'antioxydants *in vivo* ont été proposés. Elles incluent : la vitamine E, l'acide ascorbique, le β-carotène, les flavonoïdes, les composés phénoliques,…etc. (Kohen et Nyska,2002).

2.3. Les antioxydants d'origine alimentaire

2.3.1. La vitamine E

La vitamine E est un antioxydant majeur liposoluble. C'est un composé amphiphile, capable de s'insérer dans les membranes cellulaires : globules rouges, cellules endothéliales, cellules musculaires, neurones (c'est le seul antioxydant du système nerveux central), gamètes (Pastre, 2005).

Il existe dans la nature plusieurs dérivés de la vitamine E à activités différentes (α-, α-, γ, δ-tocophérol, tocotriénols…). Ils sont différenciés par les substituants du noyau chromanol (noyau benzyle associé à un hétérocycle à 6 carbones, substitué par un hydroxyle et par une chaîne latérale ramifiée saturée s'il s'agit de tocophérol, ou insaturée s'il s'agit de tocotriénols).

2.3.2. La vitamine C

La vitamine C ou acide ascorbique est le plus important antioxydant hydrosoluble : son rôle est essentiel dans les compartiments intra- et extra-cellulaires. Son mécanisme d'action est mal connu. Il fait intervenir des réactions d'oxydoréduction entre la forme réduite de la vitamine C (l'acide ascorbique) et sa forme oxydée (dehydroascorbate) (Pastre, 2005).

L'ascorbate capte les anions superoxydes, hypochlorite, hydroxyle et l'oxygène singlet. Ses principaux rôles sont les suivants :

- *In vitro*, il inhibe la peroxydation lipidique avant la vitamine E.
- Il protège les membranes vis à vis de l'attaque peroxydative, en piégeant efficacement les radicaux peroxyles ROO° dans la phase aqueuse, avant qu'ils puissent initialiser les peroxydations.
- Il participe à la régénération de la vitamine E - il est capable de neutraliser l'oxygène singlet

2.3.3. Les caroténoïdes

Les caroténoïdes sont une grande famille qui regroupe plus de 600 molécules. Le plus important et le plus connu des caroténoïdes est le β-carotène. Il a longtemps été étudié pour son activité de provitamine A. Cependant, tous les caroténoïdes ne peuvent pas être convertit en vitamine A. Ils intéressent de plus en plus les chercheurs pour leur pouvoir antioxydant que n'a pas la vitamine A. Leur fonction dans l'organisme leur est propre et est indépendante de cette conversion (Pastre, 2005).

Les caroténoïdes peuvent agir en tant qu'antioxydants selon plusieurs mécanismes:

- Ils sont capables de bloquer les chaînes de réactions radicalaires, selon les équations suivantes (BC : β-carotène):

$$BC + ROO^{\circ} \longrightarrow BC^{\circ}$$

$$BC^{\circ} + O_2 \longleftrightarrow BC\text{-}OO^{\circ}$$

$$BC + ROO^{\circ} \longrightarrow \text{Produits inactifs}$$

- Ils empêchent l'initiation des réactions radicalaires en neutralisant l'oxygène singulet. Néanmoins, tous les caroténoïdes n'ont pas la même efficacité pour inactiver l'oxygène singulet. Par ordre décroissant d'efficacité, on classe : le lycopène puis le β- carotène et enfin la lutéine. Comme la vitamine E, les caroténoïdes sont des molécules lipophiles. Ils sont localisés dans la membrane plasmique et participent donc à la protection et au maintien de l'intégrité cellulaire.

2.3.4. Les polyphénols et flavonoïdes

Les flavonoïdes appartiennent à la famille des polyphénols. Ce sont des composés ubiquistes que l'on retrouve dans les plantes (thé, raisin, cacao, blé, orge, maïs, fruits et légumes…). Ils attirent l'attention depuis quelques années à cause de leurs propriétés antioxydantes. En effet, ils sont capables de piéger des radicaux libres, d'inhiber la peroxydation lipidique en réduisant les radicaux hydroxyl, superoxyde et peroxyl. Ils sont aussi capables de piéger les ions métalliques, car ils ont des propriétés chélatrices (Pastre, 2005).

2.3.5. La taurine

La taurine (acide 2-aminoethanesulfonique) est un acide aminé sulfoné. La majeure partie de cette molécule se trouve dissoute dans le cytosol soit liée aux membranes cellulaires. Son action dans l'organisme est mal connue. Elle serait capable d'inactiver des radicaux libres. A côté de son rôle dans les défenses antioxydantes, elle participerait aussi à la régulation de la pression osmotique cellulaire en modifiant les concentrations intracellulaires de calcium (Pastre, 2005).

2.3.6. Les oligo-éléments

Ces oligo-éléments interviennent comme co-facteurs d'enzymes indispensables dans la lutte contre les radicaux libres. Parmi ces oligo-éléments, le zinc, le sélénium et le manganèse ont une action définie.

Le zinc protège contre la diminution de la concentration de la vitamine E, stabilise la structure membranaire et limite la production endogène de radicaux libres. Cet oligo-élément participe à la structure et à la fonction de l'enzyme extracellulaire à activité antioxydante (la superoxyde dismutase), et maintient la concentration tissulaire en métallothionine, molécule potentiellement capable de piéger les radicaux libres (Di Silvestro, 2000).

Le sélénium est connu pour ses propriétés antioxydantes. Il entre dans la constitution de la glutathion peroxydase (GPx). Cette enzyme séleno-dépendante participe au recyclage du glutathion et réduit la peroxydation lipidique en catalysant la réduction des peroxydes dont le peroxyde d'hydrogène. D'autres rôles sont attribués à cette enzyme : elle interviendrait dans la transduction des signaux cellulaires, la régulation de l'expression de gènes (par son action au niveau des facteurs de transcription), l'induction de Bêta carotène et jouerait donc un rôle clé lors du cycle cellulaire (Pastre, 2005).

Le manganèse appartient à la superoxyde dismutase (SOD) mitochondriale. Cette enzyme fait partie du système de défense antioxydant endogène de l'organisme. Elle permet la conversion de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène.

2.3.7. Minéraux

Nous citerons tout particulièrement, le magnésium. Il se trouve dans le chocolat, les produits céréaliers, les légumes et les fruits secs. Son déficit favorise la peroxydation lipidique (Pastre, 2005).

Les vitamines E et C, les caroténoïdes, la taurine, certains minéraux et oligo-éléments ont tous des propriétés antioxydantes. Ces molécules peuvent potentiellement intervenir lorsqu'il existe un stress oxydatif. Le principe de leur emploi pour prévenir l'apparition et le développement de certaines maladies est donc justifié. Cependant, les radicaux libres sont des molécules ambivalentes : malgré leurs effets délétères sur les systèmes biologiques, leurs interventions dans la communication cellulaire et dans la réaction immunitaire sont indispensables. Par conséquent, leur neutralisation à tout prix par l'utilisation massive d'antioxydants n'est peut-être pas indiquée dans tous les cas (Pastre, 2005).

3. LE LYCOPENE

3.1. Historique

Originaire d'Amérique du Sud, la tomate fut introduite en Europe au XVIème siècle. Vers la fin du XIXème siècle, un chercheur du nom de Harsten isolait le lycopène de la tomate, mais il fallut attendre le milieu du XXème siècle pour qu'on en découvre les propriétés et la fin des années 1990 pour qu'elles soient largement diffusées. Le lycopène est la substance qui confère à la tomate sa couleur rouge caractéristique (Anonyme#3, 2008).

3.2. Définition

Le lycopène est un pigment rouge issu principalement de la tomate, mais aussi présent dans d'autres fruits, notamment la pastèque rouge, la papaye, le pamplemousse rose. Il est également synthétisé par certains champignons (*Blakeslea trispora*). Il est utilisé comme colorant dans plusieurs produits alimentaires transformés. Le principal apport de lycopène est réalisé par la consommation de tomate et de ses produits dérivés, qui appartiennent à la grande famille des caroténoïdes rencontrés dans un certain nombre d'espèces végétales.

Le lycopène est le caroténoïde prédominant de la tomate avec un taux de plus de 95% (Tonucci *et al*., 1995). Le lycopène est l'anti-radicaux libres le plus efficace, particulièrement contre les espèces radicalaires oxygénées. (Conn *et al*., 1993 ; Stahl, 1999).

C'est une molécule non saturé, à chaîne ouverte, qui exerce son action en cédant ses électrons afin de neutraliser les radicaux libres (Conn *et al*.,1993). C'est un pigment appartenant à la classe des terpènes caroténoïdiens, caractérisé par une structure acyclique symétrique contenant onze doubles liaisons conjuguées et deux non-conjuguées qui confèrent à la molécule sa couleur rouge. Dans la tomate, le lycopène se trouve sous sa forme « all-transe », qui est sa configuration la plus thermostable dans la nature (Stahl et Sies, 1992 ; Agarwal et Rao., 2000). Le lycopène est présent dans le corps humain à 50% sous sa forme *cis*. Il exerce son activité d'antioxydant qui est 10 fois plus élevée que celle du tocophérol (Stahl et Sies, 1996).

Contrairement à la vitamine A, les caroténoïdes ne présentent pas le risque d'hypervitaminoses. En effet, la conversion des caroténoïdes en vitamine A se trouve sous le contrôle d'un mécanisme cellulaire de régulation selon les besoins du corps et diminue lorsque les stocks du corps sont au plein (Kaegi, 1998). Le Lycopène se trouve principalement dans la peau et le péricarpe de la tomate. La cyclisation de ses extrémités par une enzyme spécifique aboutit à la formation du bêta-carotène. Le dosage du lycopène donne une indication sur un

critère de qualité des pâtes de tomate qui est la couleur. La détermination du taux de lycopène se fait à l'aide d'un spectrophotomètre à 502nm (Grolier *et al.*, 2000). À cette longueur d'onde, le lycopène absorbe à 90%, alors que le carotène n'absorbe qu'à moins de 10%. (Grolier, 1999).

3.3. Les sources alimentaires de lycopène

Plus de 80 % du lycopène consommé aux États- Unis provient de la tomate et des aliments contenant de la tomate. Le contenu en lycopène des tomates dépend en grande partie de la variété de la tomate et de son degré de mûrissement (Clinton, 1998). Quelques autres aliments de consommation courante contiennent également du lycopène (Tab.2). Les procédés thermiques, tels la cuisson et le blanchiment représentent les principales causes de perte et de changement de la configuration du lycopène. Les isomères *cis* augmentent avec la température et le temps de transformation de l'aliment (Shi et Le Maguer, 2000). La déshydratation et la fabrication de poudre de tomate rendent le taux de lycopène instable. Par contre, le taux de lycopène demeure stable lors de la congélation et de la stérilisation. Le lycopène est sensible à la lumière, à l'oxygène, aux températures élevées et aux acides; des ions métaliques comme le Cu^{2+} et le Fe^{3+} catalysent son oxydation (Shi et Le Maguer, 2000).

Tableau 2 : Le contenu en lycopène de différents aliments.

Aliments	Contenu en lycopène (mg/100 g)
Abricots frais	< 0,01
Abricots en conserve	0,06
Abricots séchés	0,86
Pamplemousse rose frais	3,36
Goyave fraîche	5,4
Jus de goyave	3,34
Melon d'eau frais	2,3 à 7,2
Papaye fraîche 2 à 5,3	2 à 5,35 à
Jus de tomate	5 à 11,6
Tomate fraîche	0,88 à 4,2
Tomate cuite	3,7
Sauce aux tomates 6,2	6,2
Pâte de tomate 5,4 à	5,4 à 150
Soupe aux tomates condensée 7,99	7,99
Tomate séchée (dans l'huile	46,5
Sauce à pizza 12,71	12,71
Ketchup 9,9 à 13,44	12,71

3.4. Propriétés

Il y aurait une relation inverse entre la consommation de tomates et le risque de cancer de la prostate et de l'estomac. De nombreuses études épidémiologiques ont montré que les sujets présentant un taux sanguin élevé de lycopène ont un risque moindre d'apparition de maladies cardio-vasculaires. Même s'il n'existe pas pour le moment d'apports journaliers recommandés pour le lycopène, les apports conseillés se situent aux alentours de 5 à 7 mg/jour (Anonyme#4, 2016).

Le lycopène est un antioxydant particulièrement efficace, capable de contrer l'action des radicaux libres. Il neutralise très efficacement l'oxygène singulet, un radical libre particulièrement agressif. Le lycopène préserve la jeunesse de la peau en la protégeant de l'action des radicaux libres et contribue à protéger les cellules du derme de l'oxydation. Bien que ses propriétés antioxydantes soient les principales responsables de ses effets bénéfiques sur la santé, divers travaux de recherche montrent que d'autres mécanismes seraient impliqués, à des concentrations nutritionnelles, dans d'autres applications, notamment cardiovasculaire (Anonyme#5, 2016).

3.4.1. Propriétés physicochimiques

La couleur orangée, rouge et jaune des substances caroténoïdes donnent la couleur à certains fruits et légumes. Elles contribuent également à colorer les arbres et les forêts à l'automne, ainsi que les pétales des fleurs. Elles absorbent la lumière qu'ils transforment en énergie lors de la photosynthèse des plantes. Dans notre alimentation, plusieurs substances caroténoïdes, comme le β-carotène, servent à la formation de la vitamine A dans l'organisme. Cependant, la plupart des substances caroténoïdes, dont le lycopène, sont dépourvues d'activité provitamine A, et leurs fonctions biologiques chez l'être humain ne sont pas très bien connues. À ce jour, plus de 600 substances caroténoïdes ont été reconnues. Elles existent sous la forme *cis* ou *trans*. Dans la tomate fraîche, le lycopène se présente sous la configuration *trans*, plus stable que la configuration *cis*. Le lycopène est une substance caroténoïde acyclique de couleur rouge (la majorité des substances caroténoïdes ont une forme moléculaire cyclique) comportant 11 doubles liaisons et de formule $C_{40}H_{56}$ (Clinton, 1998 ; Shi et Le Maguer, 2000). Peu d'aliments en contiennent évidemment, sa structure moléculaire particulière influencera sa biodisponibilité, son absorption, son transport, sa distribution dans les tissus et ses propriétés antioxydantes.

