

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Bejaïa

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des sciences biologiques de l'environnement
Spécialité Biologie Animale



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Etude de l'effet des molécules anticancéreuses
sur la cellule spermatique**

Présenté par :

Saidani Nahla & Khermane Thinnhinane

Soutenu le : 13 septembre 2022

Devant le jury composé de :

Mme : BOURNINE-BENSALEM Siham	Univ. De Bejaia	Président
Mme : TALBI Asma	Univ. De Bejaia	Examineur
Mr : IGUEROUADA Mokrane	Univ. De Bejaia	Encadreur

Année universitaire : 2021 / 2022.

Remerciement :

Avant tout, nous tenons à remercier le **Dieu tout puissant** qui nous a donné la force, le courage et la patience pour mener à terminer ce travail.

Ce mémoire n'aurait pu voir le jour sans le soutien et la participation laborieuse de plusieurs personnes, nous exprimons nos reconnaissances à tous ceux et celles qui ont contribué de près ou de loin.

On voudrait dans un premier temps exprimons notre grande gratitude et nos sincère remerciement à notre promoteur **Monsieur IGUROUDA Mokrane**, de nous avoir encadré et soutenu tout au long de la préparation de notre mémoire, aussi pour sa patience, sa disponibilité, son esprit critique et surtout ces judicieux conseils qui ont grandement facilité la réalisation de ce travail, et contribuer à alimenter notre réflexion. Un grand respect à vous pour toujours.

Nos vifs remerciements sont adressés aux membres de jury **Mme BOURNINE Siham** et **Mme TALBI Asma** d'avoir accepté d'évaluer ce travail. Merci pour la lecture attentive du mémoire ainsi que les remarques que vous nos adressez lors de cette soutenance.

Nous adressons aussi nos sincères remerciement à **Mlle BENAMARA N.** qui nous a vraiment aidée et orienté, à toute l'équipe de laboratoire 12 de l'Université de Abderrahmane Mira d'avoir créé un environnement plein d'euphorie à la réalisation du présent travail.

Nos remerciements **M.TOUATI** d'avoir mise en disponibilité le matériel biologique.

Nos remerciements s'adressent également à tous nos enseignants **Mme KEBI, Mme .DIEF, M.MOUSSI, M.MOULAI, Mme JOUAD** pour leurs accompagnements et leurs maitrises de leurs travail et de nos bien avoir transmettre les informations.

SaidaniNahla & KhermaneThinnhinane

Dédicace :

Avant tout, je remercie Dieu tout puissant de m'avoir donné la force, le courage et la patience de réaliser ce travail malgré toutes les difficultés rencontrées

A ma très chère maman, Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que vous méritez pour tous les sacrifices que vous n'avais pas cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte.

Que DIEU vous protège.

A la mémoire de ma grand-mère, je prie ALLAH de l'accepter avec sa miséricorde dans son vaste paradis

A mes chères et adorables sœurs, Tanina, Tiziri, Tafeth, Sarah, Aicha et Hayat

A mes chères amis (ies) et collègues, Hacem, Illes, Mounir, Amer, Yanis, Islam, Baha, Nassim et Chanez

A ma chère et adorable binôme Nahla ; je te remercie vivement pour ton aide et ton soutien durant ce travail

Je vous remercie

Thirhinane

Dédicace :

Je tiens avec grande plaisir que je dédie ce modeste travail à :

A l'être le plus cher de ma vie, qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse : **ma mère**, aucune dédicace ne pourrait exprimer la profondeur des sentiments que j'éprouve pour vous, ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études, puisse dieu, tout puissant vous combler de santé, de bonheur et vous procurer une longue vie.

A **mon père**, toute l'encre du monde ne pourrait suffire pour exprimer mes sentiments envers vous.

A mes frères : **KHALID** et **MOHAMED**, qui m'avez toujours soutenu et encouragé durant ces années d'études et à ma bibiche **OUMAIMA** ma sœur. A ma famille, mes proches (ma chère **grand-mère maternelle**, mes **tantes** et **oncles** paternels et maternels et leurs **conjoints**, à mes **cousins** spécialement **Houssam** et **cousines**) et à ceux qui me donnent de l'amour, respect et vivacité.

A la mémoire de mes **grands-pères** et ma **grand-mère paternelle**.

A ma chère tata **DOUNIA**.

A mon favorable tonton **KAMEL**.

A mon bras khalo **MAHMOUD**

A une personne, qui sourit en lisant ces mots.

A mes copines **KAMER, FIFI, DOUNIA, NADA, MASSYLIA, ASMA, MOUNA, TINA, NABILA, SARA, BOUCHRA, MIMI, SERINE, BOUTHAYNA, RIHAB, kanza....**

Sans oublier mon binôme **Ella THINHINANE** pour son soutien, sa patience, sa compréhension et sa sympathie tout au long de ce projet

A tous ceux qui j'ai omis involontairement de citer

A tous mes **ennemis**, à celle qui a volé mon PC

Nahla

Table des matières :

Remerciements

Dédicace

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

I/ INTRODUCTION :	1
CHAPITRE I	4
I-1 : Définition de cancer :.....	4
I-2 : Type de cancer :.....	4
I-3 : Les facteurs de risque de cancer :.....	4
I-4 : Les symptômes de cancer :.....	5
CHAPITRE II :	6
II- Les anticancéreux :.....	6
II-1 : La doxorubicine :.....	6
II-2 : Le Paclitaxel :.....	8
CHAPITRE III-L 'effet des anticancéreux sur le sperme :	11
III-1 : Définition de la spermatogenèse :.....	11
III-2 : Production de sperme :.....	12
III-3 : Caractéristiques de sperme :.....	12
III-4 : La morphologie des spermatozoïdes :.....	13
III-5 : CASA :.....	14
III-6 : Impact des anticancéreux sur la reproduction :.....	14
III-7 : Effet de stress oxydative :.....	16
III : Matériel et méthodes :	20
III-1 : Matériel :.....	20
III-1-1 : Matériel biologiques :.....	20
III-2 : Méthodes :.....	21
III-2-1 : Préparation des anticancéreux :.....	21
III-2-4 : Préparation de la solution de la vitamine E :.....	22
Protocole expérimental :.....	23

II-3 : Analyse statistique :.....	24
IV-Résultats et discussion :	26
IV-1 : Résultats :	26
IV- 2 : Discussion :.....	30
V- Conclusion :	32
Reference bibliographique :	34
Liste des références :	34
RESUME :	38
ABSTRACT:	38

Liste des figures :

Figure 1: Structure chimique de la doxorubicine.....	6
Figure 2: Intercalation dans la molecul D'ADN	7
Figure 3: Le mode d'action de la DOX par intercalation dans la molecul D'ADN	8
Figure 4: Structure chimique du PTX	9
Figure 5: La spermatogene.....	11
Figure 6: Spermiogenese avec transformation d'un spermatide en spermatozoide	Erreur !
Signet non défini.	
Figure 7: Ultra structure d'un spermatozoide du coq	Erreur ! Signet non défini.
Figure 8: Vitamine C et E.....	20
Figure 9: Sperme pure.....	20
Figure 10: Ensembl de materiel	20
Figure 11: eau distilé.....	21
Figure12: PTX.....	21
Figure13: Vortex.....	21
Figure 14: Nacl.....	21
Figure 15: PTX.....	21
Figure 16: Micropipette.....	Erreur ! Signet non défini.
Figure 17: Histogramme représentant des valeurs de VAP en fonction des différents groupes de traitement.....	27
Figure 18: Histogramme représentant des valeurs ALH en fonction des différents groupes de traitement.....	27
Figure 19: Histogramme représentant des valeurs de BCF en fonction des différents groupes de traitement.....	28
Figure 20: Histogramme représentant des valeurs de VSL en fonction des différents groupes de traitement.....	28
Figure 21: Histogramme représentant les différents paramètres spermatique mesuré pour l'effet de la DOX dans les différents groupes de traitement	29

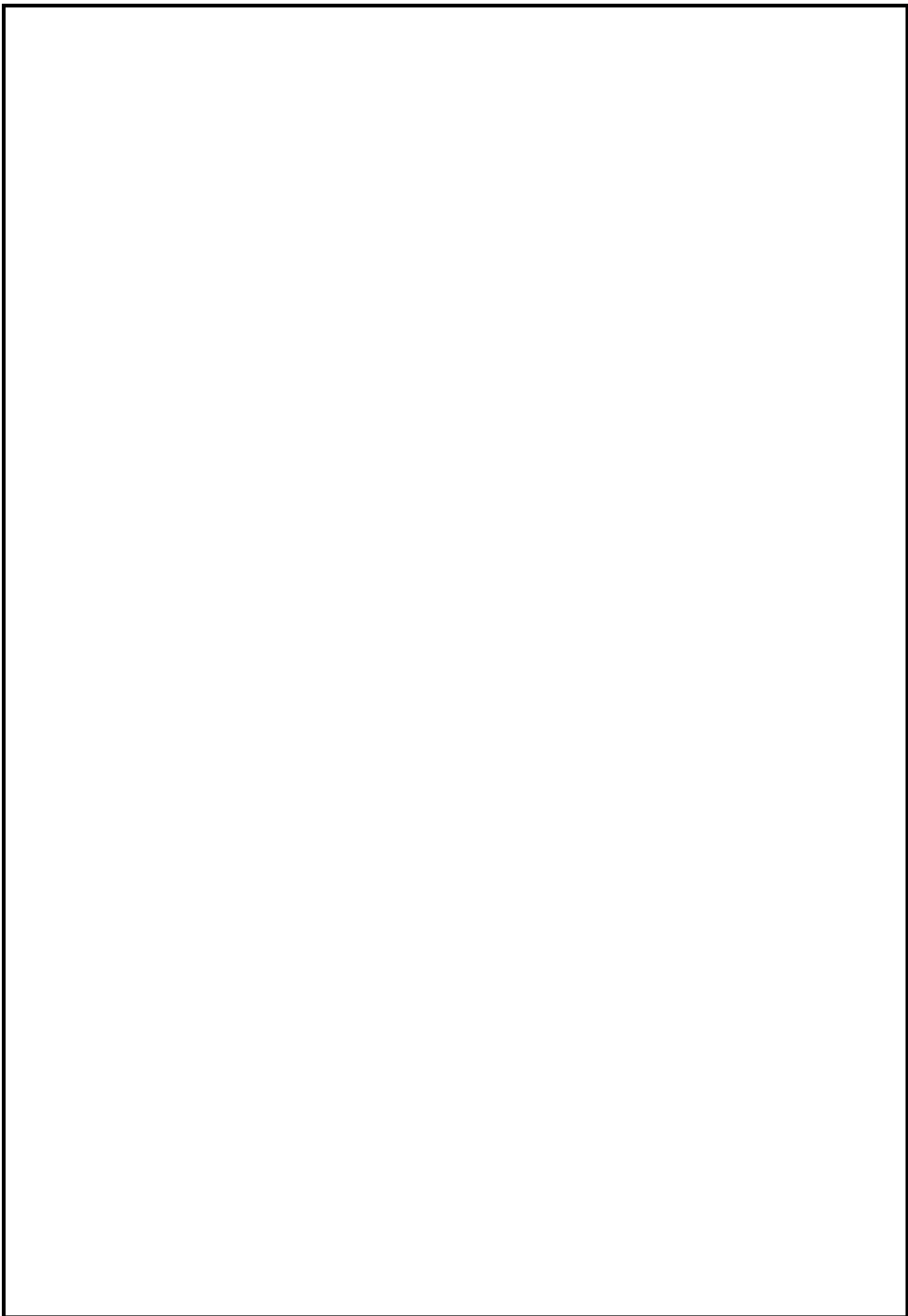
Liste des tableaux :

Tableau I: Les risques en fonction de type de chimiothérapie	14
Tableau II: Tableau récapitulatif des principaux antioxydants et de leurs modes d'action...	18
Tableau III: Matériels, appareils et produits utilisés	20

Liste des abréviations :

