



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique

Université De Saida– Dr. Moulay Tahar

Faculté Des Sciences, Département De Biologie

Laboratoire De Biotoxicologie, Pharmacognosie Et Valorisation

Biologique Des Plantes

Thèse

Présentée pour obtenir le diplôme de

Doctorat 3^{ème} Cycle

Spécialité : Biochimie Et Toxicologie Expérimentale

Filière : Sciences biologiques

Présentée par : M^{elle} DIF Aicha

Intitulée

Effets protecteurs de l'*Anacyclus valentinus* sur la toxicité induite par les produits de la chimiothérapie : cas de Cisplatine.

Thèse soutenue le 30 / 11 / 2022 devant le jury composé de :

N°	Nom et prénom	Grade	Etablissement	Qualité
01	Slimani Miloud	Pr.	Université de Saida – Dr. Moulay Tahar	Président
02	Boufadi Yasmina Mokhtaria	Pr.	Université de Mostaganem	Rapporteur
03	Ammam Abd El Kader	MCA	Université de Saida – Dr. Moulay Tahar	Co-rapporteur
04	Kahloula Khaled	Pr.	Université de Saida – Dr. Moulay Tahar	Examineur
05	Meziani Samira	Pr.	Université de Sidi Bel Abbes	Examineur

Année Universitaire 2021-2022



Remerciements

Le travail présenté dans cette thèse a été réalisé en collaboration entre le Laboratoire Laboratoire de Biotoxicologie, Pharmacognosie et Valorisation Biologique des Plantes (LBPVBP). Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université Moulay Tahar (Saida, Algérie) et l'Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem, Algérie.

*Tout d'abord, Je voudrais exprimer ma sincère gratitude au Professeur **BOUFADI Yasmina Mokhtaria**, pour la confiance qu'elle a bien voulu m'accorder en acceptant de diriger cette recherche. Je la remercie pour sa grande disponibilité, sa patience, son soutien chaleureux et ses conseils avisés. Je tiens à lui exprimer ma profonde reconnaissance pour ses critiques constructives tout au long de cette thèse.*

*Mes vifs remerciements vont aussi à mon Co-encadrant de thèse, Dr. **AMMAM Abd El Kader**, Maître de Conférences classe "A" à l'Université de Saida, pour sa disponibilité, son aide, ses précieux conseils et pour son temps consacré tout au long de la période de cette thèse.*

*Tous mes remerciements au Pr. **SLIMANI Miloud**, Professeur à l'Université de Saida, d'avoir accepté de présider le jury de ma soutenance.*

*Mes remerciements s'adressent aussi aux Pr. **KAHLOULA Khaled**, Professeur à l'Université de Saida, et Pr. **MEZIANI Samira**, Professeur à l'Université de Sidi Bel Abbes, pour l'honneur qu'ils me font en prenant la charge de rapporteurs et en siégeant à ce jury.*

Enfin, merci à mes chers parents, à mon frère et mes chères amies qui ont été toujours là pour me soutenir, m'encourager et me guider.

DIF Aicha

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

A mes très chers parents

A ma chère maman

La personne qui m'a tout donné sans compter. Les mots me manquent pour qualifier tout l'amour que je porte pour toi. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner. Tes encouragements, ta confiance en moi, ta bénédiction et tes prières m'ont été d'un grand soutien pour mener à bien mes études, Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Que dieu te préserve, t'accorde santé, bonheur, quiétude d'esprit et longue vie.

A mon cher père

Je te serai cher père reconnaissante toute ma vie, pour tout le mal que tu t'es donné pour moi à chaque étape de ma vie, pour ta patience et ton amour. J'espère être la femme et la fille que tu as voulu que je sois, et je m'efforcerai d'être digne de ce que tu aurais souhaité que je sois.

A mon cher frère Mohamed

Je te dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.

A mon grand père et ma grande mère maternelle

Ces quelques lignes ne sauraient exprimer toute l'affection et tout l'amour que je vous dois. Que dieu vous préserve et vous accorde santé et prospérité.

A la mémoire de mon grand père, ma grande mère paternelle et mon oncle Benahmed

J'aurais tant aimé que vous soyez présents. Que Dieu ait vos âmes.

A mes chers oncles et mes chères tantes

Vous m'avez toujours marqué beaucoup de considération et d'affection.

A tous mes chers cousines et cousins

En souvenir de notre enfance, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de joie et de santé

A mes chères amies

Spécialement Hafsa, Hayat, Asma et Khadhra.

Vous êtes plus que des amies, vous êtes une famille. Je vous aime et je vous dédie ce modeste travail.

A tous ceux que j'aime, ceux qui sont encore là et tous ceux qui n'y sont plus. Ceux surtout qui ont cru à ce travail et m'ont donné la chance et les moyens de le réaliser.

Aicha

Résumé

L'objectif de ce travail est d'évaluer l'effet thérapeutique de l'extrait éthanolique d'*Anacyclus valentinus* (EEA) sur des rats Wistar mâles adultes exposés aux trois doses de 7 mg/ Kg de cisplatine (CP). 24 rats Wistar mâles adultes ont été utilisés et ils ont été répartis en quatre groupes; le premier groupe était le groupe témoin, le deuxième groupe était exposé au CP (trois doses de 7 mg / kg pendant 6 jours; par injection intraveineuse), le troisième groupe a reçu quotidiennement l'EEA (200 mg/kg/j pendant 28 jours; par voie orale) et le quatrième groupe a été exposé au CP et traité avec l'EEA en même temps.

L'analyse HPLC de l'EEA montre que l'EEA contient 20 composés, il est riche en quercétine, l'acide férulique, la quercétine bis méthylée et l'acide caféique. Le test DPPH constate que l'EEA est capable à piéger les radicaux libres.

Les résultats de cette étude montrent qu'au cours du test de la nage forcée, le temps d'immobilité (TIM) est significativement ($p < 0,05$) supérieur chez les rats intoxiqués par le CP par rapport à celui des rats témoins. Tandis que les rats du groupe CP-EEA montrent une diminution significative du TIM en comparaison avec le groupe CP. L'analyse statistique concernant le test d'anxiété clair/obscur, montrent que les rats exposés au CP ont un temps passé dans le compartiment obscur significativement plus important que les témoins. L'injection intraveineuse de cisplatine provoque une diminution significative ($p < 0,05$) du nombre de carreaux traversés et au nombre de redressement durant le test d'Open Field chez les rats CP comparés aux témoins. En revanche, les rats qui ont reçu le CP+EEA montrent une amélioration du nombre de carreaux traversés et du nombre de redressement.

Le taux de γ -GT, PAL, ASAT, ALAT, glycémie, urée et créatinine ont été significativement augmentés chez les rats intoxiqués (G2). Ce taux a été inversé chez le groupe CP+EEA. En outre, le CP a provoqué une diminution significative de l'activité des enzymes antioxydantes hépatiques, rénales et érythrocytaires et de thiols érythrocytaires avec une augmentation du taux de MDA et NO hépatiques, rénales et érythrocytaire. Par ailleurs, l'administration d'EEA aux rats du groupe CP a restauré l'activité altérée du système antioxydant avec une diminution du MDA et le NO. Une augmentation significative des marqueurs d'inflammation (TNF- α et PGE2) a été observée chez les animaux intoxiqués avec le CP ; tandis que l'effet était atténué

par l'EEA. Le cisplatine provoque aussi des lésions tissulaires et des nécroses au niveau du foie, reins, cerveau et cervelet.

En conclusion, le cisplatine induit la dépression du système nerveux, la réduction d'activité locomotrice et l'anxiété, l'hépatotoxicité, la néphrotoxicité, l'hématotoxicité et la neurotoxicité. Tandis que, L'EEA peut corriger les effets toxiques induits par le CP.

Mots clés : *Anacyclus valentinus*, HPLC/UV, cisplatine, toxicité, tests neurocomportementaux, homéostasie, statut antioxydant, les marqueurs de l'inflammation.

Abstract

The objective of this work is to evaluate the therapeutic effect of ethanolic extract of *Anacyclus valentinus* (EEA) on adult male Wistar rats exposed to three doses of 7 mg/kg of cisplatin (CP). 24 adult male Wistar rats were used and they were divided into four groups; the first group was the control group, the second group was exposed to CP (three doses of 7 mg/kg for 6 days; by intravenous injection), the third group received daily EEA (200 mg/kg/d for 28 days; orally) and the fourth group was exposed to CP and treated with EEA simultaneously.

HPLC analysis of EEA shows that EEA contains 20 compounds, it is rich in quercetin, ferulic acid, bis-methylated quercetin and caffeic acid. The DPPH test finds that EEA is able to scavenge free radicals.

The results of this study show that during the forced swimming test, the time of immobility (TIM) is significantly ($p < 0.05$) higher in CP intoxicated rats compared to control rats. While the rats in the CP-EEA group show a significant decrease in TIM compared to the CP group. Statistical analysis of the light/dark anxiety test shows that rats exposed to CP have a significantly longer time spent in the dark compartment than controls. Intravenous injection of cisplatin causes a significant decrease ($p < 0.05$) in the number of tiles crossed and the number of straightenings during the Open Field test in CP rats compared to controls. In contrast, rats that received CP+EEA show an improvement in the number of crossed tiles and the number of rightings.

The level of γ -GT, PAL, ASAT, ALAT, blood glucose, urea and creatinine were significantly increased in intoxicated rats (G2). This rate was reversed in the CP+EEA group. In addition, CP caused a significant decrease in the activity of hepatic, renal and erythrocyte antioxidant enzymes and erythrocyte thiols with an increase in hepatic, renal and erythrocyte MDA and NO. On the other hand, the administration of EEA to rats of the CP group restored the impaired activity of the antioxidant system with a decrease in MDA and NO. A significant increase in inflammatory markers (TNF- α and PGE2) was observed in animals intoxicated with CP; whereas the effect was attenuated by EEA. Cisplatin also causes tissue damage and necrosis in the liver, kidneys, brain and cerebellum.

In conclusion, cisplatin induces nervous system depression, reduced locomotor activity and anxiety, hepatotoxicity, nephrotoxicity, hematotoxicity and neurotoxicity. While, EEA can correct the toxic effects induced by CP.

Keywords : *Anacyclus valentinus*, HPLC/UV, cisplatin, toxicity, neurobehavioral tests, homeostasis, antioxidant status, markers of inflammation.

الملخص

الهدف من هذا العمل هو تقييم التأثير العلاجي لمستخلص الإيثانوليك من *Anacyclus valentinus* (EEA) على ذكور الفئران البالغة Wistar المعرضة للجرعات الثلاث 7 مغ/كغ من السيسبلاتين (CP). تم استخدام 24 من ذكور الفئران Wistar البالغة وتم تقسيمها إلى أربع مجموعات. كانت المجموعة الأولى هي المجموعة الشاهدة، وتعرضت المجموعة الثانية للـ CP (ثلاث جرعات من 7 مغ/كغ خلال 6 أيام؛ عن طريق الحقن الوريدي)، وتلقت المجموعة الثالثة الـ EEA يوميا (200 مغ/كغ/يوم لمدة 28 يوما؛ عن طريق الفم)، والمجموعة الرابعة تعرضت للـ CP وعولجت بالـ EEA في نفس الوقت.

يظهر تحليل HPLC للـ EEA أن الـ EEA تحتوي على 20 مركبا، وهي غنية بالكيرسيتين وحمض الفيروليك و الكيرسيتين مكرر ميثيل وحمض الكافيين. وجد اختبار DPPH أن الـ EEA قادرة على التخلص من الجذور الحرة.

تظهر نتائج هذه الدراسة أنه خلال اختبار السباحة القسرية، يكون وقت عدم الحركة (TIM) أعلى بكثير ($p < 0.05$) في الفئران المعرضة للـ CP مقارنة بالفئران الشاهدة. في حين تظهر الفئران في مجموعة CP-EEA انخفاضا كبيرا في TIM مقارنة بمجموعة CP. يظهر التحليل الإحصائي لاختبار القلق ضوء/ظلام أن الفئران المعرضة للـ CP لديها وقت أطول بكثير تقضيه في المقصورة المظلمة من الفئران الشاهدة. الحقن الوريدي للسيسبلاتين يسبب انخفاضا كبيرا ($p < 0.05$) في عدد المربعات الذي تم عبورها وعدد الاستقامات أثناء اختبار Open Field في فئران CP مقارنة بالشهود. في المقابل، أظهرت الفئران التي تلقت CP + EEA تحسنا في عدد المربعات الذي تم عبورها وعدد عمليات الاستقامة.

تم زيادة مستوى γ -GT و PAL و ASAT و ALAT والجلوكوز في الدم واليوريا والكرياتينين بشكل كبير في الفئران المسممة (G2). تم عكس هذا المعدل في مجموعة CP + EEA. بالإضافة إلى ذلك، تسبب CP في انخفاض كبير في نشاط الإنزيمات المضادة للأكسدة الكبدية والكلى وكريات الدم الحمراء وثيولات كريات الدم الحمراء مع زيادة في مستوى MDA و NO. وبالإضافة إلى ذلك، أدى إعطاء الـ EEA للفئران في مجموعة CP إلى استعادة نشاط نظام مضادات الأكسدة الضعيف مع انخفاض في MDA و NO. لوحظت زيادة كبيرة في علامات الالتهاب ($\text{TNF-}\alpha$ و PGE2) في الحيوانات المسممة بالـ CP. في حين تم تخفيف التأثير من قبل الـ EEA. سيسبلاتين يسبب أيضا تلف الأنسجة ونخر الكبد، الكلتيين، المخ والمخيخ.

في الختام، يسبب السيسبلاتين اكتئاب الجهاز العصبي، والحد من النشاط الحركي والقلق، والسمية الكبدية، والسمية الكلوية، والسمية الدموية والسمية العصبية. بينما يمكن للـ EEA تصحيح الآثار السامة الناجمة عن الـ CP.

الكلمات المفتاحية: *Anacyclus valentinus*، HPLC / UV، سيسبلاتين، السمية، اختبارات السلوك العصبي، التوازن، حالة مضادات الأكسدة، علامات الالتهاب.

Liste des communications

- **Aicha Dif**, Yasmina Mokhtaria Boufadi, & Abd el kader Ammam (2021). Les polyphénols d'*Anacyclus valentinus* ; leurs impacts sur l'hépatotoxicité induite par le cisplatine chez les rats Wistar. Premier Congrès du laboratoire toxicomed-équipe Mé Tox. 06 Juin 2021, Tlemcen, Algérie.
- **Aicha Dif**, Yasmina Mokhtaria Boufadi, & Abd el kader Ammam (2021). Les polyphénols d'*Anacyclus valentinus* ; leurs effets sur l'anxiété, la dépression et l'hypoactivité locomotrice induite par le cisplatine chez les rats Wistar. 2^{ème} Séminaire national des sciences d'Interfaces Chimie-Biologie. 20 Février 2021, Souk Ahras, Algérie.
- **Aicha Dif**, Yasmina Mokhtaria Boufadi, & Abd el kader Ammam (2020). Rôle des polyphénols d'*Anacyclus valentinus* sur la correction et la protection de la néphrotoxicité induite par le cisplatine chez les rats Wistar. 1st International Symposium 'Environment & Sustainable Development'. 10-11 Février 2020, Relizane, Algérie.
- **Aicha Dif**, Faiza Moulay Hacen, Yasmina Mokhtaria Boufadi, Abd el kader Ammam, Djallel Edine Houari Adli, Khaled Kahloula & Miloud Slimani (2018). Contribution à l'étude des effets antipyrétiques et analgésiques des Huiles essentielle d'*Ammodicus leucotricus*. Journée d'étude : les plantes au service de l'homme. 26 Avril 2018, Saida, Algérie.
- Abd el kader Ammam, Ahmed Reda Belmamoun, Karima Grele & **Aicha Dif** (2017). Contribution to the study of biological activities (analgesic, antipyretic) of aqueous extract of *Stipa tenacissima* in Wistar rats. The International Conference on 'Biotechnology : Perspectives beyond 2020'. 18-19 Décembre 2017, Béni Mellal-Khénifra, Maroc.

Liste des abréviations

- ADN** : Acide Désoxyribonucléique.
- ALAT** : Alanine Aminotransférase.
- AlCl₃** : trichlorure d'aluminium.
- ANOVA** : Analysis Of Variance.
- ARN** : Acide Ribonucléique.
- ASAT** : Aspartate Aminotransférase.
- BSA** : Bovine Serum Albumin.
- CAT** : Catalase.
- CE₅₀** : Concentration Efficace médiane.
- CO₂** : Dioxyde de carbone.
- CP** : Cisplatine.
- dL** : décilitre.
- DPPH** : 2,2, diphényl-1-picrylhydrazyle.
- EAG** : équivalent d'acide gallique.
- EEA** : Extrait éthanoliques d'*Anacyclus valentinus*.
- EDTA** : Acide Ethylène-Diamine-Tétra-Acétique.
- ELISA** : Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay.
- EQ** : équivalent de quercétine.
- ERN** : Espèces réactives de l'azote.
- ERO** : Espèces réactives de l'oxygène.
- FST** : Forced Swimming Test.
- kg** : kilogramme.
- GLDH** : Glutamate déshydrogénase.
- GOT** : Glutamate-Oxaloacétate Transaminase.
- GPT** : Glutamate-Pyruvate Transaminase.
- GR** : Glutathion Réductase.

GSH : Glutathion réduit.

GSH-Px : Glutathion Peroxydase.

HCl : Chlorure d'hydrogène.

HPLC : Chromatographie en phase liquide à haute performance.

H₂O₂ : peroxyde d'hydrogène.

H₂O : molécule d'eau.

H₂SO₄ : Acide sulfurique.

iv : injection intraveineuse.

L : litre.

LDH : lactate déshydrogénase.

MDA : Malondialdéhyde.

MDH : Malate Déshydrogénase.

mg : milligramme.

min : minute.

ml : millilitre.

mM : millimolaire.

mmol : millimole.

NAD : Nicotinamide Adénine Dinucléotide.

NADH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide réduit.

NADPH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate.

NH₃ : ammoniac.

NFS : Numération de formule sanguine.

nm : nanomètre.

nmol : nanomole.

ng : nanogramme.

NO : monoxyde d'azote.

O₂ : dioxygène.

O₂⁻ : anion superoxyde.

PAL: Phosphatase Alcaline.

Pc : Purkinje Cells.

pH : potentiel d'hydrogène.

PBS : Phosphate Buffered Saline.

PGE2 : Prostaglandine E2.

P/V : poids / volume.

RSA : Radical Scavenging Activity.

rpm : rotation par minute.

Sec : seconde.

S.E.M : erreur standard a la moyenne.

SH : sulfhydryle.

SNC : Système Nerveux Central.

SOD : Superoxyde Dismutase.

TBA : Acide Thiobarbiturique.

TIM : Temps d'immobilité.

TiOSO₄ : Titanium Oxide Sulfate.

TCA : Acide trichloroacétique.

TMP : Tétraméthoxypropane.

TNF- α : Tumor Necrosis Factor.

tr/min : tour /minute.

U/cg : Unité/ centigramme.

U/g : Unité/ gramme.

U/mg : Unité/ milligramme.

UI/L : Unité Internationale/ litre.

μ L : microlitre.

μ m : micromètre.

μmol : micromole.

UV : ultraviolet.

V/V: volume / volume.

γ -GT : gamma glutamyl-transférase.

Liste des tableaux et figures

Partie bibliographique

Liste des tableaux

		Page
Tab. 1	Les propriétés physicochimiques de cisplatine (scholar, 2007 ; Rancoule et al., 2017).	9
Tab. 2	La classification d' <i>Anacyclus valentinus</i> (Usmani et al., 2016 ; Amrouche et al., 2019).	26

Liste des figures

Fig. 1	Structure de cisplatine (Chatelut, 2011).	8
Fig. 2	Activation du cisplatine et induction des dommages à l'ADN (Rocha et al., 2018).	10
Fig. 3	Schéma montrant le stress oxydant, qui est un état de déséquilibre entre le système de défense par les antioxydants et la surproduction des radicaux libres. ERO : espèces réactives de l'oxygène ; ERN : espèces réactives de l'azote (Belaïch et Boujraf, 2016).	15
Fig. 4	Les espèces d' <i>Anacyclus</i> . A , <i>Anacyclus clavatus</i> . B , <i>Anacyclus valentinus</i> . C , <i>Anacyclus pyrethrum</i> . D , <i>Anacyclus radiatus</i> . E , <i>Anacyclus cyrtolepodioide</i> . (Agudo et al., 2019 ; Yousef et al., 2021)	24
Fig. 5	La fleur d' <i>Anacyclus valentinus</i> (Torices et al., 2013).	27

Partie expérimentale

Liste des tableaux

		Page
Tab. 3	Composition d'extrait éthanolique d' <i>Anacyclus valentinus</i> (EEA) par HPLC/UV (mg/ g).	46
Tab. 4	Quantité de polyphénols (mgEAG/g) et flavonoïdes (mgEQ/g) de l'extrait éthanolique d' <i>Anacyclus valentinus</i> .	48

Tab. 5	La comparaison des différents paramètres du Test d'open Field chez les groupes G1 (témoins), G2 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours)), G3 (200 mg/kg d'EEA (28 jours)) et G4 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) et 200 mg/kg d'EEA (28 jours)). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (***) : $p<0.001$; ** : $p<0.01$; * : $p<0.05$)	52
Tab. 6	Evaluation des paramètres de NFS chez les rats de G1 (témoins), G2 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours)), G3 (200 mg/kg d'EEA (28 jours)) et G4 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) et 200 mg/kg d'EEA (28 jours)). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (* : $p<0.05$)	75

Liste des figures

Fig. 6	Les parties aériennes d'Anacyclus de valence avant et après le broyage.	28
Fig. 7	Cisplatine.	31
Fig. 8	L'épreuve de la nage forcée.	33
Fig. 9	L'épreuve du compartiment Clair / Obscur.	34
Fig. 10	L'épreuve d'Open Field.	35
Fig. 11	Chromatogrammes par analyse HPLC/UV d'extrait éthanolique d' <i>Anacyclus valentinus</i> à une longueur d'onde de 270 et 320 nm.	47
Fig. 12	Pouvoir anti-radicalaire (RSA%) des différentes concentrations d'extrait éthanolique d' <i>Anacyclus valentinus</i> (0,5, 1, 5, 10 μ g/mL). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (n=3).	48
Fig. 13	Le temps d'immobilité durant le test de la nage forcée chez les groupes G1 (témoins), G2 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours)), G3 (200 mg/kg d'EEA (28 jours)) et G4 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) et 200 mg/kg d'EEA (28 jours)). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (* : $p<0.05$; *** : $p<0.001$)	50
Fig. 14	Comparaison entre le temps de séjour passé dans les compartiments obscur/ clair chez les lots G1 (témoins), G2 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours)), G3 (200 mg/kg d'EEA (28 jours)) et G4 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) et 200 mg/kg d'EEA (28 jours)). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (* : $p<0.05$)	51
Fig. 15	Examen microscopique du tissu de cerveau chez les rats de groupe G1 (a), G2 (b), G3 (c) et G4 (d). G1 : témoins ; G2 : trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) ; G3 : 200 mg/kg/j d'EEA (28 jours) ; G4 : trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) et 200 mg/kg/j d'EEA (28 jours) en même temps.	53
Fig. 16	Examen microscopique du tissu de cervelet chez les rats de groupe G1 (a), G2 (b), G3 (c) et G4 (d). G1 : témoins ; G2 : trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) ; G3 : 200 mg/kg/j d'EEA (28 jours) ; G4 : trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) et 200 mg/kg/j	54

d'EEA (28 jours) en même temps.

- Fig. 17** Le taux d'aspartate aminotransférase (ASAT) sanguin chez les rats du groupe G1 (témoins), G2 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours)), G3 (200 mg/kg d'EEA (28 jours)) et G4 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) et 200 mg/kg d'EEA (28 jours)). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (** : $p < 0.01$) **57**
- Fig. 18** Le taux d'alanine aminotransférase (ALAT) sanguin chez les rats G1 (témoins), G2 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours)), G3 (200 mg/kg d'EEA (28 jours)) et G4 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) et 200 mg/kg d'EEA (28 jours)). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (* : $p < 0.05$) **58**
- Fig. 19** Le taux de phosphatase alcaline (PAL) chez les rats du groupe G1 (témoins), G2 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours)), G3 (200 mg/kg d'EEA (28 jours)) et G4 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) et 200 mg/kg d'EEA (28 jours)). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (***) : $p < 0.001$). **59**
- Fig. 20** Le taux de gamma glutamyl transférase (γ -GT) chez les rats du groupe G1 (témoins), G2 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours)), G3 (200 mg/kg d'EEA (28 jours)) et G4 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) et 200 mg/kg d'EEA (28 jours)). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (***) : $p < 0.001$). **60**
- Fig. 21** Le taux de glycémie chez les rats du groupe G1 (témoins), G2 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours)), G3 (200 mg/kg d'EEA (28 jours)) et G4 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) et 200 mg/kg d'EEA (28 jours)). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (* : $p < 0.05$) **60**
- Fig. 22** Le taux de malondialdéhyde (MDA) hépatique chez les rats groupe G1 (témoins), G2 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours)), G3 (200 mg/kg d'EEA (28 jours)) et G4 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) et 200 mg/kg d'EEA (28 jours)). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (***) : $p < 0.001$) **61**
- Fig. 23** Le taux de monoxyde d'azote (NO) hépatique chez les rats du groupe G1 (témoins), G2 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours)), G3 (200 mg/kg d'EEA (28 jours)) et G4 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) et 200 mg/kg d'EEA (28 jours)). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (***) : $p < 0.001$; ** : $p < 0.01$) **62**
- Fig. 24** Le taux des antioxydants enzymatiques (SOD, CAT, GSH-Px) au niveau du foie chez les rats du groupe G1 (témoins), G2 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours)), G3 (200 mg/kg d'EEA (28 jours)) et G4 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) et 200 mg/kg d'EEA (28 jours)). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (***) : $p < 0.001$) **63**
- Fig. 25** Examen microscopique du tissu hépatique chez les rats de groupe G1 (a), G2 (b), G3 (c) et G4 (d). G1 : témoins ; G2 : trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) ; G3 : 200 mg/kg/j d'EEA (28 jours) ; G4 : trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) et 200 mg/kg/j d'EEA (28 jours) en même temps. **64**
- Fig. 26** Le taux d'urée chez les rats du groupe G1 (témoins), G2 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours)), G3 (200 mg/kg d'EEA (28 jours)) et G4 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) et 200 mg/kg d'EEA (28 jours)). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (***) : $p < 0.001$) **68**

- Fig. 27** Le taux de la créatinine chez les rats du groupe G1 (témoins), G2 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours)), G3 (200 mg/kg d'EEA (28 jours)) et G4 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) et 200 mg/kg d'EEA (28 jours)). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (***) : $p < 0.001$) **69**
- Fig. 28** Le taux de malondialdéhyde (MDA) au niveau rénal chez les rats du groupe G1 (témoins), G2 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours)), G3 (200 mg/kg d'EEA (28 jours)) et G4 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) et 200 mg/kg d'EEA (28 jours)). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (***) : $p < 0.001$) **70**
- Fig. 29** Le taux de monoxyde d'azote (NO) au niveau rénal chez les rats du groupe G1 (témoins), G2 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours)), G3 (200 mg/kg d'EEA (28 jours)) et G4 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) et 200 mg/kg d'EEA (28 jours)). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (***) : $p < 0.001$) **70**
- Fig. 30** Le taux des enzymes antioxydantes (SOD, CAT, GSH-Px) au niveau des reins chez les rats du groupe G1 (témoins), G2 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours)), G3 (200 mg/kg d'EEA (28 jours)) et G4 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) et 200 mg/kg d'EEA (28 jours)). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (***) : $p < 0.001$; ** : $p < 0.01$) **71**
- Fig. 31** Examen microscopique du tissu rénal chez les rats de groupe G1 (a), G2 (b), G3 (c) et G4 (d). G1 : témoins ; G2 : trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) ; G3 : 200 mg/kg/j d'EEA (28 jours) ; G4 : trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) et 200 mg/kg/j d'EEA (28 jours) en même temps. **73**
- Fig. 32** Le taux de cortisol dans le sang chez les rats du groupe G1 (témoins), G2 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours)), G3 (200 mg/kg d'EEA (28 jours)) et G4 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) et 200 mg/kg d'EEA (28 jours)). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. ($p > 0.05$) **76**
- Fig. 33** Le taux des enzymes antioxydantes érythrocytaires (SOD, CAT et GSH-Px) chez les rats du groupe G1 (témoins), G2 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours)), G3 (200 mg/kg d'EEA (28 jours)) et G4 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) et 200 mg/kg d'EEA (28 jours)). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (***) : $p < 0.001$; * : $p < 0.05$) **77**
- Fig. 34** La teneur en malondialdéhyde (MDA) au niveau érythrocytaire chez les rats du groupe G1 (témoins), G2 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours)), G3 (200 mg/kg d'EEA (28 jours)) et G4 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) et 200 mg/kg d'EEA (28 jours)). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (***) : $p < 0.001$) **78**
- Fig. 35** Le taux des thiols érythrocytaires chez les rats du groupe G1 (témoins), G2 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours)), G3 (200 mg/kg d'EEA (28 jours)) et G4 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) et 200 mg/kg d'EEA (28 jours)). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (***) : $p < 0.001$; ** : $p < 0.01$) **78**
- Fig. 36** Le taux de prostaglandine E2 (PGE₂) chez les rats du groupe G1 (témoins), G2 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours)), G3 (200 mg/kg d'EEA (28 jours)) et G4 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) et 200 mg/kg d'EEA (28 jours)). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (***) : $p < 0.001$; ** : $p < 0.01$) **80**

Fig. 37 Le taux de facteur de nécrose tumorale (TNF- α) chez les rats du groupe G1 (témoins), G2 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours)), G3 (200 mg/kg d'EEA (28 jours)) et G4 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) et 200 mg/kg d'EEA (28 jours)). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (***) : $p < 0.001$ **81**

Table des matières

« Effets protecteurs de l'*Anacyclus valentinus* sur la toxicité induite par les produits de la chimiothérapie : cas de Cisplatine »

Remerciements

Dédicace

Résumé

Abstract

المخلص

Liste des communications

Liste des abréviations

Liste des tableaux et figures

Table des matières

Partie bibliographique

	page
Introduction	01
Chapitre I : Généralités sur le cisplatine et l'<i>Anacyclus valentinus</i>	03
I. La chimiothérapie	03
I.1. Histoire de la chimiothérapie	03
I.2. Définition	04
I.3. Mode d'action	05
I.4. Pharmacocinétique des agents chimiothérapeutiques	05
I.5. Classification biochimique des médicaments de chimiothérapie	05
I.5.1. Agents alkylants	06
I.5.2. Antibiotiques antitumoraux	06

I.5.3. inhibiteurs de la topoisomérase	06
I.5.4. Antimétabolites	07
I.5.5. Agents de liaison à la tubuline	07
I.6. Effet toxique	07
I.7. Cisplatine	08
I.7.1. Définition	08
I.7.2. Histoire de cisplatine	08
I.7.3. Les propriétés physicochimiques	09
I.7.4. Mode d'action	09
I.7.5. La pharmacocinétique	11
I.7.6. La toxico-cinétique	11
I.7.7. Effet toxique	12
I.7.7.1. Effet hépatotoxique	12
I.7.7.2. Effet néphrotoxique	12
I.7.7.3. Effet cardiotoxique	12
I.7.7.4. Effet neurotoxique	13
I.7.7.5. Autre effet toxique	13
II. Stress oxydatif	14
II.1. Définition	14
II.2. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO)	15
II.2.1. Définition	15
II.2.2. Propriété des espèces réactives de l'oxygène (ERO)	16
II.2.3. Sources des espèces réactives de l'oxygène (ERO)	16