3.4.2. Propriétés générales du lycopène

Chez les organismes caroténogènes du règne végétal (champignons compris), ainsi que chez les bactéries et les archéobactéries, le lycopène est un produit intermédiaire de la voie métabolique qui mène à la synthèse du β-carotène. Chez ces organismes, le lycopène peut être considéré comme un précurseur du β-carotène. Toutefois, aucune des enzymes responsables de la conversion du lycopène en β-carotène (carotène β-cyclases) n'est présente ni chez l'homme, ni dans la microflore humaine. Le lycopène est moins lipophile que le β-carotène. Il est sensible à la lumière et à la température. Il existe dans la nature de façon prédominante sous la forme tout-*trans*, conformation thermodynamique la plus stable. Les traitements thermiques liés aux transformations technologiques influent peu sur le passage de la configuration *trans* à la configuration *cis*. Le lycopène est une molécule antioxydante qui réagit avec l'oxygène singlet $^1O_2$, généré en particulier par l'exposition photonique de la peau, et des espèces radicalaires (IARC, 1998 ; European Commission, 2001). Contrairement au β-carotène, le lycopène n'a pas une activité provitaminique A, il n'est donc pas précurseur de l'acide rétinoïque impliqué dans de nombreux processus de prolifération et de différenciation cellulaires.

CHAPITRE 02. ETUDE EXPERIMENTALE

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. MATERIEL BIOLOGIQUE

1.1.1. Animaux

Les animaux utilisés dans le cadre de cette étude sont des rats mâles adultes *Rattus rattus* de la souche *Wistar*, classe des mammifères nocturnes de l'ordre des rongeurs provenant de l'institut Pasteur d'Alger.

La puberté survient entre 50 et 60 jours après la naissance chez les deux sexes, la descente des testicules se produit bien avant la puberté, habituellement autour de l'âge de sevrage. Un rat en santé peut vivre de 2 ½ à 3 ans dépendant de la souche, du sexe, des conditions environnementales et autres variables (Baker *et al*., 1980 ; Suter *et al*., 1979). Au moment de notre expérimentation ces rats pèsent en moyenne 200±15g.

1.1.2. Elevage

Les animaux sont préalablement acclimatés aux conditions de notre animalerie durant toute la durée de l'expérimentation ; étant élevés dans des cages en polyéthylène. La litière est constituée de copeaux de bois et changée tous les deux jours. En raison de l'extrême susceptibilité de différents systèmes de ces animaux à toutes sortes d'agression ; nous avons attachés la plus grande importance à l'environnement et aux conditions de manipulation journalière. Les rats disposés en lots demeurent durant notre expérimentation dans les conditions de température 25°C, une hygrométrie de 50% et de photopériode naturelle.

Les animaux sont soumis à un régime alimentaire à base de maïs, d'orge, du lait et de compléments vitaminés (GAE : Groupe Avicole de l'Est, Oum Elbouaghi). L'eau est présentée dans des biberons adaptés aux cages. La nourriture et l'eau sont fournies *ad libitum* permettant de répondre aux besoins de l'animal. Ces animaux ont été répartis en quatre (04) lots expérimentaux ; chaque lot contient cinq (05) rats (Tab. 3).

Tableau 3 : Lotissement et traitement des animaux.

Lots	Type de traitement
Lot témoin (T)	**Traité à l'NaCl (0,9 %) puis à l'huile de maïs**
Lot (ADR)	**Traité à l'adriamycine (7mg /Kg de poids corporel) puis à l'huile de maïs**
Lot (L)	**Traité à l'NaCl (0,9 %) puis au lycopène (10mg/Kg de poids corporel)**
Lot (ADR + L)	**Traité à l'adriamycine (7mg /Kg de poids corporel) puis au lycopène (10mg/Kg de poids corporel)**

1.2. METHODES

1.2.1. Traitement à l'Adriamycine

1.2.1.1. Définition

L'Adriamycine (ADR) est un antibiotique anticancéreux appartenant à la famille des anthracyclines (Fig. 2). Elle se caractérise par ses propriétés cytotoxiques provoquant la mort des cellules engagées dans le cycle cellulaire, par interaction avec l'ADN ou avec le fuseau mitotique. L'ADR est classé parmi les agents intercalant entre deux paires de bases et perturbe la structure de l'ADN empêchant ainsi sa réplication et sa transcription et par conséquence l'ADN génère des radicaux libres qui sont responsables de sa toxicité générale (Oudard *et al*., 2001). Ses propriétés physico-chimiques sont représentées dans le tableau 4.

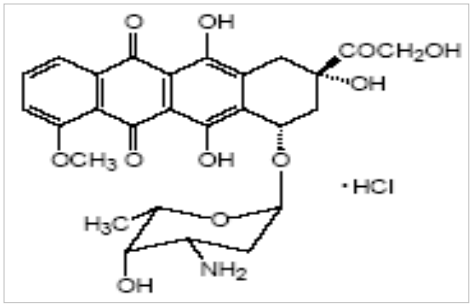

Figure 2. Structure chimique de l'Adriamycine (Luce *et al*, 1999).

Tableau 4 : Propriétés physico-chimiques de l'Adriamycine.

Autre nom	**Doxorubicine chlorhydrique**
Souche bactérienne	Actinomycètes
Couleur	Rouge orangé
Famille	Anthracycline
Classe	Intercalant
Formule chimique	$C_{27}H_{29}NO_{11}$
Poids moléculaire	543,52 g /M
Voies d'administration	Intra péritonéale, Intraveineuse

En chimiothérapie, l'ADR est administrée par voie intraveineuse ou intra péritonéale stricte et se fixe rapidement sur les tissus sous forme active, non métabolisée. Elle est éliminée principalement par voie biliaire sous forme de produit inchangé et de métabolites divers. L'excrétion urinaire est négligeable. Toute modification de la fonction hépatique peut entraîner une augmentation des taux plasmatiques du produit avec un risque important de toxicité accrue (Chauvergne, 2002).

Comme tous les médicaments anticancéreux, l'ADR présente une toxicité qui nécessite un contrôle sévère. Les cellules sanguines (globules blancs et plaquettes) sont toujours atteintes, à un degré variable suivant la dose. La toxicité digestive est fréquente : nausées, vomissements ou diarrhée. Plus rares sont les inflammations de muqueuses, les mucites, d'autant plus fréquentes que l'administration est fractionnée. La chute des cheveux (alopécie) est souvent complète, mais elle est réversible. La toxicité cardiaque est cumulative. Elle justifie une surveillance régulière du cœur, par échographie ou par examen isotopique. Outre cette toxicité aiguë, il existe une toxicité rare, d'induction de leucémie, chez les malades guéris de leur premier cancer par l'anthracycline (cancer du sein en traitement adjuvant) (Chauvergne, 2002).

1.2.1.2. Mode de traitement

Le traitement à l'Adriamycine (Sigma-Aldrich) a été réalisé après dissolution dans l'NaCl (0,9%), la solution a été administrée par voie intra péritonéale à raison de 0,5 ml / rat. Il a été effectué le premier jour de l'expérimentation. La dose d'Adriamycine que nous avons choisi est de **7 mg / kg** de poids corporel. Cette dose induit la cardiotoxicité, l'hépatotoxicité et la néphrotoxicité chez les rats de laboratoire (Vora *et al*., 1996 ; Deman *et al*., 2001 ; Mohamed *et al*., 2004).

1.2.2. Traitement au Lycopène

1.2.2.1. Définition

Le lycopène est un pigment naturel synthétisé par les plantes et les micro-organismes, mais pas par les animaux. Il s'agit d'un caroténoïde n'ayant pas une activité pro vitamine A (Rao et Agarwal, 1999 ; Stahl et Sies, 1996). Il est principalement disponible dans les fruits et les légumes, y compris les tomates, les pastèques, les pamplemousses roses, l'abricot et les goyaves roses. (Rao et Agarwal, 1999 ; Nguyen et Schwartz, 1999). Le lycopène est l'un des plus puissants antioxydants (Rao et Agarwal, 2000) qui captent les radicaux libres, et présente des effets de protection en inhibant les dommages oxydatifs d'ADN (Sendão *et al*., 2006).

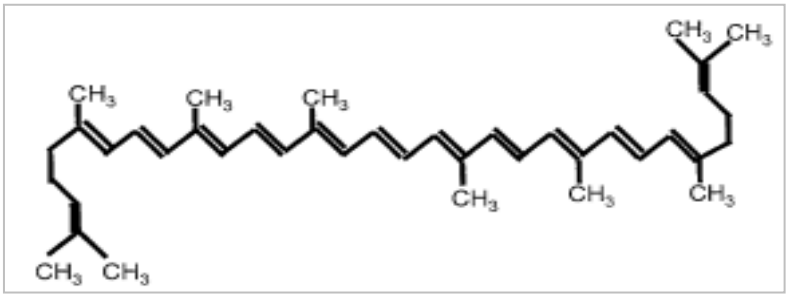

Figure 3. Structure chimique du lycopène (Gupta *et al*., 2003).

Tableau 5 : Propriétés physicochimiques du Lycopène.

Température de fusion	**175 °C**
Famille	Caroténoïdes
Classe	Carotènes
Masse moléculaire	536,87 g/mol
Voie d'administration	Gavage, Intrapéritonéale
Formule chimique	$C_{40}H_{56}$

Le lycopène pourrait être utile pour le traitement d'un certain nombre de cancer (cancer de la prostate) (Kucuk *et al*., 2001 ; Mohanty *et al*., 2005 ; Barber *et al*., 2006), l'hypertension artérielle (Engelhard *et al*., 2006), l'infertilité masculine (Kumar et Gupta, 2001). Le lycopène peut prévenir les maladies du cœur (Aviram et Fuhrman, 1998) et les dommages testiculaires causés par les drogues de chimiothérapie anticancéreuse notamment l'Adriamycine (Atessahin *et al*., 2006).

1.2.2.2. Mode de traitement

Le lycopène (Sigma-Aldrich) a été dissout dans l'huile de mais puis administré par gavage à raison de 100 µl / 100 g de poids vif. Le lycopène est un antioxydant puissant, pouvant être utilisée en traitement aigue ou chronique à des doses variables chez les rats de laboratoires (Yilmaz *et al*., 2006 ; Atessahin *et al*., 2006). Nous avons choisi la dose cumulative de 10 mg / kg de poids corporel. Après 72 heures de l'injection de l'ADR, les rats sont gavés au lycopène (2 mg/kg de poids corporel) chaque jour pendant cinq (5) jours.

1.2.3. Prélèvements

À la fin de la période de traitement, le sacrifice des animaux se fait par décapitation. Une première fraction du sang a été recueillie dans des tubes à hémolyse contenant l'acide éthylène diamine tétraacétique (EDTA) pour la quantification hématologique. Une deuxième fraction sanguine a été récoltée dans des tubes secs pour servir au dosage des paramètres biochimiques sériques. Après dissection, le foie et les reins sont prélevés, pesés en utilisant une balance de précision (SCALTEC SBC 51) puis conservés dans un liquide fixateur, le formaldéhyde dilué à 10%, afin de réaliser les coupes histologiques (Fig. 4).

1.2.4. Hématologie

Les paramètres hématologiques (WBC- globules blancs, RBC- globules rouges, RDW- indice de distribution des globules rouges, Hgb- hémoglobine, HCT- hématocrite, PLT- plaquettes, PCT- plaquettocrite) ont été mesurés à l'aide d'un automate d'hématologie (PCE-210 model 2009 ; Japan).

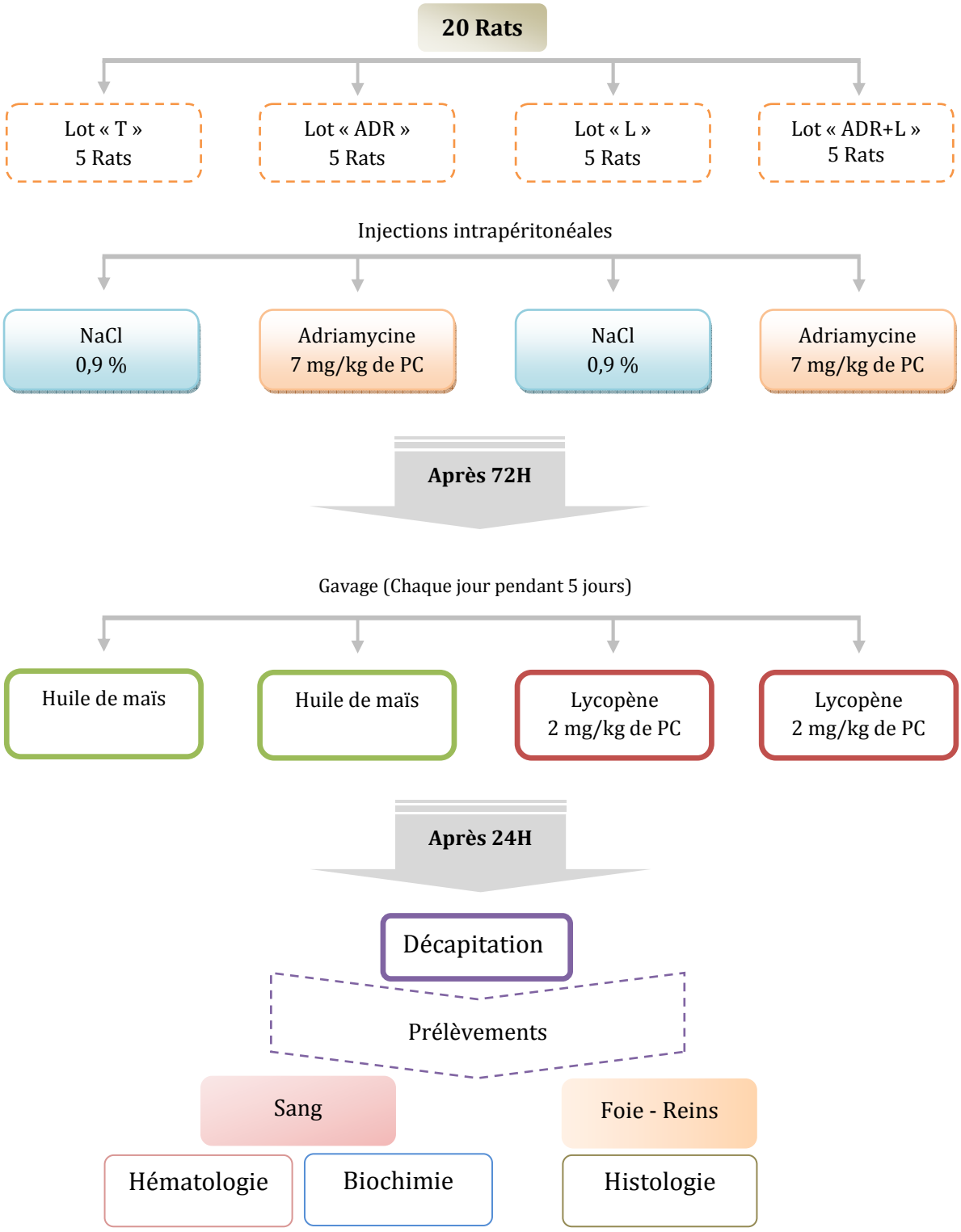

Figure 4. Représentation récapitulative du protocole expérimental.

