

Evaluation *in vitro* de l'activité antiproliférative d'une crème à base de beurre de karité et de miel destinée à la prise en charge des plaies cancéreuses

In vitro evaluation of the antiproliferative activity of a cream based on shea butter and honey for the management of cancerous wounds

Luc Zongo^{1,2,3}, Bagora Bayala^{2,4}, Charles Bavouma Sombié¹, Safiatou Traoré¹, Jacques Simporé^{2,4}, Rasmané Semdé¹

¹Laboratoire du Développement du Médicament (LADME) de l'Université Joseph KI-ZERBO, Ouagadougou, Burkina Faso

²Centre de Recherche Biomoléculaire Pietro Annigoni (CERBA), Ouagadougou, Burkina Faso.

³Département de pharmacie, de l'Université Saint Dominique d'Afrique de l'Ouest (USDAO), Doulougou, Burkina Faso

⁴Laboratoire de Biologie Moléculaire et de Génétique (LABIOGENE) de l'Université Joseph KI-ZERBO, Ouagadougou, Burkina Faso

Auteur correspondant : Luc ZONGO, frereluczong@yahoo.fr, 00226 52 13 55 07

Reçu le 5 mai 2023, accepté le 17 juin 2023 et publié le 8 juillet 2023
Cet article est distribué suivant les termes et les conditions de la licence CC-BY
(<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.fr>)

Résumé

Certains types de cancer provoquent des plaies cancéreuses (PCs), créant inéluctablement un inconfort pour les malades et leurs soignants ; d'où la nécessité de la recherche de solutions endogènes pour leur traitement dans nos contrées. En effet, le miel, en plus de ses propriétés pharmacologiques connues, possède une cytotoxicité sélective capable de bloquer les étapes de l'initiation, de la prolifération et de la progression dans la cancérogenèse. C'est pourquoi, l'objectif principal de la présente étude était d'évaluer *in vitro*, l'activité antiproliférative de la crème à base de beurre de karité / miel (BkM), de l'Efudix 5% crème (EF) et du miel sur les cellules cancéreuses HeLa et Du145 en utilisant la méthode Colorimetric MTT assay. Les résultats préliminaires ont indiqué une diminution de la viabilité cellulaire en fonction de la concentration de BkM et de EF. Dans l'intervalle de 0,005 mg / mL à 15 mg / mL de BkM, on a pu relever une diminution de 89,17% à 3,39 % des HeLa et 77,06 % à 0,13 % des Du145 d'une part et d'autre part de 64,62 % à 11,97 % des HeLa et de 68,57 % à 10,97 % des Du145 avec EF. À la lumière de ces résultats *in vitro*, indiquant une supériorité de l'activité antiproliférative de BkM par rapport à celle de EF et au miel assorti de la disponibilité, l'accessibilité financière et l'innocuité du miel et du beurre de karité (Bk), le BkM pourrait être un substitut de l'EF dans le traitement des PCs.

Mots clés : beurre de karité – miel - activité antiproliférative - plaies cancéreuses

Abstract

Some types of cancer cause cancerous wound (PC), inevitably creating discomfort for patients and their caregivers. Hence the need to search for endogenous solutions for their treatment in our countries. Indeed, honey, in addition to its known pharmacological properties, has a selective cytotoxicity capable of blocking the stages of initiation, proliferation and progression in carcinogenesis. Therefore, it seems appropriate to consider shea butter/honey (BkM) cream as an alternative to Efudix 5% cream (EF) in the treatment of PCs. Thus, the main objective of the present study was to evaluate *in vitro* the antiproliferative activity of BkM, EF and honey on cancer cells HeLa from cervical cancer and Du145 from prostate cancer using the colorimetric MTT assay method. Preliminary results indicated a decrease in cell viability as a function of BkM concentration (mg/mL), from 89.17% to 3.39% of HeLa and from 77.06% to 0.13% of Du145; EF, 64.62% to 11.97% of HeLa and 68.57% to 10.97% of Du145 in the range of 0.005 mg/mL to 15 mg/mL. In light of these *in vitro* results, indicating superiority of the antiproliferative activity of BkM compared to that of EF and honey with the availability, affordability and safety of honey and Bk, BkM may be a surrogate for EF in the treatment of PCs.

Keywords : shea butter – honey – antiproliferative activity – cancerous wounds

1. Introduction

Le cancer est un problème majeur de santé publique dans le monde de nos jours. En effet, toute personne humaine sans distinction de genre, d'âge ou de conditions socio-économiques, sous tous les ciels, peut potentiellement développer un cancer. Ces dernières décennies, on constate malheureusement une poussée épidémiologique inquiétante des maladies cancéreuses. Au niveau mondial, le nombre de nouveaux cas de cancer est passé de 12,7 millions [1] à 19,3 millions [2] de 2008 à 2020. Une prévision de 28,4 millions de cas de cancer en 2040 est annoncée [2]. Pour la même période de 2008 – 2020 la mortalité due au cancer est passée de 7,6 à 10 millions.

Les cancers au regard de leur diversité sont caractérisés par des manifestations cliniques variées. Certains types de cancer donnent lieu à des plaies cancéreuses (PC) dans la progression de la maladie. Ces PC sont une source de souffrance globale de la personne humaine. Elles affectent principalement les quatre dimensions de son être à savoir, physique (odeurs, sécrétions, saignements, douleurs et impacts fonctionnels), psychologique avec un impact émotionnel majeur (sentiment de honte, d'embarras, de culpabilité, de peur, d'anxiété; perte de l'estime de soi et dépression), sociale (isolement) et spirituelle (perte de la foi) [3].