- **LH** : Hormone lutéinisante
- **ARN** : Acide ribonucléique
- **FSH** : Hormone de stimulation folliculaire
- **ADN** : Acide Désoxyribonucléique
- **ADR** : Adriamycine
- **ATP** : Adénosine-triphosphate
- **Na cl** : Chlorure de sodium
- **VC** : Vitamine C
- **VE** : Vitamine E
- **VCE** : Vitamine C + vitamine E
- **CASA** : Analyseur de sperme assisté par ordinateur
- **SPZ** : Spermatozoïde
- **T0** : temps d'analyse du sperme Just après la récolte
- **DOX** : La doxorubicin
- **PTX** : Paclitaxel
- **TopII** : TopoisoméraseII
- **SSC** : Cellule souche spermatogonie
- **%** : Pourcentage
- **µl** : Microlitre
- **ROS** : Espèce réactives de l'oxygène
- **mg** : Milligramme
- **ml** : Millilitre
- **Ci** : Concentration initiale
- **Cf** : Concentration finale
- **Vi** : Volume initiale
- **Vf** : Volume finale
- **T+** : Témoin positif
- **T-** : Témoin négatif
- **Tn** : Temps d'analyse après n de temps
- **PL** : Peroxydation lipidique
- **APGI** : Acide gras polyinsaturé
- **BCF** : La taille des noyaux
- **ALH** : La fréquence croisée des battements

INTRODUCTION



I/ INTRODUCTION :

Le sperme est un liquide biologique qui contient un ensemble de composés y compris les spermatozoïdes et le liquide séminal, ce dernier est sécrété par les glandes du système reproducteur male, comme la prostate. Ce liquide contribue à la protection et au déplacement des spermatozoïdes qui sont formés grâce au processus de la spermatogenèse. Celle-ci est une activité biologique très importante pour la continuité des êtres vivants, elle se déroule en 3 étapes essentielles qui sont la prolifération des spermatogonies qui sont des cellules souches germinales à deux n chromosomes, la méiose qui est la transformation des cellules à 2n chromosomes en cellules à n chromosomes dite haploïdes et en fin la différenciation qui est la phase finale où les spermatozoïdes sont différenciés. Leur concentration, volume, vitesse et morphologie diffèrent d'une espèce à l'autre. Le coq a des gamètes avec une tête aplatis, il produit environ 35000 spermatozoïdes chaque seconde de sa vie et son sperme contient environ 40 fois plus de gamètes qu'un homme, Christian Mayer et Roger Rouvier(2009) .Plusieurs facteurs endogènes et exogènes influencent la fonctionnalité des spermatozoïdes et provoquent une infertilité, parmi ces facteurs existe le cancer et le stress oxydatif provoqué par les anticancéreux.

Le cancer est la cause majeure de décès dans le monde Le terme médical utilisé pour décrire le cancer est néoplasie qui signifie {formation nouvelle}. Le cancer est le résultat de la prolifération incontrôlée des cellules lié à un échappement aux mécanismes de régulation qui assure le développement harmonieux de notre organisme. On trouve différents types de cancers selon son origine de développement. La compréhension des mécanismes cellulaires et moléculaires associés à la croissance tumorale a permis l'émergence de nombreuses stratégies thérapeutiques efficaces telles que la radiothérapie qui est l'utilisation des radiations pour détruire les cellules tumorales tout en épargnant les tissus sains périphériques, la thérapie ciblée et la chimiothérapie. (Vandana Srivastava et al.2005)

La chimiothérapie est un traitement qui repose sur l'utilisation de produits chimiques, elle vise à éliminer les cellules cancéreuses quel que soit l'endroit où elles se trouvent dans le corps y compris celles qui n'ont pas été repérées par les examens d'imagerie. La chimiothérapie agit soit en les détruisant directement, soit en les empêchant de se multiplier en utilisant un ensemble d'agents cytotoxiques. Ces derniers sont répartis en quatre familles en se basant sur leur action cycle et phase dépendante et sur leur cible moléculaire. Dans ce dernier on distingue les anticancéreux dont l'action est centrée sur l'ADN et l'ARN (en empêchant leur synthèse ou leur lecture) et ceux qui agissent sur les protéines.

La Doxorubicine qui appartient à la famille des anthracyclines connue sous le nom commercial d'Adriamycin est produite par des bactéries du genre de Streptomyces. Cet anticancéreux est reconnu par sa toxicité testiculaire de même que le Paclitaxel connu sous le nom commercial de Taxol est un taxane de classe diterpène, il a été isolé de l'if de l'ouest (*Taxus bevilifolia*). Ces anticancéreux entraînent une cardiotoxicité, une toxicité au niveau de tube digestif et majoritairement une infertilité. Ils détruisent les cellules saines du corps directement par leur toxicité mais aussi ils les détruisent indirectement par la provocation du stress oxydatif. (Soudeh Ghafouri-Fard et al.,2021)

Le stress oxydatif est défini comme un déséquilibre entre les espèces réactives de l'oxygène (ROS) et les antioxydants. Les ROS ont généralement des effets physiologiques sur les cellules mais aussi des effets pathologiques connus. L'effet pathologique est lié à des niveaux élevés de production de ROS alors que l'effet physiologique est lié à des niveaux faibles. Alors qu'une production excessive de ROS provoque la peroxydation des lipides, des protéines et des glucides, des dommages à l'ADN et l'apoptose des cellules germinales mâles, un faible niveau de production de ROS (niveau physiologique) est nécessaire pour les fonctions normales des spermatozoïdes, telles que la maturation, l'apoptose. En outre, les spermatozoïdes sont sensibles aux dommages causés par la peroxydation des lipides, car leurs membranes contiennent une grande quantité d'acides gras polyinsaturés. Les perturbations de la spermatogenèse, les diminutions du poids des organes reproductifs, de la testostérone, de la motilité et du nombre des spermatozoïdes, augmentation du taux de spermatozoïdes anormaux, apoptose et fragmentation de l'ADN des spermatozoïdes est liée au stress oxydatif causé par les anticancéreux. (Serpil Sariozkan et al 2017)

Les substances antioxydants ont été adoptées pour minimiser les effets indésirables de la chimiothérapie, de la radiothérapie et des ROS sur la fertilité masculine et ceci par la réduction des dommages oxydatifs en utilisant un ensemble des protecteurs y compris les vitamines C et E, Zinc, sélénium, carnitine et caroténoïde. Cela se fait grâce aux mécanismes de défenses de ces substances qui se déroulent en deux étapes ; la première est quand l'antioxydant se connecte aux ions métalliques pour empêcher la production des ROS et la deuxième est de désactiver la structure du produit final pour éviter les dommages cellulaires.

Plusieurs travaux de recherche ont été effectués chez plusieurs animaux in vivo (les rats, les souris et les lapins) sur des antioxydants et leur effet protecteur (le propolis, le gilaburru et l'huile d'écorce de cannelle) et aussi l'effet des anticancéreux sur les organes reproducteurs mâles ; mais peu de travaux sur l'effet des anti tumoral sur les spermatozoïdes matures in vitro dans ce concept l'objectif de ce travail consiste non seulement à connaître l'effet direct de la chimiothérapie sur la cellule spermatique et aussi d'arriver à protéger des cellules saines de l'organisme par l'utilisation de la VE ou VC seul ou combinée

SYNTHESE
BIBLIOGRAPIQUE :

CHAPITRE I

I-1 : Définition de cancer :

Le cancer est la deuxième cause de décès après les maladies cardiovasculaires, le cancer du poumon à lui seul représente la cinquième cause de mortalité et avec la pollution et notre hygiène de vie, le cancer devient de plus en plus fréquent et pourrait même constituer la première cause de mortalité dans le monde.

Les cellules ont une durée de vie limitée avec une mort cellulaire programmée, cependant lors de la présence d'un facteur cancérigène il agit sur les cellules avec des perturbations qui sont d'habitude réparées mais parfois elles vont devenir cancéreuses. Ces cellules vont devenir complètement disjonctées et vont avoir des formes anormales, vont se multiplier sans aucun respect de l'apoptose et vont attaquer des cellules avoisinantes pour laisser place à des cellules filles. Elles vont aussi sécréter des substances pour les renforcer comme des facteurs de croissance et enrichir la vascularisation et enfin vont métastaser.

I-2 : Type de cancer :

Les types de cancer dépendent de l'endroit où l'organe (cellules) de sa naissance :

-Carcinome : C'est la tumeur qui prends naissance au niveau de l'épithélium, on retrouve le carcinome baso cellulaire et le spinocellulaire (cancer de la peau).

-Sarcome : C'est une tumeur maligne développée aux dépens du tissu conjonctif tels que le cartilage et les muscles on parle de l'ostéosarcome.

-Leucémie : lorsque les cellules tumorales apparaissent au niveau des cellules de la moelle osseuse (les cellules souches du sang) qui se transforme en cellules souches lymphoïdes ou myéloïdes (les plaquettes et les globules rouges).

-Lymphome : C'est un cancer qui apparait au niveau des ganglions lymphatiques, la rate et le thymus

I-3 : Les facteurs de risque de cancer :

I-3-1 : Les facteurs liés aux comportements :

-Le tabac : C'est le facteur de risque évitable le plus important, il est responsable de plus de 80% des cancers du poumon

-La consommation d'alcool : Est responsable de plus 8000 nouveaux cas de cancer du sein, du pharynx, de la cavité buccale et du foie.

-L'alimentation : L'excès de viande rouge et de sels augmente le risque du cancer colorectal et de l'estomac

-L'exposition excessive des ultra-violet : L'exposition aux UV du soleil ou des cabines de bronzage est un facteur bien connu de cancer de la peau

I-3-2 : Les facteurs liés à l'environnement :

-Des polluants d'origine physique ou chimique :

Il existe plusieurs polluants parmi les quels :

-Les radiations ionisantes : les rayons X lors de radiographie

-Les métaux lourds : l'amniate, le chrome et le glyphosate le plomb

-Les pesticides : DDT

-Les polluants atmosphériques : les particules fines dans le diesel

-Des agents infectieux :

Parmi ces agents on trouve le HPV, EVB, le virus des hépatites B et C, les bactéries Helicobacterphylori et le VIH, ils sont à l'origine de plusieurs types de cancers comme le cancer du foie, des lymphomes non hodgkiniens et hodgkiniens et le sarcome de Kaposi.

I-3-3 : Les risques liés à l'individu et son histoire :

-**L'Age** : Plus le temps s'écoule, plus le nombre de lésions susceptibles de s'accumuler dans les cellules augmente avec plus de possibilités d'avoir un cancer.

-**Les hormones** : L'imprégnation hormonale de l'organisme au cours de la vie peut modifier le risque de certains cancers, essentiellement le cancer du sein.

-**Une origine héréditaire** : Due à la présence des mutations génétiques transmissibles au sein des familles, des mutations congénitales et constitutionnelles

I-4 : Les symptômes de cancer :

Une fois la tumeur installée elle va commencer à donner une douleur prolongée, dysfonctionnement d'organes, une perte d'appétit, fatigue, nausées et vomissement récurrents, perte de poids inexplicquée avec parfois du sang dans les urines et des sueurs nocturnes. Cependant, ces symptômes peuvent être encore plus nombreux et variés en fonction de chaque cancer.

CHAPITRE II :

II- Les anticancéreux :

L'une des principales cibles des traitements anticancéreux est l'ADN car c'est le cœur de la vie de la cellule, c'est pourquoi lorsqu'on veut détruire une cellule on agit directement ou indirectement sur cette cible (ADN). Les agents anticancéreux peuvent interagir avec l'ADN par différentes manières parmi les quelles :

La liaison à l'ADN (agents alkyles) en bloquant la biosynthèse des constituants de l'ADN ou bien en interagissant avec les systèmes de réparation de l'ADN : inhibiteur de topo isomérase 2.

II-1 : La doxorubicine :

La doxorubicine est un antibiotique de la famille des anthracyclines le plus utilisé, elle est produite par des bactéries du genre *Streptomyces*, elle est connue sous le nom d'adriamycine (ADR) ou encore 14-Hydroxydaunorubicine. Elle fonctionne en ralentissant ou en arrêtant la croissance des cellules. Il est non seulement connu par son efficacité dans la chimiothérapie mais aussi dans le traitement de diverses tumeurs comme les hémopathies malignes, les tumeurs du sein, de l'ovaire, des voies biliaires, de la prostate, de l'estomac et du foie. (Nikitovic et al 2014) (Van Dalen et al.2014)

II-1-1 : Chimie :

La DOX correspond à la formule chimique brute $C_{27}H_{29}NO_{11}$, sa masse molaire est de 543,525g/mol. Elle comporte une structure poly aromatique plane et est composée d'une fraction chromophore aglycone qui consiste en quatre cycles dont deux sont des cycles aromatiques. Cette aglycone est liée par une liaison glycosidique (glycosique) à une fraction sucre (aminosucrose) qui est assidue de l'hydro-solubilité de la molécule. (Carvalho et al.2019) (Tremblay,2018).