1.2.5. Dosages biochimiques

1.2.5.1. Dosage du glucose

- **Principe**

Le glucose est mesuré après une oxydation enzymatique en présence de la glucose oxydase. Le peroxyde d'hydrogène formé réagit grâce à l'action catalytique d'une peroxydase, avec du phénol et la 4-aminophénazone pour former un composé rouge violet de quinoneimine qui sert d'indicateur coloré, selon les réactions suivantes (Barham et Trinder, 1972) :

$$\text{Glucose} + O_2 + H_2O \xrightarrow[\text{POD}]{\text{GOD}} \text{acide gluconique} + H_2O_2$$

$$2H_2O_2 + \text{4-aminophénazone} + \text{phénol} \longrightarrow \text{quinoneimine} + 4H_2O$$

- **Mode opératoire**

	Standard	Echantillon	Blanc Réactif
Standard	10 µl	--	--
Echantillon	--	10 µl	--
Réactif	1000 µl	1000 µl	1000 µl

Mélanger, incuber 25 min à 25°C ou alors 10 min à 37°C. Lire l'absorbance optique à 500 nm de l'étalon et de l'échantillon contre le blanc réactif dans les 60 minutes.

- **Calcul de la concentration**

La concentration du glucose sérique est calculée par la formule suivante :

$$\text{Gl (mg/dl)} = \frac{\text{DO Echantillon}}{\text{DO Standard}} \times \text{concentration du standard (mg/dl).}$$

1.2.5.2. Dosage du cholestérol

- **Principe**

Le cholestérol et ses esters sont libérés à partir des lipoprotéines par des détergents. La cholestérol estérase hydrolyse les esters et le H_2O_2 est formé dans la réaction d'oxydation enzymatique du cholestérol sous l'action du cholestérol oxydase. Ce dernier réagit avec le phénol pour produire le quinonéimine, selon les réactions ci-dessous (Trinder, 1969) :

$$\text{Cholestérol ester} + H_2O \xrightarrow[\text{Estérase}]{\text{Cholestérol}} \text{cholestérol} + \text{Acides gras}$$

$$\text{Cholestérol} + O_2 \xrightarrow[\text{Oxydase}]{\text{Cholestérol}} \text{cholestérol-3-n} + H_2O_2$$

$$2\,H_2O_2 + \text{Phénol} + 4\,\text{Aminoantipyrine} \xrightarrow{\text{Peroxydase}} 4\,H_2O + \text{quinonéimine}$$

- **Mode opératoire**

	Blanc	Standard	Echantillon
Standard	-	10 µl	-
Echantillon	-	-	10 µl
Réactif	1000 µl	1000 µl	1000 µl

On mélange à l'aide d'un agitateur et on laisse incuber pendant 10 minutes à 20 - 25°C ou alors 5 minutes à 37°C, puis on lit la densité optique « DO » à 500 nm contre le blanc réactif. La coloration est stable pendant 60 minutes à l'abri de la lumière.

- **Calcul de la concentration**

La concentration du cholestérol sérique est calculée par la formule suivante :

$$\text{Cholestérol (mg/dl)} = \frac{\text{DO Echantillon}}{\text{DO standard}} \times \text{concentration du standard (mg/dl).}$$

1.2.5.3. Dosage des triglycérides

- **Principe**

Les triglycérides sont déterminés après une hydrolyse enzymatique par les lipases. L'indicateur est un quinoneimine formé à partir de l'hydrogène - peroxyde, le 4-aminophenazone et le 4-chlorophenol sous l'influence catalytique de la peroxydase (Tietz, 1990) ; selon les quatre réactions suivantes (Trinder, 1969) :

$$\text{Triglycérides} + H_2O \xrightarrow{\text{Lipases}} \text{glycérol} + \text{acides gras}$$

$$\text{Glycérol} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{GK}} \text{glycérol-3-phosphate} + \text{ADP}$$

$$\text{Glycérol-3 P} + O_2 \xrightarrow{\text{GPO}} \text{Dihydroxyacetone} + \text{P} + H_2O_2$$

$$2\ H_2O_2 + \text{4-aminophenazone} + \text{4-chlorophénol} \xrightarrow{\text{POD}} \text{quinoneimine} + \text{HCl} + H_2O$$

- **Mode opératoire**

	Blanc	Standard	Echantillon
Standard	-	10 µl	-
Echantillon	-	-	10 µl
Réactif	1 ml	1 ml	1 ml

On mélange à l'aide d'un agitateur et on laisse incuber pendant 10 minutes à 20 - 25°C ou alors 5 minutes à 37°C, puis on lit la densité optique « DO » à 500 nm contre le blanc réactif. La coloration est stable pendant 60 minutes à l'abri de la lumière.

- **Calcul de la concentration**

La concentration des triglycérides sériques est calculée par la formule suivante :

$$\text{TG (mg/dl)} = \frac{\text{DO Echantillon}}{\text{DO standard}} \times \text{concentration du standard (mg/dl).}$$

1.2.5.4. Dosage de l'urée

- **Principe**

La méthode est basée sur la réaction suivante (Patton et Crouch, 1977) :

$$\text{Urée} + H_2O \xrightarrow{\text{Uréase}} 2\ NH_3 + CO_2$$

Le salicylate et l'hypochlorite dans le réactif réagissent avec les ions ammoniums pour former un complexe vert (2, 2-dicarboxylindophénol).

- **Mode opératoire**

	Standard	Echantillon	Blanc Réactif
Standard	10 µl	--	--
Echantillon	--	10 µl	--
Réactif de travail	1000 µl	1000 µl	1000 µl
Mélanger, incuber pendant au moins 3minutes à 37°C ou 5 minutes de 20-25°C.			
Hypochlorite de sodium	200 µl	200 µl	200 µl

Mélanger, incuber pendant au moins 5 min à 37°C ou 10 minutes à 20-25°C. Lire l'absorbance optique à 600 nm du standard et de l'échantillon contre le blanc réactif.

- **Calcul de la concentration**

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

$$\text{Ur (mg/dl)} = \frac{\text{DO Echantillon}}{\text{DO Standard}} \text{ x concentration du standard (mg/dl).}$$

1.2.5.5. Dosage de la créatinine

- **Principe**

La créatinine forme en milieu alcalin un complexe coloré avec l'acide picrique. La vitesse de formation de ce complexe est proportionnelle à la concentration de créatinine (Murray, 1984).

- **Mode opératoire**

	Standard	Echantillon	Blanc Réactif
Standard	100 µl	--	--
Echantillon	--	100 µl	--
Réactif de travail	1000 µl	1000 µl	1000 µl

Mélanger et démarrer le chronomètre. Lire l'absorbance (A1) après 30 secondes, et après 90 secondes (A2) de l'addition de l'échantillon à une longueur d'onde de 492 nm. Calculer ΔA = A2 – A1, pour le standard et pour l'échantillon.

- **Calcul de la concentration**

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

$$Cr\ (mg/dl) = \frac{\Delta A(Echantillon) - \Delta A\ (Blanc)}{\Delta A(Standard) - \Delta A\ (Blanc)} \times \text{concentration du standard (mg/dl).}$$

1.2.6. Technique histologique

Le microscope photonique en transmission ne peut fournir d'images que si la préparation à examiner est suffisamment fine pour se laisser traverser partiellement par la lumière. Dans le cas d'objets épais comme par exemple des tissus animaux ou végétaux, il est nécessaire de pratiquer des coupes en leur sein pour les rendre suffisamment transparents. L'épaisseur de ces coupes se situe aux alentours de 7µm. La préparation des coupes histologiques a été effectuée selon les indications de Martoja et Martoja (1967), elle comporte plusieurs étapes :

1.2.6.1. Fixation du matériel

La fixation doit être réalisée le plus tôt et le plus rapidement possible. Se rappeler que plus un échantillon est petit, plus la pénétration des différents milieux se fera facilement. Pour les échantillons protégés par une membrane ou autre penser à l'entailler, pour favoriser la pénétration des différents milieux.

- 24 à 48 H dans le liquide du Bouin, fixateur couramment utilisé. D'autres fixateurs sont aussi utilisés tels que le F.A.A. (formol, alcool, acide acétique).

Préparation du liquide du Bouin :	- solution aqueuse saturée d'acide picrique :	75 ml
	- formol :	20 ml
	- acide acétique :	5 ml

Bien qu'il serve souvent de liquide d'attente, il est déconseillé par Martoja et Martoja (1967) de laisser séjourner les pièces plus de 48 H dans ce fixateur.

1.2.6.2. Liquide d'attente

Après fixation, il peut être nécessaire de différer l'inclusion. Les pièces sont alors conservées dans des mélanges liquides où elles ne pourront se détériorer et dont le choix dépend de la nature du tissu, du mode de fixation et du mode d'inclusion ultérieur. Suivant le liquide utilisé, il est employé directement après le fixateur comme le formol dilué (10%) ou après déshydratation plus ou moins rigoureuse des pièces, comme le butanol, l'essence de cèdre.

1.2.6.3. Déshydratation

La paraffine n'est pas miscible à l'eau, la pièce anatomique doit être entièrement déshydratée avant l'inclusion dans la paraffine. Le fixateur ou le liquide d'attente est éliminé. La pièce est rincée à l'eau distillée, puis déshydratée par l'alcool éthylique à des degrés croissants (70°, 90° et 100°).

La paraffine n'est pas non plus soluble dans l'alcool utilisé pour la déshydratation. On procède donc à une substitution par le toluène renouvelé 3 fois (durée des bains : 30 minutes).

1.2.6.4. Inclusion

La résistance des tissus à la pression de l'instrument coupant n'est pas suffisante et entraîne des détériorations qui rendent inexploitables les observations qui en résultent. C'est pourquoi on pratique une inclusion des tissus préalablement à la coupe.

Le médium utilisé va se substituer à l'eau tissulaire pour augmenter la tenue du bloc à couper. Plusieurs médias peuvent être utilisé : le Collodion, l'Esterwax, les résines Epoxy, gommes, gels de silice, gélatine et bien d'autres. La paraffine, qui existe en plusieurs déclinaisons, est le médium le plus connu et le plus utilisé.

L'inclusion ne se fera de façon satisfaisante que si la pièce à couper ne contient ni eau ni solvant intermédiaire (alcool). Il existe différentes qualités de paraffines qui se différencient par leur point de fusion. Les échantillons sont inclus séparément, en utilisant les barres de Leuckard. Tant que la paraffine est liquide dans le moule, on oriente l'échantillon en fonction des informations recherchées.

1.2.6.5. Coupes et coloration

Les blocs d'inclusions sont collés sur un porte-échantillon, la surface à coller est ramollie au moyen d'une lame métallique chauffée modérément à la flamme, puis posée sur le porte-objet sur lequel le bloc adhère très bien après une légère pression. Les coupes sériées sont réalisées à l'aide d'un microtome (Microtome 2030 Reichert Jung). Ces séries de coupes sont reliées entre

elles sous forme de ruban, ce qui facilite la reconstitution tridimensionnelle des structures observées, l'épaisseur des coupes est de 4 à 7 microns.

Les rubans de coupes obtenus sont collés sur des lames de verre dégraissées, posées sur une platine chauffante (dont la température est inférieure à la température de fusion de la paraffine). La chaleur permet l'étalement des rubans de coupes. Enduire les lames de glycéralbumine, recouvrir d'eau distillée et poser les rubans dessus. Les coupes déparaffinées sont colorées à l'hémalun-éosine. On déshydrate la préparation dans des bains d'alcool et on monte au baume de canada ou à l'eukitt. Enfin, on passe à l'observation au microscope photonique, lequel est équipé d'un appareil photographique.

1.2.7. Analyse statistique des données

Ces calculs ont été effectués à l'aide du logiciel MINITAB d'analyse et de traitement statistique des données (Minitab® 17.1.0.0., Minitab, Ltd., UK). Les résultats sont exprimés en moyenne ± SEM (*Standard Error of the Mean*). Les paramètres pondéraux, hématologiques et biochimiques ont été traités à l'aide d'une analyse de variance (ANOVA) à un critère de classification, suivie d'un test post-hoc de Tukey si nécessaire. Les valeurs de $P \leq 0,05$ sont considérées significatives.

2. RESULTATS

2.1. VARIATION DU POIDS CORPOREL

L'évolution pondérale a montré qu'il y a une perte significative du poids chez les rats traités à l'ADR ($p<0,001$) et une réduction significative de la prise pondérale chez les animaux du groupe ADR+L ($p<0,001$) comparativement aux contrôles. Les animaux des groupes L et ADR+L prennent significativement du poids ($p<0,001$) par rapport à ceux du groupe ADR, bien que cette prise pondérale soit minime chez les rats appartenant au groupe ADR+L ($p<0,001$) comparativement à ceux recevant le lycopène seulement (Fig. 5).

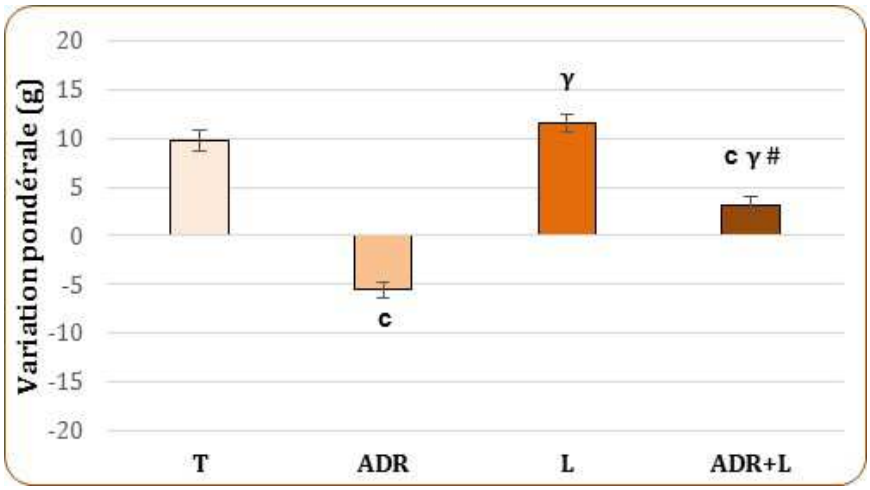

Figure 5. Variation pondérale (g) chez les rats témoins et traités. Les données sont représentées en moyenne ± SEM (n=5). T (Témoin) ; ADR (Adriamycine) ; L (Lycopène). c $p<0,001$ *vs* T. γ $p<0,001$ *vs* ADR. # $p<0,001$ *vs* L.