II.2.3.1. Sources endogènes	16
II.2.3.2. Sources exogènes	16
II.2.4. Production des espèces réactives de l'oxygène (ERO)	17
II.2.4.1. L'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$)	17
II.2.4.2. Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)	17
II.2.4.3. Le radical hydroxyle (OH^{\cdot})	18
II.2.4.4. L'oxygène singulet (1O_2)	18
II.3. Le système de défense antioxydant	19
II.3.1. Les antioxydants endogènes	19
II.3.1.1. Les antioxydants endogènes enzymatiques	19
II.3.1.1.1. Superoxyde dismutase (SOD)	19
II.3.1.1.2. Catalase (CAT)	20
II.3.1.1.3. Glutathion peroxydase (GSH-Px)	20
II.3.1.2. Les antioxydants endogènes non enzymatiques	20
II.3.1.2.1. Ubiquinone	21
II.3.1.2.2. Acide urique	21
II.3.1.2.3. Les thiols	21
II.3.2. Les antioxydants exogènes	21
II.3.2.1. Vitamine C (acide ascorbique)	22
II.3.2.2. Les composés phénoliques	22
II.3.2.3. Les caroténoïdes	22
II.4. L'effet du stress oxydatif	23
II.4.1. Effets du stress oxydatif sur l'ADN	23

II.4.2. Effets du stress oxydatif sur les lipides	23
II.4.3. Effets du stress oxydatif sur les protéines	23
III. Le genre <i>Anacyclus</i>	24
III.1. Composition chimique	24
III.2. L'intérêt d' <i>Anacyclus</i>	25
III.3. <i>Anacyclus valentinus</i>	26
III.3.1. La systématique	26
III.3.2. Nomenclature	26
III.3.2.1. Noms vernaculaires	26
III.3.2.2. Synonymes botaniques	26
III.3.3. Localisation géographique	26
III.3.4. Description botanique	27
III.3.5. Composition chimique	27
III.3.6. Propriétés pharmacologiques	27

Partie expérimentale

Chapitre II : Matériel et méthodes	28
II.1. Matériel végétal	28
II.1.1. Préparation d'extrait éthanolique d' <i>Anacyclus valentinus</i>	28
II.1.2. Calcul du rendement d'EEA	29
II.1.3. Détermination de la composition chimique d'EEA par HPLC/UV	29
II.1.4. Détermination des polyphénols	30
II.1.5. Détermination des flavonoïdes	30
II.1.6. Evaluation de l'activité antioxydante par réduction de DPPH*	30

II.2. Animaux d'expérimentation	31
II.2.1. Protocole d'intoxication	31
II.2.2. Protocole de la thérapie	32
II.2.3. Répartition des groupes	32
II.3. Tests neurocomportementaux	32
II.3.1. Test de la nage forcée (FST)	33
II.3.2. Le test d'anxiété Clair / Obscur (Light / Dark Test)	33
II.3.3. Open Field	34
II.4. Sacrifice des rats	35
II.4.1. Préparation de la matrice mitochondriale	36
II.4.2. Préparation de l'homogénat tissulaire du foie	36
II.4.3. Préparation de liquide péritonéale	36
II.5. Dosage des paramètres biochimiques	36
II.5.1. Aspartate aminotransférase (ASAT)	36
II.5.2. Alanine aminotransférase (ALAT)	37
II.5.3. Phosphatase alcaline (PAL)	37
II.5.4. Gamma glutamyl transférase (γ -GT)	38
II.5.5. Glycémie	38
II.5.6. Urée	38
II.5.7. Créatinine	39
II.5.8. Cortisolémie	39
II.5.9. Numération de formule sanguine (NFS)	39
II.6. Marqueurs d'inflammation	39

II.6.1. Dosage de la prostaglandine E2	39
II.6.2. Dosage du facteur de nécrose tumorale (TNF- α)	40
II.7. Dosage des paramètres du stress oxydatif	40
II.7.1. Dosage du malondialdéhyde (MDA)	40
II.7.2. Dosage du superoxyde dismutase (SOD)	41
II.7.3. Dosage du catalase (CAT)	41
II.7.4. Dosage du glutathion peroxydase (GSH-Px)	42
II.7.5. Dosage du monoxyde d'azote (NO)	42
II.7.6. Dosage des thiols	42
II.8. Histologie	43
II.9. Analyses statistiques	44
Chapitre III : Résultats et discussions	45
Partie I : Composition chimique et activité antioxydante d'extrait éthanolique d' <i>Anacyclus valentinus</i>	45
I.1. Résultats	45
I.1.1. Rendement d'extraction et les caractères organoleptiques d'EEA	45
I.1.2. Détermination de la composition chimique d'extrait éthanolique d' <i>Anacyclus valentinus</i> par HPLC	45
I.1.3. Dosage des polyphénols et flavonoïdes d'extrait éthanolique d' <i>Anacyclus valentinus</i>	47
I.1.4. L'activité antioxydante d'EEA : Piégeage du radical DPPH•	48
I.2. Discussion	48
Partie II : Effet de l'EEA sur la neurotoxicité induite par le cisplatine	50
II.1. Résultats	50
II.1.1. Les tests neurocomportementaux	50

II.1.1.1. Test de la nage forcée : type dépressif	50
II.1.1.2. Le test du compartiment Obscurité/ Lumière (Light/ Dark Test)	50
II.1.1.3. Evaluation d'un comportement d'exploration : test d'Open Field	51
II.1.2. Histologie de cerveau et cervelet	52
II.2. Discussion	55
Partie III : effet de l'EEA sur l'hépatotoxicité induite par le cisplatine	57
III.1. Résultats	57
III.1.1. Les paramètres biochimiques	57
III.1.1.1. Aspartate aminotransférase (ASAT)	57
III.1.1.2. Alanine aminotransférase (ALAT)	58
III.1.1.3. Phosphatase alcaline (PAL)	58
III.1.1.4. Gamma glutamyl transférase (γ -GT)	59
III.1.1.5. Glycémie	59
III.1.2. Statut antioxydant au niveau du foie	61
III.1.2.1. Malondialdéhyde (MDA)	61
III.1.2.2. Le monoxyde d'azote (NO)	61
III.1.2.3. Les enzymes antioxydantes : SOD, CAT et GSH-Px	62
III.1.3. Histologie du foie	63
III.2. Discussion	65
Partie IV: effet de l'EEA sur la néphrotoxicité induite par le cisplatine	68
IV.1. Résultats	
IV.1.1. les paramètres biochimiques	68
IV.1.1.1. Urée	68

IV.1.1.2. Créatinine	68
IV.1.2. Statut antioxydant du tissu rénal	69
IV.1.2.1. Malondialdéhyde (MDA)	69
IV.1.2.2. Le monoxyde d'azote (NO)	69
IV.1.2.3. Les enzymes antioxydantes : SOD, CAT et GSH-Px	71
IV.1.3. Histologie des reins	71
IV.2. Discussion	72
Partie V: Effet de l'EEA sur la toxicité sanguine induite par le cisplatine	75
V.1. Résultats	75
V.1.1. Les paramètres biochimiques	75
V.1.1.1. Numération de formule sanguine (NFS)	75
V.1.1.2. Cortisolémie	76
V.1.2. Les paramètres du statut oxydant au niveau érythrocytaire	76
V.1.2.1. Les enzymes antioxydantes : SOD, CAT et GSH-Px	76
V.1.2.2. Malondialdéhyde (MDA)	77
V.1.2.3. Thiols	77
V.2. Discussion	79
Partie VI: Les marqueurs d'inflammation	80
VI.1. Résultats	80
VI.2. Discussion	81
Conclusion et perspectives	83
Références bibliographiques	85
Publication	

Introduction

La chimiothérapie signifie littéralement l'utilisation de produits chimiques afin d'inhiber les cellules malignes ou les agents infectieux d'une maladie telle qu'un micro-organisme sans trop affecter les cellules hôtes (Alam, 2015). La majorité des thérapies anticancéreuses sont basées sur des agents chimiothérapeutiques ayant des effets cytotoxiques, qui provoquent la mort des cellules cancéreuses en endommageant directement l'acide désoxyribonucléique (ADN) ou en inhibant la division cellulaire. Malheureusement, ces agents ne sont pas spécifiques, ainsi, leur administration induit souvent également des effets toxiques prolongés dans les tissus normaux (Park et al., 2017).

Le cisplatine (cis-diamminedichloroplatinum) est un agent chimiothérapeutique inorganique à base de platine qui est largement administré pour le traitement de diverses tumeurs (Rezaee et al., 2017). Ceux-ci comprennent le cancer de la tête et du cou, le pénis, l'endomètre, l'œsophage, les carcinoïdes, le mésothéliome, les poumons non à petites cellules, le mélanome malin, le carcinome corticosurrénalien, les testicules, l'ovaire, le sein, ainsi que le cancer du col de l'utérus et de la vessie (Dugbartey et al., 2016). Il exerce ses effets antitumoraux principalement par la formation d'adduits d'ADN, perturbant ainsi les fonctions de l'ADN et conduisant finalement à l'apoptose des cellules cancéreuses (Massai et al., 2019). La recherche a également montré que le cisplatine, comme la plupart des métaux, est impliqué dans la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ERO), affecte la protéine p53 suppresseur de tumeur, induit l'apoptose via l'interaction récepteur-facteur de nécrose tumorale et les caspases intrinsèques, provoque un dysfonctionnement mitochondrial comme ainsi qu'affecte la signalisation du calcium dans la cellule via le stress sur le réticulum endoplasmique. Ce ne sont là que quelques-uns des mécanismes par lesquels il exerce ses effets anti-néoplasiques (Manohar et Leung, 2017).

Le principal inconvénient de l'utilisation de médicaments chimiothérapeutiques, y compris le cisplatine, est une mauvaise sélectivité entre les tissus cancéreux et normaux. Par conséquent, les cellules cancéreuses à croissance rapide absorbent le cisplatine, mais en même temps, il pourrait être absorbé dans d'autres tissus à croissance rapide. Les effets secondaires du cisplatine causés par des lésions tissulaires à croissance rapide comprennent des toxicités gastro-intestinales, des lésions de la moelle osseuse, la perte de cheveux (alopécie) et une ototoxicité (dommages aux oreilles). Le cisplatine présente également une néphrotoxicité puisque l'excrétion des médicaments se fait par les reins et une hépatotoxicité parce que la

fonction hépatique est de métaboliser et de détoxifier les médicaments et les xénobiotiques. Ces processus métaboliques dans les reins et le foie permettent au cisplatine d'être absorbé par les cellules des deux organes et provoquent des effets toxiques. Les organes reproducteurs sont également vulnérables aux agents chimiothérapeutiques. Ce type de toxicité a attiré l'attention de nombreux chercheurs car le processus de chimiothérapie peut entraîner une altération de l'infertilité (Juric et al., 2020).

La phytothérapie est un domaine de la médecine qui utilise les plantes soit pour traiter des maladies, soit comme agents de promotion de la santé. Il est souvent appelé herboristerie en médecine occidentale. L'utilisation traditionnelle des phytothérapies préserve généralement la composition et l'intégrité d'origine de la plante source, de sorte que soit la plante entière, soit un pourcentage souhaité de ses composants minimalement frelatés, est utilisé à des fins médicinales (Falzon et Balabanova, 2017). La phytothérapie est l'une des plus anciennes pratiques thérapeutiques utilisées par l'homme. L'utilisation des plantes médicinales, actuellement, a une grande popularité en tant que médecine complémentaire et alternative dans les pays les plus développés et continue d'être le soin primaire dans les pays les moins développés en raison de son faible coût et de son accès facile (Leite et al., 2021). De plus, L'utilisation de la phytothérapie devient populaire en raison de la toxicité et des effets secondaires des médicaments allopathiques (Aggarwal et al., 2014). Les agents phytothérapeutiques sont normalement commercialisés sous forme de préparations standardisées sous forme de préparations et d'extraits liquides, solides ou visqueux. Elles sont préparées par macération, percolation ou distillation (huiles volatiles). Les solides ou extraits sont préparés par évaporation des solvants utilisés dans le processus d'extraction de la matière première (Shirwaikar et al., 2009).

Le genre *Anacyclus*, appartient à 13 espèces annuelles et pérennes rencontrées principalement en Afrique du Nord-Ouest et aussi dans d'autres pays méditerranéens. De nombreuses espèces d'*Anacyclus* telle que l'*Anacyclus valentinus* ont été utilisées en médecine traditionnelle. Leurs propriétés médicinales sont dues à la présence de flavonoïdes et de terpénoïdes (Elazzouzi et al., 2014).

Ce travail qui a pour objectif d'étudier l'effet thérapeutiques d'extrait éthanoliques d'*Anacyclus valentinus* sur la toxicité induite par le cisplatine.

Chapitre I : Généralités sur le cisplatine et l'*Anacyclus valentinus*

I. La chimiothérapie

I.1. Histoire de la chimiothérapie

L'ère de la chimiothérapie moderne a commencé dans les années 1940 avec les travaux de Huggins et Hodges, lauréats du prix Nobel, sur l'effet antitumoral des œstrogènes dans le cancer de la prostate. Cette observation a été suivie au milieu des années 1940 par l'étude de la moutarde à l'azote, un sous-produit de l'azote gazeux utilisé pendant la Première Guerre mondiale, pour ses effets contre les lymphomes et les tumeurs solides (Chu et Rubin, 2018).

En 1948, Sydney Farber et ses collègues ont utilisé des antifolates pour induire avec succès des rémissions chez les enfants atteints de leucémie aiguë lymphoblastique. Dans la même année, George Hitchings et Gertrude Elion ont synthétisé l'analogue de purine 6-mercaptopurine (Malpas et Rohatiner, 1996).

Le début d'un programme de dépistage systématique des médicaments anticancéreux au National Cancer Institute (NCI) en 1955 a défini le cadre du développement de la chimiothérapie anticancéreuse dans les secteurs public et privé et a conduit à la caractérisation de nombreux agents encore utilisés en clinique aujourd'hui (Gustafson et Bailey, 2019).

En 1958, Roy Hertz et Min Chiu Li démontrent que le méthotrexate en monothérapie peut guérir le choriocarcinome, la première tumeur solide guérie par chimiothérapie. A la fin des années 1950, La Food and Drug Administration approuve l'agent alkylant cyclophosphamide (Chabner et Roberts, 2005).

Dans les années 1970, le cisplatine a exercé des effets antitumoraux significatifs contre les cancers de l'ovaire et des testicules, et le tamoxifène s'est avéré avoir une activité contre le cancer du sein à la fois pour le traitement adjuvant et le traitement de la maladie avancée. Au cours de la même décennie, la bléomycine, l'étoposide et la doxorubicine sont entrées en usage clinique, et des composés dérivés tels que le carboplatine, la vinorelbine et l'idarubicine ont été développés pour leur capacité à obtenir des effets antitumoraux similaires mais avec une toxicité hématologique moindre (Chu et Rubin, 2018).

Les années 1980 et 1990 ont conduit à l'utilisation généralisée d'une multitude de nouveaux médicaments, tels que les taxanes (paclitaxel et docétaxel), l'ifosfamide, les inhibiteurs de la topoisomérase (topotécan et irinotécan) et les analogues nucléosidiques (gemcitabine et capécitabine) (Chu et Rubin, 2007).

Entre 2001 et 2004, Des études menées par Brian Druker ont conduit à l'approbation par la Food and Drug Administration du mésylate d'imatinib (Glivec) pour la leucémie myéloïde chronique, un nouveau paradigme de thérapie ciblée en oncologie. Des chercheurs de l'Université Harvard définissent des mutations dans le récepteur du facteur de croissance épidermique qui confèrent une réactivité sélective à l'agent ciblé gefitinib, indiquant que les tests moléculaires pourraient être en mesure d'identifier de manière prospective des sous-ensembles de patients qui répondront aux agents ciblés. La même année, la Food and Drug Administration approuve le bevacizumab (Avastin), le premier agent anti-angiogénique cliniquement prouvé, pour le traitement du cancer du côlon (Chabner et Roberts, 2005).

I.2. Définition

La chimiothérapie est le traitement le plus efficace et le plus largement utilisé dans la plupart des types de cancers (Zhang et al., 2018). La chimiothérapie anticancéreuse fait référence à l'administration de produits chimiques cytotoxiques, c'est-à-dire de produits chimiques ayant des propriétés de destruction cellulaire, dans le but, dans certains cas, d'éradiquer la tumeur ou, au moins, de réduire la charge tumorale et, ainsi, de réduire les symptômes liés à la tumeur et peut-être prolonger la vie (Nygren, 2001).

En général, il existe quatre indications principales pour la chimiothérapie. Les trois premiers sont l'intention radicale ; d'une part pour les tumeurs malignes avancées chimiosensibles (cancer du testicule et lymphome), d'autre part pour les tumeurs localisées administrées soit avant (néoadjuvant) soit après (adjuvant) traitement définitif (chirurgie ou radiothérapie). La chimiothérapie néoadjuvante vise à réduire la taille du cancer, ce qui facilite les procédures utilisées dans les sarcomes pour permettre une chirurgie préservant les membres. La chimiothérapie adjuvante traite la maladie micrométastatique et a un rôle bien établi dans le cancer colorectal Dukes C. Troisièmement, il est utilisé parallèlement à la radiothérapie pour

améliorer les effets thérapeutiques (cancer du col de l'utérus localement avancé) et enfin pour le contrôle des symptômes dans les tumeurs malignes incurables (Brown *et al.*, 2011).

I.3. Mode d'action

Les agents de chimiothérapie ont exercé leurs effets en perturbant le cycle cellulaire, réduisant ainsi le potentiel de réplication (Rojas et Casablanca, 2019). Les tumeurs malignes se caractérisent par une division cellulaire rapide et incontrôlée (Smith et Prewett, 2019). Le mécanisme d'action d'un médicament chimiothérapeutique peut être spécifique ou non spécifique à la phase du cycle cellulaire ; c'est-à-dire que les médicaments chimiothérapeutiques cytotoxiques peuvent endommager l'acide désoxyribonucléique (ADN), empêchant ainsi la réplication cellulaire ou induisant l'apoptose (ou les deux), ou ils peuvent interférer avec une phase spécifique du cycle cellulaire. Parce que les cellules en division active sont plus sensibles aux dommages à l'ADN et aux dommages causés aux processus cellulaires en cours, la chimiothérapie est plus efficace contre les masses tumorales à croissance rapide (Chun, 2007).

I.4. Pharmacocinétique des agents chimiothérapeutiques

La pharmacocinétique est l'étude de l'absorption, de la distribution, du métabolisme et de l'excrétion des médicaments chimiothérapeutiques, ou du mouvement des médicaments chimiothérapeutiques dans le corps (Houlston, 2008). L'administration intraveineuse suppose une biodisponibilité de 100 %, mais l'administration par d'autres voies (orale, intramusculaire, sous-cutanée) peut n'être que partielle. Un certain nombre de facteurs influencent la distribution des médicaments dans le corps et comprennent le flux sanguin vers différents organes, la diffusion du médicament à partir des vaisseaux sanguins, la liaison aux protéines et la solubilité des lipides (North et Banks, 2009).

I.5. Classification biochimique des médicaments de chimiothérapie

Les agents chimiothérapeutiques peuvent être regroupés en cinq classes de médicaments en fonction de leur mode d'action : agents alkylants, antibiotiques antitumoraux, inhibiteurs de la topoisomérase, antimétabolites et médicaments liant la tubuline (Meirow et Nugent, 2001 ; English, 2010).

I.5.1. Agents alkylants

Une première catégorie de chimiothérapie cytotoxique se distingue par ses propriétés moléculaires : les agents alkylants qui sont des composés électrophiles, interagissant avec les bases de l'ADN (adénine, thymine, guanine et cytosine) par le transfert d'un radical alkyle en un ou deux sites. Ces alkylations n'étant pas réparables par les processus naturels de correction, elles provoquent irrémédiablement la mort cellulaire. Si les agents alkylants sont capables de produire des liaisons avec l'ADN, ils ciblent, de façon peu spécifique, les cellules tumorales, entraînant des effets secondaires agressifs par toxicité envers les cellules saines. Exemple : Cisplatine, carboplatine, chlorambucil, cyclophosphamide, ifosfamide et Fotémustine (Vuillet-A-Ciles et *al.*, 2014).

I.5.2. Antibiotiques antitumoraux

Les antibiotiques antitumoraux sont constitués de produits naturels issus de la fermentation microbienne, notamment les anthracyclines (doxorubicine, épirubicine), les mitomycines et les actinomycines qui ont donné des composés cliniquement utiles avec divers mécanismes d'action. Intercaler l'ADN à des séquences spécifiques, créant des radicaux libres qui provoquent la rupture des brins. Les anthracyclines sont des produits du champignon *Streptomyces*, ont également un mécanisme d'action des topoisomérases I et II, nécessaires au déroulement de l'ADN nécessaire à la synthèse de l'ADN (Gustafson et Page, 2013 ; Dickens et Ahmed, 2018).

I.5.3. Inhibiteurs de la topoisomérase

Les topoisomérases sont des enzymes qui contrôlent la structure 3-D de l'ADN. La topoisomérase I et la topoisomérase II sont des enzymes responsables du déroulement de l'ADN lors de la réplication. Les inhibiteurs de la topoisomérase se lient au complexe de la topoisomérase-ADN, inhibant la réunion de l'ADN et donc sa réplication. Exemple : Inhibiteurs de la topoisomérase I - irinotécan, Inhibiteurs de la topoisomérase II –étoposide (Heidary et *al.*, 2008 ; Jones, 2016).

I.5.4. Antimétabolites

Les antimétabolites sont des agents cytotoxiques qui ressemblent structurellement aux purines et pyrimidines naturelles et inhibent la croissance et la division cellulaires. Ils ont deux modes d'action : Ils se substituent soit à un métabolite qui est normalement incorporé dans l'ADN ou l'ARN, soit entrent en compétition pour le site catalytique d'une enzyme clé impliquée dans la synthèse de l'ADN. Le méthotrexate est un analogue de l'acide folique, le 5-fluorouracile est un analogue de l'uracile et la 6-mercaptopurine est un analogue de la guanine. Ils sont fréquemment utilisés dans le traitement des cancers colorectal, de la vessie et du pancréas ainsi que pour la leucémie. Les antimétabolites affectent toutes les cellules en prolifération (Lind, 2016 ; Chortkoff et Stenehjem, 2019 ; Jones et Ocen, 2020).

I.5.5. Agents de liaison à la tubuline

Tous les agents chimiothérapeutiques de la classe des agents de liaison à la tubuline sont dérivés de plantes et se lient à la tubuline. La tubuline est la sous-unité de base des microtubules, qui jouent de nombreux rôles importants et divers dans la fonction cellulaire, notamment le maintien de la forme cellulaire, la mitose, la méiose, la sécrétion, le transport intracellulaire et la fonction axonale. Les vinca-alcaloïdes (vincristine, vindésine, vinorelbine et vinblastine) se lient aux dimères de tubuline et empêchent leur assemblage en microtubules. Les taxanes (paclitaxel et taxotère) et les épothilones A et B se lient aux microtubules et empêchent leur désassemblage, inhibant ainsi le fonctionnement normal des microtubules. (Dobson et al, 2008 ; Lind, 2020).

I.6. Effet toxique

Les patients recevant les agents chimiothérapeutiques présentent des effets secondaires graves aux doses thérapeutiquement efficaces. Ces effets secondaires incluent des effets endommageant les cellules générales tels que; diminution des cellules sanguines et myélosuppression et immunosuppression. Les effets secondaires plus spécifiques incluent la néphrotoxicité, la neurotoxicité, le dysfonctionnement testiculaire, la cardiotoxicité et l'hépatotoxicité (Camus et al., 2013). La spermatogenèse et l'ovogenèse sont toutes deux sensibles aux dommages cytotoxiques. La plupart des médicaments cytotoxiques sont

tératogènes et potentiellement nocifs pour le fœtus (Corrie, 2011). La plupart des agents chimiothérapeutiques affectent tous les types de cellules, mais à des degrés divers en fonction, par exemple, du médicament, de la dose, de la voie d'administration et des caractéristiques du patient (Lundqvist et al., 2015). La chimiothérapie s'accompagne fréquemment de plusieurs effets secondaires, notamment des nausées, des vomissements, de la diarrhée, de l'anorexie, de la fatigue et la chute des cheveux (Hsu et al., 2020 ; Corrie, 2011).

I.7. Cisplatine

I.7.1. Définition

Le cis-diamminedichloroplatinum (II) ou cisplatine, en tant que composé du platine, est un agent antinéoplasique largement utilisé pour la chimiothérapie de différentes tumeurs malignes (Shabani et al., 2012 ; Vukovic et al., 2019). Le cisplatine est centré sur un atome de platine qui se coordonne avec deux atomes de chlore et deux groupes ammoniac pour former un composé quadrilatéral plan (fig. 01). Les deux atomes de chlore sont du même côté (Qi et al., 2019).

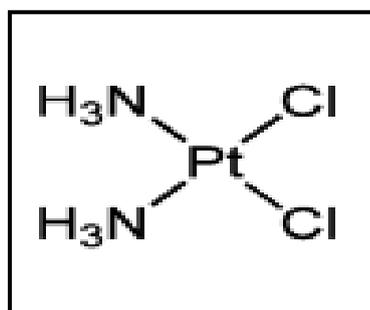


Figure 01 : Structure de cisplatine (Chatelut, 2011)

I.7.2. Histoire de cisplatine

Michel Peryone a synthétisé le cisplatine en 1845 et Alfred Wegner a décrit sa structure en 1893 (Chirino et Pedraza-Chaverriet, 2009). En 1965, au cours de l'étude des effets des courants électriques sur les cellules, il a été découvert que les cellules d'*Escherichia coli* formaient de longs filaments, mais qu'elles ne se divisent pas. D'autres recherches ont montré que l'inhibition de la division cellulaire bactérienne était due au cisplatine, généré à partir des

électrodes de platine et du chlorure d'ammonium présent dans le milieu (Avendaño et Menéndez, 2015).

Le cisplatine a été le premier médicament à base de platine approuvé par la Food and Drug Administration (FDA) des États-Unis en 1978 pour traiter le cancer, et il est toujours utilisé pour traiter les cancers de l'ovaire, des testicules, de la tête et du cou, du poumon, de la vessie et colorectal, principalement en association avec d'autres médicaments (Miodragović et al., 2019).

I.7.3. Les propriétés physicochimiques

Tableau 01 : Les propriétés physicochimiques de cisplatine (scholar, 2007 ; Rancoule et al., 2017).

Formule brute	Cl ₂ H ₆ N ₂ Pt
Poids moléculaire [g/mole]	301,1
Apparence physique	Poudre lyophilisée blanche
Point de fusion	270 °C
Solubilité à 25 °C [g/l]	Eau : 2.53
Log du coefficient de partage Octanol-eau (log Kow)	-2,19
Densité [g/cm³]	3,74

I.7.4. Mode d'action

La cytotoxicité du cisplatine provient de sa liaison à l'ADN qui provoque une distorsion importante de la structure hélicoïdale et entraîne l'inhibition de la réplication et de la transcription de l'ADN (Cerri et al., 2011). Le cisplatine exerce des effets anticancéreux via deux voies de signalisation entrelacées : nucléaire et cytoplasmique. Le cisplatine inerte est activé de manière intracellulaire par des réactions d'aquation spontanée (hydrolyse) dans le cytoplasme (Diyabalanage et al., 2013). Dans un environnement aqueux, les ligands chlorure du cisplatine sont remplacés par des molécules d'eau, générant un électrophile chargé positivement [PtCl(H₂O)(NH₃)₂]⁺ (fig. 02). Cet électrophile réagit avec les sites nucléophiles sur les macromolécules intracellulaires pour former des adduits d'ADN, d'ARN (acide

ribonucléique) et de protéines (Sultana *et al.*, 2012). Les molécules hautement réactives résultantes interagissent avec une grande variété de substrats cytoplasmiques, en particulier des nucléophiles tels que le glutathion réduit (GSH), la méthionine, les métallothionéines et les protéines. Par conséquent, le cisplatine a le potentiel d'épuiser et d'incliner l'équilibre redox vers le stress oxydatif et de faciliter les dommages à l'ADN (Diyabalanage *et al.*, 2013).

L'adduit électrophile-ADN entraîne l'activation de plusieurs voies de transduction du signal impliquées dans l'apoptose (Dana *et al.*, 2019). Le cisplatine aquaté interagit avec l'ADN mitochondrial et nucléaire par l'unité Pt^{2+} qui se lie de manière covalente au N7 de la guanine (G) ou de l'adénine (A), ce qui conduit à la génération de réticulations d'ADN inter et intra-brin (fig. 02). Ces derniers adduits induisent principalement des lésions de l'ADN qui expliquent la quasi-totalité de la cytotoxicité du cisplatine. Les dommages à l'ADN induits par le cisplatine activent le gène suppresseur de tumeur, p53. Lorsque l'ADN endommagé est irréparable, l'activation de p53 déclenche l'apoptose médiée par les caspases, conduisant à la mort cellulaire (Sun *et al.*, 2019 ; Ellahioui *et al.*, 2017).

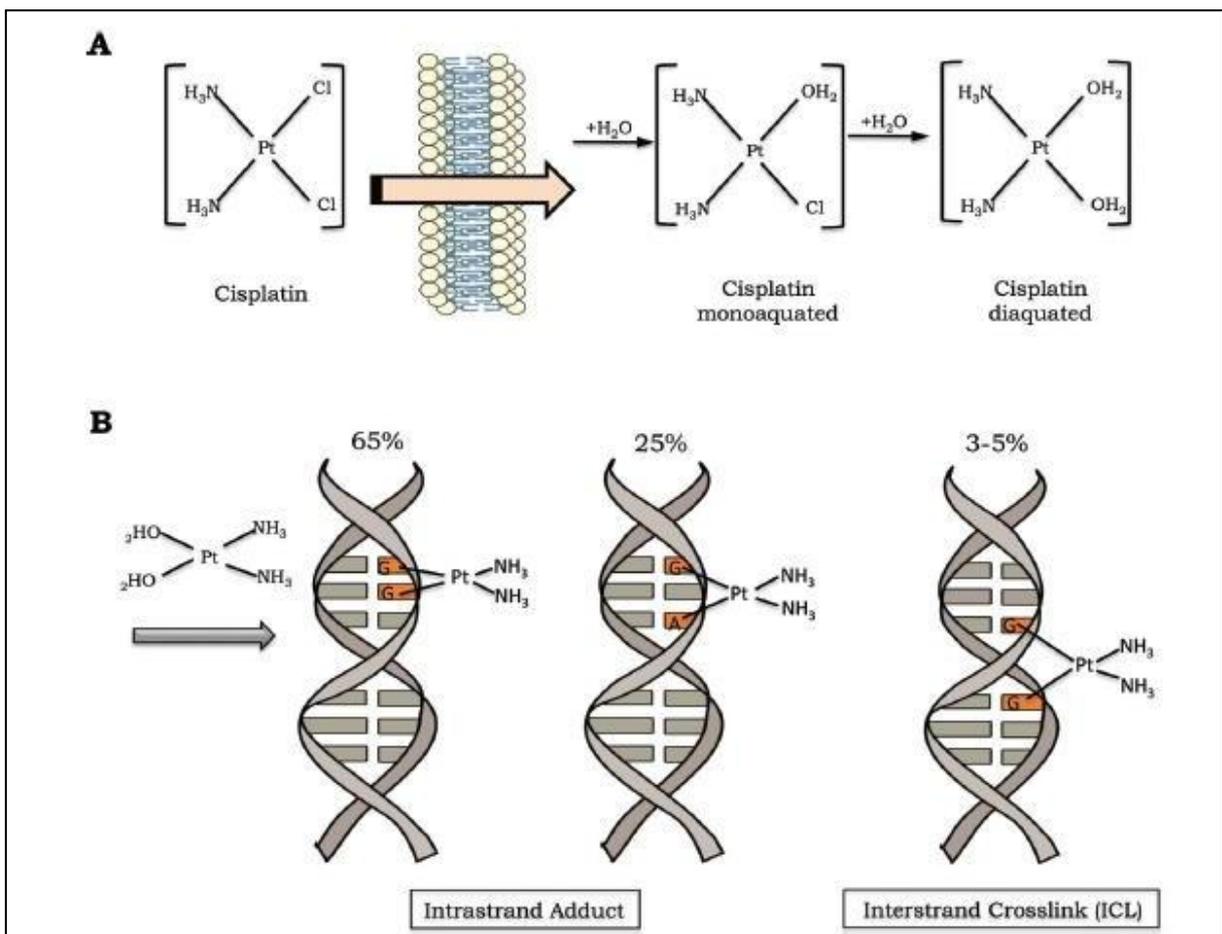


Figure 02 : Activation du cisplatine et induction des dommages à l'ADN (Rocha *et al.*, 2018).