Ça structure chimique est représentée sur la figure 01 :

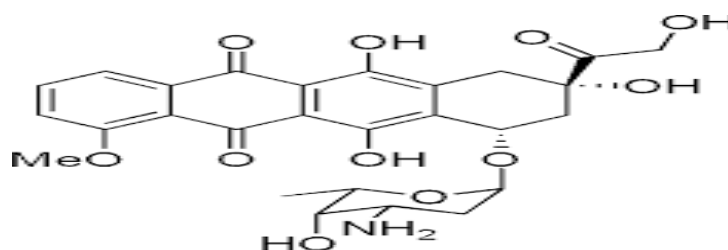


Figure 1 :Structure chimique de la doxorubicine.(Nikitovic et al 2014)

Plusieurs efforts ont été consacrés pour la compréhension de l'action de ce médicament pour maximiser les avantages cliniques et minimiser les risques associés à cet agent.

II-1-2 : Mode d'action de la DOX :

Une fois que la DOX migre à l'intérieur du noyau, elle agit sur les cellules cancéreuses selon plusieurs modes d'action parmi lesquels :

-Intercalation dans la molécule d'ADN : elle s'intercale préférentiellement dans les sites adjacents aux paires de base Guanine-Cytosine à cause de la formation d'une liaison d'hydrogènes spécifique entre la DOX et la Guanine. Ceci induit à un écartement des paires de bases permettant l'intercalation de la DOX. La partie glucidique de ce médicament interagit avec les protéines régulatrices de l'ADN et modifie la structure tridimensionnelle de l'ADN, de ce fait la DOX empêche la fixation de certains enzymes ce qui inhibe la réplication et donc l'apoptose.

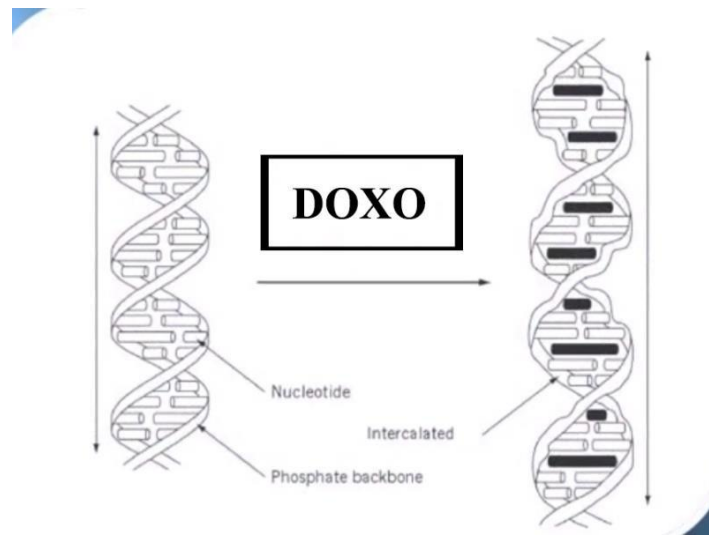


Figure 2: Intercalation dans la molécule D'ADN (encycl. ; britannica)

-Inhibition de l'enzyme topo-isomérase II : son action est liée à l'effet inhibiteur de la topo-isomérase 2 qui est une enzyme impliquée dans le maintien de la structure tridimensionnelle de l'ADN lors de phénomènes de transcription et de réplication, elle agit en produisant un pont phosphodiester transitoire qui permet de créer un axe permettant d'éliminer le surenroulement de l'ADN, la DOX se lie avec la top 2 par des liaisons covalentes stables (irréversibles) pour former un complexe topo-isomérase 2-ADN-DOX ce qui provoque l'arrêt du cycle cellulaire. Ainsi il n'est pas juste de dire que la DOX inhibe la topII car cette protéine est essentielle à l'effet cytotoxique. Il est plus juste de dire que la DOX empoisonne la topII, lui permettant d'agir mais de façon erronée (M. Francone et al, 2009). Ce mécanisme est décrit dans la figure 03.

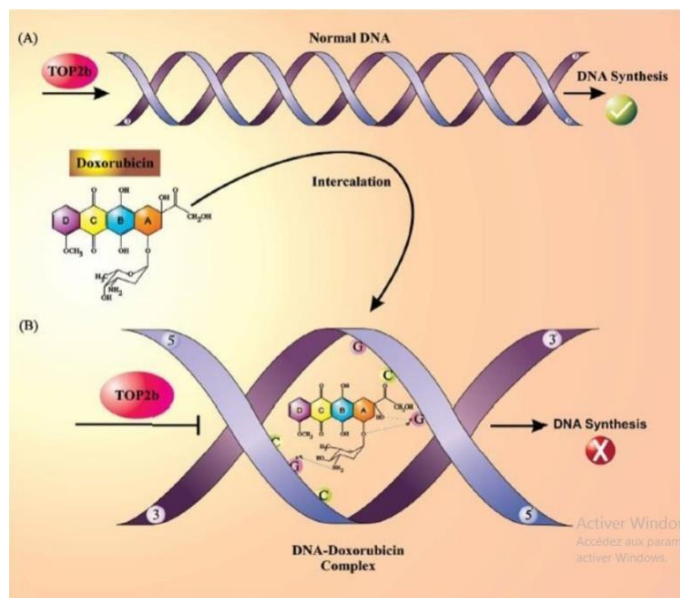


Figure 3: Le mode d'action de la DOX par intercalation dans la molécule D'ADN(Mobaraki et al ,2017).

-Interaction avec la membrane plasmique : La DOX a une forte affinité pour les membranes lipidiques à travers lesquelles elle diffuse passivement. Elle s'associe directement avec les phospholipides par interaction ionique. Sa présence au sein de la bicouche lipidique peut altérer la structure et la fonction membranaire en modifiant les interactions lipides-lipides et lipides-protéines, la DOX peut ainsi exercer son action cytotoxique directement en modifiant les propriétés de fluidité membranaire. (Lubgan et al, 2006).

*Il existe d'autres anticancéreux qui perturbent le fuseau mitotique et étouffent la division cellulaire parmi lesquels le Paclitaxel (PTX).

II-2 : Le Paclitaxel :

Le PTX est un diterpène naturel extrait à l'origine de l'écorce de l'if du Pacifique *Taxus brevifolia*, il est répandu dans l'Ouest américain mais dont la croissance est lente. Sa production est très limitée car 10 kg d'écorce fournissent seulement 1 g de médicament, ainsi il faut abattre plusieurs arbres centenaires c'est pour cela que ce produit est maintenant obtenu par héli-synthèse à partir de la 10-desacétyl-baccatine III, extraite des feuilles d'if. (Serpil Sariozkan et al, 2017) ; Avec sa faible solubilité dans l'eau, il est nécessaire d'utiliser des solvants spécifiques comme l'huile de ricin un détergeant potentiellement allergisant par libération d'histamine. Vendu sous le nom de taxol il fait partie de la famille des poisons du fuseau et avec son analogue le docétaxel (DTX), extrait de *Taxus baccata* (if européen), ils forment la classe des taxanes.

Le DTX et le PTX figurent parmi les médicaments chimio thérapeutiques les plus efficaces. Ils ont le même effet et exercent leurs influences thérapeutiques par la polymérisation de la tubuline monomère, ce qui entraîne un arrêt mitotique, l'induction de la phosphorylation de Bcl-2, une protéine produisant des effets anti-apoptotiques, et la mort cellulaire. Ils ont tous les deux un large spectre d'activité anti tumorale et ils sont largement utilisés dans le

traitement de différents types de cancers tels que le cancer du sein, le cancer broncho-pulmonaires, cancer avancé de l'estomac, le cancer de la tête et du cou, et le cancer de la prostate métastatique. (Serpil Sariozkan et al,2015)

II-2-1 : Structure chimique de PTX :

Le PTX, est un pseudo-alcaloïde diterpénoïde, il est constitué de deux molécules : un cycle taxane avec un cycle latéral oxétane à quatre chaînons à l'extrémité du cycle en positions de C4 et C5 est une chaîne latérale ester homochirale. La chaîne latérale en C13 joue un rôle crucial, car il s'agit de la partie active qui se lie aux microtubules, stabilise les faisceaux de tubuline et stimule le désassemblage des microtubules de façon indépendante de la guanosine triphosphate(GTP). En conséquence, la prolifération cellulaire est donc inhibée par l'arrêt du cycle cellulaire à la limite métaphase/anaphase et par la formation d'une plaque de chromosomes incomplète en métaphase, induite par de la dynamique des microtubules. Des recherches ont conclu qu'un anneau de taxane intact et une chaîne latérale ester sont essentiels pour l'activité cytotoxique. (Serpil Sariozkan et al,2015)

Formule : C₄₇H₅₁NO₁₄

Masse molaire : 853,906 g/mol

Numéro CAS : 33069-62-4

Point d'ébullition : 957,1 °C

Classe thérapeutique : Chimiothérapie

Demi-vie d'élimination : De 6 à 20 heures

Solubilité : 50 g·L⁻¹ DMSO. Sol dans l'éthanol

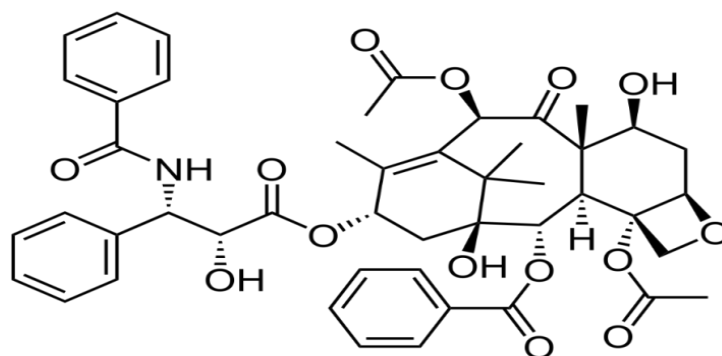


Figure 4: Structure chimique du PTX(Serpil Sariozkan et al,2017)

II-2-2 : Mécanisme d'action :

Le Taxol présente un mode d'action unique, il agit comme un agent stabilisant les microtubules qui sont des corps creux cylindriques, la principale fonction des microtubules est la formation du fuseau mitotique pendant la division cellulaire. En outre, ils sont nécessaires pour le maintien de la structure cellulaire, de la motilité et du mouvement cytoplasmique à l'intérieur de la cellule. La synthèse de la tubuline et l'assemblage des microtubules ont lieu pendant la phase G2 et la prophase de la mitose. Dans un cas normal, ce processus est en équilibre. Les microtubules de taille fixe de 24 nm des faisceaux sont formés et le processus de multiplication cellulaire a lieu, le taxol rend les faisceaux plus stables avec une taille de 22 nm. De ce fait, un processus défectueux de polymérisation se produit. Les cellules cancéreuses manquent d'un point de contrôle pour détecter l'absence de fuseau pour poursuivre le cycle cellulaire, ce qui conduit à la mort des cellules endommagées. Soudeh Ghafouri et all (2021)

CHAPITRE III :

III-L 'effet des anticancéreux sur le sperme :

III-1 : Définition de la spermatogenèse :

Correspond à la production de spermatozoïdes (gamètes masculin) qui se déroule au sein des testicules au niveau des tubes séminifères. Ces derniers sont composés de cellules somatiques (cellules hyoïdes et cellules de Sertoli) et de cellules germinales (spermatogonies, spermatocytes et spermatide), elle début à la puberté et ne cesse qu'à la mort. Il faut environ 72 jours pour qu'une spermatogonie donne naissance à un spermatozoïde.