2.2. VARIATION DES POIDS DES ORGANES

Les poids absolu et relatif du foie diminuent non significativement chez les animaux des groupes ADR et L comparativement aux contrôles. Toutefois, ils augmentent significativement chez les rats du groupe ADR+L ($p<0,001$) comparativement à ceux traités au lycopène (Fig. 6).

Les poids absolu et relatif des reins diminuent significativement chez les animaux du groupe L comparativement aux témoins ($p<0,05$) et aux rats recevant l'ADR ($p<0,001$). Chez les rats du groupe ADR+L, le poids absolu des reins diminue significativement par rapport aux animaux du groupe ADR ($p<0,01$) et augmente significativement comparativement à ceux du groupe L ($p<0,001$). En outre, le poids relatif rénal diminue significativement chez les rats ADR+L par rapport aux groupes T et ADR ($p<0,05$; Fig. 6).

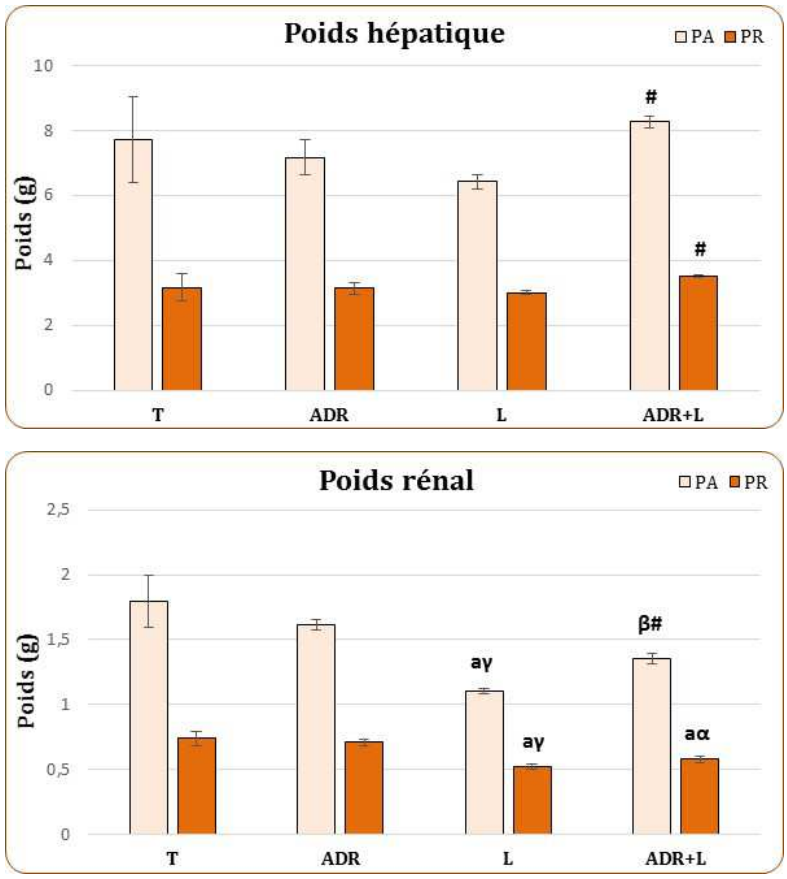

Figure 6. Variation des poids absolu et relatif du foie et des reins chez les rats témoins et traités. Les données sont représentées en moyenne ± SEM (n=5). T (Témoin) ; ADR (Adriamycine) ; L (Lycopène). a $p<0,05$ *vs* T. α $p<0,05$; β<0,01 et γ $p<0,001$ *vs* ADR. # $p<0,001$ *vs* L.

2.3. VARIATION DES PARAMETRES BIOCHIMIQUES

La concentration sérique en glucose et en triglycérides augmente significativement chez les rats de tous les groupes traités (ADR, L et ADR+L ; $p<0,001$) comparativement aux témoins. En outre, la glycémie diminue significativement chez les rats des groupes L et ADR+L ($p<0,001$ et $p<0,01$ respectivement) par rapport à ceux du groupe ADR. Cependant, elle augmente significativement chez les animaux du groupe ADR+L comparativement à ceux traité au lycopène (Fig. 7).

La concentration sérique en triglycérides augmente significativement chez les rats du groupe ADR+L ($p<0,05$) par rapport à ceux des groupes ADR et L (Fig. 7).

La concentration sérique en cholestérol augmente significativement chez les rats des groupes ADR et L ($p<0,001$ et $p<0,05$ respectivement) par rapport aux témoins. Par ailleurs, elle diminue significativement chez les animaux du groupe ADR+L ($p<0,05$) comparativement à ceux recevant l'ADR (Fig. 7).

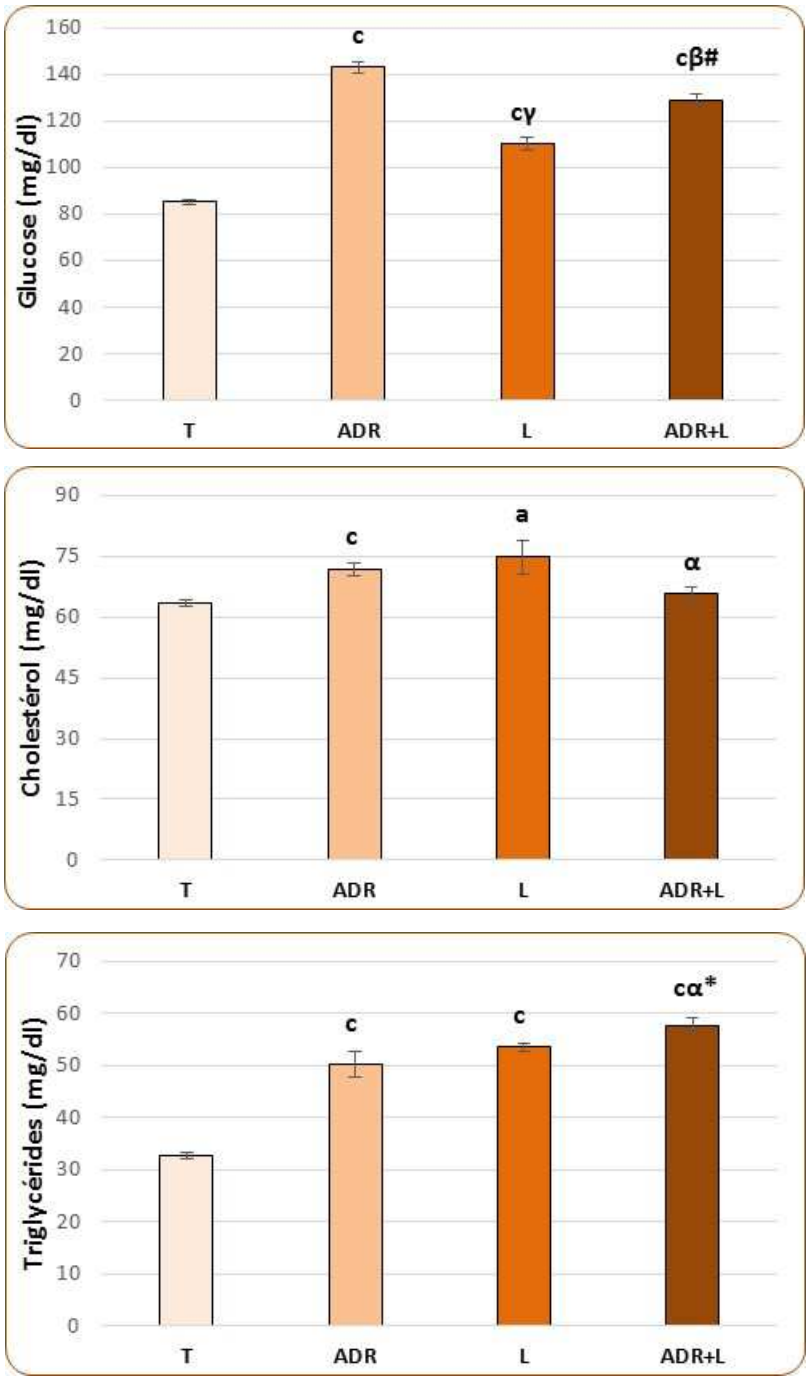

Figure 7. Variation de la concentration de glucose, cholestérol et triglycérides sériques chez les rats témoins et traités. Les données sont représentées en moyenne ± SEM (n=5). T (Témoin) ; ADR (Adriamycine) ; L (Lycopène). a $p<0,05$ et c $p<0,001$ *vs* T. α $p<0,05$; β$<0,01$ et γ $p<0,001$ *vs* ADR. * $p<0,05$ et # $p<0,001$ *vs* L.

La concentration sérique de l'urée augmente significativement chez les rats de tous les groupes traités (ADR, L et ADR+L) par rapport aux contrôles ($p<0,001$, $p<0,01$ et $p<0,001$ respectivement). Par ailleurs, l'urée augmente significativement chez les rats du groupe ADR+L ($p<0,001$) comparativement à ceux des groupes ADR et L (Fig. 8).

Toutefois, la concentration sérique en créatinine diminue significativement chez les rats de tous les groupes traités (ADR, L et ADR+L ; p<0,001) par rapport aux témoins. De plus, les animaux des groupes L et ADR+L, ont montré une baisse de la créatininémie (p<0,001) comparativement à ceux traité à l'ADR (Fig. 8).

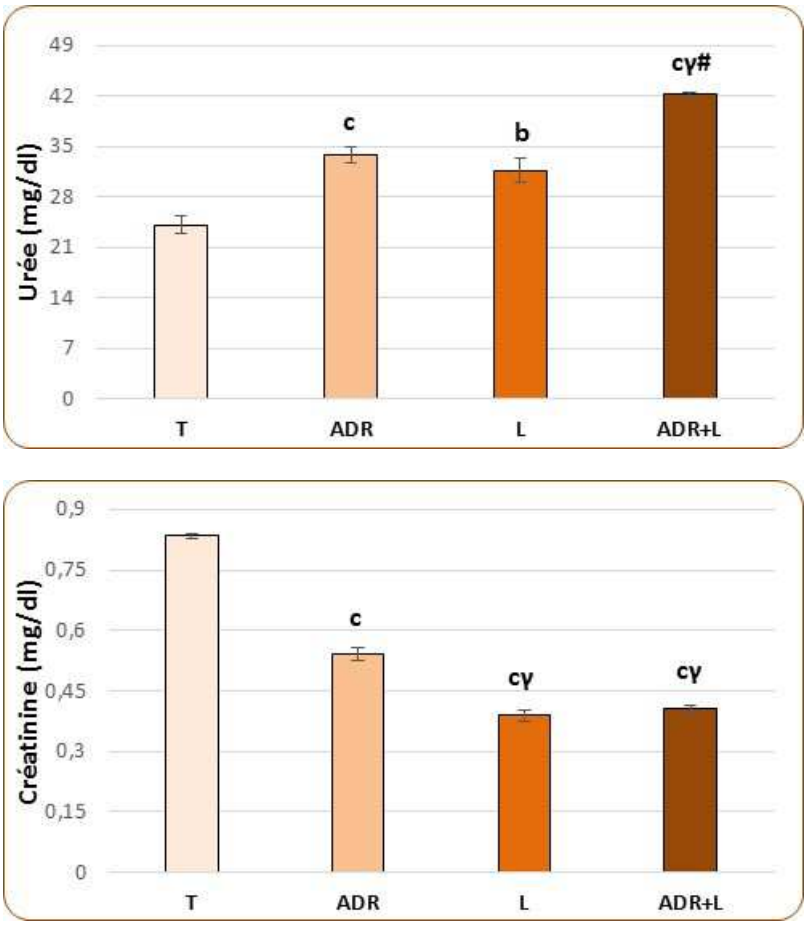

Figure 8. Variation de la concentration de l'urée et de la créatinine sériques chez les rats témoins et traités. Les données sont représentées en moyenne ± SEM (n=5). T (Témoin) ; ADR (Adriamycine) ; L (Lycopène). b p<0,01 et c p<0,001 *vs* T. γ p<0,001 *vs* ADR. # p<0,001 *vs* L.

2.4. VARIATION DES PARAMETRES HEMATOLOGIQUES

L'ADR injectée aux rats à raison de 7 mg/kg de poids corporel a provoqué une déplétion du nombre de globules blancs totaux (p<0,001) comparativement aux témoins. La supplémentation orale du lycopène chez les rats prétraités au véhicule ou à l'ADR rétablit significativement le nombre de leucocytes totaux (p<0,001) par rapport aux animaux recevant l'ADR, bien que cette restauration soit plus importante (p<0,01) chez les rats du groupe ADR+L comparativement à ceux du groupe L (Fig. 9).

L'ADR réduit significativement le taux d'hémoglobine ($p<0,01$) par rapport aux contrôles. La supplémentation du lycopène chez les rats prétraités au véhicule ou à l'ADR augmente significativement le nombre de globules rouges ($p<0,05$ et $p<0,01$ respectivement) et le taux d'hémoglobine ($p<0,01$) comparativement aux animaux du groupe ADR. L'hématocrite décroit significativement chez les rats des groupes ADR et ADR+L ($p<0,05$) par rapport aux témoins. L'indice de distribution des globules rouges diminue significativement (RDW ; $p<0,01$) chez les rats du groupe ADR+L par rapport à ceux du groupes T et L. L'injection d'ADR réduit significativement le taux de plaquettes ($p<0,001$) en comparaison aux contrôles. Le lycopène administré chez les rats des groupes L et ADR+L augmente significativement le taux de plaquettes ($p<0,001$ et $p<0,01$ respectivement) comparativement aux animaux du groupe ADR (Fig. 9).

