REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES

Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de **Master**

En Sciences de la nature et de la vie

Spécialité : Biologie et Pathologie Cellulaire

Par :

- Bousalem Imen **- Hateb Amira Nadjet**

Thème :

« Etude épidémiologique, anatomopathologique et immunohistochimique du cancer du sein et essai in vitro des produits de la ruche»

Soutenue publiquement le : 03 /07 /2023., Devant le jury composé de :

CHAOUATI.karima	**M.C.B**	Univ MEDEA	Président
Salhi Omar	**M.C. A**	Univ MEDEA	Examinateur
ZERGOUG.Amina	**M.C. A**	Univ-MEDEA	Encadreur
RAHMANI.Hamza	**Docteur Pathologiste**		Co-Encadreur

Année universitaire 2022/2023

Remerciements

« La connaissance est la seule chose qui s'accroît lorsqu'on la partage».

*A notre promotrice , **Madame ZERGOUG AMINA**, pour l'aide et les orientations qu'il n'a pas manqué de nous prodiguer lors de la réalisation de ce travail et de nous avoir éclairé par ses compétences scientifique et professionnelle. J'ai pu constater la grande place que vous occupez au sein du Département de Biologie et la grande quantité de travail que vous faites.*

Aux membres de Jury, de nous avoir fait l'honneur d'accepter de juger notre mémoire de Master veillez trouvez ici l'expression de notre grand respect et mes vifs remerciements

*Nous remercions également **Dr RAHMANI HAMZA** pour son aide Sa confiance et pour nous avoir ouvert les portes de son Laboratoire sans aucune limite, et aussi pour son effort, sa Motivation professionnelle, ses conseils, Ses corrections, sa gentillesse et sa patience ainsi pour le temps qu'il a consacré à la réalisation de ce travail.*

*Je vous remercie **Nessrine Et Marwa** Énormément pour vivement de l'accueil chaleureux, et de l'aide précieuse que vous m'avez réservé à chaque fois*

Nous remercions aussi toutes les femmes atteintes de cancer du sein Ce travail n'est pas uniquement l'aboutissement d'études scientifiques, mais aussi le miroir de vos combats incessants contre la maladie

Dédicace

En guise de reconnaissance envers mon DIEU le Tout Puissant

Je dédie ce modeste travail à la communauté scientifique Espérant qu'il lui sera utile.

C'est avec un très grand honneur que je dédie ce travail aux personnes les plus chères au monde

Ma très chère mère ❤ AICHA Zerrouki ❤ vous avez toujours été mon école de patience, de confiance et surtout d'espoir et d'amour. Vous êtes et vous resterez pour moi ma référence, la lumière qui illumine mon chemin

Mon très cher père ❤ ALI ❤ qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie.

A mes frères ❤ Mohamed Amin et Yassin ❤ vous êtes les plus chère dans ma vie et j'espère que Dieu vous protège et guide vos pas vers le succès, je vous aime tellement.

A ma belle-sœur ❤ Hanane ❤ , Mon autre moitié, je ne pense pas pouvoir t'exprimer en quelques mots tout ce que je ressens pour toi. j'espère que Dieu vous protège et guide vos pas vers le succès

A tous mes ami(e)s : Faiza - Fati – Marwa– Abdou et tout mes amis sans exception Le chemin a été long et difficile, mais vous étiez toujours là à sourire. Un grand Merci

A tous mes camarades de promotion sans exception en leur souhaitant plein de succès.

Ainsi que tous mes oncles et tantes, cousins et cousines et toute la famille
❤ Bousalem ❤ et ❤ Zerrouki ❤

A la fin, je dédie très chaleureusement ce travail à Ma binôme

❤ Hateb Amira Nadjet ❤

Je remercie ❤ moi meme ❤ énormément pour cette merveilleuse mémoire et pour tous les efforts déployés au cours des 5 dernières années

Imane

Dédicace

Louange à Dieu, le Tout Puissant, qui nous a permis de mener à bien ce modeste travail. On dit « les mots s'envolent, seuls les écrits restent »

c'est pour cela que je vous écris ces petits mots

À mon cher père « chikh kamel » et À ma mère «chikoulti ». Qui ont toujours été là pour nous, nous les remercions pour leurs sacrifices, leurs amour, leurs tendresse, leurs soutien et leurs prières tout au long de notre cheminement scolaire depuis l'enfance jusqu'à ce stade, que dieu vous prolonge son vie et les rendre toujours fiers de nous Que Dieu le Tout Puissant vous garde.

A Mes frères : ***bassma ,mohamed A mes sœur Qui m'ont toujours confié du courage et qui m'ont soutenue durant les moments difficiles et à qui je souhaite beaucoup de réussite dans leur vie future.***

Vous êtes la lumière de ma vie sans votre présence je pourrai jamais avancer; ma jumelle namla ,na3na3ti ,7aja mghnia ysmin,zi9am .

A mes amies ; rafik, nadjib, skinpo,nadia, Imen ,Amina,kouzin,Yasmine , Nesrine ,Maroua, ,touts promo 2023 BPC

… A la personne que j'aime «y». Qui me font oublier tous mes soucis avec leurs douces paroles et leur charmant sourire enfantin. Merci pour votre amour sans limite.

A ma chère binôme « Imen » a eu la patience de me supporter durant ce mémoire, et qui m'a soutenu et encouragé. A tous ce qui m'aimes Amira zoubigh …

Amira

SOMMAIRE

Résumé……..…… ……..

Introduction ……..……..

Rappel bibliographique……

Chapitre I : Généralités sur le sein

I-1-Anatomie du sein …….1

I-1-2-Configuration Interne……2

I-2- Anatomie du Glande mammaire ……3

II-Histologie ……..4

II-1-Structure du sein ……5

II -2- Structure Histologique du Glande Mammaire ……6

II-3-Développement et évolution de la glande mammaire……..6

III- Physiologie du sein ……..7

IV- Physiopathologie ……..7

IV-1 Définition du cancer du sein ……..7

IV-2-Les différentes étapes de la cancérogénèse ……..7

1-La phase d'initiation…….7

2-La phase de promotion ……8

3-La phase de progression …….8

I- Histologie du Cancer Du Sein …….9

I.1. Classification histologique du cancer du sein……..9

I-1-Carcinomes non infiltrant …….9

I-1-1-carcinome canalaire in situ (CCIS) ……..9

I-1-2-Carcinome lobulaire in situ (CLIS) …….10

I-2-Carcinome canalaire infiltrant ……11

I-2-1-carcinome lobulaire infiltrant ……..12

I-2-2-Carcinome mucineux infiltrant ……12

I-2-3-Carcinome médullaire infiltrant ……13

I-2-4-Carcinome papillaire infiltrant …….13

II- Types de tumeurs malignes mammaires ……14

II-1-Classification TNM……14

II-2-Classification moléculaire …….14

II-3-Les différents grades (classification SBR) ……..15

III-Cancer du sein chez les hommes ……15

IV-les Facteurs de risque ……16

1- Sexe ……16

2- Âge ……16

3- Indice de Masse Corporelle (IMC)…….16

V- Epidémiologie descriptive ……..17

1-Cancer du sein mondial ……..17

2- Dans les pays du Maghreb ……..18

3- Le cancer du sein en Algérie ……19

VI- les stades cancer du sein……...20

VII-Traitement …….22

1-La chirurgie……..22

1-1- La mastectomie ……..22

1-2- La tumorectomie ……..22

2– La chimiothérapie ……22

3-La radiothérapie ……22

4- L'hormonothérapie ……23

Chapitre II Généralités Sur les ingrédients des extrais

I - Les produits de la ruche…….25

I-

1.propolis…….25

I-1-1 Origine et expansion de propolis ……26

I.2.2 Récolte de la propolis……..26

I.2.2.1 Récolte de la propolis par les abeilles……26

2.2.2 Récolte humaine de la propolis ……26

II- Propriétés biologiques et pharmacologiques de propolis……26

II.1 Cosmétique…….26

II.2 Médecine ……27

II.3 Technologie alimentaire……27

III- Effet biologique ……27

1-Action antioxydant ……27

2-Action anti-inflammatoire ……..27

3-Action anticancéreuse …….28

I-2-Pollen ……..28

1-Origine et expansion de pollen……..29

2-La composition chimique du pollen……29

2-1 L'eau……29

2-2- vitamines……29

2-3-Minéraux……30

2-4-Autres composants……..30

3- La description d'une trappe à pollen……30

4-Propriétés biologiques et pharmacologiques de pollen……31

4-1- Action Antioxydant : ……..31

4-2- Action Anti-inflammatoire……..31

PARTIE EXPERIMENTALE

Partie 01 : Aspect épidémiologique du cancer de sein

Objectif ……34

1- Lieux de travail ……...34

2-Période d'étude et Population d'étude…….34

Méthode ……..35

I-Etude Anatomopathologique ……35

I-1-Prélèvement tissulaire ……35

I-2-Enregistrement……36

I-3-Etude macroscopique……36

I-3-1- Dans le cas d'une biopsie ……..36

I-3-2-Dans le cas d'une pièce opératoire…….37

II- Etude microscopique…….47

III-Etude Immunohistochimies…….48

Protocole d'immunohistochimie……49

I.1. Résultats de l'épidémiologie …….52

1- L'année……..52

2-Age……53

3-Sexe……54

4-Le sein gauche ou droit……..55

5- Etude de la fréquence des types histologiques : …….56

6-Grade histopronostique de SBR…….57

II-Aspects anatomopathologiques……58

1 La cytologie ……..58

2-Répartition selon les moyens de diagnostic :……..59

3- répartition des patients selon la taille de la tumeur et stade T du TNM…….60

IV .L'immunohistochimie ……61

III-Etude histologique ……..64

IV -Etude Immunohistochimique ……68

Partie 02 : Essai in vitro des produits de la ruche sur le cancer du sein……71

II. Matériel et méthodes……..72

II.2. Méthode …….72

II.2.1. Echantillonnage ……72

II.2.2. Préparation du matériel …….72

II.2.3. Extraction des composés phénoliques……..73

II.2.3.1. Extraction par macération (propolis brute)……74

II.2.3.2. Extraction par décoction ……78

II.2.4. Analyse quantitative……79

II.2.4.1. Dosage des polyphénols totaux……79

II.2.5. Activités biologiques……..81

II.2.5.1. Activité antioxydante :……81

Etude de l'activité anti-inflammatoire……88

1. Test de dénaturation des protéines (BSA)……..88

2. Stabilisation de la membrane des globules rouges ……89

Résultats et discussion……..92

III.1.Résultats…….92

III.1.1.Extraction …….92

III.1.2.Détermination le rendement……..93

III.2.2.Résultats de dosage des polyphénols……..93

III.1.4.2.Dosage des flavonoïdes :……..94

III.2. Activités biologiques…….94

III.2.1.L'activité anti-oxydante in vitro……95

III.2.1.1. Piégeage du radical libre DPPH……95

III.2.2.L'activité anti-inflamatoire in vitro……95

Inhibition de la dénaturation protéique……95

Inhibition de l'hémolyse des globules rouges……96

Inhibition de l'activité des protéases……..97

Disscussion ……99

Conclusion……101

Références Bibliographiques ……102

Annexes……106

Liste des abréviations

BRCA: Breast Cancergene.

BSA : Bovine Sérum Albumine

AlCl3 : Chlorure d'aluminium

µg EQ/mg : microgramme d'équivalents de quercétine par milligramme.

ug EAG/ mg : microgramme d'équivalents d'acide gallique par milligramme.

CCI : Carcinome Canalaire Infiltrant.

CCIS : Carcinome Canalaire In Situ.

CI : Carcinome Infiltrant « Invasif ».

CIS : Carcinome In Situ.

CLI : Carcinome Lobulaire Infiltrant.

CLIS : Carcinome Lobulaire In Situ.

Cm : Centimètre. **CS : Cancer du sein.**

DPPH : 2,2-Diphenyl-1-(2,4,6-trinitrophenyl)hydrazy.

IHC : Immunohistochimie.

Ki-67: Marqueur de prolifération (Etude réalisée dans la ville de Kiell (Ki) sur un clone de cellules 67).

OMS: Organisation mondiale de la Santé

RE : Récepteur Oestrogénique.

RH : Récepteurs Hormonaux.

RP : Récepteur Progestatif.

SBR: Scarff, Bloom and Richardson.

% : Pourcentage.

Liste des figures

Figure1 : anatomie di sein (*https://ishh.fr/)*

Figure 2 : Configurations internes du sein et aspect fonctionnel (Dr Alain Thille., 2016).

Figure 3: Structure de la glande mammaire (Medical illustrations .Patrick Lynch, 2006).

Figure 4 : Coupe sagittale du sein et de la paroi thoracique (Pierre Kamina. 2011)

Figure 5 : Le développement de la glande mammaire (Houdebin, 1997)

Figure 6 : Carcinome intracanalaire Architecture papillaire. x 300 (Dr. R. Gérard.1981).

Figure 7: Carcinome canalaire in situ. HE, x400 (Dr. R. Gérard.1981).

Figure 8 : Carcinome lobulaire in situ . x 300 (Dr. R. Gérard.1981).

Figure 9 : Carcinome canalaire infiltrant x 300 (Dr. R. Gérard.1981).

Figure 10 : Carcinome lobulaire infillrant. x 300 (Dr. R. Gérard.1981).

Figure 11 :Carcinome mucineux. x 1 00 (Dr. R. Gérard.1981).

Figure 12 : Carcinome médullaire infiltrant *300 (Dr. R. Gérard.1981)

Figure 13 : Carcinome Papillaire > 300 (Dr. R. Gérard.1981)

Figure 14 : Grade histologique du cancer du sein évalué par le système de classement de Nottingham Facteurs immunohistochimiques.

Figure 15 : Taux d'incidence normalisés selon l'âge estimés (monde) en 2020, sein, tous âges (GLOBOCAN 2020).

Figure 16 : Taux estimatifs de mortalité normalisés selon l'âge (monde) en 2020, sein, tous âges -2 (GLOBOCAN 2020).

Figure 17 :Taux d'incidences et de mortalité estimés selon l'âge (monde) en 2020, ALGERIE, les deux sexes, tous les âges (Globocane 2020)

Figure 18: Nombre estimé de nouveaux cas en 2020, Algérie (Globocane 2020)

Figure 19 : les stades cancer du sein (Brierley JD,2007).

Figure 20 : La propolis est utilisée pour Bouclier de protection . (S. Castaldo,2002)

Figure 21: Les grains de pollen (K. J. WILLIS)

Figure 22 : laboratoire d'anatomie et cytologie pathologique Dr. RAHMANI. Hamza à Berrouaghia.

Figure 23 : enregistrement des informations de la malade .

Figure 24 : la réception des prélèvements avec les fiches

Figure 25 : une biopsie

Figure 26: Etapes de la prise en charge macroscopique d'une pièce de mastectomie

Figure 27 : La mise en casettes

Figure28 : Carcinome infiltrant de type non spécifique (prise de vue)

Figure 29: Les différentes étapes de déshydratation.

Figure 30 : incubateur

Figure 31 : Les étapes de l'inclusion (prise de vue)

Figure 32 : le microtome.

Figure 33 : les etapes de la coupe par microtome (prise de vue)

Figure 34 : plaque chauffante

Figure 35 : l'étape de Coloration

Figure 36 : Montage des lames (prise de vue)

Figure 37 : microscope optique LEIKA pour l'observation des lames.

Figure 38 : coupe histologique d'un carcinome infiltrant

Figure 39 : répartition des cancers pendant la période 2020-2023

Figure 40 Répartition des patientes par tranches d'âge

Figure 41 : Répartition des patients en fonction du sexe.

Figure 42 : Répartition des patients selon le sein gauche / droit

Figure 43 : Répartition des patients selon le type histologique du cancer mammaire

Figure 44 : Répartition des patientes selon le grade SBR

Figure45 : Répartition des patients selon la taille tumorale et stade T du TNM.

Figure 46: Répartition des cas selon le statut HER2 et RE.

Figure 47 : Photographies de la prise en charge macroscopique de la pièce mastectomie.

Figure 48 : photographie représentant un carcinome Mucineux

Figure 49 : Photographies par macroscopique de la pièce mastectomie.

Figure 50 : photographie Carcinome mammaire au fort grossissement (1) et infiltration ganglionnaire par la tumeur (2) avec photographie représentant un carcinome canalaire infiltrant non spécifique (3)

Figure 51 : des fragments biopsiques

Figure 52 : L'aspect microscopique d'une biopsie mammaire bien différencié

Fiugure53 : Photographi marquage du marquer ki 67 estimé à 50 % sur carcinome infiltrant de type non spécifique Fiugure54 : Photographies marquage membraine de Her2 .. ici surexprimé : +3

Fiugure 55 : Photographies marquage a l'oestrogène

Figure 56: photographie mrquage progesterone

Figure (57) broyage des echantillon .photo original

Figure 58 : La poudre de propolis brute après le broyage (Laboratoire de SNV Université OUZRA YAHIA FARES. Photo original

Figure 59 la poudre de propolis brute dans le mélange (eau éthanol) (laboratoire de SNV université O

UZRA YAHIA FARES). Photo original

Figure 60 La masse sous agitation

Figure 61 La masse pendant la filtration

Figure 62 : Après la filtration de la masse (laboratoire de SNV université OUAZRA YAHIA FARES). Photo original

Figure 63 : Rota vapeur (Laboratoire de SNV université OUZRA YAHIA FARES)

figure 64 : préparer de solution (Laboratoire de SNV université OUZRA YAHIA FARES)

Figure 65 : (Laboratoire de SNV université OUZRA YAHIA FARES) .photo original.

Figure 66 : : préparation de la solution de DPPH (photo original.)

Figure 67 : préparation des extraits éthanolique.Photo original

Figure 68 : Schéma représentatif du protocole expérimental de l'activité antioxydant

Figure 68 : teneurs en polyphénol totaux des extrais des Echantillon étudiées.

Figure 69 : teneurs en flavonoïdes des extrais des Echantilon étudiées.

Figure 70 : Pourcentages d'inhibitions de la denaturation proteique de l'extrait ethanolique de propolis et du diclofenac de sodium

Figure 71 : Inhibition de l'hemolyse des globules rouges traites par l'extrait ethanolique de la propolis et le diclofenac de sodium (100, 250 et 500 µg/ml)

Figure 72 : Inhibition de l'action de la protease (trypsine) par l'extrait ethanolique de propolis et le diclofenac de sodium (31,25 ; 62,5 ; 125 ; 250 et 500 µg/ml).

Liste des tableaux

Tableau 1: Caractéristiques des principaux sous-types moléculaires (Sami et al. 2016)

Tableau 2 : méthode de Gradin SBR a été modifiée par (Ellis Elston)

Tableau 3 : Incidences ajustées apparaissant sur les registres d'Afrique du Nord (2008) (Belkacemi et al. 2010).

Tableau 4: Répartition des réactifs de la déshydratation dans les bacs de l'automate.

Tableu 5: le protocole de la coloration

Tableau 6 : Répartition des cancers pendant la période 2020-2023

Tableau 7 : Répartition des patientes par tranches d'âge

Tableu 8 : Répartition des patients en fonction du sexe.

Tableau 9 : Répartition des patients selon le sein gauche / droi

Tableau 10: Répartition des patients selon le type histologique du cancer mammaire

Tableau 11: Répartition des cas selon le grade SBR

Tableau12 : Répartition selon les résultats de la cytoponction.

Tableau 13 : Répartition selon les moyens de diagnostic.

Tableau 14 : Plantes étudiées, leur date et région de récolte

Tableau 15 : **Tableau récapitulatif regroupant les rendements des extraits des echantillon étudiées**

Résumé

Le cancer du sein :

résulte d'une prolifération anarchique de cellules au niveau du sein. Ces cellules cancéreuses peuvent rester dans le sein, mais peuvent parfois migrer hors du sein, on parle alors de métastases. Donc est une tumeur maligne qui se développe au niveau de la glande mammaire , peut également toucher les hommes, mais celui-ci est beaucoup plus rare (environ 1 % des cancers du sein) , représente un vrai problème de santé publique avec 1,38 million de nouveaux cas chaque année. Le cancer du sein est le plus fréquent dans le monde chez la femme, c'est la première cause de mort.

Notre travail concerne une série rétrospective de 130 cas de cancer du sein été réalisé au laboratoire d'anatomo-pathologie et cytologie pathologiques (ACP) – Dr. Rahmani Hamza - à Berrouaghia sur une période du fév 2023 au mai 2023. Le but de notre travail est de décrire les caractéristiques épidémiologiques, anatomopathologiques, cliniques et immunohistochimique du cancer du sein à Laboratoire d'anatomie et cytologie pathologiques de Berrouaghia, l'étude histopathologique et enfin l'étude épidémiologique dans cette région

nous avons trouvés le nombre de cancer du sein confirmé que le type histologique carcinome canalaire infiltrant est le plus rependu chez l'ensemble de nos cas étudiés . La tranche d'Age la plus touchée était de 30 à 50 ans avec un taux de 53.07%

Le présent travail avait pour objectif aussi de déterminer le pouvoir antioxydant realiser par un test de DPPH après l'extraction de quelques ingrédients et la mise évidence de la propriété anti-inflammatoire

Dand notre étude est d'une part, d'étudier l'effet anti-inflammatoire de l'extrait ethanolique de la propolis in vitro et d'autre part Nous avons également évalue la teneur moyenne dans notre extrait en polyphénols et en flavonoïde

Mots Clé :

Cancer du Sein – anatomopathologiques – épidimiologie – antioxydant – anti-inflammatoire

Summary

Breast cancer:

results from an anarchic proliferation of cells in the breast. These cancer cells can stay in the breast, but can sometimes migrate outside the breast, this is called metastases. So is a malignant tumor that develops in the mammary gland, can also affect men, but this is much rarer (about 1% of breast cancers) , a real public health problem with 1.38 million new cases each year. Breast cancer is the most common in the world in women, it is the leading cause of death.

Our work concerns a retrospective series of 130 cases of breast cancer carried out at the laboratory of pathological anatomo-pathology and cytology (ACP) - Dr. Rahmani Hamza - in Berrouaghia over a period from Feb 2023 to May 2023. The purpose of our work is to describe the epidemiological, anatomopathological, clinical and immunohistochemical characteristics of breast cancer at the Laboratory of Pathological Anatomy and Cytology of Berrouaghia, the histopathological study and finally the epidemiological study in this region

we found the number of breast cancer confirmed that the histological type infiltrating ductal carcinoma is the most common in all of our cases studied. The most affected age group was 30 to 50 years old with a rate of 53.07%

The present work also aimed to determine the antioxidant power achieved by a DPPH test after the extraction of some ingredients and the demonstration of the anti-inflammatory property.

Dand our study is on the one hand, to study the anti-inflammatory effect of the ethanolic extract of propolis in vitro and on the other hand We have also evaluated the average content in our extract of polyphenols and flavonoids

Keywords:

Breast Cancer – Tumor – epidimiology – antioxidant – anti-inflammatory

ملخص

سرطان الثدي

ينتج عن تكاثر فوضوي للخلايا في الثدي. يمكن أن تبقى هذه الخلايا السرطانية في الثدي ، لكنها قد تهاجر أحيانًا خارج الثدي ، وهذا ما يسمى النقائل. وكذلك الورم الخبيث الذي يتطور في الغدة الثديية ، ويمكن أن يصيب الرجال (أيضًا ، ولكنه نادر جدًا (حوالي 1٪ من حالات سرطان الثدي

يعد سرطان الثدي مشكلة صحية عامة حقيقية مع 1.38 مليون حالة جديدة كل عام. سرطان الثدي هو الأكثر شيوعًا .في العالم بين النساء ، وهو السبب الرئيسي للوفاة

يتعلق عملنا بسلسلة بأثر رجعي من 130 حالة من سرطان الثدي تم إجراؤها في مختبر علم التشريح المرضي وعلم الدكتور رحماني حمزة - في البرواقية على مدار الفترة من فبراير 2023 إلى مايو 2023. الغرض - (ACP) الخلايا من عملنا هو وصف الخصائص الوبائية والتشريحية المرضية والسريرية والكيميائية المناعية لسرطان الثدي في مختبر التشريح المرضي وعلم الخلايا في البرواقية ، ودراسة التشريح المرضي وأخيراً الدراسة الوبائية في هذه المنطقة

وجدنا أن عدد حالات سرطان الثدي أكد أن النوع النسيجي التسلل إلى الأقنية هو الأكثر شيوعاً في جميع الحالات التي .تمت دراستها. الفئة العمرية الأكثر تضررا كانت من 30 إلى 50 سنة بنسبة 53.07٪

بعد استخراج بعض المكونات DPPH يهدف العمل الحالي أيضًا إلى تحديد القوة المضادة للأكسدة التي يحققها اختبار .وإثبات الخاصية المضادة للالتهابات

دراستنا من ناحية ، لدراسة التأثير المضاد للالتهابات للمستخلص الإيثانولي للعكبر في المختبر ومن ناحية أخرى قمنا أيضًا بتقييم المحتوى المتوسط في مستخلصنا من البوليفينول والفلافونويد

:الكلمات الدالة

سرطان الثدي - الأورام - علم الأوبئة - مضادات الأكسدة - مضادات الالتهاب

Introduction générale

Introduction générale

Le cancer du sein occupe le premier rang des cancers chez la femme à travers le monde entier. Son incidence ne cesse d'augmenter malgré les multiples progrès de la science en matière de diagnostic et de traitements. Avec l'augmentation de maladie comme le cancer, les gens recherchent maintenant des médecines complémentaires et alternatives pour traiter la maladie

résulte d'une prolifération anarchique de cellules au niveau du sein. Ces cellules cancéreuses peuvent rester dans le sein, mais peuvent parfois migrer hors du sein, on parle alors de métastases. Donc est une tumeur maligne qui se développe au niveau de la glande mammaire , peut également toucher les hommes, mais celui-ci est beaucoup plus rare (environ 1 % des cancers du sein)

Au cours de ce travail nous avons pu interpréter les résultats de 130 patientes atteintes du sein . A partir des données disponibles des patientes de la Région Médéa :

-en fonction de l'âge ,nous avons trouvé que la tranche d'âge la plus affectée se situe entre 30- 50ans soit 53 % des cas

-Sur le plan clinique, l'atteinte élective du sein gauche (74,61%)

- La prise en charge de ces patientes repose directement sur les données histopathologies et notamment ceux de la biologie moléculaire via l''immunohistochimie

Cette étude sera répartie en trois parties, la première est une étude bibliographique englobant des généralités sur le diabète et la phytothérapie. La seconde partie consiste en une étude épidémiologique dans la wilaya de Médéa ainsi que les essais in vitro de l'activité antioxydant et anti-inflammatoire de la propolis et pollen, et enfin la troisième partie concerne l'étude expérimentale qui présente les résultats obtenus en les discutant pour aboutir à la conclusion et perspectives

Chapitre I

Généralités sur

le sein

I-1-Anatomie du sein

- Définition :

Le sein est un organe constitué d'un tissu graisseux qui repose sur les muscles pectoraux . Il a un rôle important dans l'image corporelle de la femme et l'exercice de sa féminité dans les champs affectif et social. La principale fonction naturelle du sein (ou glande mammaire) est la lactation, autrement dit la production de lait . Le sein est soutenu par la peau et un tissu fibreux qui pénètrent à l'intérieur de la glande mammaire, participant ainsi à leur maintien .**I-1-1Configuration externe :**

Le sein est constitué de 3 zones circulaires concentriques :

• Peau périe-aréolaire

de coloration identique à celle de la peau avec une surface lisse et des veines sous cutanées assez visible au cours de la grossesse et de la lactation, c'est le réseau veineux sous cutané de Haller **(Dr Alain Thille., 2016).**

• Aréole

qui se distingue par sa pigmentation lui donnant une couleur différente de celle de la peau. Elle est de couleur variable selon l'ethnie : rose chez les femmes blondes et rousses, brunâtre chez les femmes brunes et noir mat chez les femmes noires. Elle est le siège des glandes sébacées qui forment des saillies appelées tubercules de Morgagni donnant un aspect irrégulier à la surface aréolaire. Ils s'hypertrophient lors de la grossesse prenant alors l'appel action de tubercules de Montgomery**(Dr Alain Thille., 2016).**

• Mamelon (papille mammaire)

saillant au centre de l'aréole par une forme cylindrique ou conique. La saillie par rapport à l'aréole est d'environ 10mm une largeur basique de 15 mm Au sommet appelée, l'apex, s'embouchent les canaux lactifères au nombre de 15 à 25. La coloration est identique à celle de l'aréole sauf au niveau de l'apex ou elle est un peu plus claire. Le mamelon peut être déprimé dans l'aréole, on dit alors qu'il est ombiliqué. Dans certaines circonstances, le mamelon durcit et devient plus saillant par contracture du sphincter du mamelon, c'est le thélotisme. **(Dr Alain Thille., 2016)**

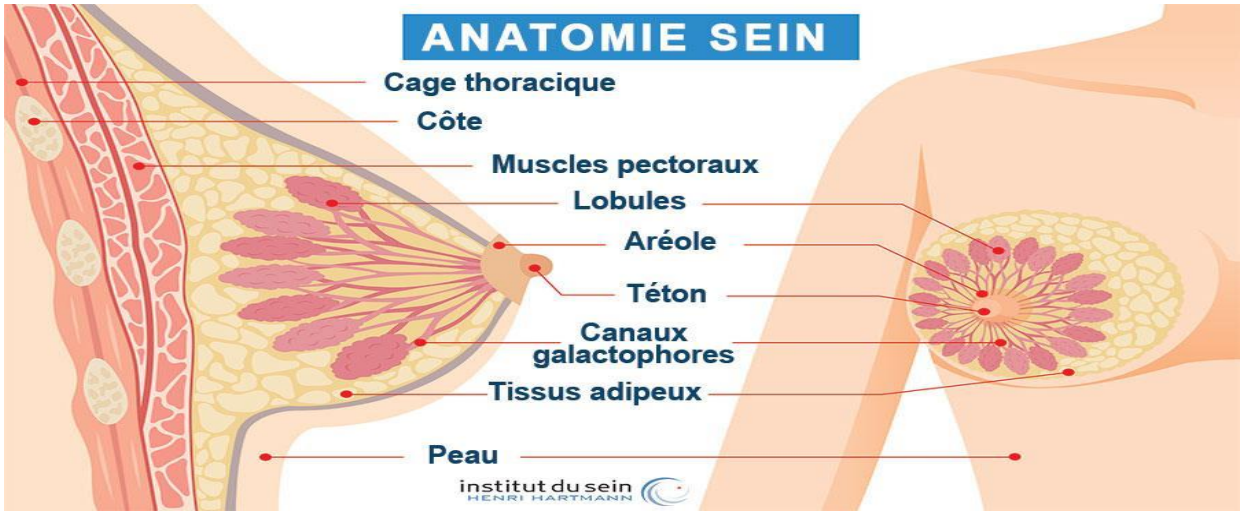


Figure 1 : anatomie di sein (*https://ishh.fr/*)

I-1-2-Configuration Interne :

La glande mammaire est d'aspect gris jaunâtre. Elle est faite d'un parenchyme tubule alvéolaire et est entouré d'un tissu conjonctif dense et adipeux. Elle est de forme semi sphérique avec un léger prolongement super-externe. Elle est divisée par les septums inter lobulaire en lobes qui sont à leurs tours divisés en lobules par les septums inter lobulaires. Elle contient 10 à 20 lobes. Chaque lobe contient 15 à 30 lobules irréguliers et chaque lobule contient, à son tour, 10 à 100 alvéoles. L'unité de base est l'alvéole (acinus). L'alvéole est en forme de cul de sac arrondie à son extrémité et constitue l'unité sécrétrice de la glande Chaque groupe d'acini, agencés en grappe de raisin, se draine par un canal galactophore de 3 ème ordre (canal alvéolaire = canal intra lobulaire). Les acini et leur intra lobulaire forment un lobule qui se draine par un canal gala²ctophore de 2 ème ordre (canal inter lobulaire). Plusieurs lobules adjacents se réunissent pour former un lobe qui se draine par un canal galactophore de 1er ordre. **(Dr Alain Thille., 2016)**

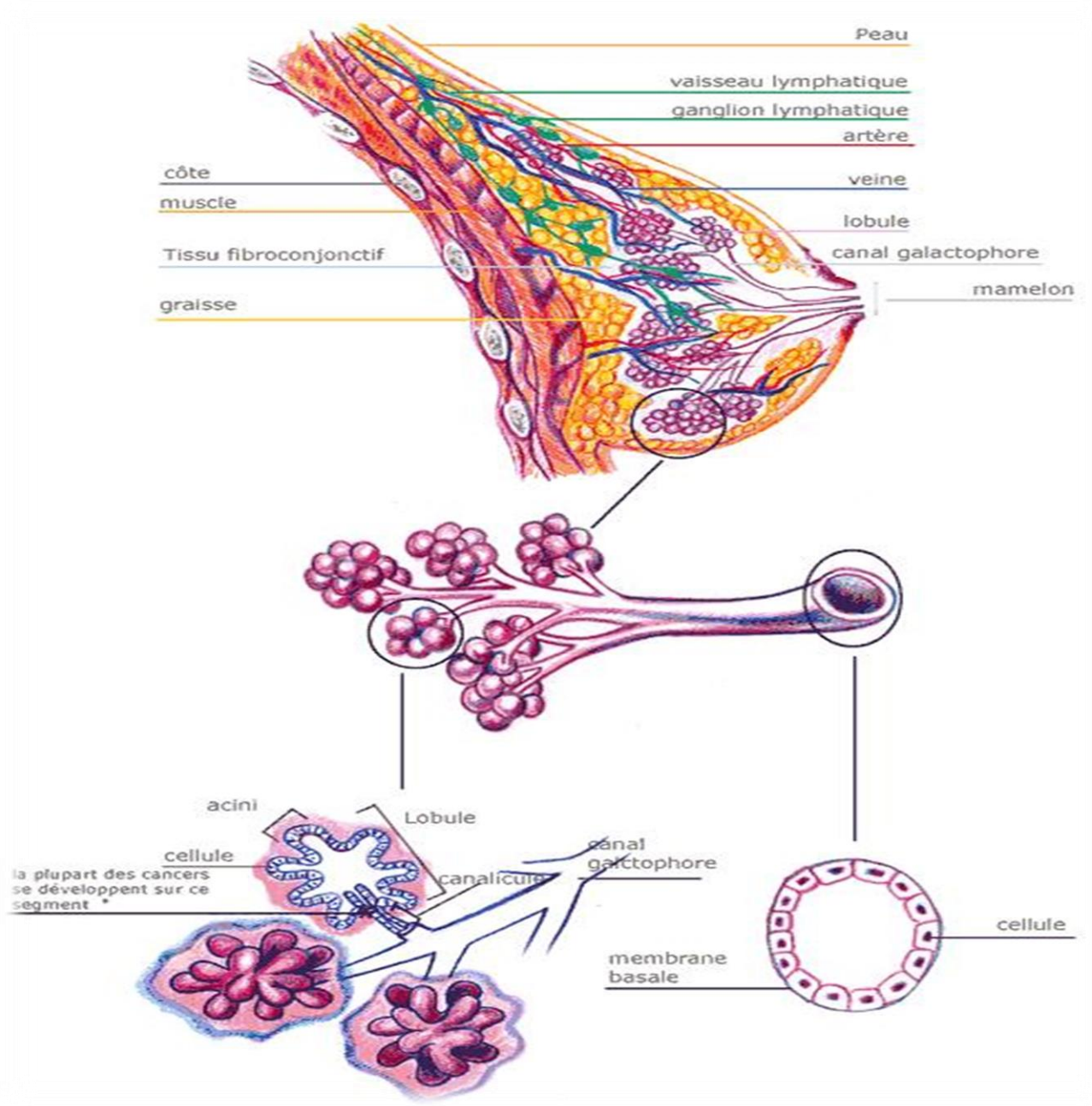


Figure 2 : Configurations internes du sein et aspect fonctionnel (Dr Alain Thille., 2016).