Ce processus de passage des spermatogonies aux spermatozoïdes se déroule en 3 étapes :

- *La prolifération et la différenciation des spermatogonies (cellules germinale souche diploïdes)
- *La méiose donne les spermatocytes (un spermatocyte donne quatre spermatides haploïdes)
- *La différenciation des spermatides en spermatozoïdes (cellules haploïdes spécialisées)(I-Berthaut, C. Ravel,2010) (figure 05)

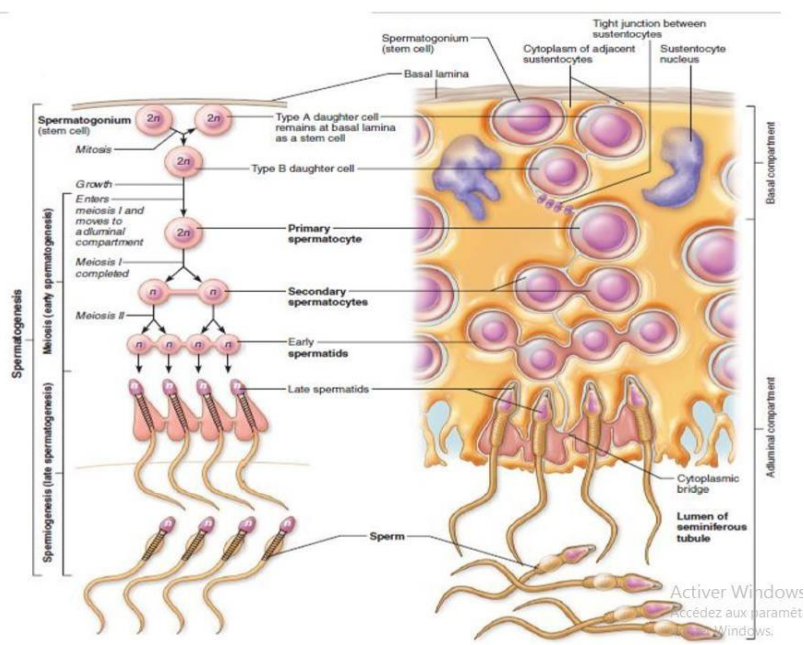


Figure 5 : La spermatogenèse (Marieb et al. 2007)

III-1-1 : La spermiogénèse :

C'est la dernière étape de la spermatogénèse, c'est la phase de maturation des spermatides pour donner naissance aux spermatozoïdes. Cette dernière phase permet au spermatozoïde d'acquies des outils nécessaires à la fécondation (flagelle et acrosome) et de modifier son noyau ; (figure06).

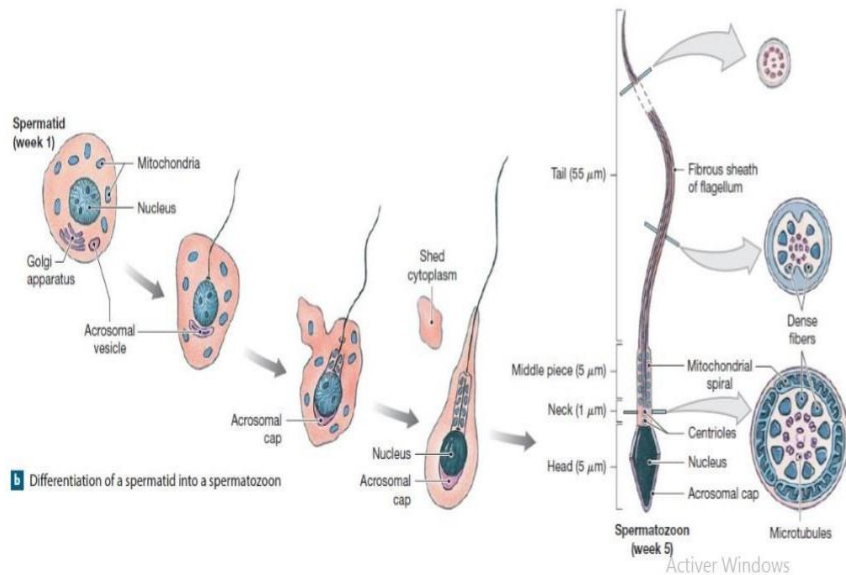


Figure6 : spermiogénèse avec transformation d'une spermatide en spermatozoïde (Maritini et al. 2012)

III-2 : Production de sperme :

Après la maturation du spermatozoïde, ils seront libérés à l'intérieur des tubules séminifères et vont être stockés dans l'épididyme où ils vont terminer leur maturation (acquisition de la mobilité). Lors de l'éjaculation, les spermatozoïdes (ainsi que les sécrétions de l'épididyme) vont passer dans les canaux déférents, se mélanger avec les sécrétions des vésicules séminales puis de la prostate ce qui permet la formation du sperme. Le sperme passe ensuite dans l'uretère et est éjaculé vers l'extérieur au niveau du gland.

III-3 : Caractéristiques de sperme :

Le sperme est un liquide expulsé par le pénis lors de l'éjaculation, habituellement il a une couleur blanchâtre voire un peu jaune. Il peut avoir même un goût et une odeur différents selon l'animal mais aussi selon l'alimentation. Il est constitué de spermatozoïdes et surtout du liquide séminal qui est chargé de les nourrir et de les véhiculer. L'objectif est d'atteindre l'ovocyte et de participer à la fécondation et pour ce faire il doit entreprendre un long trajet, et le succès de cette entreprise repose sur des cellules structurellement et fonctionnellement saines.

III-4 : La morphologie des spermatozoïdes :

III-4-1 : La tête :

Elle contient le noyau haploïde avec une chromatine hautement compactée qui est responsable du transfert des informations héréditaires de l'ADN. L'acrosome, qui est un granule exocytotique avec des enzymes protéolytiques qui aident à dissoudre la zone

pellucide de l'ovule. La Membrane plasmique qui entoure l'acrosome et le noyau pour les séparer du reste du corps, elle comporte des niveaux élevés d'acide gras polyinsaturés. A l'intérieur du spermatozoïde se trouve une petite quantité de cytoplasme.

III-4-2 : La pièce intermédiaire :

C'est la région qui est constituée de mitochondries produisant l'ATP nécessaire au métabolisme et aux mouvements du flagelle. Elle contient le rapprochement des pronucliesmale et femelle (formation du spermester) et la fabrication du premier fuseau mitotique du zygote (œuf fécondé). Le centriole proximal servira à fournir tous les organites du futur zygote.

III-4-3 : La queue :

C'est la région locomotrice, elle se fixe sur la tête via la pièce intermédiaire. Le flagelle permettra au spermatozoïde de remonter dans les voies génitales femelles.

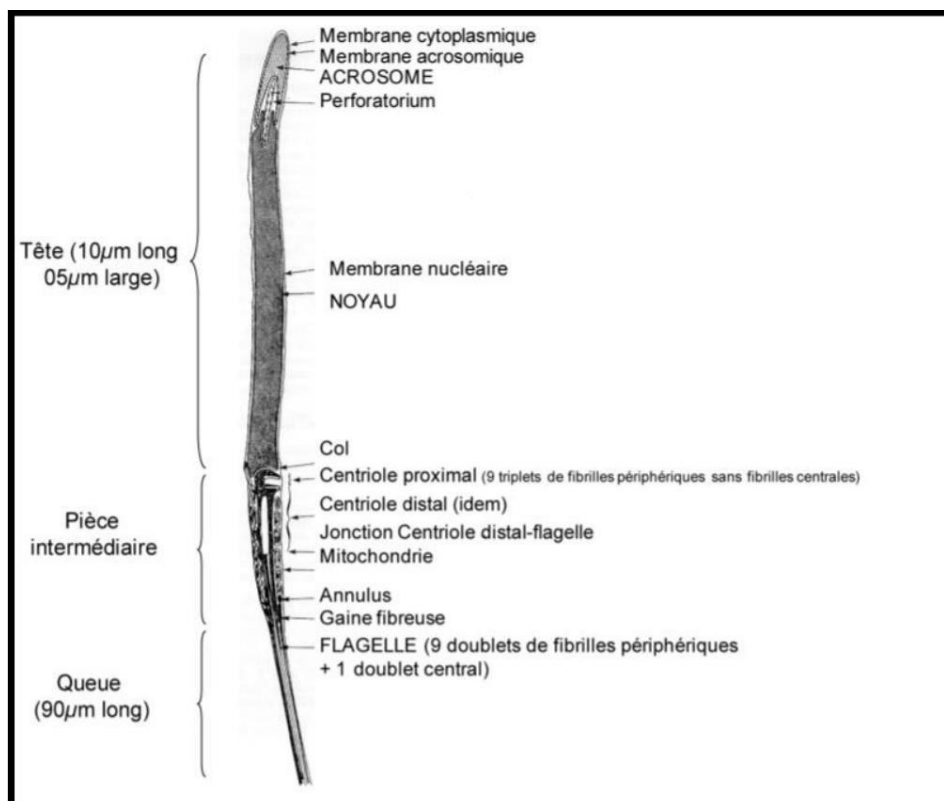


Figure7 : Ultra structure d'un spermatozoïde de coq (De Reviers M. 1988)

*L'évaluation de la mobilité des spermatozoïdes est réalisée au sein de notre travail par le CASA.

III-5 : CASA :

Correspond à une analyse assistée par ordinateur de la cinétique des spermatozoïdes.

Ce système permet d'étudier la mobilité d'un grand nombre de spermatozoïdes simultanément, la standardisation et l'assurance de distinguer la qualité des semences.

Le CASA est constitué d'une caméra fixée sur un microscope et couplée à un ordinateur avec un logiciel spécifique de traitement de vidéos. La capture d'images est réalisée en contraste de phase afin de mieux visualisée la tête des spermatozoïdes à partir de laquelle la trajectoire est constituée par les coordonnées en X et Y du centre de gravité des spermatozoïdes. L'ensemble des données ainsi acquises permet de disposer de paramètres du mouvement SPZ par SPZ permettant d'afficher les distributions (histogramme) pour chacun des paramètres et de fournir les valeurs moyennes et écart type. (Albert M et al, 2009 ; Amann R et Katz, 2004).

III-6 : Impact des anticancéreux sur la reproduction :

Il existe deux types d'effets secondaires des traitements chimio thérapeutiques :

-Effets à courte terme : ils sont pour la majorité transitoires et disparaissent au bout de quelques jours et au maximum quelques mois après le traitement. Parmi ces effets on observe : les nausées et des vomissements, une perte d'appétit, un amaigrissement Et des réactions allergiques. Ces effets doivent être particulièrement bien gérés pour éviter les complications aiguës.

-Effets à long terme (tardifs) : ils apparaissent des mois ou des années suite à la chimiothérapie, la plupart disparaissent d'eux-mêmes ou peuvent être traités, mais certains risquent de durer longtemps ou d'être permanent.

Tableau I: Les risque en fonction de type de chimiothérapie

Haut risque	Risque moyen	Risque faible
Cyclophosphamide Ifosfamide Chlorméthine Busulfan Melphalan Procarbazine Dacarbazine Chlorambucil Moutarde azotée, oncovin	Cisplatine Carboplatine Doxorubicin Bléomycin, étoposide, cisplatine (BEP) Adriamycine, bléomycine, vinblastine,	Vincristine Méthotrexate Dactinomycine Bléomycine Mercaptopurine Vinblastine

(vincristine), procarbazine, prednisone (MOPP)	dacarbazine (ABVD)	
---	-----------------------	--

***Facteurs affectant la fonction testiculaire lors de la chimiothérapie :**

Plusieurs facteurs peuvent être incriminés parmi lesquelles :

-Age : Augmentation du risque chez les enfants non pubères

-Dose : Fortes doses + effet cumulatif sur la prolongation de l'azoospermie

- Les médicaments :

-Haut risque : cyclophosphamide, ifosphamide, chlométhine, busulfan, melphalan, procarbazine, chlorambucil

-Risque moyen : cisplatine, carboplatine et doxorubicine

-Faible risque : méthotrexate, vincristine, fluorouracile, bombicine, dactinomycine et ~~vite~~

III-6-1 : Effets de la chimiothérapie sur les cellules souches spermatogonie (SSC) :

La fertilité masculine s'appuie sur la continuité du processus de spermatogenèse, ce dernier est maintenu par auto-renouvellement et la différenciation des cellules souches spermatogonie (SSC), leurs fonctions est diminuée après exposition à la chimiothérapie avec une perturbation de la spermatogenèse qui se manifeste par une sous fertilité ou une infertilité. (Jon M. et al ,2011)(M. Munoz et al ,2016).