I.7.5. La pharmacocinétique

Le cisplatine est administré par voie intraveineuse. Fortement lié aux protéines, il se distribue dans les reins, le foie et les intestins, mais ne pénètre pas facilement la barrière hémato-encéphalique. Le cisplatine est rapidement inactivé par une forte fixation (90 à 95 %) irréversible aux protéines plasmatiques. Le cisplatine subit un métabolisme non enzymatique et transformé en plusieurs métabolites après son administration, avec seulement 25 à 45 % d'une dose administrée excrétée dans l'urine. Une réduction de la posologie en cas d'insuffisance rénale est recommandée. Le cisplatine et ses métabolites sont éliminés de l'organisme par les reins soit dans les premières heures pour la platine libre, soit beaucoup plus lentement pour la platine liée, qui nécessite que les protéines sur lesquelles il s'est fixé, soient métabolisées (Scholar, 2007 ; Hulin *et al.*, 2010 ; Sprangers *et al.*, 2020).

I.7.6. La toxico-cinétique

La distribution du cisplatine après administration intraveineuse a été étudiée à la fois chez l'homme et chez l'animal. Après administration et exposition au pH physiologique, l'atome de chlorure du cisplatine peut être déplacé par un nucléophile tel que l'eau ou un groupe sulfhydryle. Le résultat de cette réaction chimique est deux espèces moléculaires principales, le cisplatine (le composé parent) et le monohydroxymonochloro cis-diammine platine (II) (le composant du platine). Lorsqu'une dose thérapeutique normale de cisplatine est administrée, les concentrations de platine sont les plus élevées dans le foie, les reins et la prostate. D'autres organes avec absorption de platine comprennent la vessie, les testicules, les muscles, la rate, le pancréas et à un degré bien moindre l'intestin, les surrénales, le cœur, les poumons, le cerveau et le cervelet. Au sein de la tumeur elle-même, les concentrations de platine sont généralement inférieures à celles de l'organe où se trouve la tumeur. L'excrétion du cisplatine dans l'urine dépend fortement du mode d'administration. Lorsqu'il est administré en bolus unique, 10 à 40 % du platine sont excrétés dans l'urine sur une période de 24 h. Avec des doses répétées sur cinq jours consécutifs, l'élimination totale moyenne du platine était de 35 à 51 %. La majorité du platine est éliminée rapidement de l'organisme dans les 4 premières heures en raison de la forte liaison protéique du composé (Towne et Murray, 2014).

I.7.7. Effet toxique

I.7.7.1. Effet hépatotoxique

Le cisplatine est principalement métabolisé par le foie et les reins, il est assez simple de générer une toxicité rénale et hépatique. L'utilisation d'une dose augmentée ou d'un schéma thérapeutique à doses cumulées pourrait déclencher des lésions hépatiques. Par conséquent, la protection contre la toxicité hépatique de cisplatine est un problème persistant en chimiothérapie tumorale. L'hépatotoxicité est l'une des complications les plus graves lorsque le cisplatine s'accumule dans les tissus hépatiques; elle peut conduire à une insuffisance hépatique. L'hépatotoxicité induite par le cisplatine est étroitement liée à la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) qui entraînent un stress oxydatif et une inflammation. De plus, cela pourrait conduire à l'apoptose en modulant les niveaux de Bax et Bcl2 ([Habib et al., 2021](#) ; [Eid et El-Shitan, 2021](#) ; [Natarajan et al., 2021](#)).

I.7.7.2. Effet néphrotoxique

Les reins sont particulièrement sensibles à la toxicité du cisplatine en raison de facteurs physiologiques tels qu'ils reçoivent environ 25 % du débit cardiaque, la capacité de réabsorption étendue des cellules rénales et la grande surface de la membrane luminale des cellules du tubule proximal. De plus, les reins sont presque exclusivement responsables de l'excrétion du cisplatine ([Fulco et al., 2020](#)). La toxicité rénale implique la production et l'augmentation de radicaux libres par les reins, l'utilisation de mécanismes de défense antioxydants, ainsi que la nécrose aiguë des cellules tubulaires rénales qui entraîne une réduction du taux de filtration glomérulaire et un dysfonctionnement rénal. Outre les mécanismes pathologiques, il s'agit d'une augmentation du stress oxydatif, de la nécrose, de l'apoptose et de l'augmentation de l'infiltration des macrophages/monocytes dans le cortex rénal et la medulla ([Hayati et al., 2016](#)).

I.7.7.3. Effet cardiotoxique

La fuite de lactate déshydrogénase (LDH) et de créatine kinase (CK) des myocytes cardiaques est due à une cardiotoxicité et pourrait être un événement secondaire après la peroxydation lipidique des membranes cardiaques induite par le cisplatine. La dégénérescence et la nécrose

des cellules des fibres du muscle cardiaque avec réaction du tissu fibreux et le cytoplasme vacuolisé de nombreuses cellules musculaires et vaisseaux sanguins sont gonflés de sang sont les changements histologiques de la toxicologie induite par le cisplatine (Dasari et Tchounwou, 2014).

I.7.7.4. Effet neurotoxique

La neurotoxicité induite par le cisplatine est considérée comme l'un des effets secondaires graves les plus importants et les plus fréquemment rencontrés associés à l'administration cumulative du médicament. Les dommages neurologiques sont à long terme et affectent négativement la qualité de vie. Le cisplatine se lie à l'ADN nucléaire et mitochondrial, provoquant des dommages à l'ADN, une translocation de bax vers les mitochondries, une activation des caspases et une mort cellulaire apoptotique dans les cellules cancéreuses et les neurones. Les caractéristiques les plus courantes associées à cette toxicité comprennent la neuropathie périphérique ainsi que le déclin progressif des fonctions cognitives. La physiopathologie de la neurotoxicité associée au cisplatine n'est pas bien comprise, mais plusieurs théories ont été proposées. Premièrement, les adduits de cisplatine s'accumulent dans les ganglions de la racine dorsale, ce qui entraîne par conséquent des douleurs sensorielles symétriques et bilatérales entraînant une lésion des nerfs périphériques. Deuxièmement, on pense que le cisplatine améliore la génération excessive de radicaux libres, entraînant un stress oxydatif, une apoptose neuronale et une inflammation. L'augmentation du stress oxydatif a été en outre liée à l'humeur, à l'apprentissage et aux troubles cognitifs (Podratz *et al.*, 2020 ; Liu *et al.*, 2021).

I.7.7.5. Autre effet toxique

D'autres toxicités induites par le cisplatine telles que la myélosuppression, la toxicité hématologique, les toxicités vasculaires, l'hyperuricémie, la toxicité oculaire, etc. sont également connues. Des nausées et des vomissements marqués sont généralement survenus chez presque tous les patients malgré l'utilisation systématique d'antiémétiques prophylactiques. Des diarrhées, une perte de goût ou un goût métallique, une pancréatite et une mucite sont également rapportées. Les toxicités gastro-intestinales peuvent s'aggraver

lorsque des thérapies combinées de cisplatine et d'autres agents antinéoplasiques sont utilisées (Ghosh, 2019).

L'ototoxicité continue d'être un défi pour les patients traités avec succès par le cisplatine. Le cisplatine provoque une lésion initiale à la base de la cochlée qui se manifeste par une perte auditive neurosensorielle permanente à haute fréquence, et peut altérer la capacité de communication médecin-patient, interagir de manière synergique avec un bruit de haut niveau pour provoquer une perte auditive encore plus grave et avoir un impact négatif sur le qualité de vie des survivants du cancer traités par le cisplatine (Bielefeld et al., 2021).

Néanmoins, l'efficacité thérapeutique du cisplatine est souvent limitée en raison de ses effets indésirables toxiques, notamment un dysfonctionnement de la reproduction masculine et des lésions testiculaires. Il a été rapporté que le cisplatine provoque une toxicité dans les cellules germinales testiculaires et les cellules de Leydig principalement par l'inhibition de la sécrétion de testostérone (Heeba et al., 2016 ; Abd-El-Wahab et al., 2020).

II. Stress oxydatif

II.1. Définition

Le stress oxydatif reflète le déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et la capacité de piégeage du système antioxydant en faveur de la première (fig. 03). Ainsi, le stress oxydatif peut survenir à la suite d'une augmentation générale de la génération de ERO y compris les radicaux anions superoxydes ($O_2^{\cdot-}$) et le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), d'une dépression des systèmes antioxydants, ou des deux (Chen et al., 2020 ; Roberts et Sindhu, 2009) ; il s'agit d'un processus nocif qui peut affecter négativement plusieurs structures cellulaires, telles que les membranes, les lipides, les protéines, les lipoprotéines et l'acide désoxyribonucléique (ADN) (Pizzino et al., 2017). Le stress oxydatif a été lié à une multitude de problèmes de santé indésirables tels que les maladies neurodégénératives, les maladies inflammatoires, les maladies cardiovasculaires, le diabète, les allergies, les troubles de la fonction immunitaire, le vieillissement et le cancer (Fleming et Luo, 2021).



Figure 03 : Schéma montrant le stress oxydant, qui est un état de déséquilibre entre le système de défense par les antioxydants et la surproduction des radicaux libres. ERO : espèces réactives de l'oxygène ; ERN : espèces réactives de l'azote (Belaïch et Boujraf, 2016).

II.2. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO)

II.2.1. Définition

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont définies comme un certain nombre de molécules hautement réactives contenant de l'oxygène moléculaire (O₂) (Lam *et al.*, 2020). Les ERO peuvent généralement être divisés en deux types : les ERO à radicaux libres tels que l'anion peroxyde O₂⁻ et les radicaux hydroxyles OH[·], et les ERO non radicaux hautement réactifs tels que le peroxyde d'hydrogène H₂O₂ (Li *et al.*, 2021). Dans des conditions normales, les ERO sont maintenus à un niveau bas et jouent un rôle important dans de nombreux processus biologiques essentiels, notamment la croissance, le développement et la mort (wang *et al.*, 2021), mais leur niveau augmente sous l'effet du stress, ce qui s'avère être un risque fondamental pour la santé (Rahal *et al.*, 2014). Leur nocivité réside dans la capacité des ERO à interagir avec n'importe quelle molécule biologique (protéines, lipides, ADN), déclenchant la formation de nouvelles espèces radicalaires capables de se propager et d'amplifier les dommages cellulaires (Antonucci *et al.*, 2021).

II.2.2. Propriété des espèces réactives de l'oxygène (ERO)

Les ERO sont des espèces électrophiles de courte durée de vie (quelques nanosecondes), elles font partie des systèmes ubiquitaires ayant une réactivité chimique délétère à l'égard des biomolécules, cette réactivité est inversement proportionnelle au pouvoir oxydant ($\text{OH}^\circ > \text{RO}^\circ > \text{HOO}^\circ > \text{ROO}^\circ$) (Bensakhria, 2018).

II.2.3. Sources des espèces réactives de l'oxygène (ERO)

Les ERO peuvent être produits à partir de sources endogènes et exogènes (Khan *et al.*, 2021) :

II.2.3.1. Sources endogènes

La principale source endogène d'ERO est la chaîne de transport d'électrons mitochondriale qui a un certain nombre de réactions redox et peut laisser échapper des électrons à l'oxygène. D'autres sources endogènes comprennent les complexes nicotinamide adénine dinucléotide (NADPH) oxydases (Nox) sur les membranes des phagocytes et des cellules endothéliales ainsi que les oxygénases du cytochrome P450, la xanthine oxydase, la lipoxygénase et la cyclooxygénase (Chan *et al.*, 2020 ; Sosa *et al.*, 2013).

II.2.3.2. Sources exogènes

Il existe plusieurs déclencheurs externes qui induisent un stress oxydatif. Les polluants atmosphériques, la fumée de tabac, les rayonnements ionisants et non ionisants, les aliments et les médicaments, ainsi que les xénobiotiques peuvent tous contribuer au stress oxydatif. Les agents thérapeutiques, en particulier les médicaments antinéoplasiques, sont une autre source exogène d'ERO. Le cisplatine et l'adriamycine, par exemple, produisent des niveaux élevés d'ERO entraînant des dommages importants à l'ADN et la mort cellulaire. Agents chimiques comme les quinones; les métaux lourds tels que le plomb, l'arsenic, le mercure, le chrome et le cadmium ; solvants organiques; et les pesticides sont des sources exogènes courantes de ERO (Klaunig *et Wang*, 2018 ; Bhattacharyya *et al.*, 2014).

II.2.4. Production des espèces réactives de l'oxygène (ERO)

II.2.4.1. L'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$)

L'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) est nocif et est principalement produit en tant que sous-produit de la respiration mitochondriale (en particulier dans les complexes I et III, dans la chaîne de transport d'électrons, la chaîne de transport d'électrons), où un petit pourcentage des électrons de la chaîne de transport d'électrons s'en échapper, ainsi que par plusieurs autres enzymes, qui catalysent le transfert d'électrons directement à l'oxygène moléculaire dans des conditions fortement réductrices, comme cela se produit dans la matrice mitochondriale. Il est également généré dans le système immunitaire pour éliminer les micro-organismes envahisseurs. Dans les phagocytes, l'enzyme NADPH oxydase produit de l' O_2 en grande quantité pour une utilisation dans les mécanismes de destruction dépendants de l'oxygène des agents pathogènes envahissants (Juan *et al.*, 2021).

Il peut exister sous deux formes telles que l' $O_2^{\cdot-}$ ou le radical hydroperoxyde (HO_2) à faible pH. Le radical hydroperoxyde est la forme la plus importante et peut facilement pénétrer dans la bicouche phospholipidique que la forme chargée ($O_2^{\cdot-}$). Sous pH physiologique, la forme la plus présente est le superoxyde. Il peut agir comme agent réducteur et il réduit les complexes de fer tels que le cytochrome-c et l'acide ferrique-éthylène diaminetétraacétique (Fe^+ -EDTA), dans lesquels Fe^{+3} est réduit en Fe^{+2} . Il peut également agir comme agent oxydant et oxyder l'acide ascorbique et le tocophérol (Phaniendra *et al.*, 2015).

II.2.4.2. Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)

Le peroxyde d'hydrogène se forme *in vivo* dans une réaction de dismutation catalysée par l'enzyme superoxyde dismutase (SOD). Parce que H_2O_2 est relativement stable et perméable à la membrane (et transporté par les aquaporines présentes dans la membrane mitochondriale interne), il peut diffuser dans la cellule et être éliminé par les systèmes antioxydants cytosoliques tels que la catalase, la glutathion peroxydase et les peroxiredoxines. Ce n'est pas un radical libre mais il peut endommager la cellule à une concentration relativement faible (10 μ M), mais à des niveaux plus élevés, les enzymes productrices d'énergie cellulaire telles que la glyceraldehyde-3-phosphate déshydrogénase sont inactivées. Le H_2O_2 n'a pas d'effet direct sur l'ADN mais peut endommager l'ADN en produisant un radical hydroxyle ($OH\cdot$) en présence d'ions de métaux de transition. Le H_2O_2 généré par les mitochondries peut également

agir comme une molécule de signalisation dans le cytosol, affectant de multiples réseaux qui contrôlent, par exemple, le cycle cellulaire, la réponse au stress, le métabolisme énergétique et l'équilibre redox. Au sein des mitochondries, de nombreux nouveaux effets de signalisation de H₂O₂ ont été découverts au cours des dernières années, y compris un rôle important dans l'activation des voies de découplage mitochondrial doux, qui sont eux-mêmes des régulateurs clés de la génération mitochondriale de ERO (Phaniendra *et al.*, 2015 ; Kowaltowski *et al.*, 2009).

II.2.4.3. Le radical hydroxyle (OH⁻)

Le radical hydroxyle (OH⁻) est formé non seulement par l'interaction entre le peroxyde d'hydrogène et les formes réduites des ions métalliques, y compris Cu²⁺ et Fe²⁺, mais aussi par la réduction du peroxyde d'hydrogène ainsi que l'interaction du superoxyde avec le peroxyde d'hydrogène. Le radical hydroxyle est particulièrement instable et est la plus réactive des molécules radicalaires. Le radical hydroxyle a également été pensé pour être impliqué dans la signalisation; cependant, HO[•] n'a aucune spécificité car il réagit avec presque toutes les molécules organiques avec des constantes de vitesse proches de la limite de diffusion. Bien qu'ils aient des demi-vies très courtes de nanosecondes, ils peuvent causer de graves dommages aux cellules et à d'autres structures intracellulaires, car ils peuvent provoquer la réticulation covalente d'une variété de molécules biologiques. Ils causent des dommages cellulaires en initiant des réactions chimiques en chaîne telles que la peroxydation lipidique, ou en oxydant l'ADN ou les protéines. Les dommages à l'ADN peuvent provoquer des mutations et éventuellement conduire au cancer, s'ils ne sont pas inversés par les mécanismes de réparation de l'ADN. En outre, les dommages aux protéines provoquent une inhibition enzymatique, une dénaturation et une dégradation des protéines (Madkour, 2020 ; Forman *et al.*, 2010).

II.2.4.4. L'oxygène singulet (¹O₂)

L'oxygène singulet peut être généré par un apport d'énergie qui réarrange les électrons. Dans les deux formes d'oxygène singulet, la restriction de spin est supprimée, ce qui augmente sa capacité d'oxydation. Le ¹O₂ peut oxyder directement les protéines, l'ADN et les lipides. Il est généré par des processus chimiques tels que la décomposition spontanée du trioxyde

d'hydrogène dans l'eau ou la réaction du peroxyde d'hydrogène avec l'hypochlorite. L'oxygène singulet réagit avec un alcène par abstraction du proton allylique ; cela se produit via une réaction de type ène avec l'hydroperoxyde d'allyle HO–O–R, qui peut ensuite être réduit en alcool allylique (Ferreira *et al.*, 2018 ; Buonocore *et al.*, 2010).

II.3. Le système de défense antioxydant

La concentration en espèces réactives doit être maintenue à un niveau bas pour garantir un environnement cellulaire approprié; Les mécanismes qui assurent l'homéostasie antioxydante sont hautement conservés chez différentes espèces, des bactéries les plus simples aux humains. La défense antioxydante est composée de facteurs endogène et exogènes (Taufenberger et Magistretti, 2021 ; Neha *et al.*, 2019).

II.3.1. Les antioxydants endogènes

Les antioxydants endogènes, qui sont des produits du métabolisme du corps, peuvent être enzymatiques ou non enzymatiques (Mironczuk-Chodakowska *et al.*, 2018).

II.3.1.1. Les antioxydants endogènes enzymatiques

Les antioxydants enzymatiques sont une première ligne de défense qui décompose et élimine les ERO provoquant un stress oxydatif en convertissant les produits réactifs de l'oxygène en H₂O₂, qui est ensuite converti en H₂O. Les défenses enzymatiques peuvent inclure la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT), la glutathion peroxydase (GSH-Px) (Gauthier *et al.*, 2020).

II.3.1.1.1. Superoxyde dismutase (SOD)

La superoxyde dismutase est une enzyme qui nécessite des cofacteurs d'ions métalliques pour catalyser la décomposition de l'O₂⁻ en O₂ et H₂O₂. Il existe trois types de SOD dans le corps humain : le cytosol Cu-Zn-SOD (SOD1), l'enzyme mitochondriale dépendante du manganèse (Mn-SOD, SOD2) et la Cu-Zincase extracellulaire (EC-SOD, SOD3). Le O₂⁻ formé dans les mitochondries est dégradé en H₂O₂ par SOD1 dans l'espace membranaire mitochondrial et

SOD2 dans la matrice mitochondriale. GSH-Px dans la matrice mitochondriale élimine H₂O₂. L'H₂O₂ non chargé traverse la membrane mitochondriale et est éliminé par la SOD1 cytoplasmique ou la catalase dans le cytoplasme (Dong et al., 2020).

II.3.1.1.2. Catalase (CAT)

La CAT est une enzyme courante présente dans les organismes exposés à l'oxygène, tels que les légumes, les fruits et les animaux. Il catalyse la réaction qui dégrade le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène. C'est une enzyme cruciale dans la protection de la cellule contre les dommages oxydatifs causés par les ERO. La CAT exerce son activité peroxydase in vivo. Il peut également catalyser la réaction d'oxydation, par le peroxyde d'hydrogène, de nombreux métabolites et toxines, sans exclure le formaldéhyde, l'acide formique, les phénols, l'acétaldéhyde et les alcools. Sa fonction de base est d'éliminer le peroxyde d'hydrogène et le peroxyde ROOH dans l'oxygène moléculaire afin d'éviter des dommages irréversibles aux membranes (Kivrak et al., 2017).

II.3.1.1.3. Glutathion peroxydase (GSH-Px)

La glutathion peroxydase (GSH-Px) est une enzyme intracellulaire importante qui décompose les peroxydes d'hydrogène (H₂O₂) en eau; et les peroxydes lipidiques en leurs alcools correspondants principalement dans les mitochondries et parfois dans le cytosol. La plupart du temps, son activité dépend d'un micronutriment cofacteur connu sous le nom de sélénium. Pour cette raison, la GSH-Px est souvent appelée sélénocystéine peroxydase. L'enzyme joue un rôle plus crucial d'inhibition du processus de peroxydation lipidique, et protège donc les cellules du stress oxydatif (Ighodaro et Akinloye, 2018).

II.3.1.2. Les antioxydants endogènes non enzymatiques

Les antioxydants non enzymatiques comprennent des composés de faible poids moléculaire, tels que l'ubiquinone, l'acide urique et le GSH, un tripeptide (Lg-glutamyl-L-cystéinyl-Lglycine) qui comprend un groupe thiol (sulfhydryl) (Birben et al, 2012).

II.3.1.2.1. Ubiquinone

L'ubiquinone, également connue sous le nom de coenzyme Q, est une molécule lipophile existant sous trois états redox différents : totalement oxydé, partiellement réduit (ubisemiquinone) et totalement réduit (ubiquinol). On le trouve dans la membrane plasmique et dans plusieurs membranes intracellulaires dont celles mitochondriales où il joue un rôle clé dans la production d'énergie et la génération des ERO. Sous sa forme entièrement réduite, la CoQ est un antioxydant potentiel. Des études expérimentales ont montré un rôle protecteur de l'ubiquinone contre la carbonylation des protéines et les dommages oxydatifs de l'ADN (Vona *et al.*, 2021).

II.3.1.2.2. Acide urique

L'acide urique, produit du métabolisme des purines, est un piègeur de radicaux libres actif, étant responsable d'environ 60 % de la capacité de piégeage des radicaux libres du plasma. L'acide urique empêche la génération des ERO (peroxyde d'hydrogène ou radical anion superoxyde) dans les réactions catalysées par la xanthine oxydase. Des études ont rapporté que l'urate a la capacité de piéger les radicaux libres et de protéger la membrane érythrocytaire de l'oxydation des lipides (Pisoschi *et al.*, 2020).

II.3.1.2.3. Les thiols

Les thiols se sont avérés des tampons antioxydants essentiels, en interagissant avec presque tous les oxydants physiologiques. L'antioxydant thiol non protéique de bas poids moléculaire prédominant dans les cellules animales est le tripeptide GSH (L- γ -glutamyl-L-cystéinyl-glycine). Le GSH est distribué principalement dans le cytosol, mais peut également être trouvé dans d'autres compartiments, notamment les mitochondries, les peroxysomes, la matrice nucléaire et le réticulum endoplasmique. Le glutathion, antioxydant et cytoprotecteur reconnu, peut piéger le peroxyde d'hydrogène, l'anion hydroxyle et les oxydants chlorés (Aslani *et Ghobadi*, 2016 ; Pisoschi *et Pop*, 2015).

II.3.2. Les antioxydants exogènes

Les antioxydants exogènes sont des substances que notre corps ne peut pas produire et doivent donc être fournis sous forme de suppléments à partir de sources naturelles ou synthétiques. Les antioxydants synthétiques comprennent des composés ayant des activités antioxydantes, des précurseurs ou des imitateurs d'antioxydants endogènes et des dérivés

d'acides aminés tels que la propionyl-L-carnitine. Les antioxydants naturels sont constitués de vitamines, de composés polyphénoliques, d'acides gras polyinsaturés et de métaux traces (Irrazabal et al., 2021).

II.3.2.1. Vitamine C (acide ascorbique)

La vitamine C La plupart des mammifères sont capables de synthétiser la vitamine C dans leur foie ou dans leurs reins. Ce n'est pas le cas de l'homme qui doit assurer un apport journalier d'environ 100 mg via une alimentation riche en fruits. La vitamine C est, avant tout, un excellent piègeur des ERO (HO^\bullet ou $\text{O}_2^{\bullet-}$). Elle inhibe également la peroxydation lipidique en régénérant la vitamine E à partir de la forme radicalaire issue de sa réaction avec des radicaux lipidiques. Ses fonctions sont nombreuses : contribution au bon fonctionnement du système immunitaire, implication dans la synthèse du collagène et des globules rouges ainsi que dans les mécanismes de métabolisation du fer (Haleng et al., 2007).

II.3.2.2. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des composés hydroxylés aromatiques avec un ou plusieurs cycles aromatiques et un ou plusieurs groupes hydroxyle. Ils comprennent les acides phénoliques, les flavonoïdes, les acides hydroxybenzoïques, les acides hydroxycinnamiques, les lignanes, les tanins, les stilbènes et les polyphénols oxydés. De plus, certains d'entre eux stimulent la synthèse de molécules antioxydantes endogènes dans la cellule. Il a été rapporté que les composés phénoliques présentent une activité antioxydante dans les systèmes biologiques, agissant comme inhibiteurs de radicaux libres, décomposeurs de peroxyde, inactivateurs de métaux ou piègeurs d'oxygène (Sanchez, 2017).

II.3.2.3. Les caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des composés naturels aux propriétés lipophiles ; le b-carotène est le plus important. La plupart des caroténoïdes contiennent un système étendu de doubles liaisons conjuguées, qui est responsable de leur activité antioxydante. Le bêta-carotène est converti en rétinol, qui est essentiel pour la vision. C'est un antioxydant puissant et c'est le meilleur désaltérant de l'oxygène singulet. Le bêta-carotène est présent dans de nombreux fruits, céréales, huiles et légumes (carottes, plantes vertes, courges, épinards) (Fuchs-Tarlovsky, 2013 ; Pham-Huy et al., 2008).

II.4. L'effet du stress oxydatif

II.4.1. Effets du stress oxydatif sur l'ADN

Les ERO, et principalement le radical hydroxyle, réagissent facilement avec les acides nucléiques, en particulier l'ADN, déclenchant une vaste gamme de changements structurels, notamment la modification des bases puriques et du composant sucre, avec une altération ultérieure de la liaison glycosidique, la réticulation des brins et rupture de brin. Tous ces effets sont potentiellement mutagènes, notamment dans le cas de la réplication de l'ADN dans les cellules en prolifération. Les attaques sur les fragments de sucre peuvent provoquer des ruptures de brins, tandis que celles sur les protéines histones peuvent conduire à des liaisons croisées qui interfèrent avec le repliement de la chromatine, la réparation de l'ADN et la transcription (Burton et Jauniaux, 2011 ; Bergamini et al., 2004).

II.4.2. Effets du stress oxydatif sur les lipides

Les lipides (cholestérol, acides gras polyinsaturés) principalement les lipides membranaires cellulaires, sont une cible de l'attaque oxydative et cela peut entraîner des modifications de la perméabilité et de la fluidité de la bicouche lipidique membranaire et altérer considérablement l'intégrité cellulaire, et la formation et l'accumulation de produits d'oxydation des lipides, notamment des oxystérols, hydroperoxydes et endoperoxydes. Ces derniers subissent fragmentation pour produire une large gamme d'intermédiaires carbonylés réactifs tels que les aldéhydes, β -insaturés, les dialdéhydes (MDA) et les céto-aldéhydes. L'accumulation progressive des produits d'oxydation des lipides est un mécanisme de départ des dysfonctionnements tissulaires et cellulaires impliqués dans le vieillissement et dans des maladies bien définies du foie, des reins, des systèmes neurologiques et cardiovasculaires, des cancers, des troubles endocriniens et métaboliques, du diabète (Guéraud et al., 2010 ; Negre-Salvayre et al., 2010).

II.4.3. Effets du stress oxydatif sur les protéines

Étant très actifs, les ERO interagissent avec pratiquement tous les composants cellulaires en modifiant leurs propriétés. La modification des protéines induite par les radicaux libres peut entraîner la perte de leurs fonctions, mais peut également altérer la communication et les informations entrantes de l'environnement, car les organismes vivants utilisent des protéines pour les voies de signalisation intra et intercellulaires (Pruchniak et al., 2015).

III. Le genre Anacyclus

L'Anacyclus est un genre méditerranéen d'herbes principalement annuelles, appartient à la famille des Astéracées, comprenant environ 12 espèces réparties principalement dans le nord-ouest de l'Afrique et est particulièrement bien représentée en Algérie, le Maroc et la Tunisie, mais on le trouve également dans le sud de l'Europe et au Moyen-Orient (Houicher et al., 2018 ; Sarri et al., 2018). Parmi les espèces qui appartiennent à ce genre *A. pyrethrum*, *A. radiatus*, *A. valentinus*, *A. cyrtolepodioides* and *A. clavatus* (Selles et al., 2013). Ces plantes se caractérisent par une étroite similitude morphologique des fleurs (fig. 04) (Sissi et al., 2022).