I-2- Anatomie du Glande mammaire

La glande mammaire est une glande exocrine et lobulée, de morphologie très variable selon le sexe et la phase de la vie génitale. Chez la femme, elle se développe dès le début de la puberté et constitue

une masse de tissu glandulaire de forme grossièrement circulaire. Elle est formée de 15 à 20 lobes produisant le lait en période d'allaitement, qui sont séparés entre eux par du tissu graisseux et des bandes de tissu conjonctif, appelés ligaments de Cooper, qui contribuent au soutien du sein, avec la peau. Les lobes, sont subdivisés en lobules, chaque lobule contient, à son tour, 10 à 100 alvéoles ou encore « acini sécrétoire » ayant pour rôle la sécrétion de lait. Les alvéoles sont groupés autour de canaux alvéolaires qui aboutissent à un canal lobulaire drainant un lobule. Plusieurs canaux lobulaires forment un canal galactophore. **(Lecarpetier, 2012 ; Roux, 2013 ; Bicar, 2018)**

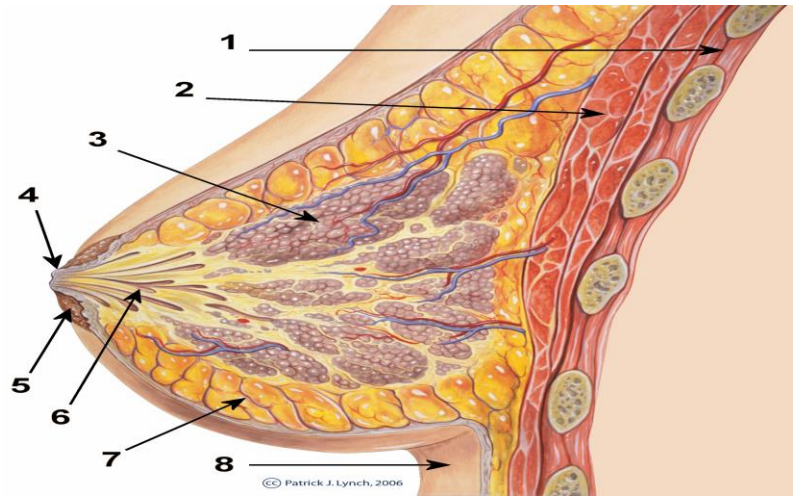


Figure 3: Structure de la glande mammaire (Medical illustrations .Patrick Lynch, 2006).

1 : Cage thoracique 2 : Muscles pectoraux 3 : Lobe mammaire 4 : Mamelon 5 : Aréole

6 : Canal galactophore 7 : Tissu adipeux 8 : Peau

II-Histologie

Le tissu mammaire est formé d'une variété de types cellulaires. Une monocouche de cellules épithéliales, de forme cubique, tapisse la lumière des canaux et des acini et présente un phénotype sécrétoire très caractéristique **(Olivier-Bousquet, 2006)**. Juste au-dessous s'organise une ceinture discontinue de cellules myoépithéliales, de forme allongée, qui expriment une forme d'actine et favorisent l'éjection du lait, synthétisé et accumulé dans les acini, en se contractant. Cette bicouche cellulaire est délimitée par une membrane basale, qui est apte de limiter la prolifération des cellules épithéliales et d'induire leur polarisation**.(Laurent, 2003 ; Sylvain,2004 ; Vandermoere, 2005)**

II-1-Structure du sein

La structure du sein est très complexe

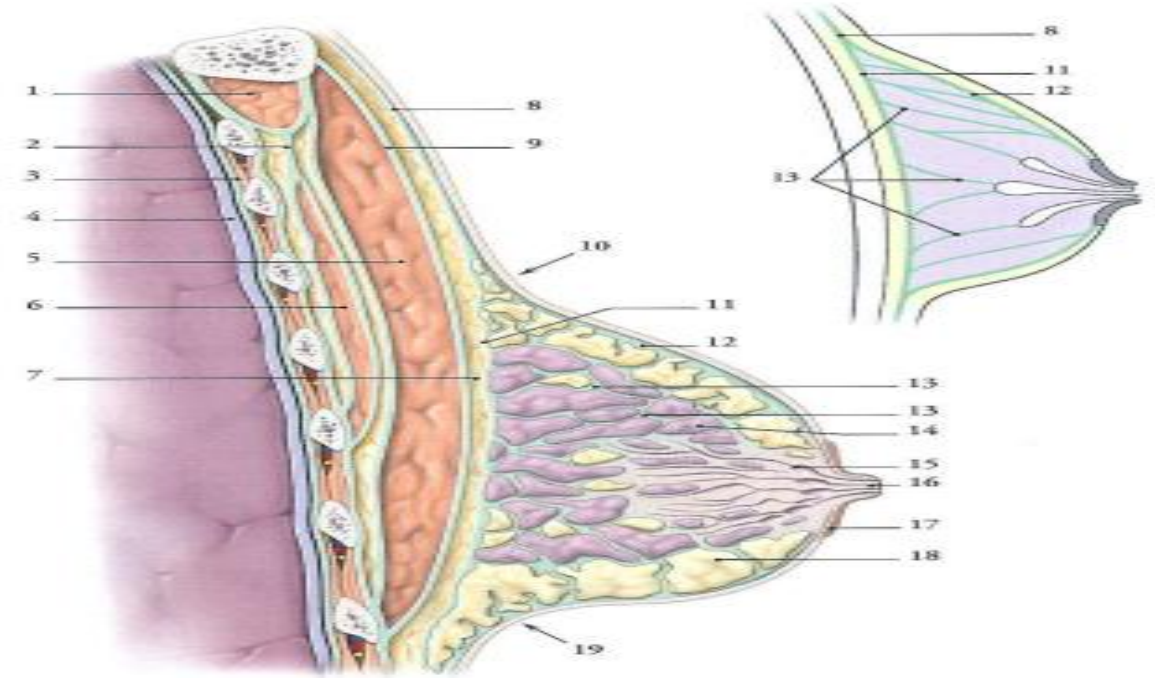


Figure 4 : Coupe sagittale du sein et de la paroi thoracique (Pierre Kamina. 2011)

1-m. subclavier 2-Fascia clavi-pectoral 3-fascia endo-thoracique 4-Plèvre pariétale

5-m. grand pectora l 6-m. petit pectoral 7-Espace rétromammaire

8- Fascia thoracique superficiel 9-Fascia pectoral 10-Sillon supra mammaire

11- fascia rétro mammaire 12-Fascia pré mammaire 13- L'IGG. Suspenseurs du sein

14- Lobule mammaire 15-Sinus lactifère 16-Papille 17-Aréole

18- Graisse pré mammaire 19-Sillon infra mammaire.

II -2- Structure Histologique du Glande Mammaire

-La glande mammaire Est constitué d'environ 15 à 25 unités glandulaires indépendantes : les lobes mammaires, ϖChaque lobe est multi lobulés (20 à 40 lobules). chaque lobule est constitué de tubulo-alvéoles (10 à 100 alvéoles) correspondant à la partie sécrétrice de la glande. C'est une glande aminée : chaque lobe est drainé par un canal unique large, le canal galactophore « lactifères » qui s'ouvre individuellement à la peau au niveau du mamelon. C'est une glande exocrine, tubulo-alvéolaire composée. Les lobes et les lobules sont séparés par un tissu conjonctif dense formé de faisceaux épais de fibres collagènes et des lobules adipeux. Tissu conjonctif intra lobulaire (tissu conjonctif palléal): est un tissu conjonctif lâche riche en vaisseaux et en plasmocytes dépourvu de cellules adipeuses**. (Dr N-Belaggoune ,2021)**

II-3-Développement et évolution de la glande mammaire

La glande mammaire se développe tout au long de la vie de la femme, du stade fœtal à la ménopause, sous l'influence des hormones sexuelles d'origine ovarienne (œstrogènes et progestérone). Durant l'étape pubertaire, les modifications sont importantes mais essentiellement dues à une augmentation du tissu graisseux. Ce sont essentiellement les canaux qui vont se développer et se diviser pour former des bourgeons terminaux qui sont à l'origine de nouvelles ramifications qui vont former des bourgeons alvéolaires, on parle alors de lobules de type 1 ; au cours de la maturation sexuelle, ces lobules évolueront en lobules de type 2 puis de type 3 **(Figure 5),** lentement jusqu'à l'âge de 35 ans **(Russo ,2004 ; Sternlicht, 2006)**

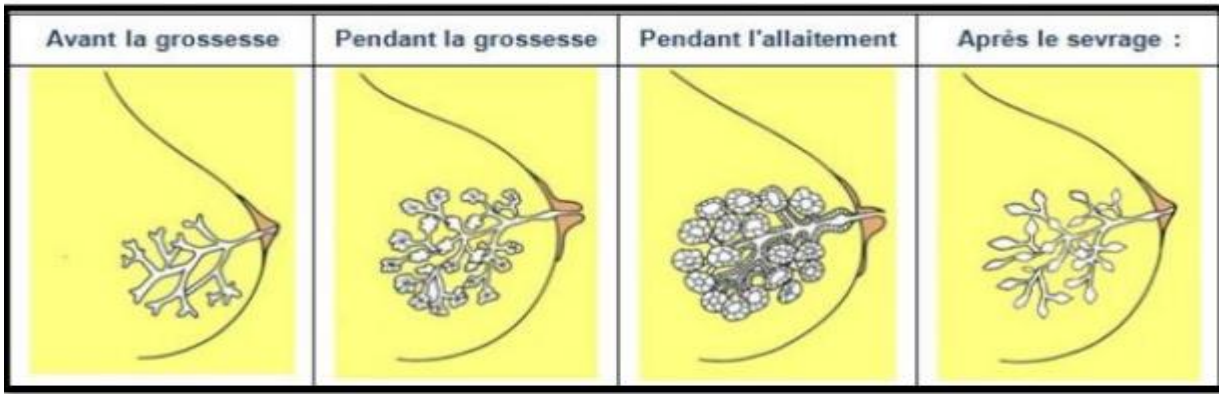


Figure 5 : Le développement de la glande mammaire (Houdebin, 1997)

III- Physiologie du sein

- Toute au long de leurs vies, les femmes observeront des changements au niveau de leurs seins. En effet, la glande mammaire, l'élément constitutif majeur du sein, est soumise à un contrôle hormonal qui provoque des modifications au niveau des seins. Nous observons ces modifications au cours des trois périodes de la vie d'une femme. La première période se situe entre la naissance et la puberté.
- La seconde correspond à la puberté et la troisième période correspond à la ménopause**. (Ayse BICAR., 2018)**

IV- Physiopathologie

IV-1 Définition du cancer du sein

Le cancer du sein est le résultat de la multiplication anarchique et irrégulière des cellules mammaires, ce qui va fréquemment conduire à une tumeur. Certains cancers évoluent lentement, d'autres sont plus agressifs et ont une évolution rapide. Dans la majeure partie des cas, le cancer va se développer sur une période de plusieurs mois à plusieurs années. On distingue les tumeurs bénignes des tumeurs malignes. Les premières ne vont pas entraîner de métastases et restent localisées avec des contours bien délimités. A contrario, les tumeurs malignes ont des cellules indifférenciées suite à toutes les modifications génétiques qu'elles ont subies. Souvent, elles vont envahir les tissus voisins et créer une tumeur secondaire qu'on appelle métastase. **(Institut national du cancer).**

IV-2-Les différentes étapes de la cancérogénèse

Ensemble d'événements qui cond0uisent à la transformation d'un tissu physiologique (normal) en tissu cancéreux. La carcinogenèse comprend 3 grandes étapes aboutissants à la prolifération incontrôlée des cellules, ce sont successivement : l'initiation, la promotion et la progression. **(Institut national du cancer).**

1-La phase d'initiation

Se caractérise par la transformation de la cellule normale à la cellule cancéreuse. Cette étape est induite par de multiples altérations du génome qui échappent aux processus de réparation de l'ADN affectant, par conséquent le contrôle du cycle cellulaire. L'activation des oncogènes (gènes favorisant la tumorigenèse) et/ou à l'inverse l'inhibition des gènes suppresseurs de tumeurs font partie des points clés de cette étape **(Jahanmohan, 2019).**

2-La phase de promotion

Elle se caractérise par une prolifération anarchique qui va donner à partir de cette cellule cancéreuse 0un ensemble de clones et ainsi former une tumeur **(Jahanmohan, 2019)**

3-La phase de progression

Est l'étape où la tumeur grossit et peut éventuellement se disséminer, via la circulation sanguine pour donner des métastases. La cellule cancéreuse acquiert des propriétés bien spécifiques qui lui permettent d'assurer chacune des étapes précédentes :

-Une autosuffisance en facteurs de croissance permettant aux cellules de proliférer de manière illimitée :

✓ Une insensibilité aux signaux extérieurs avec perte de l'inhibition de contact

✓ Une invasion des tissus ET formation des métastases

✓ UN potentiel de réplication illimité

✓ Une induction de l'angiogenèse ou néo-angiogenèse: formation anormale de vaisseaux nécessaires à l'alimentation cellulaire.

✓ Un échappement à la mort cellulaire programmée ou apoptose **(Jahanmohan, 2010)**

I- Histologie du Cancer Du Sein

I.1. Classification histologique du cancer du sein

La classification actuelle utilisée est celle de l'OMS 2012. Les tumeurs épithéliales malignes ou carcinomes représentent la grande majorité des tumeurs malignes du sein. Les tumeurs malignes non épithéliales (sarcomes, Lymphomes malins…) sont rares **(OMS.2012).**

I-1-Carcinomes non infiltrant

Appelé également intra-épithélial représente 15 à 30% des cancers du sein. Il est caractérisé par le non-envahissement de la lame basale et qui reste localisé à l'intérieur de l'arbre galactophorique et du lobule sans franchir la lame basale et sans envahir le tissu conjonctif il sont toujours multicentriques ou bilatéraux **(ANONYME, 2003).**

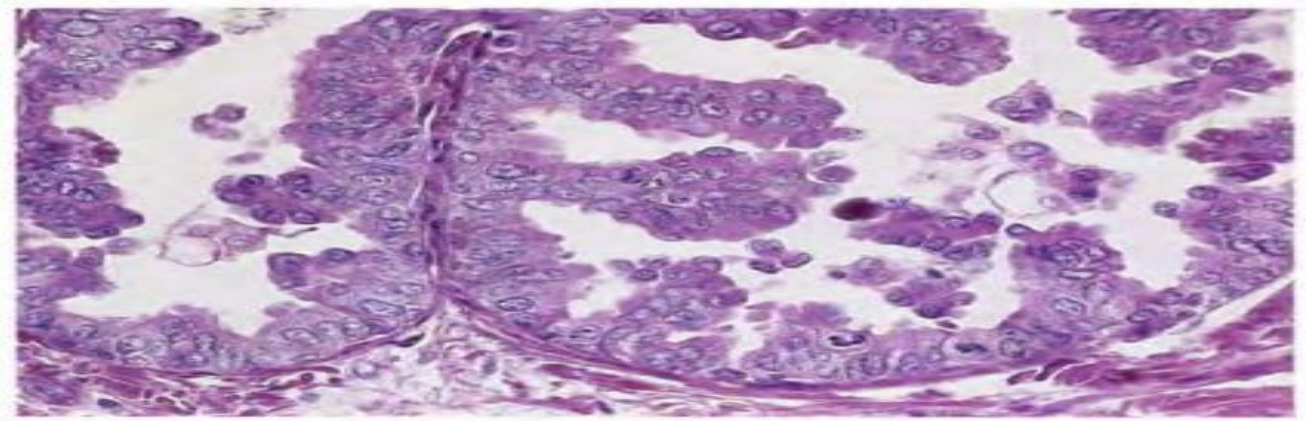


Figure 6 : Carcinome intracanalaire Architecture papillaire. x 300 (Dr. R. Gérard.1981).

I-1-1-carcinome canalaire in situ (CCIS)

Correspond une prolifération cellulaire maligne développée et l'intérieur des canaux galactophoriques et/ou des terminaisons ductolobulaires du sein. Le soin n'atteint pas la membrane basale et il n'y a donc pas de risque de dissémination ganglionnaire ou hématogène. Le CCIS est considéré par la majorité des auteurs comme une étape intermédiaire dans le processus de cancérisation entre l'hyperplasie épithéliale atypique et le cancer invasif, il s'agit donc d'une maladie strictement intra mammaire **(Dr. R. Gérard.1981).**

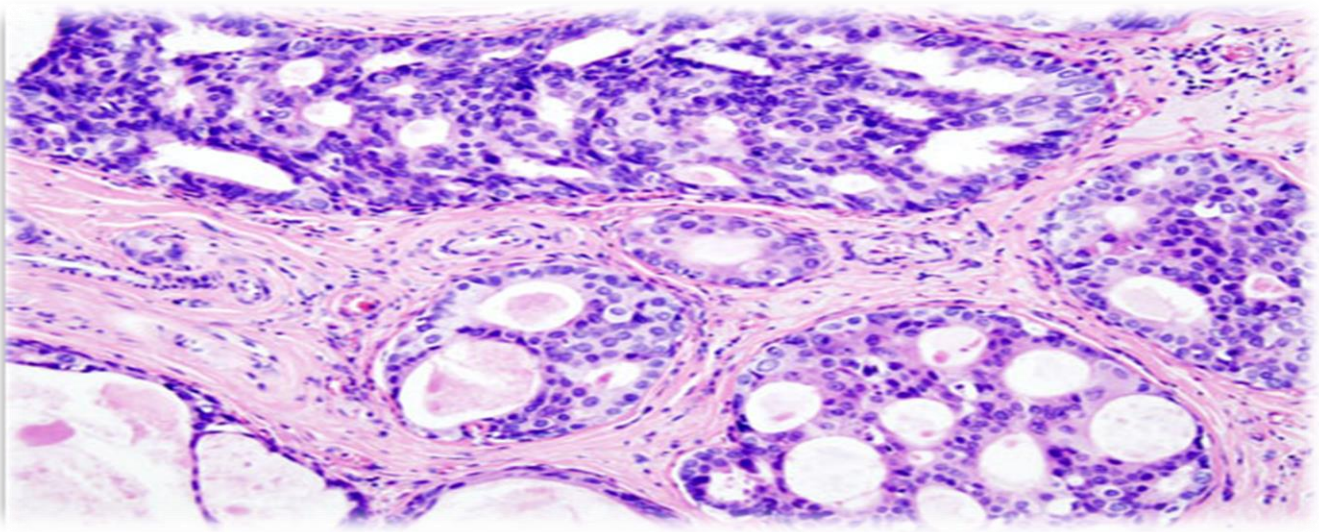


Figure 7: Carcinome canalaire in situ. HE, x400 (Dr. R. Gérard.1981).

I-1-2-Carcinome lobulaire in situ (CLIS)

Appelé aussi « néoplasie intra-lobulaire » qui prend naissance au niveau des lobules mammaires, Selon **Fattaneh et al. (2003)** c'est un néoplasie fait d'une prolifération uniforme et monotone de petites cellules rondes, non cohésives. **(Dr. R. Gérard.1981).**

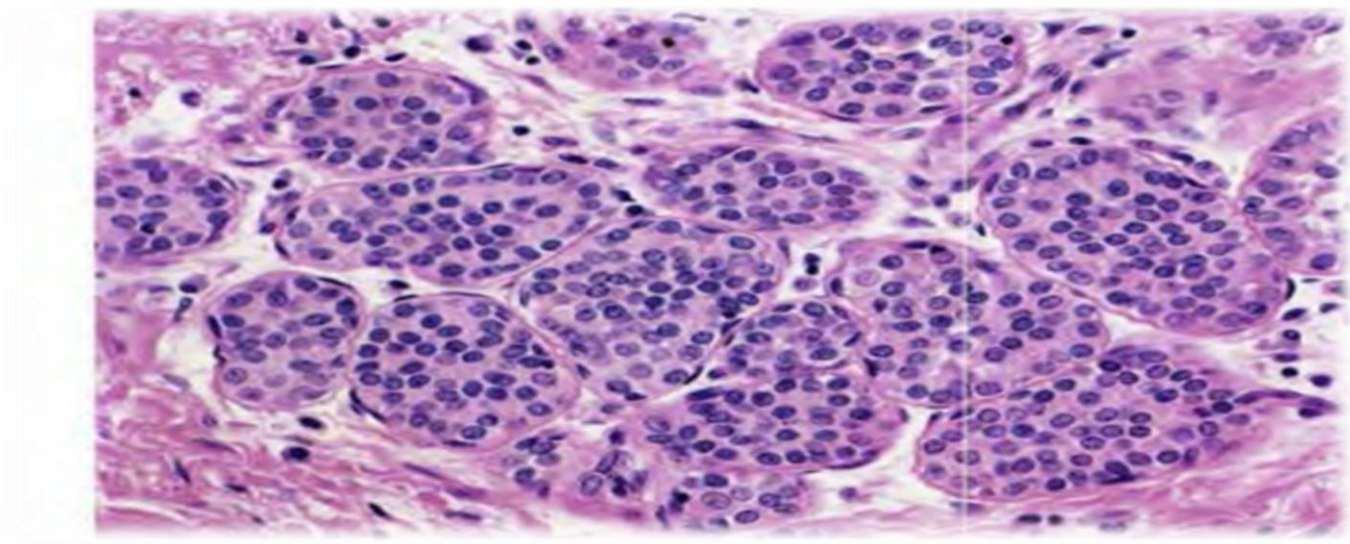


Figure 8 : Carcinome lobulaire in situ. x 300 (Dr. R. Gérard.1981).

I-2-Carcinome canalaire infiltrant

C'-est la forme la plus fréquente de tumeur maligne du sein: elle n'entre dans aucune des autres catégories de carcinome mammaire infiltrant. Les aspects macro- et microscopiques sont extrêmement variables. Les cellules tumorales se disposent généralement en îlots. En travées ou en formations glandiformes. **(Dr. R. Gérard.1981)**.

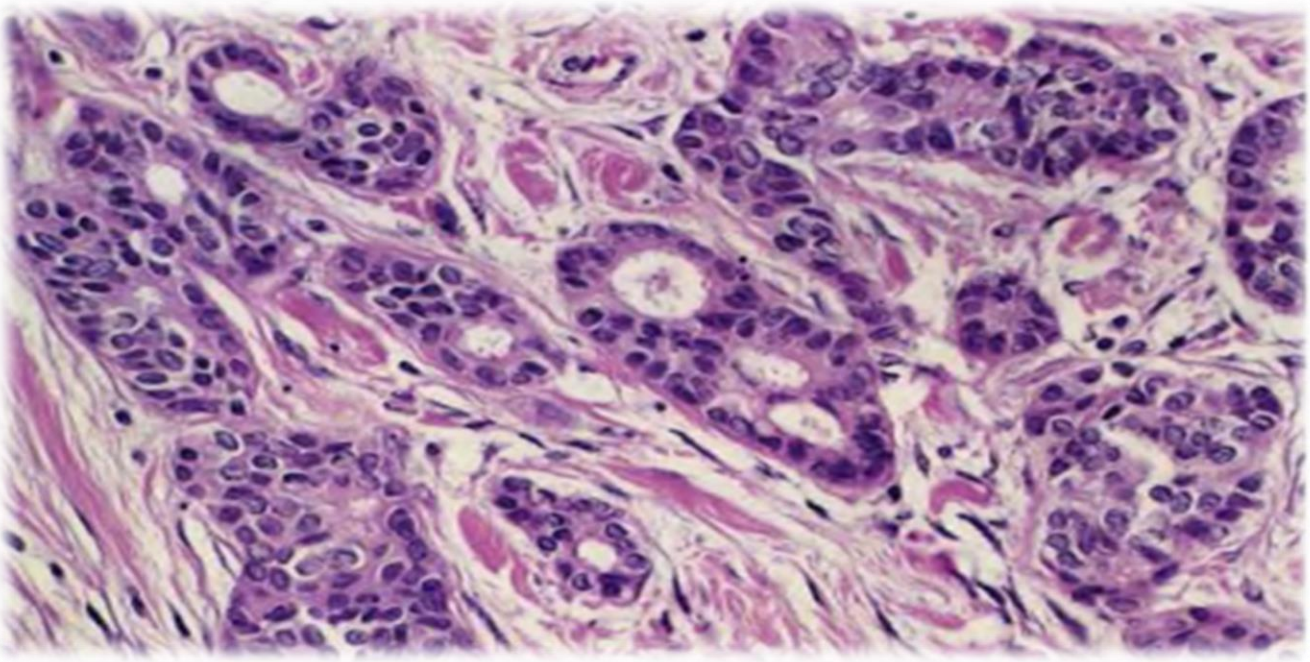


Figure 9 : Carcinome canalaire infiltrant x 300 (Dr. R. Gérard.1981).

I-2-1-carcinome lobulaire infiltrant

Carcinome infiltrant formé de cellules régulier ces ressemblant à celles du carcinome lobulaire in situ et ayant en général un faible taux de mitoses **(Dr. R. Gérard.1981)**

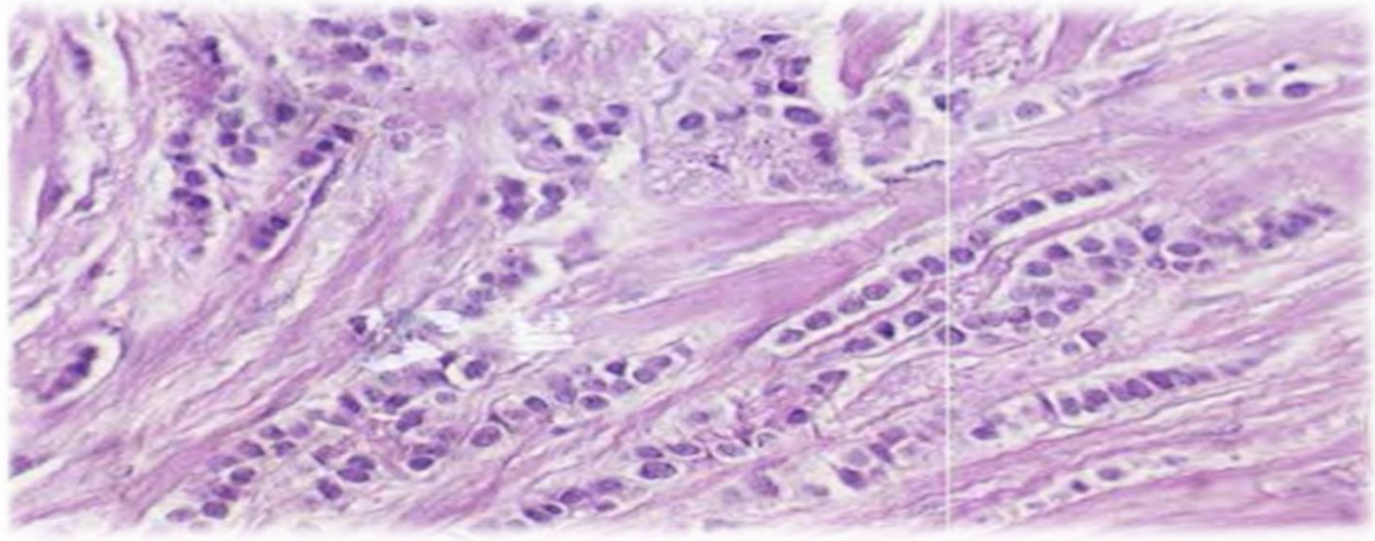


Figure 10 : Carcinome lobulaire infiltrant. x 300 (Dr. R. Gérard.1981).

I-2-2-Carcinome mucineux infiltrant

Carcinome riche en mucus épithélial extracellulaire, en quantité suffisante pour être visible macroscopiquement et se reconnaitre au microscope comme extra- et intracellulaire. Ces tumeurs ont habituellement des limites arrondies plutôt qu'irrégulière **(Dr. R. Gérard.1981)**

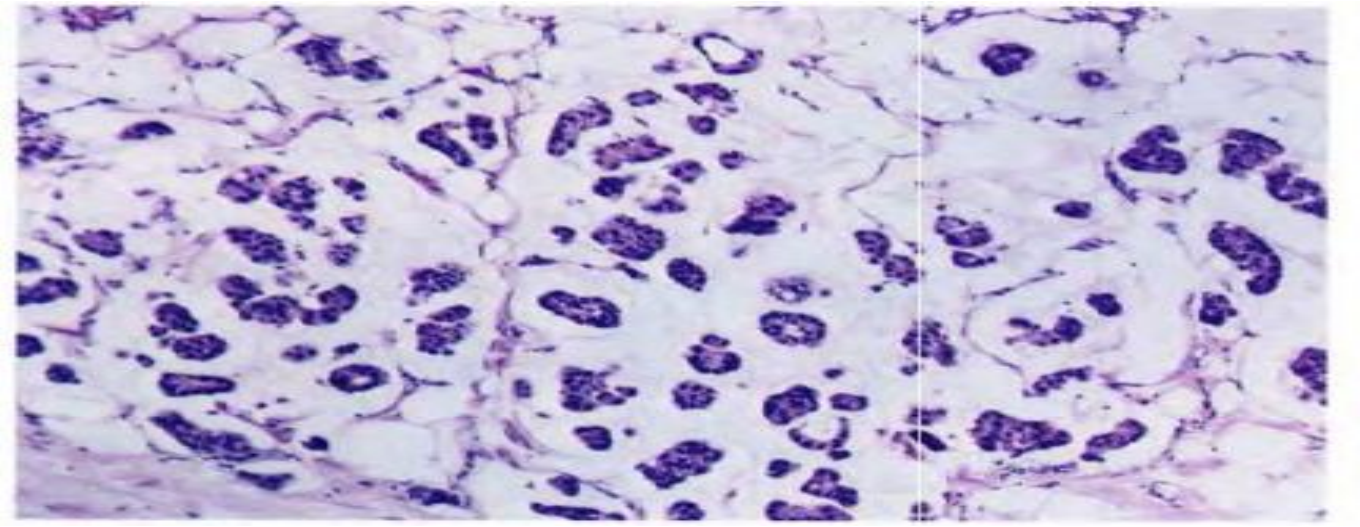


Figure 11 :Carcinome mucineux, x 1 00 (Dr. R. Gérard.1981).