III-6-2 : Effets de la chimiothérapie sur l'ADN spermatique :

La chimiothérapie induit la fragmentation de l'ADN associé à un entassement anormale et une altération de la chromatine avec une atteinte du protéome du sperme (Guillaume M et al) et une cassure des brins d'ADN. Aussi, on observe des perturbations des fusseaux qui induit des anomalies chromosomiques affectant la méiose (spermatocyte1, spermatogonies différenciées) ou la phase post-méiotique.(Guillaum M et al ,2016) , (Louis B et al ,2014) avec une activation des cascades de mort cellulaire (Soudeh et al,2021).(Marvin L et al,2003).

III-6-3 : Effets de la chimiothérapie sur les cellules :

-Chez l'enfant :

La gonadotoxicité des alkylants est plus remarquable chez les garçons que les filles ; pour les filles le risque gonadotoxique le plus élevé est lorsqu'un traitement a lieu en période pubertaire que pré pubertaire car il risque d'y avoir une ménopause précoce après chimiothérapie. Chez les garçons, le traitement en phase pré-pubertaire n'est pas exempt de risque de gonadotoxicité, les effets toxiques s'exerçant de façon différent et variable sur les différents types cellulaires présents dans les gonades. L'épithélium germinal des tubes séminifères est le plus altéré et le plus sensible aux cytotoxiques, les cellules de leydig sont

les moins sensibles aux agents, mais les spermatogonies peuvent totalement disparaître, les cellules de sertoli sont les seules qui continuent à fonctionner. Certains patients peuvent présenter un déficit en hormones sexuelles secondaire et un début de puberté retardé et un petit volume testiculaire (Cheuvreau et Huget, 1995 ;Niels J, 2009 ;Barnier et al ,2012).

-Chez l'adulte :

Une altération des cellules de sertoli se traduit par une azoospermie marquée chez les hommes qui ont subi un traitement durant leur enfance ainsi qu'une réduction du nombre de spermatozoïdes associée à une augmentation des taux d'hormone folliculostimulante(FSH). De même, la fonction des cellules de Leidig est altérée avec la diminution du taux plasmatique de testostérone et une augmentation importante du taux de l'hormone lutéinisante(LH) (Marion D et al, 2020).

III-6-4:Effet de la chimiothérapie sur la spermatogenèse et spermatocyte:

Le traitement par chimiothérapie agit de façon non spécifique sur toutes les cellules en phase de renouvellement rapide, de ce fait la chimiothérapie induit des altérations grave de la spermatogenèse (Jurgen et al, 1990 ; Marvin et al, 2013 ; Marion D et al 2020).

III-7 : Effet de stress oxydative :

Le stress oxydatif est une augmentation des radicaux libres de l'oxygène qui provoque des dommages cellulaires irréversibles tels que la peroxydation des lipides ainsi que la dénaturation oxydative des acides aminés et des bases azotées entraînant une perte de fonction et d'intégrité.

La cellule spermatique est sensible aux dommages oxydatifs à cause de la richesse de sa membrane en acides gras polyinsaturés (AGPI) qui sont une cible très facile des radicaux libres qui vont former des peroxydes lipidiques. Lors de leur accumulation dans la membrane,ils vont entraîner la diminution de la perméabilité cellulaire.

La peroxydation lipidique est un phénomène général qui se produit dès la présence de l'oxygène dans des membranes cellulaires, tous les lipides contenant des acides gras insaturés quelle que soit leur origine sont concernés L'augmentation des niveaux de produits de peroxydation lipidique joue un rôle dans les phases précoces de la croissance tumorale par les attaques radicalaires de l'ADN qui vont provoquer des mutations carcinogènes. Faber et al. (1995) et Huang et al. (1999) ont montré que les patientes atteintes d'un cancer du sein présentent des taux de MDA plus élevés, indicateurs de la peroxydation lipidique. La LP peut se faire par deux réactions différentes. L'une implique $3O_2$, est une réaction en chaîne à radicaux libres avec 3 étapes (initiation par les radicaux libres, propagation et terminaison). Et l'autre par l'oxygène singlet qui est en état métastable, une réaction rapide avec addition directe d'oxygène aux doubles liaisons des acides gras,

Le PTX induit la génération des ROS et augmente l'hydroperoxyde qui est un produit primaire de la LP, en augmentant l'activité du nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADPH) oxydase. Pour minimiser le stress oxydatif, il est fait recours aux antioxydants.

III-7-1 : Les antioxydants :

Au sens large, ils représentent l'ensemble des molécules susceptibles d'inhiber directement la production ou de limiter la propagation ou neutraliser les ERO.Ces antioxydants peuvent agir en réduisant ou endismutant ces espèces en les piégeant pour former un composé

stable. Une fois les taux des ERO fortement baissés, les systèmes enzymatiques interviennent et permettent la réparation.

Il existe 3 types de défenses :

- les enzymes qui existent à l'état endogène, défendent les cellules contre les radicaux libres.

- les protéines chélatrices du fer : ce système bloque les ions métalliques impliqués dans la réaction de Fenton.

- les molécules antioxydants : (piégeurs de radicaux libres comme la vitamine E connue pour son activité anti radicalaire très puissante. Elle intervient au niveau des membranes lipidiques. Comme d'autres molécules piègeuses on peut citer la vitamine C, l'acide urique, le glutathion, qui seront développer ainsi de suit :

III-7-1-1 : La vitamine E :

C'est une molécule largement distribuée dans la nature, elle est présente dans les aliments d'origine animale plus que d'origine végétale. Elle est stable à la chaleur et à la lumière en absence d'oxygène. Cependant, elle s'oxyde facilement en quinone en présence d'oxygène, c'est le composé naturel dont l'activité vitaminique est la plus élevée. Elle possède des propriétés anti-inflammatoires, elle stimule le système immunitaire et aide les cellules à combattre l'infection. L'organisme l'utilise pour son activité antioxydant En raison de son caractère liposoluble, elle est capable de réduire rapidement les radicaux lipidiques avant que ceux-ci n'attaquent les acides gras polyinsaturés présents dans les membranes lipoprotéiques et cellulaires. Elle est responsable de la rupture de la chaîne de peroxydation lipidique en donnant des atomes d'hydrogène à la chaîne de transport des radicaux alkyls $R\bullet$, aux radicaux peroxydes $ROO\bullet$. Elle protège également la membrane des spermatozoïdes pendant la dilution et la conservation par la congélation du sperme. Ainsi, en augmentant l'apport alimentaire de vitamine E on augmente la quantité de VE dans le sperme et par conséquent la stabilité des membranes des spermatozoïdes. (Karrer et al, 1938 ; saural, 1992 ; Simic et al ,1992 ; Hopiaet al, 1996 ; Bourgeois, 2003 ; Traber et al, 2006).

III-7-1-2 : La vitamine C :

La vitamine C ou l'acide ascorbique, est un antioxydant soluble dans l'eau, elle est présente dans de nombreux végétaux. La fonction biologique de la vitamine C est reliée à son efficacité comme un agent réducteur ou un donneur d'électron ; elle intervient en particulier comme un cofacteur d'enzymes dans différentes synthèses, elle est stimulatrice du système immunitaire, un réducteur du fer, et elle joue le rôle dans la détoxification des xénobiotiques. L'acide ascorbique neutralise les radicaux en cédant un électron suivi d'un proton afin de conduire à une réduction chimique aboutissant à la formation d'un produit non radicalaire et le radical ascorbyle, ce dernier est relativement stable et est caractérisé par une faible réactivité en raison de la stabilisation résonance de son électron non apparié (Burns, 1959 ; Wells et Jung, 1997).

III-7-1-3 : La combinaison des vitamines E et C :

La vitamine E en tant que molécule liposoluble se localise dans les membranes, et la vitamine C en raison de son hydrosolubilité se localise dans la phase aqueuse et est capable de recycler la VE. Elle répare le radical tocophéroxyle de la VE en transférant un électron et un proton sur le radical tocophérol permettant ainsi à la VE de fonctionner à nouveau comme un antioxydant brisant la chaîne des radicaux libre (Buettner, 1993 ; Paolisso et al, 1995)

Tableau II: Tableau récapitulatif des principaux antioxydants et de leurs mode d'action (Powers et Jakson, 2008).

Catégories d'antioxydant	Nom	Modes d'action principaux
Enzymatiques	SOD	Piège $O_2^{\cdot -}$
	GPx	Inactive H_2O_2 et ROOH
	CAT	Inactive H_2O_2
	PON1	Répare lipides oxydés des LDL
Non enzymatiques liposolubles	Vitamine E	Piège $O_2^{\cdot -}$ et OH^{\cdot} , lutte contre lipoperoxydation (piège ROO°)
	Caroténoïdes	Inactivent O_2 piège ROO°
	CoQ10	Lutte contre lipoperoxydation, recycle vitamine E
Nom enzymatiques hydrosolubles	Vitamine C	Piège certaines ERON, recycle la vitamine E
	GSH	Cofacteur de GPx, protection des protéines thiols par S-glutathionylation
	Acide urique	Piège certaines ERON (donne e^-)
	Bilirubine	Inactive H_2O_2 , Lutte contre lipoperoxydation (piège ROO°)
	Acide α -lipoïque	Piège certaines ERON, chélate métaux libres, recycle la vitamine E et la vitamine C
	Métaux de transition	Cofacteurs de SOD (Cu, Zn, Mn), GPx (Se) et CAT (Fe)

MATERIEL ET METHODES

III : Matériel et méthodes :

III-1 : Matériel :

La partie expérimentale de notre travail est réalisée au niveau du Laboratoire de Recherches des Ecosystèmes Marins et Aquacoles à l'Université Abed Rahman Mira Bejaia.

Le matériel, appareils et produits utilisés durant l'expérimentation sont présentés dans le tableau III.

III-1-1 : Matériel biologiques :

La semence utilisée était collectée par un massage dorso-abdominal des coqs au niveau d'une ferme située à Takerietz.

Tableau III: Matériels ,appareils et produits utilisée

Appareils	Réactifs et produits chimiques	Matériel
- CASA -un agitateur -une balance -vortex magnétique	-tris -vit C -vit E -Nacl -sperme de coq -eau distillé -PTX -DOX	-micropipettes -Pipettes -lame et lamelle -des tubes secs -Tubes eppendorfs -un bicher -Barreaux magnétique -les embouts



Figure 8: Vitamine C et E



Figure 9: Sperme pure



Figure 10: Ensemble de matériel



Figure 11 : Eau distillée



Figure 12 : PTX



Figure 13 : Vortex

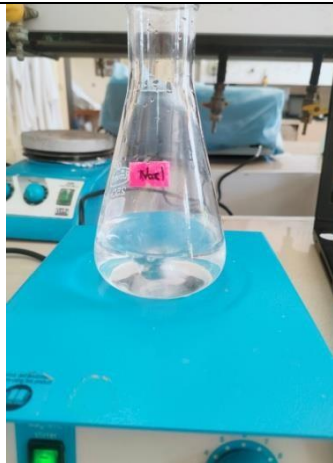


Figure 14 : NaCl



Figure 15 : PTX



Figure 16 : Micropipette

III-2 : Méthodes :

III-2-1 : Préparation des anticancéreux :

Dans notre protocole, nous avons utilisé deux types d'anticancéreux (DOX et PTX) ont été récupéré au niveau du service d'oncologie du CHU de Bejaia, les concentrations utilisé ont été choisie en respectant la norme des doses administrées en clinique humaine (6mg/ml). Pour étudier l'effet du paclitaxel et de la doxorubicin nous avons utilisé une concentration finale de 0,6mg/ml (et ceci par le dissoute de PTX ou DOX dans 10ml de NaCl pour obtenir une concentration de 0,6mg/ml, pour chaque anticancéreux). (Mammeri et al.2021).

III-2-2 : Préparation des vitamines C et E :

Pour étudier l'effet protecteur des vitamines nous avons utilisé les concentrations de 0,4mg/ml et 1mg/ml respectivement pour les vitamines C et E. Les étapes d'exécution du protocole expérimental sont représentées ci-dessous.

III-2-3 : Préparation de la solution de la vitamine C :

On dissout 4mg de la poudre lyophilisée de la VC dans 10ml de solution de tris pour obtenir au final une concentration de 0,4mg /ml.