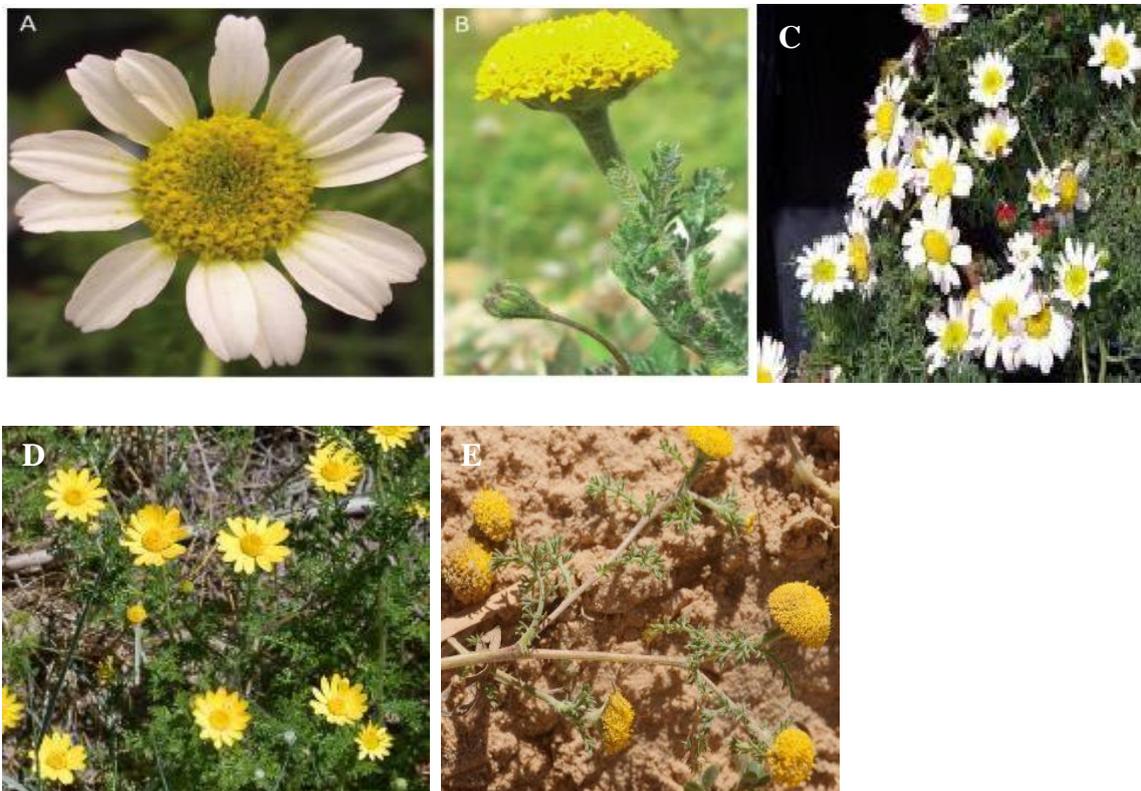


Figure 04 : Les espèces d'Anacyclus. **A**, *Anacyclus clavatus*. **B**, *Anacyclus valentinus*. **C**, *Anacyclus pyrethrum*. **D**, *Anacyclus radiatus*. **E**, *Anacyclus cyrtolepodioides*. (Agudo et al., 2019 ; Yousef et al., 2021)

III.1. Composition chimique

Le genre Anacyclus (Asteraceae) a été utilisé en médecine traditionnelle, notamment *A. pyrethrum*, *A. radiatus*, *A. valentinus*, *A. cyrtolepodioides* et *A. clavatus* connus pour leurs

propriétés médicinales dues à la présence de flavonoïdes et de terpénoïdes (Paksoy et al., 2016). Une étude antérieure sur *A. radiatus loisel* a rapporté l'isolement de l'isorhamnetin, de la quercétine, de l'isoscopoletin, du taraxasterol, du β -sitostérol, du campestérol, du stigmastérol et de la marioline germacranolide. L'étude chimique des plantes égyptiennes du genre *Anacyclus* a conduit à l'identification de lactones sesquiterpéniques ayant des propriétés cytotoxiques, phytotoxiques et antinéoplasiques (Hammami et al., 2011). L'analyse GC/MS a confirmé la présence de vingt composés dans les extraits étudiés des différentes parties (racines, graines, feuilles et capitules) d'*Anacyclus pyrethrum*, dont le N-isobutyl-dodéca-2,4,8,10-tétraénamide, le N-isobutyl-2,4-octadiène-6-monoynamide, l'acide lévulinique, l'acide propanedioïque, acide palmitique, morphinan-6-One,4,5.Alpha.-époxy-3-hydroxy-17-méthyl, 2,4-undécadiène-8,10-diyne-N-tyramide et dodéca-2E,4E, acide nE-triénoïque 4-hydroxyphényléthylamide (Jawhari et al., 2020). L'espèce *Anacyclus clavatus* a fait l'objet de plusieurs investigations chimiques, indiquant la présence de nombreux types de métabolites secondaires, notamment des triterpènes, des stéroïdes, des coumarines, des lignanes, des polyacétylènes (alcamides) et des flavonoïdes (Benahmed et al., 2019).

III.2. L'intérêt d'*Anacyclus*

Les plantes ont toujours été une composante majeure du système de guérison dans le monde et ont joué un rôle essentiel dans le développement de leur histoire et de leur culture. De nombreuses herbes médicinales traditionnelles se sont avérées cliniquement avoir une valeur médicinale et peuvent être utilisées pour prévenir et guérir plusieurs maladies humaines. Aujourd'hui encore, la majorité de la population mondiale utilise les soins de santé à base de plantes antérieurs avec de nombreux types de plantes médicinales (Aliboudhar et al., 2015), parmi lesquelles diverses espèces d'*Anacyclus*, dont *Anacyclus pyrethrum* (L.), *Anacyclus radiatus Loisel*, *Anacyclus valentinus* L. et *Anacyclus clavatus*, qui ont été utilisées traditionnellement pour traiter différentes affections, telles que les troubles digestifs, la douleur et les infections, probablement en raison de leurs propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, analgésiques et antimicrobiennes (Sissi et al., 2022). Certaines espèces présentent un intérêt économique en raison de leurs propriétés insecticides (Vitales et al., 2018).

III.3. *Anacyclus valentinus*

III.3.1. La systématique

Tableau 02 : La classification d'*Anacyclus valentinus* (Usmani et al., 2016 ; Amrouche et al., 2019).

Règne	Plantae
Division	Spermatophyta
Sous-division	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous-classe	Metachlamydae
Ordre	Companulatae
Famille	Compositae ou Asteraceae
Genre	<i>Anacyclus</i>
Espèce	<i>Anacyclus valentinus</i>

III.3.2. Nomenclature

III.3.2.1. Noms vernaculaires

Nom arabe :

- En Algérie : Gartoufa. (Tadjeddine et al., 2013)

Nom français : Anacycle de valence. (Si Moussa et al., 2018)

III.3.2.2. Synonymes botaniques

Anacyclus dissimilis Pomel

Anacyclus hirsutus Lam

Anacyclus lanuginosus Moench

III.3.3. Localisation géographique

Anacyclus valentinus est distribuée en Méditerranée occidentale. principalement localisé au Nord Ouest de l'Afrique ainsi qu'en Algérie (Larbi et al., 2017 ; Si Moussa et al., 2018 ; Álvarez et al., 2020).

III.3.4. Description botanique

Anacyclus valentinus L. appelé valence anacycle est une espèce annuelle (Larbi et al., 2016), satige est droite, striée, légèrement velue, assez simple s'élève à peine jusqu'à 3 dm ; ses sont velues, comme ailées, multifides, c'est-à-dire composés de lanières finement découpés ; ces folioles vont en augmentant de grandeur vers le sommet de la feuille qui, dans son ensemble, paroit en forme de spatule, les folioles de sa base étant fort courtes ; les fleurs sont jaunes (fig. 05), assez grandes, terminales et peu nombreuses, et les pédoncules, sont chargés de poils blancs (Lamarck et Candolle, 1805).



Figure 05 : La fleur d'*Anacyclus valentinus* (Torices et al., 2013).

III.3.5. Composition chimique

L'analyse phytochimique de l'extrait aqueux d'*Anacyclus valentinus* a démontré la présence d'une variété de composés tels que des tanins, des saponines, des flavonoïdes, des glycosides cardiaques, des coumarines, des alcaloïdes, des mucilages et des acides aminés. *Anacyclus valentinus* possède une activité antidiabétique importante et l'extrait aqueux brut contient également certains éléments minéraux tels que le potassium (K) et le calcium (Ca), dont on prétend qu'ils participent à la sécrétion d'insuline (Hellal et al., 2020).

III.3.6. Propriétés pharmacologiques

Anacyclus valentinus est largement utilisée en médecine traditionnelle pour le traitement de diverses maladies, telles que le diabète et le cholestérol. *A. valentinus* a un effet inhibiteur sur les bactéries et les champignons (Larbi et al., 2017).

Chapitre II : Matériel et Méthodes

II.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est représenté par les parties aériennes d'anacycle de valence (*Anacyclus valentinus* L). *Anacyclus valentinus* a été collectée au sud ouest de l'Algérie à la wilaya d'El Bayadh, le mois de mars et mai 2018. El-Bayadh possède un climat semi-aride froid. Sur l'année, la température moyenne à El-Bayadh est de 15.3°C et les précipitations sont en moyenne de 287.2 mm. El Bayadh se situe à 370 km d'Oran, à 520 km d'Alger et à une altitude de 1313 m.

Les parties aériennes d'*Anacyclus valentinus* ont été séchées à une température ambiante, elles ont ensuite été broyées à l'aide d'un broyeur électrique et tamisées finement puis conservées à l'abri de la lumière et de l'humidité (fig. 06).



Figure 06 : Les parties aériennes d'Anacycle de valence avant et après le broyage.

II.1.1. Préparation d'extrait éthanolique d'*Anacyclus valentinus*

L'extrait éthanolique d'*Anacyclus valentinus* (EEA) est obtenu par macération de 500 g de poudre de la partie aérienne dans 2 litre d'éthanol à 95% sous agitation magnétique pendant 30 min. Le mélange a été ensuite filtré à l'aide du papier filtre Whatman N° 1. Le filtrat est évaporé à sec sous pression réduite à une température de 60°C. L'extrait de filtrat est récupéré et pesé puis conservé à 4 ° C pour une utilisation ultérieure (Sujith et al., 2012).

II.1.2. Calcul du rendement d'EEA

Le rendement de l'extrait éthanolique d'anacyclus de valence est calculé par la méthode suivante (Houngnimassoun *et al.*, 2017) :

$$R (\%) = \frac{M \times 100}{M_0}$$

- **R (%)** : rendement d'extraction.
- **M** : masse de l'extrait exprimée en g.
- **M₀** : masse de la poudre d'*Anacyclus valentinus* utilisée pour l'extraction exprimée en g.

II.1.3. Détermination de la composition chimique d'EEA par HPLC/UV

Les constituants d'EEA ont été identifiés par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) couplée à la détection UV (Agilent 1100). La séparation a été réalisée dans un appareil d'HPLC équipé d'une colonne Agilent poroshell 120EC de 100 mm de longueur, de 2.1 mm de diamètre et de 2.7 µm d'épaisseur. La phase mobile était le solvant A (eau / TFA / acide formique (99: 0.25: 0.75)) et le solvant B (acétonitrile) selon le gradient suivant (t / min,% B): (0, 0), (1, 10), (2, 12.5), (3, 15), (9, 80), (10, 100), (11, 100), (14, 0) avec post 5 min. Les conditions analytiques ont été posé comme suit : la température de la colonne a été maintenue à 50°C, un débit de 0.6 ml/min, et des aliquotes (10 µL) ont été directement injectées. L'absorbance a été contrôlée à 270 et 320 nm.

L'échantillon a été traité dans l'extrait d'EEA avec 1: 100 (v / v) de méthanol dilué. Par comparaison de leurs temps de rétention et leurs spectres UV avec différents standards phénoliques (acide trans-cinnamique, acide gallique, acide benzoïque, acide férulique, acide m-coumarique, acide caféique, acide rosmarinique et acide ellagique), des flavonoïdes (catéchine, hespéridine, thymol, galangine, tectochrysin, pinocembrine, acacétine, rutine, chrysin, apigénine, kaempférol et quercétine) et d'autres composés (acide ascorbique, menthol), les constituants d'EEA ont été déterminés.

Des solutions mères ont été obtenues en dissolvant les étalons dans le méthanol à 1 mg/mL. Les constituants ont été quantifiés à l'aide de courbes standards exprimées en mg pour 1 g d'*Anacyclus valentinus* brute.

II.1.4. Détermination des polyphénols

La quantité de contenu phénolique total d'extrait éthanolique d'*Anacyclus valentinus* a été déterminée par la méthode Folin – Ciocalteu (Singleton et al., 1999). En bref, Un volume de 0.5 ml d'extrait a été mélangé avec 0.5 mL de réactif Folin-Ciocalteu, 5 ml d'eau distillée et 0.5 ml de Na₂CO₃ à 10%. L'absorbance a été mesurée à 760 nm en utilisant un spectrophotomètre UV-Visible après 1 h d'incubation à température ambiante. L'acide gallique a été utilisé comme standard de référence et la teneur totale en composés phénoliques a été exprimée en équivalents d'acide gallique en mg par g de matières végétales.

II.1.5. Détermination des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes totaux d'extrait a été déterminée en utilisant la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium (AlCl₃) (Woisky et Salatino, 1998). Une quantité de 1 ml de l'extrait a été mélangée avec 1 ml de chlorure d'aluminium à 2 %. Après l'incubation à température ambiante pendant 10 min, l'absorbance du mélange réactionnel a été mesurée à 430 nm avec un spectrophotomètre UV-Visible. La quercétine a été choisie comme standard et les niveaux de teneur totale en flavonoïdes ont été déterminés en triple et exprimés en équivalents de quercétine en mg par g de matières végétales.

II.1.6. Evaluation de l'activité antioxydante par réduction de DPPH•

Le DPPH• est un radical libre stable qui possède une couleur violet foncé et une forte absorption autour de 517 nm. Les composés antioxydants présents dans le milieu convertissent le radical DPPH• en un produit moléculaire DPPH• plus stable en donnant un électron ou un atome d'hydrogène. Le changement de couleur du violet du radical DPPH• au jaune pâle de forme réduite de DPPH• permet la détermination spectrophotométrique de l'activité antioxydante (Blois, 1958 ; Brand-Williams et al., 1995).

L'évaluation de l'effet antioxydant d'extraits éthanolique d'*Anacyclus valentinus*, est réalisée par la technique de réduction du radical libre du DPPH (2,2, diphényl-1-picrylhydrazyle) suivant la méthode préconisée par Arnous et al. (2002), où un volume de 50 µl de l'EEA testé à différentes concentrations (0.5, 1, 5 et 10 µg/ml) est mélangé avec 1.95 ml d'une solution méthanolique de DPPH (0.025 g/l). Après 30 min d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance est mesurée au spectrophotomètre à 515 nm. Le contrôle positif est

représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons. Tous les essais ont été effectués en triple. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'activité antioxydante, en utilisant la formule suivante :

$$\% \text{ d'activité antioxydante} = [(\text{Abs control} - \text{Abs extrait}) / \text{Abs control} * 100]$$

Abs est l'absorbance à la longueur d'onde de 515 nm.

II.2. Animaux d'expérimentation

Les expériences sont réalisées sur des rats Wistar mâles adultes, ayant un poids corporel compris variant entre 120 et 140 g, provenant de l'institut de Pasteur d'Alger. Les animaux sont acclimatés dans l'animalerie de Département de Biologie, Faculté des sciences, l'université de Saïda.

II.2.1. Protocole d'intoxication

Le produit de la chimiothérapie utilisé pour cette étude est le cisplatine (CP) (fig. 07).

Le cisplatine a été administré aux animaux par une injection intraveineuse, trois doses de 7 mg/Kg de poids corporel est utilisée pendant une période de 6 jours avec une seule dose tout les deux jours (selon [Silici et al., 2011](#) avec quelques modifications).



Figure 07 : Cisplatine.

II.2.2. Protocole de la thérapie

L'extrait éthanolique d'*Anacyclus Valentinus* a été administré aux rats par la voie orale à l'aide d'une sonde gastrique métallique avec une dose de 200 mg/Kg de poids corporel par jour pendant 28 jours.

II.2.3. Répartition des groupes

Les rats Wistar mâles adultes ont été répartis au hasard en un total de quatre groupes de 6 dans chaque groupe, il s'agit de :

Groupe G1 : Les rats ont servi de témoin. Ils ont reçu 1 ml d'eau physiologique par jours pendant 28 jours.

Groupe G2 : Les rats ont reçu 1 ml d'eau physiologique pendant 22 jours, suivis de trois injections intraveineuse (*i.v*) de 7 mg/Kg (de poids corporel) de cisplatine pendant une période de 6 jours, Une injection d'une seule dose tous les deux jours.

Groupe G3 : L'EEA à une dose de 200 mg/kg de poids corporel a été administrée par gavage oral aux rats une fois par jour pendant 28 jours.

Groupe G4 : Les rats ont été traité par l'EEA pendant 28 jours (200 mg / kg de poids corporelle par jour ; administration orale) et exposé en même temps au trois doses de 7 mg/Kg de cisplatine (l'injection intraveineuse d'une seule tous les deux jours).

II.3. Tests neurocomportementaux

Les tests ont été filmé à l'aide d'une caméra-vidéo (logiciel utilisé : AVS Video Editor 7.1 Setup (build 2477)) située à 200 cm de l'arène. Au cours de chaque intervalle entre les phases d'expériences, Chaque dispositif expérimental a été nettoyé avec coton imbibé d'alcool à 70% puis séché. Toutes les bandes vidéo ont été analysées par l'expérimentateur.

II.3.1. Test de la nage forcée (FST)

Le test de la nage forcée (Forced Swimming Test) est devenu un test antidépresseur standard dans les laboratoires pharmaceutiques du monde entier. Les laboratoires universitaires l'utilisent également comme modèle animal simple pour étudier la neurobiologie de la dépression et l'action des antidépresseurs (Porsolt *et al.*, 1977). Le principe est basé sur le fait que l'animal, une fois placé dans une situation stressante, va essayer de s'en extraire. Dans ce test, qui dure 6 minutes, le rat est placé dans un cylindre (39 cm de hauteur et 19 cm de diamètre) rempli aux deux tiers d'eau à 22°C dans lequel il n'y a aucune issue possible (fig. 08). On mesure la durée pendant laquelle l'animal nage activement ou flotte seulement de manière à conserver la tête hors de l'eau. Après s'être débattu dans l'eau, l'animal devient presque immobile, bougeant les pattes de temps à autre pour rester à flot ou retrouver son équilibre. L'immobilité des animaux est mesurée et interprétée comme étant le reflet d'un « désespoir comportemental », qui survient lorsque l'animal réalise qu'il ne pourra s'échapper.



Figure 08 : L'épreuve de la nage forcée.

II.3.2. Le test d'anxiété Clair / Obscur (Light / Dark Test)

Le test Clair / Obscur est l'un des tests les plus largement utilisés pour mesurer le comportement anxieux chez les rongeurs (Richetto *et al.*, 2018).

Le dispositif expérimental de ce test se compose de deux compartiments de même taille (25 cm x 25 cm x 20 cm) l'un est noir et l'autre blanc, reliés entre eux par une ouverture permettant à l'animal de passer librement de l'un à l'autre (fig. 09). L'animal est déposé dans

le compartiment noir, la tête faisant face au mur opposé à l'entrée dans le compartiment blanc. Le test ne débute qu'après 3 minutes d'exploration du milieu par le rat. Le comportement de l'animal est observé durant 5 minutes. Les paramètres mesurés sont : le temps passé dans chacun des compartiments.



Figure 09 : L'épreuve du compartiment Clair / Obscur.

II.3.3. Open Field

Le test d'Open Field est l'un des tests éthologiques les plus populaires pour évaluer le comportement anxieux ainsi que l'activité locomotrice et l'exploration chez les rongeurs. Dans ce test, les animaux sont autorisés à explorer librement une arène ouverte entourée de murs (Kuniishi et al., 2017).

L'arène utilisée est une boîte carrée ouverte (70 cm × 70 cm × 34 cm), avec des murs blanches, à fond noir et des lignes blanches au sol délimitaient des carreaux (10×10 cm) (fig. 10). Chaque rat est initialement placé dans l'un des quatre coins de l'arène, la tête orientée vers un coin. Son comportement est observé pendant 6 minutes.

Six paramètres sont mesurés par l'expérimentateur: le temps de latence (exprimé en secondes), le nombre total de carreaux traversés, le nombre de visites dans les 9 carreaux du centre, le nombre total de redressements, le nombre total de toilettages, le nombre total de défécations.



Figure 10 : L'épreuve d'Open Field.

II.4. Sacrifice des rats

A la fin des tests neurocomportementaux, les rats ont été mis à jeun pendant 16 heures puis ont été anesthésiés par l'inhalation avec de chloroforme avant d'être décapités. Le sang est immédiatement recueilli dans des tubes (héparines, EDTA) étiquetés. Le sang mis dans des tubes héparines a été centrifugé à 3000 tours/min pendant 15 minutes, le plasma a été récupéré dans des tubes sec pour le dosage hormone (cortisol) et des paramètres biochimiques (glycémie, ALAT, ASAT, PAL, γ -GT, urée, créatinine), le sang mis dans des tubes contient l'anticoagulant EDTA a été utilisé pour le dosage des paramètres hématologiques. Le culot cellulaire restant est lavé avec l'eau physiologique. Les érythrocytes sont lysées par addition d'eau distillée glacée avec une incubation de 15 min. Les débris cellulaires sont éliminés par centrifugation à 5000 tr/min pendant 5 min. Le lysat érythrocytaire est ensuite récupéré afin de doser les paramètres du stress oxydatif au niveau des érythrocytes.

Les animaux sacrifiés ont été disséqués pour le prélèvement de certains organes : foie, cœur, reins et cerveau, qui ont été lavé avec une solution saline de chlorure de sodium à 0.9 % et pesés, puis une partie des organes a été fixé dans le formol à 10 % pour réaliser l'étude histologique et le reste a été stockés au congélateur à -80 °C pour le dosage des paramètres du

stress oxydatif et les marqueurs d'inflammation. Le péritoine a été rincé dans le PBS (10 mM PO_4^{3-} /300 mM NaCl, pH 7.4).

II.4.1. Préparation de la matrice mitochondriale

La préparation de la matrice mitochondriale se fait selon la méthode décrite par [Rustin et al. \(1994\)](#). Après prélèvement, une partie des organes récupérés (foie, reins, cœur) a été rapidement placé dans un tampon glacé d'isolation des mitochondries (10 mM tris-HCl, pH 7.4, 250 mM Sucrose, 0.5 mM EDTA et 0.5% bovine serum albumin (BSA)). La préparation est ensuite homogénéisée, L'homogénat récupéré est centrifugé à 10000 rpm pendant 10 min à 4°C. Le culot mitochondriale a été lavé deux fois avec le tampon d'isolation et remis en suspension dans le même tampon. La suspension mitochondriale est congelé-décongelé de 6 à 8 fois avec homogénéisation répétée, afin d'éclater les mitochondries. Après centrifugation de 10 min à 10000 rpm, le surnageant est utilisé pour déterminer les paramètres du stress oxydatif.

II.4.2. Préparation de l'homogénat tissulaire du foie

Une portion du foie a été homogénéisée dans une solution saline à 0.9 % grâce à un homogénéisateur électrique. Après trois centrifugation de l'homogénat à 4 °C pendant 30 minutes à 200 g, le surnageant a été congelé à -80 °C jusqu'à la quantification de facteur de nécrose tumorale (TNF- α).

II.4.3. Préparation de liquide péritonéale

Le péritoine a été broyé avec la solution saline tamponnée au phosphate (PBS). Le tout a été centrifugé à 300 g pendant 15 min. Passé ce délai le surnageant a été récupéré et congelé en le stockant à -80 °C jusqu'au dosage de prostaglandine E2 (PGE2).

II.5. Dosage des paramètres biochimiques

II.5.1. Aspartate-aminotransférase (ASAT)

L'activité enzymatique d'aspartate aminotransférase (ASAT/ GOT) a été mesurée selon le Kit BIOLABO. L'asparate aminotransferase catalyse le transfert du groupement amine de

l'aspartate à l'oxoglutarate avec formation du glutamate et de l'oxaloacétate. Ce dernier est réduit en malate par la malate déshydrogénase (MDH) en présence du nicotinamide adénine di nucléotide (NADH) réduite.

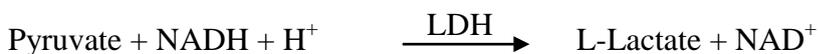
La réaction mesurée cinétiquement à 340 nm par la diminution de l'absorbance résultant de l'oxydation de la NADH en NAD^+ est proportionnelle à l'activité enzymatique d'ASAT présente dans l'échantillon.



II.5.2. Alanine aminotransférase (ALAT)

La détermination cinétique de l'activité alanine aminotransférase (ALAT/ GPT) a été réalisée en utilisant le kit BIOLABO. L'alanine aminotransférase catalyse le transfert du groupement amine de l'Alanine à l'oxoglutarate avec formation du glutamate et du pyruvate. Ce dernier est réduit en lactate par le lactate déshydrogénase (LDH) en présence du nicotinamide adénine dinucléotide réduit (NADH).

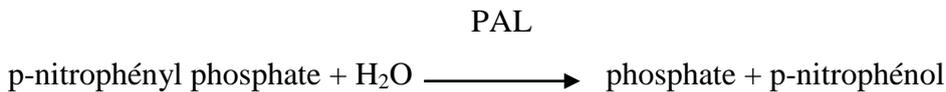
La réaction mesurée cinétiquement à 340 nm par la diminution de l'absorbance résultant de l'oxydation de la NADH en NAD^+ est proportionnelle à l'activité enzymatique d'ALAT présente dans l'échantillon.



II.5.3. Phosphatase alcaline (PAL)

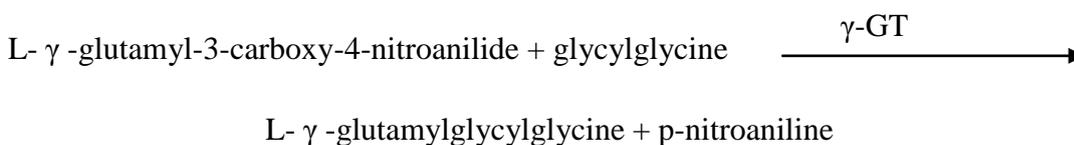
Le dosage de phosphatase alcaline (PAL) a été réalisé selon le Kit BIOLABO. En milieu alcalin, La phosphatase alcaline catalyse l'hydrolyse de p-nitrophenyl phosphate produisant le p-nitrophenol et le phosphate.

La vitesse d'apparition du p-nitrophénol, proportionnelle à l'activité PAL est mesurée à 405 nm.



II.5.4. Gamma glutamyl transférase (γ -GT)

Le dosage de gamma-glutamyl transférase (γ -GT) a été réalisé selon le Kit BIOLABO. Le substrat L- γ -glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide, en présence de glycyglycine, est converti par la γ -GT de l'échantillon, en L- γ -glutamylglycyglycine et p-nitroaniline. La vitesse de formation du p-nitroaniline, directement proportionnelle à l'activité γ -GT dans le plasma, est mesurée à 405 nm. Le schéma réactionnel est le suivant :

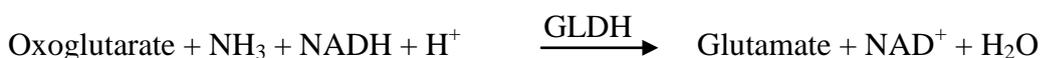
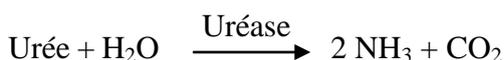


II.5.5. Glycémie

Le glucose sanguin est estimé en utilisant le kit BIOLABO. Le glucose est oxydé par le glucose oxydase en acide gluconique et le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) qui réagit en présence de peroxydase avec le chloro-4-phénol et le 4-amino-antipyrine pour formé une quinonéimine rouge. L'absorbance du complexe coloré, proportionnelle à la concentration en glucose dans l'échantillon est mesurée à 500 nm.

II.5.6. Urée

L'urée sanguine est dosée en cinétique selon le Kit BIOLABO. L'urée est hydrolysée en présence d'eau et d'uréase pour produire de l'ammoniac (NH_3) et du dioxyde de carbone (CO_2). L'ammoniac produit dans la première réaction associé à l'oxoglutarate et au NADH en présence de glutamate déshydrogénase (GLDH) forme du glutamate et du NAD^+ .



La diminution de l'absorbance due à la conversion du NADH en NAD^+ , mesurée pendant un temps donné à 340 nm, est proportionnelle à la concentration en urée dans l'échantillon.

II.5.7. Créatinine

La méthode utilisée pour la détermination de la créatininémie repose sur la réaction de [Jaffe \(1886\)](#), en utilisant le kit BIOLABO. Le principe général de cette méthode consiste à mesurer, à 490 nm, l'intensité de la coloration du complexe coloré formé par la créatinine et l'acide picrique en milieu alcalin. La vitesse de formation de la coloration étant proportionnelle à la concentration en créatinine dans l'échantillon.

II.5.8. Cortisolémie

Le taux de cortisol sériques a été mesuré par la méthode immuno-enzymatique ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) selon le kit DIA-source ImmunoAssays. Le principe du test immuno-enzymatique suivant suit le scénario de liaison compétitif typique. Une compétition se produit entre un antigène non marqué (présent dans les calibrateurs, les échantillons) et un antigène marqué par une enzyme (conjugué) pour un nombre limité de sites de liaison d'anticorps sur la plaque à micropuits. Les procédures de lavage et de décantation éliminent les matières non liées. Après l'étape de lavage, le substrat enzymatique est ajouté. La réaction enzymatique est terminée par addition de la solution d'arrêt. L'absorbance est mesurée sur un lecteur de plaque de microtitration. L'intensité de la couleur formée est inversement proportionnelle à la concentration de cortisol dans l'échantillon. Les résultats ont été exprimés en ng/mL.

II.5.9. Numération de formule sanguine (NFS)

Ce test a été réalisé par l'automate et une numération-formule se fait automatiquement.

II.6. Marqueurs d'inflammation

II.6.1. Dosage de la prostaglandine E2

Le taux de prostaglandine E2 au niveau de liquide péritonéal a été déterminé par la technique de dosage immunoenzymatique par inhibition compétitive. Ce test est basé sur la technique de liaison compétitive dans laquelle la PGE2 présente dans l'échantillon entre en compétition avec une quantité fixe de PGE2 marquée à la peroxydase de raifort (HRP) pour des sites sur un anticorps monoclonal spécifique de la PGE2 pré-enduit sur une microplaque. Après un

lavage pour éliminer l'excès de conjugué et l'échantillon non lié, une solution de substrat est ajoutée aux puits pour déterminer l'activité enzymatique liée. Le développement de la couleur est arrêté et l'absorbance est lue à 450 nm. L'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la concentration de PGE2 dans l'échantillon.

II.6.2. Dosage du facteur de nécrose tumorale (TNF- α)

Les concentrations en facteur de nécrose tumorale (TNF- α) dans l'homogénat tissulaire hépatique sont déterminées par une méthode ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) qui est un dosage immuno-enzymatique. Ce dosage utilise un anticorps spécifique du TNF- α déposé sur une plaque à 96 puits. Les standards et les échantillons sont pipetés dans les puits et le TNF- α présent dans un échantillon est lié aux puits par l'anticorps immobilisé. Les puits sont lavés et un anticorps anti-TNF- α biotinylé est ajouté. Après avoir éliminé l'anticorps biotinylé non lié, la streptavidine conjuguée à la HRP est pipetée dans les puits. Les puits sont à nouveau lavés, l'acide phosphorique est ajouté aux puits et la couleur se développe proportionnellement à la quantité de TNF- α lié. L'intensité de la couleur est mesurée à 450 nm.

II.7. Dosage des paramètres du stress oxydatif

II.7.1. Dosage du malondialdéhyde (MDA)

L'activité de malondialdéhyde (MDA), un marqueur de la peroxydation lipidique a été évalué selon la méthode de [Yagi et al. \(1976\)](#). 20 μ L de l'échantillon ont été ajoutés à 0.8 mL de H₂SO₄. Après agitation, 100 μ L de solution d'acide phosphotungstique (10% : P/V) sont ajoutés, le mélange est reposé 5 min dans l'obscurité puis centrifugé à 1600 tours/min pendant 10 min. Le culot est re-suspendu dans 0.4 mL d'acide sulfurique (H₂SO₄) additionnés de 60 μ L d'acide phosphotungstique puis centrifugé de nouveau 10 min à 1600 tours/min avec l'élimination du surnageant. Le culot résultant est dissous dans 2 mL d'eau distillée et 0.5 mL de réactif TBA (335 mg d'acide thiobarbiturique dans 50 mL d'eau + 50 mL d'acide acétique 99%). Le mélange a été chauffé dans un bain marie à 95 °C pendant 60 min. Après refroidissement du mélange dans un bac à glace, une extraction par 2.5 mL de butanol a été

réalisée. L'absorbance est lue sur la phase butanolique fluorescente à 553 nm. La courbe linéaire de MDA a été établie en utilisant tétraméthoxypropane (TMP) comme standard.