I-2-3-Carcinome médullaire infiltrant

Carcinome bien unité constitué de cellules peu différenciées dans un stroma peu abondant avec une intense infiltration lymphoïde. Les cellules tumorales sont grandes, avec des noyaux vésiculeux. L'architecture habituelle est faite de plages et de larges travées anastomotiques sans structures glandiformes. **(Dr. R. Gérard.1981)**

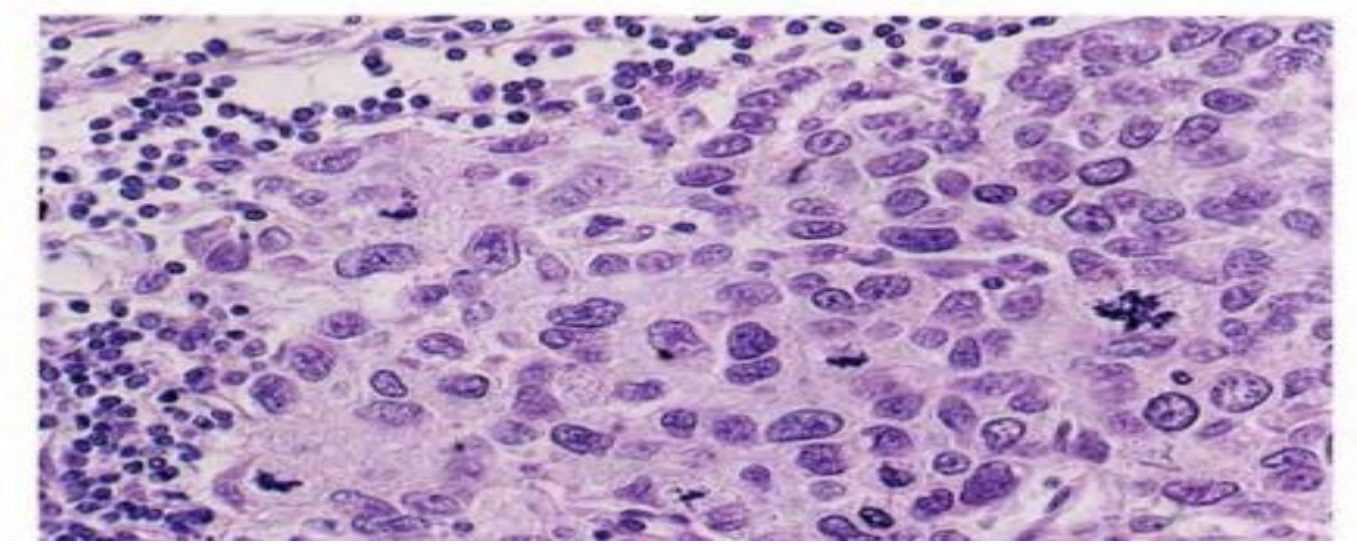


Figure 12 : Carcinome médullaire infiltrant *300 (Dr. R. Gérard.1981)

I-2-4-Carcinome papillaire infiltrant

Carcinome rare dont l'architecture inliltranre est surtout faite de structures papillaires. On reconnaît souvent dans le sein des foyers de tumeur papillaire intra canalaire. **(Dr. R. Gérard.1981)**

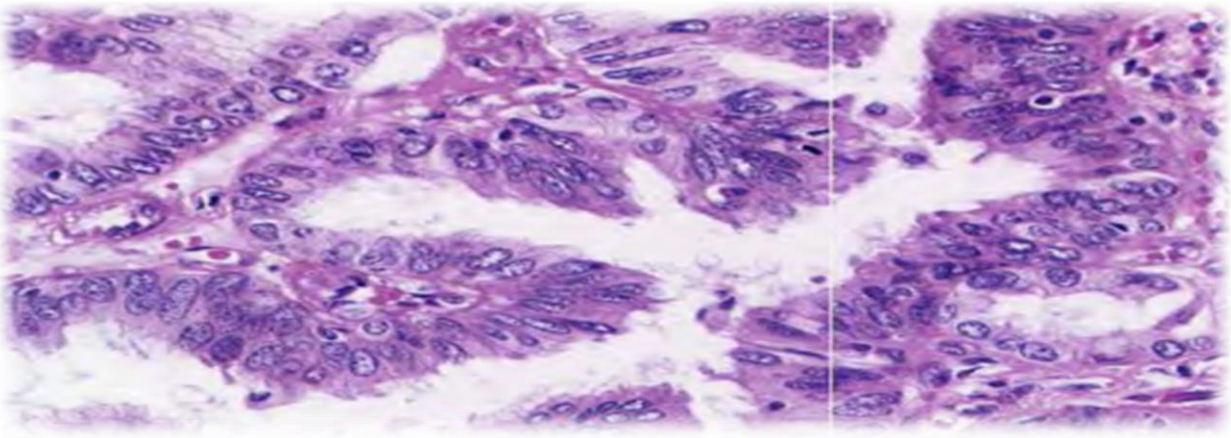


Figure 13 : Carcinome Papillaire > 300 (Dr. R. Gérard.1981)

II- Types de tumeurs malignes mammaires

II-1-Classification TNM

La classification clinique dite TNM pour Timor Node Metastasis (tumeur ganglion métastases) de l'Union Internationale Contre le Cancer (UICC) est la plus communément utilisée. Elle permet de caractériser une tumeur selon trois critères : la masse tumorale en place et son extension locale (T), son extension locorégionale avec l'envahissement des ganglions (N) et à distance avec le développement de métastases (M). Chaque critère est associé à un chiffre dont la valeur augmente avec la gravité. Lorsque la détermination est impossible, la lettre X est associée au critère TNM **(Colin-Cassin, 2013) (Voir L'annexe)**

II-2-Classification moléculaire

- C'est une nouvelle taxonomie qui subdivise le cancer du sein en tumeurs dites :

• Liminales qui expriment les récepteurs hormonaux. Ils se subdivisent en luminal A et B, selon leur index de prolifération,

• HER2, qui surexprimés la protéine HER2, ou présentent une amplification du gène HER2, avec ou sans expression des RH.

• Triples négatifs n'exprimant ni RE, ni RP, ni HER2

Sous-types	RH	HER2	KI67

Luminal A	Positif (Score élevé)	Negative	>14%11
Luminal B	Positive	Negative	>14%11
HER2	Négatif	Positif	Taux élevé
HER2/Luminal	Positif	Positif	
Triple négatif	Négatif	Négatif	Taux élevé

Tableau 1 : Caractéristiques des principaux sous-types moléculaires (Sami et al. 2016)

II-3-Les différents grades (classification SBR)

La méthode du grading SBR consiste à évaluer trois paramètres morphologiques:

1. La formation de tubules
2. Le pléomorphisme nucléaire
3. La fréquence des mitoses.

Un score allant de 1 à 3 est attribué à chacun de ces paramètres. Les différents scores sont additionnés pour obtenir le grade histologique global.

Grade I = score 3-5

Grade II = score 6-7

Grade III = score 8-9**. (Amat S et al,2002)** (Voir L'annexe)

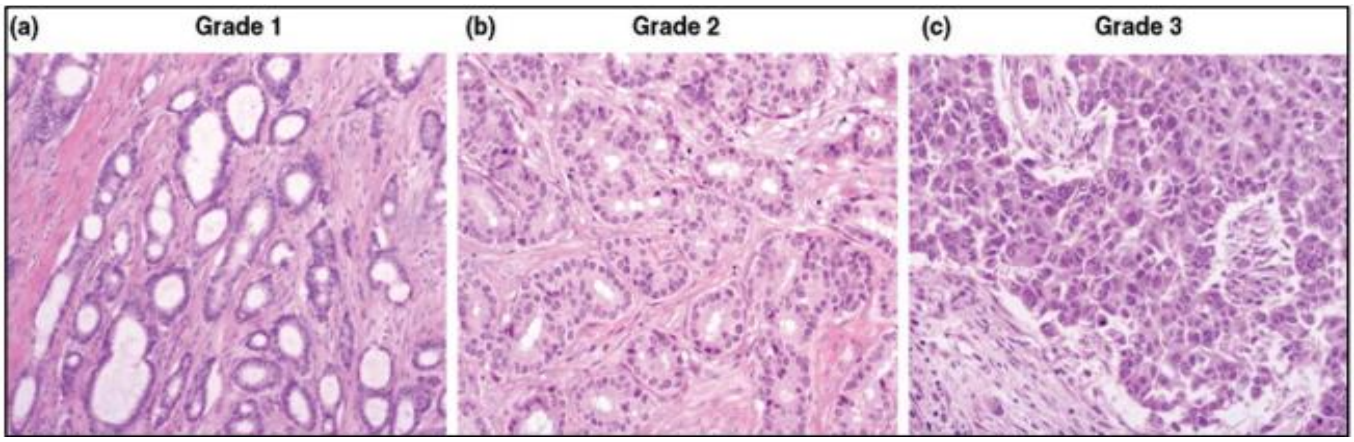


Figure 14 : Grade histologique du cancer du sein évalué par le système de classement de Nottingham Facteurs immunohistochimies.

III-Cancer du sein chez les hommes :

- Le cancer du sein masculin est une pathologie rare et méconnue. Les femmes sont différentes du cancer à bien des égards. Le cancer est défini comme la croissance incontrôlée de cellules dans un organisme due à un agent causal putatif. Bien que les seins des hommes soient moins développés que ceux des femmes, la littérature mondiale montre que les hommes développent un cancer du sein dans moins de 1% des cas de cancer. Les métastases du cancer du sein sont majoritairement squelettiques, représentant 62 % **(Gertrude et al. 2021)**

Définition

Les seins des hommes sont également moins développés que les seins des hommes femme. Le cancer du sein masculin est rare. Moins de 1 % de tous les cancers du sein affectent les hommes. Cependant, il est important que les hommes sachent qu'ils peuvent touchés par ce cancer, notamment pour ne pas ignorer les symptômes **(National Cancer Institute, 2021).**

IV-les Facteurs de risque :

Comme tout cancer, le cancer du sein est une maladie multifactorielle, c'est-à-dire que plusieurs facteurs peuvent intervenir dans la survenue de la maladie. On parle alors de facteurs de risques. Ces derniers peuvent être intrinsèques, c'est-à-dire, propres à l'individu (sexe, âge, hérédité ...) et qui ne peuvent être modifiés. **(Sun et al., 2017).**

1- Sexe :

Les dernières statistiques révèlent que 99% des personnes atteintes par le cancer du sein sont des femmes (INC, 2013) mais cela ne laisse pas échapper les hommes, même si le risque est extrêmement faible (environ1%). Les hommes sont atteints avec un ratio d'environ un homme pour 100 femmes **(Adja Ilia, 2018).**

2- Âge :

C'est le facteur de risque le plus important. La maladie est rare chez les femmes de moins de 30 ans. Le risque augmente entre 50 et 75 ans **(Boukli-hacene et al. 2014).**

3- Indice de Masse Corporelle (IMC) :

Le surpoids est un facteur associé au risque de cancer du sein de façon différente, en fonction du statut ménopausique : le surpoids diminue le risque de cancer du sein avant la ménopause, mais l'augmente en postménopause. En effet, avant la ménopause, les femmes en surpoids ont un plus faible nombre d'ovulations et une diminution du taux d'hormones sanguin. À la ménopause, la production d'œstrogènes est stoppée dans les ovaires mais elle se poursuit dans les tissus adipeux.

Une femme ménopausée avec un IMC élevé a donc une production accrue d'œstrogènes par rapport aux femmes ayant un IMC normal **(Bergstrom, 2001 ; Friedenreich, 2001) .**

V- Epidémiologie descriptive

1-Cancer du sein mondial

Près de 1,7 million de nouveaux cas sont diagnostiqués dans le monde chaque année, Le cancer du sein est le cancer féminin le plus fréquent et un problème majeur de santé publique. Cependant, il existe des différences importantes entre les régions du monde**.**

-Un rapport publié par l'Organisation mondiale de la santé en 2020 a estimé que près de 2,3 millions Dans le monde, 685 000 femmes développent et meurent d'un cancer du sein. Fin 2020. 7,8 millions de femmes vivantes diagnostiquées avec un cancer du sein au cours des cinq dernières années. **(E. Cordina-Duverger, P.Guinelle 2016)**

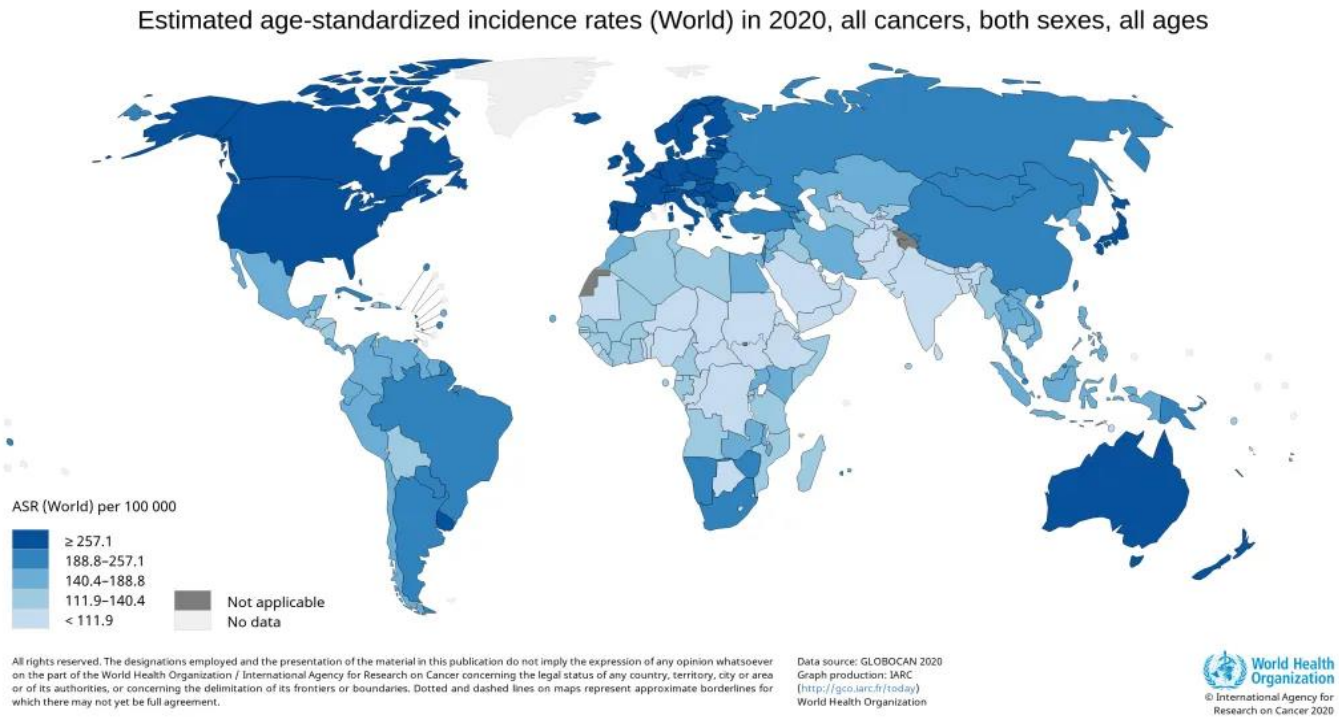


Figure 15 : **Taux d'incidence normalisés selon l'âge estimés (monde) en 2020, sein, tous âge (GLOBOCAN 2020).**

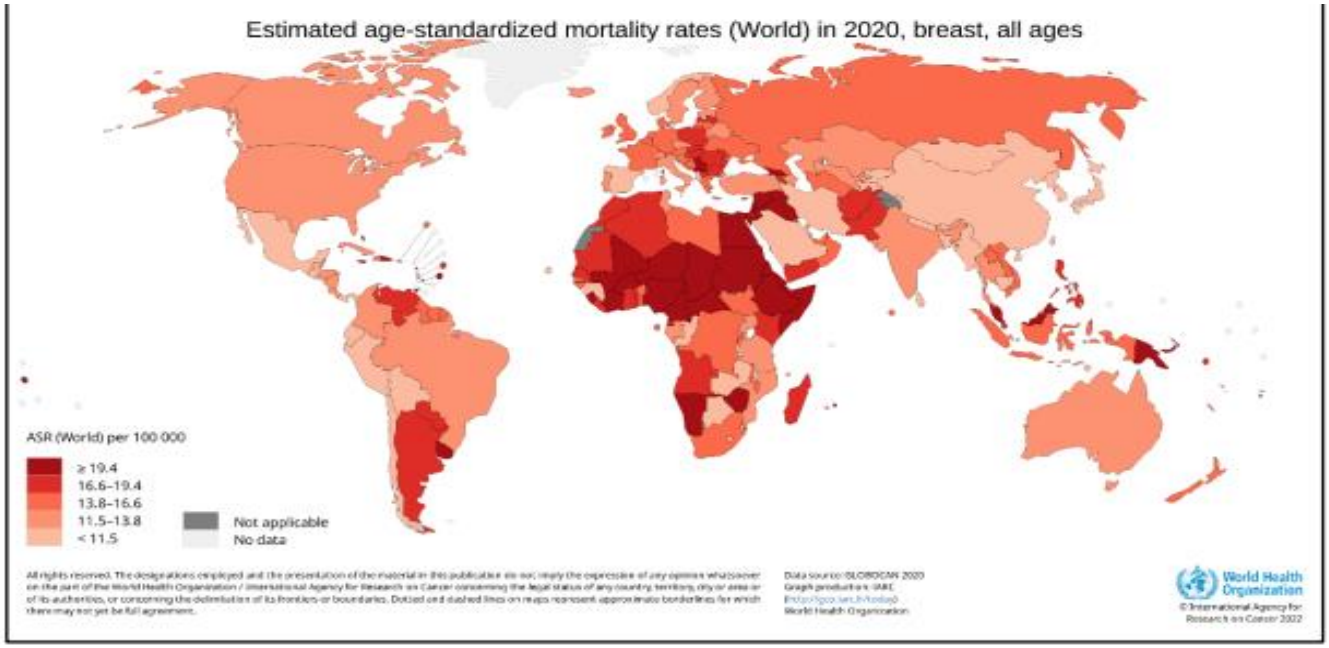


Figure16 : Taux estimatifs de mortalité normalisés selon l'âge (monde) en 2020, sein, tous âges -2 (GLOBOCAN 2020).

2- Dans les pays du Maghreb

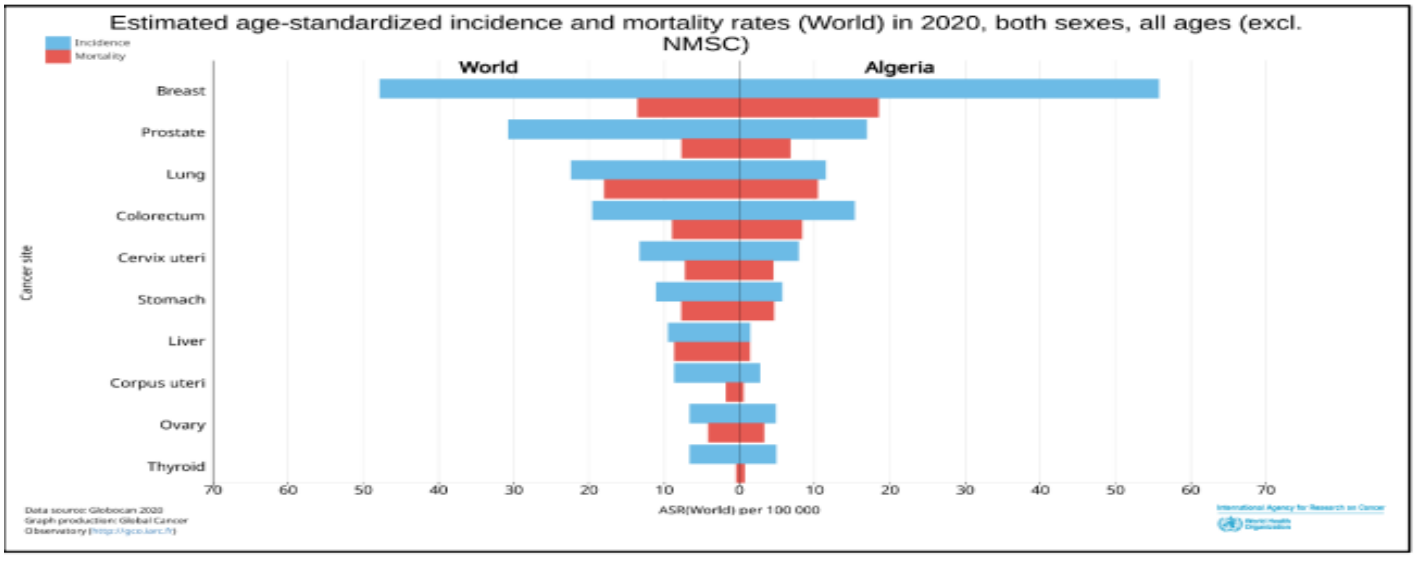
En occident, une femme sur 8 développera un cancer du sein au cours de sa vie. Aussi, bien qu'en Afrique du nord et au Moyen-Orient, le cancer du sein est également le premier cancer de la femme. Il représente 14 à 42% de tous les cancers féminins avec une augmentation exponentielle de son Incidence Standardisée selon l'âge (ISA) qui varie entre 9,5 et 54 pour 105 femmes. L'épidémiologie des cancers du sein en Afrique du Nord (Tableau I) diffère d'un pays à un autre. **(Belkacemi et al., 2010) .**

Pays	**Algérie**		**Maroc**		**Tunisie**			**Lybie**	**Égypte**
Registres	Alger	Sétif	Rabat	Casablanca	Tunis	Sfax	Sousse	Benghazi	Gharbia
Incidence	60,5	18,8	35,8	35,0	29,6	29,8	28,0	23,3	42,5

Tableau 2 : Incidences ajustées apparaissant sur les registres d'Afrique du Nord (2008) (Belkacemi et al. 2010).

3- Le cancer du sein en Algérie

Soixante-cinq mille (65.000) nouveaux cas de cancer, tous types confondus, ont été recensés en Algérie depuis le début de l'année 2021, dont 15.000 cas de cancer du sein, a indiqué à Alger, le président de la Société algérienne d'oncologie médicale, **le professeur Kamel**



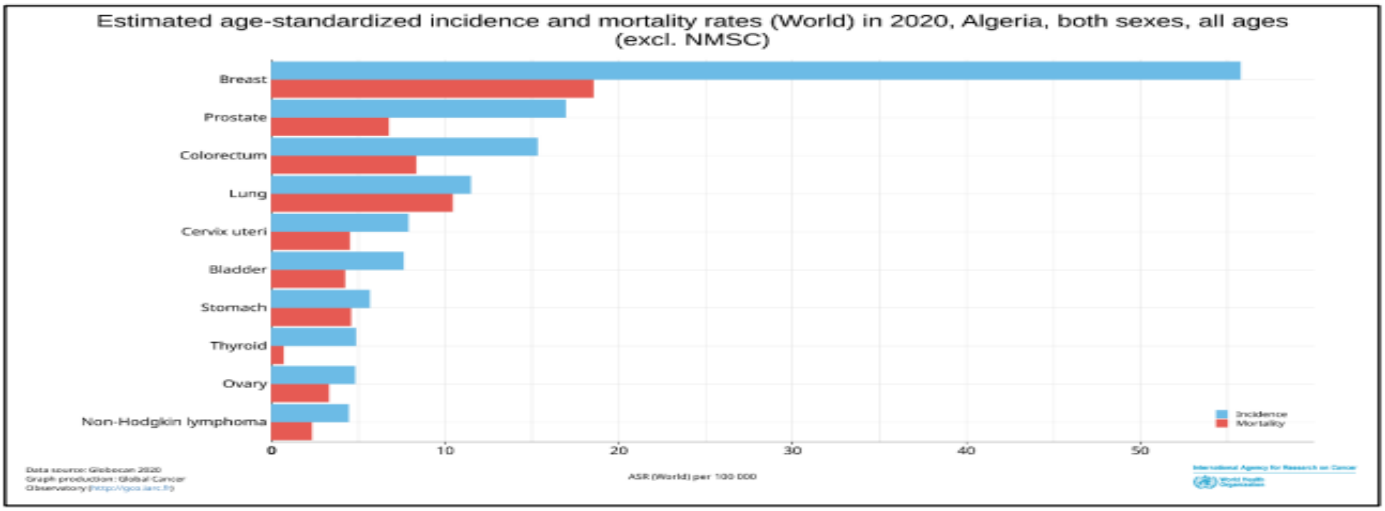


Figure 17 :Taux d'incidences et de mortalité estimés selon l'âge (monde) en 2020, ALGERIE, les deux sexes, tous les âges (Globocane 2020)

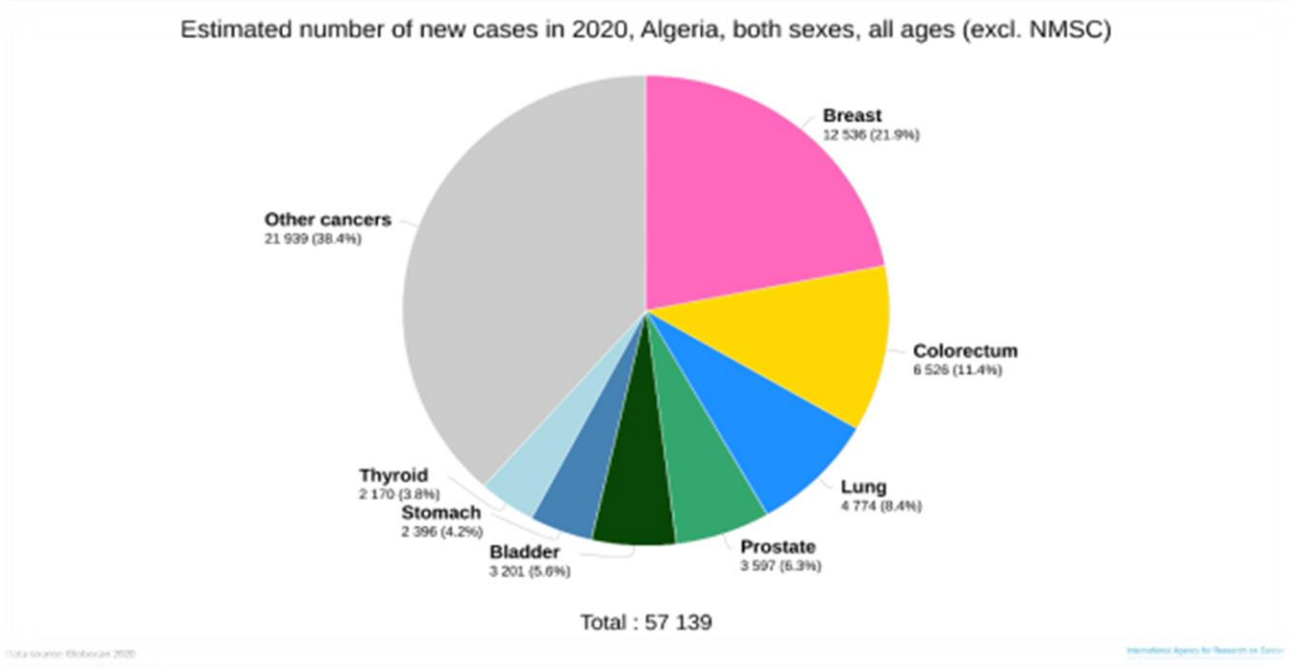


Figure18: Nombre estimé de nouveaux cas en 2020, Algérie (Globocane 2020)

L'épidémiologie des cancers est dominée par les cancers du sein dont le taux brut d'incidence moyen est de 49.3 nouveaux cas pour 100.000 femmes, dépassant les 60 pour 100.000 dans les wilayas du nord (Alger, Blida, Tizi-Ouzou, Tipaza). Dans toutes les wilayas, plus de 40% des cancers féminins sont des cancers du sein. **(Hammouda and Boutekdjiret 2020).**

VI- les stades cancer du sein

-La stadification décrit ou classe un cancer en fonction de la quantité de cancer présente dans le corps et de son emplacement lors du diagnostic initial. C'est ce qu'on appelle souvent l'étendue du cancer. On se sert de l'information révélée par les examens pour savoir quelle est la taille de la tumeur, quelle partie du sein est atteinte par le cancer, si le cancer s'est propagé à partir de son lieu d'origine et où il s'est propagé. Votre équipe de soins a recours au stade pour planifier votre traitement et prévoir l'issue (votre pronostic). Le système de stadification le plus fréquemment employé pour le cancer du sein est la classification TNM. Dans le cas du cancer du sein, il y a 5 stades, soit le stade 0 suivi des stades 1 à 4. Pour les stades 1 à 4, on utilise souvent les chiffres romains I, II, III et IV. En général, plus le chiffre est élevé, plus le cancer s'est propagé. Parlez à votre médecin si vous vous posez des questions sur la stadification**.(Brierley JD,2007).**

Stade I : la tumeur mesure 2 cm ou moins.

Tumeur ≤ 2 cm, sans atteinte ganglionnaire, sans métastases à distance (T1 N0 M0).

Stade II : 2 types de tumeurs

tumeur ≤ 5 cm avec envahissement de 1 à 3 ganglions axillaires ou atteinte des ganglions sentinelles mammaires internes, sans métastases (T0/1/2 N1 M0) , ou tumeur > 2 cm, sans atteinte ganglionnaire, sans métastases (T2/3 N0 M0).

Stade III

toute tumeur, sans métastases, avec au moins 4 ganglions axillaires atteints ou envahissement mammaire interne clinique ou atteinte des ganglions sous-claviculaires ou des ganglions sus-claviculaires homolatéraux (tous T N2/3 M0) , ou tumeur avec extension directe à la paroi thoracique ou à la peau ; ou tumeur inflammatoire (T4 tous N M0), ou tumeur > 5 cm avec envahissement de 1 à 3 ganglions axillaires ou atteinte des ganglions sentinelles mammaires internes (T3/4 N1 M0).

Stade IV : cancer métastatique

Indépendamment de la taille de la tumeur et du degré d'envahissement ganglionnaire, la présence de métastases à distance classe le cancer en stade IV (tous T tous N M1).

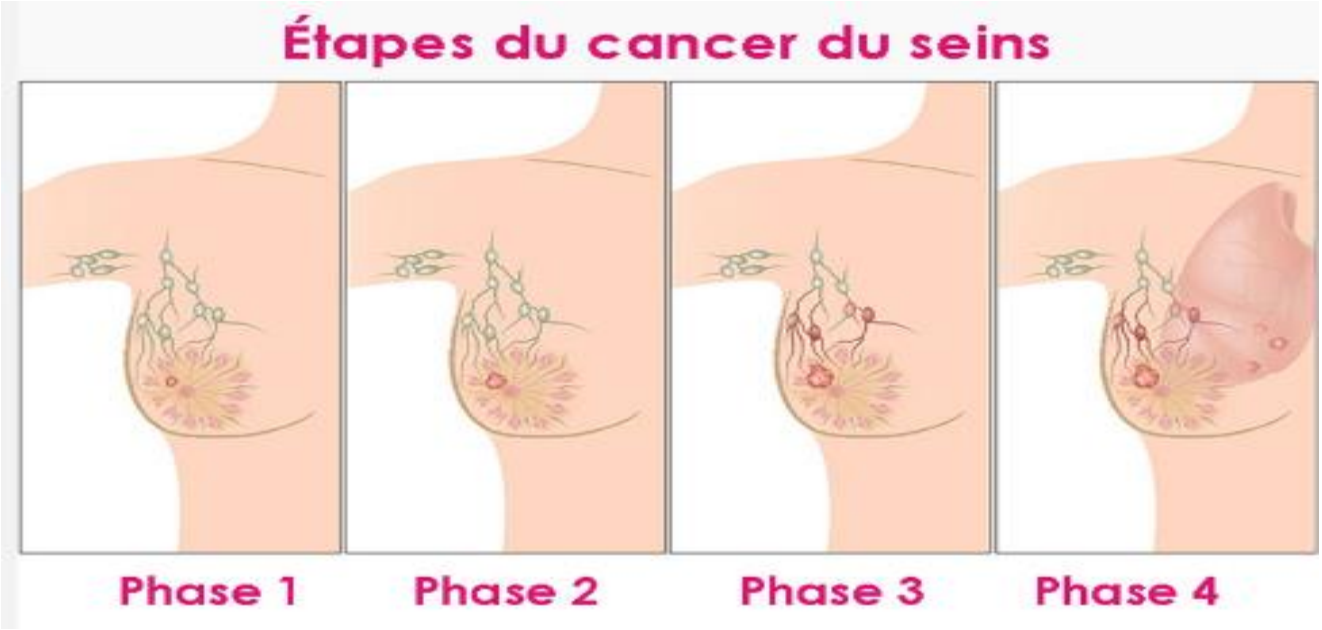


Figure 19 : les stades cancer du sein (Brierley JD,2007).

VII-Traitement

1-La chirurgie

-L'intervention chirurgicale constitue généralement la première étape du traitement après le diagnostic de cancer du sein (CS). Selon la taille, la localisation et la nature de la tumeur, différentes techniques peuvent être employées afin d'assurer une exérèse totale de la lésion tout en garantissant, dans la mesure du possible, un bon résultat esthétique Deux techniques chirurgicales sont envisageables pour le traitement du cancer du sein :

1-1- La mastectomie

- Est une intervention visant à pratiquer l'exérèse monobloc de la glande mammaire, un curage axillaire et une conservation des muscles grands et petits pectoraux. En cas de mastectomie totale, une reconstruction mammaire peut être proposée à la patiente qu'il convient d'informer de ses modalités techniques **(Clere, 2016)**

1-2- La tumorectomie

Elle est indiquée dans le traitement de tumeurs de petites tailles (2 cm) ou un peu plus grosses si les seins sont suffisamment volumineux. L'exérèse de la lésion palpable doit se faire au large et garantir un résultat esthétique correct **(Clere, 2016).**

2– La chimiothérapie

Les molécules qui composent l'arsenal de la chimiothérapie possèdent une action systémique et non ciblée, elles interfèrent au niveau des mécanismes de la division cellulaire et induisent une toxicité importante. Si la chirurgie et la radiothérapie peuvent suffire à traiter des cancers localisés, Administrée par voie orale ou intraveineuse, elle va permettre de réduire la taille de la tumeur et des métastases dans le but de faciliter le traitement chirurgical, et de manière générale la chimiothérapie diminue le taux de mortalité et de récidive de cancer du sein.

3-La radiothérapie

est une méthode de traitement locale des cancers. On utilise des radiations qui traversent la peau afin d'altérer les gènes des cellules tumorales, ce qui amènera à leur destruction et empêchera leur multiplication, tout en évitant de toucher les tissus sains et les organes voisins. Aujourd'hui la

radiothérapie est essentiellement utilisée en cas de chirurgie conservatrice afin de diminuer le risque de récidive locale

4- L'hormonothérapie

L'hormonothérapie (HT Les œstrogènes sont connus pour favoriser la prolifération des cellules tumorales surexprimant les récepteurs œstrogènes (RE), donc la croissance des tumeurs mammaires est hormono-dépendantes. Ainsi, le traitement par HT permet de bloquer la synthèse et l'activité de ces récepteurs afin de diminuer le risque :

• De récidive locale dans le sein opéré.

• D'atteinte de l'autre sein.

• D'une évolution généralisée sous la forme de métastase à distance**. (Clere, 2016).**

Chapitre II

Généralités Sur les ingrédients des extrais

I - Les produits de la ruche

L'apiculture pratiquée depuis la plus haute antiquité connait ces derniers temps un développement important dans notre pays. Il est un art autant qu'une science d'élevage et des soins à donner aux abeilles en vue d'obtenir de leur travail dirigé, le miel, la cire, le pollen, la propolis et la gelée royale (Biri, 2003).