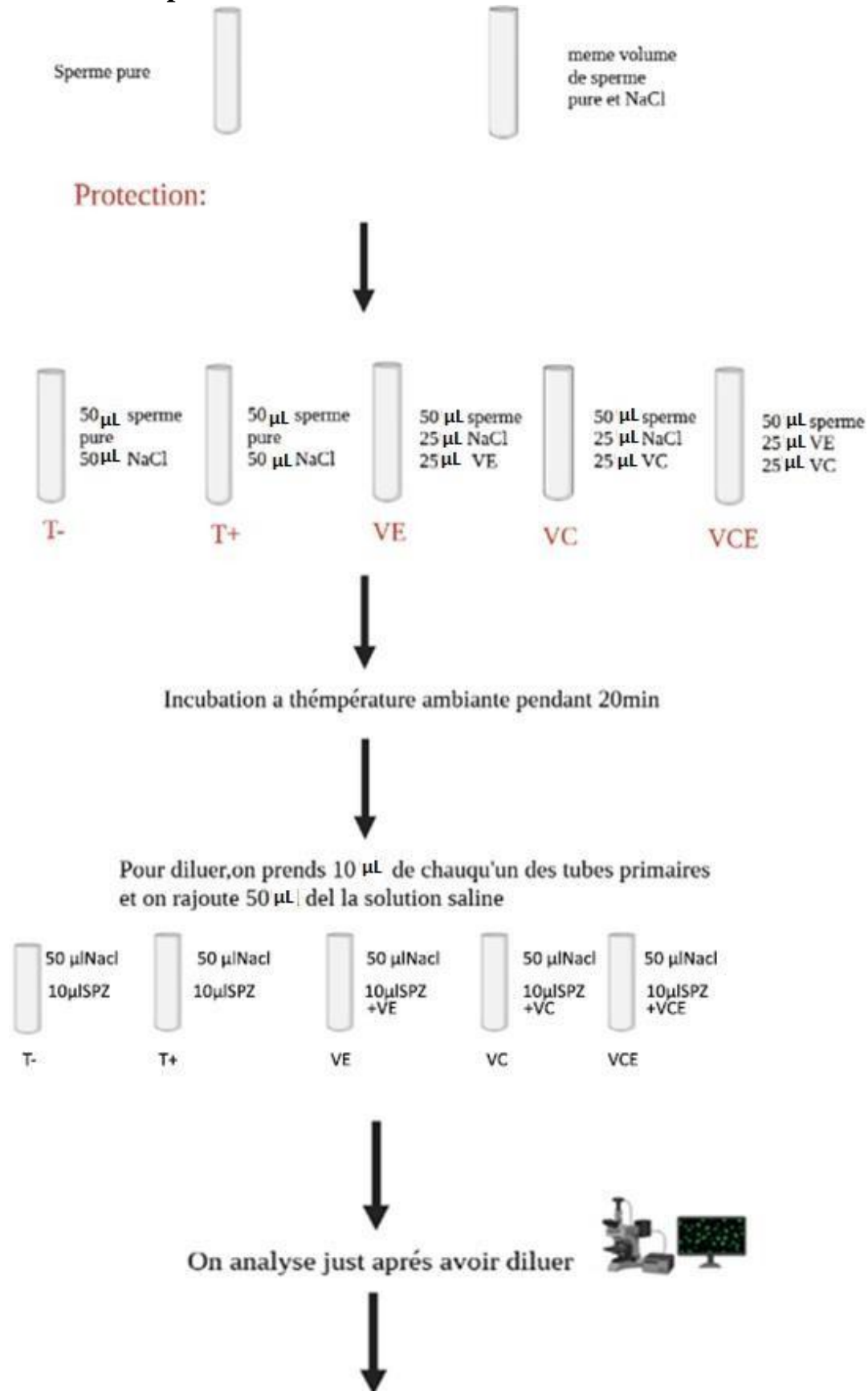
III-2-4 : Préparation de la solution de la vitamine E :

On dissout 1mg de la poudre lyophilisée de la vitamine E dans 10ml de la solution tris pour obtenir au final une concentration 1mg/1ml

La VE est très sensible à la lumière et à l'air c'est pour ça quand doit la bien protéger ainsi que d'améliorer sa solubilité dans les milieux aqueux.

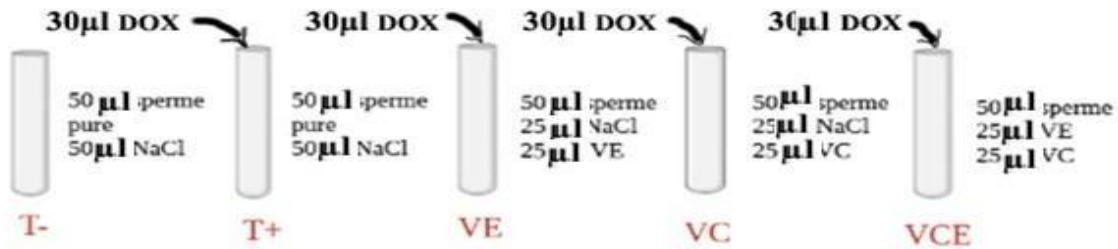
Dans notre expérimentation, nous avons utilisé le sperme de coq. Le sperme collecté est répartie en cinq tubes qui sont : Témoin (-) négatif, Témoin (+) positif (DOX ou PTX), vitamine C, Vitamine E, et l'association des deux vitamines C et E. Le protocole est représenté sur le schéma ci-dessous.

Protocole expérimental :

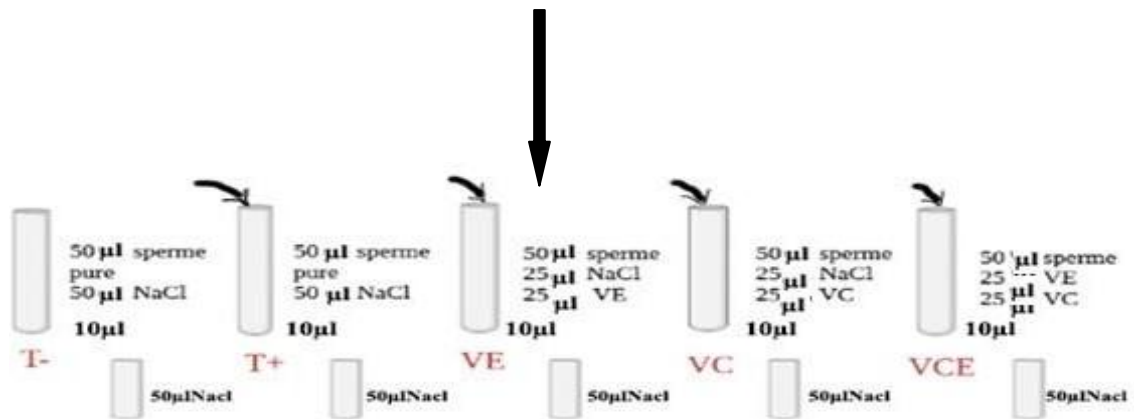


Induction:

on ajoute un volume de 30 μ l de DOX dans les tubes précédentes sauf le T-



On prend 10 μ l de chaque tube précédent et on le dilue avec NaCl



On Vortex puis on commence à analyser avec la CASA

On met 10 μ l de la solution sur une lame et couvrir avec une lamelle

T0=0min T1=15min T2=30min T3=45min T4=60min



NB : on réalise le même protocole avec l'anticancéreux PTX avec un volume de 60 μ l et on analyse Just au temps T0

II-3 : Analyse statistique :

Pour l'analyse statistique nous avons utilisé deux logiciels qui sont : « STATVIEW : SAS Institute Inc. Version5 » et JAMOVI pour la représentation descriptive des données brutes

RESULTATS ET DISCUSSION :

IV-Résultats et discussion :

IV-1 : Résultats :

Cette étape est consacrée pour présenter les résultats obtenus durant le travail en ce qui concerne d'une part l'étude de l'effet protecteur des antioxydants vitamine E et C seuls ou en association et d'autre part l'impact des antis tumoraux sur la cellule spermatique.

Le CASA nous a permis de générer des données quantitatives du mouvement du sperme qui est un paramètre important qui aide à déduire son état physiologique et les risques qu'il subit par les agents exogènes, et de produire des résultats objectifs qui permettent de connaître l'effet des différents traitements sur la qualité de sperme.

IV-1-1 : L'impact des anticancéreux PTX et DOX a T0 :

Après avoir traité les spermatozoïdes en suivant le protocole montré ci-dessus ; la mobilité a été analysée après 0min (Ct qui est le control a T0), après incubation de 15min (T1) on analyse pour avoir l'effet de DOX sur la motilité spermatique et ainsi de suite, (30min(T2),45min(T3) et à 60min(T4)).

Les anticancéreux ont affecté la motilité des spermatozoïdes, et on a observé une diminution significative à T0 dès l'ajout des anticancéreux (PTX et DOX)

IV-1-3 : L'effet protecteur de la vitamine C et E :

IV-1-3-1 : Effets sur le PTX a T0 :

Pour le PTX l'effet protecteur sur les spermatozoïdes est très remarquable illustré sur les figures ci-dessous. Une augmentation significative de la mobilité du sperme avec la vitamine E a été observée déjà à T0. De même, l'association des deux vitamines à protéger la mobilité contre les effets négatifs du PTX.

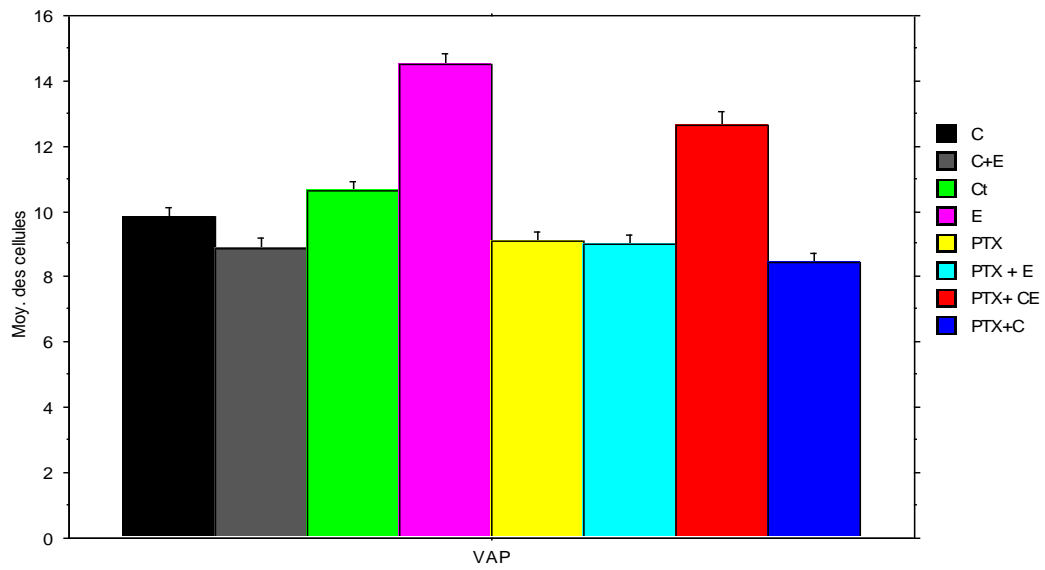


Figure 17: Histogramme représentant des valeurs de VAP en fonction des différents groupes de traitement

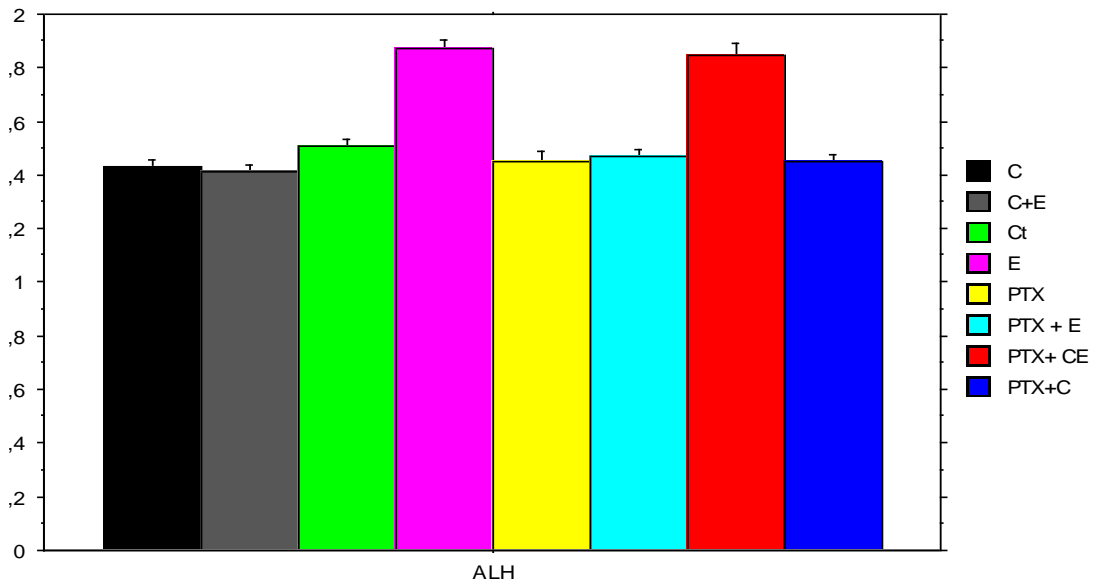


Figure 18: Histogramme représentant des valeurs ALH en fonction des différents groupes de traitement