Les PC créent inéluctablement un inconfort majeur chez les malades, leurs proches et le personnel soignant. Elles posent des problèmes récurrents d'isolement social, de difficultés conjugales et entraînent une impression de dégoût, de pourriture, voire de mort imminente. Ainsi, la prise en charge des PC doit être holistique et intégrée la prise en charge physique et psychologique [4].

Du point de vue médical, la prise en charge des PC s'articule autour de trois axes à savoir la gestion de la «bio-contamination» causant l'odeur à travers l'hygiène et le contrôle de la prolifération bactérienne avec des antibiotiques systémiques ou topiques [5], le ralentissement de la prolifération des cellules cancéreuses avec des cytostatiques topiques (Fluoro-uracil), la réduction de la douleur et de la nécrose des tissus avec les pansements à base de miel médical (Medihoney) [6]. L'un des médicaments détenteurs d'autorisation de mise sur le marché et fréquemment utilisé comme cytostatiques topiques est l'Efudix 5% crème (EF). Cependant, son coût estimé à 35 000 F CFA pour le tube de 20 g limite son accessibilité financière aux patients dans les pays à faible revenu comme le Burkina Faso. Il s'avère donc nécessaire de rechercher des solutions endogènes à partir de nos matières premières locales comme alternatives à l'Efudix 5% crème. A cet effet, des investigations ont démontré que le miel possède un grand nombre de propriétés pharmacologiques, *i.e.*, activités antioxydante, antimicrobienne, antivirale, antiparasitaire, antidiabétique et anticancéreuse [7,8]. Il a été démontré également que le miel est hautement et sélectivement cytotoxique pour les cellules cancéreuses en bloquant les étapes de l'initiation, de la prolifération et de la progression dans la cancérogenèse [9].

Tout récemment au Burkina Faso, une crème à base de beurre de karité / miel (BkM), a été développée par SEMDE et al. en 2019 et utilisée dans le traitement des brûlures cutanées [10]. Les résultats des études préliminaires de cette crème ont démontré de bonnes propriétés physicochimiques et une efficacité clinique. C'est ce qui a permis de l'envisager comme alternative dans le traitement des brûlures. Par ailleurs, la crème, au regard de sa composition riche en miel et beurre de karité dont les propriétés anti-infectieuse (bactéricide, virucide et fongicide), cicatrisante avec régénération du tissu cutané, anti-inflammation et immunomodulatrice, antioxydante, apoptotique et antiproliférative, anti-métastatique et anti-mutagénique décrites dans la littérature [7,8,11–15], pourrait être envisagée dans le traitement des PC.

Toutefois, il serait opportun d'investiguer au préalable sur les propriétés anticancéreuses de la crème à base de beurre de karité / miel. D'où la présente étude dont l'objectif principal était d'évaluer *in vitro*, l'activité antiproliférative de la crème à base de beurre de karité / miel.

2. Matériel et Méthodes

2.1. Matériel

Le Miel (APISAVANA, Burkina Faso), Beurre de Karité (Association Sontaab-Yaalgré Burkina Faso), Tween®60 / (Merck, Allemagne), Span®60 (Merck, Allemagne), le méthylparabène, le propylparabène et l'eau distillée préparée *in situ* ont été utilisés comme matière première. Les Crème de beurre de karité et de miel (BkM) ont été fournies par le laboratoire de développement du médicament (LADME) de l'Université Joseph Ki-Zerbo (UJKZ). L'Efudix 5% crème (EF) a été achetée dans une officine pharmaceutique.

Les lignées cellulaires HeLa (*première lignée de cellules cancéreuses immortelles du col de l'utérus couramment utilisée dans la recherche biologique*) et Du145 ou DU-145 (*lignée cellulaire du cancer de la prostate humaine, dérivée d'une métastase du système nerveux central d'origine adénocarcinome primaire de la prostate*) ont été fournies au CERBA/LABIOGENE (Centre de Recherche Biomoléculaire Pietro Anigoni) par GReD (Laboratoire

Génétique, Reproduction & Développement), UMR CNRS 6293, INSERM U1103, Université Clermont-Auvergne, 28, Place Henri Dunant, BP38, F63001, Clermont-Ferrand, France.

Les milieux de culture cellulaire, le Modified Eagle Medium (DMEM) et le RPMI 1640 de Dulbecco, ont été achetés auprès de PAN Biotech (Allemagne). Le sérum de veau foetal (FCS) a été acheté à Biowest (France).

Le test MTT (bromure de 3[4,5 diméthylthiazol 2 yl]-diphényltétrazolium), la pénicilline et la streptomycine ont été achetées auprès de Sigma Aldrich (France).

La densité optique des puits de chaque plaque a été mesurée au spectrophotomètre (BioTek, Vermont, États Unis d'Amérique) à l'aide d'un lecteur de microplaques de type Bio Rad 11885 à 570 nm.