I-1.propolis

-La propolis est un remède naturel largement utilisé depuis l'Antiquité fois est utilisée pour Bouclier de protection à l'entrée du nid . Les Égyptiens connaissaient très bien les propriétés anti- putrides de la propolis et s'en servait pour embaumer des cadavres. La propolis a été reconnue pour ses propriétés médicinales par les médecins grecs et romains, Aristote, Dioscoride, Pline et Galien. Appliqué à l'extérieur, la propolis soulage divers types de dermatites causées par des bactéries et des champignons. Aujourd'hui, la propolis est actuellement utilisée comme remède populaire et est disponible sous la forme de gélules , en extrait , en bain de bouche , dans les pastilles pour la gorge, les crèmes et en poudre forme . La propolis est également revendiquée comme utile en cosmétique et comme constituant de la santé nourriture. **(S. Castaldo,2002)**



Figure 20 : La propolis est utilisée pour Bouclier de protection . (S. Castaldo,2002)

I-1-1 Origine et expansion de propolis

-La propolis est le nom générique de la substance résineuse collectée par les abeilles à partir de diverses sources végétales. Le mot propolis est dérivé du grec pro-, pour ou en défense, et polis-, la ville, c'est-à-dire la défense de la ville . Jaubert 70 en 1926 isolé de la propolis chrysine, le composé responsable de la couleur de la cire d'abeille, et il savait que la propolis a été obtenu à partir de Populos nigra var. pyramidale. L'origine végétale de la propolis était affirmé **(Rosch en 1927 et de nouveau par Vansell et Bisson en 1940).**

I.2.2 Récolte de la propolis

I.2.2.1 Récolte de la propolis par les abeilles

La propolis est le nom de la substance résineuse que les abeilles récoltent sur différentes parties des plantes (brindilles, fleurs, pollen, bourgeons) en fonction de leur situation géographique **(A. dos Santos Pereira et al., 1998) (G.A. Burdock 1998).). (AS. Pereira et al., 2000).**

2.2.2 Récolte humaine de la propolis

La propolis peut être récoltée de différentes manières, Le récurage et le frottement du cadre et des parois de la ruche, de préférence à des températures relativement basses, élimineront mieux la propolis dure et cassante. Nous utilisons un réseau de diffraction spécialement conçu à cet effet. Ce processus aboutit à Propolis de meilleure qualité **(Eric Debuyser, 1984).**

II- Propriétés biologiques et pharmacologiques de propolis

La propolis est largement utilisée dans divers domaines tels que :

II.1 Cosmétique

La propolis et ses extraits sont largement utilisés en dermatologie et en cosmétique **(Lejeune. B et al., 1988).** Ses effets sur la régénération et la régénération des tissus sont bien étudiés. Ses propriétés bactéricides etfongicides offrent de nombreux avantages dans diverses applications **(R. KRELL., 1996).**

II.2 Médecine

La propolis est utilisée pour une variété de traitements, notamment :

• Problèmes cardiovasculaires • Système respiratoire (diverses maladies infectieuses)

• cancer Il est également utilisé pour soutenir et améliorer le système immunitaire **[Neumann.D et al. 1986].**

II.3 Technologie alimentaire

propolis est active en raison de ses propriétés antioxydantes, antifongiques et antibactériennes. Choix dans ce domaine. Les résidus de propolis semblent avoir des effets bénéfiques sur la santé humaine en général. Cependant, peu de recherches ont été effectuées sur les effets secondaires possibles d'une consommation accrue de propolis **(R. KRELL.1996).**

III- Effet biologique

1-Action antioxydant

L'activité antioxydante d'un composé ou d'un extrait est ou pour prévenir les réactions d'oxydation **(Popovici et al. 2009).** La propolis en a un Contrairement aux peroxydes lipidiques, une activité antioxydante a été démontrée dans divers cas. Organes (foie, rein, poumon, cerveau) qui préviennent les dommages des radicaux libres **(Kumazawa et al. 2004 ; Yang et al. 2011).** Les composés antioxydants responsables de cette activité sont principalement Kaempférol ainsi que des vitamines E et C, des flavonoïdes et des polyphénols CAPE Acide cinnamique : acide caféique, acide p-coumarique, acide féerique **(Kumazawa et al. 2004).**

2-Action anti-inflammatoire

L'effet anti-inflammatoire de la propolis est dose-dépendant. Son mécanisme est essentiellement similaire à celui de l'aspirine. Les extraits aqueux donnent de meilleurs résultats et de nombreux flavonoïdes interagissent avec les extraits aqueux **(Borrelli et al. 2002).**

Deux mécanismes anti-inflammatoires de la propolis ont été identifiés.
¬ Le premier mécanisme est l'inhibition de l'activation de molécules spécifiques.
Suppression du système immunitaire (IL-6) et inhibition d'enzymes spécifiques impliquées dans cette voie de signalisation Inflammation métabolique **(Khayyal et al. 1993).**

3-Action anticancéreuse

Les propriétés anti cancérigènes de la propolis et de ses principaux constituants ont été prouvées. Signalé dans de nombreuses études scientifiques sur les animaux. Les résultats montrent des effets antiprolifératifs sur de nombreuses lignées tumorales (sang, peau, côlon, sein, poumon, pancréas, foie, rein, prostate, cerveau)

Les effets chimio préventifs de la propolis dans des modèles animaux et en culture cellulaire ont été démontrés comme suit :

- Capacité à inhiber la synthèse d'ADN dans les cellules tumorales.
- Capacité à induire l'apoptose (mort cellulaire) des cellules tumorales **(Watanabe et al.2010)**

I-2-Pollen

-Les grains de pollen sont des parties de plantes, trouvées dans les angiospermes et les gymnospermes, qui contiennent un noyau mâle pour la fécondation avec le noyau femelle dans un ovule. Les spores sont équivalentes parties de fougères et de mousses, bien que le processus de reproduction soit quelque peu différent.

Pollen et les spores sont généralement considérés ensemble dans le terme général de « palynologie ». Pollen est produit dans les anthères, souvent dans des fleurs différentes (parfois sur des plantes différentes) d'ovule. Différents taxons végétaux dispersent le pollen de différentes manières, mais la plupart du pollen est soit dispersées par le vent (anémophiles) ou dispersées par les insectes (entomophiles). Les plantes dont le pollen est dispersé par le vent ont tendance à produire plus que ceux dont le pollen est dispersé par les insectes. Les grains de pollen sont généralement sphériques ou elliptiques, et varient en diamètre d'environ (0,01 mm) à environ (0,1 mm), selon sur les espèces : la plupart sont Les spores des fougères et des mousses ont une structure quelque peu différente du pollen **(K. J. WILLIS)**



Figure 21: Les grains de pollen (K. J. WILLIS)

1-Origine et expansion de pollen

Si le pollen se trouve être incorporé dans un environnement anaérobie avant de se décomposer, alors ils seront préservés et persisteront. Le contenu vivant du grain meurt probablement en quelques heures ou jours de libération, mais le mur extérieur peut survivre pendant des périodes de temps considérables. Le plus vieux les spores connues datent d'environ 470 Myr (Ordovicien) et la plus ancienne gymnosperme connue pollen de 360 Myr (Carbonifère). Le premier pollen d'angiospermes est 140 MYR old (Crétacé). Ces premières découvertes sont importantes partie de la preuve de l'ancienneté de ces groupes de plantes. On trouve des sédiments anaérobies partout où il y a un engorgement permanent : le fond des lacs, des tourbières et certaines rivières ou sédiments fluviaux (à l'abri de l'influence de l'eau en mouvement et aérée). Dans ces sédiments, le pollen s'accumule de la même manière que les autres matières, organiques et inorganiques, qui remonter les sédiments. **(K. D. BENNETT)**

2-La composition chimique du pollen

Le pollen est une source de nourriture, mais coûteux à synthétiser pour les plantes Sa composition est bénéfique pour de nombreux animaux. C'est un aliment complet à haute valeur biologique, contenant des nutriments précieux **(Caillas, 1957 ; Nigelle, 1972 ; Rabiet, 1984).** La composition chimique du pollen varie fortement selon l'origine des fleurs , les espèces végétales et les conditions environnementales . La composition des boules de pollen selon les auteurs **(campos et al, 2008) .**

2-1 L’eau

Il est en moyenne de 10 % pour les fleurs, de 10 à 40 % pour le pollen de trappe et de 4D44 pour le pollen sec. Un pourcentage de 5% représente généralement une limite supérieure à laquelle cela n'est pas fait **(Prost et Le conte, 2005).**

2-2- vitamines

Le pollen contient de nombreuses vitamines hydrosolubles, mais très peu de vitamines liposolubles. Il contient diverses vitamines telles que : Vitamine B1, B2; B3 ; C – acide folique **(Campos et al, 2008).**

2-3-Minéraux

-La teneur totale en minéraux du pollen est généralement de 2 à 4 % en poids.
Pollen séché. Ce sont le calcium, le chlore, le cuivre, le fer, Magnésium, manganèse, phosphate, potassium **(Bell et al., 1983).**
-L'élément minéral le plus important du pollen est le potassium (environ 60 % du total). Minéraux), magnésium (environ 20%), sodium et calcium **(Campos et al. 2008).**

2-4-Autres composants

Il existe également d'autres composants importants tels que:
- Facteurs de croissance: Un glycoside appelé rutine, un pigment qui améliore la résistance capillaires **(Nigel, 1972)**.
- La partie phénolique du pollen est principalement composée d'hétérosides et de flavonols. La composition est associée à des propriétés thérapeutiques (antibiotique, antioxydant). Pollen **(Campos et al. 2003).**
- Le pollen d'abeille contient des flavonoïdes, qui sont des métabolites végétaux
Affiche plusieurs structures phénoliques.
- Veuillez noter que les flavonoïdes sont des composés prêts à l'emploi. Un marqueur biochimique pour déterminer l'origine botanique du pollen. - Les flavonoïdes sont connus pour leurs propriétés anti-inflammatoires et Production de cytokines pro inflammatoires.
- Antibiotiques complémentaires pouvant être présents dans le pollen lui-même Les abeilles qu'elle a ajoutées lors de la fabrication des boules **(Campos et al. 2003).**

3- La description d’une trappe à pollen

La trappe à pollen se compose de trois éléments essentiels :

• Treillis vertical ou treillis piège : plastique ou métal perforé Maille de 4,5 mm de diamètre correspondant au diamètre de l'abdomen du travailleur.

• Filet de séparation : Tamis horizontal en acier inoxydable, maille 3 mm Le pollen pénètre dans le tiroir et empêche le contact entre le pollen et les abeilles.
• Tiroirs placés sous la grille : Conçu pour contenir des boules de pollen
Retirez les pattes des abeilles butineuses. Il est en bois ou en métal, et son fond plein ou perforé est plat ou concave. **(Prost, 2005).**

4-Propriétés biologiques et pharmacologiques de pollen:

4-1- Action Antioxydant :

-L'effet antioxydant du pollen n'est plus détectable et est dû à sa puissance En tant que piégeur de radicaux libres et inhibe la peroxydation des lipides. **[Farcot vašramkova et al. 2013]** Cette activité antioxydante joue un rôle important dans la santé cellulaire. Réel Stress oxydatif, excès d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) ou de radicaux Gratuit, c'est une sorte d'attaque cellulaire. La génération de ces ROS est physiologique. Cependant, il peut rapidement devenir morbide lorsque le système de protection est débordé. On parle d'équilibre du stress oxydatif). C'est le cas dans notre cas. Introduit de grandes quantités de radicaux libres dans les cellules Polluants (tabac, alcool, pollution). ROS tels que les hydroxyles, les peroxyles et les anions Des espèces azotées réactives telles que le super oxyde ou l'oxyde nitrique se forment Réponses métaboliques chez l'homme et l'animal. dans leur fabrication Excès excessif de capacité antioxydant physiologique, de protéines et de lipides L'ADN et l'ADN sont ciblés par l'attaque des radicaux libres, causant des dommages, Dysfonctionnement enzymatique des membranes c0ellulaires et du matériel génétique. et promouvoir les maladies chroniques telles que le cancer,

4-2- Action Anti-inflammatoire

En plus de ses propriétés antioxydantes, il contient également des flavonoïdes et des caroténoïdes. Donne au pollen un effet anti-inflammatoire prononcé. Certains d'entre eux flavonoïdes tels que la quercétine-7-rhamnoside, l'isorhamnétine, Kaempférol et Quercétine. Prouvé pour avoir des propriétés anti-inflammatoires était due à la régulation de l'expression de gènes pro-inflammatoires, COX2 i-NOS, cytokines

PARTIE EXPERIMENTALE

Partie 01 : Aspect épidémiologique du cancer de sein

- **Objectif**

- Le but de notre travail est étudiée une contribution à la connaissance du cancer de sein et de son incidence, et réaliser une étude anatomopathologique, histopathologie et épidémiologiques, Cette Etude élaborée dans la wilaya **de MEDEA** région **dfge BERROUAGHIA**.

1- Lieux de travail

Notre travail a été réalisé au laboratoire d'anatomo-pathologie et cytologie pathologiques (ACP) **– Dr. Rahmani Hamza** - à **Berrouaghia**., de 12 février 2023 au 25 Mai 2023. La compilation des données sur dossiers nous a permis d'établir :



Figure 22 : laboratoire d'anatomie et cytologie pathologique Dr. RAHMANI. Hamza à Berrouaghia.2

2-Période d'étude et Population d'étude

-Il s'agit d'une étude rétrospective réalisée au sein la clinique privé de laboratoire d'anatomie et cytologie pathologique : Dr.Rahmani Hamza, Cette étude inclus tous les patients présentant un cancer du sein, cette étude a été réalisée sur 125 patients divisé en deux période de 3 ans entre (2020-2023).

-Dans le but le décrire les aspects épidémiologiques et anatomopathologique de ces cancers, on a effectué une :

-Etude épidémiologique des patients présent un cancer du sein traités dans le laboratoire.

- -Etude anatomopathologique et histologiques des prélèvements reçus de tous les types de cancer du sein, durant la période 2020-2023.

- **Méthode :**

I-Etude Anatomopathologique

I-1-Prélèvement tissulaire

- Les prélèvements tissulaires sont obtenus, soit par biopsie, soit par résection d'une pièce opératoire ou des blocs communiqués.

Étape pré- Analytique :

Après les réceptions des prélèvements, L'échantillon est reçu par le service de réception du laboratoire. Après vérification de la conformité nous avons enregistré les informations suivantes :

♣ Le Nom de patient. ♣ Le Numéro anatomopathologie. ♣ Le service

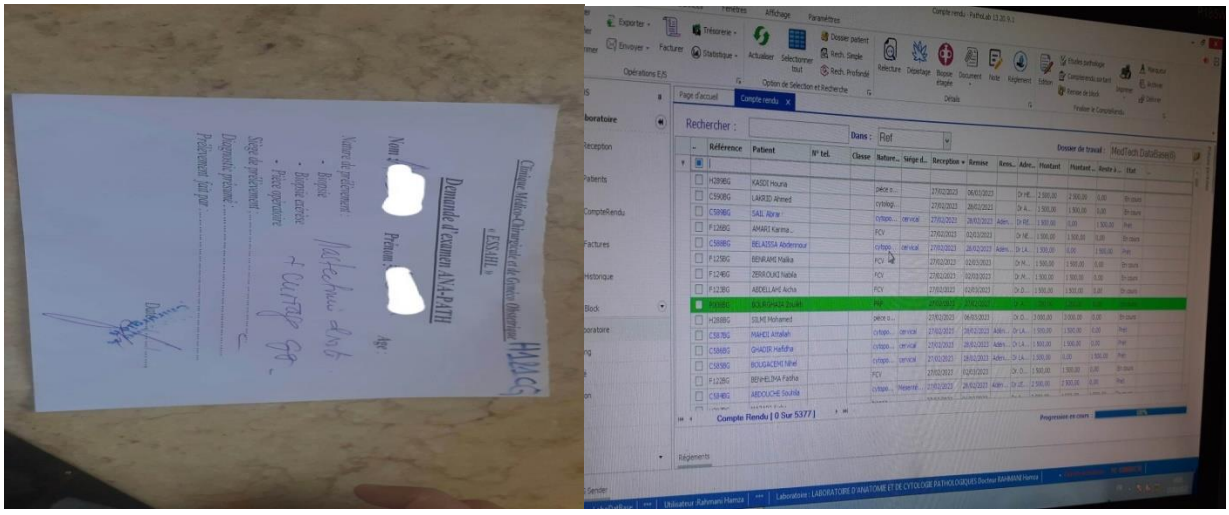


Figure 23 : enregistrement des informations de la malade.

I-2-Enregistrement

- Une fois qu'un échantillon arrive au laboratoire, il est enregistré et reçoit un numéro d'identification unique. Celle-ci sera transcrite sur blocs et lames, qui seront examinées au microscope après le traitement technique des échantillons



Figure 24 : la réception des prélèvements avec les fiches

I-3-Etude macroscopique

- L'analyse macroscopique donne une indication sur le pronostic de la maladie (notamment la taille et la localisation du cancer) et il est possible de sélectionner la zone à prélever pour l'étude microscopique : zone lésée, aspect macroscopique sain et zone de résection limitée. L'examen macroscopique est un diagnostic visuel, le médecin place le prélèvement suspect directement dans la boîte pré-étiquetée avec le numéro de dossier du patient pour éviter toute erreur entre les patients ; cette étape se fait dans la salle macro, tous les prélèvements reçus sont préparés sous l'hôte.

I-3-1- Dans le cas d'une biopsie

Les échantillons de la biopsie recueillis sont mis dans les cassettes et conservés dans du formol à 10%.

I-3-2-Dans le cas d’une pièce opératoire

Le but de la prise en charge macroscopique des mastectomies est d'obtenir des informations sur la morphologie et le pronostic tissulaire, qui s'effectue dans l'ordre suivant :

- Orientation de la pièce de mastectomie

- Analyse macroscopique de la pièce opératoire par la vue et le toucher (il faut décrire et mesurer).
- Mesure dans les trois plans de l'espace de la taille de la pièce transmis (largueur longueur, diamètre).
- La découpe en plusieurs tranches sans séparer la pièce de mastectomie
- 

-

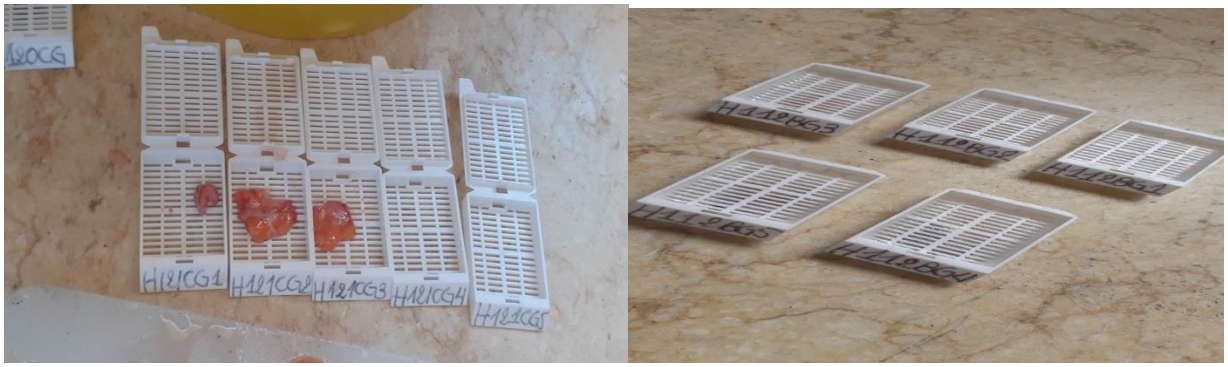


Figure 25 : Etapes de la prise en charge macroscopique d'une pièce de mastectomie

La mise dans les casettes

- les prélèvements sont directement déposés dans des cassettes en plastiques s'il s'agit de biopsies. Dans le cas où il s'agit des pièces opératoires, un examen macroscopique est réalisé en prélevant des fragmentes de petite taille de la pièce (La base de résection chirurgicale, la tumeur, tissu adjacent, tissu à distance, la peau, le mamelon, les ganglions axillaires).

Figure 26 : La mise en casettes



C’est un carcinome infiltrant de type non spécifique avec infiltration ganglionnaire

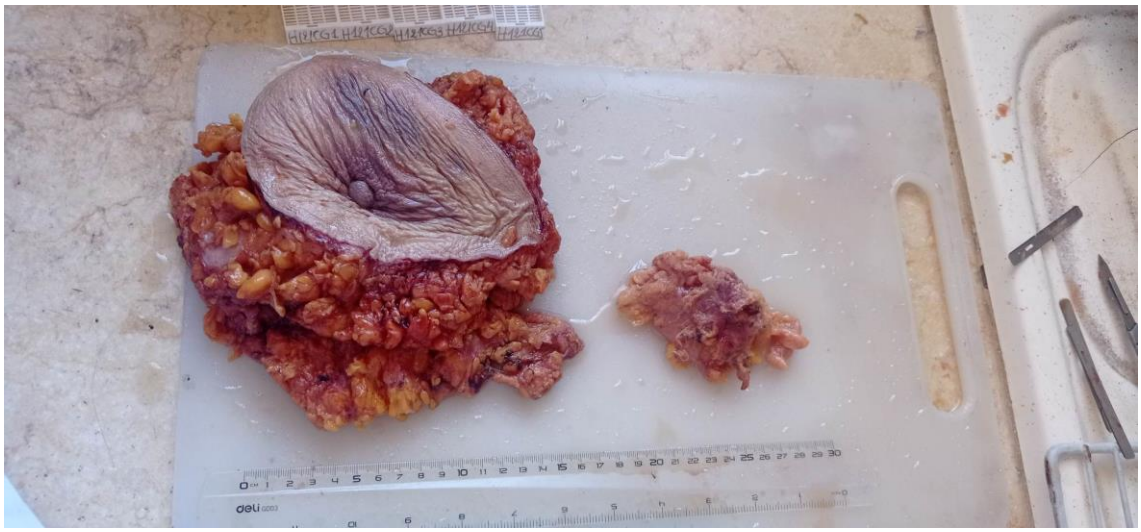


Figure 27 : Carcinome infiltrant de type non spécifique (prise de vue)

Fixation

Est indispensable pour la conservation la morphologie cellulaire elle doit être effectuée immédiatement après l’obtention du prélèvement, son pour le but est de s’opposer à l’autolyse paramétré des cellules responsable de la putréfaction des tissus, et garantir la conservation des structures des prélèvements dans un état proche de l’état vivant la durée de fixation indispensable des piégés opératoire est de 24 h minimum, pour les biopsie c’est 6 h. Tout fixation défectueuse rend l’étude Anatomopathologie difficile voire impossible (dessiccation et / ou utilise du tissu) A cet effet :

¬ Le volume de fixateur doit représenter environ 1foie le volume de la pièce

¬ Le fixateur utilisé : est une solution de formole à10 % tamponné

¬ La cassette est mise dans 2 bains de la solution de formule (30 min pour chacun)

- Le rinçage

Ce fait avec l'eau du robinet Pour débarrasser du formol.

- déshydratation

-Le but de cette étape est de remplacer l'eau contenue dans les tissus par de la paraffine. Comme la paraffine n'est pas miscible à l'eau, les solides doivent être déshydratés des bains d'alcool à vitesse croissante, puis dans du xylène et enfin dans de la paraffine liquide. Les cassettes contenant les échantillons sont placées dans l'automate

L'automate sa déshydratation contenant 12 bacs répartis comme suit:

	Alcool 1	Alcool 2	Alcool 3	Alcool 4	Xylène 1	Xylène 2	Paraffine 1 60 °C	Paraffine 2 60°C
Biopsie	1H	1H	1H	1H	1H	1H	1H	1H
Pièce opératoire	1H 30Min	1H 30Min	1H 30Min	1H 30Min	1H 30Min	1H 30Min	1H 30Min	1H 30Min

Tableau 4: Répartition des réactifs de la déshydratation dans les bacs de l'automate.



Figure 28: Les différentes étapes de déshydratation.

-L’inclusion

-Après séchage, les tissus sont saturés de paraffine liquide à 56°C et laisser refroidir.

- Cette étape est automatisée dans les dispositifs d'engagement. La dernière étape du contenu est manuel et consiste dans la bonne direction vers le fragment de tissu à nouveau couper le moule en paraffine.



Figure 29 : incubateur

-L’enrobage

-Après l’inclusion en paraffine, les prélèvements sont enrobés dans la paraffine pour confectionner des blocs. L’enrobage permet de fournir un support externe pendant et après la coupe, au moment de la coupe, on peut manipuler le tissu sans avoir à le toucher directement (puisqu’il est entouré de paraffine)





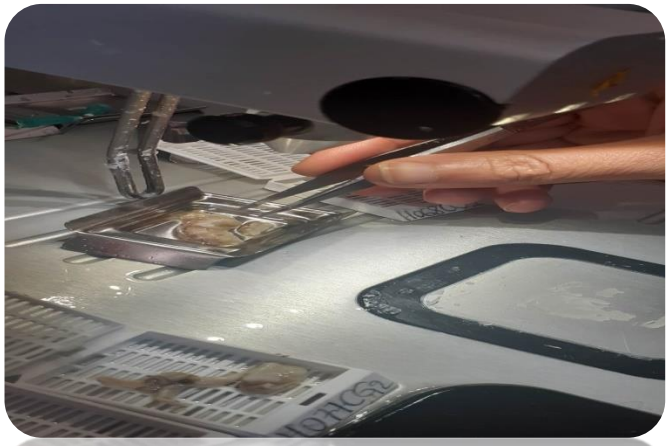


Figure 30 : Les étapes de l'inclusion (prise de vue)

La coupe

-Le bloc solide de paraffine contenant le tissu est coupé grâce à microtome, les coupes sont de 3 à 5 microns d'épaisseur puis ils seront étalés sur des lames d'épaisse

- .Ces derniers sont étalés dans le bain marie à 41°c contenant de l'eau distillée ensuite récupérés sur une lame puis mis dans la plaque chauffante à 75°c pour le déparaffinage



Figure 31: le microtome.





Figure 32 : les étapes de la coupe par microtome (prise de vue)

-

Ensuite récupères sue une lame puis mis dans la plaque chauffante à75°C pendant 15 min pour le déparaffinage.



Figure 33 : plaque chauffante

- Coloration

La coloration permet l'analyse des tissus, des cellules, de leur noyau et de leur architecture cytoplasme et constituants extracellulaires. Les tasses ne sont pas prêtes Vous ne pourrez obtenir les couleurs qu'après les deux étapes suivantes : enlever la paraffine et l'hydratation.

Xyléne 1 5 Min	Xyléne 2 5 Min	Xyléne 3 5 Min	Alcool 1 2 Min	Alcool 2 2Min	Alcool 3 2 Min
Passage Eau Courante	Hématoxyline de Harris 2Min	Rinçage Eau	Eosine 1 Min 30s	Rinçage Eau	Alcool 1Min
Alcool 1 1 Min	Alcool 2 1 Min	Xyléne 1 2 Min	Xyléne 2 2 Min	Xyléne 3 2Min	

Tableau 5 : le protocole de la coloration

Montage

-Monter une lamelle sur une lame a l'aide de xylène et de milieu de montage l'Eukit, permet d'observer les lames et de les conserver



Figure 35 : Montage des lames (prise de vue)

-La lecture des lames

Est pratiquée par le médecin spécialiste pathologiste. Cette étape permet en particulier d'affirmer le caractère tumoral ou non d'une lésion et d'aboutir à l'identification de la tumeur, basée sur son phénotype cellulaire et tissulaire.

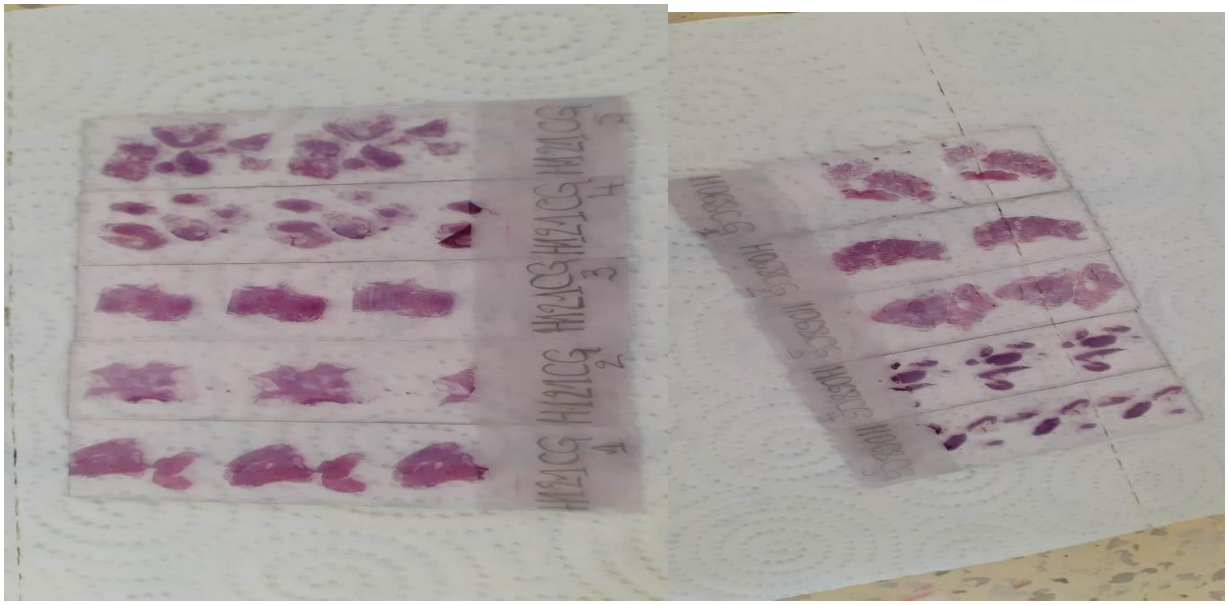
II- Etude microscopique

- Observation

- pour obtenir un bon résultat, observez avec le plus faible grossissement vue de la tumeur au plus fort grossissement pour bien comprendre les détails cellulaire et nucléaire Cette action permet d'interroger la création d'un rapport : une description précise du stade de la maladie et du problème sous-jacent



Figure 36 : microscope optique LEIKA pour l'observation des lames.



III-Etude

Figure 37 : coupe histologique d'un carcinome infiltrant

Immunohistochimies

-Une technique immunohistochimie indirecte consiste en une incubation primaire antigène avec un anticorps spécifique. Un produit formé lors de la fixation d'un autre anticorps, de manière covalente avec une enzyme (habituellement la peroxydase). Un facteur commun Les méthodes immunohistochimies sont l'utilisation de marqueurs associés à des anticorps Action l'enzyme est révélée à l'aide de marqueurs enzymatiques spécifiques au substrat. Les différents consensus internationaux ont identifié plusieurs facteurs pronostiques dans le cancer du sein : l'âge, la taille tumorale, l'atteinte ganglionnaire, l'infiltration lymphovasculaire, la présence des récepteurs hormonaux aux œstrogènes et à la Progestérone, et la surexpression de HER2. Les facteurs histopronostiques, en particulier l'hormonosensibilité et le statut HER2 de la tumeur, sont devenus les déterminants de l'attitude thérapeutique. Ils permettent une approche individualisée dans le traitement du cancer du sein en sélectionnant le traitement le plus efficace correspondant à un type particulier de cancer mammaire e **(Touraif, 2017).**

Protocole d'immunohistochimie

Les coupes déparaffinées, hydratées et lavées sont incubées en milieu saturé. Récupération d'antigène avec tampon phosphate PBS, pH : 7.4. Ajouter, 0,6 % d'albumine de sérum bovin (BSA), 0,1 % de Tween 20 et 1 % de H2O2 ajoutés en 110 volumes Cuire aux micro-ondes à 95°C pendant 30 minutes.

-Le milieu saturé est utilisé pour bloquer les blancs sur les coupes de tissu. Eau L'oxygène sert à piéger la peroxydase endogène. Lavez ensuite les lames. Une solution de PBS a été ajoutée et incubée pendant 30 min dans un milieu saturé sans H2O2. Incuber avec le premier anticorps de lapin anti-HER2 humain A0485 dilué au 1/250 de pouce Les tampons saturés sans H2O2 persiste pendant 2 heures à température ambiante et sont suivis. Laver trois fois pendant 10 min chacun dans un tampon PBS. L'immuno détection est réalisée à l'aide d'un anticorps secondaire conjugué à la peroxydase. Dilué 1/250 avec liquide saturé sans H2O2

-Le substrat de peroxydase utilisé est la 3,3-diaminobenzidine. (DAB) Solutions Cette divulgation a été faite volontairement et contient 0,4 % de DAB dans du PBS. Une Solution de H2O2 à 30 % en volume. Ajouter immédiatement 1 µl pour 1 ml de solution. Utiliser. Cette révélation se passe dans une pièce sombre, la réaction est commode Arrêtez la réaction en le retirant immédiatement pour éviter une décoloration excessive. Retirer la solution et laver les coupes plusieurs fois avec de l'eau distillée. Un contre Une coloration aqueuse à l'hématoxyline de Meyer a été réalisé. La spécificité des résultats obtenus est confirmée en réalisant la même expérience avec incubation. Faire des coupes histologiques uniquement en présence d'anticorps secondaire. Après rinçage des lames sous l'eau courante, les coupes sont assemblées avec Eukit. Les lames de contrôle négatives et positives (fournies) ont été utilisées uniquement à des fins de dépistage. Il s'agit d'une validation du test d'évaluation et n'est pas destiné à servir de guide pour évaluer les résultats du test réaction**. (Voir l'annex)**

Partie II expérimental

Partie 02 : Essai in vitro des produits de la ruche sur le cancer du sein

II. Matériel et méthodes

Ce travail consiste à étudier l'activité antioxydant et anti-inflammatoire de l'extrait éthanoïque de la propolis. La partie in vitro a été réalisée au niveau du laboratoire de Laboratoire de SNV université OUAZRA YAHIA FARES pendant la période 20/06-26/06/2023

L'objectif de notre étude est d'une part, d'étudier l'effet anti-inflammatoire de l'extrait ethanolique de la propolis in vitro et d'autre part Nous avons également évalue la teneur moyenne dans notre extrait en polyphénols et en flavonoïde

II.1. Le matériel utilisé se figure dans l'ANNEXE I.

II.2. Méthode

II.2.1. Echantillonnage

Les échantillons utilisés dans cette étude ont été collectés en mai 2023au niveau de la zone de ben chikaou **(wilaya de Médéa). Tableau 01**

Tableau 14 : Plantes étudiées, leur date et région de récolte

Echantillon	La Région	Dat de récolte
Propolis brute	Ben chikao Ain defla	Mai 2023
Pollen d'abeille	Ben chikao	Mai 2023

II.2.2. Préparation du matériel

Deux opérations de prétraitement, séchage et broyage, ont été réalisées sur ces matériaux pour faciliter l'extraction des composés phénoliques de ces echantillon , mais cette extraction qui n'utilise pas le séchage.

✓ **Broyage**

Les parties de plantes ont été pesées et broyées. Moudre finement dans un moulin à café jusqu'à l'obtention d'une poudre . Mettez la poudre dans une boîte et gardez-la au sec (température ambiante) à l'abri de l'humidité.



Echantillon sèche **broyage** **poudre**

Figure (57) broyage des echantillon .photo original

II.2.3. Extraction des composés phénoliques

L'extraction a été réalisé au laboratoire pédagogique de la faculté des sciences - **Université de Médéa.**

✓ **Principe**

L'étape d'extraction est considérée comme une étape critique dans l'analyse, Identification de molécules bioactives. Extraction de produits naturels. Généralement, il s'agit d'un type solide-liquide. Les méthodes dites traditionnelles, telles que La macération et la décoction sont utilisées depuis longtemps et sont considérées comme des techniques. Sélection pour l'extraction de composés naturels **(Mendiola, 2007).**

Dans notre étude, nous avons utilisé deux méthodes d'extractions qui sont :

- Extraction par macération dans l'éthanol aqueux.
- Extraction par décoction dans l'eau distillée bouillante.

