

رقم الشهادة
232B/HAM

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE
DÉPARTEMENT DES SCIENCES BIOLOGIQUES



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2019

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Présenté par :

M^{elle} HAMOUDI Sonia & M^{elle} TEBBI Sara Oumenoune

Thème

**Evaluation de l'effet cytoprotecteur de composés
bioactifs à l'égard de la toxicité induite par les agents de
chimiothérapie**

Soutenu le : 04/07/2019

Devant le jury composé de :

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
M. KHERRAZ Karim	MAA	Univ. de Bouira	Président
M. BOURNINE Lamine	MCA	Univ. de Bouira	Promoteur
M ^{lle} MAMERI Amal	Doctorante	Univ. de Bouira	Co-promotrice
M. RAI Abdelwahab	MCB	Univ. de Bouira	Examinateur

Année Universitaire : 2018/2019

Résumé

Le cancer représente l'une des principales causes de mortalité dans le monde. De nombreux agents anticancéreux sont conçus contre cette pathologie qui agissent avec différents mécanismes d'action. Malgré leur efficacité, ils provoquent plusieurs effets secondaires dont l'anémie chimio-induite. En effet ces altérations sont dues à la production excessive des espèces réactives de l'oxygène (EROs) via des mécanismes de cytotoxicité cellulaire. Afin d'explorer l'effet protecteur des antioxydants à savoir la quercétine (Q), la catéchine (C) et l'acide gallique (AG), sur des globules rouges (GRs) humains soumis à un état de stress induit par les anticancéreux : le paclitaxel (TXL) et le cisplatine (CDDP), un protocole expérimental a été élaboré. Celui-ci consiste à évaluer la turbidité cellulaire, le taux de l'hémolyse en mesurant la quantité de la méthémoglobine ainsi que le dosage de l'hémoglobine (Hb) intracellulaire et libérée. Aussi l'évaluation du stress oxydant à travers le dosage des produits de la peroxydation lipidique, les malondialdéhydes (MDA) et la mise en évidence de l'oxydation de l'Hb ont été réalisés. Les résultats enregistrés ont montré que le TXL a une cytotoxicité très significative ($0,25 \pm 0,005$) par rapport au CDDP ($1,15 \pm 0,02$) ainsi que leur combinaison TXL/CDDP ($0,43 \pm 0,01$). Les antioxydants Q et C exercent un effet cytoprotecteur contre le TXL, CDDP et TXL/CDDP avec des concentrations cellulaires qui sont respectivement de $0,83 \pm 0,008$ et de $1,43 \pm 0,04$. Les résultats du pourcentage de l'hémolyse confirment l'effet protecteur de ces antioxydants qui ont réduit significativement le taux de l'hémolyse à $41,95 \pm 0,07\%$ en comparaison avec l'agent anticancéreux. Les résultats du test de la peroxydation lipidique ont démontré que la Q ($0,07 \pm 0,002$), la C ($0,07 \pm 0,003$) et l'AG ($0,06 \pm 0,001$), exhibent un effet inhibiteur contre la production des MDA induite par le TXL ($0,41 \pm 0,01$) et la combinaison TXL/CDDP ($0,32 \pm 0,01$). Aussi, les résultats de l'effet protecteur à l'égard de l'oxydation de l'Hb induite par le TXL ($1,07 \pm 0,003$), le CDDP ($1,32 \pm 0,03$) et de leur combinaison ($1,07 \pm 0,02$) montrent que la Q, C et l'AG exercent un effet protecteur significatif avec des teneurs en Hb qui varient entre 1,25 et 1,45. A l'avenir, il serait intéressant de réaliser de nouveaux tests et de combiner plusieurs agents antioxydants, à différentes concentrations, avec les agents de chimiothérapie, dans le but de prévenir et de traiter l'anémie chimio-induite, ainsi que de minimiser les effets secondaires des anticancéreux.

Mots clés : Paclitaxel, cisplatine, globules rouges, hémoglobine, antioxydants, cytoprotection, peroxydation lipidique.