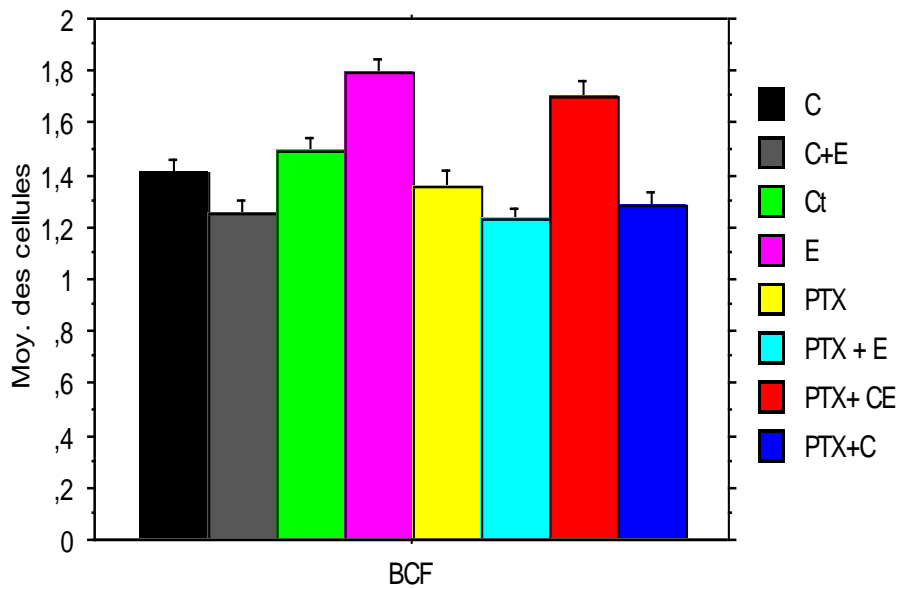


Figure19: Histogramme représentant des valeurs de BCF en fonction des différents groupes de traitement

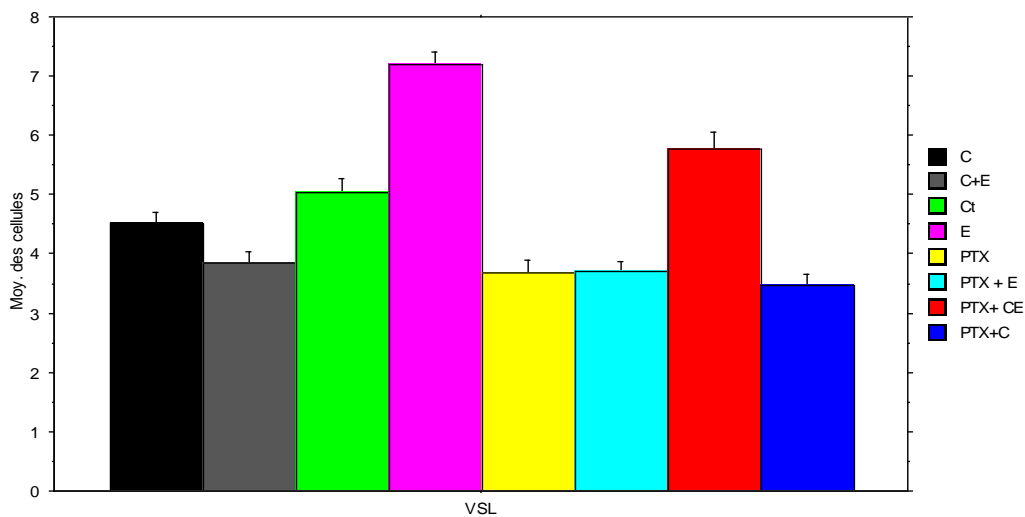


Figure20: Histogramme représentant des valeurs de VSL en fonction des différents groupes de traitement

IV-1-3-2 : Effets sur le DOX :

En analysant les graphes qui concernent la DOX, on observe que l'effet protecteur des vitamines est remarquable a T2 et cela dans le traitement de la vitamine C seul et une augmentation progressive de la mobilité des spermatozoïdes au fur à mesures des 4 temps où elle est maximum T4.

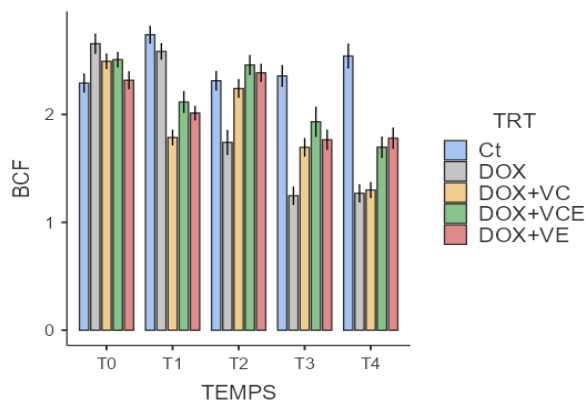
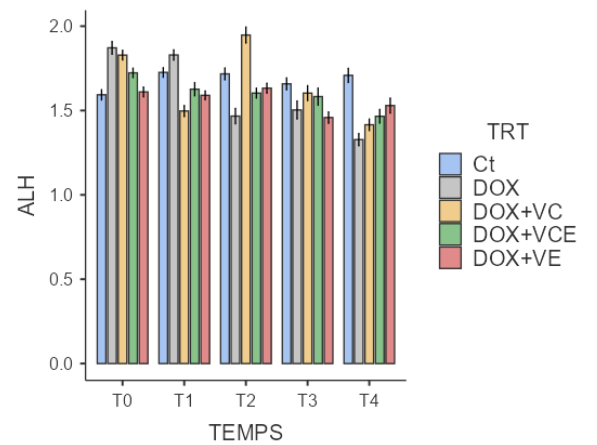
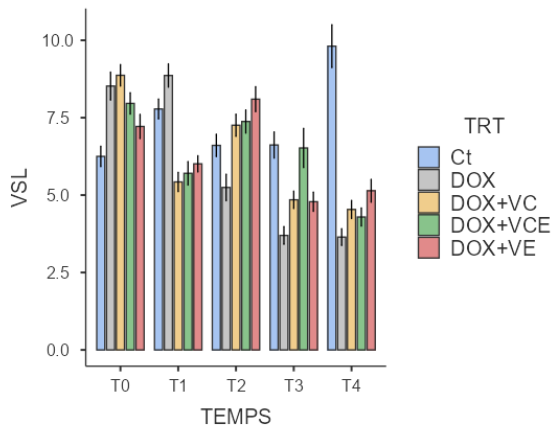
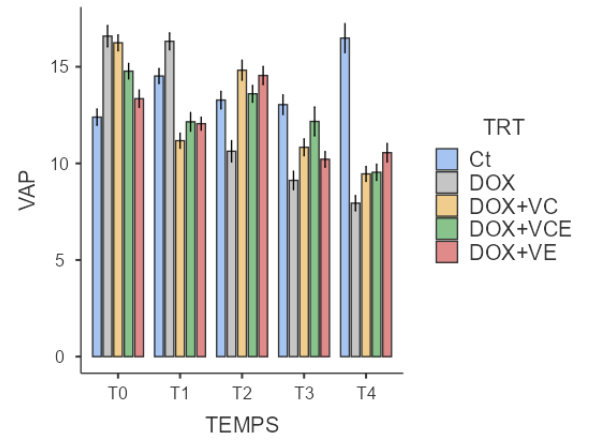
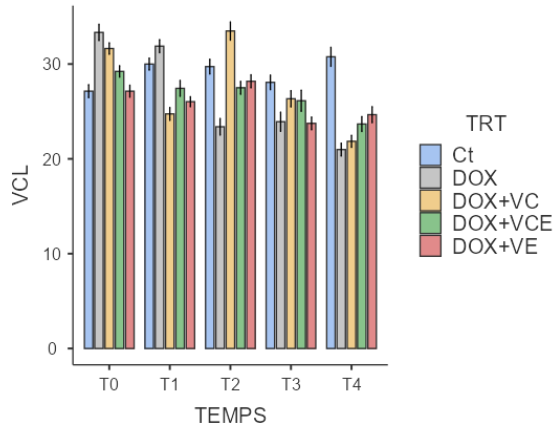


Figure21: Histogramme représentant les différents paramètres spermatozoaires mesurés pour l'effet de la DOX dans les différents groupes de traitement

IV- 2 : Discussion :

Bien que les craintes des personnes atteintes de cancer aient légèrement diminué en raison de l'utilisation d'agent anticancéreux, mais le risque est toujours présent lié à ces molécules qui en détruisant les cellules cancéreuses, affectent également certaines cellules saines à renouvellement rapide (les cellules en division) en particulier les cellules souches germinales dans les testicules ce qui induit une infertilité.

Cependant, les données restent encore insuffisantes en ce qui concerne l'effet direct de la chimiothérapie et ces antiplastique sur les spermatozoïdes ainsi que leurs mécanismes moléculaires qui conduisent à ces altérations.

C'est ainsi quel objectif de notre étude consiste d'une part à étudier pour la l'impact direct de Paclitaxel et Doxorubicin sur la mobilité des SPZ et d'étudier le mécanisme moléculaire impliqué dans l'altération de cette mobilité spermatique, et d'autre part, évaluer l'effet protecteur des antioxydants, vitamine C et /ou E.

Dans la littérature il est rapporté que 50% des survivants à longue terme d'un cancer infantile traités avec la DOX ou une autre anthracyclines, sont 8fois exposés aux problèmes de santé à l'âges adulte comme de l'infertilité, l'insuffisance cardiaque et autres qui peuvent être irréversibles. (Torres, V M, Simic, V. D. (2012).

Suite à la toxicité induite par les anticancéreux, il est mis en place des stratégies pour minimiser ces effets indésirables notamment par l'utilisation des antioxydants non enzymatique solubles et non solubles.

Les vitamines C et E seules ou en association semblent bénéficier d'une bonne efficacité auprès des patients atteints de cancer. Il est ainsi possible qu'une supplémentation en ces traitements puisse interférer avec la mort cellulaire induit par la chimiothérapie (Audrey Thomas-Schumann (2011).

CONCLUSION :

V- Conclusion :

Ce mémoire avait pour ambition d'une part d'étudier l'effet des molécules anticancéreuses (DOX et PTX) sur la cellule spermatique, d'autre part, évaluer l'effet protecteur des antioxydants vitamines C et/ou E à l'égard de la toxicité induite par les deux anticancéreux.

Cette étude a permis de mettre en évidence les effets négatifs des anticancéreux DOX et PTX et l'effet protecteur des vitamines C et E sur la mobilité spermatique. En effet nous avons observé une diminution significative des groupes traités par les anticancéreux DOX et PTX par rapport au groupe témoin (T-). Particulièrement l'association des vitamines E et C a montré un meilleur effet protecteur contre les anticancéreux testés.

Au final, il apparait essentiel de trouver une stratégie efficace pour lutter contre les effets secondaires indésirables des agents chimio thérapeutiques en utilisant des molécules antioxydants avant et /ou pendant la chimiothérapie. Ces informations ainsi que les résultats du présent travail permettent d'envisager plusieurs perspectives de recherche notamment évaluer l'effet d'associé plusieurs vitamines sur la mobilité spermatique et le développement de méthodologie efficace en vue de préserver la fertilité masculine.