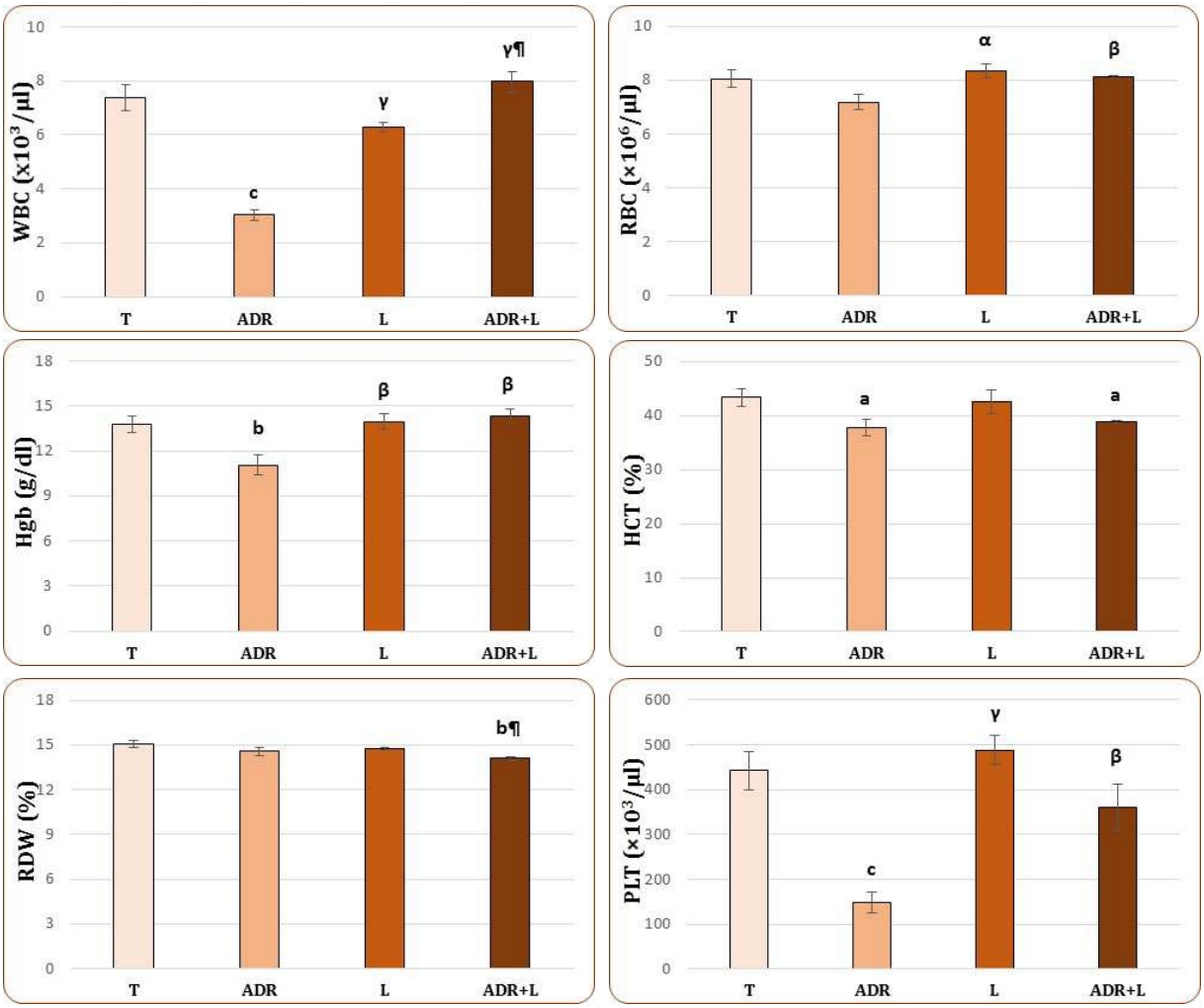

Figure 9. Variation des paramètres hématologiques chez les rats témoins et traités. Les données sont représentées en moyenne ± SEM (n=5). T (Témoin) ; ADR (Adriamycine) ; L (Lycopène). a $p<0,05$; b $p<0,01$; c $p<0,001$ *vs* C. α $p<0,05$; β $p<0,01$; γ $p<0,001$ *vs* ADR. ¶ $p<0,01$ *vs* L.

2.4. HISTOLOGIE HEPATIQUE

La figure 10 (a, A) montre des coupes histologiques du foie d'un rat témoin. Le tissu hépatique est de morphologie normale présentant des lobules hépatiques traversés par des espaces portes contenant une veine porte, une artère hépatique et un canal biliaire. Chaque lobule est irrigué par une veine centrale bien différenciée. Les hépatocytes ont une structure plutôt polygonale, avec un noyau bien visible, traversées par des sinusoïdes. Le tissu hépatique des rats traités à l'ADR présente des lésions élémentaires avec ballonisation des hépatocytes et clarification cytoplasmique. Par ailleurs, une congestion vasculaire des veines centrolobulaires a été signalée (Fig. 10b, B). Le parenchyme hépatique des rats traités au lycopène est de morphologie régulière, semblable à celui du témoin, avec des travées hépatocytaires radiairement orientées (Fig. 10c, C). Le tissu hépatique des rats du groupe ADR+L présente des structures hépatocytaires conservées avec une dilatation vasculaire des veines centrales et une dilatation sinusoïdale (Fig. 10d, D).

2.5. HISTOLOGIE RENALE

La figure 11 (a, A) montre des coupes histologiques des reins d'un rat témoin. Le parenchyme rénal est de morphologie normale présentant glomérules entourés par la capsule de Bowman. Les artérioles afférente et efférente sont bien différenciées. Les tubes contournés distal et proximal sont d'une structure homogène. L'histologie rénale des rats traités à l'ADR présente une congestion glomérulaire avec augmentation de l'espace de Bowman. Par ailleurs, ce traitement provoque une dégénérescence et une dilatation de tous les types des tubules rénaux (Tubes contournés distaux et proximaux, et les tubes collecteurs) et congestion vasculaire avec infiltrat inflammatoire d'intensité modérée (Fig. 11b, B). Le parenchyme rénal des rats traités au lycopène est de morphologie régulière, semblable à celui du témoin, avec des glomérules d'aspect normal et des tubules rénaux bien différenciés (Fig. 11c, C). Le tissu rénal des rats du groupe ADR+L présente une morphologie d'ensemble conservée avec une minime congestion glomérulaire, une diminution de l'espace de Bowman et une minime dégénérescence tubulaire comparativement au tissu rénal des rats traités à l'ADR (Fig. 11d, D).

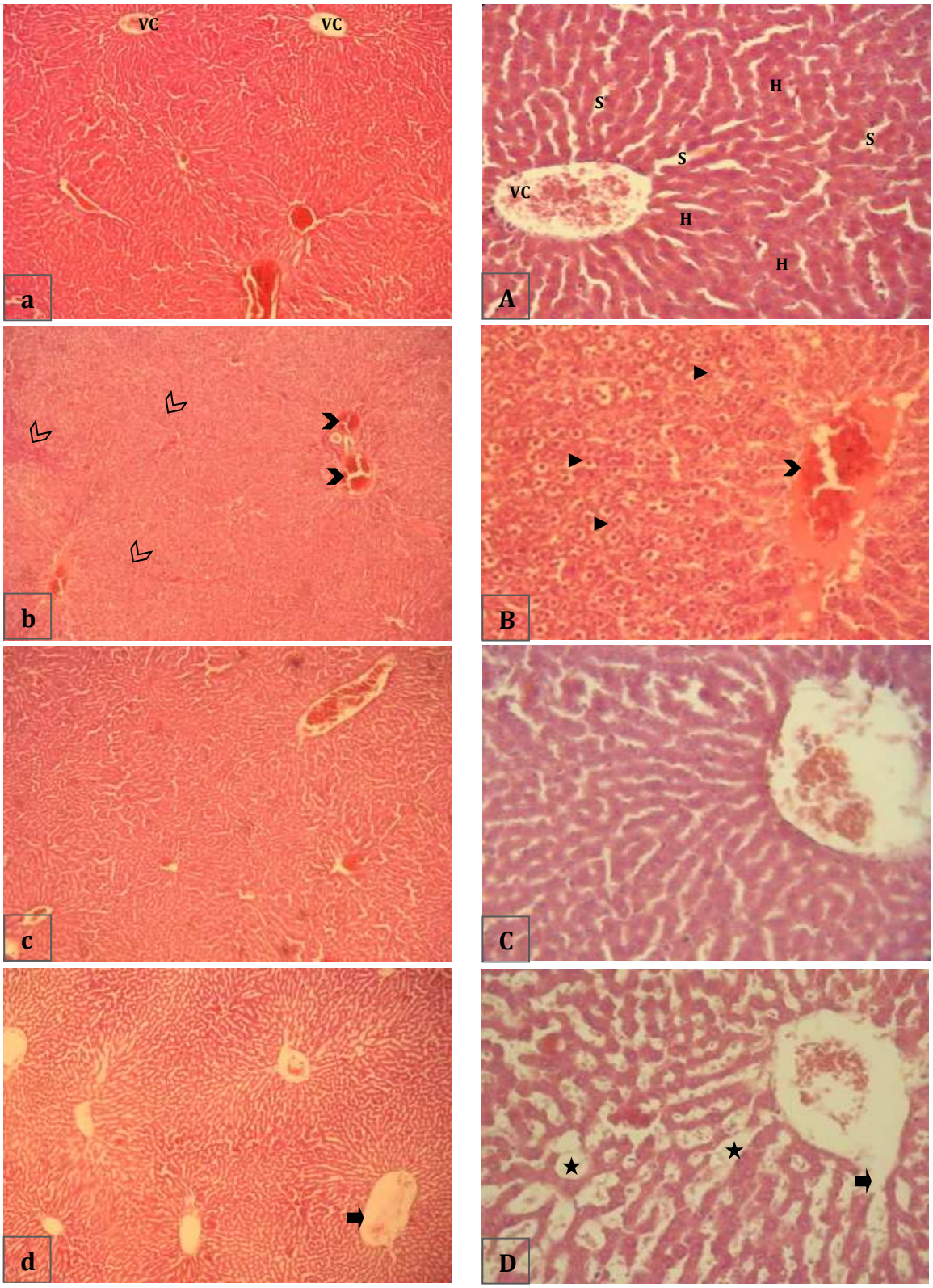

Figure 10. Observations microscopiques des coupes histologiques du foie des rats. (a et A) : groupe T ; (b et B) : groupe ADR ; (c et C) : groupe L ; (d t D) : groupe ADR+L. VC : Veine centrolobulaire. H : Hépatocytes. S : Sinusoïdes. (➢): Congestion vasculaire. (≫) : Lésions élémentaires du tissus hépatique. (▶) : Clarification cytoplasmique et ballonisation des hépatocytes. (➧) : Dilatation vasculaire. (★) : Dilatation sinusoïdale. (a, b, c et d ; G×100). (A, B, C et D ; G×400).

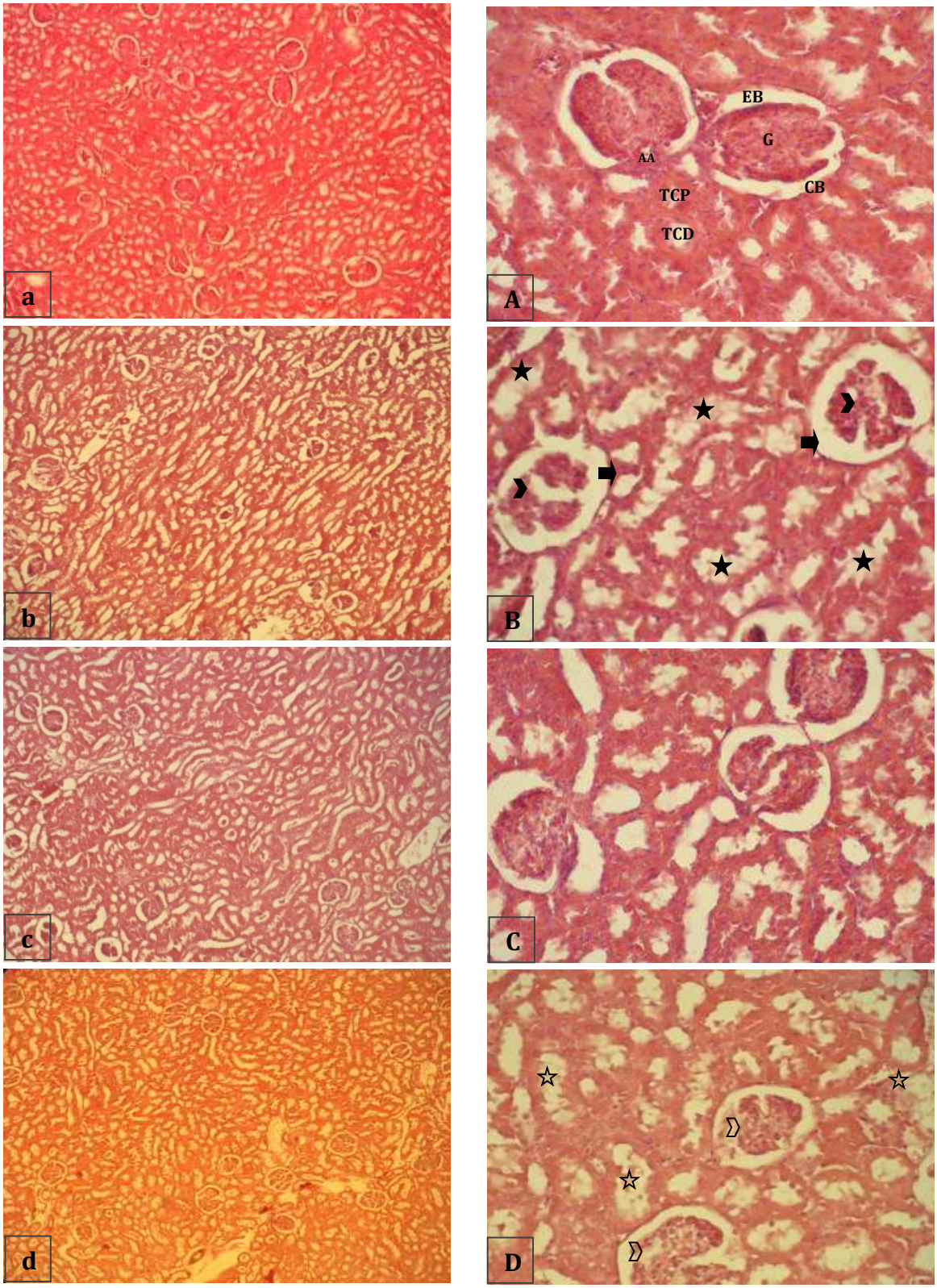

Figure 11. Observations microscopiques des coupes histologiques des reins des rats. (a et A) : groupe T ; (b et B) : groupe ADR ; (c et C) : groupe L ; (d t D) : groupe ADR+L. AA : Artériole afférente. CB : Capsule de Bowman. EB : Espace de Bowman. G : Glomérule. TCD : Tube contourné distal. TCP : Tube contourné proximal. (❯) : Congestion glomérulaire. (➡) : Augmentation de l'espace de Bowman. (★) : Dégénérescence tubulaire. (❩) : Minime congestion glomérulaire. (☆) : Minime dégénérescence tubulaire. (a, b, c et d ; G×100). (A, B, C et D ; G×400).