II.2.3.1. Extraction par macération (propolis brute)

La macération est le procédé le plus simple et consiste à laisser macérer. Le matériau est broyé dans de l'éthanol aqueux pour extraire les composés phénoliques (**Lanza et al., 2009).**

- ✓ **Mode opératoire**

La propolis brute est broyée en poudre et macérée dans différents solvants comme suite :

- ✓ 1/ Propolis 20 g; PEG 40g; Water ad 200 mL 5h (PEG: polyethylene glycol), (Fig)
- ✓ 2/ Propolis 20 g; ethanol 70 % ad 100 mL Room temperature 5h donc (200ml), (Fig)

Par agitation. Temps d'extraction 5 h à température ambiante. Le rapport échantillon-solvant de propolis était de 1 :10 (p/v). Après extraction, les extraits de propolis ont été filtrés sur papier filtre et conservés à 4°C. Les solutions sont des liquides clairs et jaunes et restent stables lorsqu'elles sont stockées. Ce filtrat représente l'extrait éthanolique de la propolis (EEP).

- ❖ Puis évaporé au moyen d'un évaporateur rotatif (rota vapor), (fig) équipé d'un régulateur de pression interne. La diminution de la pression réduit le point d'ébullition du solvant, provoquant alors il s'évapore plus facilement.

- ❖ **1ère extraction de propolis brute avec éthanol :**

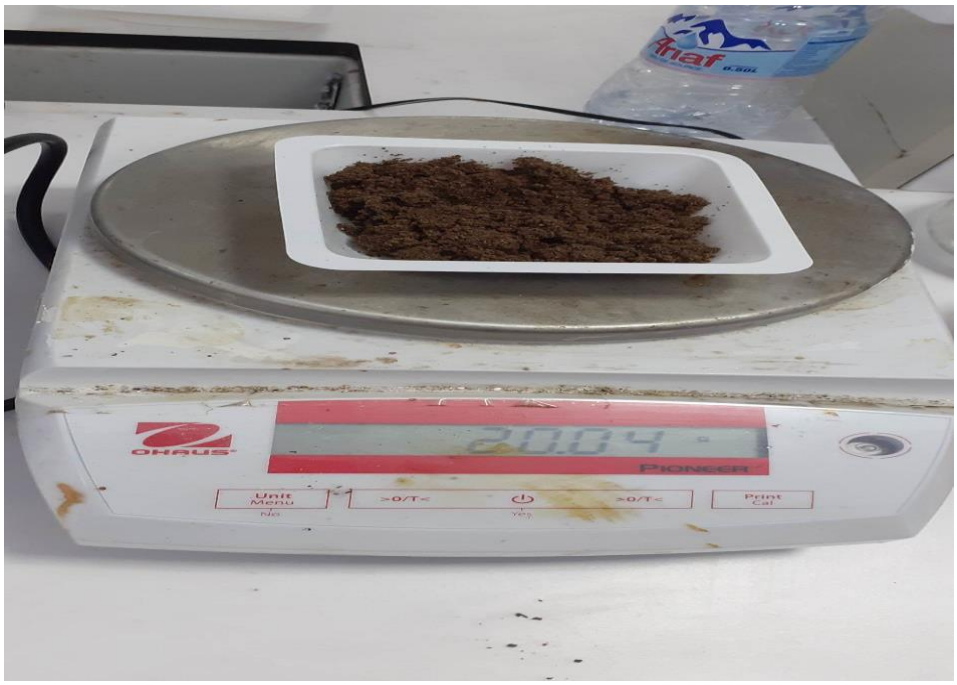


Figure 58 : La poudre de propolis brute après le broyage (Laboratoire de SNV Université OUZRA YAHIA FARES. Photo original

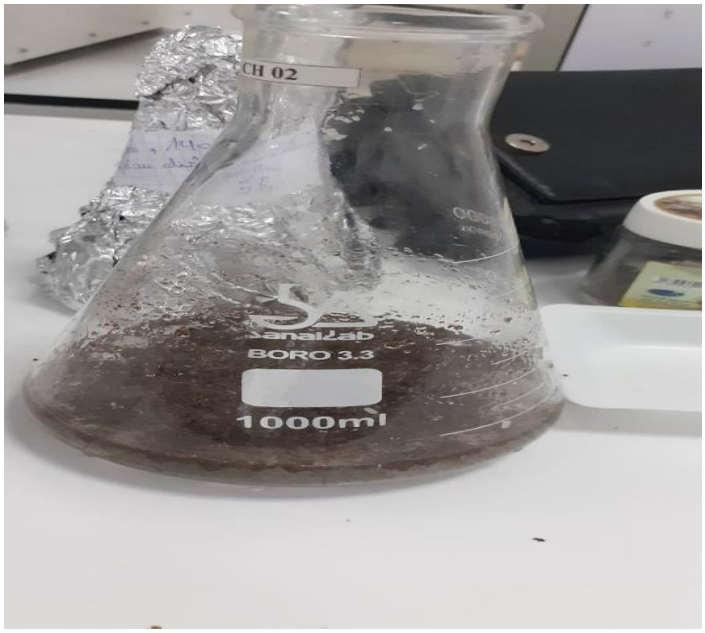


Figure 59 la poudre de propolis brute dans le mélange (eau éthanol) (**laboratoire de SNV université OUZRA YAHIA FARES). Photo original**





Figure 60 La masse sous agitation **Figure 61** La masse pendant la filtration

(Laboratoire de SNV université OUZRA YAHIA FARES)

Photo original



Figure 62 : Après la filtration de la masse **(laboratoire de SNV université OUAZRA YAHIA FARES). Photo original**



Figure 63 : Rota vapeur (**Laboratoire de SNV université OUZRA YAHIA FARES)**

II.2.3.2. Extraction par décoction

Décoction est une méthode d'extraction des principes actifs d'une préparation généralement végétale, et ce en dissolvant le phytochimique dans un solvant approprié, généralement de l'eau bouillante. Elle s'applique aux parties les plus dures d'un arbre : racines, graines, écorce, bois **(Sophie, 2003).**

L'extraction des composés phénoliques par décoction a été réalisée selon protocole décrit par **Chavan et al. (2001).**

- **2em extraction de propolis avec PEG**

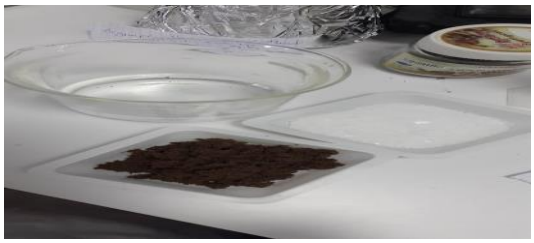
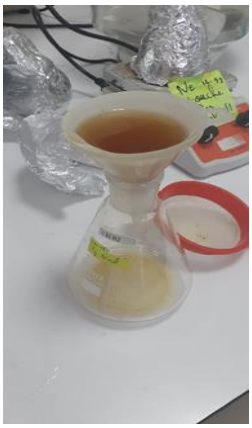


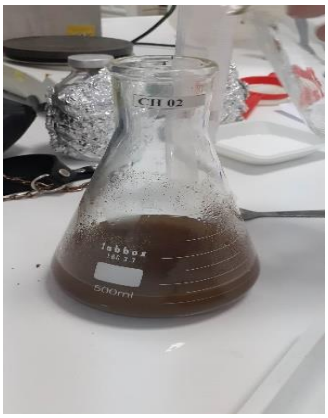
figure 64 : préparer de solution



Solution avec PEG



La masse pendant la filtration



Après la filtration

Figure 65 : (Laboratoire de SNV université OUZRA YAHIA FARES) .photo original.

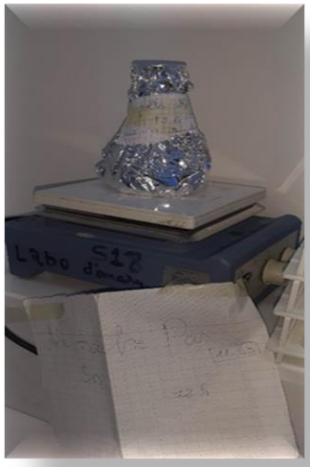
❖ **3em extraction du pollen abeille**

✓ **Mode opératoire**

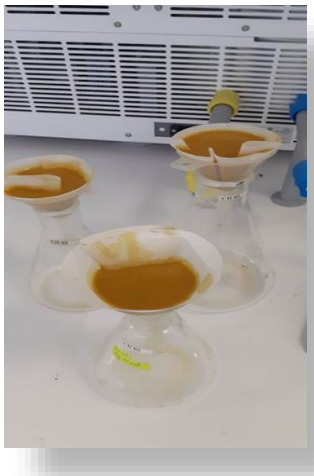
Un échantillon de pollen d'abeille a été réduit en poudre par broyage et 20 g de cette poudre fine ont été mélangés avec 200 ml d'eau distillée. L'extraction a été effectuée pendant 72 h sur un agitateur magnétique sous constante agitation à 150 pm. Enfin, le mélange a été filtré et le filtrat a été stocké à +4°C.







Poudre de pollen Solution mélanger la mass sous agitation





La mass pendant la filtration les 3 extrais après rotavap

)

Figure les étapes **3em extr action du pollen abeille (photo original 2023**

✓ **Calcul du rendement (R%)**

Le rendement de la synthèse se calcule en faisant le rapport entre le poids de extraits obtenue apres le rotavap dans le ballon et le poids de ballon qui vide et la masse de matière sèche de echantillon utilisée, il est calculé par la formule donnée par

$$Rdt = (m0/m1)*100$$

♣ **Rdt** : rendement de pourcentage

♣ **m0 :** masse en grammes de l'extrait récupérée .

♣ **m1** : Masse en grammes de la prise d'essai (les graines broyées)**.**

.

II.2.4. Analyse quantitative

II.2.4.1. Dosage des polyphénols totaux

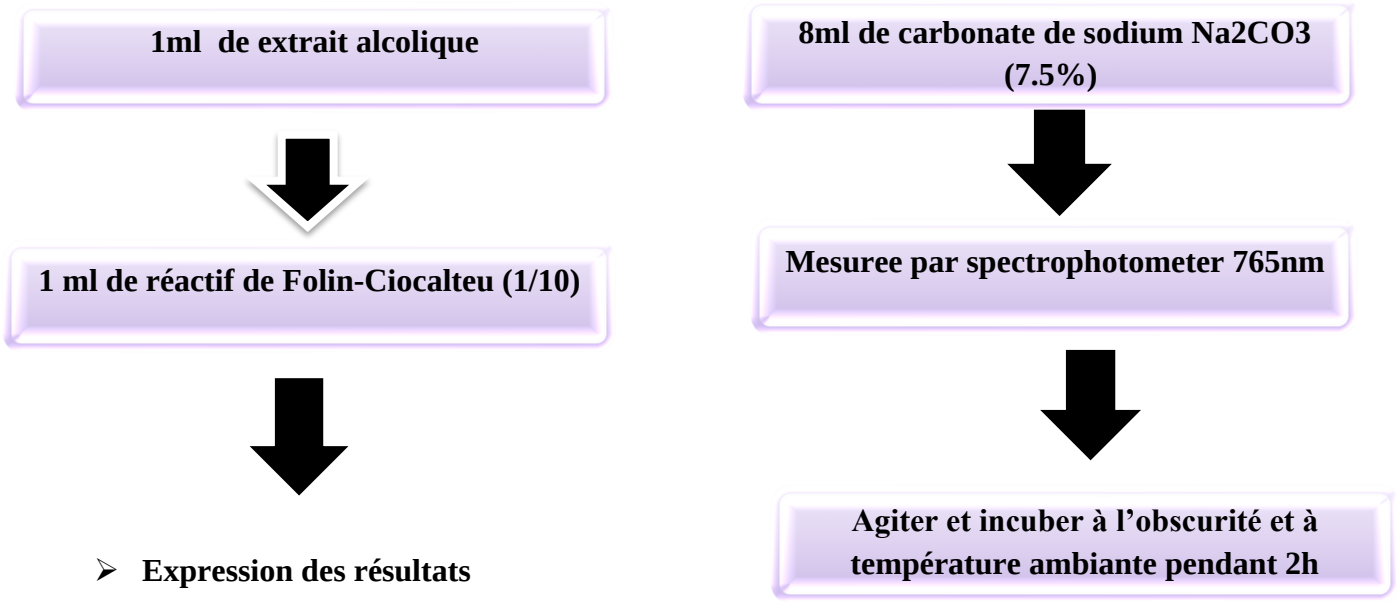
Le dosage des polyphénols totaux a été effectué avec le réactif colorimétrique Folin-Ciocalteu selon la méthode citée par **Rsaissi et al. (2013).**

➢ **Principe**

Le principe de cette méthode repose sur l'oxydation des composés phénoliques Réactif de Folin-Chokartow. Ce dernier est constitué d'un mélange Acide phosphotungstique **(H3PW12O40)** et acide phosphomolybdique **(H3PMo12O40)** Lors de l'oxydation du phénol, il est réduit et un nouveau produit est formé Un composite d'oxyde métallique coloré de tungstène **(W8O40)** et de molybdène (Mo8O23) bleu. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la quantité de polyphénols ,Il est présent dans des extraits végétaux **(Skerget et al., 2005 ; Ribéreau, 1968).**

✓ **Mode opératoire**

Protocole de dosage des polyphénols totaux (Rsaissi et al. (2013).

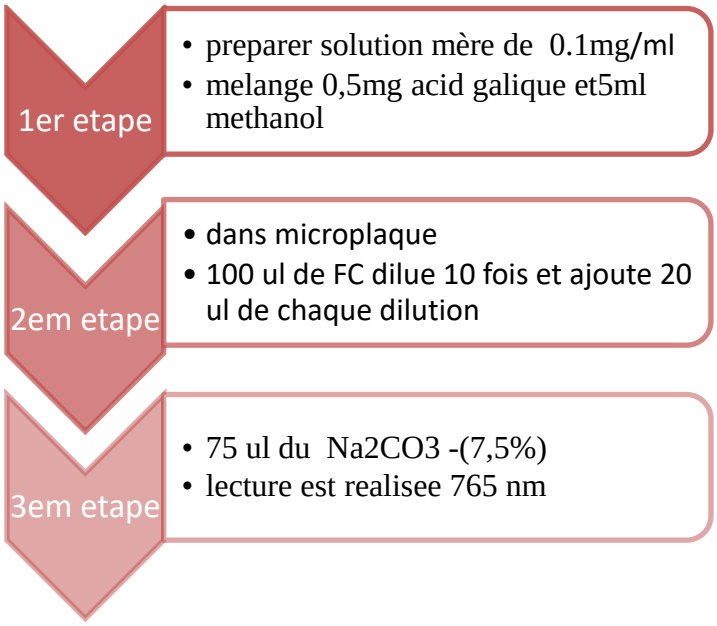


➢ **Expression des résultats**

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage, établie avec le standard étalon l'acide gallique (5- 200µg/ml) et exprimée en microgrammes d'équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait (mg EAG/g).

-La formule de la régression linéaire de cette courbe d'étalonnage est de y=0,0019 x=0,1042 avec un coefficient de corrélation R2 = à 0.9914. La courbe d'étalonnage de l'acide gallique est représentée dans **(l'annexe)**

- **Dosage de la gamme d'étalon d'acide gallique**



Dosage des flavonoïdes

Un volume de 250 µl de chaque extrait + 750 µl d'Ethanol sont ajoutés à 1000 µl ; une solution à 2% d'AlCl3 éthanolique. L'absorbance a été mesurée à 430 nm, après une incubation à température ambiante pendant de 10 min. La teneur en flavonoïdes a été exprimée en microgramme l'équivalents de quercétine par milligramme d'extrait (µg EQ/mg) à travers la courbe d'étalonnage avec la quercétine (Miliauskas et al., 2004). Le blanc est préparé de la même façon sauf que l'extrait est remplacé par le solvant

Principe des flavonoïdes

contiennent certains groupements structuraux susceptibles de former par chélation des complexes jaunâtres avec les métaux notamment le fer et l'aluminium.

II.2.5. Activités biologiques

II.2.5.1. Activité antioxydante :

Les antioxydants sont des substances qui empêchent ou retardent l'oxydation. Oxydation catalytique et décomposition naturelle **(Madrid Vicente, 2000)**. Depuis Par conséquent, les antioxydants aident à contrôler les niveaux d'espèces réactives Minimise les dommages oxydatifs.

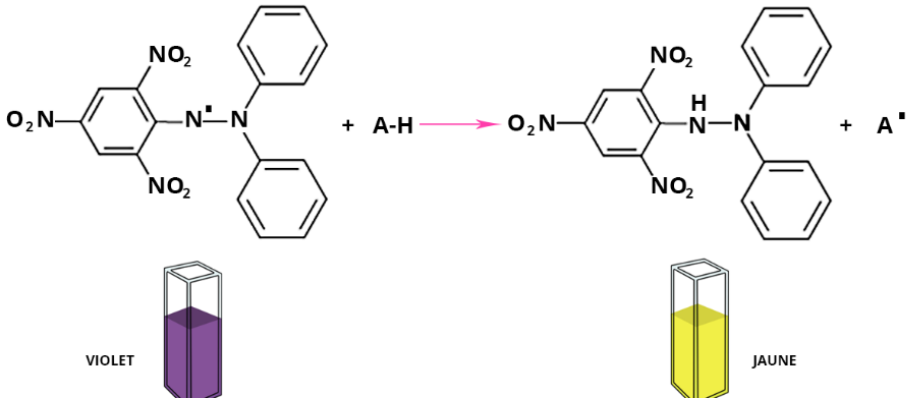
Même si les antioxydants de synthèse sont efficaces et que leurs doses tolérables sont respectées a été limité principalement pour éviter les problèmes de toxicité observés depuis lors Les années **1980** voient la frénésie des produits naturels et le développement des extraits. Des plantes antioxydantes aux propriétés biologiques antioxydantes Aide à réduire le risque de certaines conditions médicales **(De-Reynal et Multon, 2009)**. Ce n'est pas le cas pour l'évaluation in vitro de l'activité antioxydante des extraits naturels méthode a été utilisée. Ces processus sont un mélange d'espèces Avec des agents oxydants tels que les radicaux libres et les complexes d'oxydes métalliques Échantillons contenant des antioxydants qui inhibent la production de radicaux libres.

➢ **Test DPPH**

L'activité de piégeage des radicaux libres a été mesurée en termes de radicaux libres DPPH stable **(C18H12N506),** l'un des tests les plus importants pour la découverte Utilisation d'extraits de plantes comme antioxydants **(Markowicz Bastos et al., 2007**).

➢ **Principe**

Le test DPPH° permet de mesurer le **pouvoir antiradicalaire** de molécules pures ou d'extraits végétaux dans un système modèle (solvant organique, température ambiante). Il mesure la capacité d'un antioxydant (AH, composés phénoliques généralement) à réduire le radical chimique DPPH° (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) par transfert d'un hydrogène. Le **DPPH°**, initialement violet, se transforme en **DPPH-H**, jaune pâle.



Diphenolpicrylhydrazyl **Diphenolpicrylhydrazyl**

✓ **Mode opératoire**

Cette méthode est basée sur la mesure de l'absorbance à 517 nm lors de la production de radicaux.

Le DPPH libre stable réagit avec les antioxydants. DPPH, radical libre violet en présence de pour donner un composé jaune (ladyphenylpicrylhydrazine). Composé antiradicalaire. L'intensité de la couleur est inversement proportionnelle Pour l'activité antiradicalaire des extraits mesurant l'activité. Le protocole utilisé est basé sur celui de protocole décrit. Par **Djeneb et al. (2007)** certains changements.

- **Préparation de DPPH**

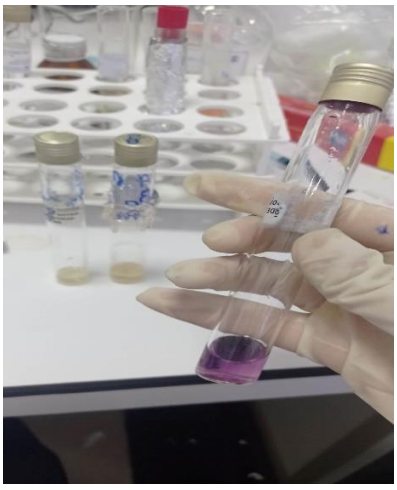
Dissoudre 4 mg de DPPH dans 100 ml d'éthanol absolu pour obtenir une solution mère de $6,10^{6}$ M de DPPH.



Figure 66 : : préparation de la solution de DPPH (**photo original.)**

- ✓ **Préparation des extraits**

Préparation des concentrations des extraits alors que la gamme de concentration de chaque extrait est préparée dans l'éthanol (**70 % d'éthanol et 30 % d'eau)** à **5 mg/m**. (10mg/ml, 20mg/ml, 30 mg/ml, 40 mg/ml, 50 mg/ml.



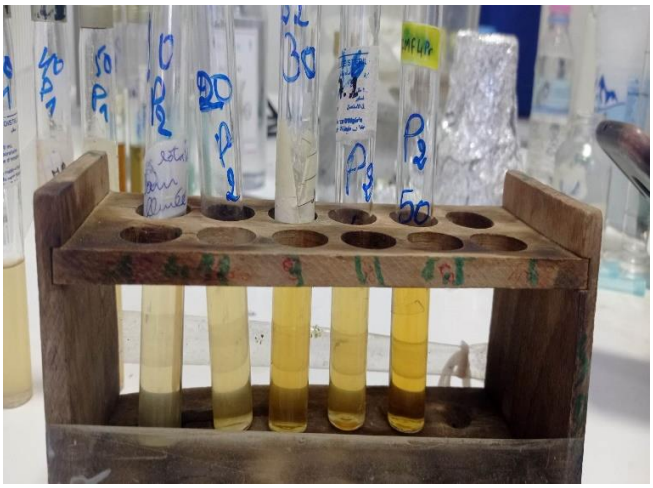


Figure 67 : préparation des extraits éthanolique.**Photo original**

✓ **Mode opératoire**

0.1 ml de l'extrait à différent concentration

2.9 ml de solution DPPH

Homogénéisation et incubation 30 min à l'abri de lumière 30 min à T° ambiante



Lectures à 517 nm par un spectrophotomètre

Figure 68 : Schéma représentatif du protocole expérimental de l'activité antioxydant

✓

✓ **Expression des résultats**

Pour obtenir une concentration efficace, réduire la concentration initiale de DPPH de 50%. Ainsi que la capacité à combattre les radicaux libres (PRA égale 1/IC50) (**lieilero et et al. 2003).** Les résultats sont exprimés en termes d'activité antioxydante.

L'évaluation de l'activité antioxydante en utilisant la méthode DPPH est exprimée en pourcentage selon la relation suivante :

Inhibition %= (Abs contrôle – Abs test) / Abs contrôle x 100

Abs Contrôle : est l'absorbance du tube contrôle.

Abs Extrait : est l'absorbance de la concentration en test.

Les résultats sont exprimés comme la moyenne de trois mesures ± écart type. La valeur EC50 (également appelée valeur IC50) a été déterminée pour chaque extraction. Défini comme la concentration du substrat qui provoque une perte de 50° de l'activité du DPPH (couleur) ou d'autres substances. Il s'agit de la concentration d'échantillon requise pour réduire l'absorbance de la solution témoin contenant de l'éthanol et du DPPH de 50 %. La EC 50 moyenne est calculée à l'aide de la méthode de régression linéarité de trois tests distincts où l'axe horizontal est exprimé par la concentration des composés testés et le titrage centile de l'activité antioxydante **(Mensor et al. 2001).**

La vitamine C (l'acide ascorbique) a été utilisé comme échantillon de référence grâce à forte capacité antioxydante pour faire la comparaison avec nos extraits, après la préparation des différentes concentrations la mesures des absorbances est réalisé, les valeurs obtenues ont permis de tracer une courbe de pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration.

Matériels et méthodes

Ce travail consiste à étudier l'activité anti-inflammatoire de l'extrait éthanoïque de la propolis. La partie in vitro a été réalisée au niveau du laboratoire de Laboratoire de SNV université OUAZRA YAHIA FARES pendant la période 20/06-26/06/2023

L'objectif de notre étude est d'une part, d'étudier l'effet anti-inflammatoire de l'extrait ethanolique de la propolis in vitro et d'autre part Nous avons également évalue la teneur moyenne dans notre extrait en polyphénols et en flavonoïde

Etude de l'activité anti-inflammatoire

1. Test de dénaturation des protéines (BSA)

Le pouvoir d'inhibition de la dénaturation des protéines de l'extrait ethanolique de propolis a été mesure par la méthode décrite par Gunathilake et al. (Gunathilake et al., 2018) avec quelques modifications (Température 70°C à la place de 58°C).
Le mélange réactionnel contient 2,5 ml du PBS (pH 6.4), 450 µl de solution de BSA 1 % et 50 µl de l'extrait ethanolique de propolis a différentes concentrations (100 µg/ml, 250 µg/ml et 500 µg/ml). Le mélange a été incube à 37 °C pendant 15 min puis rein cubé a 70 °C pendant 5 min. Apres refroidissement à température ambiante, l'absorbance a été lue à 600 nm. Un contrôle a été préparé dans les mêmes conditions. Le diclofenac de sodium a été utilisé comme contrôle positif (médicament de référence) préparé dans les mêmes conditions.

Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines est calculé comme suit:

$$\% \text{ inhibition} = [(Ac - At) \text{ I } Ac\} \times 100$$

AC : Absorbance du contrôle.
At: Absorbance de l'échantillon (test).

2. Stabilisation de la membrane des globules rouges

Préparation de la suspension des globules rouges

Le test de l'étude de la stabilisation de la membrane des globules rouges a été réalisé selon la méthode de Sharma et al. (Sharma et al. 2018). Le sang a été prélevé à partir d'un lapin. Le sang recueilli a été mélange à un volume égal de solution d'Aléser stérilisée (2 % de glucose, 0,8 % de citrate de sodium, 0,5 % d'acide citrique et 0,42 % de chlorure de sodium dans de l'eau distillée).

Le sang a été centrifugé a 3000 rpm/10 min et les cellules récupérées ont été lavées trois fois avec une solution iso saline (NaCl 0,9 %, pH 7,2). Le volume du sang récupéré a été ensuite reconstitue sous forme de suspension à 10 % (v/v) avec de la solution iso-saline.

Hémolyse induite par solution hypotonique

Le mélange réactionnel contient 0.5 ml d'extrait éthanolique des extraits (100, 250 et 500 µg/ml), 1 ml du tampon phosphate (0,15 M; pH 7,4) et 2 ml d'une solution hypo saline (NaCl 0,42 %). 0.5 Ml de la suspension des globules rouges (10 %) a été rajoute à chaque tube, suivi D'une incubation a 56 °C pendant 30 min. Par la suite, les tubes sont centrifuges a 2500 rpm 110 min. Le surnageant a été récupéré et l'absorbance lue à 560 nm à l'aide d'un Spectrophotomètre. Le contrôle a été préparé dans les mêmes conditions avec une solution Iso saline.

Le diclofenac de sodium est utilisé comme molécule de référence, avec les mêmes concentrations que l'extrait.

Le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse a été calculé selon la formule suivante:

$$\% \text{ d'inhibition de l'hémolyse} = [(AC - At) \text{ I } AC] \times 100$$

AC : absorbance du contrôle.

At: absorbance de l'échantillon (test).

Pouvoir inhibiteur des protéases

L'activité inhibitrice des protéases de l'extrait éthanoïque de la propolis a été réalisée selon la méthode décrite par Gunathilake (Gunathilake et al., 2018).

Le mélange réactionnel contient 1 ml de Tris-Hcl (20 mm; pH 7,4), 0,06 mg de trypsine et 1 ml de l'échantillon a différentes concentrations (31.25; 62.5; 125; 250; 500 µg/ml). Apres 5 min d'incubation a 37 °C, l ml de caséine (0.8 %) a été ajoute.

Le mélange a été incube de nouveau pendant 20 min à 37 °C. A la fin de l'incubation, 2 ml de l'acide perchlorique (70 %) ont été ajoutes pour terminer la réaction. Les tubes ont été centrifugés 3000 rpm I 15 min et l'absorbance du surnageant a été lue à 210 nm. Un contrôle a Été préparé dans les mêmes conditions. Le diclofenac de sodium a été préparé dans les mêmes conditions et utilise comme molécule de référence (contrôle positif).

Le pourcentage d'inhibition de l'activité des protéases a été calculé en utilisant la formule suivante:

$$\text{Le pourcentage d'inhibition (\%)} = (AC - At / AC) \times 100$$

AC : Absorbance du contrôle.

At : Absorbance de l'échantillon (test).

Résultats et discussion

I.1. Résultats de l'épidémiologie :

- Durant notre stage on a interrogé une population plus de 130 patients qui ont été reçu durant deux période (Aout 2020-Aout 2021) et (Janv2022-mars2023), Les données collectées ont saisies et analyser sur le programme Microsoft Excel (2010) afin de pouvoir tracé les graphes.

1- L'année

Dans notre série, l'année 2020-2021 comporte le taux de malades le plus élevé avec 57.70 % des cas, suivi par l'année 2022-2023 avec 42.30%

Tableau 6: Répartition des cancers pendant la période 2020-2023

Année	Nombre	Pourcentage
Aout 2020-Aout 2021	**75**	**57.70%**
Jav 2022 –mars 2023	**55**	**42.30%**

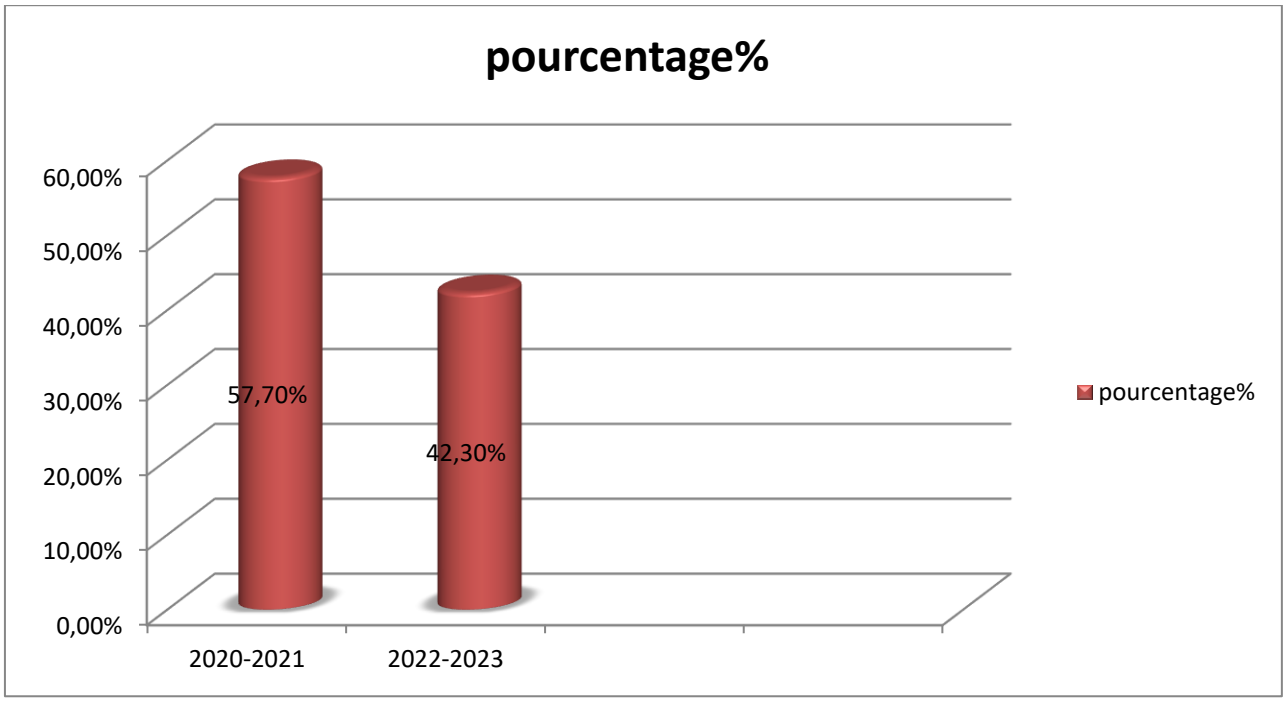


Figure38 : répartition des cancers pendant la période 2020-2023

Interprétation : Selon nos résultats de répartition des cancers pendant la période 2020-2023 qui montrent une augmentation des cas des cancers durant la période qui s'étale entre 2020-2021 par rapport aux la période 2022-2023 .

2-Age

- Afin de mieux déterminer l'âge auquel le cancer est le plus fréquent chez les femmes, nous avons organisé notre population de patientes en 04 tranches d'âge.

-

-

Tableau 7 : Répartition des patientes par tranches d'âge

Age	Effective	Pourcentage %
< 30 ans	2	7.53%
30 ans -50 ans	69	53.07%
50 ans -70ans	41	31.55%
70 ans >	18	13.84%
Total	130	100%

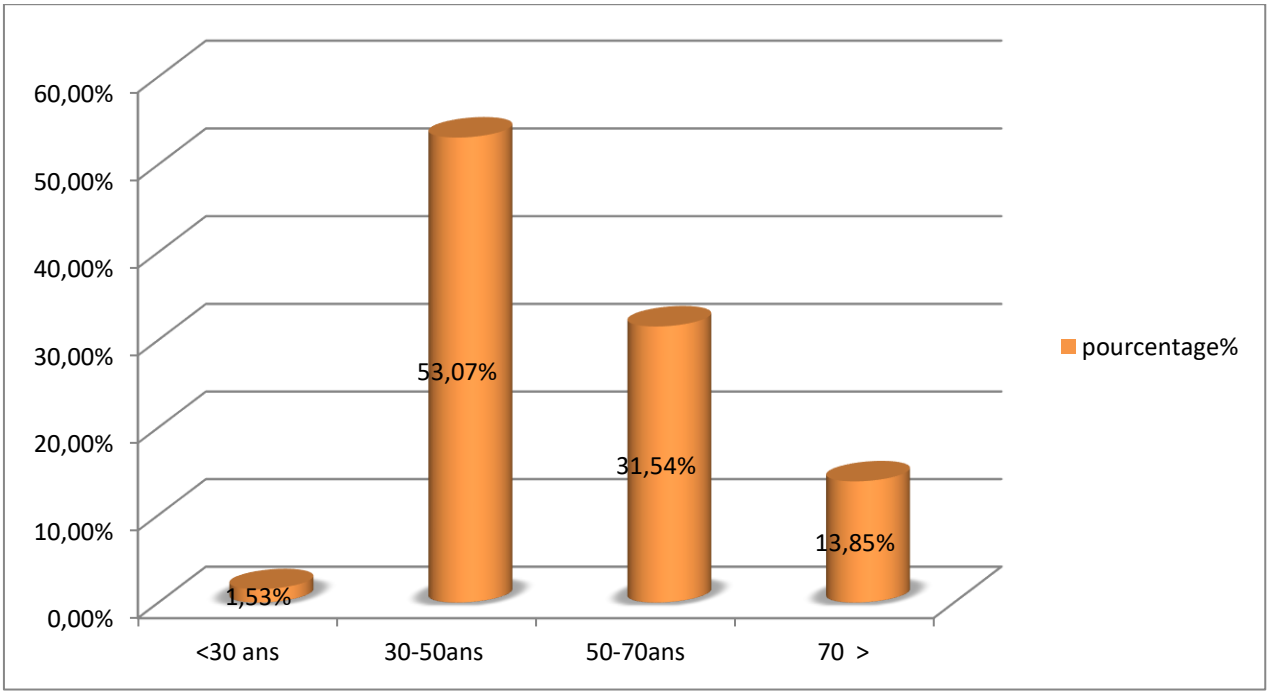


Figure 39 : Répartition des patientes par tranches d'âge

Interprétation : Les résultats obtenus dans la population étudiée indiquent que le cancer du sein peut faire cela Affecte toutes les femmes de tous âges, mais surtout les femmes entre 30 et 50 ans Avec un pourcentage de 53.07 % et même les femmes entre 50-70 ans avec un pourcentage de 31.54 %, le pourcentage chez les patients performants de plus de 70 ans suit à 13.85%.