2.2. Méthodes

2.2.1. Formulation et préparation de la crème de beurre de karité

La crème de type huile dans eau à base du beurre de karité a été formulé comme suit :

- La teneur en phase grasse a été fixé à 30% m /m ;
- Le couple Tween[®]60 / Span[®]60 a été utilisé comme émulsif. Sa quantité était 20% m/m de la phase grasse. Leur proportion a été déterminée à partir de la valeur HLB préférentielle ;
- L'aqua conservans (eau + 0,07% de methylparabène et 0,3% de propylparabène) a été utilisée comme phase aqueuse.

La crème a été préparée à l'échelle de laboratoire par la méthode d'émulsification directe.

2.2.2. Evaluation de la concentration cellulaire

Le nombre de cellules par microlitre a été évalué à l'aide de la cellule de Malassez et du microscope inverse OPTIKA C-P6 (Optika Microscopes, Italie).

➤ Préparation de la suspension cellulaire avec le bleu trypan

Un volume de 100 µL de la suspension cellulaire ont été dilués dans un rapport volumique de 1 : 1 avec du bleu trypan. Le bleu trypan permet l'identification des cellules mortes afin de ne pas les compter.

➤ Comptage des cellules

Le microscope inverse OPTIKA C-P6 (Objectif 10 X) a été utilisé pour le comptage des cellules dans les suspensions cellulaires à l'aide de la cellule de Malassez. La cellule de Malassez a une capacité utile de 1 µL. Le nombre de cellules sur la ligne horizontale (LH) et la ligne verticale (LV) de la cellule de Malassez a été compté puis la somme a été multipliée par 5, *i.e.*, (LH+LV)*5. Le nombre trouvé est par la suite multiplié par le facteur de dilution (Df) et le volume total de la suspension cellulaire (VT, converti évidemment en µL), *i.e.*, (LH+LV)*5*Df*VT.

2.2.3. Ensemencement des cellules

Après avoir évalué la suspension cellulaire (volume total et concentration cellulaire) disponible et le nombre de cellules à ensemercer par puit, on procède à l'ensemencement. Pour ce faire, la première et la dernière ligne (8 puits de la plaque de 96 puits) sont remplies uniquement avec le milieu complet de culture. Il est convenable d'utiliser un facteur de dilution de sorte à obtenir une concentration de ~10 000 cellules / 100 µL de la suspension cellulaire à ensemercer.

2.2.4. Mise en contact des cellules ensemencées avec les substances à tester

A cette étape les substances à tester sont mises en contact avec les cellules ensemencées. Afin de pouvoir calculer la IC₅₀ (Concentration Inhibitrice médiane) et l'écart type (σ), différentes concentrations des substances à tester sont mises en contact avec les cellules dans différents puits (Figure 2). Pour faciliter leur dissolution dans les milieux de culture une à deux gouttes de Tween 80 ont été ajoutées. Chacune des substances a été diluée à neuf (09) concentrations différentes. Ainsi, des concentration m / v de 15 ; 10 ; 5 ; 1 ; 0,5 ; 0,1 ; 0,05 ; 0,01 ; 0,005 mg / mL ont été préparées respectivement pour chacune des substances à tester.

2.2.5. Évaluation de l'activité antiproliférative

Les cellules HeLa et Du145 ont été cultivées à 37°C dans une chambre humidifiée avec 5% de CO₂ dans des flacons de culture tissulaire de 75 cm², dans des milieux DMEM et RPMI 1640, respectivement. Le DMEM et le RPMI 1640 ont été complétés par 10 % de SVF, 1 % de pénicilline et 1% de streptomycine pour avoir un milieu complet.

Les cellules HeLa ont été dispersées dans le ‘milieu complet’ pour obtenir une concentration nominale de 10 000 cellules / μL . Ensuite, 100 μL de cette suspension cellulaire ont été ensemencés dans des plaques de 96 puits. Les essais ont été réalisés en triplicata.

Les plaques ensemencées ont été incubées à 37 ° C avec 5% de CO₂. Vingt-quatre (24) heures plus tard, les puits ont été vidés de leur milieu de culture et remplacé par 150 μL des substances à tester diluées. Puis, soixante-douze (72) heures après l’incubation, 30 μL de solution MTT à 5 mg / mL dans du Phosphate-buffered saline (PBS, 1X), une solution tampon, ont été ajoutés dans chaque puits. Le mélange a été incubé pendant 2 heures et 45 minutes. Par la suite, le milieu liquide a été remplacé par 150 μL de « solvant » MTT composé de 10% de triton X-100, 10% de 1 n HCl et 80% d’isopropanol. Les plaques protégées avec du papier aluminium ont été agitées à l’aide d’un agitateur de type va-et-vient SSM5 (Stuart – Dutscher) à 250 rpm pendant 20 minutes. Enfin, la densité optique des puits de chaque plaque a été mesurée au spectrophotomètre (BioTek, Vermont, États Unis d’Amérique) à l’aide d’un lecteur de microplaques de type Bio Rad 11885 à 570 nm.

2.2.6. Traitement et analyse des données

L’analyse et l’interprétation statistiques des résultats de l’étude de l’activité antiproliférative des substances à tester ont été réalisées en utilisant la concentration inhibitrice médiane et l’Analyse de Variance (ANOVA) à deux facteurs sans répétition d’expériences complétée par le post-test Tukey-Kramer en utilisant le logiciel Excel 2016.