II.7.2. Dosage du superoxyde dismutase (SOD)

Le dosage du superoxyde dismutase (SOD) est effectué selon la méthode d'[Elstner et al. \(1983\)](#). La SOD est une métalloprotéine qui catalyse la dismutation de l'anion superoxyde (O_2^-) en oxygène (O_2) et en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Pour ce dosage, 250 μ L de l'échantillon sont ajoutés à 400 μ L du mélange éthanol/chloroforme (62.5/37.5 : V/V). Le mélange a été centrifugé à 4000 tr/min pendant 5 min. On mélange 5 μ L de surnageant récupéré, 10 μ L de tampon phosphate et 100 μ L de réactif 1. Puis l'ajout de 10 μ L de NADPH à ce mélange avec une incubation pendant 15 min à une température ambiante. Puis 100 μ L de réactif 2 sont ajoutés. Après incubation de 20 min, La mesure a été réalisée par spectrophotométrie à 540 nm.

Réactif 1 : 5 mL de tampon phosphate (0.2M/L, pH 7.4), 1 mL d'hydroxylamine chlorure (0.69 mg/mL), 1 mL d'antraquinone (0.1332 mg/mL) et 1 mL de diaphorase (1 mg/mL d'une solution de 15 U/mL).

Réactif 2 : 6 mL de sulfanilamide à 10 mg/mL d'HCl à 25% et 6mL de naphylethylène diamine à 0.2 mg/mL.

II.7.3. Dosage du catalase (CAT)

La mesure d'activité de la catalase (CAT) repose sur le principe de [Lück \(1963\)](#), la CAT catalyse la décomposition du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en molécule d'eau (H_2O). La réaction enzymatique est initiée par addition à 1 ml de l'échantillon, 1 mL de H_2O_2 et 1 mL de tampon phosphate (50 mMol/L, pH 7.4) et 2 mL de catalase (3 U/ μ L). Le mélange est incubé pendant 5 min. Puis, 1 mL du réactif sulfate d'oxyde de titanium ($TiOSO_4$) (1,7 g dans 500 mL d' H_2SO_4 2N) a été ajouté. La longueur d'onde utilisée pour doser H_2O_2 en spectrophotométrie est 240 nm.

II.7.4. Dosage du glutathion peroxydase (GSH-Px)

Le dosage de la glutathion peroxydase (GSH-Px) est effectué selon la méthode de [Rotruck et al. \(1973\)](#). Le principe de dosage de la GSH-Px est basé sur une réaction couplée entre la GSH-Px et la glutathion réductase (GR). Pour un dosage spectrophotométrique, on mélange 0.2 mL de l'échantillon, 0.2 mL de tampon tris-Hcl, 0.1 mL d'azide de sodium, 0.2 mL de glutathion, et 0.1 mL de peroxyde d'hydrogène. On les incube ensuite pendant 10 min à 37 °C puis on ajoute 0.4 mL de l'acide trichloracétique (TCA) à 10%. Le mélange est ensuite centrifugé. Le surnageant est récupéré et on lui ajoute le réactif d'Ellman (19.8 mg d'acide 5, 5'-dithiobisnitro benzoïque (DTNB) dans 100 mL de solution de nitrate de sodium à 0.1%). La mesure a ensuite été réalisée par spectrophotométrie à 405 nm.

II.7.5. Dosage du monoxyde d'azote (NO)

Le niveau de nitrites utilisé comme indicateur de la production de monoxyde d'azote (NO), a été déterminé grâce à l'essai de Griess ([Alam et al., 2013](#)). Brièvement, il s'agit d'ajouter à 1 mL d'échantillon, 4 mL de nitroprussiate de sodium à 10 mM et 1 mL d'une solution saline du tampon phosphate (pH 7.4), et de laisser le mélange reposer pendant 150 min à 25 °C. Par la suite, 0.5 mL de réactif de GRIESS (1% de sulfanilamide, 2% acide phosphorique et 0.1% de N-(1-Naphthyl)ethylenediamine dihydrochloride (NEDD)) a été ajoutée à 0,5 ml de mélange. Le mélange est incubé pendant 30 minutes en le protégeant de la lumière. L'absorbance est lue à 535 nm. L'acide ascorbique ou l'hydroxytoluène butylé (BHT) sont utilisés comme étalon.

II.7.6. Dosage des thiols

Les Thiols sont dosés selon la méthode de [Riddels et al. \(1979\)](#). Le principe du dosage de l'oxydation des protéines est basé sur la mesure des groupements sulfhydryle (-SH) réagissant avec le 5-5'-DiThiobis (2-acide NitroBenzoïque) (DTNB) pour former un composé coloré ($\lambda = 412$ nm). Un volume de 20 μ L d'échantillon, dilué au 1/10, est ajouté au PBS pH 7.4 (dans de la glace) à 47 μ L d'une solution de précipitation des protéines. Le mélange est mis en agitation par un vortex pendant 5 min et après centrifugé ce mélange à 2000 g pendant 10 min, on prélève 100 μ l du surnageant récupéré et filtré, auquel on ajoute

12 µL d'une solution de NaOH (1 mol/L), et 50 µL du réactif d'Ellman. Après une incubation à une température ambiante pendant 15 min, l'absorbance des échantillons est mesuré par spectrophotomètre à 412 nm. Une gamme étalon a été réalisée à partir de dilutions de glutathion réduit dans du tampon phosphate.

Réactifs

- Solution de précipitation des protéines (acide métaphosphorique 1.6 % - d'EDTA 0.02 % NaCl 30 % dans de l'eau).
- Réactif d'Ellman : 5,5'-dithio-bis-(2-nitrobenzoate) 1 mmol/L – EDTA 0.034 mmol/L.

II.8. Histologie

L'analyse histologique des organes prélevés a été réalisée selon La technique décrite par [Drury et Wallington \(1980\)](#) qui comporte les étapes suivantes :

- **La fixation** a pour but la conservation des structures et le durcissement des pièces. Elle doit se faire immédiatement après le prélèvement, par immersion du matériel dans un grand volume de liquide fixateur. Les liquides fixateurs les plus utilisés sont le formol ou le liquide de Bouin (mélange de formol et d'acide picrique). La durée de la fixation varie selon le volume des prélèvements (de quelques heures pour un petit fragment biopsique à plusieurs semaines pour un cerveau humain entier).

Les échantillons de notre étude sont introduits dans le formol à 10%.

- **L'inclusion** a pour but de permettre la réalisation de coupes fines et régulières. Le milieu d'inclusion le plus utilisé est la paraffine. Comme la paraffine est hydrophobe, le prélèvement doit d'abord subir une déshydratation (par immersion dans des bains d'alcool de degré croissant puis dans des bains de toluène) avant d'être coulé dans un moule contenant de la paraffine fondue par chauffage et devenue liquide, qui infiltre alors toute la pièce. Après refroidissement, on se trouve en présence d'un bloc de paraffine, dur, à l'intérieur duquel la pièce prélevée est incluse. Dans certains cas, on utilise d'autres milieux d'inclusion (celloïdine, résines plastiques, etc.).

- **Les coupes** du bloc de paraffine sont faites avec un microtome permettant de réaliser des tranches de section (coupes) de 2 à 5 µm d'épaisseur. Les coupes sont recueillies sur des lames de verre.

- **Les colorations** réalisées sur lames, accentuent les contrastes pour mieux reconnaître les différents éléments de la préparation. Comme les colorants sont en solution aqueuse, les coupes doivent d'abord subir une réhydratation. Celle-ci est effectuée après déparaffinage des coupes (par la chaleur et des bains de toluène) en immergeant les lames dans des bains d'alcool de degré décroissant puis dans l'eau distillée. Les colorations de routine utilisent deux colorants différents : l'Hématoxyline Eosine (HE) associe l'hématoxyline qui colore les noyaux en violet et l'éosine les cytoplasmes en rose.

- **Le montage** : Après avoir subi une déshydratation (par bains d'alcool de degré croissant puis bains de toluène), les coupes colorées sont montées entre lame et lamelle avec une résine synthétique dont l'indice de réfraction est voisin de celui du verre. On dispose alors d'une « préparation microscopique » (simplement appelée « lame » dans le langage courant) prête à être observée au microscope optique.

II.9. Analyses statistiques

Les résultats sont exprimés par la moyenne (M) des valeurs individuelles, affectées de l'erreur standard à la moyenne (S.E.M). La comparaison de deux moyennes est effectuée par un test t de Student. La comparaison de plusieurs moyennes est effectuée par une analyse de variance (ANOVA) avec le facteur intoxication (CP, T) et/ou le facteur traitement (EEA, Solvant) suivie éventuellement du test Post-Hoc Student-Newman-Keuls.

Les ANOVA à mesures répétées ont été utilisées pour l'analyse du facteur temps. Une probabilité $p < 0,05$ est considérée significative. Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel SigmaStat (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

Chapitre III : Résultats et discussions

Partie I: Composition chimique et activité antioxydante d'extrait éthanolique d'*Anacyclus valentinus*

I.1. Résultats

I.1.1. Rendement d'extraction et les caractères organoleptiques d'EEA

L'extraction par l'éthanol a permis d'obtenir un rendement de 6.67 %.

L'extrait obtenu possède les propriétés organoleptiques suivantes :

- Aspect : Visqueux
- Couleur : vert brillant
- Odeur : Forte et agréable

I.1.2. Détermination de la composition chimique d'extrait éthanolique d'*Anacyclus valentinus* par HPLC

Les résultats de l'identification des composés chimiques par HPLC d'extrait éthanolique d'*Anacyclus valentinus* sont représentés dans le [tableau 03](#) et [fig. 11](#).

L'analyse chromatographique a permis de recenser 20 composés : lutéoline, galangine, catéchine, thymol, quercétine bis méthylée, quercétine, rutoside, acacétine, hespéridine, apigénine, kaempférol, pinocembrine, chrysine, acide gallique, acide caféique , acide ascorbique, acide férulique, m-coumarique, acide rosmarinique, acide trans cinnamique.

A l'issue de ces résultats, il ressort que la quercétine (1.36 mg/g), l'acide férulique (1.24 mg/g), la quercétine bis méthylée (1.16 mg/g) et l'acide caféique (1.01 mg/g) sont les constituants majoritaires d'EEA.

Tableau 03 : Composition d'extrait éthanolique d'*Anacyclus valentinus* (EEA) par HPLC/UV (mg/ g).

Nombre de pic	Composés	Quantité (mg/ g EEA)	Temps de rétention (min)
1	Lutéoline	0.45	0.42
2	Galangine	0.11	0.59
3	Catéchine	0.89	2.37
4	Thymol	0.12	2.68
5	Quercétine bis méthylée	1.16	3.74
6	Quercétine	1.36	4.01
7	Rutoside	0.26	4.57
8	Acacétine	0.17	5.25
9	hespéridine	0.1	5.41
10	Apigénine	0.02	5.81
11	Kaempférol	0.30	6.73
12	Pinocembrine	0.19	7.18
13	Chrysin	0.95	7.252
14	Acide gallique	0.18	2.11
15	acide Caféique	1.01	2.37
16	acide ascorbique	0.12	2.68
17	Acide Férulique	1.24	3.74
18	m-coumarique	0.33	4.01
19	Acide Rosmarinique	0.41	4.57
20	Acide Trans cinnamique	0.11	6.73

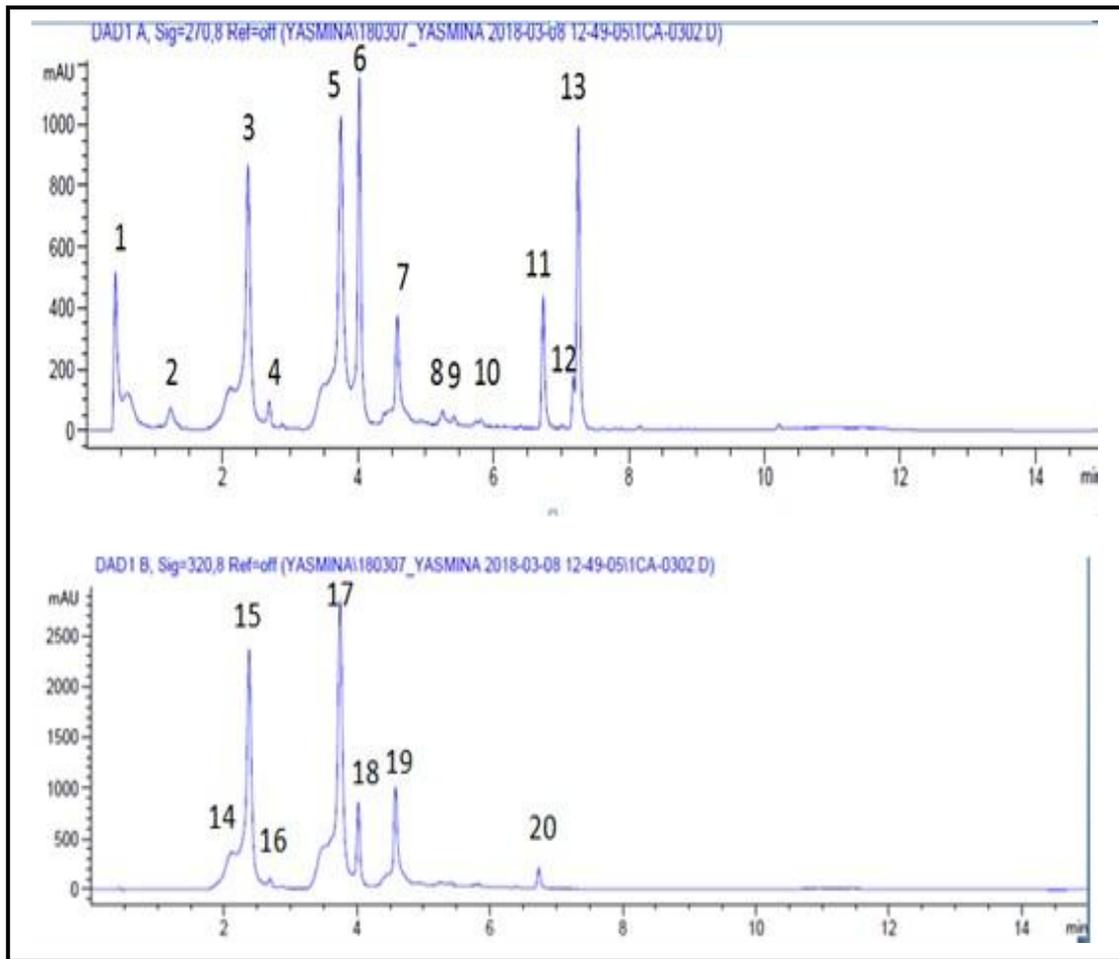


Figure 11 : Chromatogrammes par analyse HPLC/UV d'extrait éthanolique d'*Anacyclus valentinus* à une longueur d'onde de 270 et 320 nm.

I.1.3. Dosage des polyphénols et flavonoïdes d'extrait éthanolique d'*Anacyclus valentinus*

Les résultats de l'analyse colorimétrique des polyphénols totaux et les flavonoïdes de l'extrait éthanolique d'*Anacyclus valentinus* rapportés dans le [tableau 04](#). Cet extrait contient 261.25 mgEAG/g et 81.87 mgEQ/g de polyphénols totaux et flavonoïdes, respectivement.

Les résultats obtenus après le dosage des polyphénols et flavonoïdes dans l'extrait éthanolique d'*Anacyclus valentinus* montre que l'EEA contient de fortes teneurs en polyphénols totaux et flavonoïdes.

Tableau 04 : Quantité de polyphénols (mgEAG/g) et flavonoïdes (mgEQ/g) de l'extrait éthanolique d'*Anacyclus valentinus*.

Extrait	Polyphénols EEA mgEAG/g	Flavonoïdes EEA mgEQ/g
Extrait éthanolique d' <i>Anacyclus valentinus</i>	261.25 ± 2.55	81.87 ± 1.69

I.1.4. L'activité antioxydante d'EEA : Piégeage du radical DPPH•

L'activité anti-radicalaire de piégeage d'extrait éthanolique d'*Anacyclus valentinus* vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée par le test de scavenging de ce radical (fig. 12).

Les résultats montrent que cet extrait a une activité anti-radicalaire très importante. L'extrait EEA avaient une concentration efficace médiane (CE₅₀) = 1.74 µg/mL.

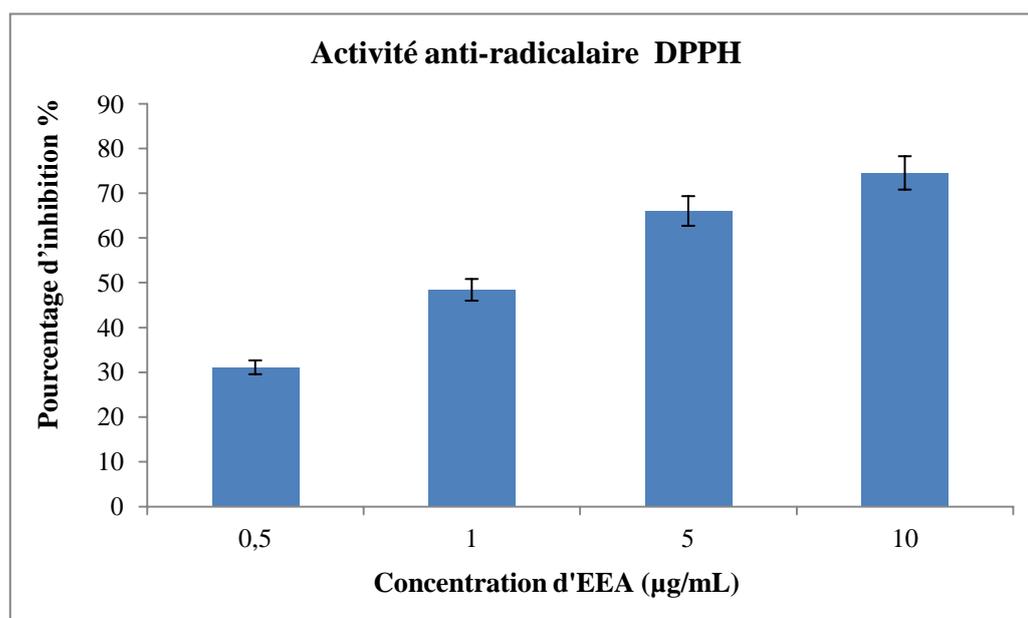


Figure 12 : Pouvoir anti-radicalaire (RSA%) des différentes concentrations d'extrait éthanolique d'*Anacyclus valentinus* (0.5, 1, 5, 10 µg/mL). Les valeurs sont exprimées en moyenne ± SEM (n=3).

I.2. Discussion

D'après les résultats de l'HPLC/UV, on remarque que la composition chimique de notre extrait est différente de celle obtenu par Larbi et al. (2017) qui ont rapporté l'absence de certains composés dans l'extrait méthanolique d'*Anacyclus valentinus* tels que galangine,

rutoside, acacétine, hespéridine, pinocembrine, chrysine, acide gallique, acide caféique, m-coumarique, acide rosmarinique et acide trans cinnamique, avec la présence de myricétine, acide sinapique, acide malique, acide azélaïque et lycoperodine. Canli et al. (2017) ont montré que l'extrait éthanolique d'*Anacyclus pyrethrum* (l'un des espèces du genre *anacyclus*) se compose principalement d'acide palmitique, naphthalène, décahydro-1,1-diméthyl, acide 9,12-octadécadiénoïque (Z, Z), N-isobutyl-tétradéca- 2,4-diénamide, 7-tétradécénal, (Z), benzofuran2-carboxaldéhyde et Le gamma.-sitostérol. Ces éléments sont différents des composants d'extrait éthanolique d'*Anacyclus valentinus*.

Notre extrait contient une forte teneur en polyphénols et flavonoïdes, ces résultats s'opposent à ceux de Larbi et al. (2017) qui ont rapporté des quantités moins importantes des polyphénols et flavonoïdes dans l'extrait méthanolique d'*Anacyclus valentinus*.

D'après nos résultats, l'EEA est capable à piéger les radicaux libres par le test DPPH. Le bon pouvoir antioxydant d'EEA est dû à sa richesse en polyphénols et flavonoïdes. Les flavonoïdes et les composés phénoliques seraient les principaux composants responsables de l'activité antioxydante des extraits. D'après Kanfon et al. (2018), il existe une relation directe entre les teneurs en flavonoïdes, en composés phénoliques et l'activité antioxydante. Les antioxydants agissent comme un réseau coopératif, employant une série de réactions redox (Ali et Alqurainy, 2006).

La CE₅₀ de l'extrait méthanolique d'*Anacyclus pyrethrum*, rapportée par les travaux d'Ali et al. (2013), est 26.30 µg/ml. L'EEA a montré une activité antiradicalaire plus élevée que l'extrait méthanolique d'*Anacyclus pyrethrum*.

Partie II : Effet de l'EEA sur la neurotoxicité induite par le cisplatine

II.1. Résultats

II.1.1. Les tests neurocomportementaux

II.1.1.1. Test de la nage forcée : type dépressif

Les résultats enregistrés présentent un temps d'immobilité (TIM) significativement ($p < 0.05$) supérieur chez les rats du groupe G2 intoxiqués par le cisplatine (7 mg/Kg) par rapport à celui des rats témoins (G1). De même, l'analyse statistique montre une diminution significative ($p < 0.001$) au TIM chez les rats de groupe G4 exposés au cisplatine et traités par l'EEA en comparaison avec les rats du groupe G2 (fig. 13).

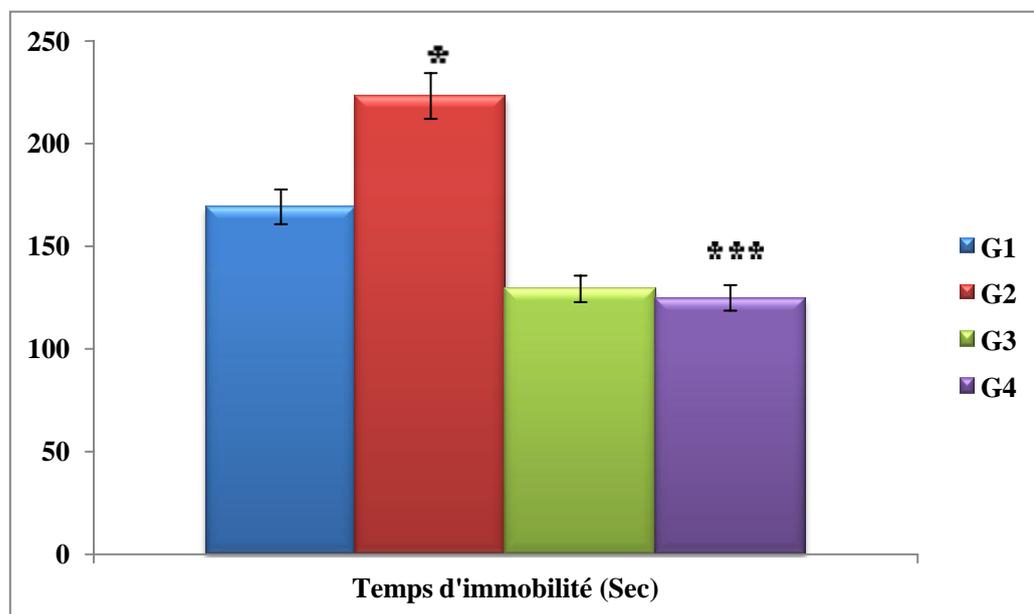


Figure 13 : Le temps d'immobilité durant le test de la nage forcée chez les groupes G1 (témoins), G2 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours)), G3 (200 mg/kg d'EEA (28 jours)) et G4 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) et 200 mg/kg d'EEA (28 jours)). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (* : $p < 0.05$; *** : $p < 0.001$)

II.1.1.2. Le test du compartiment Obscurité/ Lumière (Light/ Dark Test)

L'analyse statistique concernant ce test d'anxiété montre que les rats du groupe G2 (exposés au cisplatine) ont montré un temps de séjour dans le compartiment obscur significativement

plus long ($p < 0.05$) que les rats du groupe témoin (G1). Ainsi, entraînant une diminution significative ($p < 0.05$) au temps passé dans le compartiment clair. Tandis que l'administration orale de l'EEA aux rats intoxiqués par le cisplatine (G4) n'a provoqué aucun changement significatif ($p > 0.05$) dans le temps passé dans chacun des compartiments clair et obscur tout en comparant au groupe G2 (rats intoxiqués) (fig. 14).

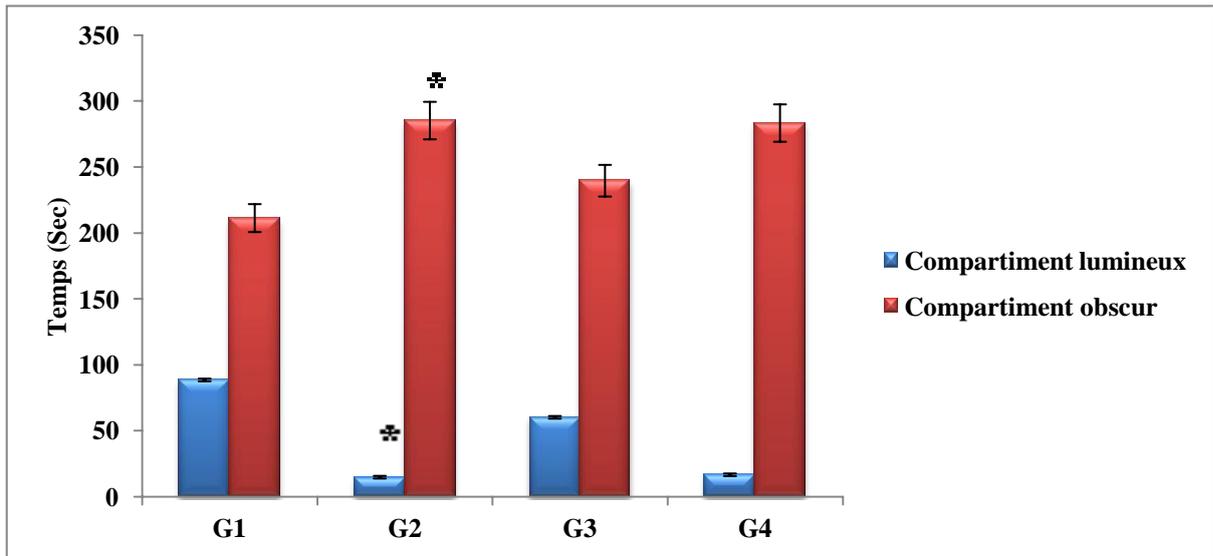


Figure 14 : Comparaison entre le temps de séjour passé dans les compartiments obscur/ clair chez les lots G1 (témoins), G2 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours)), G3 (200 mg/kg d'EEA (28 jours)) et G4 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) et 200 mg/kg d'EEA (28 jours)). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (* : $p < 0.05$)

II.1.1.3. Evaluation d'un comportement d'exploration : test d'Open Field

Les résultats de test d'open field sont présentés dans le [tableau 05](#). Nous avons observé que l'exposition au cisplatine provoque une diminution significative au nombre total de carreaux traversés, au nombre de redressement ($p < 0.001$) et au nombre de toilette ($p < 0.05$) avec une augmentation significative au temps de latence ($p < 0.01$) chez les rats du groupe G2 (qui ont reçu uniquement le cisplatine) comparés au groupe témoin (G1). Ces résultats montrent aussi qu'il y a une élévation significative au nombre de carreaux traversés au centre ($p < 0.01$), total de carreaux traversés, de redressement et de toilette ($p < 0.001$) avec une réduction

significative au temps de latence ($p < 0.05$) chez les rats exposés au CP et traités par l'EEA (G4) comparativement aux rats exposés seulement au CP (G2). Dans le même contexte, les rats traités par l'EEA (G3) présentent une diminution significative ($p < 0.01$) du nombre de redressement en comparaison avec les rats témoins (G1).

Les données obtenues ne présentent aucune différence significative chez tous les groupes concernant le nombre de défécation.

Tableau 05 : La comparaison des différents paramètres du Test d'open Field chez les groupes G1 (témoins), G2 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours)), G3 (200 mg/kg d'EEA (28 jours)) et G4 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) et 200 mg/kg d'EEA (28 jours)). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (***) : $p < 0.001$; ** : $p < 0.01$; * : $p < 0.05$)

Les paramètres d'open field	Les groupes			
	G1	G2	G3	G4
Temps de latence (Sec)	0,16 \pm 0,16	3,33 \pm 1,20**	0,83 \pm 0,47	1 \pm 0,36*
Nombre total des carreaux traversés	151,33 \pm 5,81	30,33 \pm 10,20***	129 \pm 3,56	130,16 \pm 13,85***
Nombre des carreaux traversés au centre	2,66 \pm 0,91	1,16 \pm 0,98	5,66 \pm 2,56	8,83 \pm 1,83**
Nombre de redressement	21,33 \pm 1,38	4 \pm 1,57***	14 \pm 2,62**	21 \pm 3,07***
Nombre de toilettage	3,33 \pm 0,91	1 \pm 0,44*	4 \pm 0,25	9,83 \pm 1,04***
Nombre de défécation	2,66 \pm 0,76	1,16 \pm 0,60	3,83 \pm 0,94	3 \pm 0,36

II.1.2. Histologie de cerveau et cervelet

Chez le groupe témoin (G1) et le groupe traité par l'EEA (G3), aucun changement histopathologique n'a été observé dans le cerveau et le cervelet des rats qui ont présenté une structure tissulaire normale. Les rats exposés au cisplatine (groupe G2) ont montré une réaction inflammatoire lymphocytaire dans le cerveau et une diminution de la population cellulaire avec une dégénérescence microkystique dans le cervelet. Tandis que l'administration de l'*Anacyclus valentinus* aux rats exposés au cisplatine (groupe G4) a montré une légère diminution de la population cellulaire dans le cervelet et un cerveau subnormale (fig. 15 et 16).