3. DISCUSSION

Les médicaments chimiothérapeutiques s'attaquent non seulement aux cellules cancéreuses mais ils agissent également sur certaines cellules saines, notamment les cellules du tube digestif, les cellules à l'origine des poils et des cheveux ou les cellules de la moelle osseuse qui fabriquent les globules du sang (globules rouges, globules blancs). C'est la raison pour laquelle la chimiothérapie entraîne des effets secondaires comme des nausées, vomissements, mucite buccale, diarrhée ou constipation, perte temporaire des cheveux, fatigue, perturbation du cycle menstruel, baisse des globules du sang (Doroshow *et al*., 1978 ; Ménard *et al*., 2008).

Le traitement à l'ADR provoque une perte pondérale considérable, et aucun changement significatif concernant le poids du foie et du rein comparativement aux témoins. Une seule injection intrapéritonéale d'ADR à 7 mg/kg de poids corporel a diminué la prise pondérale 24h, 48h et 72h après traitement, avec une perte plus significative à 24h (Merzoug *et al*., 2011). Une exposition des animaux à une dose cumulée d'ADR (8 mg/kg) à un intervalle de 24 h au 5ème, 6ème et 7ème jour, a provoqué une légère diminution du poids corporel, ce qui n'a pas été significative par rapport au groupe témoin (Robert, 2007). Une autre étude a montré qu'une seule injection d'ADR par voie intrapéritonéale a induit une diminution significative du poids corporel au 10ème jour, sans aucun effet significatif sur le poids du foie (Robert, 2007). La supplémentation du lycopène a considérablement rétabli la perte pondérale observée chez les rats traités à l'ADR. Diverses investigations ont noté le rôle du lycopène dans l'amélioration de l'évolution pondérale chez des animaux diabétiques (Kuhad et Chopra, 2008 ; Kuhad *et al*., 2008).

Une seule injection d'ADR a induit une élévation de la concentration du glucose, du cholestérol, des triglycérides et de l'urée, toutefois, elle a provoqué une déplétion du taux de la créatinine en comparaison aux témoins. Il a été noté que l'ADR augmente les concentrations sériques du cholestérol total, des triglycérides et du cholestérol-LDL chez les rats (Siveski-Iliskovic et Singal, 1997), induisant probablement des cardiomyopathies (Abdel-aleem *et al*., 1997). La concentration sérique de l'acide urique peut augmenter pendant le traitement chimiothérapeutique. L'ADR peut induire une hyperuricémie qui peut provoquer une goutte aigue ou une néphropathie d'urate après la lyse de la tumeur (Anonyme #6, 2014). L'ADR est le modèle expérimental animal du syndrome néphrotique. Ses changements pathologiques précoces sont principalement des lésions podocytes et des lésions tubulo-interstitielles, de plus, une lésion rénale a été signalée comme une partie du syndrome toxique induit par l'ADR (O'Donnell *et al*., 1985). L'administration de l'ADR chez les rats induit un syndrome néphropathique, qui est caractérisée par une protéinurie, hypoprotéinémie et hyperlipidémie

(Desassis *et al*., 1997). Des injections intraveineuses (aux jours 0,14 et 28) d'ADR à 2 mg/kg de poids corporel chez des rats néphropathique, ont démontré une hyperprotéinurie (couplé à une hypoprotéinémie), une hypercréatininémie et une augmentation de l'excrétion urinaire du glucose, d'urée et d'acide urique. Normalement, le rein excrète la créatinine et seulement une faible quantité de protéines de faible poids moléculaire traversant le glomérule, alors que le glucose, l'urée et l'acide urique sont réabsorbés par le tubule proximal (Viau et Tardif, 2003). Une augmentation du glucose urinaire, d'urée, et des niveaux d'acide urique indiquent l'altération de la réabsorption tubulaire (Frey *et al*., 2001 ; Koshikawa *et al*., 2005).

La supplémentation du lycopène chez les rats traités à l'ADR a diminué la concentration de glucose, de cholestérol et de créatinine, tandis qu'elle a augmenté le taux des triglycérides et de l'urée comparativement aux animaux traités à l'ADR. La propriété hypoglycémiante du lycopène a été largement étudiée principalement chez les animaux diabétiques (Kuhad et Chopra, 2008), associée à une amélioration du profil lipidique (Ali et Agha, 2009). Un effet inhibiteur du lycopène sur la synthèse du cholestérol et une augmentation de la captation des LDL, probablement secondaire à cette inhibition, ont été rapportés *in vitro* sur une lignée cellulaire macrophagique (Fuhrman *et al*., 1997). Ce double effet serait en faveur des propriétés hypocholestérolémiantes. Les auteurs confirment ces résultats en montrant que des sujets recevant 60 mg/j de lycopène pendant 3 mois présentent un cholestérol-LDL abaissé. En revanche, Collins *et al*. (2004) montrent que chez des sujets recevant 20 mg/j de lycopène, pendant 3 semaines, apportés soit par la tomate, soit par la pastèque, le cholestérol total et le cholestérol-HDL ne sont pas modifiés, ce qui indique probablement que le cholestérol-LDL n'est pas abaissé. D'autres études ont indiqué l'implication du lycopène dans la réduction des taux d'urée et de créatinine plasmatiques chez des rats recevant la cyclosporine A (Atessahin *et al*., 2007).

Les agents chimiothérapeutiques ont une activité myélosuppressive, affectant les cellules de la moelle osseuse (Jenkins et Freeman, 2009). Par ailleurs, la propriété immunosuppressive de ces agents résulte de la déplétion du nombre de lymphocytes B et T, induisant l'altération de la réponse immunitaire (Steele, 2002). Récemment, il a été noté que les anthracyclines accroissent la fréquence de myélotoxicité et des infections (Debled *et al*., 2007). Nos résultats ont révélé que l'ADR a provoqué une perturbation des paramètres hématologiques chez les rats. En effet, nous avons noté une réduction du nombre de globules blancs totaux. La lymphopénie liée au traitement d'ADR peut être due à l'élimination des précurseurs de lymphocytes et la destruction de la population lymphocytaire mature, conduisant à une défaillance immunitaire (Steele, 2002). Une augmentation des monocytes a été observée après traitement aux agents

cytotoxiques antinéoplasiques *in vivo*, contribuant à l'immunosuppression des cellules T à travers la production de facteurs inhibant ses fonctions (Ageitos *et al*., 1999 ; Mackall, 2000). La granulocytopénie associée au traitement chimiothérapeutique accroit le risque des infections bactériennes, virales et fongiques (Tsang *et al*., 2007).

Le traitement à l'ADR provoque une dépression de la moelle osseuse prononcée avec une leucopénie périphérique (granulocytopénie), une thrombocytopénie et une anémie possible (Bonadonna *et al*., 1985). Des études sur des animaux de laboratoire ont permis d'enregistrer une variété de réponses chez plusieurs espèces. En effet, chez la souris, l'ADR a induit une hématotoxicité, décrivant une leucopénie (neutropénie et lymphopénie) et une thrombocytopénie, en association avec la réduction du nombre des globules rouges, de l'hémoglobine et l'hématocrite (Duncan *et al*., 1998 ; Schurig *et al*., 1973). Chez le rat, une leucopénie et une neutropénie sont rapporté, avec des valeurs d'hématocrite abaissées (Duncan *et al*., 1998 ; Working et Dayan 1996). Chez le lapin, la leucopénie et la neutropénie sont décrits, avec des valeurs réduites de globules rouges, de l'hémoglobine et l'hématocrite (anémie), et une thrombocytopénie (Bertazzoli *et al*., 1972 ; Klimatova *et al*., 2000 ; Van vleet et Ferrancs 1980a).

L'évaluation des paramètres hématologiques nous a permis de distinguer que le lycopène a rétabli la diminution des leucocytes totaux, de globules rouges, de l'hémoglobine, du nombre de plaquettes et de la plaquettocrite enregistrée chez les rats traités à l'ADR. L'activité antioxydante des caroténoïdes prévient les dommages du stress oxydant et améliore ainsi la réponse immunitaire (Hughes, 1999). Des études antérieures ont montré que la consommation des jus de carottes et de tomates (i.e. une consommation légère de caroténoïdes) chez les hommes augmente la prolifération lymphocytaire, l'activité cytotoxique des cellules naturelles tueuses et la production de cytokines (IL-2 et TNF-α) (Watzl *et al*., 1999 ; 2003). Cependant, aucun de ces effets n'a été observé en utilisant un extrait de tomate (Briviba *et al*., 2004). Le lycopène peut améliorer la fonction immunitaire des rats atteints d'un cancer gastrique à travers l'augmentation du niveau de certaines cytokines (IL-2, IL-4, IL-10 et TNF-α) et immunoglobulines (IgA, IgG et IgM) sanguines, et la réduction du taux sanguin d'IL-6 (Luo et Wu, 2011). Palozza *et al*. (2011) suggèrent que l'influence du lycopène sur le système immunitaire peut être due à sa capacité à moduler l'environnement redox cellulaire et l'interaction intercellulaire et/ou réguler les facteurs de transcription des gènes codant pour des protéines à activité anti-inflammatoire.

D'après les coupes histologiques au niveau du foie, l'ADR a induit une congestion vasculaire associée à une ballonisation des hépatocytes avec clarification cytoplasmique. Au niveau rénal, ce traitement a provoqué une congestion glomérulaire avec augmentation de

l'espace de Bowman ainsi qu'une dégénérescence tubulaire. L'étude histologique chez des rats traités par une seule injection intraveineuse d'ADR à 7,5 mg/kg de poids corporel a révélé un parenchyme hépatique avec un entassement hépatocytaire et une congestion vasculaire, étant probablement due à l'insuffisance cardiaque congestive (Deepa et Varalakshmi, 2003). Par ailleurs, cette même dose a produit des lésions tubulo-interstitielles rénales répandues, ainsi qu'une dilatation tubulaire avec des cellules aplaties ou détachées, et présence d'infiltrats inflammatoires (Nakayama *et al*., 2000). Une autre étude a démontré qu'une injection intraveineuse d'une dose de 1mg/kg de poids corporel, une fois par semaine durant 12 semaines, induit une nécrose tubulaire rénale (Malarkodi *et al*., 2003). L'administration du lycopène chez les rats prétraités à l'ADR a considérablement rétabli l'architecture des hépatocytes, cependant, une dilatation vasculaire et sinusoïdale a été enregistrée. De plus, elle a remarquablement amélioré la dégénérescence tubulaire et la congestion glomérulaire observées au niveau du tissu rénal des rats recevant l'ADR. Plusieurs investigations ont soulevé les capacités du lycopène à réduire les néphropathies toxiques liées à l'ADR (Yilmaz et al., 2006), au chlorure de mercure (Augusti et al., 2007) et à la cyclosporine A (Atessahin et al., 2007).

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Dans la présente étude, nous avons montré que l'exposition aigue à une dose moyenne d'ADR (7mg/kg de poids corporel), chez des rats mâles adultes de la souche Wistar, provoque l'apparition d'altérations biochimique et hématologique avec des détériorations histologiques hépatiques et rénales. Le profile biochimique indique une augmentation du glucose, du cholestérol, des triglycérides et de l'urée, et une déplétion de la créatinine. Le déficit hématologique est détecté par la réduction du nombre de leucocytes totaux, une baisse du taux de l'hémoglobine et des plaquettes. Les modifications du tissu hépatique englobent des lésions élémentaires du parenchyme, la ballonisation et la clarification cytoplasmique des hépatocytes et la congestion vasculaire. L'histopathologie rénale inclut la congestion glomérulaire, l'augmentation de l'espace de Bowman et la dégénérescence tubulaire. Par ailleurs, l'administration d'un antioxydant (lycopène) atténue les désordres biochimique et hématologique et améliore les détériorations tissulaires hépatique et rénale.

A partir de ces résultats, il serait intéressant de dégager les perspectives suivantes :

- ✓ Evaluer les effets d'une exposition subaigüe et chronique à l'ADR sur la biochimie, l'hématologie et l'histopathologie de divers organes.
- ✓ Apprécier les effets d'une exposition aigue, subaigüe et chronique à l'ADR chez des rats femelles et leur progéniture.
- ✓ Etablir une vue d'ensemble sur les perturbations endocrinienne et enzymatique relatives aux troubles histopathologiques provoqués par les agents chimiothérapeutiques.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abdel-aleem S, el-Merzabani MM, Sayed-Ahmed M, Taylor DA, Lowe JE. Acute and chronic effects of adriamycin on fatty acid oxidation in isolated cardiac myocytes. J. Mol. Cell. Cardiol. 1997;29:789–797.

Agarwal S, Rao A. Tomato lycopene and its role in human health and chronic diseases. CMAJ. 2000;163(6):739-744.

Ageitos AG, Varney ML, Bierman PJ, Vose JM, Warkentin PI, Talmadge JE. Comparison of monocyte-dependent T cell inhibitory activity in GM-CSF vs G-CSF mobilized PSC products. Bone Marrow Transplant 1999;23:63-69.

Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. Molecular biology of the cell, 4th. New York: Garland Science 2002;1616 p.

Ali MM, Agha FG. Amelioration of streptozotocin-induced diabetes mellitus, oxidative stress and dyslipidemia in rats by tomato extract lycopene. Scand J Clin Lab Invest. 2009;69(3):371-379.

AL-Shabanach OA, Badary OA, Nagi MN, AL-Gharably NM, AL-Rikibi AC, AL-Bekairi AM. J. exp. Clin. cancer Res. 1998 ; 17 :193-8.

Anderson RD, Veigl ML, Baxter J, Sedwick WD. DNA Sequence Specificity of doxorubicin-induced mutational damage in uvr B-Escherichia coli. Cancer Res. 1991;51(15):3930-3937.

Anonyme #6 (2014) Résumé des caractéristiques du produit «Doxorubicine Accord Healthcare. 2 mg/ml solution à diluer pour perfusion». https://www.google.dz/?gws_rd=cr,ssl&ei=9JA9V9OvDoyVaNvqoOAB#q=R%C3%89SUM%C3%89+DES+CARACT%C3%89RISTIQUES+DU+PRODUIT+1.+D%C3%89NOMINATION+DU+M%C3%89DICAMENT+Doxorubicin+Accord+Healthcare+2+mg%2Fml+solution+%C3%A0+diluer+pour+perfusion

Anonyme#1 (2014). Monographie du produit « Adriamycine ». http://www.pfizer.ca/sites/g/files/g10017036/f/201410/adriamycin-non-annotated-pm-174734-F.pdf.

Anonyme#2 (2004). La chimiothérapie: Guide pratique. Société canadienne du cancer. http://rsfsv2.paquet.ca/opFichier/la-chimiotherapie-b2NYclLeRrKI-6701.pdf.