➤ Concentration Inhibitrice médiane (CI₅₀)

Le pourcentage de viabilité cellulaire de chaque puit a été calculé à partir de la formule suivante :

$$\% \text{ de Viabilité cellulaire} = \frac{\text{DO moyenne de la concentration}}{\text{DO moyenne du témoin négatif}} \times 100$$

Les CI₅₀ ont été déterminées en utilisant la courbe logarithmique à l’aide du logiciel Excel. Avec la concentration (axe X) vs % inhibition (axe Y), on obtient l’équation de courbe : $Y = a \ln(X) + b$ d’où $CI_{50} = \exp [(50-b) / a]$. Les valeurs « a et b » ont été générées par l’opération Excel. Le paramètre « a » indique de combien varie en moyenne la valeur de Y lorsque celle de X change. Ce paramètre est appelé la pente de la droite de régression. Le paramètre « b » correspond quant à lui à la valeur théorique de Y lorsque la valeur de X est égale à 0. Ce paramètre est encore appelé l’ordonnée à l’origine.

➤ Analyse de Variance et Analyse post hoc de Tukey-Kramer

L’ANOVA a été utilisée pour tester l’homogénéité de la moyenne de la variable quantitative étudiée (*i.e.*, concentrations) sur les différentes valeurs de la variable qualitative (*i.e.*, les substances à tester). Cette méthode conduit à deux conclusions possibles, soit l’hypothèse nulle (H₀) est rejetée ou soit on n’a pas assez de preuves pour le rejeter. Dans le cas de figure où l’hypothèse nulle (H₀) doit être rejetée et qu’il y a des traitements à spécifier, on procède par l’analyse post hoc avec la méthode de Tukey-Kramer. En effet, ce test statistique permet d’effectuer une comparaison multiple en une seule.

3. Résultats

3.1. Formulation et aspect de la crème de beurre de karité

La formulation de la crème à base de beurre de karité est décrite dans le tableau 1.

Tableau 1 : Composition de la crème à base de beurre de karité

Désignation	Quantité (g)	Rôle
Beurre de karité	30	Phase grasse
Tween 60	1,9	Tensio-actif
Span 60	4,1	Tensio-actif
Aqua conservas	Qsp 100	Phase aqueuse

La crème à base de beurre de karité fraîchement préparée était d’aspect homogène, semi solide, étalement facile, de couleur blanche avec une odeur caractéristique du beurre de karité. Aucun phénomène d’instabilité (séparation de phase) n’a été observé. Ces caractères organoleptiques notés au temps initial J₀ sont restés inchangés sauf l’odeur des crèmes (persistante) au cours de la conservation à la température ambiante pendant trois (03) mois.

3.2. Activité antiproliférative de CBk, du Miel, de BkM et de EF sur les HeLa

3.2.1 Concentrations Inhibitrices médianes

La lecture de chaque plaque au spectrophotomètre donne lieu à un tableau Excel avec la densité optique (DO) de chaque puit. Les courbes dose-réponse (concentration en fonction des absorbances) pour le Miel, la BkM et l'EF ont permis de déterminer la Concentrations Inhibitrices médianes (CI₅₀), *i.e.*, concentration qui tue 50% de cellules, de chaque substance testée. Les CI₅₀ sur les cellules HeLa calculées selon les formules reportées dans le Tableau 2, sont de 0,13 mg / mL pour le BkM, 0,04 mg / mL pour la crème EF et 0,02 mg / mL pour le Miel.

La courbe dose-réponse et la CI₅₀ pour la CBk n'ont pas pu être réalisées. En effet, la DO moyenne de concentration dans les puits en contact avec la CBk était largement supérieure celle du témoin négatif.

Tableau 2 : CI₅₀ de BkM, de l'EF et du Miel sur les cellules HeLa

	BkM	EF	Miel
Y	a ln(x) +b	a ln(x) +b	a ln(x) +b
IC ₅₀	exp (50-b)/a	exp (50-b)/a	exp (50-b)/a
a	10,17	6,22	5,03
b	71,12	69,73	69,38
(50-b) / a	(2,08)	(3,17)	(3,85)
IC ₅₀	0,13	0,04	0,02

$$Y = a \ln(X) + b \Leftrightarrow CI_{50} = \exp [(50-b) / a].$$

Par ailleurs, les résultats de l'activité antiproliférative de BkM, de EF et du Miel sur les cellules cancéreuses HeLa, sont représentés dans la figure 1. Ils révèlent deux profils différents de la viabilité cellulaire (% VC) de BkM, de EF et du Miel en fonction de l'intervalle de concentration considéré, *i.e.*, % VC de BkM > % VC de EF > % VC du Miel et % VC de BkM < % VC de EF < % VC du Miel respectivement dans les intervalles de 0,005 à 0,1 et 0,5 à 15 mg / mL.