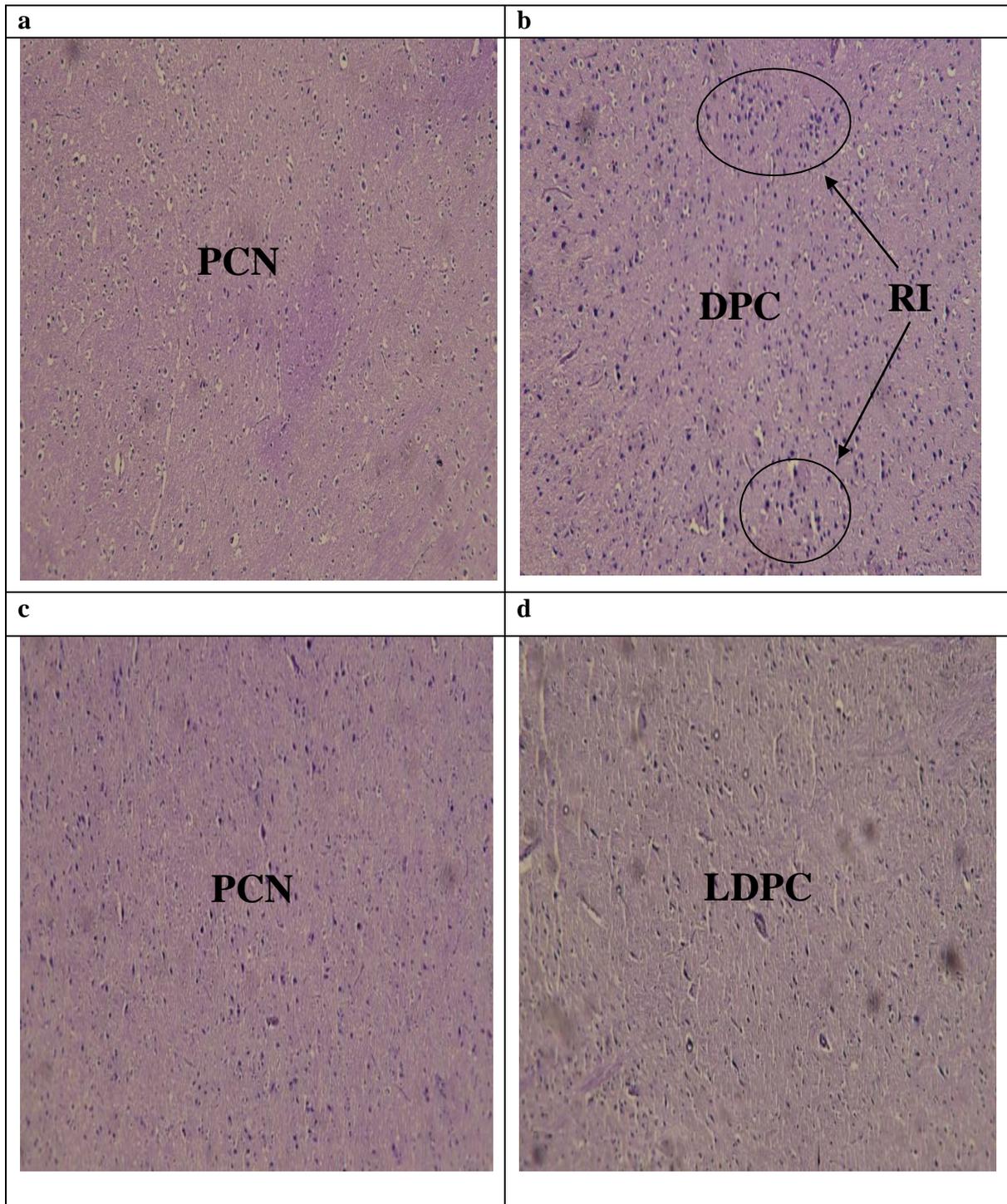


Figure 15 : Examen microscopique du tissu de cerveau chez les rats de groupe G1 (a), G2 (b), G3 (c) et G4 (d). G1 : témoins ; G2 : trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) ; G3 : 200 mg/kg/j d'EEA (28 jours) ; G4 : trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) et 200 mg/kg/j d'EEA (28 jours) en même temps.

DPC : diminution de la population cellulaire, **LDPC** : légère diminution de la population cellulaire, **PCN** : parenchyme cérébral normal, **RI** : réaction inflammatoire.

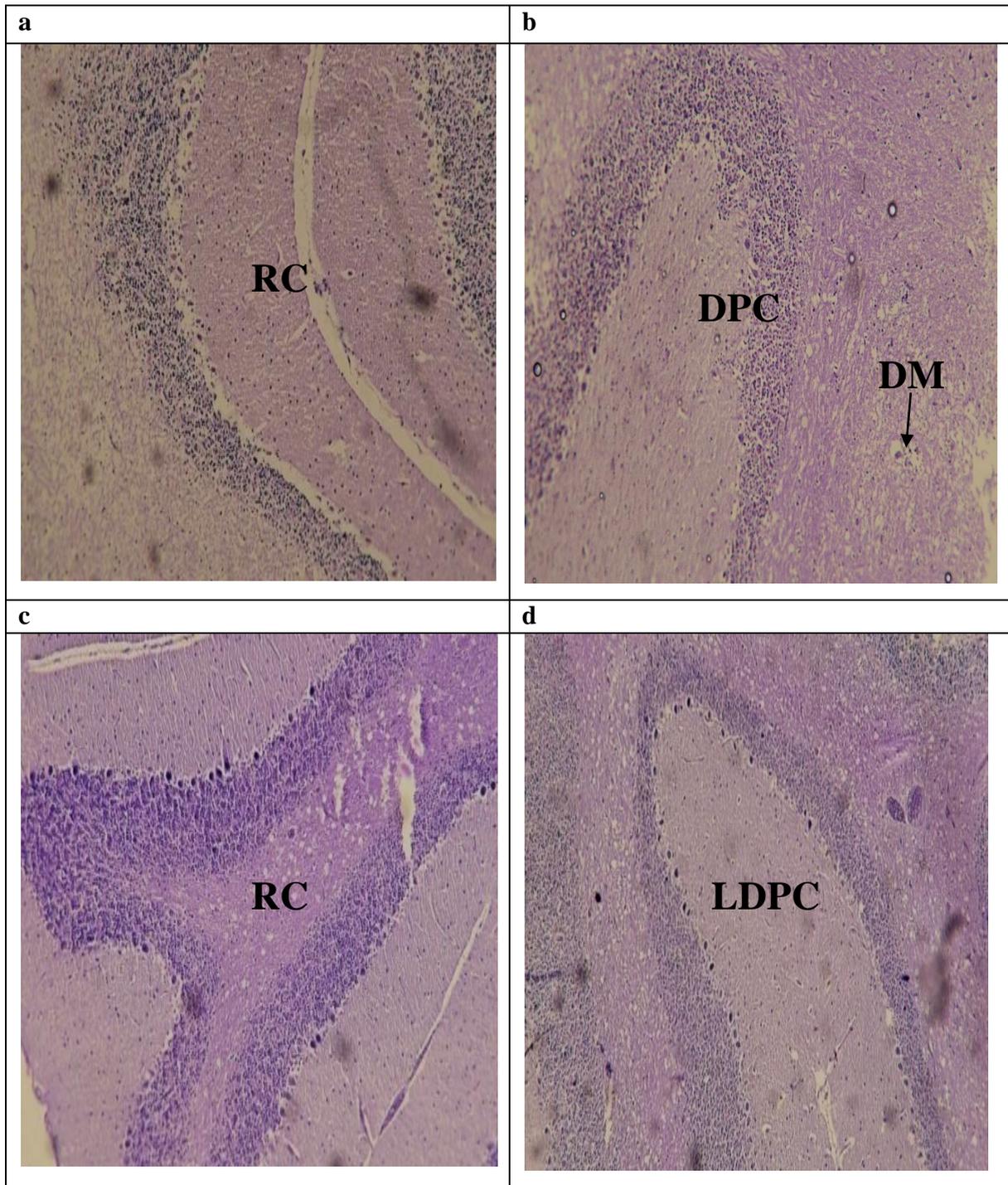


Figure 16 : Examen microscopique du tissu de cervelet chez les rats de groupe G1 (a), G2 (b), G3 (c) et G4 (d). G1 : témoins ; G2 : trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) ; G3 : 200 mg/kg/j d'EEA (28 jours) ; G4 : trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) et 200 mg/kg/j d'EEA (28 jours) en même temps.

DM : dégénérescence microkystique, **DPC :** diminution de la population cellulaire, **LDPC :** légère diminution de la population cellulaire, **RC :** richesse cellulaire.

II.2. Discussion

Les rats intoxiqués par le cisplatine ont un temps d'immobilité significativement plus important que les rats témoins au cours du test de la nage forcée (FST). L'incapacité de nager est un désespoir comportemental qui prouve l'effet dépressif de cisplatine. Cela confirme ce qui a été écrit par [Abdelkader et al. \(2017\)](#). D'après [Pitchot et al. \(2008\)](#), les origines de la dépression doivent être interprétées comme une rupture d'un équilibre individuel où des facteurs génétiques, développementaux, psychodynamiques, familiaux, sociaux, biologiques, externes, médicaux et cognitifs interagissent.

Dans la présente étude, le comportement dépressif est dû à l'administration de cisplatine. Les états dépressifs peuvent être associés à une perturbation du fonctionnement du système endocrine, qui se traduit par exemple dans l'augmentation des taux plasmatiques de cortisol. Au niveau du système nerveux central (SNC), les systèmes de neurotransmetteurs sont aussi impliqués dans cette pathologie. C'est le cas d'hypoactivité des neurones monoaminergiques, et en particulier sérotoninergiques, alors que les systèmes aux acides aminés excitateurs (glutamate) seraient au contraire hyperactifs chez les sujets dépressifs ([Daszuta et al., 2005](#)).

En revanche, l'administration de l'extrait d'*Anacyclus valentinus* aux rats intoxiqués (G4) a réduit de manière significative le temps d'immobilité en comparaison avec les rats exposés seulement au cisplatine (G2). Ce qui explique que cet extrait a un effet antidépressif.

Le test du compartiment Obscurité/Lumière a été largement utilisé pour évaluer le comportement anxieux chez les rongeurs. Nous avons constaté que l'exposition au cisplatine a augmenté significativement le temps passé au compartiment obscur et réduit significativement le temps passé au compartiment clair. Donc le cisplatine a eu un effet sur le comportement anxieux, ces résultats sont en accord avec ceux de [Warncke et al. \(2021\)](#). Cette anxiété accrue pourrait être due au fait que les rats exposés au cisplatine sont plus faibles et que leur mouvement est altéré par cet agent neurotoxique ([Rao et al., 2014](#)).

En revanche, les données obtenues relatives au test d'anxiété clair/obscur constatent qu'il n'existe aucune modification significative engendrée par l'EEA.

L'injection intraveineuse de cisplatine chez les rats mâles produit des effets neurotoxiques importants. Il est intéressant de savoir qu'il y a eu une diminution significative de l'activité locomotrice chez les rats exposés au cisplatine (G2). Ces résultats sont en accord avec les travaux de [Jangra et al. \(2016\)](#) qui ont montré que le cisplatine affecte également la fonction motrice en perturbant le processus de fonctionnement normal des neurones de la région du cortex cérébelleux. [Shabani et al. \(2012\)](#) ont également signalé que les cellules de Purkinje (Pc) constituent la seule sortie de toute coordination motrice dans le cortex cérébelleux. Le cisplatine modifie la phase active de différenciation du Pc, interférant avec les événements morphologiques et moléculaires impliqués dans la croissance des dendrites, l'élimination des synapses de fibres grimpanes sur les somata, la synaptogenèse des fibres parallèles et la formation de contacts inhibiteurs. D'après [Khadrawy et al. \(2018\)](#), l'administration de cisplatine altère les comportements exploratoires et l'activité locomotrice chez les rats. Par conséquent, l'hypoactivité induite par le cisplatine peut refléter le développement de symptômes dépressifs.

Notre étude a prouvé aussi que la plante *Anacyclus valentinus* peut protéger l'activité locomotrice contre les effets indésirables de cisplatine.

L'étude histopathologique du tissu cérébral réalisé par [Abd el moneim \(2014\)](#) a montré que le cisplatine provoquait une dégénérescence dans les régions les plus examinées caractérisées par la présence de noyaux nécrotiques et apoptotiques. Donc ces résultats sont cohérents avec les résultats de notre étude.

Le cerveau est un organe très complexe et sensible, qui est fortement affecté par plusieurs agents chimiothérapeutiques utilisés pour traiter les cancers. L'une des principales complications apparentes de la chimiothérapie par le cisplatine est la toxicité cérébrale ([Ekinci-Akdemir et al., 2017](#)). La toxicité cérébrale due au cisplatine est considérée comme dose-dépendante. Le cisplatine a un puissant pouvoir de pénétration dans la barrière hémato-encéphalique, et peut donc affaiblir les neurones matures du cerveau ([Gomaa et al., 2020](#)).

Ces dommages histopathologiques formés par le cisplatine ont été inversés au niveau cérébral avec le traitement combiné d'EEA.

Partie III : Effet de l'EEA sur l'hépatotoxicité induite par le cisplatine

III.1. Résultats

III.1.1. Les paramètres biochimiques

III.1.1.1. Aspartate-aminotransférase (ASAT)

Le traitement statistique des données concernant le taux d'ASAT a révélé que l'injection de cisplatine aux rats (G2) a engendré une augmentation significative ($p < 0.01$) de 26 % d'ASAT par rapport à celui des rats témoins (G1). Tandis que l'administration orale d'EEA chez les rats intoxiqués par le CP (G4) a provoqué une diminution significative ($p < 0.01$) de -25 % du taux d'ASAT comparativement aux rats du groupe G2 (fig. 17).

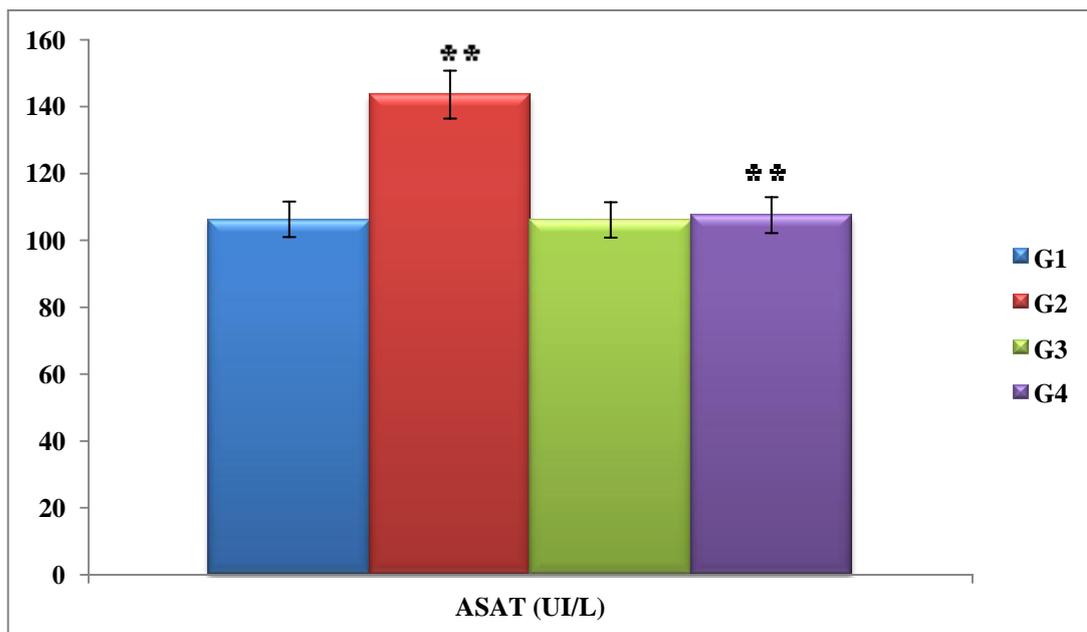


Figure 17 : Le taux d'aspartate-aminotransférase (ASAT) sanguin chez les rats du groupe G1 (témoins), G2 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours)), G3 (200 mg/kg d'EEA (28 jours)) et G4 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) et 200 mg/kg d'EEA (28 jours)). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (** : $p < 0.01$)

III.1.1.2. Alanine aminotransférase (ALAT)

Nos résultats obtenus montrent une augmentation significative ($p < 0.05$) de 31 % du taux d'ALAT chez les rats du groupe G2 (exposé au CP) par rapport à celui de groupe témoin (G1). En revanche, l'administration d'*Anacyclus valentinus* aux rats intoxiqués par le CP (G4) a diminué significativement ($p < 0.05$) le taux d'ALAT (-28 %) en comparaison avec les rats du groupe G2 (fig. 18).

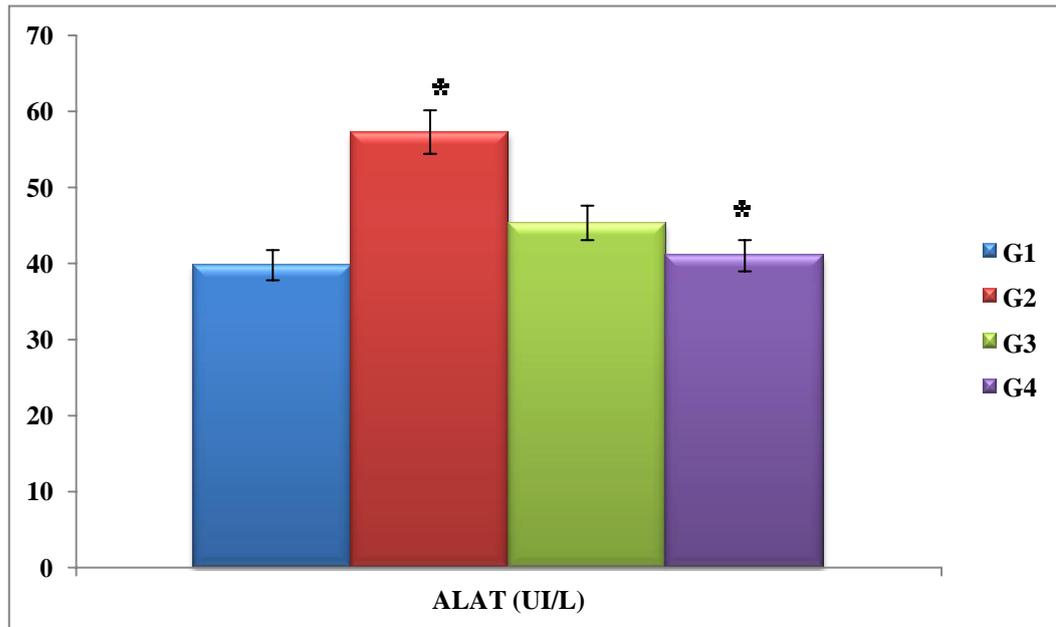


Figure 18 : Le taux d'alanine aminotransférase (ALAT) sanguin chez les rats G1 (témoins), G2 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours)), G3 (200 mg/kg d'EEA (28 jours)) et G4 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) et 200 mg/kg d'EEA (28 jours)). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (* : $p < 0.05$)

III.1.1.3. Phosphatase alcaline (PAL)

L'exposition des rats au cisplatine (G2) a entraîné une augmentation significative ($p < 0.001$) de +75 % du taux sérique de phosphatase alcaline par rapport aux rats témoins G1. Les rats du groupe G4 (exposés au cisplatine et traités par 200 mg/kg d'EEA) ont montré une réduction significative ($p < 0.001$) de -63 % du taux de la PAL par rapport au groupe G2. Tandis que, les rats qui ont reçu uniquement l'EEA pendant 28 jours (G3), n'ont montré aucune différence significative du taux de PAL par rapport au groupe G1 (fig. 19).

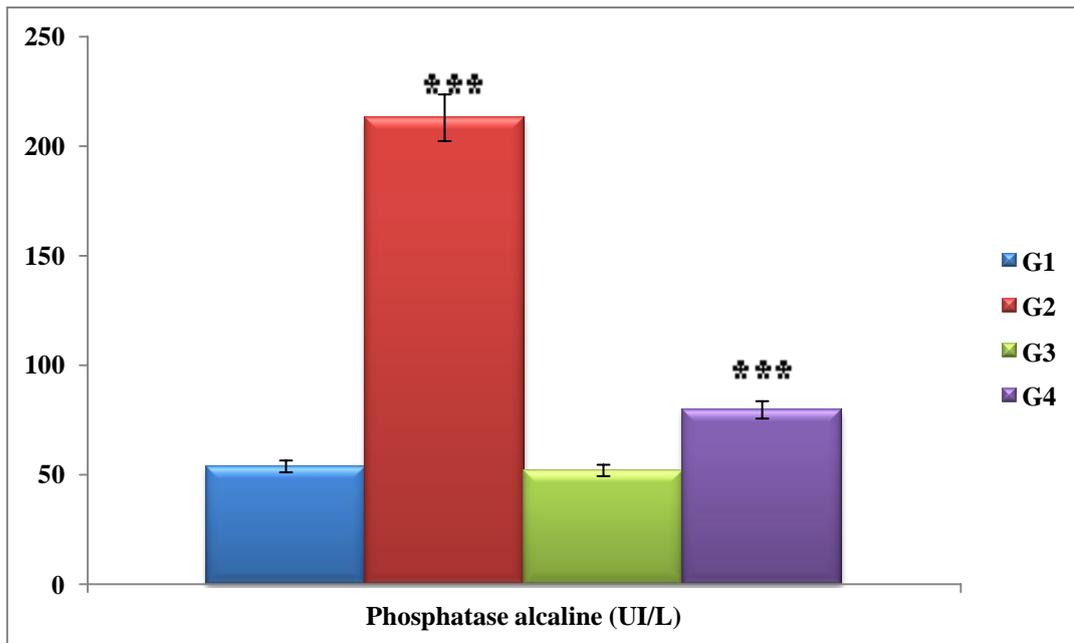


Figure 19 : Le taux de phosphatase alcaline (PAL) chez les rats du groupe G1 (témoins), G2 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours)), G3 (200 mg/kg d'EEA (28 jours)) et G4 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) et 200 mg/kg d'EEA (28 jours)). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (***) : $p < 0.001$.

III.1.1.4. Gamma glutamyl transférase (γ -GT)

La concentration sérique du gamma glutamyl transférase (γ -GT) (+145,66 UI/L) des rats du groupe G2 (exposé aux trois doses de 7 mg/kg de cisplatine) était significativement supérieure ($P < 0.001$) à celle du groupe G1 (témoin). L'EEA a réduit de manière significative ($P < 0.001$) le taux sérique du γ -GT (- 121 UI/L) chez le groupe G4 (ayant reçu 200 mg/kg d'EEA et le cisplatine au même temps) par rapport au groupe G2 (fig. 20).

III.1.1.5. Glycémie

L'injection de 7 mg/kg de cisplatine aux rats du groupe G2 a engendré une augmentation très significative ($P < 0.05$) de la glycémie (3.91 g/L) en comparaison avec le groupe témoin G1 (fig. 21).

En revanche, les rats qui ont reçu une dose de 200 mg/kg de l'EEA (G3) ont montré un taux de glycémie similaire aux rats témoins (G1).

En outre, les rats du G4 qui ont reçu une dose de 7 mg/kg de cisplatine et 200 mg/kg d'EEA au même temps ont montré une diminution significative ($p < 0.05$) de -49.36% par rapport aux rats du groupe témoin.

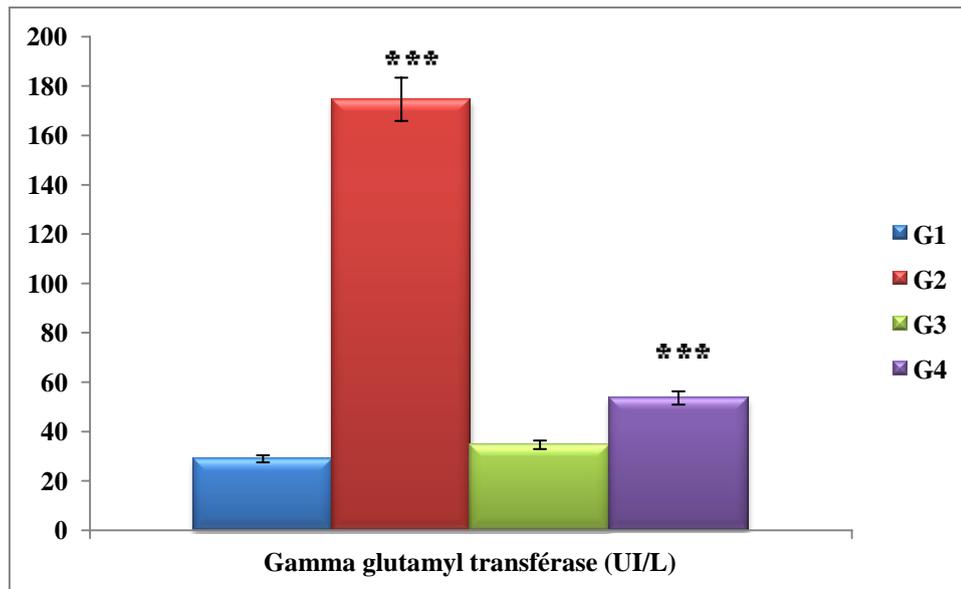


Figure 20 : Le taux de gamma glutamyl transférase (γ -GT) chez les rats du groupe G1 (témoins), G2 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours)), G3 (200 mg/kg d'EEA (28 jours)) et G4 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) et 200 mg/kg d'EEA (28 jours)). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (***) : $p < 0.001$).

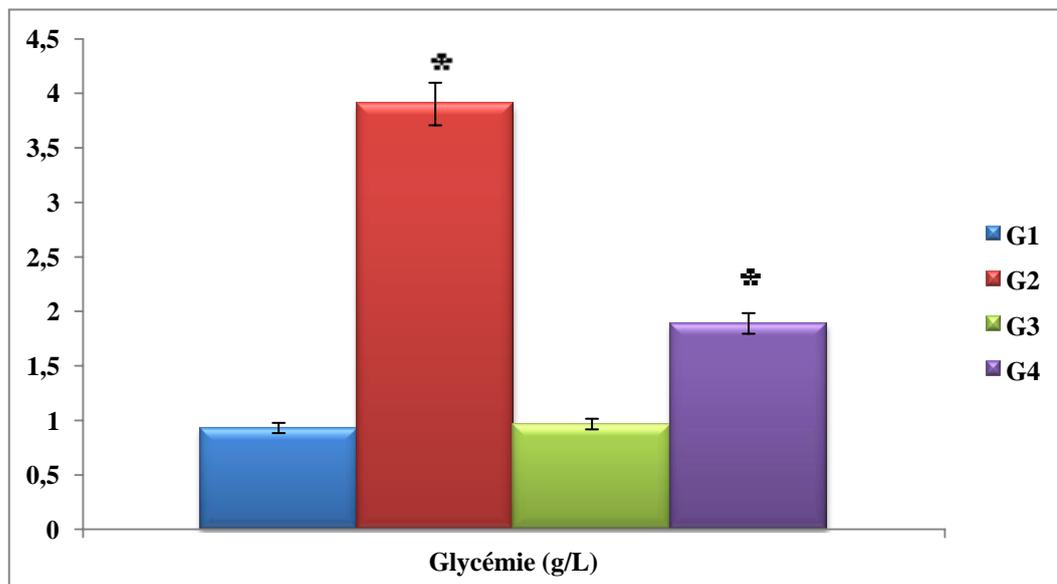


Figure 21 : Le taux de glycémie chez les rats du groupe G1 (témoins), G2 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours)), G3 (200 mg/kg d'EEA (28 jours)) et G4 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) et 200 mg/kg d'EEA (28 jours)). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (*) : $p < 0.05$

III.1.2. Statut antioxydant au niveau du foie

III.1.2.1. Malondialdéhyde (MDA)

La concentration en MDA au niveau du tissu hépatique chez les rats du groupe G2 (qui ont reçu une injection intraveineuse de trois doses de 7 mg/kg de cisplatine dans une période de 6 jours) a été augmenté significativement ($p < 0.001$) de +2.29 nmol/mg par rapport à celle des rats témoins. Dans le même contexte, une réduction significative ($p < 0.001$) de -1.96 nmol/mg de la teneur en MDA chez les rats de groupe G4 comparativement aux rats du groupe G2 (fig. 22).

III.1.2.2. Le monoxyde d'azote (NO)

Le taux du NO hépatique chez les rats du groupe G2 (injection intraveineuse de trois doses de 7 mg/kg de cisplatine dans une période de 6 jours) a été augmenté significativement ($p < 0.001$) de +19.87 $\mu\text{mol/g}$ en comparaison avec les rats du groupe témoin G1. De plus, une réduction significative ($p < 0.001$) de -19,20 $\mu\text{mol/g}$ au niveau de NO hépatique chez les rats exposés au cisplatine et traités avec l'EEA en même temps (groupe G4) en comparaison avec les rats exposés seulement au cisplatine (groupe G2). Nous avons constaté une diminution significative ($p < 0.01$) de -1.22 $\mu\text{mol/g}$ du taux de NO hépatique chez les rats du groupe G3 traités seulement avec l'EEA pendant 28 jours par rapport au groupe témoin (fig. 23).

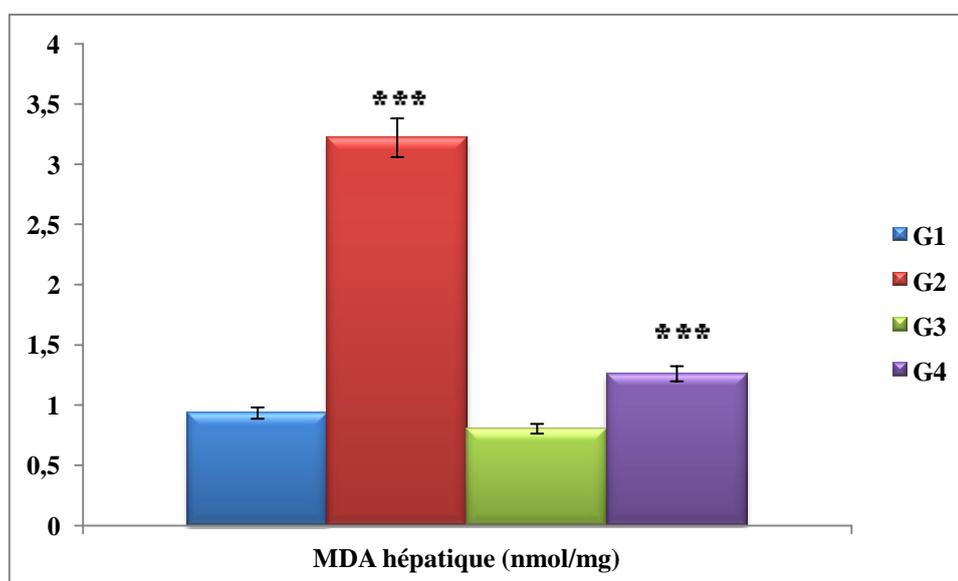


Figure 22 : Le taux de malondialdéhyde (MDA) hépatique chez les rats groupe G1 (témoins), G2 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours)), G3 (200 mg/kg d'EEA (28 jours)) et G4 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) et 200 mg/kg d'EEA (28 jours)). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (***) : $p < 0.001$

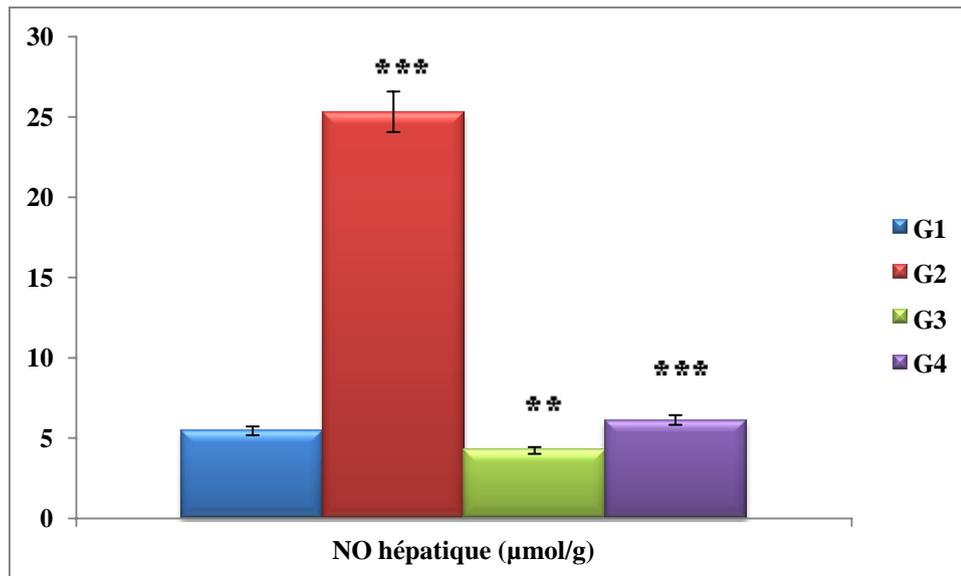


Figure 23 : Le taux de monoxyde d'azote (NO) hépatique chez les rats du groupe G1 (témoins), G2 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours)), G3 (200 mg/kg d'EEA (28 jours)) et G4 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) et 200 mg/kg d'EEA (28 jours)). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (***) : $p < 0.001$; ** : $p < 0.01$)

III.1.2.3. Les enzymes antioxydantes : SOD, CAT et GSH-Px

Les rats du groupe G2 exposés au cisplatine ont montré une réduction significative ($p < 0.001$) de -33,78 U/cg, -73,61 U/mg et -69,91 U/g, respectivement, du taux de superoxyde dismutase, catalase et de glutathion peroxydase au niveau du tissu hépatique en comparaison avec le groupe témoin. L'administration de 200 mg/kg/j d'EEA pendant 28 jours aux rats du G3 a régénéré la teneur de ces enzymes antioxydantes d'où on a remarqué qu'il y a une augmentation ($p < 0.001$) significative de +28,91 U/cg, +8,04 U/mg et +8,99 U/g du taux de SOD, CAT et GSH-Px hépatique, respectivement, par rapport au groupe témoin (G1). Nous avons constaté que les niveaux de SOD, CAT et GSH-Px ont été significativement ($p < 0.001$) augmenté de +23,10 U/cg, +69,30 U/mg et +67,82 U/g respectivement chez le groupe G4 en comparaison avec le groupe intoxiqué (G2) (fig. 24).