REFERENCE

BIBLIOGRAPHIQUE

Références bibliographiques :

Liste des références :

- Christian Mayer et Roger Rouvier, insémination artificielle des volailles, 2009.
- Vandana Srivastava, Arvind Singh Negi J. K. Kumar, M. M. Gupta and Suman P. S. Khanuja;(2005) Plant-based anticancer molecules: A chemical and biological profile of some important leads.
- Soudeh Ghafouri-Fard, Hamed Shoorei, Atefe Abak, Mohammad Seify, Mahdi Mohaqqiq e, Fatemeh Keshmirf, Mohammad Taheri, Seyed Abdulmajid Ayatollahi. (2021). Effects of chemotherapeutic agents on male germ cells and possible ameliorating impact of antioxidants.
- Serpil Sariozkan, Gaffari Turk, Ayse Eken, Latife Çakir Bayram, Ayse Baldemir, Gulden Dogan. (2017). Gilaburu (*Viburnum opulus* L.) fruit extract alleviates testis and sperm damages induced by taxane-based chemotherapeutics. *Biomedicine et pharmacotherapy*.
- Albert M, Auer J, Auger J, de Almeida M, Dulioust E, Eiss D et al. Exploration de fonction de reproduction versant masculin (internet). BIOFORMA Formation continue des biologistes ; 2009p .222 .ReportNo. :42. Disponible sur : [http : //www.quali-bio.com/CahiersCdl/cahier42.pdf](http://www.quali-bio.com/CahiersCdl/cahier42.pdf).
- Amann ,R., Katz,D.(2004). Andrology lab corner :Reflections on CASA after 25 years. *Journal of andrology*,25.doi :10 ,1002/J.1939-4640.2004.tb02793.x.
- Amann RP, Waterski D. (2014). Computer-assisted sperm analysis (CASA): Capabilities and potential developments. *Theriogenology*. 81:5-17.e3.
- Areeg M. Abd-Elrazek, Heba A. El-dash, Noha I. Said. (2019). The role of propolis against paclitaxel-induced oligospermia, sperm abnormality, oxidative stress and DNA damage in ??Testes of male rats.
- Audrey Thomas-Schoemann, Francois Lemare. (2011). Use of antioxidant and other complementary medicine by antitumor chemotherapy: a prospective study.
- Bélnier, c. v, Bujan L, Dubois D, Galam B, Clair Izard V, Martélli H et Rives N. (2012). Conséquences des traitements des cancers et préservation de la fertilité, état des connaissances et proposition. France: Institut nationale du cancer et l'agence de la biomedicine.
- Beth A. Weaver. (2014). How Taxol/paclitaxel kill cancer cells. DOI:10.1091/mbc.E14-0916.

- Burns L. Joan E Hodgman, Alonzo B Cass (1959). Faral circulatory collapse in premature infants receiving chloramphenicol. *New England journal of medicine* 261 (26), 1318-1321.
- Caner Ozturk , Mehmet Borzkurt Atman .(2018). Effect of paclitaxel and resveratol on New Zealand rabbit semen. *Journal of Reproduction*:10.4103/2305-0500.246345.
- CevikGurel,GokceCerenKuscu,AylinBuhur,MelihDagdeviren,FatihOltulu,NefiseUlkuKarabayYavasoglu and AltugYavasoglu,(2019). Fluvastatin attenuates doxorubicin-induced testicular toxicity in rats by reducing oxidative stress and regulating the blood–testis barrier via mTOR signaling pathway.
- Chevreau, C., & Huguet, F. (1995)). TRAITEMENT ANTICANCEREUX~ FONCTION DE REPRODUCTION ET SEXUALITE, Chimioth6rapie anticanc4reuse et fertilit4 masculine. *Andrologie*, 4(5), 458-464.
- El Hajjami H(2017), Infertilit4 masculine : profil 4pid4miologique et clinique (à propos de 123 cas).
- Guillaume Martinez, PhD. Marie Walschaerts, PhD. Marine Le Mitouard, B.Sc.RemiBorye, M.Sc. Claire Thomas, M.D. Jacques Auger, M.D., PhD. Isabelle Berthaut, PhD. Florence Brugnon, M.D., PhD. Myriam Daudin, M,i Nathalie Moinard, D.Pharm.,Celia Ravel, M.D., Ph.D. Jacqueline Saias, M.D.l Ethel Szerman, Ph.D.Nathalie Rives, M.D., Ph.D.SylvianeHennebicq, M.D., Ph.D. and Louis Bujan,M.D.,Ph.D.(2016).Impact of lymphoma on spermatogenesis and spermdeoxyribonucleicacid :à multicenterprospectinestudyfrom the GECOS network.
- I-Berthaut*, C.Ravel*(2010).Effects of treatments and male fertilitypreservation.Correspondances en onco-h4matologie_vol_v-n°4octobre _novembre_d4cembre 2010, p 212,213,214, 215, 216, 217, 218.
- Jon M.Oatley and Ralph L. Brinster. (2011). Thegermline steam cell niche unit in mammalian testes, by *physiol rev* 92:577-595, 2012, doi:10.1152/physrev.00025.
- JurgenH.Bramswig,MD,UlrikeHeimes,MD,ElisabethHeiermann,MD,WernerSchlegel,phD,EberhardNieschlag,MD,and Gunther Schellong,MD.(1990).The effects of Different Cumulative Doses of Chemotherapy on Testicular Function .
- Louis Bujan, M.D., Ph.D., Marie Walschaerts, Ph.D., Florence Brugnon, M.D., Ph.D. MyriamDaudin, M.D., Isabelle Berthaut, Ph.D., Jacques Auger, M.D., Ph.D., Jacqueline Saias, M.D., Ethel Szerman, Ph.D., Nathalie Moinard, Pharm., Nathalie Rives, M.D., Ph.D., and SylvianneHennebicq, M.D., Ph.D.(2014). Impact of Hodgkin or non –Hodgkin lymphoma and their treatments on sperm aneuploidy: à prospective study by the franch GECOS network..
- Lubgan D, Merzak A , Walazak M, Distel L and Jazwaik Z.(2006) pharmacological mechanism of doxorubicin activity (DOX)-current state of knowledge.*Przegllek* .63(9):782-8.

- M. Munoz • A. Santaballa • M. A. Segur' • C. Beato • S. de la Cruz • J. Espinosa⁶ • P. J. Fonseca • J. Pere • T. Quintanar • A. Blasco. (2016). SEOM Clinical Guideline of fertility preservation and reproduction in cancer patients.
- Mameri, A., Bournine, L., Mouni, L., et al. (2021). Oxidative stress as an underlying mechanism of anticancer drugs cytotoxicity on human red blood cells membrane. *Toxicology in Vitro* 72: 105106.
- Marion delessard, Justine saulnier, Aurélie Rive, Ludovic Dumont, Christine Rondanino and Nathalie Rives .Exposure to chemotherapy during childhood or adulthood and consequences on spermatogenesis and mal fertility,20 February 2020.
- Maroc. France, C Bucciarelli.Ducci, I. Carbone., E Canali, R, journal of the American college of Cardiology. (2009).Impact of primary coronary angioplasty delay on myocardial salvage, infarct size and microvascular damage in patients.
- Marvin L Meistrich (NOV, 2013) Effects of chemotherapy and radiotherapy on spermatogenesis in humans, *Fertilsteril*.
- Marvin L.Meistrich.BhagyalaxmiMohapatra.CynthiaR.Shirley.Ming Zhao (2003), Roles of transition nuclear proteins in spermiogenesis.
- Mechri A. Amrani A, Benabderrahmane w, Benaissa O, Boubekri N, Zama D, Benayache F. Benayache S.(2018). Les polyphenols de l'extrait n-butanol de *Crataegus oxyacantha*:évaluation de leur pouvoir antioxydants et protecteur vis-à vis de la doxorubicine
- Mobaraki, M .,Faraji,A., Zare,M., Dolati,P.,Ataei,M.,Dehghan Manshadi ,HR.(2017).Molecular mechanisms of cardiotoxicity:A review on the major side-effects of. Doxorubicin. *Indian J pharm SR*,79(3) :335-344.
- Niels J .van Casteren,Geert H.M .van der Linder,FriederikeG.A.J.Hakvoort-Cammel,KarelHahlen,GertR.Dohle and Marry M. van den Heuve-Eibrink(2009),Effect of childhood cancer treatment on fertility markers in adult male long-term survivors,*Pediatr Blood Cancer* ;52:108-112.
- Pinar Ili, Fikret Sari, Mustafa NumanBucak, Caner Ozturk, SukruGungor, Mehmet Bozkurt Atman. (2019). DNA damaging of paclitaxel in the epididymal as a chemotherapeutic agent and possible remedies to prevent this effect: A study on reproductive potential of male cancer patients of reproductive age.
- SerpilSariozkan, Gaffari Turk ,AyseEken , LatifeÇakirBayram ,AyseBaldemir, Gulden Dogan.(2017). Gilaburu (*Viburnum opulus* L.) fruit extract alleviates testis and sperm damages induced by taxane-based chemotherapeutics.*Biomedicineet pharmacotherapy*.
- SerpilSariozkan, Gaffari Turk, Mehmet Guvenc,AbdurraufYuce, SaimOzdamar, FazileCanturk et ArzuHanim Yay.(2016). Effect of cinnamon (*C.zeylanicum*) bark oil against taxanes –induced damages in sperm quality, testicular and epididymal oxidant/antioxidant balance, testicular apoptosis, and sperm DNA integrity

- SoudehGhafouri-Fard, HamedShoorei, AtefeAbak, MohammadSeify, Mahdi Mohaqiq e, FatemehKeshmirf, Mohammad Taheri, SeyedAbdulmajidAyatollahi. (2021). Effects of chemotherapeutic agents on male germ cells and possible ameliorating impact of antioxidants.
 - Torres, V. M., Simic, V. D. (2012). Doxorubicin-induced oxidative injury of cardiomyocytes-do we have right strategies for prevention? Cardiotoxicity of oncologic treatments. IntechOpen. (1-15p).
 - WW Wells, CheHun Jung. (1997). Regeneration of vitamin C. 109-121.
- Yokota, J. (2000) Tumor progression and metastasis. Carcinogenesis 21(3), 497-503. Nicola Penel;23.02.2022.Cancer:les facteurs de risque .Fondation Arc pour la recherche sur le cancer

RESUME :

L'infertilité masculine est présente partout dans le monde et elle est un sujet de recherche continu. Elle est considérée comme un des effets secondaires de la chimiothérapie avec l'utilisation d'agents chimiques qui tuent à la fois les cellules cancéreuses et les cellules saines. Le PTX et DOX sont des anticancéreux qui affectent les organes reproducteurs mâles par la réduction de leurs poids et l'altération de l'ADN des cellules. Les antioxydants jouent un rôle primordial pour protéger de ces risques. Ainsi, cette présente étude vise à étudier l'impact direct des anticancéreux PTX et DOX et d'évaluer l'effet protecteur des vitamines E et C seules ou en association. Les résultats ont montré que les paramètres de mobilité (VSL, VCL, VAP, ALH et BCF) sont affectés par les deux anticancéreux testés, le PTX et la DOX. Cependant, la mobilité du sperme a été protégée par l'usage des vitamines C et E.

Mot clés : cancer, infertilité, PTX, DOX, VC, VE et mobilité .

ABSTRACT:

Male infertility is diffused all over the world and it is a concern for researchers, it is considered as one of the several side effects of chemotherapy which is based on the use of chemical agents that kill both damaged and healthy cells. PTX and DOX are anticancer drugs that affect male reproductive organs by reducing their weight and altering the DNA of the cells. Antioxidants play an important role in protecting against the risk of cancer, but unfortunately the direct impact of neoplastic agents on spermatozoa and the protective effect of vitamins E and C are still insufficiently described in the literature. In this regard, the present study consists of studying the direct impact of anticancer agents and evaluating the protective effect of antioxidants, the direct exposure of spermatozoa to PTX and DOX and the protective effect of vitamins E and C by measuring the motility parameters (VSL, VCL, VAP, ALH and BCF) using CASA. The results showed that PTX and DOX significantly affected sperm motility compared to the control and the combination of the two vitamins was remarkable at T0 for PTX and for DOX the VC is a better protector at T2. In the end, anticancer drugs exert a negative effect on fertility and antioxidants have the ability to reduce this effect

Key words: cancer, infertility, PTX, DOX, VC, VE and mobility.