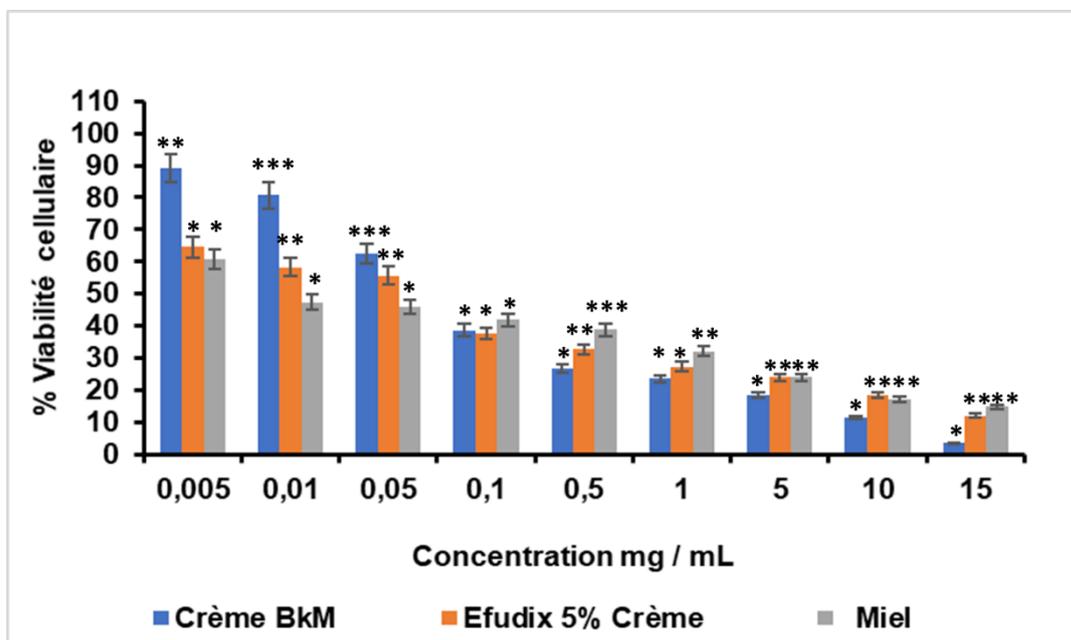


Figure 1 : Profils de l'activité antiproliférative de BkM, de EF et du Miel sur les cellules cancéreuses HeLa ($\sigma = \pm 5\%$ et $n = 3$). Pour chaque concentration le même nombre d'étoiles, *, $p < 0,05$, correspond à des pourcentages de viabilité cellulaire sans différence significative. Tandis que les nombres d'étoiles différents *, $p < 0,05$, correspond à des pourcentages de viabilité cellulaire ayant une différence significative.

3.2.2 Analyse de Variance et Analyse post hoc des données

L'ANOVA à deux facteurs sans répétition d'expériences des données de l'activité antiproliférative a été réalisée sur l'intervalle de concentration de 0,5 à 15 mg / mL. Les résultats, reportés dans les Tableaux 3 & 4, indiquent qu'il existe des variances significatives au niveau de confiance de 95 %, $F_{0.05}(4,2) = 65,68 > F_{crit} = 3,84$ et p-value = $3,72.10^{-6} < 0,05$, indiquant que la viabilité cellulaire est diversement affectée par les différentes concentrations utilisées. Il existe également une variance significative au niveau de confiance de 95%, $F_{0.05}(4,2) = 26,49 > F_{crit} = 4,46$ et p-value = $2,96.10^{-4} < 0,05$, indiquant que la viabilité cellulaire est diversement affectée par la BkM, l'EF et du Miel.

Tableau 3 : ANOVA de la viabilité cellulaire de BkM, de l'EF et du Miel sur les HeLa

<i>RAPPORT</i>	<i>Nombre d'échantillons</i>	<i>Somme</i>	<i>Moyenne</i>	<i>Variance</i>
0,5	3	97,90	32,63	37,03
1	3	82,90	27,63	18,28
5	3	66,02	22,01	10,53
10	3	46,73	15,58	13,17
15	3	30,14	10,05	35,21
% Viabilité Cellulaire BkM	5	83,19	16,64	87,74
% Viabilité Cellulaire EF	5	114,06	22,81	63,95
% Viabilité Cellulaire Miel	5	126,44	25,29	101,85

Tableau 4 : ANOVA au niveau de confiance de 95% de la viabilité cellulaire de BkM, de l'EF et du Miel sur les HeLa

SV	SC	DL	MC	F	p-value	F-critique
Lignes (Concentrations)	984,18	4	246,04	65,68	$3,72.10^{-6}$	3,84
Colonnes (Traitements)	198,45	2	99,23	26,49	$2,96.10^{-4}$	4,46
Erreur	29,97	8	3,75			
Total	1212,60	14				

SV : Source des variations ; SC : Somme des carrés ; DL : Degré de liberté ; MC : Moyenne des carrés ; F : Moyenne des carrés / Moyenne de la somme des carrés Erreur.

Consécutivement à l'ANOVA, le test des étendues de Tukey aussi appelé méthode de Tukey-Kramer ou test DSH (différence significative honnête) de Tukey, a été réalisé sur les données de l'étude de l'activité antiproliférative de BkM, de EF et du Miel sur les cellules cancéreuses HeLa (Tableau V). Ce test a permis de montrer que les moyennes de la viabilité cellulaire des couples (BkM / Miel, BkM / EF et EF / Miel) sont statistiquement différentes.

Tableau 5 : Analyse post hoc des données de l'activité antiproliférative de BkM, de EF et du Miel sur les HeLa.