Anonyme#3 (2008) Lycopène. Source: Planticinal; confort et bien être. http://planticinal.com/documents/doc_36.pdf?PHPSESSID=94986dd813934272d2053455c1255bbd

Anonyme#4 (2016) Analyse des caroténoïdes. http://www.qualtech-groupe.com/wp-content/uploads/2015/06/Cahier-de-paillasse_carot%C3%A9no%C3%AFdes-FR.pdf

Anonyme#5 (2016) Le lycopène : un puissant antioxydant, laboratoire Yves Ponroy. https://www.ponroy.com/plantes/L/le-lycopene.pdf

Arcamon F, Cassinelli G, Fantini G, Grein A, Orezzi P, Pol C, Spalla C. Adriamycin, 14-hydroxydaunomycin, a new antitumor antibiotic form S. peucetins var. Caesius. Biotechnol bioeng. 1969;11(6):1101-1110.

Aries A, Paradis P, Lefebvre C, Schwartz R, Nemer M. Essential roleof GATA-4 in cell survival and drug-induced cardiotoxicity ». Proc Natl Acad Sci USA. 2004;101(18):6975-6980.

Association pour la Recherche sur le Cancer [ARC] (2009). Brochures sur les traitements chimiothérapeutiques. http://www.santepratique.fr/chimiotherapie-arc.php

Atessahin A, Ceribasi AO, Yilmaz, S. Lycopene, a carotenoid, attenuates cyclosporine-induced renal dysfunction and oxidative stress in rats. Basic Clin. Pharmacol. Toxicol. 2007;100:372-376.

Atessahin A, Turk G, Karahan I. Lycopene prevents adriamycin-induced testicular toxicity in rats. Fertil Steril. 2006;85(1):1216-22.

Augusti PR, Conterato GM, Somacal S, Einsfeld L, Ramos AT, Hosomi FY, et al. Effect of Lycopene on Nephrotoxicity Induced by Mercuric Chloride in Rats. Basic Clin Pharmacol Toxicol. 2007;100(6):398-402.

Aviram M, Fuhrman B. LDL oxidation by arterial wall macrophages depends on the oxidative status in the lipoprotein and in the cells: role of prooxidants vs antioxidants. Mol Cell Biochem. 1998;188:149-159.

Badary OA, Abdlel-Naim AB, Abdel-wahab MH, Hamada FMA. Toxicology 2000; 143: 219-226.

Baker HJ, Lindsey JR, Weisbroth SH (eds). The laboratory Rat, Vol. II, Research Application. Academic Press. New York, NY; 1980.

Barber NJ, Zhang X, Zhu G. Lycopene inhibits DNA synthesis in primary prostate epithelial cells in vitro and its administration is associated with a reduced prostate-specific antigen velocity in a phase II clinical study. Prostate Cancer Prostatic Dis. 2006;9(4):407-413.

Barham D, Trinder P. An improved colour reagent for the determination of blood glucose by the oxidase system. Analyst 1972;97: 142-145.

Barthwal R, Mujeeb A, Govil G. Interaction of daunomycin with deoxydinucleotide d-CpG by two-dimensional proton magnetic resonance techniques. Arch. Biochem. Biophys. 1994;313(2): 189-205.

Belhoussine R, Morjani H, Millot JM, Sharonov S, Manfait M. Confocal scanning microspectrofluoromertry reveals spectific anthracycline accumulation in cytoplasmic organelles of multidrug-resistant cancer cells. J. Histochlem. Cytochem. 1998;46(12):1369-1376.

Bertazzoli C, Chieli T, Ferni G, Ricevuti G, Solcia E. Chronic toxicity of adriamycin: a new antineoplastic antibiotic. Toxicol. Appl. Pharmacol. 1972; 21:287–301.

Bonadonna G, Monfardini S, De Lena M, Fossati-Bellani F. Clinical evaluation of adriamycin, a new antitumour antibiotic. Br. Med. J. 1969;3:503–506.

Booser DJ, Hortorbagyi GN. Anthracycline antibiotics in cancer therapy. Focus on drug resistance. Drugs 1994;47(2):223-258.

Brenner DE, Galloway S, Cooper J, Noone R, Hande KR. Improved high-performance liquid chromatography assay of doxorubicin: detection of circulating aglycones in human plasma and comparison with thin-layer chromatography. Cancer Chemother. Pharmacol. 1985 ;14(2):139-145.

Briviba K, Kulling SE, Moseneder J, Watzl B, Rechkemmer G, Bub A. Effects of supplementing a low-carotenoid diet with a tomato extract for 2 weeks on endogenous levels of DNA single strand breaks and immune functions in healthy non-smokers and smokers. Carcinogenesis 2004;25:2373–8.

Cazin J-L, Robert J. Principes des traitements anticancéreux. Anticancéreux : utilisation pratique. 6ème édition. Dossier du CNHIM ; 2008.

Chauvergne J, Hoerni B. Chimiothérapie anticancéreuse. Paris, France : Masson ; 2001. 103 p.

Chauvergne J. Randomized trial of adjuvant chemotherapy foroperable breast cancer comparing i.v. CMF to an epirubicin-containing regimen. Ann. Oncol. 2002;3(6)**:** 439-443.

Clinton SK. Lycopene: Chemistry, biology, and implications for human health and disease. Nutr. Rev. 1998; 56(2):35-51.

Collins J, Arjmandi B, Claypool P, Perkins-Veazie P, et al. Lycopene from two food sources does not affect antioxidant or cholesterol status of middle-aged adults. Nutr. J. 2004;3:15.

Conn PF, Schalch W, Truscott TG. The singlet oxygen and carotenoid interaction. J. Photochem. Photobiol. B. 1991;11(1):41-7. Erratum in: J. Photochem. Photobiol. B. 1993;17(1):89.

Cutts SM, DR, Phillips. Use of oligonucleotides to define the site of interest cross-links induced bay Adriamycin. Nucleic Acids Res. 1995;23(13):2450-2456.

Dacosta Y. Les phytonutriments bioactifs : 669 références bibliographiques. Ed. Yves Dacosta; Paris, 2003; 317p.

Dano K, Frederiksen S, Hellung-Larson P. Inhibition of DNA and RNA synthesis by daunorubicin in sensitive and resistant Ehrlich ascites tumor cells in vitro. Cancer Res. 1972;32(6)1307-1314.

Debled M, Houédé N, Madranges N, Donamaria C, Floquet A, Durand M, Mauriac L. Does chemotherapy-induced neutropaenia result in a postponement of adjuvant or neoadjuvant regimens in breast cancer patients? Results of a retrospective analysis. 2007;97:1642-1647.

Deepa PR, Varalakshmi P. Protective effect of low molecular weight heparin on oxidative injury and cellular abnormalities in adriamycin-induced cardiac and hepatic toxicity. Chem. Biol. Interact. 2003;146:201-210.

Deman A, Ceyssens B, Pauwels M, Zhang J, Houte KV, Verbeelen D, Van den Branden C. Altered antioxidant defence in a mouse adriamycine model of glomerulosclerosis. Nephrol. Dial. Transplant. 2001;16:147–150.

Desassis JF, Raats CJ, Bakker MA, van den Born J, Berden JH. Anti proteinuric effect of cyclosporine A in adriamycin nephropathy in rats. Nephron 1997;75: 336–341.

Di Marco, A, Silvestrini R, Di Marco S. Dasdia T. Inhibiting effect of the new cytotoxic antibiotic daunomycin on nucleic acids and mitotic activity of hela cells. J. cell Biol. 1965 ;27 (3):545-550.

Di Silvestro RA. Zinc in relation to diabetes and oxidative disease. J. Nutr. 2000;130:1509S-1511S.

Doroshow JH, Locker GY, Myers CE. Doxorubicin Toxicity: The Interaction of Drug and Endogenous Defenses against Free Radical Attack. Clin Res. 1978;26: 434A.

Dubost M, Granter P, Maral R, Ninet L. Pinnert, S. Un nouvel antibiotique à propriétés cytostatiques : la rubidomycine, C. R. Académie des sciences. 1963 ;1813-15.

Duffy PM, Hayes MC, Cooper A, Smart CJ. Confocal microscopy of idarubicin localization in sensitive and multidrug-resistant bladder cancer cell lines. Br. J. cancer 1996;74(6):906-909.

Duncan R, Coatsworth JK, Burtles S. Preclinical toxicology of a novel polymeric antitumour agent: HPMA copolymer doxorubicin (PK1). Hum. Exp. Toxicol. 1998;17:93–104

Engelhard YN, Gazer B, Paran E. Natural antioxidants from tomato extract reduce blood pressure in patients with grade-1 hypertension: a double-blind, placebo-controlled pilot study. Am Heart J. 2006;151:100.

European Commission (2001). The White Book FAIR CT 97-3233. Tomato News. Avignon France.

Favier A. Stress oxydant et pathologies humaines. Ann. Pharm. Fr. 2006;64:390-396.

Féret JB. Apport de la modélisation pour l'estimation de la teneur en pigments foliaires par télédétection. Thèse de Doctorat ; Université Pierre et Marie Curie. 2009 ; 214p.

Fodhil-Bouhadjra K. Etude de l'effet des antioxydants naturels et de synthèse sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive Vierge. Mémoire de magistère ; Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, 2011;112p.

Frey J, Daudon M, Raby N, Augereau C, Dechaux M, Diehl JL, et al. Valeur séméiologique des paramètres biochimiques urinaires. Ann. Biol. Clin. 2001;59:13-25.

Fuhrman B, Elis A, Aviram M. Hypocholesterolemic effect of lycopene and beta-carotene is related to suppression of cholesterol synthesis and augmentation of LDL receptor activity in macrophages. Biochem. Biophys. Res. Commun 1997;233:658-662.

Gallois L, Fiallo M, Garnier-suillerot A. Comparison of doxorubicin, daunorubicin, idarubicin and idarubicinol with large unila mellar vesicles circular dichroism study. Biochim Biophys Acta. 1998 ;1370:31-40.

Gallois L, Fiallo M, laigle A, Priebe W, Garnier-suillerot A. The overall portioning of anthracyclines into phosphatidyl-containing model membranes depends neither on the drug charge nor the presence of the anionic phospholipids. Eur. J. Biochem. 1996;241:879-887.

Gewirtz DA. A critical evaluation of the mechanisms of action proposed for the antitumor effects of the anthracycline antibiotics Adriamycin and daunorubicin. Biochem. Pharmacol. 1999;57(000-015).

Grolier P, Bartholin G, Broers L, Garis-Veyrat C, Dadomo M, Di Lucca G, et al. Les antioxydants de la tomate et leur biosynthèse. In : Les antioxydants de la tomate et ses dérivés et leurs bienfaits pour la santé. Le livre blanc de la tomate, action concertée de la commission européenne, FAIR CT 97-3233. 2000 ; 3p.

Grolier P. Antioxidants in the tomato fruit. In: Role and control of antioxidants in the tomato processing industry. Second bulletin on the advancement of research. A European commission concerted action program FAIR CT 97-3233. 1999; 4p.

Gupta SK, Trivedi D, Srivastava S, Joshi S, Halder N, Verma SD. Lycopene attenuates oxidative stress induced experimental cataract development: an in vitro and in vivo Study. Nutrition 2003;19: 794-799.

Hajdu SL. 2000 years of chemotherapy of tumors. Cancer 2005;103(6): 1097-1102.

Halliwell B. How to characterize a biological antioxidant. Free Radic. Res. Commun. 1999; 9(1):1-32.

Hande KR. Clinicat applications of anticancer drugs targeted to topoisomerase II. Biochim Biophys Acta. 1998;1400(1-3):173-184.

Heber D, Lu QY. Overview of mechanisms of action of lycopene. Exp. Biol. Med. (Maywood) 2002;227:920-923.

Heron JF (2003). Cours cancérologie générale « La chimiothérapie ». http://www.oncoprof.net/Generale2000/g09_Chimiotherapie/Chapitre_09.pdf

Hughes DA. Effects of carotenoids on human immune function. Pro. Nutr. Soc. 1999;58:713-718.

IARC (1998). Working Group on the Evaluation of Cancer Preventive Agents. Carotenoids, IARC, Lyon.

Iarussi DP, Indolfi F, Casale P, Coppolino MA, Tedesco MT, Di Tullio. Recent advances in the prevention of anthracycline cardiotoxicity in childhood». Curr. Med. chem. 2001;8(13): 1649-1660.

Jenkins P, Freeman S. Pretreatment haematological laboratory values predict for excessive myelosuppression in patients receiving adjuvant FEC chemotherapy for breast cancer. Ann. Oncol. 2009;20: 34-40.

Kaegi E. Unconventional therapies for cancer Vitamins A, C and E – on behalf of the Task force on Alternative therapies of the Canadian Breast cancer research initiative. CMAJ. 1998; 158:1483-1488.

Kang J, Lee Y, No K, Jung E, Sung J, Kim Y, Nam S. Repord. Toxicol. 2002; 16: 291-298.

Kesic V. Management of cervical cancer. Eur. J. Surg. Oncol. 2006;32(8): 832-837.

Kim GY, Kim JH, Ahn SC, Lee HJ, Moon DO, Lee CM, Park YM. Lycopene suppresses the lipopolysaccharide-induced phenotypic and functional maturation of murine dendritic cells through inhibition of mitogen-activated protein kinases and nuclear factor-kappa B. Immunology 2004;113:203–11.

Kim Y, Ma AG, Kitta K, Fitch SN, Ikeda T, Ihara Y, Simon AR, Evans T, Suzuki YJ. Anthracycline-induced suppression of GATA-4 transcription factor: implication in the regulation of cardiac myocyte apoptosis ». Mol pharmacol. 2003; 63(2):368-377.

Klimtova I, Simunek T, Mazurova Y, Hrdina R, Gers l V. Comparative study of chronic toxic effects of daunorubicin and doxorubicin in rabbits. Hum. Exp. Toxicol. 2000;21:649–657.

Kohen R. Nyska A. Invited Review: Oxidation of Biological Systems: Oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. Toxicol. Path. 2002;30: 620-650.

Koivusalo R, Krausz E, Helenius H, Hietanen S. Chemotherapy compounds in cervical cancer cells primed by reconstitution of p 53 function after short interfering RNA- mediated degradation of human papillomavirus 18 E 6 m RNA : opposite effect of is RNA in combination with different drugs . Mol. pharmacol. 2005;68(2):372-382.

Koshikawa M, Mukoyama M, Mori K, Takyoshi S, Kazutomo S, Tetsuro Y, et al. Role of p38 Nitrogen-Activated protein kinase activation in podocyte. Injury and proteinuria in experimental nephritic syndrome. J. Am. Soc. Nephrol. 2005;16: 2690-2701.