-Moins de 30 ans est presque très rare 1.53 %, L'âge est reconnu comme un facteur de risque pour tous les types de cancer, le cancer du sein est beaucoup moins fréquent - J'ai 30 ans et je vieillis avec l'âge. **(Manuel de gestion du cancer du sein 2015),** dans notre étude la femme jeune (<30ans) représente aucun pourcentage.

3-Sexe

-Sur 130 Dossier traité 97.69% des cas sont de sexe féminin, et 3 cas seulement ont été trouvés pour le sexe masculin. Le cancer du sein peut survenir chez l'homme mais représente moins 3% des cancers du sein **(Mousseau et al 2002)**

Tableau 8 : Répartition des patients en fonction du sexe.

Sexe	**Homme**	**3**	**2.3**
	Femme	**127**	**97.69%**

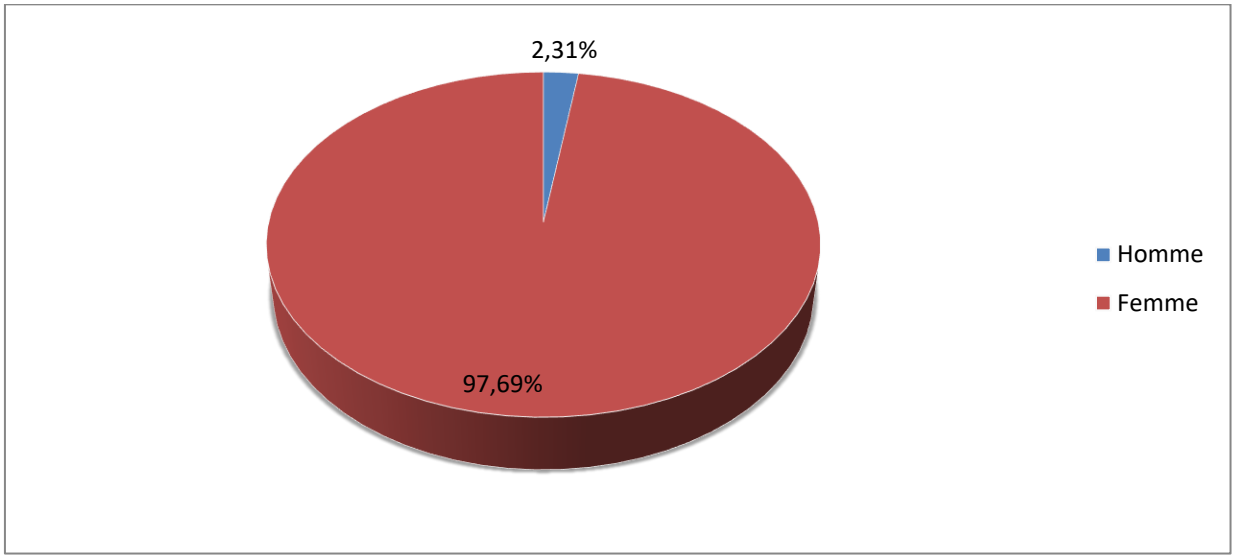


Figure 39 : Répartition des patients en fonction du sexe.

4-Le sein gauche ou droit

-Le cancer du sein est localisé au niveau du sein gauche dans 97 cas (74.61%) et il est présent au niveau du sein droit dans 33 cas (25.38 %)

Tableau 9 : Répartition des patients selon le sein gauche / droit

Gauche	**97**	**74.61**%
Droit	**33**	**25.38** %

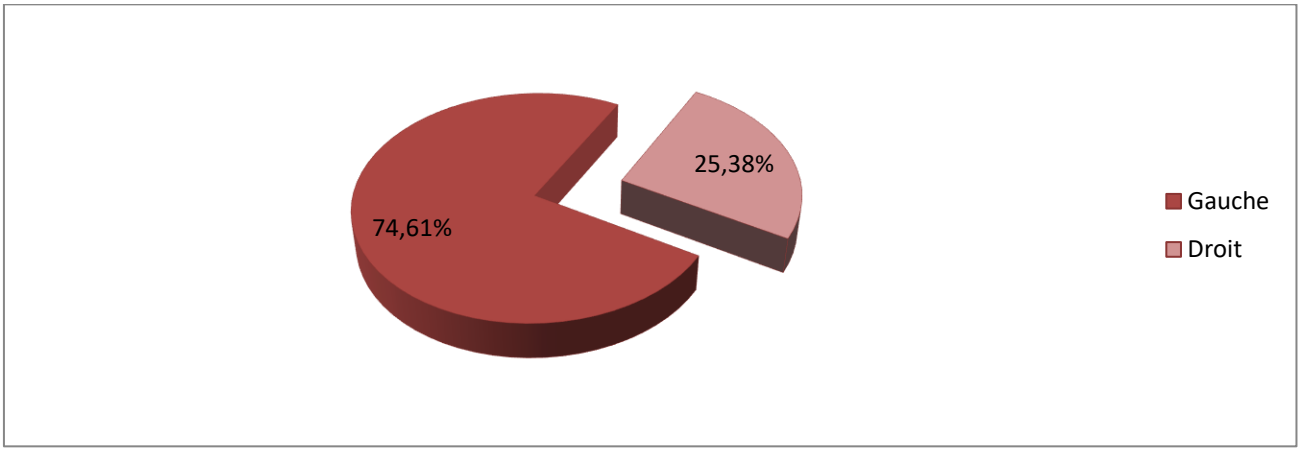


Figure 40 : Répartition des patients selon le sein gauche / droit

Interprétation : Pour la majorité des auteurs, le cancer du sein se localise le plus souvent au niveau du Poitrine gauche, qui est mentionnée dans une étude de **(Persand, 1999)**, dont le siège est Selon cette étude, la tumeur est localisée au sein gauche dans 60,3 % des **cas (Ben Ahmed et Al., 2002)**. Conformément à notre étude, nous avons confirmé que le site tumoral était du côté gauche dans 97 cas.

5- Etude de la fréquence des types histologiques :

Tableau 10: Répartition des patients selon le type histologique du cancer mammaire

Type Histologique	Nombre	Pourcentage
Carcinome infiltrant non spécifique	**82**	**91.11%**
carcinome lobulaire	**2**	**2.22%**
Carcinome papillaire	**2**	**2.22%**
carcinome mucineux	**3**	**3.33%**
canalaire in suti	**1**	**1.11%**

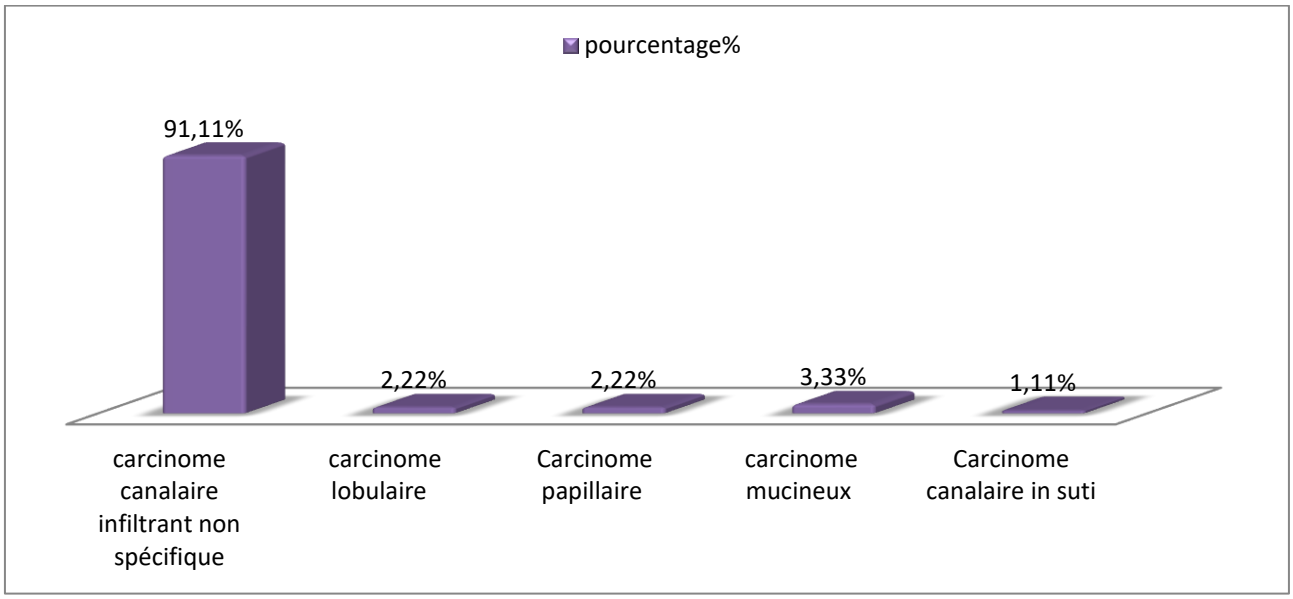


Figure 41 : Répartition des patients selon le type histologique du cancer mammaire

Interprétation : Les résultats montrent que le carcinome canalaire invasif est le plus fréquent (91,11%). Résultats similaires à ceux de **(CHEVALLIER.2000).** La fréquence élevée des carcinomes canalaires invasifs peut s'expliquer par le retard du diagnostic du patient

-Le carcinome mucineux représente environ 2 % du volume total Cancer du **sein (HENRY ET THOMPSON, 2004)**

6-Grade histopronostique de SBR

- Le grade histopronostique de SBR n'était précisé que chez de nos patientes (90.90**%**) le grade SBR II était le plus prédominant dans notre étude. Alors que le grade I qui est de bon pronostic ne représentait que 09.09**% .**

Grade	Effective	Pourcentage %
SBRI	**40**	**90.90%**
SBRII	**4**	**09.09%**

Tableau 11: Répartition des cas selon le grade SBR

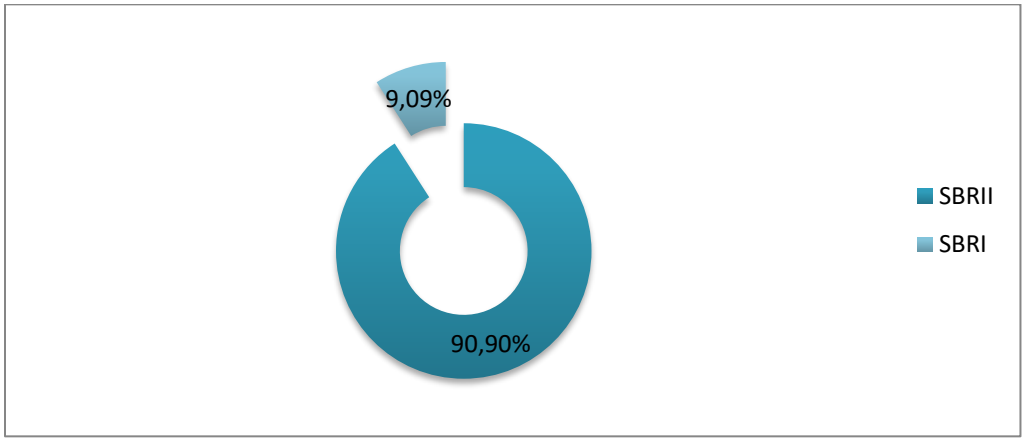


Figure 42 : Répartition des patientes selon le grade SBR

Interprétation : la proportion des grades SBR II I est élevée, particulièrement pour les patientes plus de 30 ans chez lesquelles le pourcentage est estimé à 90.90**%** et 9.09**%** pour SBRI . La proportion des tumeurs grade SBR I augmente avec l'âge

II-Aspects anatomopathologiques

-L'examen anatomopathologique est indispensable car c'est le seul examen qui permet de confirmer Sans doute le diagnostic des tumeurs malignes de la tumeur mammaire. Vous pouvez également spécifier les caractéristiques Examen des tumeurs pour le classement pronostique histologique de Scarf-Bloom-Richardson (SBR).Effectuez ensuite des évaluations des récepteurs hormonaux et HER2 **(SERIN ET AL. 1998).**

1 La cytologie

-La cytoponction a été pratiquée seulement chez 110 patientes soit 84.61% des cas, elle a objectivé des cellules malignes ou suspectes de malignité dans 84 cas soit 76.36 % des cytoponctions réalisées. Elle s'est révélée négative dans 26 cas soit 23.63 % des examens réalisé

Tableau 12: Répartition selon les résultats de la cytoponction.

Cytoponction	Effectif	Pourcentage %
Positive	84	76.36%
Négative	26	23.63%
Total	110	100%

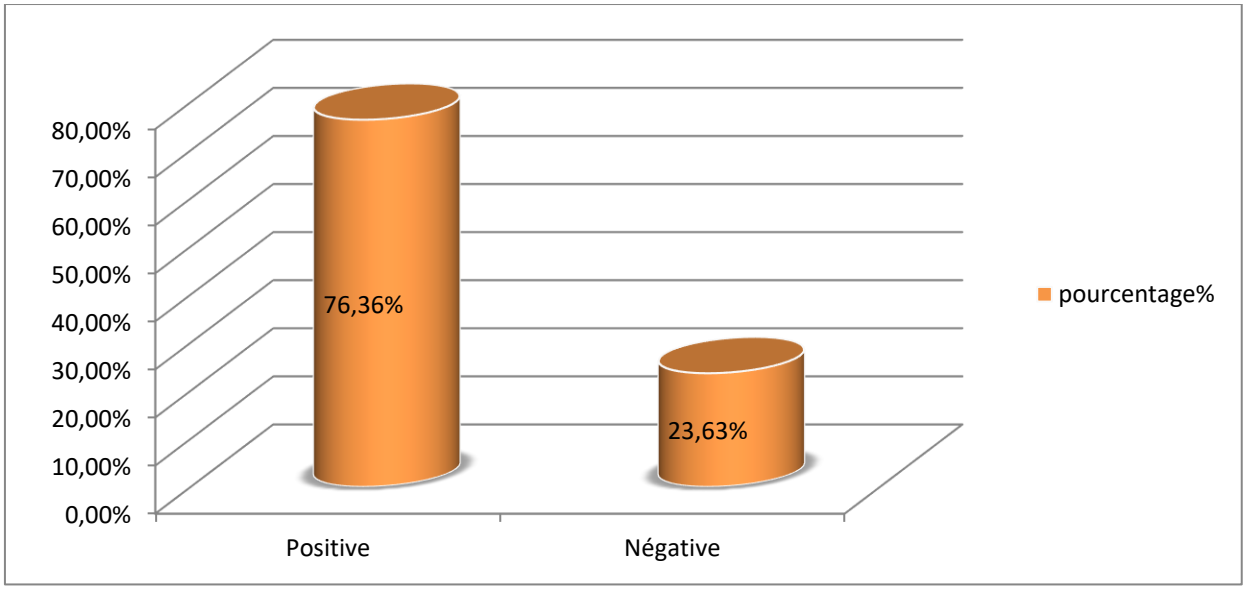


Figure 43 : Répartition selon les résultats de la cytoponction.

Interprétation : La cytologie mammaire fait partie intégrante du bilan sénologique avec l'examen clinique et la mammographie dans le cadre du triplet diagnostique. Elle a pour atout son caractère faiblement invasif, sa rapidité de réponse, son faible coût, sa grande spécificité vis-à-vis du diagnostic de malignité. Sa spécificité est supérieure à 95% et sa valeur prédictive positive de cancer est de 99% **(CLOUGH ET AL. 2005).** Néanmoins sa négativité n'élimine pas le diagnostic (5 à 10% de faux négatifs). Ses limites résident dans une sensibilité diversement évaluée selon les études (allant de 66 à 100%),

2-Répartition selon les moyens de diagnostic :

- Le diagnostic du cancer du sein est effectué à partir de cytoponction de la tumeur in situ et après prélèvement tissulaire d' une biopsie

Tableau13 : Répartition selon les moyens de diagnostic.

Moyen de diagnostic	Pourcentage

La Cytoponction	**70 %**
Une biopsie	**30%**

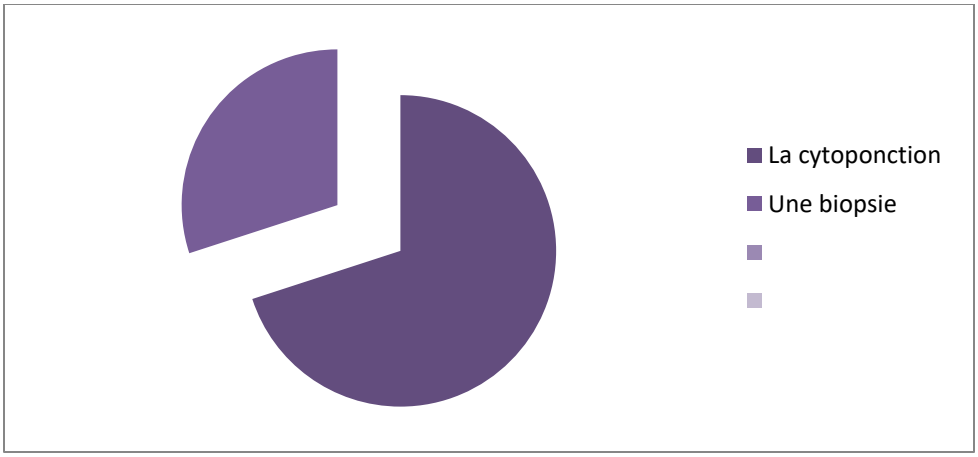


Figure 44 : Répartition selon les moyens de diagnostic.

Interprétation : A partir de ces données, le diagnostic est posé selon ces trois modes 70% des cas sont des examens cytologiques après des biopsies est 30% représentent les prélèvements cellulaires par cytoponction. Les cellules prélevées par cytoponction sont analysées pour préciser leur nature bégnine ou maligne. Cette méthode est peu invasive avec peu de complication.

- L'examen histologique des biopsies permet de déterminer la malignité de la tumeur : C'est l'examen de diagnostic le plus fiable.

3- répartition des patients selon la taille de la tumeur et stade T du TNM

- La répartition des patients selon la taille de la tumeur et stade T du TNM La répartition selon la taille de la tumeur a montré que la taille tumoral qui se situe entre 2et 5 cm(T2) est majoritaire et représente 60% des cas alors que les tumeurs de taille inférieure à 2cm (T1) représentent 38% des cas et par contre 2 % des patientes présentent une taille tumorale supérieure à 5 cm (T3).

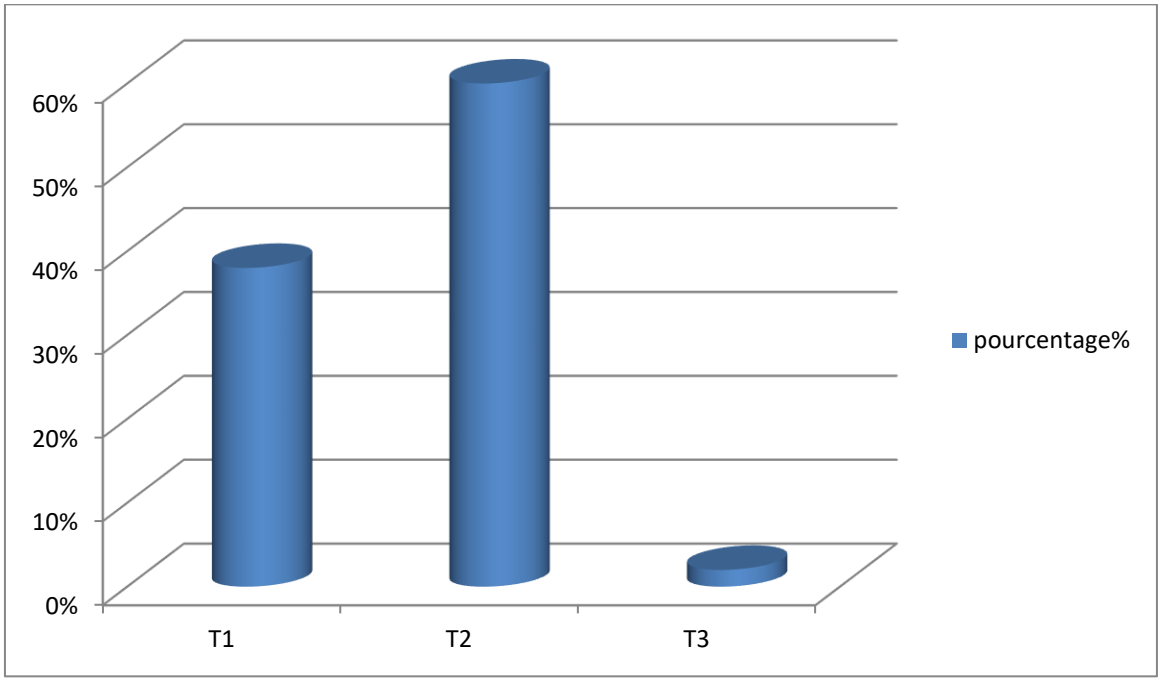


Figure 45 : Répartition des patients selon la taille tumorale et stade T du TNM.

-La classification clinique dite TNM pour Tumor Node Metastasis (tumeur ganglion métastases) de l'Union Internationale Contre le Cancer (UICC) est la plus communément utilisée. Elle permet de caractériser une tumeur selon trois critères : la masse tumorale en place et son extension locale (T), son extension locorégionale avec l'envahissement des ganglions (N) et à distance avec le développement de métastases (M).). Chaque critère est associé à un chiffre dont la valeur augmente avec la gravité. Lorsque la détermination est impossible, la lettre X est associée au critère TNM **(COLIN-CASSIN, 2013).**

(T) : taille tumorale	Définition
• T0	imperceptible cliniquement
• T1	inférieur ou égale à 02 Cm a) inférieur à 0,5 Cm b) 0,5 – 1 Cm c) 1 – 2 Cm
• T2	2 - 5 Cm
• T3	supérieur à 5 Cm
• T4	extension

IV .L'immunohistochimie

-Statut HER2 et RE L'évaluation de l'expression des récepteurs hormonaux montre que le taux d'expression de RE présente 70%, et le HER2 est positive dans 20% des cas, et il est négatif dans les 80% des cas.

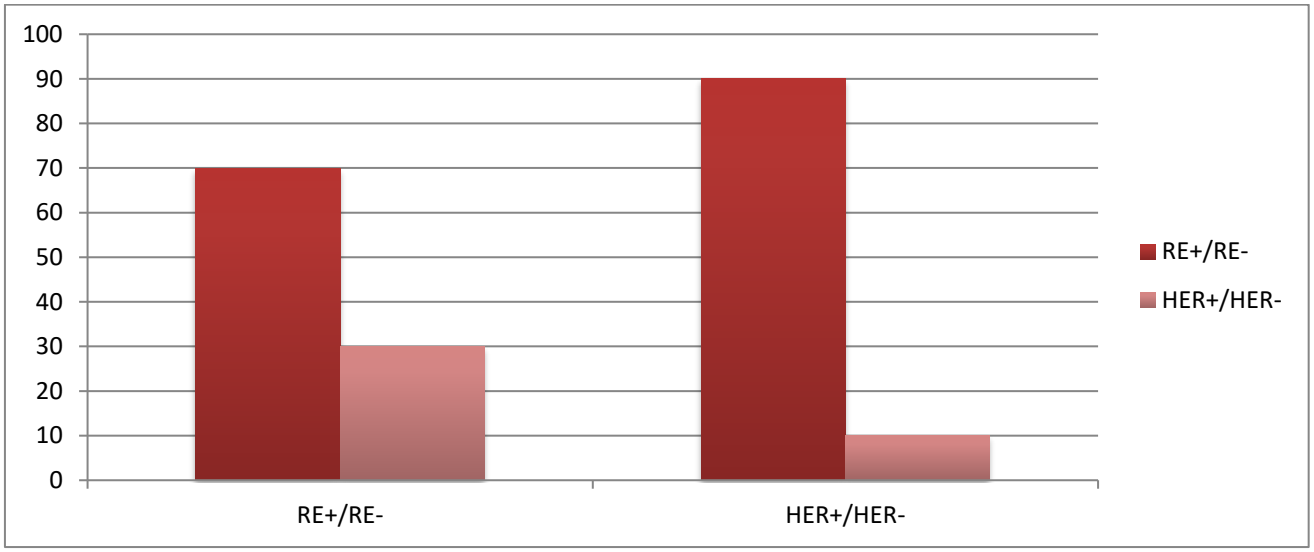


Figure 46 : Répartition des cas selon le statut HER2 et RE.

Interprétation : Des recherches de récepteurs hormonaux (RH) ont été effectuées chez la majorité des patients.

-Les tumeurs RH+ sont moins agressives que les tumeurs et moins susceptibles de métastaser. Ses récepteurs hormonaux sont négatifs (RH-). Cet état du récepteur hormonal (RH+ ou RH-) est encore plus important Cela seul détermine si un patient peut se voir proposer une hormonothérapie. Hormonothérapie proposée uniquement si des récepteurs sont présents (RH+) **(PIVOT ET AL, 2006)**

- On concorde avec d'autres œuvres de **Dendukuri** et lui-même. Des collègues qui l'ont montré pour une population de patients atteints de cancer **(DENDUKURI ET AL. 2007)** , Dans le sein, près des trois quarts (73,1 %) des patientes n'exprimaient pas l'oncogène HER2. Concernant La proportion de patients surexprimant la protéine HER2 est estimée dans cette revue 13,7 % **(DENZUKURI ET BROPHY , 2006).**

III-Etude histologique

1 er Cas : L'étude a été portée sur une patiente âgée de 56 ans qui a subi une mastectomie gauche avec un curage ganglionnaire.

- **Macroscopie**

  C'est une mastectomie droite orientée par deux fils au niveau du bord supéro-externe. Elle est adressée en monobloc avec une partie du curage axillaire. Elle mesure (19x16x5) cm ; recouverte par un lambeau cutané de (17.5x) cm avec mamelon réfractée. L'examen macroscopique de la pièce retrouve une masse tumorale nodulaire blanchâtre de (10.5x5) cm.

Microscopie

L'examen microscopique a révélé que c'est un aspect d'un carcinome Mucineux (Figure) de grade SBR II PTNM 2017. Le statut ganglionnaire comporté 12 ganglions .

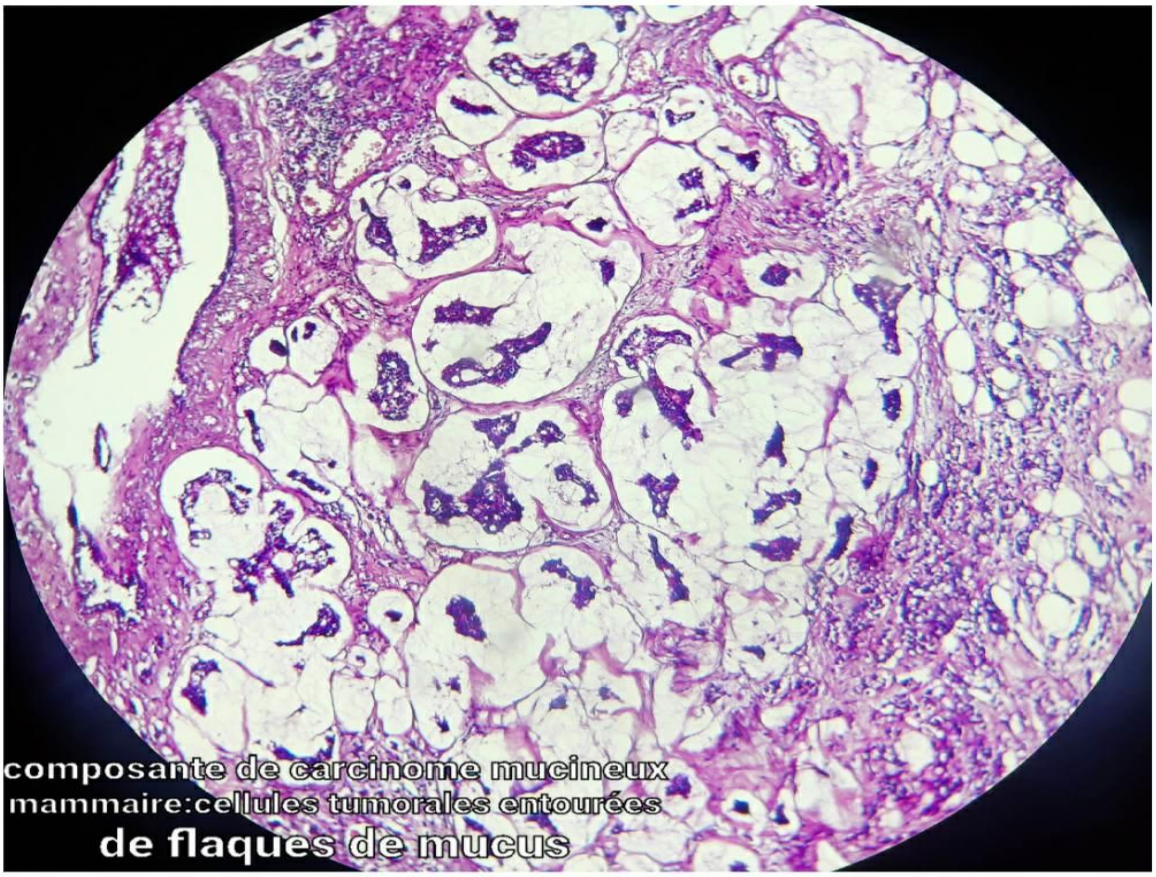


Figure 48 : photographie représentant un carcinome Mucineux

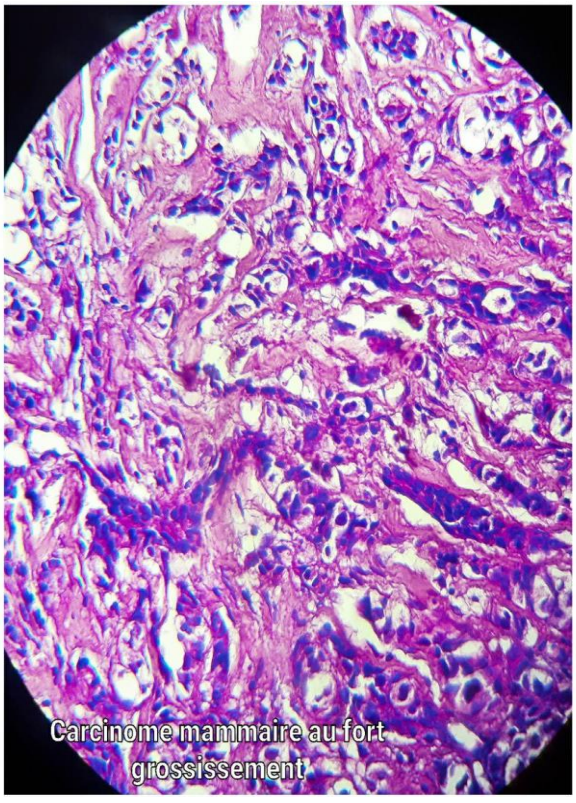
2 Emme cas : -L'étude a été portée sur une patiente âgée de 32 ans qui a subi une mastectomie droite avec un curage ganglionnaire

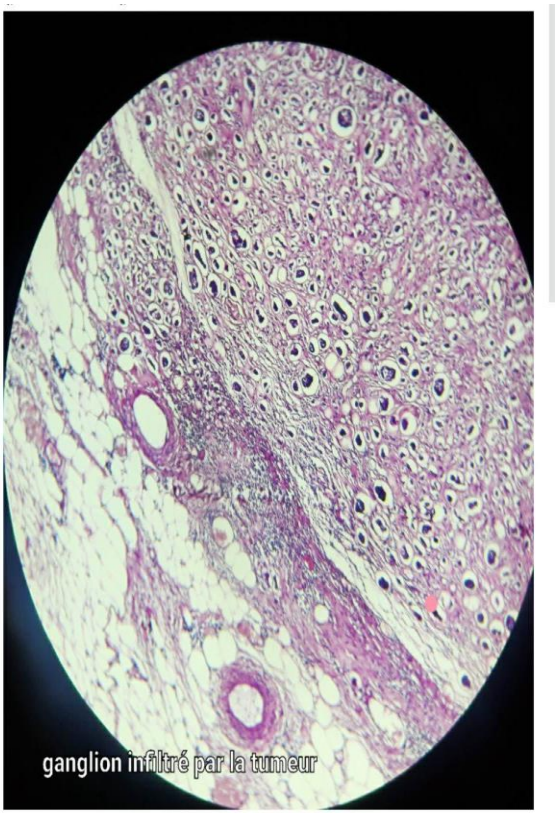
- **Macroscopie**

- C'est une mastectomie Gauche orientée par deux fils au niveau du bord supéro-externe. Elle est adressée en monobloc avec une partie du curage axillaire. Elle mesure (19x18x6) cm. L'examen macroscopique de la pièce retrouve une masse tumorale nodulaire blanchâtre de (10.5x5) cm.