HeLa		Qu 3,261	
Méthode de Tukey-Kramer		Num DL	Den DL
		2	8
Différence		Plage	
Comparaisons	Absolue	Critique	Dif.Abs. – P.Crit Résultats

1	BkM to EF	30,870	2,823	28,047	MSD ^d
2	BkM to Miel	43,250	2,823	40,427	MSD
3	EF to Miel	12,380	2,823	9,557	MSD

Q_α : Valeur critique de l'intervalle du test de student ; Num DL : Degré de liberté du numérateur ; Den DL : degré de liberté du dénominateur ; MSD: moyenne significativement différente.

3.3. Activités antiprolifératives de BkM et EF sur les cellules HeLa et DU145.

Les Concentrations Inhibitrices médianes (CI₅₀) sur les cellules HeLa et Du145 calculées selon les formules reportées dans le Tableau 6, sont respectivement de 0,13 et 0,05 mg / mL pour le BkM et de 0,04 et 0,01 mg / mL pour la crème EF.

Tableau 6 : CI₅₀ de la crème BkM et EF sur les cellules HeLa et Du145

	BkM		EF	
	HeLa	Du145	HeLa	Du145
Y	a ln(x) +b	a ln(x) +b	a ln(x) +b	a ln(x) +b
IC₅₀	exp (50-b)/a	exp (50-b)/a	exp (50-b)/a	exp (50-b)/a
a	10,169	10,364	6,2189	6,1135
b	71,121	80,328	69,725	77,622
(50-b) / a	(2,08)	(2,93)	(3,17)	(4,52)
IC₅₀	0,13	0,05	0,04	0,01

Les données de l'activité antiproliférative de BkM et de EF réalisée sur les cellules cancéreuses HeLa et Du145 sont présentées dans la figure 2. Elles indiquent une diminution de la viabilité cellulaire en fonction de la concentration (mg / mL) de BkM, de 89,17% à 3,39 % des cellules HeLa et de 77,06 % à 0,13 % des cellules Du145 lorsque la concentration de BkM passe de 0,005 mg / mL à 15 mg / mL.

Elles indiquent également une diminution de la viabilité cellulaire en fonction de la concentration (mg / mL) de EF, de 64,62 % à 11,97 % des cellules HeLa et de 68,57 % à 10,97 % des cellules Du145 lorsque la concentration de EF passe de 0,005 mg / mL à 15 mg / mL.

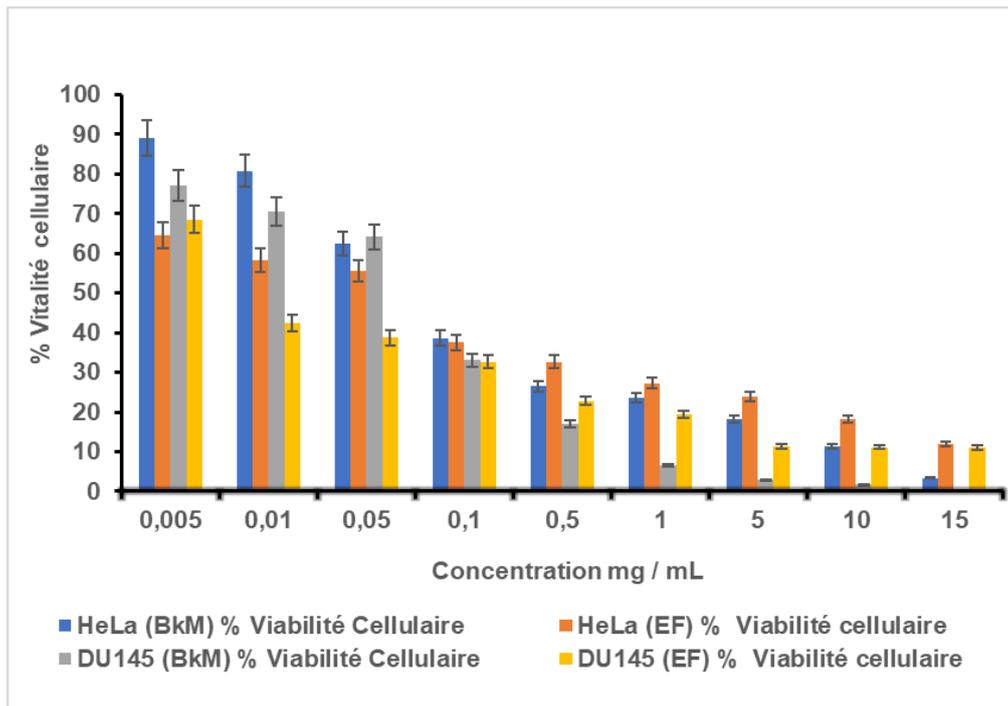


Figure 2 : Profils de l'activité antiproliférative de la crème BkM et EF sur les cellules HeLa et Du145 ($\sigma = \pm 5\%$ et $n = 3$).

4. Discussion

4.1. Activité antiproliférative de BkM, de EF et du Miel sur les cellules HeLa

En général, la CI_{50} (Concentration Inhibitrice médiane) indique quelle quantité d'une substance ([inhibiteur](#)) est nécessaire pour inhiber à moitié un processus biologique donné. Ainsi, les études précliniques (*in vitro*) sur la prolifération des cellules normales indiquent que plus la CI_{50} est élevée plus la substance investiguée est tolérée, autrement dit, moins la CI_{50} est élevée plus la substance investiguée est toxique [16,17].