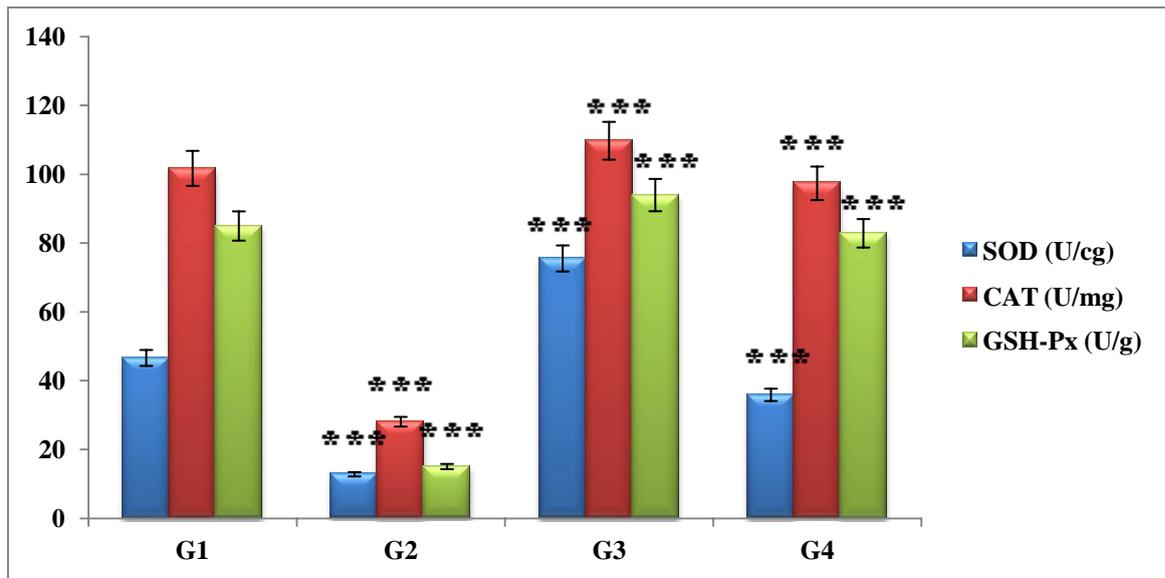


Figure 24 : Le taux des antioxydants enzymatiques (SOD, CAT, GSH-Px) au niveau du foie chez les rats du groupe G1 (témoins), G2 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours)), G3 (200 mg/kg d'EEA (28 jours)) et G4 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) et 200 mg/kg d'EEA (28 jours)). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (***) : $p < 0.001$)

III.1.3. Histologie du foie

La coupe histopathologique du foie des rats du groupe G1 et G3 a montré un aspect histologique normal du parenchyme hépatique, les veines centro-lobulaires et les hépatocytes (fig. 25a et 25c). Tandis qu'on a observé une congestion vasculaire, une réaction inflammatoire avec une stéatose microvacuolaire et une hépatite chronique au niveau du foie des rats exposés uniquement au cisplatine (G2) (fig. 25b). D'une autre part, le tissu hépatique des rats du groupe G4 (les rats qui ont reçu l'EEA et le cisplatine en même temps) a montré un parenchyme plus au moins normal constitué d'hépatocytes et de sinusoides normales, avec une légère stéatose microvacuolaire (fig. 25d).

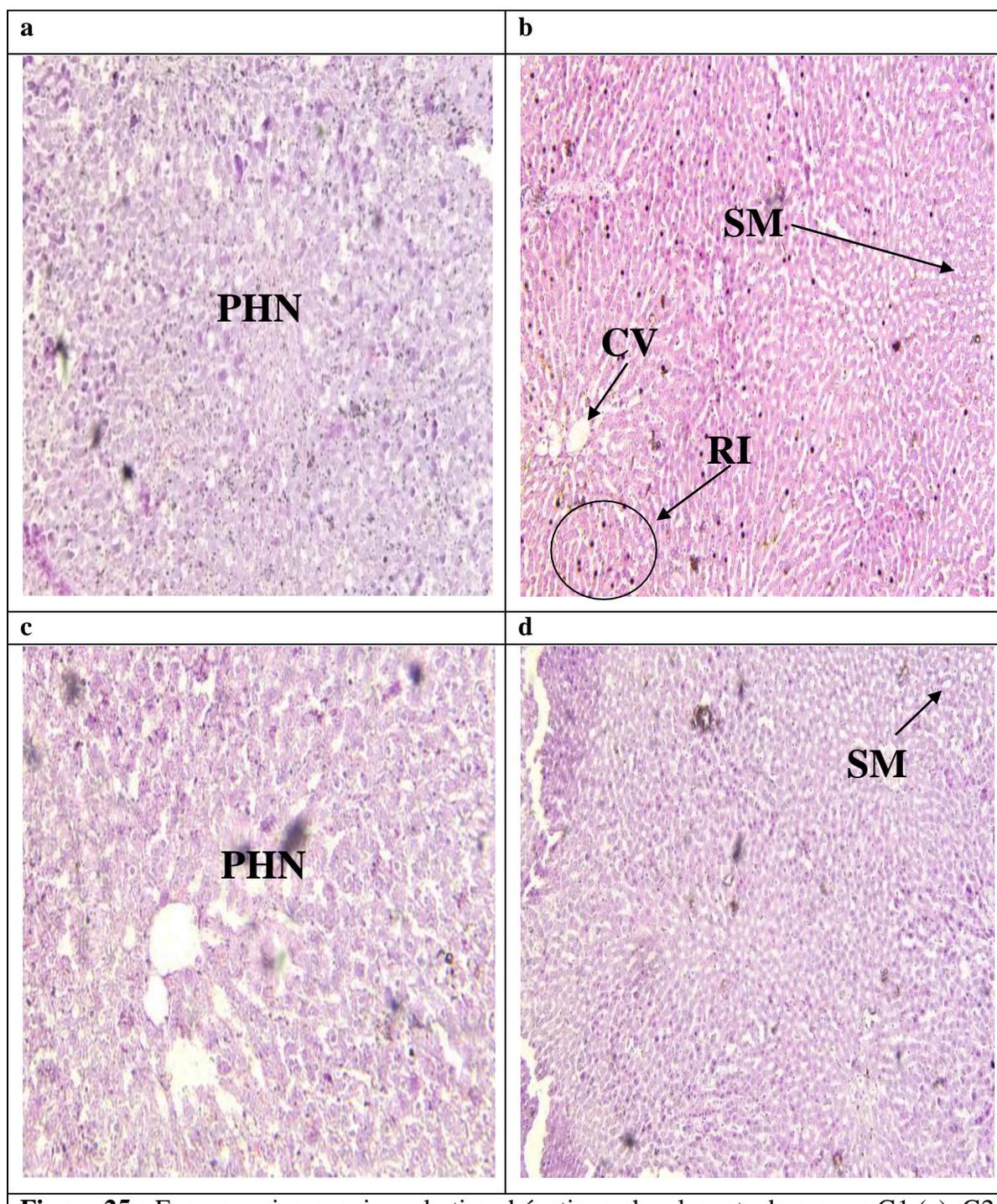


Figure 25 : Examen microscopique du tissu hépatique chez les rats de groupe G1 (a), G2 (b), G3 (c) et G4 (d). G1 : témoins ; G2 : trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) ; G3 : 200 mg/kg/j d'EEA (28 jours) ; G4 : trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) et 200 mg/kg/j d'EEA (28 jours) en même temps.

CV : congestion vasculaire, **PHN** : parenchyme hépatique normal, **RI** : réaction inflammatoire, **SM** : stéatose microvacuolaire.

III.2. Discussion

Les résultats de cette étude ont montré que le cisplatine induit des augmentations significatives des biomarqueurs de la fonction hépatique (ASAT, ALAT, PAL, γ -GT et glycémie), de la peroxydation lipidique (taux de MDA), de monoxyde d'azote (NO) et d'importante diminution des antioxydants enzymatiques (GSH-Px, SOD, CAT) dans les tissus hépatiques. Nos résultats sont en accord avec les travaux de [Kim et al. \(2004\)](#) et [Katanic et al. \(2015\)](#). La capacité du cisplatine à provoquer des altérations de l'activité des transaminases, de PAL et γ -GT pourrait être un événement secondaire suite à de lésions hépatiques induites par le cisplatine et des fuites d'hépatocytes qui en résultent ([Yadav, 2015](#) ; [Mir et al., 2015](#)). Les taux élevés d'ASAT, d'ALAT, de PAL et de γ -GT sont considérés comme des indicateurs de fuite cellulaire et de perte d'intégrité fonctionnelle des hépatocytes car ils sont libérés dans la circulation sanguine lorsque la membrane plasmique des cellules hépatiques est endommagée ; une augmentation de leurs activités reflétant une augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique qui à son tour est associée à la mort cellulaire ([Atteya et al., 2016](#)). Tandis que, L'extrait éthanolique d'*Anacyclus valentinus* peut réduire le niveau des transaminases, de PAL et de γ -GT chez les rats exposés au cisplatine.

Le stress oxydatif, qui est communément connu pour être un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO)/espèces réactives de l'azote (ERN) et la capacité antioxydante ([Ścibior et al., 2018](#)). Un groupe d'antioxydants se réunit pour servir de mécanismes de défense contre les radicaux libres et pour contrôler les ERO dans des conditions stressantes. Les antioxydants empêchent l'oxydation et corrigent les carences antioxydantes dans le corps ([Alexander et al., 2019](#)).

Les résultats du stress oxydatif hépatique de notre étude correspondent à celui de [Kart et al. \(2010\)](#) ; [Boraja et al. \(2018\)](#) ; [Chandel et al. \(2018\)](#) et [Hagar et al. \(2019\)](#). Le cisplatine est connu pour générer des espèces réactives de l'oxygène et réguler positivement les radicaux libres causant des dommages aux structures cellulaires. De plus, l'augmentation du contenu hépatique en MDA pendant le traitement par le cisplatine reflétait des niveaux réduits d'antioxydants ([Eid et El-Shitany, 2021](#)). Une perte d'activité antioxydante et une

augmentation de la peroxydation lipidique au niveau du foie après un traitement au cisplatine suggèrent une augmentation du stress oxydatif du tissu hépatique (Pratibha *et al.*, 2006).

Le stress oxydatif est l'un des états les plus importants du tissu hépatique induit par le cisplatine. Le $O_2^{\cdot -}$ généré par le cisplatine est transformé en H_2O_2 par SOD et détoxifié par CAT ou GSH-Px par conversion en H_2O et O_2 (Bentli *et al.*, 2013). D'après Youcef *et al.* (2009), le mécanisme de toxicité du cisplatine est lié à l'épuisement du système de défense antioxydant. Une baisse significative des activités des enzymes antioxydantes et une augmentation des radicaux libres dans les modèles expérimentaux ainsi que chez les sujets sont typiques pendant les régimes de chimiothérapie couramment utilisés, et cela est particulièrement lié au traitement au cisplatine.

La MDA est un produit de peroxydation lipidique qui est libéré spécifiquement en raison des effets toxiques des ERO actifs. Le ERO est produit à la suite de l'oxydation d'acides gras insaturés dans les membranes cellulaires (Cagin *et al.*, 2015). Le cisplatine induit une peroxydation lipidique par génération excessive de radicaux libres qui peut conduire à l'oxydation des lipides de la membrane cellulaire et des lipides de la membrane entourant les organites dans les organes cibles détériorant les fonctions membranaires. Par conséquent, il est possible que le cisplatine ait accès à l'ADN nucléaire et organite et aux protéines directement ou indirectement qui peuvent inactiver ou dégrader ou entraver leur activité et donc il peut également affecter leurs fonctions biologiques. Cela pourrait être la raison ultime possible du déclin de l'activité des enzymes antioxydantes (Hassan *et al.*, 2010).

Le cisplatine stimule la production des ERO par des mitochondries endommagées, ce qui diminue la production d'antioxydants et augmente la production de radicaux libres y compris NO (Omar *et al.*, 2016).

Les rats qui ont reçu le cisplatine et l'EEA en même temps (G4) montrent une amélioration du statut antioxydant du foie et la modulation de concentration en MDA et NO, qui peuvent être due aux propriétés antioxydantes du contenu phénolique d'EEA.

Les observations microscopiques de tissu hépatique de la présente étude ont confirmé les altérations des paramètres biochimiques et antioxydants entre les groupes expérimentaux.

Plusieurs changements histologiques dans le foie parmi le groupe traité par CP ont été notés, comme on a précédemment mentionné. Ces observations microscopiques sont en accord avec ceux de [Juric et al. \(2020\)](#). L'injection de cisplatine provoque divers dommages qui peuvent être observés à la fois microscopiquement et macroscopiquement dans le foie. La coupe histologique du tissu hépatique a montré des altérations cytoplasmiques en particulier une vacuolisation hépatocellulaire et des élargissements sinusoïdaux autour de la veine centrale et des cellules ([Einci-Akdemir et al., 2020](#)). Ces changements sont principalement dus à l'inflammation. Le cytoplasme de la plupart des hépatocytes était léger et rempli de nombreuses vacuoles et gouttelettes lipidiques. La vacuolisation cytoplasmique est principalement une conséquence d'une perturbation considérable du métabolisme des lipides et des graisses ([Ahmad et Al-Jawary, 2012](#)). Le cisplatine tue les cellules principalement en formant des adduits à l'ADN, provoquant l'arrêt de la phase G2 dans le cycle cellulaire, déclenchant l'apoptose ([El-Sayyad et al., 2009](#)). Le stress oxydatif joue un mécanisme important dans l'hépatotoxicité induite par le cisplatine ([Dkhil et al., 2013](#)). Par contre, le co-traitement des rats traités par le cisplatine avec l'EEA peut protéger le foie contre les changements histologiques induits par le cisplatine et améliorer l'histologie du foie.

Partie IV: Effet de l'EEA sur la néphrotoxicité induite par le cisplatine

IV.1. Résultats

IV.1.1. Les paramètres biochimiques

IV.1.1.1. Urée

Le cisplatine a augmenté de manière significative ($p < 0.001$) le taux d'urée chez les rats du groupe G2 (+2,51 g/l) en comparaison avec les rats témoins (G1). En revanche, les rats du groupe G4 (traités par l'EEA et exposés au cisplatine en même temps) présentent une diminution significative ($p < 0.001$) du taux d'urée (-2.40 g/L) en comparaison avec le groupe G2 (fig. 26).

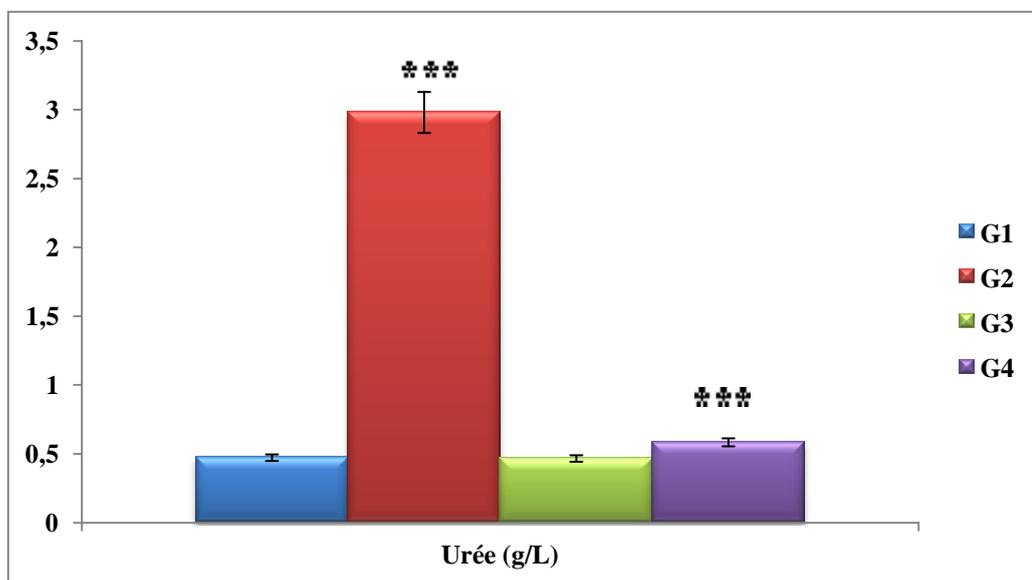


Figure 26 : Le taux d'urée chez les rats du groupe G1 (témoins), G2 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours)), G3 (200 mg/kg d'EEA (28 jours)) et G4 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) et 200 mg/kg d'EEA (28 jours)). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (***) : $p < 0.001$)

IV.1.1.2. Créatinine

Nos résultats montre qu'il y a une élévation significativement plus importante ($p < 0.001$) de +72 % du taux de la créatinine sanguine chez le groupe G2 intoxiqué par le cisplatine en comparaison avec le groupe G1 (témoin). En outre, les rats du groupe G4 (exposés au cisplatine et traités par l'EEA en même temps) ont montré une réduction significative

($p < 0.001$) de -69 % du taux de créatinine par rapport au groupe exposé seulement au cisplatine (G2) (fig. 27).

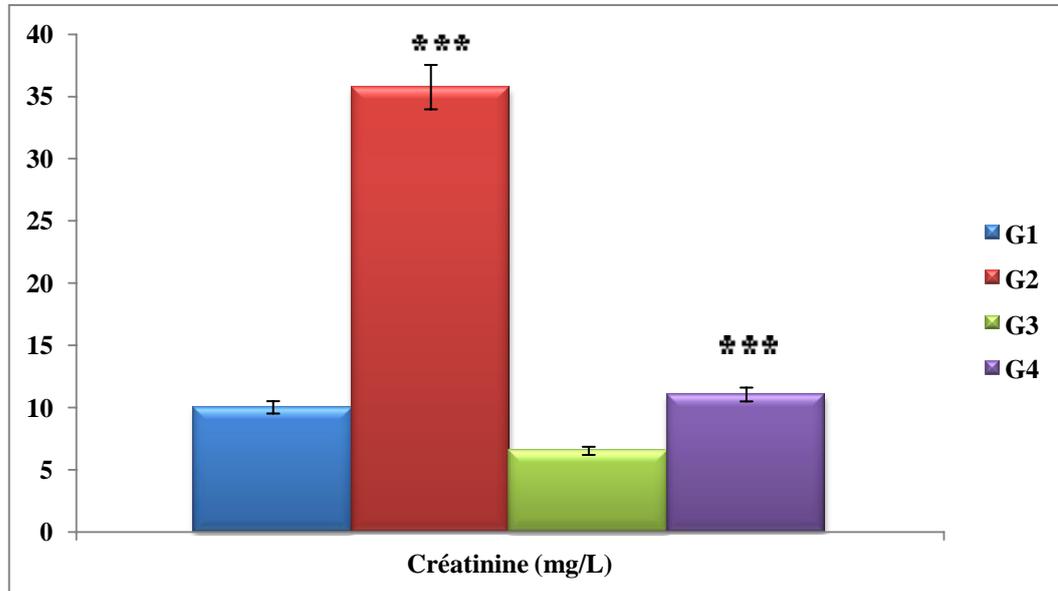


Figure 27 : Le taux de la créatinine chez les rats du groupe G1 (témoins), G2 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours)), G3 (200 mg/kg d'EEA (28 jours)) et G4 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) et 200 mg/kg d'EEA (28 jours)). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (***) : $p < 0.001$)

IV.1.2. Statut antioxydant du tissu rénal

IV.1.2.1. Malondialdéhyde (MDA)

L'injection intraveineuse de trois doses de 7 mg/kg de cisplatine aux rats provoque une augmentation significative ($p < 0.001$) de +85 % de la concentration de MDA rénale chez les rats du groupe G2 en comparaison avec ceux du groupe témoin. Cependant, il ya une diminution significative ($p < 0.001$) de -82 % de MDA rénale chez le groupe G4 comparé au groupe G2 (fig. 28).

IV.1.2.2. Le monoxyde d'azote (NO)

Les animaux du groupe G2 exposés au 7 mg/kg de cisplatine montrent une augmentation significative ($p < 0.001$) de +74 du taux de monoxyde d'azote NO au niveau du tissu rénal par rapport à ceux du groupe témoin. Par ailleurs, les rats du groupe 04 traités avec l'EEA et

exposés au cisplatine en même temps ont montré une diminution significative ($p < 0.001$) de -66 % du taux de NO rénal en comparaison avec les rats du groupe G2 (fig. 29).

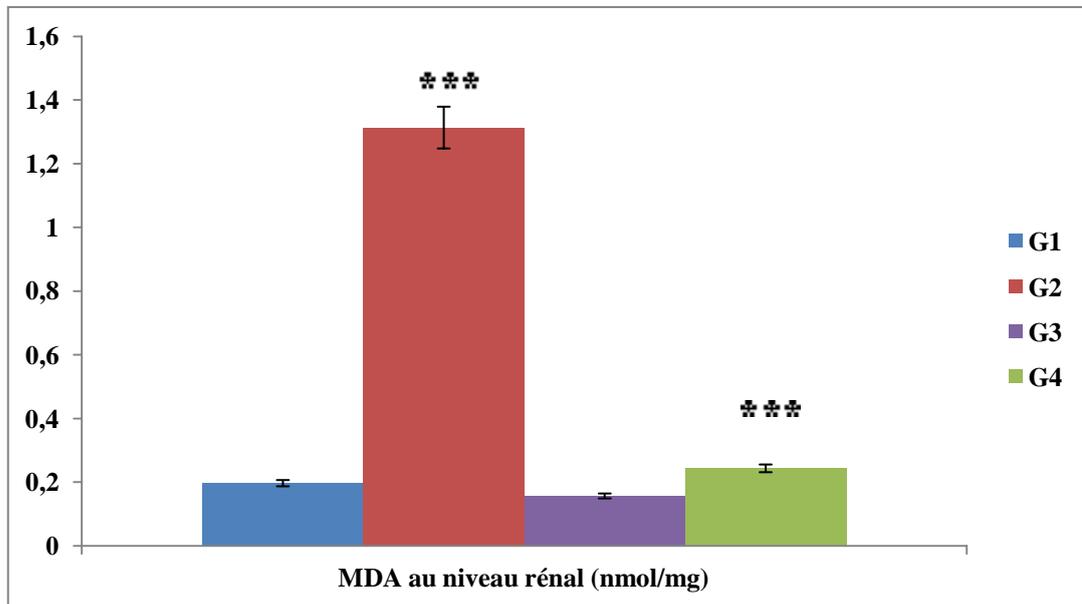


Figure 28 : Le taux de malondialdéhyde (MDA) au niveau rénal chez les rats du groupe G1 (témoins), G2 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours)), G3 (200 mg/kg d'EEA (28 jours)) et G4 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) et 200 mg/kg d'EEA (28 jours)). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (***) : $p < 0.001$

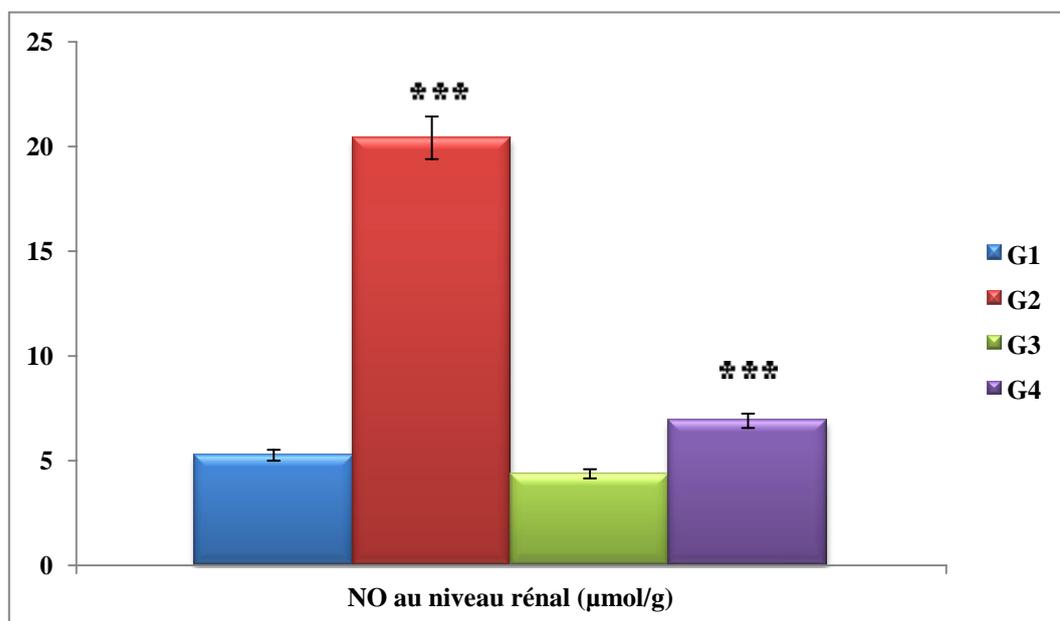


Figure 29 : Le taux de monoxyde d'azote (NO) au niveau rénal chez les rats du groupe G1 (témoins), G2 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours)), G3 (200 mg/kg d'EEA (28 jours)) et G4 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) et 200 mg/kg d'EEA (28 jours)). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (***) : $p < 0.001$

IV.1.2.3. Les enzymes antioxydantes : SOD, CAT et GSH-Px

Les rats exposés seulement au cisplatine (G2) ont montré une diminution significative ($p < 0.001$) de -64 %, -62 % et -80 % des enzymes antioxydantes SOD, CAT et GSH-Px au niveau du tissu rénal, respectivement, par rapport à celles des rats témoins (G1). Tandis que, l'administration orale d'EEA en même temps avec l'exposition au cisplatine aux rats de groupe G4 a amélioré significativement ($p < 0.001$) le taux du SOD, CAT et GSH-Px de +58 %, +59 % et +78 %, respectivement. De même, les niveaux du SOD, CAT et GSH-Px rénales ont augmenté significativement ($p < 0.01$) de +16 %, +12 % et +32 %, respectivement chez les rats traités uniquement par l'EEA (G3) par rapport aux rats témoins (G1) (fig. 30).

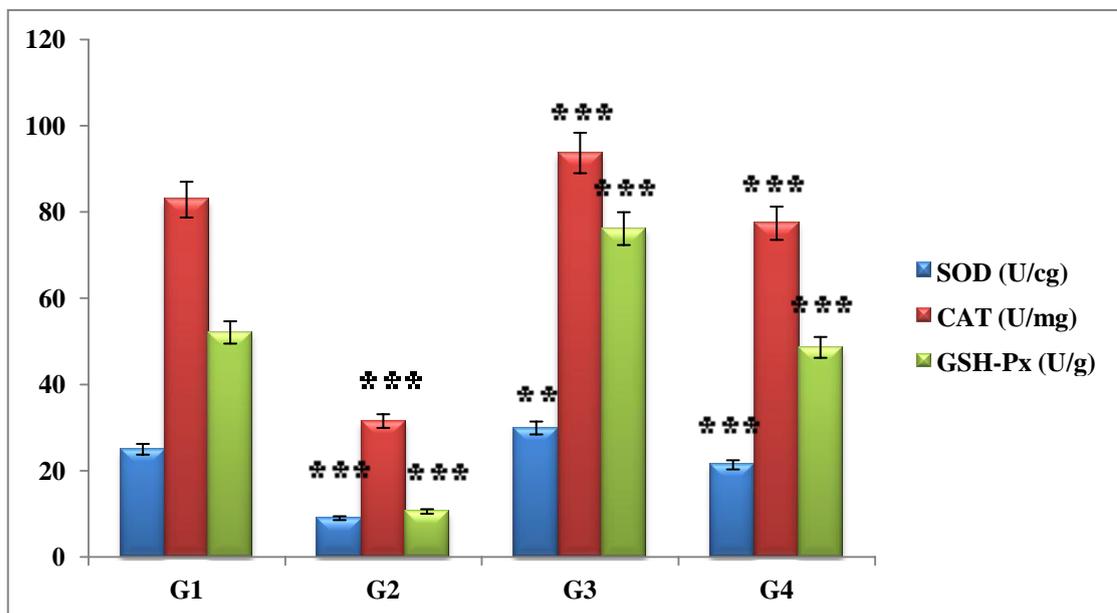


Figure 30 : Le taux des enzymes antioxydantes (SOD, CAT, GSH-Px) au niveau des reins chez les rats du groupe G1 (témoins), G2 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours)), G3 (200 mg/kg d'EEA (28 jours)) et G4 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) et 200 mg/kg d'EEA (28 jours)). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (***) : $p < 0.001$; (**) : $p < 0.01$)

IV.1.3. Histologie des reins

Le tissu rénal des rats du groupe G1 (témoin) et G3 (traité par l'EEA) n'a montré aucun changement pathologique; les rats présentaient un tissu rénal normal, où des glomérules et un épithélium tubulaire proximal normaux ont été observés (fig. 31a,c). Les animaux exposés au cisplatine (groupe G2) ont présenté des altérations pathologiques telles que la congestion vasculaire, présence de cylindre hyalin, la nécrose tubulaire et une réaction inflammatoire (fig. 31b). D'autre part, les modifications histopathologiques rénales chez les rats qui ont reçu

du cisplatine avec l'EEA en même temps ont été réduites (fig. 31d) par rapport aux animaux qui ont reçu uniquement le cisplatine (groupe G2).

IV.2. Discussion

La présente étude a montré que l'injection intraveineuse de 7 mg/kg de cisplatine chez les rats entraînait une augmentation significative des taux sériques d'urée et de créatinine. Le cisplatine a également provoqué des augmentations significatives de la concentration de MDA et de NO rénaux avec la détérioration du système de défense enzymatique (CAT, SOD, GSH-Px). Ces paramètres ont été corrélés avec les résultats histologiques rénaux.

Ali *et al.* (2008) ; Ali *et al.* (2011) et Barakat *et al.* (2020) ont montré que le cisplatine provoque l'élévation du taux des biomarqueurs rénaux (créatinine et urée). La néphrotoxicité induite par le cisplatine est caractérisée par une réduction de la fonction rénale qui conduit à une augmentation des taux de créatinine et d'urée sanguines (Alhoshani *et al.*, 2017). Antunes *et al.* (2000) ont observé que la modification des teneurs en créatinine sérique observées lors du traitement par le cisplatine est considérée comme indication d'une fonction glomérulaire anormale.

Les modifications de l'état oxydatif rénal liés au cisplatine conformement à ceux de Hagar *et al.* (2015) et Ibrahim *et al.* (2018). Plusieurs rapports indiquent que le stress oxydatif et les espèces réactives de l'oxygène formées en présence de cisplatine contribuent à ses effets toxiques. Dernièrement, deux mécanismes principaux sont reconnus pour être importants dans la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) : le premier et le plus important mécanisme est l'entrée du cisplatine dans les cellules tubulaires rénales par le transporteur de cations organiques 2 (OCT2) qui subit ensuite une hydrolyse pour générer un électrophile chargé positivement. Cet électrophile réduit l'activité des complexes respiratoires mitochondriaux, entraînant la génération d'espèces réactives de l'oxygène (Chtourou *et al.*, 2016), tels que les anions superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) et H_2O_2 et l'épuisement ultérieur de système de défense antioxydant enzymatique (SOD, CAT et GSH-Px) dans les reins de rat. Les ions superoxyde an pourraient donner naissance à des radicaux hydroxyles par réduction partielle catalysée par des métaux de transition, principalement le fer. Les radicaux hydroxyles sont des oxydants très puissants qui réagissent avec n'importe quel composant de la cellule comme les lipides, les protéines et l'ADN, entraînant une perte de l'intégrité cellulaire, de la fonction enzymatique et de la stabilité génomique (Purena *et al.*, 2018).