¬ Microscopie

-L'examen microscopique a révélé que c'est un aspect d'un carcinome canalaire infiltrant non spécifique





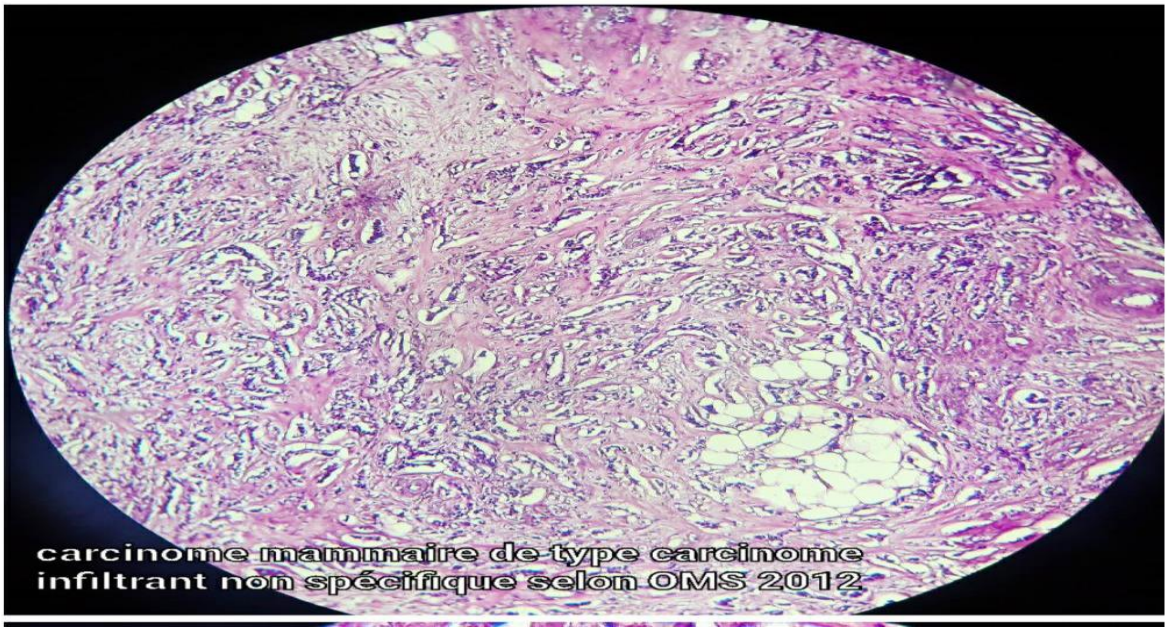


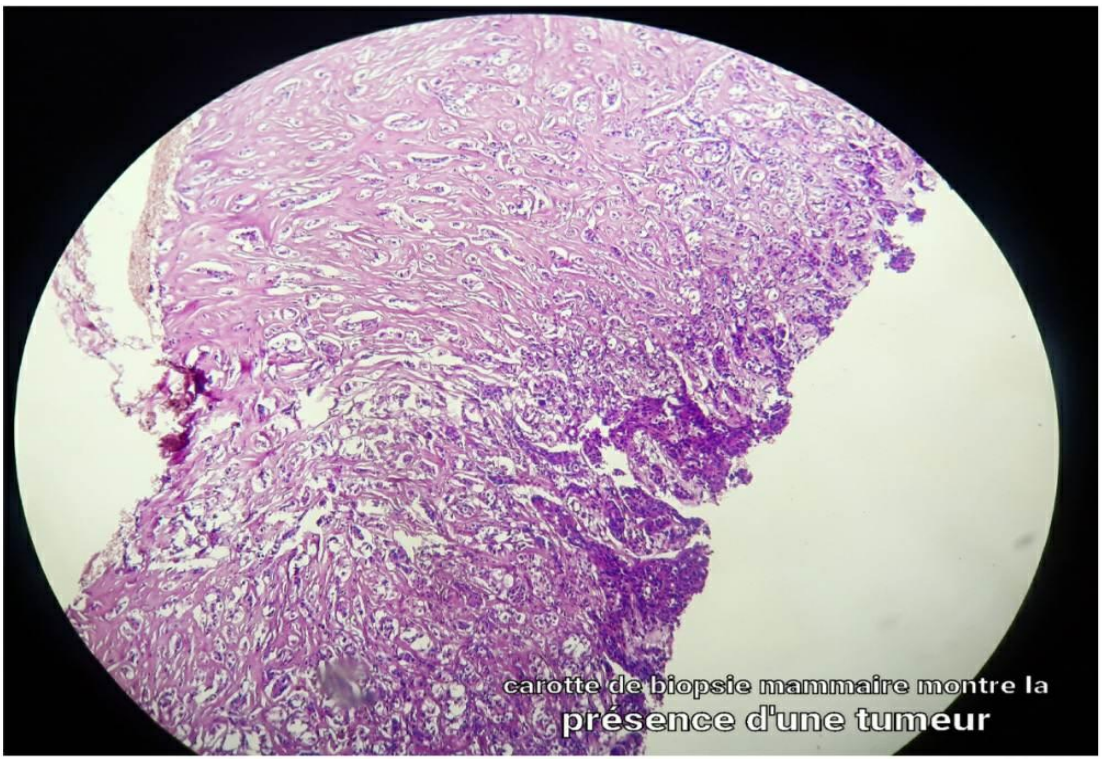
Figure 50: photographie Carcinome mammaire au fort grossissement (1) et infiltration ganglionnaire par la tumeur (2) avec photographie représentant un carcinome canalaire infiltrant non spécifique (3)

En cas d'une biopsie :

- **Macroscopie**

Dans ce cas il y'a cinq fragments biopsiques mesurant entre 2 et 4 mm

- **Microscopie**



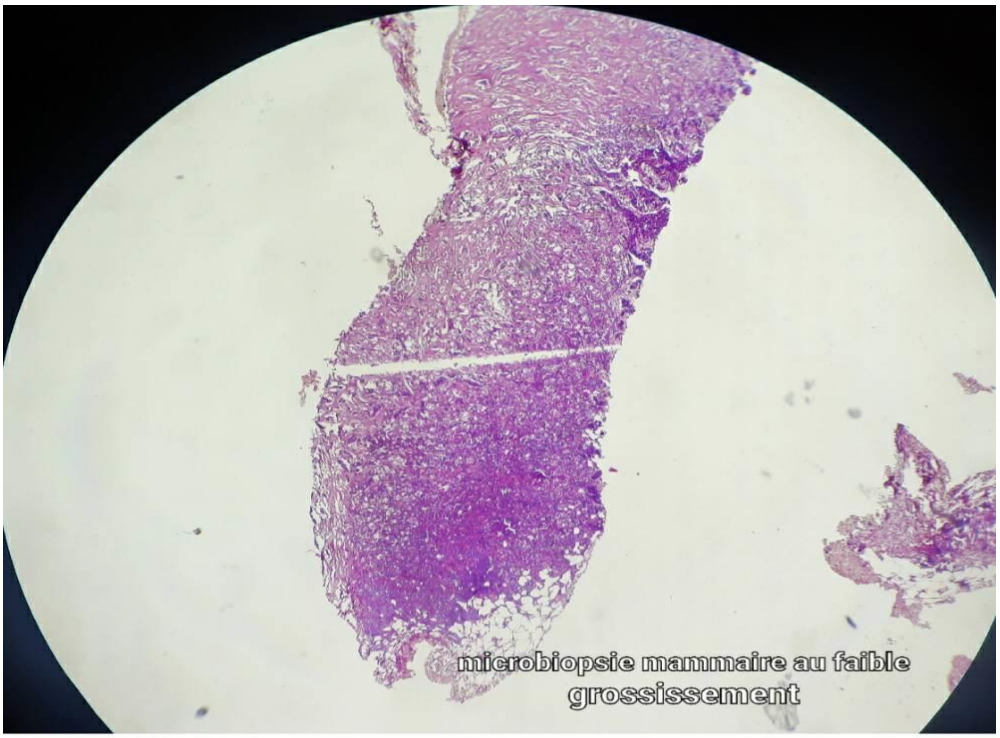
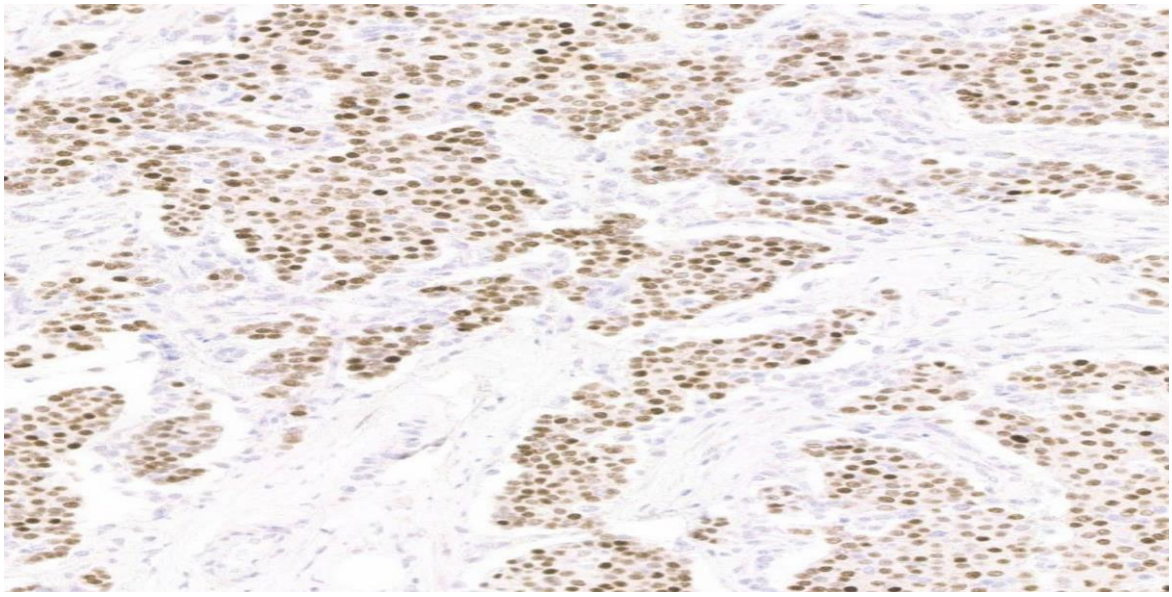
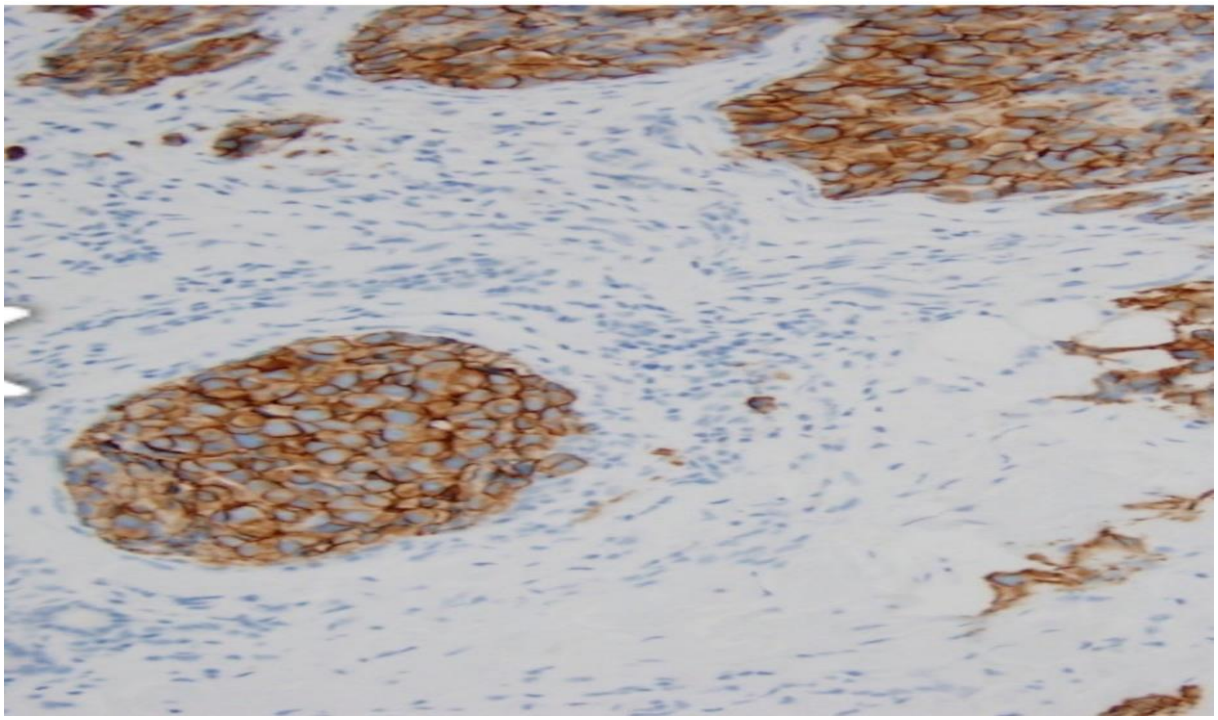


Figure 52 : L'aspect microscopique d'une biopsie mammaire bien différencié

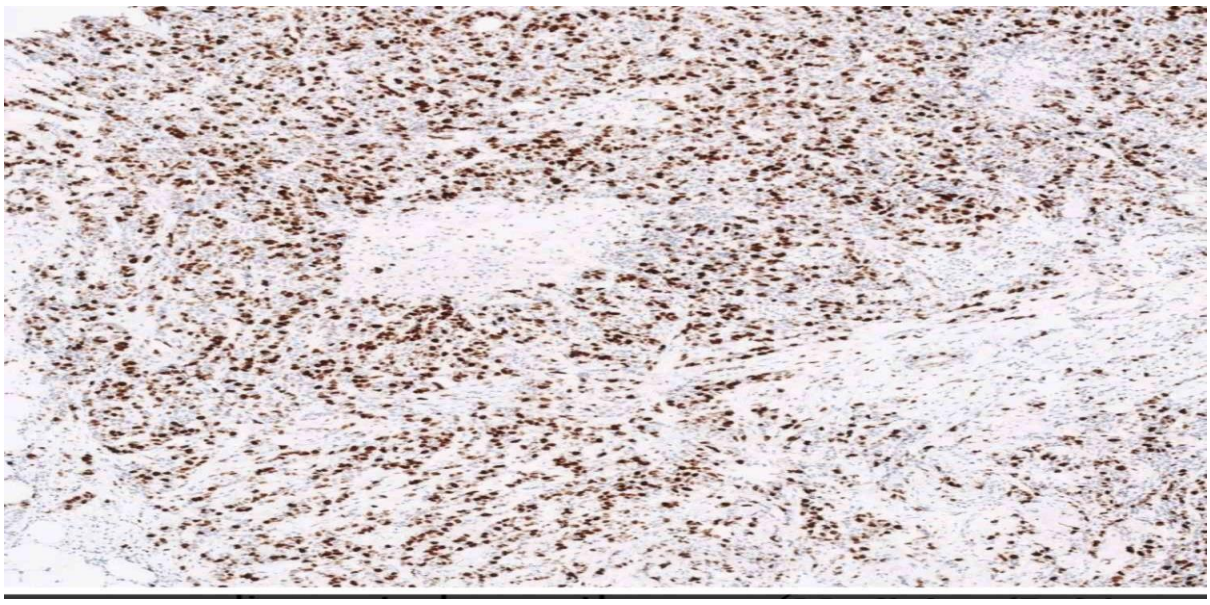
IV -Etude Immunohistochimique



Fiugure53 : Photographi marquage du marquer ki 67 estimé à 50 % sur carcinome infiltrant de type non spécifique



Fiugure54 : Photographies marquage membraine de Her2 .. ici surexprimé : +3



Fiugure 55 : Photographies marquage a l'oestrogène

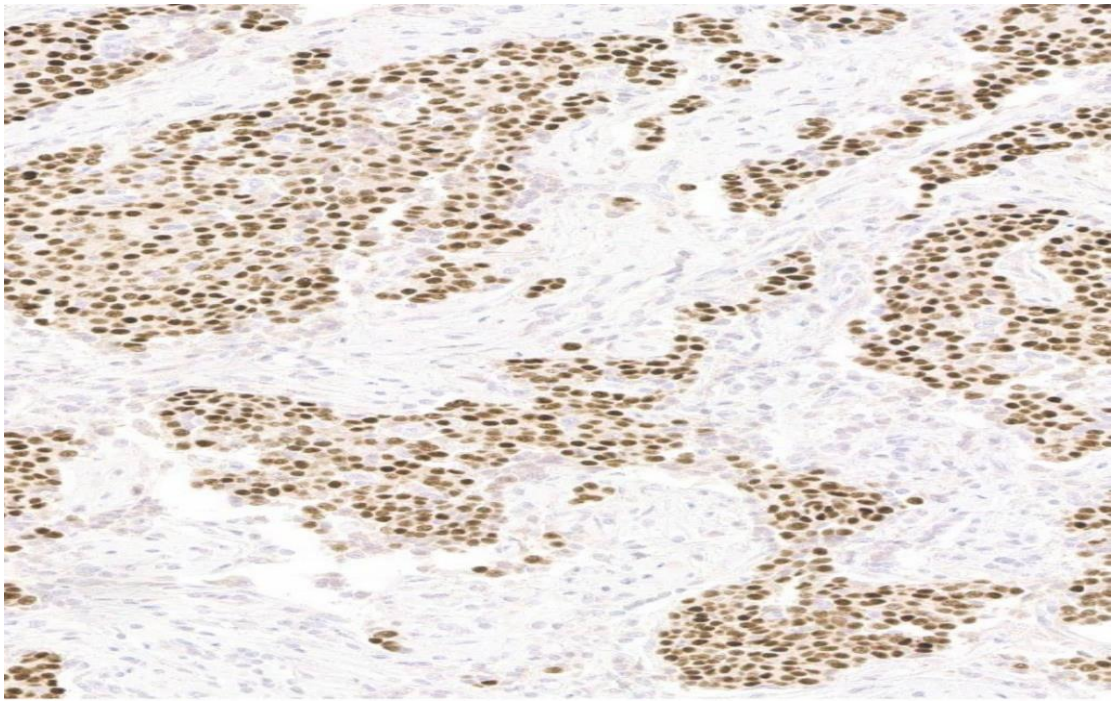


Figure 56: photographie mrquage progesterone

II.1.Résultats

III.1.1.Extraction

Pour l'obtention des différents extraits secs à partir de la poudre des produits de la ruche étudiées, nous avons réalisé des extractions aqueuses (décoction) et des extractions Ethanoliques (macération).

Cette extraction a permis d'obtenir deux extraits bruts des produits : l'extrait aqueux(EA) extrait hydro Ethanolique (EE).

III.1.2.Détermination le rendement

Le rendement d'extraction est le rapport de la quantité de l'extrait liquide sur la quantité de echantillion fraiche. Il dépend de plusieurs paramètres tels que : le solvant, le pH, la température, le temps d'extraction et la composition de l'échantillon (**Quy Diem Do et al., 2014**). Dans cette étude, Le rendements a été déterminé par rapport au masse de la extrait . Ce dernier montrent deux echantillon ont donné des masses en extraits liquide .. Ces résultats sont représentés dans le tableau (15).

Tableau 15 : **Tableau récapitulatif regroupant les rendements des extraits des echantillon étudiées**

	Le rendement %
Propolis ethanolique	55,25%
Propolis PEG	5,02%
Pollen	35.55%

D'un point de vue de rentabilité en termes de poids, les extraits hydroéthanoliques (EE) se sont révélés avoir des proportions plus élevées que les extraits aqueux (EA), comme indiqué dans le tableau (12). Une étude comparative portant sur l'extraction de substances naturelle en utilisant différents solvants a démontré que l'éthanol est un solvant plus efficace que les autres pour extraire des substances antimicrobiennes des plantes médicinales (Abu- Shanab et al., 2004).

III.2.2.Résultats de dosage des polyphénols

Après l'ajout du réactif de Folin-Ciocalteu et de carbonate de sodium, une couleur bleue est obtenue dont l'intensité varie en fonction de la concentration phénolique d'extrait de echantillon .

Les résultats du dosage des polyphénols totaux des extraits hydro éthanolique et aqueux sont portés dans la figure

Selon Quy Diem Do et al. (2014), l'utilisation simultanée d'eau et d'un solvant organique peut faciliter l'extraction des substances chimiques solubles dans l'eau et/ou le solvant organique.

L'extrait hydroéthanolique (EE) du propolis a montré le rendement le plus élevé (55,25%), suivi de l'EA de pollen (35,55%), tandis que l'extrait aqueux (EA) de propolis PEG a présenté le rendement le plus faible (5,02%).

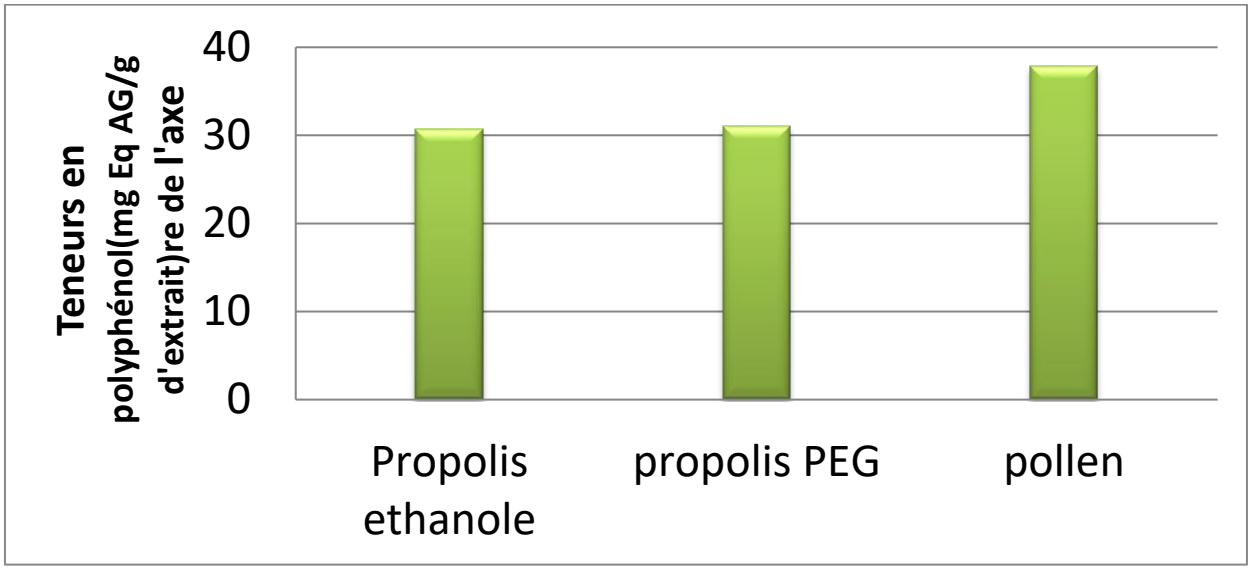


Figure 68 : teneurs en polyphénol totaux des extrais des Echantillon étudiées.

On remarque que la teneur en polyphénol la plus élevée a été enregistrée avec extraits de echantillon pollen 37,88% ,

Les concentrations de polyphénols totaux dans les extraits de PED (Pollen Extract D) et PET (Pollen Extract T) ont été mesurées et sont respectivement de 306,84 µg/ml, 315,78 µg/ml et 378,94 µg/ml. Ces valeurs sont inférieures aux résultats obtenus dans l'étude menée par **Khaliq et al. (2015),** où la teneur en polyphénols dans l'extrait aqueux de deux variétés d'olives variait entre 109,6 et 161 mg/ml. Cependant, elles sont presque egale aux résultats obtenus pour Olea europea (334 µg/ml) dans l'étude menée par **Khaoula SAHRAOUI, N. en 2019**.

Les concentrations ont été déterminées à l'aide d'une courbe d'étalonnage d'acide gallique (voir Annexe 4)

Les conditions géographiques et climatiques peuvent entraîner des différences significatives dans les concentrations des composés bioactifs dans les plantes, ce qui se répercute sur leurs activités biologiques. La solubilité dans les solvants organiques de ces composés phénoliques jouerait un rôle dans la quantification de ces composés.

III.1.4.2.Dosage des flavonoïdes :

Après l'ajout de chlorure d'aluminium, une réaction se produit et forme un complexe de couleur jaune verdâtre. L'intensité de cette coloration est directement liée à la concentration de l'extrait utilisé.

La Figure 08 présente les teneurs en flavonoïdes des extraits hydroéthanolique et aqueux sous forme graphique.

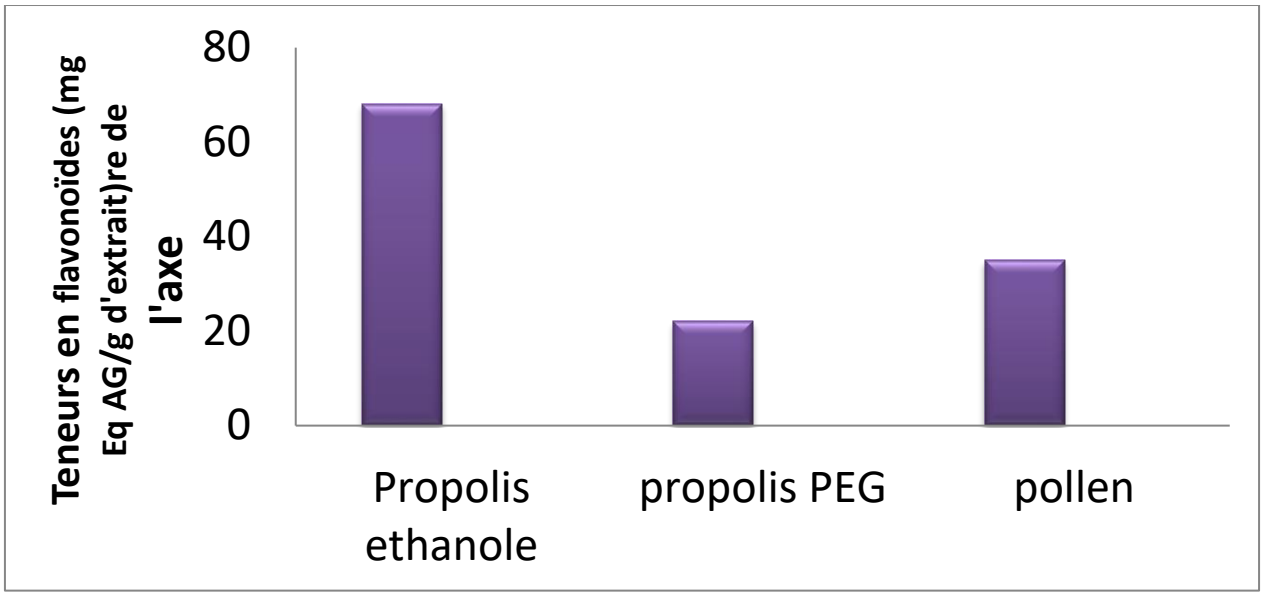


Figure 69 : teneurs en flavonoïdes des extrais des Echantilon étudiées.

Extraits de propolis ethanole est le teneurs le plus importante avec une proportion de 68% successivement. Les teneurs les plus basses ont été obtenues avec les extraits de propolis PEG 22,02% et pollen avec une proportion de 34,9%.

Nous avons remarque que la teneur en flavonoi'des ce qui est tout a fait logique puisque ces derniers constituent une classe des premiers et qui est en accord avec la litterature, ou la propolis

semble etre riche en polyphenols qu'en flavonoi'des (**Benhanifia et al., 2013; Rebiai et al., 2014; Ahmed et al., 2017).**

Certains auteurs comme **(Kumazawa et al., 2004),** suggerent que la teneur en flavonoi'des peut etre utilisee comme critere critique pour differencier entre les differents types de propolis. La teneur en flavonoi'des de notre propolis est superieure a celle indiquee dans plusieurs etudes (**Boufadi et al., 2014; Rebiai et al., 2014; Ahmed et al., 2017**). Cette variation est principalement attribuee a la difference dans regions de ces propolis (**Kahkonen et al., 1999).**

III.2. Activités biologiques

Les extraits sont des mélanges complexes de plusieurs composés qui présentent différents groupements fonctionnels, polarités et comportements chimiques. Cette complexité chimique peut conduire à des résultats variables selon les tests utilisés. Par conséquent, une approche impliquant plusieurs analyses serait plus informative voire nécessaire pour évaluer le potentiel antioxydant et antibactérien des extraits (**Ozturk et al., 2010).**

Les polyphénols sont des composés présents dans diverses fractions d'extraits végétaux et se caractérisent par la présence de nombreux groupements hydroxyle. Ils ont la capacité de réduire les radicaux libres dans les systèmes biologiques, ce qui en fait des agents potentiels dotés de propriétés antioxydantes, antibactériennes et anti-inflammatoires **(Hagerman et al., 1998)**

III.2.1.L'activité anti-oxydante in vitro

III.2.1.1. Piégeage du radical libre DPPH

Les résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits, mesurée à l'aide du test de DPPH, sont exprimés en termes de pourcentage d'inhibition et de concentration inhibitrice 50 du radical DPPH par les extraits. Ces résultats sont présentés de manière graphique dans la Annex 0

III.2.2.L'activité anti-inflamatoire in vitro

Inhibition de la dénaturation protéique

L'étude du pouvoir inhibiteur de la dénaturation protéique a été réalisée en utilisant la BSA comme protéine. Les pourcentages d'inhibition de la dénaturation protéique de l'extrai éthanoïque

de la propolis et du diclofenac de sodium (100, 250 et 500 µg/ml) sont présentes dans ce Histogramme :

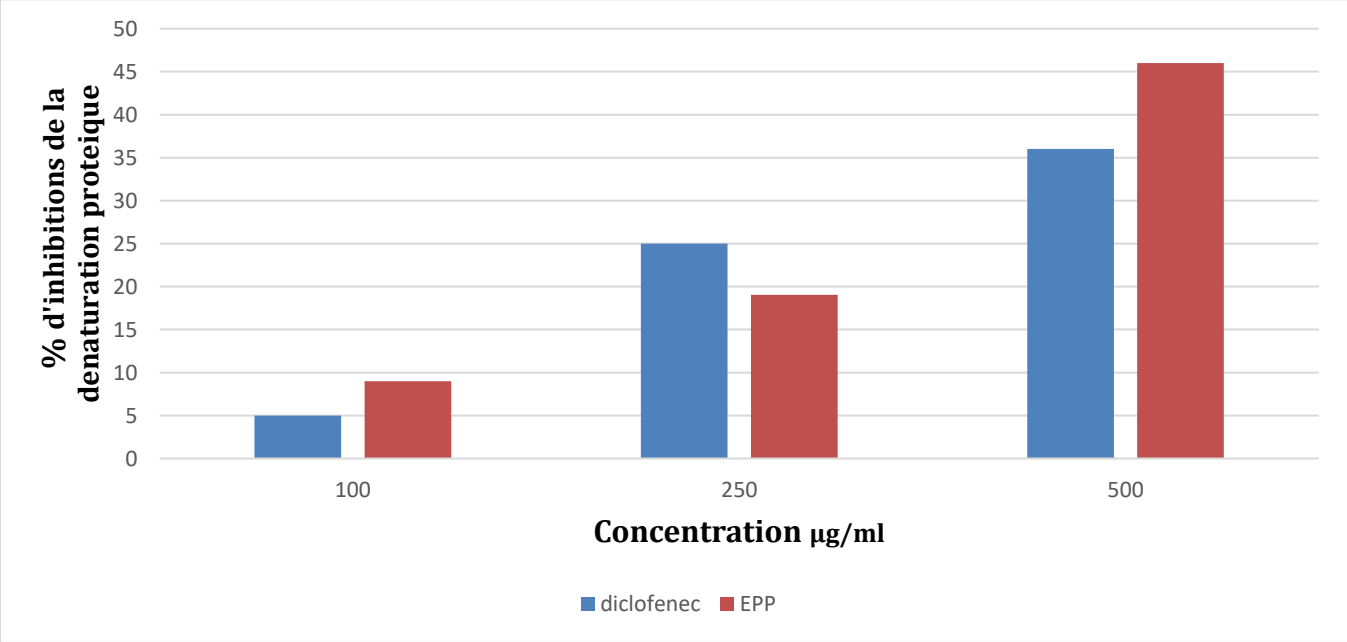


Figure 70 : Pourcentages d'inhibitions de la denaturation proteique de l'extrait ethanolique de propolis et du diclofenac de sodium

Selon les données de l'histogramme figurant dans la figure 5, il est observé que l'inhibition (%) de la dénaturation protéique de l'extrait éthanolique de propolis (à des concentrations de 100, 250 et 500 µg/ml) dépend de la concentration, avec des variations allant de 9 % à 46% . Une augmentation significative de l'inhibition a été constatée en augmentant la concentration de 250 µg/ml à 500 µg/ml. Il est remarquable que l'extrait éthanolique de propolis présente un pouvoir d'inhibition de la dénaturation protéique élevé, similaire à celui du diclofénac de sodium. En effet, à une concentration de 500 µg/ml, l'inhibition atteint pratiquement 46 %.