Selon les résultats de notre étude, la CI_{50} de la prolifération cellulaire tumorale de BkM est significativement supérieure à celle de EF, 0,13 et 0,04 mg / mL respectivement (Tableaux I). Par conséquent, l'activité antiproliférative de l'EF semble supérieure à celle de la crème BkM. Toutefois, une analyse plus détaillée des profils de l'activité antiproliférative de la crème BkM et l'EF (Figure 2) permet de nuancer cette conclusion. En effet, les données reportées dans la figure 3 indiquent deux tendances différentes à partir de la concentration 0,1 mg / mL. La viabilité cellulaire (% VC) de BkM est supérieure à celle de l'EF dans l'intervalle [0,005 à 0,1] mg / mL mais dans [0,5 à 15] mg / mL c'est celle de l'EF qui est supérieure. Ainsi, on peut dire que dans la plage des fortes concentrations, l'activité antiproliférative des cellules cancéreuses de BkM est supérieure à celle de EF sur les cellules cancéreuses. Ce qui est un avantage pour les patients ayant des PC car dans la pratique thérapeutique, la quantité des crèmes appliquée en couche mince ou épaisse permet d'obtenir au niveau de la plaie de fortes concentrations de la préparation.

Par ailleurs, les résultats de notre étude présentés dans la figure 2, confirment d'une part l'activité antiproliférative de la crème EF qui contient 5% de la 5-Fluorouracil, un anticancéreux à application locale, bien connu sur le marché pharmaceutique[18] et celle du miel dans les pansements médicaux d'autre part[19,20]. Ainsi, l'activité antiproliférative de la crème BkM s'en trouve élucidée.

En plus, les résultats de l'Analyse de Variance (ANOVA) et de l'Analyse post hoc de Tukey-Kramer ont montré que la différence entre les activités antiprolifératives de BkM, de l'EF et du Miel est statistiquement significative (Tableaux 2 & 3). Ainsi, l'activité antiproliférative de la crème BkM sur les cellules cancéreuses se trouve confirmée. Les résultats de notre étude sont donc en adéquation avec les précédents travaux indiquant les propriétés antiprolifératives[7,8,11–15] et sélectivement cytotoxique contre les cellules cancéreuses du Miel[9].

En outre, cette étude nous a permis également de comparer l'activité antiproliférative sur les cellules cancéreuses HeLa de BkM, de EF et du Miel (figure 2). Ainsi, dans l'intervalle de concentration de [0,005 – 0,1] mg / mL, % VC de BkM > % VC de EF > % VC du Miel tandis que dans l'intervalle de concentration [0,5 - 15] mg / mL, % VC de BkM < % VC de EF < % VC du Miel.

Enfin, les résultats de notre étude ont montré que l'activité antiproliférative de la crème BkM est supérieure à celle du Miel dans l'intervalle de concentration de [0,5 - 15] mg / mL. Ce qui indique une éventuelle synergie de l'activité antiproliférative du miel et du beurre de karité dans la crème BkM. Ces résultats suggèrent donc, en plus des propriétés émulsionnante, adoucissante et cicatrisante du beurre de karité[21–24], une éventuelle activité antiproliférative où tout au moins un effet de potentialisation de l'activité antiproliférative du miel pur.

4.2. Activité antiproliférative du Miel et du Bk sur les cellules HeLa

Au regard des résultats de l'activité antiproliférative de BkM par rapport à celle de EF, il nous a semblé opportun d'établir les profils de l'activité antiproliférative des éléments constitutifs de BkM, à savoir celui du Miel et celui du Beurre de karité (Bk) pris singulièrement.

Ainsi, comme reporté dans la figure 1, l'étude de l'activité antiproliférative du Miel indique une diminution de la viabilité cellulaire en fonction de la concentration du miel, *i.e.*, 60,72 % de viabilité pour la concentration du Miel à 0,005 mg / mL et 14,78 % de viabilité pour la concentration du Miel à 15 mg / mL.

Une comparaison des profils de l'activité antiproliférative de BkM et du Miel, dans l'intervalle de concentration de [0,5 –15] mg / mL, indique une légère infériorité (~ 10% en moyenne) du profil de la viabilité cellulaire de BkM sur celui du Miel.

Par ailleurs, afin de mesurer l'effet du beurre de karité, une crème préparée dans les mêmes conditions que le BkM (tableau 1) a été utilisée. Cependant, l'activité antiproliférative de cette crème n'a pas pu être déterminée due probablement aux interférences des interactions du beurre de karité, tween®60 et span®60 sur la densité optique.

4.3. Activité antiproliférative de BkM et EF sur les cellules Du145

Les activités antiprolifératives de BkM et EF mesurées sur les cellules Du145 avaient pour objectif de démontrer l'activité antiproliférative de BkM sur d'autre type de cellules cancéreuses, notamment des cellules cancéreuses d'origine métastatique. Les résultats de cette étude indiquent des profils similaires de l'activité antiproliférative des crèmes BkM et EF sur les cellules HeLa et Du145. En effet, de cette étude, on relève, d'une part, à la concentration de 15 mg / mL de BkM, un pourcentage de viabilité cellulaire de 3,39 % et 0,13 % sur HeLa et Du145, respectivement. D'autre part, on note à la concentration de 15 mg / mL de EF, un pourcentage de viabilité cellulaire de 11,97 % sur les HeLa et 10,97 % sur les Du145. Par ailleurs, à la concentration de 0.005 mg / mL de BkM, un pourcentage de viabilité cellulaire de 89,13% sur les HeLa et 77,06 % sur les Du145 a été relevé. Tandis qu'à la concentration de 0.005 mg / mL de EF, un pourcentage de viabilité cellulaire de 64,62% sur les HeLa et 68,57 % sur les Du145 a été notifié.