Abstract

Cancer is one of the leading causes of death in the world. Many anti-cancer agents are designed against this disease that act with different mechanisms of action. Despite their effectiveness, they cause several side effects including chemotherapy-induced anemia. Indeed, these alterations are due to the excessive production of reactive oxygen species (ROS) via cellular cytotoxicity mechanisms. In order to explore the protective effect of antioxidants, i.e. quercetin (Q), catechin (C) and gallic acid (GA), on human red blood cells (RBC) subjected to a state of stress induced by anticancer drugs: paclitaxel (TXL) and cisplatin (CDDP), an experimental protocol was developed. This involves assessing cellular turbidity, hemolysis levels by measuring the amount of methemoglobin and the amount of intracellular and released hemoglobin (Hb). Also the evaluation of oxidative stress through the determination of lipid peroxidation products, malondialdehyde (MDA) and detection of Hb oxidation were carried out. The results showed that TXL exerted a very significant cytotoxicity (0.25 ± 0.005) compared to CDDP (1.15 ± 0.02) and their combination TXL/CDDP (0.43 ± 0.01). In fact, antioxidants Q and C have a cytoprotective effect against TXL, CDDP and TXL/CDDP with cell concentrations values 0.83 ± 0.008 and 1.43 ± 0.04 respectively. The results of the hemolysis percentage confirm the protective effect of these antioxidants which significantly reduced the hemolysis rate to $41.95 \pm 0.07\%$ compared with anticancer agent. The results of lipid peroxidation test showed that Q (0.07 ± 0.002), C (0.07 ± 0.003) and GA (0.06 ± 0.001) have an inhibitory effect against TXL-induced MDA production (0.41 ± 0.01) and the TXL/CDDP combination (0.32 ± 0.01). In addition, the results of protective effect against Hb oxidation induced by TXL (1.07 ± 0.003), CDDP (1.32 ± 0.03) and their combination (1.07 ± 0.02) showed that Q, C and GA have a significant protective effect with Hb levels ranging from 1.25 to 1.45. In the future, it would be interesting to carry out new tests and combine several antioxidant agents, at different concentrations, with chemotherapy agents in order to prevent and treat chemotherapy-induced anemia, as well as to reduce the side effects of anticancer drugs.

Keywords: Paclitaxel, cisplatin, red blood cells, hemoglobin, antioxidants, cytoprotection, lipid peroxidation.

ملخص

السرطان هو أحد الأسباب الرئيسية للوفاة في العالم. لذلك، تم تصميم العديد من العوامل المضادة للسرطان ضد هذا الأخير، والعمل مع آليات مختلفة للعمل. على الرغم من فعاليتها، فإنها تسبب ظهور العديد من الآثار الجانبية بما في ذلك فقر الدم الناتج عن العلاج الكيميائي. في الواقع هذه التغييرات هي نتيجة للإفراط في إنتاج المواد الفعالة للاكسجين (ROS) عبر آليات السمية الخلوية. تم تأكيد مضادات الأكسدة المرتبطة بالعلاج الكيميائي لتقليل شدة الإجهاد التأكسدي. ومع ذلك، من أجل استكشاف التأثير الوقائي لمضادات الأكسدة وهي كيرسيتين (Q)، كاتشين (C) وحمض الغاليك (AG)، على خلايا الدم الحمراء البشرية (كرات الدم الحمراء) تتعرض لحالة من الإجهاد الناتج عن باكليتاكسيل المضادة للسرطان (TXL) و سيسبلاتين (CDDP)، تم تطوير بروتوكول تجريبي. يتكون هذا من تقييم عكارة الخلية، ومعدل انحلال الدم عن طريق قياس كمية الميثيموغلوبين، وتحديد الهيموغلوبين داخل الخلايا والإفراج عنه. كما تم إجراء تقييم للضغط التأكسدي من خلال اختبار منتجات بيروكسيد الدهون (MDA) وكذلك مظاهر أكسدة الهيموغلوبين (Hb). أظهرت النتائج المسجلة أن TXL يحتوي على سمية خلوية كبيرة جدًا (0.25 ± 0.005) مقارنة بـ (CDDP) (1.15 ± 0.02) و الجمع بين العاملين أظهر انخفاضًا كبيرًا في تركيز الخلية. هو (0.43 ± 0.01). تم العثور على مضادات الأكسدة S و C لممارسة تأثير كبير ضد TXL، CDDP و TXL / CDDP مع تركيز الخلايا من (0.83 ± 0.008) و (1.43 ± 0.04)، على التوالي. تؤكد نتائج النسبة المئوية لانحلال الدم على التأثير الوقائي لهذه المواد الذي سجل تأثيرًا أفضل مع Q و C. في الواقع، خفضت هذه الجزيئات بشكل كبير معدل انحلال الدم إلى $41.95 \pm 0.07\%$ بالمقارنة مع وكيل المضادة للسرطان. تظهر نتائج حماية الهيموغلوبين المستحقة بـ (Q) (0.07 ± 0.002)، (C) (0.07 ± 0.003) و (GA) (0.06 ± 0.001)، أظهرت نتائج هذا الاختبار أن TXL، CDDP (1.32 ± 0.03) و TXL (1.07 ± 0.003)، أظهرت نتائج هذا الاختبار أن Q (0.07 ± 0.002)، C (0.07 ± 0.003) و GA (0.06 ± 0.001)، تظهر تأثير وقائي ضد بيروكسيد الغشاء الناتج عن TXL (0.41 ± 0.01) و TXL / CDDP (0.32 ± 0.01). في المستقبل، سيكون من المثير للاهتمام التفكير في إجراء اختبارات جديدة والجمع بين مختلف العوامل المضادة للأكسدة، بتركيزات مختلفة، مع عوامل العلاج الكيميائي، من أجل منع وعلاج فقر الدم الناتج عن العلاج الكيميائي، وكذلك تقليل الآثار الجانبية لعلاج السرطان.

الكلمات المفتاحية: باكليتاكسيل، سيسبلاتين، خلايا الدم الحمراء، الهيموغلوبين، مضادات الأكسدة، الحماية الخلوية، بيروكسيد الدهون