Inhibition de l'hémolyse des globules rouges

Les pourcentages d'inhibition de l'hémolyse des globules rouges par l'extrait éthanoïque de la propolis et le diclofenac de sodium (100, 250 et 500 µg/ml) sont présents dans ce Histogramme

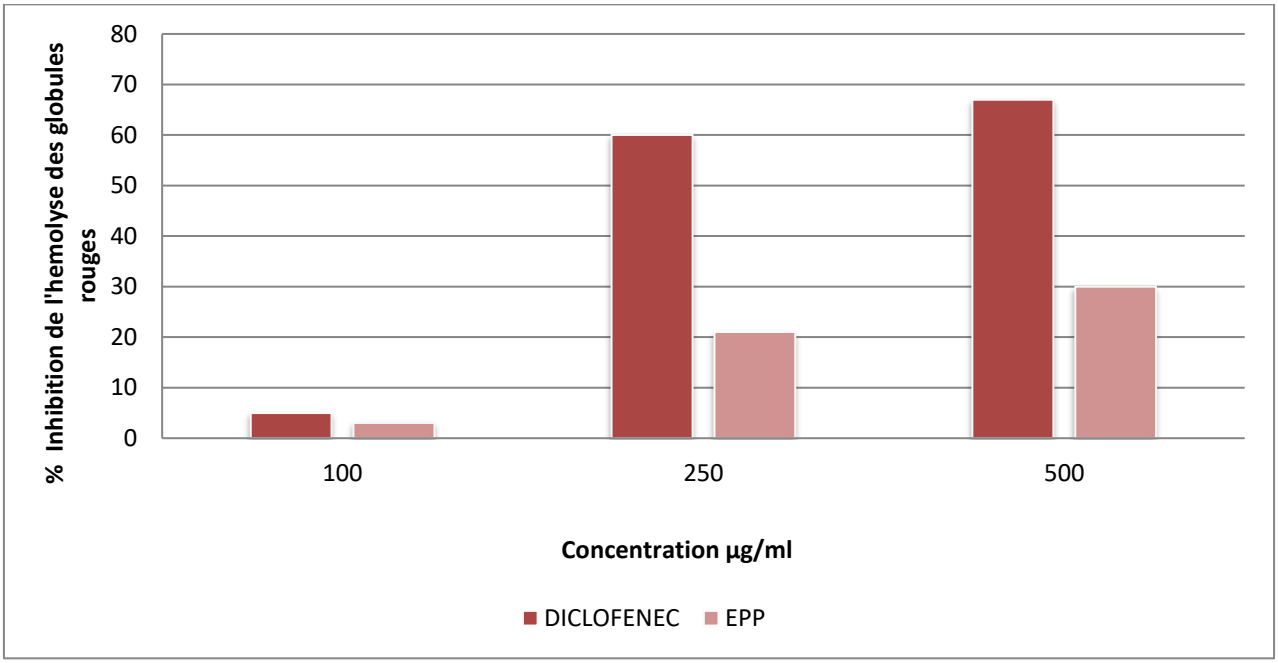


Figure 71 : Inhibition de l'hemolyse des globules rouges traites par l'extrait ethanolique de la propolis et le diclofenac de sodium (100, 250 et 500 µg/ml)

Selon les résultats illustrés dans la figure 0 , il est clair que l'extrait éthanolique de propolis présente une inhibition de l'hémolyse des globules rouges qui dépend de la concentration . À une concentration de 500 µg/ml, l'inhibition atteint un taux maximal de 33 %, ce qui est significativement plus faible que le diclofénac de sodium qui atteint 68 % . Ces résultats indiquent que l'extrait éthanolique de propolis présente une activité de stabilisation des membranes des globules rouges faible, démontrée par son pouvoir d'inhibition de l'hémolyse.

Inhibition de l'activité des protéases

Les résultats de cette expérience ont permis de calculer le pourcentage d'inhibition de la protéase (Trypsine) exercée par l'extrait ethanolique de propolis et le diclofenac de sodium a différentes concentrations et sont présentes dans la figure 72

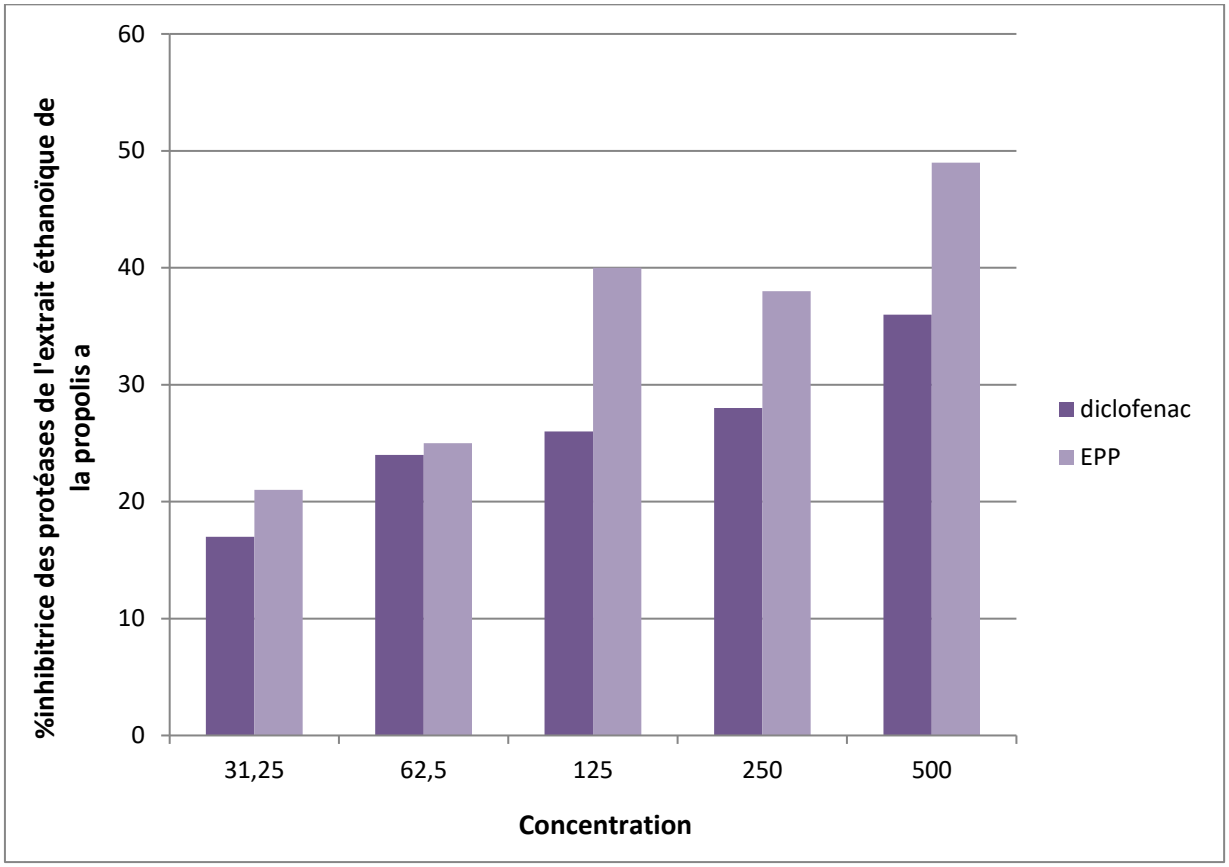


Figure 72 : Inhibition de l'action de la protease (trypsine) par l'extrait ethanolique de propolis et le diclofenac de sodium (31,25 ; 62,5 ; 125 ; 250 et 500 µg/ml).

En analysant les résultats de l'histogramme illustrant le pourcentage d'inhibition de l'action des protéases (figure 7), il est clair que l'extrait éthanolique de propolis présente une activité inhibitrice de la trypsine plus prononcée que le diclofénac de sodium, quelle que soit la concentration utilisée (31,25, 62,5, 125, 250 et 500 µg/ml). A une concentration de 500 µg/ml, l'inhibition maximale atteint 49 % pour l'extrait éthanolique de propolis, tandis que le diclofénac de sodium atteint seulement 36 %. De plus, l'effet inhibiteur de l'extrait éthanolique de propolis augmente significativement en augmentant la concentration de 31,25 µg/ml à 62,5 µg/ml, puis l'activité devient relativement stable.

Disscussion

La dénaturation des protéines survient lorsqu'elles perdent leur structure tertiaire et secondaire en raison de divers facteurs externes tels que le stress, les produits chimiques ou la chaleur. Cette dénaturation entraîne généralement la perte de la fonction biologique des protéines et peut être associée à la production d'auto-antigènes dans certaines maladies inflammatoires comme la polyarthrite rhumatoïde. L'étude de la dénaturation protéique est couramment utilisée pour examiner les mécanismes de l'activité anti-inflammatoire in vitro. Les dommages tissulaires peuvent être assimilés à la dénaturation des protéines cellulaires ou de la matrice extracellulaire. Par conséquent, l'inhibition de la dénaturation protéique indique un potentiel prometteur en termes d'activité anti-inflammatoire. Nos résultats démontrent que notre extrait éthanolique de propolis a inhibé la dénaturation de la BSA avec un taux de 46 %, comparable à celui observé avec le diclofénac de sodium.

Plusieurs études ont révélé que de nombreux médicaments anti-inflammatoires présentent une capacité d'inhibition de la dénaturation protéique qui dépend de leur concentration **(Grant, 1970).** Avant la découverte de l'effet inhibiteur de la cyclooxygénase par Vane **(Vane, 1971**), Mizushima et Kobayashi **(Mizushima et Kobayashi, 1968**) avaient proposé que l'inhibition de la dénaturation protéique était le principal mécanisme d'action des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS).

Nous avons également examiné l'effet de l'extrait éthanolique de propolis sur la stabilisation de la membrane des globules rouges. La stabilisation de la membrane des globules rouges est une méthode couramment utilisée pour évaluer l'activité anti-inflammatoire in vitro car elle est similaire à la membrane lysosomale des cellules inflammatoires **(Marliyah et Ananthi, 2015).** Nos résultats ont montré que l'extrait éthanolique de propolis présente une certaine capacité de stabilisation de la membrane des globules rouges, mais celle-ci est moins prononcée que celle du diclofénac de sodium. Cette stabilisation est dépendante de la concentration, et nous avons observé une stabilisation maximale de 30 % avec une concentration de 500 µg/ml d'extrait éthanolique de propolis. La stabilisation des lysosomes est essentielle pour limiter la réponse inflammatoire en empêchant la libération de composants lysosomaux des neutrophiles activés lors d'infections microbiennes, tels que les enzymes bactéricides et les protéases. La libération d'enzymes lysosomales pendant l'inflammation peut entraîner divers troubles cellulaires. L'activité extracellulaire de ces enzymes peut être associée à une inflammation aiguë ou chronique **(Sree Kumari et al., 2015).**

Le principal mécanisme d'action des anti-inflammatoires non stéroïdiens tels que le diclofénac de sodium est lié à leur capacité d'inhiber la synthèse de thromboxane en inhibant l'action des isoformes de l'enzyme cyclo-oxygénase (COX-1 et COX-2) responsables de la production de prostaglandines et de thromboxane **(Ahmad et al., 2013**). Ces médicaments agissent également en inhibant les enzymes lysosomales ou en stabilisant les membranes lysosomales **(Sree Kumari et al., 2015).** Dans cette étude, nous avons également évalué l'effet de notre extrait éthanolique de propolis sur l'action des protéases.

Nous avons utilisé la trypsine en tant que protéase dans notre méthode, basée sur le même principe de stabilisation de la membrane des globules rouges. Les résultats ont montré que notre extrait éthanolique de propolis présente une inhibition maximale des protéases de 49 % à une concentration de 500 µg/ml, comparable à celle du diclofénac de sodium. Cette inhibition indique que notre extrait éthanolique de propolis est capable d'inhiber les enzymes lysosomales après leur libération, de la même manière que le diclofénac de sodium, afin de limiter la réponse inflammatoire des neutrophiles activés. Ces enzymes, telles que les enzymes bactéricides et les protéases, peuvent induire une inflammation tissulaire supplémentaire (**Sree Kumari et al., 2015).**

Conclusion

- Il ya à peu près 50000 femmes selon l'OMS qui sont atteintes tous les ans du cancer du sein, c'est le premièr cancer chez la femme et c'est pour ça c'est un réel problème de santé publique ,Au cours de ce travail nous avons pu interpréter les résultats de 130 patientes atteintes du sein . A partir des données disponibles des patientes de la Région Médéa :

-en fonction de l'âge ,nous avons trouvé que la tranche d'âge la plus affectée se situe entre 30- 50ans soit 53 % des cas

-Sur le plan clinique, l'atteinte élective du sein gauche (74,61%)

- L'étude histologique montrait que la majorité des tumeurs était des carcinomes canalaires infiltrants (91%) avec un grade histopronostique SBR souvent élevé (II : 90 %)

- La prise en charge de ces patientes repose directement sur les données histopathologies et notamment ceux de la biologie moléculaire via l''immunohistochimie

Dans le cadre de ce mémoire, nous nous sommes intéressées à l'extraction et à la récupération des extraits des produits naturels tell que les produits de la ruche comme le propolis et le pollen pour déterminer leurs effet anti-inflamatoire et antioxydants Tous ces résultats in vitro ne sont que la première étape dans la recherche de substances et de sources naturelles biologiquement actives. Des tests supplémentaires seront nécessaires et devraient confirmer les performances dans la preuve

Il serait extrêmement bénéfique de poursuivre cette étude et d'encourager des recherches complémentaires approfondies en utilisant des méthodes d'extraction et d'analyse plus avancées. Cela permettrait non seulement de quantifier, mais également de caractériser les composés phénoliques présents dans les divers extraits Echantillion . Il serait également intéressant de tester l'efficacité de ces extraits sur d'autres activités biologiques et de chercher à élucider leurs mécanismes d'action. De telles investigations pourraient fournir des informations précieuses sur les propriétés des extraits de Echantillion , ouvrant la voie à de nouvelles applications potentielles dans le domaine de la médecine et de la santé

Références Bibliographiques

- **ADJAILIA H. 2018**. Facteurs de risque nutritionnel de cancer du sein. Mémoire de fin d'études : Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem.

- **Anonyme. (2003).** Uganda Brest Cancer Working Group, 2003.

- **BOUKLI-HACENE A., ABDELALI W., DJAAFARI A et al. 2014**. Etude descriptive rétrospective des cas de cancer du sein pris en charge au niveau du service de gynéco-obstétrique. Mémoire de fin d'études : Universite abou bekr belkaid- Tlemcen.

- **Fattaneh A. Tavassoli. ET Devile P., 2003**. The WHO. Pathology and genetics. Tumors of the breast and femal genital organs. IARCPress, Lyon, France

- **Amat S, Penault-Llorca F, Cure H, Le Bouedec G, Achard JL, Van P, I et al**. ScarffBloom- Richardson (SBR) grading: a pleiotropic marker of chemosensitivity in invasive ductal breast carcinomas treated by neoadjuvant chemotherapy. Int J Oncol 2002; 20(4):791- 796.

- **B. Cutuli** **Chapter** **506** Accesses Part of the Oncologie pratique book series (ONCOLPRAT) Cancer canalaire in situ (CCIS)

- **BELKACEMI Y, BOUSEN H, HAMDI-CHRIF M et al. 2010.** Epidémiologie des cancers du sein de la femme jeune en Afrique du nord.32ème journées de la SFSPM, Strasbourg. 56-68.

- **BERGSTROM A, PISANI P, TENET V et al. 2001.** Overweight as an avoidable cause of cancer in Europe. Int J Cancer. 91 : 421-430.

- **BICAR A. 2018**. Le cancer du sein chez la jeune femme et sa prise en charge. Thèse de doctorat : Université de Limonge, France.

- **Biri, M., 2003**. Le grand livre des abeilles. Cour d'apiculture moderne. Ed vecchi S. 10 éd.

- **Brierley JD, Gospodarowicz MK, Wittekind C (eds. 2017).** *TNM Classification of Malignant Tumours*. 8th ed. Wiley Blackwell .

- **Daly-Schveitzer N., 2008.** Cancérologie clinique. 3e édition, Elsevier Masson SAS, Paris, France, (456 pages).

- **Dr Alain Thille**, Comprendre le cancer du sein, Centre de Sénologie des Coteaux, http://centre-des-coteaux.be/ourcauses/comprendre-le-cancer-du-sein/ (page consultée le 06.05.2016)

- **Dr N-Belaggoune UNIVERSITE DE BATNA ANNEE UNIVERSITAIRE FACULTE DE MEDECINE 2020/2021** DEPARTEMENT DE MEDECINE 2 ième ANNEE MEDECINE COURS D'HISTOLOGIE --SPECIALE LA GLANDE MAMMAIRE Année Universitaire 2020-2021

- **Dr. R. Gérard-Marchant et au Dr. G. Contess (1968, deuxième édition 1981)**. Types histologiques des tumeurs du sein (1968, deuxième édition 1981).
- **FRIEDENREICH CM, COURNEYA KS, BRYANT HE. 2001**. Influence of physical activity in different age and life periods on the risk of breast cancer. Epidemiology. 12 : 604-612
- **Gertrude. 2021**, le cancer de sein diagnostique chez l'homme à Kinshasa :à propos de 4cas , Revue Africaine de Médecine et de Santé Publique ,p31
- **Houdebine LM. Biologie de la lactation. Encyclopédie Médico-Chirurgicale – GynécologieObstétrique. 1997** ; 5-008-A-30).
- ***https://ishh.fr/*** *figure 2 : https://ishh.fr/cancer-du-sein/signes-avant-coureurs/*
- **Jahanmohan, j, p 2019,** Les Cancers Du Sein Agressifs: Conséquences De La Ménopause Chimio-Induite Chez Les Femmes Jeunes Atteintes D'un Cancer Du Sein Non Métastatique Et Facteurs Pronostiques De La Rechute Du Cancer Du Sein Triplenégatif ; Présentée a l'université Clermont Auvergne pour L'obtention Du Grade De Docteur D'université ; p11, p15.p7.
- **LAURENT D. 2003.** Thèse sur : Stimulation autocrine de la croissance des cellules du cancer du sein par le Nerve Goth Factor. Université de Lille 1.
- **LECARPENTIER J. 2012**. Étude des facteurs modificateurs du risque de cancer du sein des femmes à risque génétique élevé. Université Paris Sud - Paris XI, France
- **Nicolas Cleres : Maître de conférences UFR santé, département pharmacie, Université d'Angers, 16 boulevard Daviers, 49045 Angers, France**
- **OLIVIER-BOUSQUET M. 2006**. Les cellules mammaires du développement normal à la transformation tumorale. Journal de la société de Biologie. 200(2) : 179-180.
- **Pierre Kamina, Anatomie Clinique, 3ème édition, Tom 3 (Thorax et Abdomen), 2ème tirage, Edition Malouine, Paris, 2011**,342 pages
- **ROUX M. 2013**. Fibroadénome géant chez l'adolescente et influence hormonale : analyse d'une série de 90 cas. Thèse de Doctorat en ligne. Université Paris 7. Pagination multiple.
- **Russo, and Russo,I.H., Developement of the humanbreast. Maturitas, 2004**. 49 :p.2-1 5
- **Sami S., Dr Amari A., Pr Bensalem A., L'Hadj M., et al., 2016.** Manuel de prise en charge du cancer du sein, Ministère de la Santé de la Population et de la Réforme Hospitalière, Alger, Algérie, (78 pages).
- **Sternlicht, Key (2006)** stages in mammary gland development the cuesthatregulat educta lbranching morphogenesis. Breast Cancer Res. 8 : p. 201
- **SYVLVAIN J. 2004**. Thèse sur : L'antigène Sialyl-Tn dans le cancer du sein : Etude de la O-glycosylation et de son influence sur la croissance de lignées cellulaires Sialyl-Tn positives. Université de Lille 1.

- **VANDERMOERE F. 2005**. Thèse sur : Protéomique fonctionnelle de la signalisation de la kinase AKT dans le cancer du sein. Université de Lille 1.
- **S. Castaldo, F. Capasso / Fitoterapia 73 Suppl. 1 (2002)** S1–S6
- **J.W. Dobrowolski, S.B. Vohora, S. Kalpana, S.A. Shah, S.A.H. Naqvi, P.C. Dandiya, J Ethnopharmacol 35 (1991)** 77–82.
- **Campos M.G., Webby R.F., Markham K.R., Mitchell K.A (2003**). Age-induced diminution off radical scavenging capacity in bee pollens and the contribution of constituent flavonoids. Journal of Agriculture and Food Chem-istry .51 .Pp742–745.
- **Campos. R ; Bogdanov. S ; Almeida-Muradian L.B ; SzczesnaT ; Mencebo. Y ; Frigerio. C.; Ferr- eira. F (2008**). Pollen composition and standardisation of analytical methods. Journal of Apiculture Research 47.Pp 156 -163.
- **Le Conte (2005).** Connaitre l'abeille, conduire le rucher. Techniques et documentations. 7 ème Ed Lavoisier. Pp : 309 ; 410 ; 482.
- **Prost J P (2005)** .La vie sociale des abeilles. Traité Rustica de l'apiculture. Pp : 54 ; 83.
- **Prost J.P ; Le Conte Y (2005).** Apiculture : connaître l'abeille. Ed. Technique et documentation, Lavoisier, PARIS. Pp 579 ; 589 ; 600
- **Bell. R; Thprnber. J; Seet. J; Groves. M (1983).** Composition and protein quality of honeybee

collected pollen of Eucalyptus marginataand Eucalyptuscalophylla. Journal of Nutrition N°113. Pp: 2479-2484

- Nigelle. E (1972) .Pouvoir merveilleux du pollen. Ed Soissons. 20p.

-Watanabe, M. A. E. ; Amarante, M. K. ; Conti, B. J. ; Sforcin, J. M, (2011). Cytotoxic Constituents of Propolis Inducing Anticancer Effects: A Review. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 63, 1378–138

- Khayyal MT, El-Ghazaly MA et El-Khatib as., (1993). Mechanisms involved in the antiinflammatory response of propolis extract. Drugs Exp Clin Res ; 19(5) : 197-203.

Krell. R. (1996). Value edded products from beekeeping. Food and agriculture organization of the United Nations Rone. Chapitre 5. Marcucci, M.; 1995. Propolis: chemical

Neumann. D. ; Gotze G. ; et Binus. W. 1986. Clinical study of the testing of the inhibition of plaque and gingivitis by propolis. Stomatologie der DDR : 677-681

Borrelli F, Maffia P, Pinto L et al. (2002). Phytochemical coumpounds involved in the antiinflammatory effect of propolis extract. Fitoterapia ; 73(1) :53-63

Kumazawa S, Hamasaka T et Nakayama T., (2004). Antioxydant activity of propolis of various geographic origins. Food Chemistry; 84:329-339.

- Eric Debuyser, 1984). L'Abeille de France et l'apiculteur Numéros 679 à 689 - Page 336 .

- Pereira, 2000, 2001; Chuenkova and PereiraPerrin, 2004). 9.5.2.2.1. Activation of PI3K/Akt and survival PI3 kinase is central to the survival-promoting effects via Trk receptors. Trk-dependent activation .

Touraif M. Université Marrakech 2017 , Le profil hormonal, Her2 et prolifératif des carcinomes mammaires infiltrants, avec approche de classification moléculaire. Faculté de médecine et de pharmacie

- Manuel de prise en charge du cancer du sein, à l'usage des personnel médicaux, Ministère de la Santé, de la Population et de la Réforme Hospitalière – Direction de la Prévention, Algérie, 2015

-Ben AHMED.S et al. Santé publique 2002/3 Pronostic du cancer du sein chez les femmes tunisiennes : analyse d'une série hospitalière de 729 patientes. N°14.p.231-241.

-Chevallier, B., Roche, H., Olivier, J., Chollet, P. Hurteloup, P. (2000). Inflammatory Breast Cancer. Pilot Study of Intensive Induction Chemotherapy (Fechd) Results in a High Histologic Response Rate. Am J Clin Oncol1 16, 223ŕ8

Clough.K. B Clough.K.B Diagnostic des tumeurs du sein : cytoponction ou microbiopsie ? Gynécologie Obstétrique & Fertilité 33 (2005): p539

Moise N, Hery M, Serin D, Spielmann M. Moise N, Hery M, Serin D, Spielmann M. (Saint-Paul-de-Vence, 16- 18 janvier 2003) Springer Verlag – ISBN 2003 Cancer du sein. Compte-rendu du cours supérieur francophone de cancérologie : 2-287-00664-8

-**Persand BusuntSandhya**. le cancer du sein chez la femme de 30 ans ou moins 0Thèse Med,

Pivot-Pajot C, Caron C, Govin J, Vion A, Rousseaux S, Khochbin S (2003) Acetylation-dependent chromatin reorganization by BRDT, a testis-specific bromodomain-containing protein. Mol Cell Biol 23:5354–5365

Annexes

Matériel et méthode

Annex 1 : Tableau 01 :le matériel de laboratoire

Materiels	**Les produits**
- Pipettes - Micro pipette (1000 µl, 200 µl) - Tubes à essai - Flacons (250 ml) - Erlenmeyer - Béchers - Spatule - Para film - Tube en plastiques citratés - Eprouvette graduées -Papier filtre (0.45µm). - Burette graduée - Cuve en verre - Tubes à essais - Embouts - Fioles - Tubes secs à bouchons – Flacons en verre ambré - Papier film - Porte tube à essai - Papier d'aluminium - Entonnoir en verre - Écoviont	~ Solution alcoolique DPPH - Ethanole ~ L'eau distillée ~ Acide chlorhydrique(HCl) - Hydroxyde de sodium (NaOH) - Hydroxyde l'ammonium (NH4OH) ~ Acide sulfurique (H2SO4) - Folin-Ciocalteu - Acide gallique -Acide ascorbique - Carbonate de sodium (Na2CO3 - Réactif de FCR (Folin- Ciocalteau) - Carbonate de Sodium

Annexe 2 : Protocole de l'immunohistochimie

Déparaffinage :	
Xylène	5+5 min
Alcool absolu	5 min
Alcool 90°	5 min
Alcool 70°	5 min
H_2O	5 min
Démasquage :	
Solution de saturation micro-onde à 95°C	30 min
Refroidissement	20 min
Lavage dans PBS	05 min
Solution da saturation sans H_2O_2	30 min
Immunomarquage :	
***Anticorps primaire code A0485**	2 heures T° ambiante
03 lavages en PBS	10 min chacun
***Révélateur** ($2^{ème}$ anticorps marqué à la peroxydase)	1 Heure T° ambiante
03 lavages en PBS	10 min chacun
***Chromogène :** DAB	30 Secondes
Rinçage eau distillée	plusieurs bains
Vérifier au microscope	

Contre coloration Hématoxyline de Meyer aqueuse

Rinçage à l'eau courante

Montage à l'Eukitt.

Annexe 3 : Partie Exprimental

1-les données épidémiologiques

- L'origine
- L'année
- L'âge
- Type histologique
- Type de traitement
- Localisation
- Grade SBR
- Classification TNM

2- Matériel

Dans le service d'anatomie pathologique, nous avons utilisés :

- Automate de déshydratation
- Appareil d'inclusion
- Lamelles
- Microscope
- Microtome
- Les Lames
- Bain-marie
- Plaque chauffante

Réactifs

- Xyléne
- Alcool absolu
- Hématoxyléne de harris
- Eosine aqueuse2%
- L'eau distillé
- Paraffine
- Eukit

Annexe 4 : tableau méthode de Gradin SBR a été modifiée par Ellis Elston

Morphologie	Score
Formation des glandes et des tubules Concerne >75 % de la tumeur concerne 10-75 % de la tumeur Concerne < 10% de la tumeur	 **1** **2** **3**
Pléomorphisme nucléaire	
Noyau petit, uniforme et régulier Augmentation modérée de la taille et variabilité de leur aspect Variations marquées	**1** **2** **3**
Compte des mitoses	Dépend de diamètre du champ
Pour un champ de 0,6 mm < 10 11 et 20 >20	 **1** **2** **3**
Grade final	
Grade I	Score totale entre 3 et 5

Grade II	Score totale de 6ou de 7
Grade III	Score totale de 8 ou de 9

Annexe 5 : La classification clinique dite TNM pour Timor Node Metastasis (tumeur ganglion métastases) de l'Union Internationale Contre le Cancer

A) tumeur :

- T0 : imperceptible cliniquement
- T1 : inférieur ou égale à 02 Cm a) inférieur à 0,5 Cm b) 0,5 – 1 Cm c) 1 – 2 Cm
- T2 : 2 - 5 Cm
- T3 : supérieur à 5 Cm
- T4 : extension

a) la paroi thoracique b) la peau c) les deux d) inflammatoire

B) Atteinte ganglionnaire :

- N0 : imperceptible cliniquement
- N1 : atteinte hormonale a) cliniquement non atteinte b) cliniquement atteinte
- N2 : atteinte axillaire homolatérale fixée
- N3 : atteinte interne homolatérale

C) Atteinte métastatique :

- M0 : absente
- M1 : présente

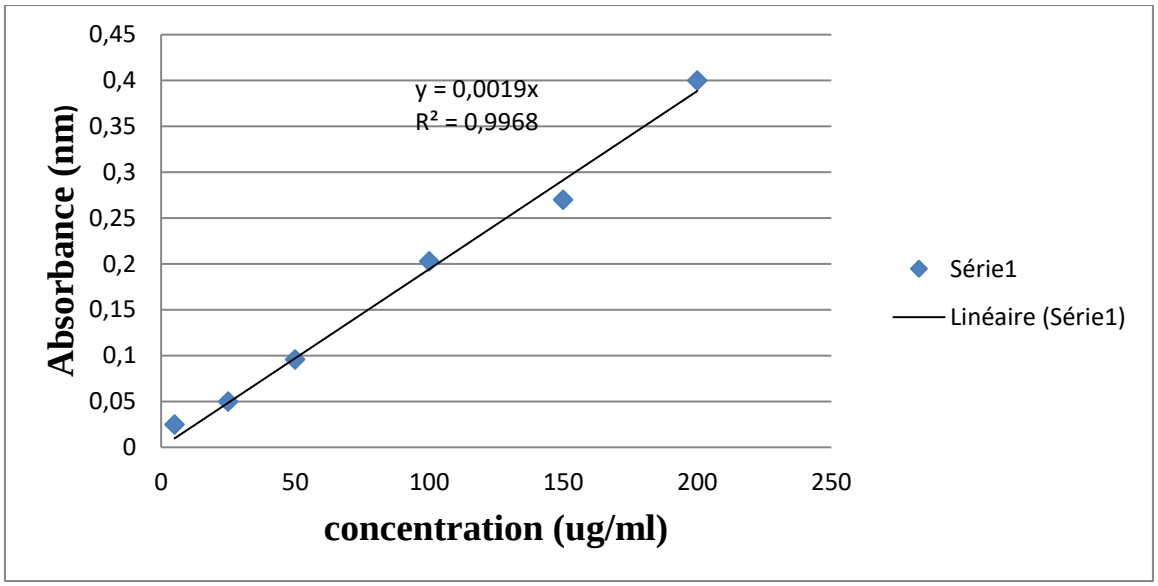
a) Stade I : tumeur confinée au sein sans atteinte ganglionnaire

b) Stade II : tumeur avec adhérence cutanée ou adénopathie axillaire mobile

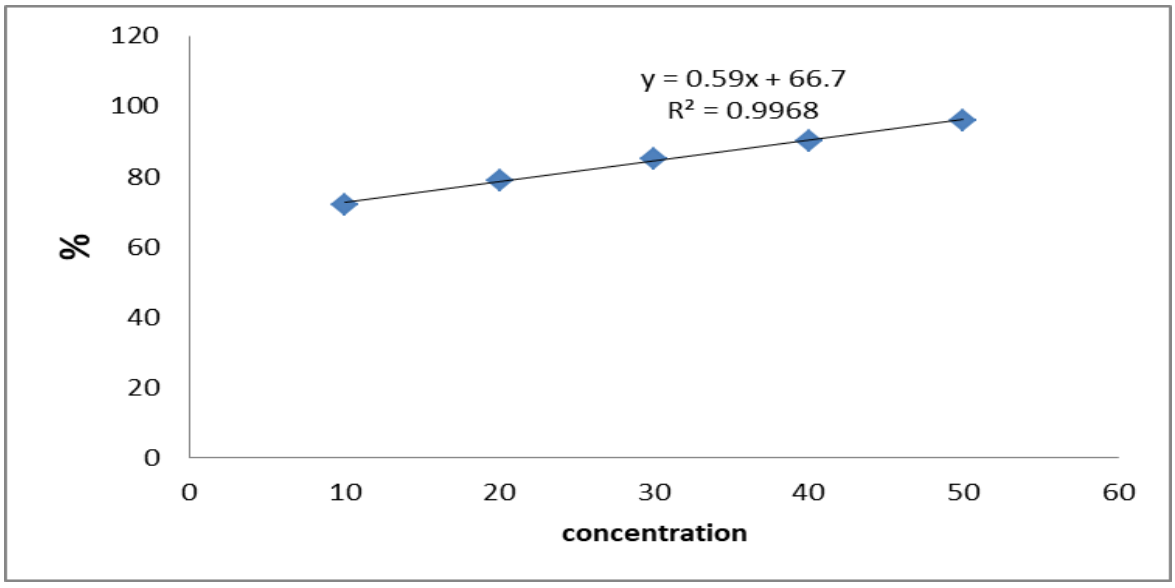
c) Stade III : tumeur envahissant la peau ou fixée au grand pectoral, adénopathie axillaire mobile

d) Stade IV : métastase à distance

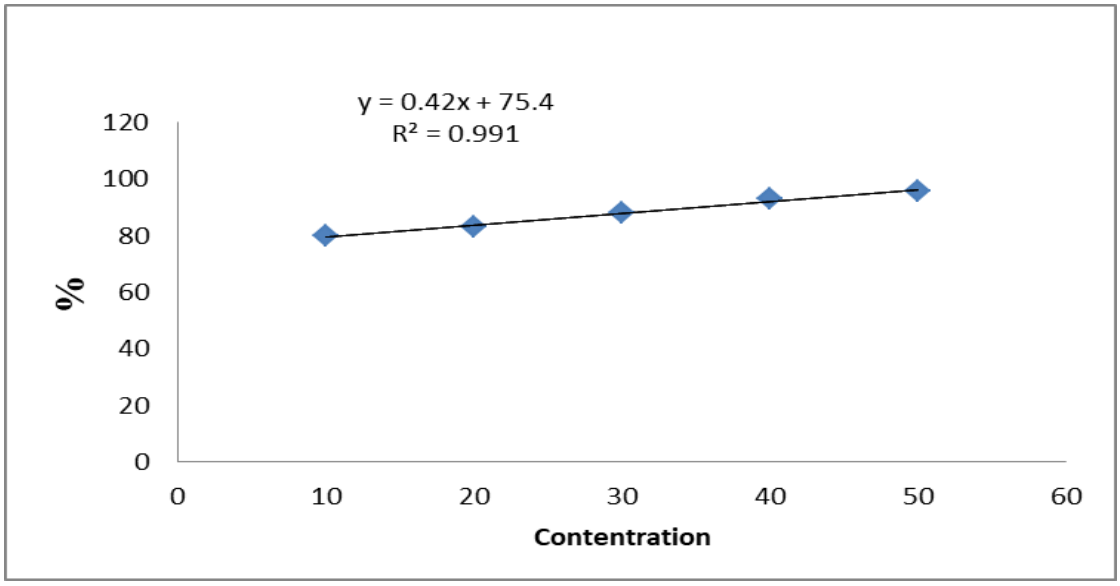
annexe 6 : La courbe gallique



Annexe 7 : Pourcentage d'inhibions de l'extrait ethanolique de propolis



Annexe 8: Pourcentage d'inhibions de l'extrait PEG



Annexe 9 : courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage de flavonoide