5. Conclusion

Cette étude nous a permis de déterminer le profil de l'activité antiproliférative *in vitro* de la crème à base de beurre de karité et de miel (**BkM**). Les résultats *in vitro* obtenus indiquent une supériorité de l'activité antiproliférative de **BkM** par rapport à celle de la crème Efudix 5% (**EF**) et au miel (**M**). Au regard du potentiel activité antiproliférative démontrée par BkM, des études complémentaires *in vivo* sur modèle animal et cliniques appropriées devront être menées afin de garantir l'innocuité et l'efficacité de BkM.

Références

- [1] Ferlay J, Shin H-R, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer* 2010; 127: 2893–2917.
- [2] Sharma R. Global, regional, national burden of breast cancer in 185 countries: Evidence from GLOBOCAN 2018. *Breast Cancer Res Treat* 2021;187: 557–567.
- [3] Fromantin I, Alran S, Cassoux N. Histoire et soins des plaies tumorales liées au cancer du sein. *Soins* 2013 ; 720 : 12–15.
- [4] O'Brien C. Plaies cancéreuses : Prise en charge de l'odeur. *Can Fam Physician* 2012; 58 (3) : e141–e143.
- [5] Paul JC, Pieper BA. Topical metronidazole for the treatment of wound odor : a review of the literature. *Ostomy Wound Manage* 2008; 54 : 18–27.
- [6] Pieper B. Honey-based dressings and wound care: an option for care in the United States. *J Wound Ostomy Continence Nurs* 2009; 36 : 60–66.
- [7] Badolato M, Carullo G, Cione E, Aiello F, Caroleo MC. From the hive: Honey, a novel weapon against cancer. *Eur J Med Chem* 2017; 142 : 290–299.
- [8] Cianciosi D, Forbes-Hernández TY, Afrin S, Gasparrini M, Reboredo-Rodriguez P, Manna PP, et al. Phenolic compounds in honey and their associated health benefits : A review. *Molecules* 2018 ; 23 (9) : 2322.

- [9] Erejuwa OO, Sulaiman SA, Wahab MSA. Effects of honey and its mechanisms of action on the development and progression of cancer. *Molecules* 2014; 19: 2497–2522.
- [10] OAPI Online Search System n.d. <http://195.24.202.12:9092/wopublish-search/public/patents;jsessionid=76D54A6224F47A72A0C18386278CC298?0#> (Consulté le 16 décembre 2022).
- [11] Jaganathan SK, Mandal M. Antiproliferative effects of honey and of its polyphenols: a review. *J Biomed Biotechnol* 2009; 2009 : 1-13
- [12] Ahmed S, Othman NH. Honey as a potential natural anticancer agent: a review of its mechanisms. *Evid Based Complement Alternat Med* 2013; 20 (3) : 6
- [13] Elamine Y, Lyoussi B, Miguel MG, Anjos O, Estevinho L, Alaiz M, et al. Physicochemical characteristics and antiproliferative and antioxidant activities of Moroccan Zantaz honey rich in methyl syringate. *Food Chem* 2021; 339: 128098-128128
- [14] Samarghandian S, Afshari JT, Davoodi S. Honey induces apoptosis in renal cell carcinoma. *Pharmacogn Mag* 2011; 7 (25) : 46-52.
- [15] Hakim L, Alias E, Makpol S, Ngah WZW, Morad NA, Yusof YAM. Gelam honey and ginger potentiate the anticancer effect of 5-FU against HCT 116 colorectal cancer cells. *Asian Pac J Cancer Prev* 2014; 15: 4651–4657.
- [16] Gomis-Tena J, Brown BM, Cano J, Trenor B, Yang P-C, Saiz J, et al. When Does the IC50 Accurately Assess the Blocking Potency of a Drug? *J Chem Inf Model* 2020; 60 : 1779–1790.
- [17] Research C for DE and. Drug Development and Drug Interactions | Table of Substrates, Inhibitors and Inducers. FDA 2022.
- [18] Efudix 5 %, crème, tube de 20 g n.d. <https://sante.lefigaro.fr/medicaments/3218432-efudix-5-cr-tub-20g> (Consulté le 5 mars 2021).
- [19] Molan PC. The evidence supporting the use of honey as a wound dressing. *Int J Low Extrem Wounds* 2006; 5:40–54.
- [20] Pieper B. Honey-based dressings and wound care: an option for care in the United States. *J Wound Ostomy Continence Nurs* 2009; 36 : 60–66.
- [21] Noutchia F, Propriétés émulsionnantes du beurre de karité produit au Mali. Thèse PhD, Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB), 2022.
- [22] Amougou Marie G, E. Étude de l'effet hydratant du beurre de karité et de l'huile d'Ergan. Thèse de doctorat, Université de Rabat, Maroc; 2009.
- [23] Beylot G. Le soin des lèvres. *Actual Pharm* 2012; 51: 55–57.
- [24] Tran T. Le beurre de karité: propriétés biologiques et applications cosmétiques. *Parfums Cosmétiques Arômes* 1984: 65–66.