Kouame AEF. Etude de la migration des antioxydants phénolique dans les boissons en sachet (Abidjan-cote d'ivoire). Thèse de doctorat en pharmacie ; Université Cheikh Anta Diop de Dakar. 2004 ; 72p.

Krinsky NI, Johnson EJ. Carotenoid actions and their relation to health and disease. Mol. Aspects Med. 2005;26:459-516.

Kucuk O, Sarkar FH, Sakr W. Phase II randomized clinical trial of lycopene supplementation before radical prostatectomy. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2001;10: 861-868.

Kuhad A, Chopra K. Lycopene ameliorates thermal hyperalgesia and cold allodynia in STZ-induced diabetic rat. Ind. J. Exp. Biol. 2008;46:108-111.

Kuhad A, Sharma S, Chopra K. Lycopene attenuates thermal hyperalgesia in a diabetic mouse model of neuropathic pain. Eur. J. Pain. 2008;12:624-632.

Kumar R, Gupta NP. Lycopene therapy in idiopathic male infertility: results of a clinical trial [abstract 102]. Presented at: 34th Annual Conference of the Urological Society of India. (2001):18-21, Nagpur, India.

Laigle A, Fiallo MML, Garnier-suillerot A. Spectral shape modifications of anthracyclines bound to cell nuclei: a microspectrofluorometuc study. Chem. Biol. Intercat. 1996 ;101(1):49-58.

Lampidis T J, Kolonias D, Podona T, Isrel M, Safa AR, Lothstein L, Savaraj N, Tapiero H, Priebe W. Circumvention of P-GP MDR as a function of anthracycline lipophilicity and charge. Biochemistry 1997 ;36(9):2679-2685.

Lichtenthaler HK. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. Methods in Enzymology 1987;148:350-382.

Luce RA, Sigurdsson ST, Hopkins PB. Quantification of Formaldehyde-Mediated Covalent Adducts of Adriamycin with DNA. Biochemistry 1999;38: 8682-8690.

Luo C, Wu XG. Lycopene Enhances Antioxidant Enzyme Activities and immunity function in N-Methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine-induced gastric cancer rats. Int. J. Mol. Sci. 2011;12:3340-3351.

Mackall CL. T-cell immunodeficiency following cytotoxic antineoplastic therapy: a review. Stem Cells 2000;18:10-18.

Malarkodi KP, Balachandar AV, Varalakshmi P. The influence of lipoic acid on adriamycin induced nephrotoxicity in rats. Mol Cell Biochem. 2003;247(1-2):15-22.

Martoja R, Martoja M. Initiation aux techniques de l'histologie animale. Masson et Cie éditeurs ; 1967.

Ménard C, Martin F, Apetoh L, Bouyer F, Ghiringhelli F. Cancer chemotherapy: not only a direct cytotoxic effect, but also an adjuvant for antitumor immunity. Cancer Immunol. Immunother. 2008;57:1579–1587.

Méric J-B, Zelek L, Khayat D. Guide pratique de cancérologie. Paris, France : MMI : Masson ; 2004. 309 p.

Merlin JL, Guerci A, Marchal S, Missoum N, Ramacci C, Humbert JC, Tsuruo T, Guerci O. Comparative evaluatin of S9788, verapamil, and cyclosporine A in K 562 human leukemia cell lines and in P-glycoprotein-expressing samples from patients with hematologic malignancies. Blood. 1994;84(1):262-269.

Merlin JL, Marchal S, Ramassi C, Dieterlen A, Schultz G, Lucas C, Poullain MG, Berlion M. Influence of S97 88, a new modulator of multidrug resistance, on the cellular accumulation and subcellular distribution of daunorubicin in p-glycoprotein-expressing MCF7 human breast adenocarcinoma cells. Cytometry. 1995a;20(40):315-323.

Merzoug S, Toumi ML, Boukhris N, Baudin B, Tahraoui A. Adriamycin-related anxiety-like behavior, brain oxidative stress and myelotoxicity in male Wistar rats. Pharmacol. Biochem. Behav. 2011;99:639–647.

Minotti G, Menna P, Salvatorelli E, Cairo G, Gianni L. Anthracyclines: molecular advances and pharmacologie developments in antitumor activity and cardiotoxicity. Pharmacol Rev. 2004;56(2):185-229.

Mizutani H, Tada-Oikawa S, Hiraku Y, Kojima M, Kawanishi S. Mechanism of apoptosis induced by doxorubicin through the generation of hydrogen peroxide. Life Sci. 2005;76(13):1439-1453.

Mohamed HE, Asker ME, Ali SI, El-Fattah TM. Protection against doxorubicin cardiomyopathy in rats: role of phosphodiesterase inhibitors type 4. J. Pharm. Pharmacol. 2004;56: 757–768.

Mohanty NK, Saxena S, Singh UP. Lycopene as a chemopreventive agent in the treatment of high-grade prostate intraepithelial neoplasia. Urol Oncol. 2005;23:383-385.

Momparler RL, Karom M, Siegel S, Avila F. Effect of adriamycin on DNA, RNA, and protein Synthesis in cell-free systems and intact cells. Cancer Res. 1976 ;36(8):2891-2895.

Monssair L (2012). Cours pharmacologique DCEM3 « Les anticancéreux ». http://udsmed.u-strasbg.fr/pharmaco/pdf/dcm3/DCEM3-Pharmaco_Chap22-chimio_anticancereuse_2012.pdf

Muggia FM, Green MD. New anthracycline antitumor antibiotics. Crit. Rev. Oncol. Hematol. 1991;11(1):43-64.

Murray RL. Creatinine. Kaplan A. et al. Clin. Chem. The C.V. Mosbay Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1261-1266 and 418.

Nakayama K, Hara T, Kusunoki M, Tsutsumi K, Minami A, Okada K, et al. Effect of the lipoprotein lipase activator NO-1886 on Adriamycin-induced nephrotic syndrome in rats. Metabolism. 2000;49(5):588-593.

Nguyen ML, Schwartz SJ. Lycopene: chemical and biological properties. Food Tech. 1999;53:38–45.

O'Donnell MP, Michels L, Kasiske B, Raij L, Keane WF. Adriamycin-induced chronic proteinuria: A structural and functional study. J. Lab. Clin. Med. 1985;106:62-67.

Oudard S, Caty A, Humblet Y, Beauduin M, Suc E, Piccart M, Rolland F, Fumoleau P, Bugat R, Houyau P, Monnier A, Sun X, Montcuquet P, Breza J, Novak J, Gil T, Chopin D. Phase II study of vinorelbine in patients with androgen-independent prostate cancer. Ann. Oncol. 2001;12: 847-852.

Palozzaa P, Simonea R, Catalanoa A, Monegob G, Barini A, Melec MC, Parroned N, Trombinod S, Picci N, Ranelletti FO. Lycopene prevention of oxysterol-induced proinflammatory cytokine cascade in human macrophages: inhibition of NF-κB nuclear binding and increase in PPARγ expression. J. Nutr. Biochem. 2011;22:259–268.

Pastre J, Priymenko N. Intérêt des antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. Revue Méd. Vét. 2007;158(4):180-189.

Pastre JOC. Intérêt de la supplémentation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. Thèse de Doctorat Vétérinaire ; Université Paul-Sabatier de Toulouse. 2005 ; 120p.

Patton CJ, Crouch SR. Spectrophotometric and kinetics of the Berthelot Reaction for the determination of ammonia. Anal. Chem. 1977;49:464-469.

Potter AJ, Rabinovith PS. The cell cycle phases of DNA damage and repair intiated by topoisomerase II-targeting chemotherapeutic drugs. Mutat. Res. 2005;572(1-2):27-44.

Prat W, Ruffon RW, Ensminger WD, Maybaum J. (1994) In W. Prat (ed) principales of cancer chemotherapy. Oxford University Press Inc, New York, vol. sec edition. 158. Priebe, W. Perez-Soler, R. (1993). Design and tumor targeting of anthracyclines able to overcome multidrug resistance: a double-advantage approach. Pharmacol ther, 60, (20), 215-34.

Priebe W, Perez-soler R. Design and tumor targeting of anthracyclines able to overcome multidrug resistance: a double-advantage approach. Pharmacol. Ther. Go. 1993 ;2:215-234.

Rao AV, Agarwal S. Role of antioxidant lycopene in cancer and heart disease. J. Am. Coll. Nutr. 2000;19(5):563-569.

Rao AV, Agarwal S. Role of lycopene as antioxidant carotenoid in the prevention of chronic diseases: a review. Nutr Res. 1999;19:305–323.

Robert J. Preclinical assessment of anthracycline cardiotoxicity in laboratory animals: predictiveness and pitfalls. Cell Biol. Toxical. 2007; 23:27-37.

Schurig JE, Florczyk AP, Bradner WT. The mouse as a model for predicting the myelosuppressive effects of anticancer drugs. Cancer Chemother. Pharmacol. 1973;16:243–246.

Sendão MC, Behling EB, dos Santos RA, Antunes LMG, Bianchi MLP. Comparative effects of acute and subacute lycopene administrationon chromosomal aberrations induced by cisplatin in male rats. Food and Chemical Toxicology 2006;44:1334–1339.

Shareck M. Consommation alimentaire d'antioxydants et risque de cancer du poumon : une étude cas-témoins montréalaise. Mémoire de matrise ; Université de Montréal. 2008 ; 145p.

Sharoni Y, Danilenko, M., Levy, J. Anticancer Activity of Carotenoids: From Human Studies to Cellular Processes and Gene Regulation. In: Krinsky NI, Mayne, S.T., Sies, H., ed. Carotenoids in Health and Disease. New York, USA: Marcel Dekker, 2004:567 pages.

Shi J, Le Maguer M. Lycopene in tomatoes: Chemical and physical properties affected by food processing. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 2000;40(1):1-42.

Siegfried JM, Sartorelli AC, Tritton TR. Evidence for the lack of relationship bet ween inhibition of nucleic acid synthesis and cytotoxicity of adriamycin. Cancer Biochem. Biophys. 1983;6(3): 137-142.

Singl PK, Iliskovic N, Li T, Kumar D. Adriamycin cardiomyopathy: pathophysiology and prevention ». Faseb J. 1997;11(12):931-936.

Siveski-Iliskovic N, Singal PK. Lipid lowering: an important factor in preventing adriamycin-induced heart failure. Am. J. Pathol. 1997;150:727–734.

Skladanowski A, Konopa J. Interstrand DNA crosslinking induced by anthracyclines in tumour cells. Biochem. Pharmacol. 1994;47(12):2269-2278.

Stahl W, Sies H. Lycopene: a biologically important carotenoid for humans? Arch Biochem Biophys. 1996;336:1–9.

Stahl W, Sies H. Uptake of lycopene and its geometrical isomers is greater from heat-processed than from unprocessed tomato juice in humans. J. Nutr. 1992;22(11):2161-2166.

Stahl W. Lycopene: Bioavailability and biological properties. In: Role and control of antioxidants in the tomato processing industry, second bulletin on the advancement of research. A European commission concerted action program FAIR CT 97-3233, 1999;2p.

Steele TA. Chemotherapy-induced immunosuppression and reconstitution of immune function. Leukemia Res. 2002;26:411-414.

Suter P, Luetkemeier H, Zakova N. Lifespan studies on male and female mice and rats under SPF-Laboratory conditions. Arch. Toxicol. Supp. II; 1979: 403.

Tannock I, Hill RP. The basic science of oncology, 3éd. New York: McGraw-Hill Health Professions Division 1998;p 539.

Tewey KM, Chen GL, Nelson EM, Liu LF. Intercalative antitumor drugs interfere with the breakage-reunion reaction of mammalian DNA topoisomerase II. J. Biol. Chem. 1984;259(14):9182-7.

Tietz NW. Clinical Guide to Labo-ratory Tests, Second Edition W.B. Saunders Company, Philadelphia, USA. 1990; 554-556.

Tonucci LH, Holden JM, Beecher GR, Khachik F, Davis CS, Mulokzi G. Carotenoid content of thermally processed tomato-based food products. J. Agric. Food Chem. 1995;43:579-586.

Trinder P. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen receptor. Ann. Clin. Biochem. 1969;6:24-27.

Tsang YW, Chi KH, Hu CJ, Tseng CL, Tseng FW, Wang YS. Chemotherapy-induced immunosuppression is restored by a fermented soybean extract: a proof of concept clinical trial. Nutr Res 2007;27:679-684.

Tubiana M. Dictionnaire humanisé des cancers. Hoerni B, Robert J, editors. Paris, France: Éditions Frison-Roche; 2011. 607p.

Turens JF, Alexandre A, Lehninger AL. Ubisem-iquinone is the electron donor for superoxide formation by complex III of heart mitochondria. Arch. Biochem. Biophys. 1985;237:408-414.

Van Vleet JF, Ferrans VJ. Clinical and pathologic features of chronic adriamycin toxicosis in rabbits. Am. J. Vet. Res. 1980a;41:1462–1469.

Viau C, Tardif R. Toxicologie. In: Gérin M, Gosselin P, Cordier S, Viau C, Quénel P, Dewailly E, editors. Environnement et Santé publique. Fondements et pratiques. Acton Vale, Vale: Edisem/Tec & Doc; 2003. p. 119-43. Available from: http://www. dsest.umontreal.ca/documents/11Chap05.pdf. [Last accessed on 2011 Sep 15].

Vora, J., Khaw, B.A., Narula, J., Boroujerdi, M. Protective effect of butylated hydroxyanisole on adriamycin-induced cardiotoxicity. J. Pharm. Pharmacol. 1996;48:940–944.

Watzl B, Bub A, Brandstetter BR, Rechkemmer G. Modulation of human T-lymphocyte functions by the consumption of carotenoid-richvegetables. Br. J. Nutr. 1999;82:383–9.

Watzl B, Bub A, Briviba K, Rechkemmer G. Supplementation of a low carotenoid diet with tomato or carrot juice modulate immune functions in healthy men. Ann. Nutr. Metab. 2003;47:255–61.

Working PK, Dayan AD. Pharmacological–toxicological expert report CAELYX (stealth liposomal doxorubicin HCl). Hum. Exp. Toxicol. 1996;15:752–785.

World Cancer Research Fund [WCRF] / American Institute for Cancer Research. Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Cancer: a Global Perspective. Washington DC, 2007.

Yilmaz S, Atessahin A, Sahna E, Karahan I, Ozer S. Protective effect of lycopene on adriamycin-induced cardiotoxicity and nephrotoxicity. Toxicology 2006;218:164-171.

Young RC, Opzols RF, Myers CE. The anthracycline antineoplastic drugs. N. Eng. J. Med. 1981; 305:139-153.