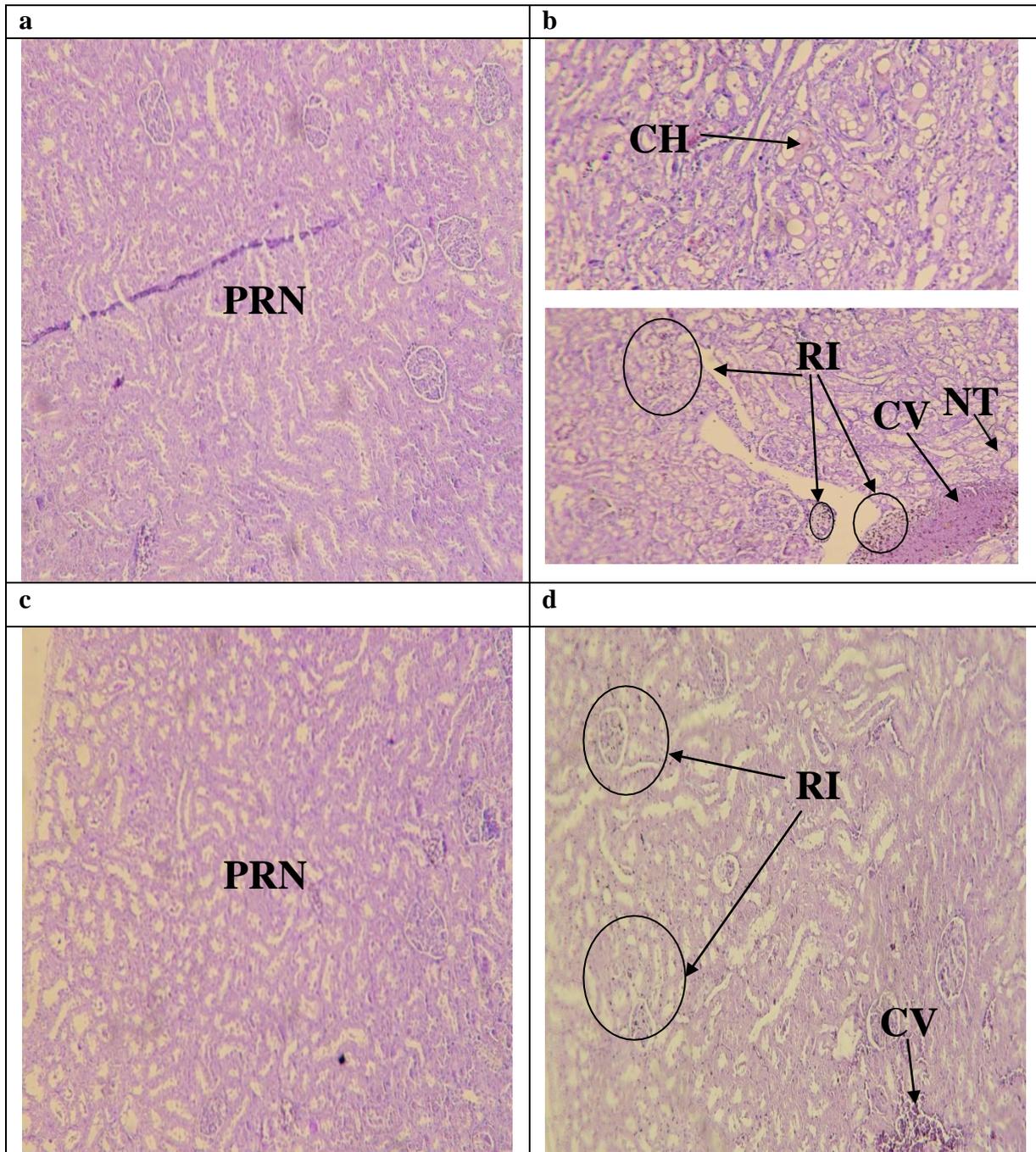


Figure 31 : Examen microscopique du tissu rénal chez les rats de groupe G1 (a), G2 (b), G3 (c) et G4 (d). G1 : témoins ; G2 : trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) ; G3 : 200 mg/kg/j d'EEA (28 jours) ; G4 : trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) et 200 mg/kg/j d'EEA (28 jours) en même temps.

CH : cylindre hyalin, **CV :** congestion vasculaire, **NT :** nécrose tubulaire, **PRN:** parenchyme rénal normal, **RI :** réaction inflammatoire.

Il est évident que la néphrotoxicité du cisplatine résulte du stress oxydatif et de la génération accrue d'anions superoxyde, de peroxyde d'hydrogène et de radicaux hydroxyles en raison de l'activité accrue de la NADPH oxydase, de la xanthine oxydase et de l'adénosine désaminase. Ces radicaux libres endommagent les composants lipidiques de la membrane cellulaire par peroxydation (Kamel et al., 2014), formant plusieurs produits finaux tels que le malondialdéhyde (MDA). Ce dernier est un sous-produit plus stable ; par conséquent, il a été signalé comme un biomarqueur pour évaluer la peroxydation lipidique de la membrane cellulaire lésée (Abo-Elmaaty et al., 2020).

L'oxyde nitrique est produit à partir de la L-arginine par l'enzyme oxyde nitrique synthétase dans presque tous les types de cellules. Il a été rapporté qu'une seule injection de cisplatine augmentait l'activité de l'enzyme oxyde nitrique synthase dans le foie et les reins. En conséquence, l'augmentation actuelle des niveaux de NO dans le foie et les reins pourrait être attribuée à l'activation de l'enzyme oxyde nitrique synthase par le cisplatine. La caractéristique la plus remarquable du NO est sa capacité à réagir avec les espèces réactives de l'oxygène, en particulier le superoxyde pour former du peroxyde nitrique, un oxydant puissant et un agent nitrant, qui est librement diffusible et a la capacité d'induire des lésions tissulaires en modifiant directement les protéines, les enzymes, les lipides et les acides nucléiques (El-Gizawy et al., 2020).

De nombreuses études ont rapporté des changements structurels similaires dans les reins (El-Sayed et al., 2013 ; Bami et al., 2017 et Salem et al., 2019). La néphrotoxicité induite par le cisplatine a été vérifiée à l'aide de biomarqueurs de néphrotoxicité urinaire, soutenant ainsi les résultats histopathologiques. Les effets induits par le cisplatine les plus forts sur la morphologie sont attendus dans les tubules proximaux du rein (Sahin et al., 2020).

Le co-traitement avec l'EEA chez le groupe intoxiqués (G4) a baissé les niveaux du MDA et de NO, augmenté les activités de GSH-Px, SOD et CAT dans les tissus rénaux. Nous avons marqué aussi une réduction du taux de créatinine et urée sanguin. De plus l'administration d'EEA restaure les altérations histopathologiques perturbées par le cisplatine.

Partie V: Effet de l'EEA sur la toxicité sanguine induite par le cisplatine

V.1. Résultats

V.1.1. Les paramètres biochimiques

V.1.1.1. Numération de formule sanguine (NFS)

Les rats du groupe G2 (exposés aux trois doses de 7 mg/kg de cisplatine durant 6 jours) présentent une réduction significative ($p < 0.05$) de -39 %, -29 % et -29 % du nombre de globules blancs, globules rouges et le taux d'hémoglobine en comparaison avec le groupe G1 (témoin). Tandis que, les rats traités par l'EEA et exposés au cisplatine en même temps (groupe G4) ont prouvé une augmentation significative ($p < 0.05$) de +25 %, +27 % et +27 % de nombre de globules rouges, le taux d'hémoglobine et le pourcentage d'hématocrite significativement supérieur à celui des rats intoxiqués par le cisplatine (groupe G2). Ce groupe G4 présente aussi une augmentation non significative de 21 % au nombre de globule blanc comparativement au groupe G2. Concernant le nombre des plaquettes, le groupe intoxiqué par le cisplatine (G2) présente une diminution non significative ($p > 0.05$) par rapport au groupe témoin G1. De même, le groupe G4 a montré une augmentation non significative du nombre de plaquettes en comparaison avec le groupe G2 (tableau 06).

Tableau 06 : Evaluation des paramètres de NFS chez les rats de G1 (témoins), G2 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours)), G3 (200 mg/kg d'EEA (28 jours)) et G4 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) et 200 mg/kg d'EEA (28 jours)). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (* : $p < 0.05$)

Les paramètres de NFS	Les groupes			
	G1	G2	G3	G4
Globules Blancs* 10^9 (L)	7,7 \pm 1,1	4,7 \pm 0,4*	7,15 \pm 0,25	5,95 \pm 0,25
Hémoglobine (g/dL)	15,4 \pm 0,20	10,95 \pm 0,85*	15,15 \pm 0,95	15,05 \pm 0,25*
Globules Rouges* 10^{12} (L)	7,99 \pm 0,29	5,7 \pm 0,4*	8,36 \pm 0,44	7,55 \pm 0,25*
Hématocrite (%)	48,45 \pm 2,95	32,5 \pm 2,5*	48,7 \pm 0,6	44,53 \pm 0,76*
Plaquettes* 10^9 (L)	830 \pm 208	515,5 \pm 36,5	790 \pm 43	639,5 \pm 31,5

V.1.1.2. Cortisolémie

Aucune différence significative remarquée chez les rats du groupe G1, G2, G3 et G4, concernant le taux de cortisol dans le sang ($p > 0.05$) (fig. 32).

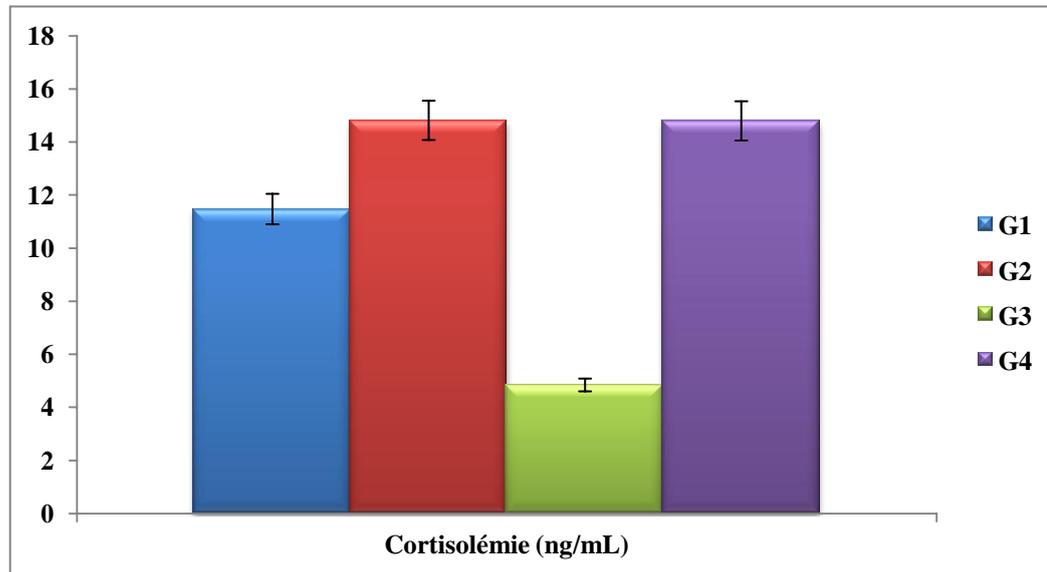


Figure 32 : Le taux de cortisol dans le sang chez les rats du groupe G1 (témoins), G2 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours)), G3 (200 mg/kg d'EEA (28 jours)) et G4 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) et 200 mg/kg d'EEA (28 jours)). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. ($p > 0.05$)

V.1.2. Les paramètres du statut oxydant au niveau érythrocytaire

V.1.2.1. Les enzymes antioxydantes : SOD, CAT et GSH-Px

Le traitement statistique de données a révélé que l'injection intraveineuse de cisplatine au rats a diminué significativement ($p < 0.001$) le taux de SOD, CAT et GSH-Px au niveau érythrocytaire de -66 %, -70 % et -71%, respectivement chez le groupe G2 comparé avec le groupe témoin (G1). Tandis que les rats exposés au CP et traités par l'EEA ont une amélioration significative ($p < 0.001$) de +60 %, +64 % et +65% au taux de SOD, CAT et GSH-Px dans les érythrocytes. De plus, les rats traités seulement par l'EEA (G3) ont une élévation significative ($p < 0.05$) de au teneur de SOD (+25 %), CAT (+6 %) et GSH-Px (+11 %) érythrocytaire en comparaison avec les rats témoins (G1) (fig. 33).

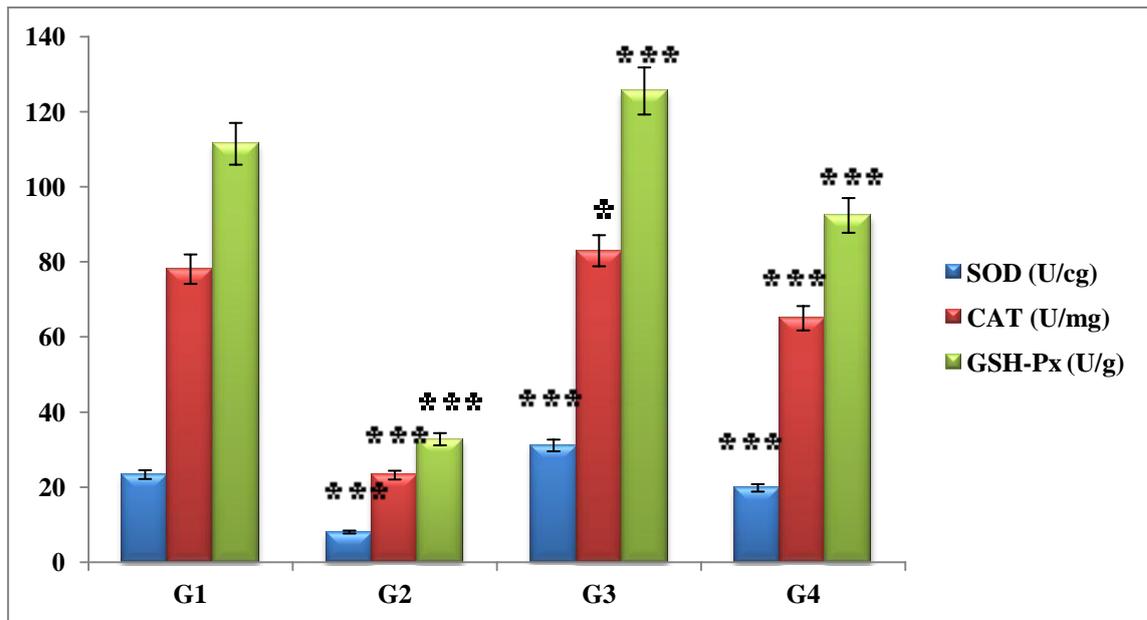


Figure 33 : Evaluation des enzymes antioxydantes érythrocytaires (SOD, CAT et GSH-Px) chez les rats du groupe G1 (témoins), G2 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours)), G3 (200 mg/kg d'EEA (28 jours)) et G4 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) et 200 mg/kg d'EEA (28 jours)). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (***) : $p < 0.001$; (*) : $p < 0.05$)

V.1.2.2. Malondialdéhyde (MDA)

La teneur de MDA érythrocytaire chez le groupe G2 est significativement ($p < 0.001$) plus important (+79 %) que le groupe témoin. Par contre le groupe G4 présente une réduction significative de -70 % du MDA dans les érythrocytes (fig. 34).

V.1.2.3. Thiols

Le groupe G2 (cisplatine) a diminution significative ($p < 0.001$) au de taux de thiols érythrocytaire de -77 % en comparaison avec le groupe témoin (G1). Par contre, le groupe G4 exposé au cisplatine et traité avec l'EEA a une élévation significative ($p < 0.001$) de +73 % au taux de thiols au niveau des érythrocytes par rapport au groupe G2 intoxiqué par le cisplatine. De plus, les rats traités seulement avec l'EEA (G3) ont une augmentation significative ($p < 0.01$) au teneur de thiols dans les érythrocytes (+11 %) en comparaison avec les rats témoins (G1) (fig. 35).

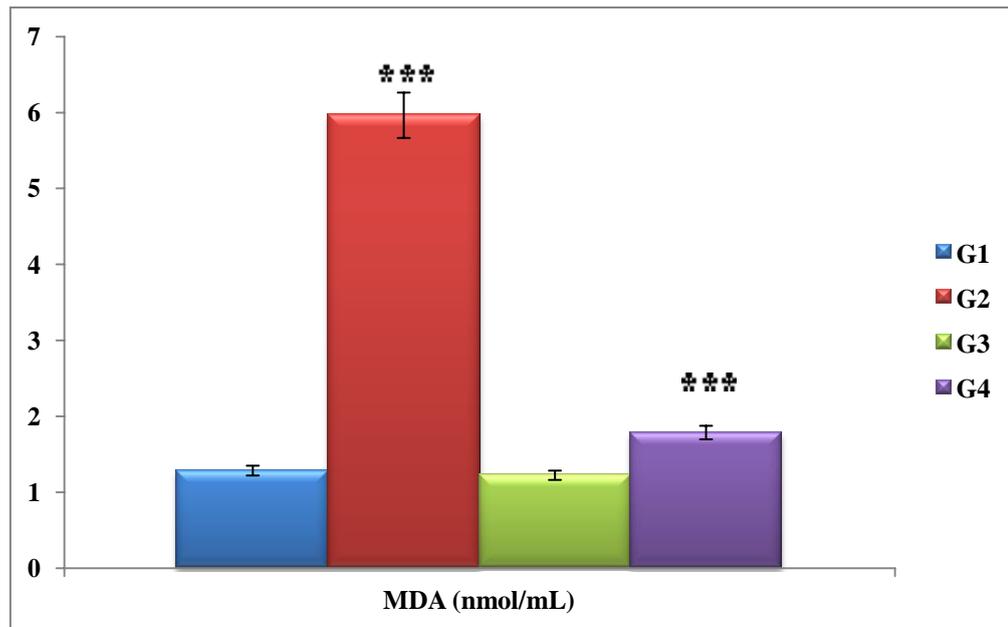


Figure 34 : La teneur en malondialdéhyde (MDA) au niveau érythrocytaire chez les rats du groupe G1 (témoins), G2 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours)), G3 (200 mg/kg d'EEA (28 jours)) et G4 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) et 200 mg/kg d'EEA (28 jours)). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (***) : $p < 0.001$)

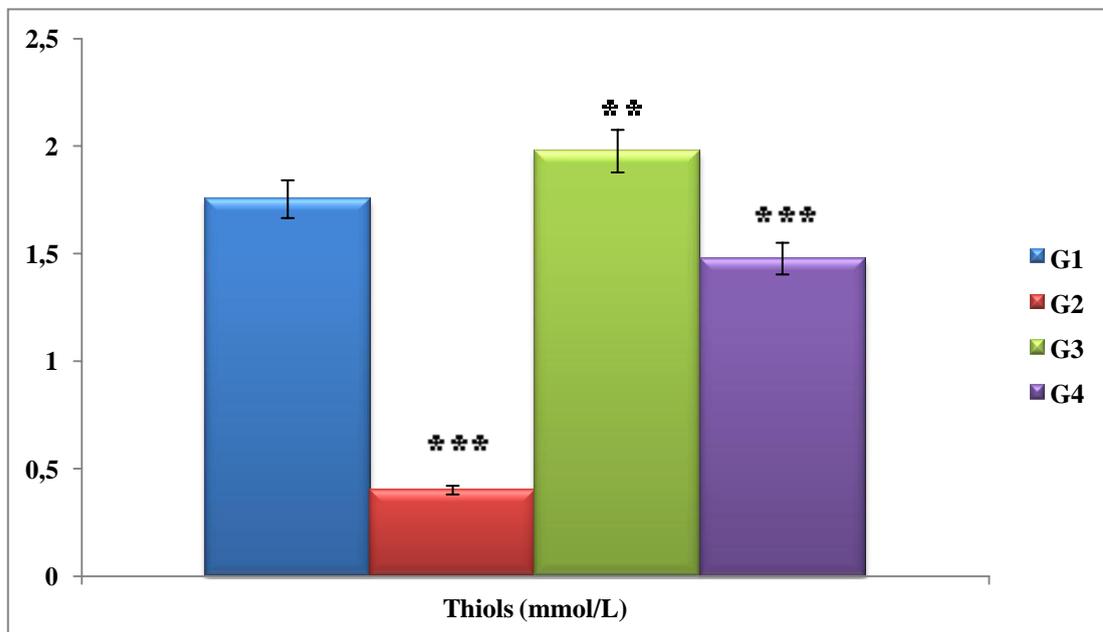


Figure 35 : Le taux des thiols érythrocytaires chez les rats du groupe G1 (témoins), G2 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours)), G3 (200 mg/kg d'EEA (28 jours)) et G4 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) et 200 mg/kg d'EEA (28 jours)). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (***) : $p < 0.001$; (**): $p < 0.01$)

V.2. Discussion

L'administration de cisplatine a entraîné une déplétion significative des globules rouges, des globules blancs, d'hémoglobine, d'hématocrite, des enzymes antioxydantes érythrocytaires (CAT, SOD, GSH-Px) et du thiol érythrocytaire, et une augmentation du MDA érythrocytaire. [Bhalchandra et al. \(2018\)](#) ; [Yousef et al. \(2009\)](#) et [Marković et al. \(2011\)](#) ont signalé aussi les mêmes résultats.

Une diminution significative du nombre de globules rouges et de la teneur d'hémoglobine implique un lien étiologique entre l'anémie et le cisplatine. Ainsi, le traitement par cisplatine pourrait induire des troubles anémiques dus à la suppression des tissus hématopoïétiques, à une perturbation de l'érythropoïèse et à une réduction élevée des érythrocytes en raison d'une altération de la perméabilité de la membrane érythrocytaire et d'un métabolisme du fer défectueux. L'épuisement des plaquettes peut être dû à une myélosuppression ou à une agrégation plaquettaire pendant le traitement par cisplatine ([Karale et al., 2017](#)). De nombreux auteurs ont observé que le nombre de globules blancs était diminué après l'administration de cisplatine. Cela pourrait être dû à une infection et à une inflammation pendant le traitement au cisplatine. Le principal mécanisme moléculaire du cisplatine est la myélotoxicité due à sa capacité à se lier à l'ADN cellulaire et à rendre la cellule incapable de se répliquer ([Bhalchandra et al., 2018](#)).

La génération d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) est l'un des mécanismes possibles responsables de la toxicité des CP par leur lésion de stress oxydatif et la suppression du système de défense antioxydant ([Nasr, 2014](#)). Les espèces réactives de l'oxygène sont toxiques pour les cellules de la moelle osseuse et peuvent probablement déclencher l'apoptose et affecter le cycle cellulaire ([Rajendrakumar et al., 2020](#)). Les ERO peuvent réagir avec toutes les macromolécules biologiques, par exemple les lipides, les protéines et les acides nucléiques, conduisant à la formation de substances oxydées telles que le malondialdéhyde (MDA), produit de peroxydation lipidique membranaire et l'échec du mécanisme de défense antioxydant contre les dommages provoqués par les radicaux libres ([Marković et al. 2011](#)).

Par contre, l'EEA a amélioré des paramètres de FNS, établi les activités de SOD, CAT, GSH-Px et les niveaux de thiol, et réduit le taux de MDA chez les rats intoxiqués avec le cisplatine.

Partie VI: Les marqueurs d'inflammation

VI.1. Résultats

L'injection intraveineuse de CP aux rats (groupe G2) provoque une élévation significative ($p < 0.001$) de 768,79 pg/mL et 58,49 ng/g au taux de PGE2 et de TNF- α respectivement en comparaison avec les témoins (groupe G1). Tandis que le groupe G4 montre une diminution significative ($p < 0.001$) de -654,70 pg/mL et -51,29 ng/g au teneur de PGE2 et de TNF- α respectivement par rapport à celui des rats exposés seulement au CP (groupe G2). De même le groupe G3 (traité seulement par la dose 200 mg/kg/J d'EEA pendant 28 jours) a une diminution significative de -45,64 pg/mL et -7,2 ng/g au de PGE2 ($p < 0.01$) et TNF- α ($p < 0.001$) respectivement par rapport au groupe G1 (fig. 36 et 37).

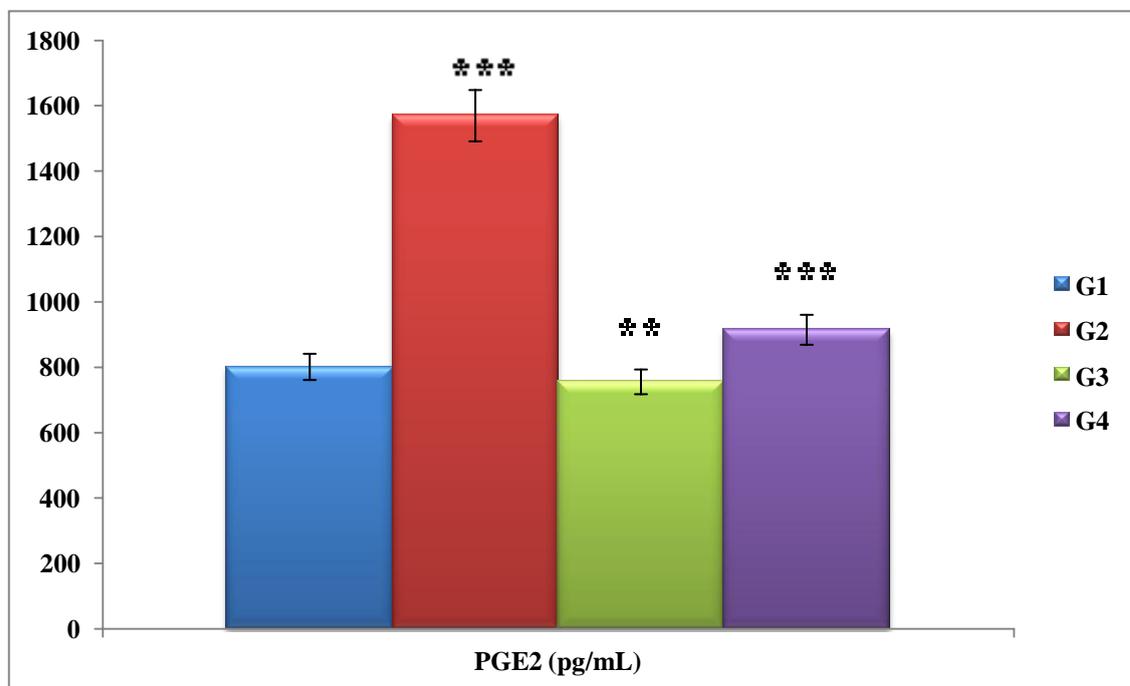


Figure 36 : Le taux de prostaglandine E2 (PGE₂) chez les rats du groupe G1 (témoins), G2 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours)), G3 (200 mg/kg d'EEA (28 jours)) et G4 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) et 200 mg/kg d'EEA (28 jours)). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (***) : $p < 0.001$; ** : $p < 0.01$)

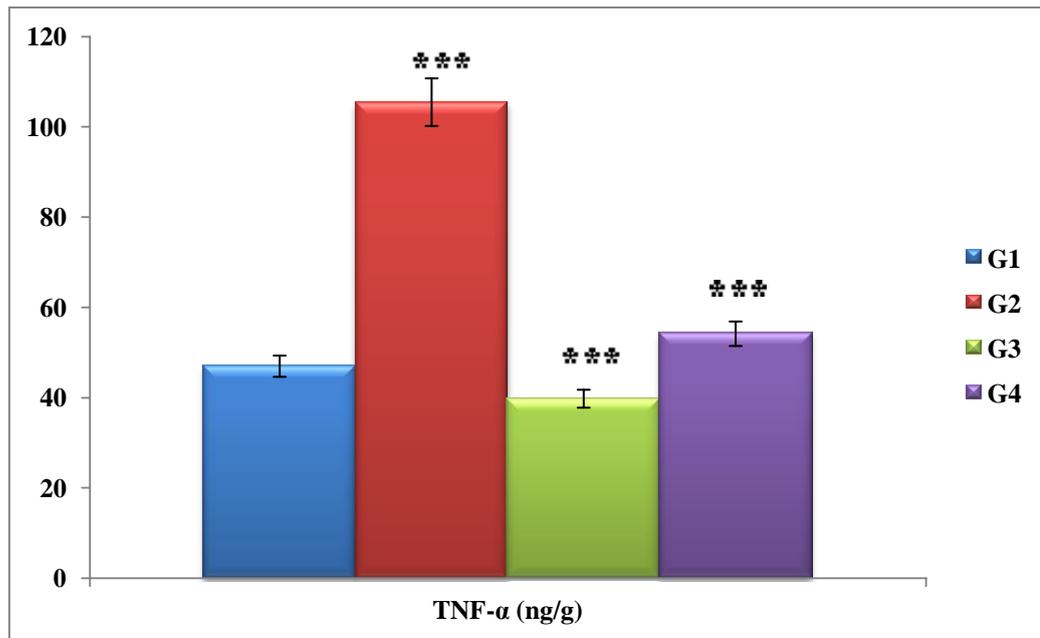


Figure 37 : Le taux de facteur de nécrose tumorale (TNF- α) chez les rats du groupe G1 (témoins), G2 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours)), G3 (200 mg/kg d'EEA (28 jours)) et G4 (trois doses de 7 mg/Kg de CP (6 jours) et 200 mg/kg d'EEA (28 jours)). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (***) : $p < 0.001$

VI.2. Discussion

Les résultats des marqueurs d'inflammation sont en accord avec les travaux de [Rehman et al. \(2014\)](#) et [Un et al. \(2020\)](#).

Les quantités accrues de PGE2 sont produites dans plusieurs conditions pathologiques, notamment l'inflammation et les lésions tissulaires ([Elkhouly et al., 2012](#)).

Le TNF- α , est un médiateur important dans de nombreuses réponses immunologiques et inflammatoires, ainsi que dans un certain nombre de conditions pathologiques ([Huang et al., 2005](#)). Il a également été établi que la cytokine pro-inflammatoire TNF- α joue un rôle clé dans le patho-mécanisme des lésions induites par le cisplatine ([Rehman et al., 2014](#)). Le TNF- α est nécessaire pour initier une inflammation efficace processus contre l'infection, alors que leur production excessive a été associée à de multiples dysfonctionnements du système d'organes et à la mortalité ([Cao et al., 2012](#)). Il a été démontré que diverses cytokines inflammatoires, telles que le TNF- α produites lors d'une lésion hépatique d'origine médicamenteuse, ont participé à la stimulation des lésions hépatiques ([Kucukler et al., 2020](#)).

L'inversion des taux du TNF- α et de PGE2 chez le groupe cisplatine traité par l'EEA soutient les effets protecteurs exercés par l'EEA dans l'inflammation induite par le cisplatine. Il indique que l'EEA exerce une action anti-inflammatoire.

Conclusion et perspectives

Si la chimiothérapie est particulièrement efficace, elle peut induire des effets secondaires pendant et après la période de traitement. Ces effets varient en fonction des patients, des médicaments et des doses de chimiothérapies utilisées. Le cisplatine est un agent chimiothérapeutique important, efficace dans le traitement de nombreux cancers. Malheureusement, il a des effets secondaires toxiques. Les toxicités du cisplatine sont chroniques (auditive, rénale, hépatique et neurologique) mais aussi aiguës (insuffisance rénale aiguë, troubles digestifs sévères), et rendent cette molécule parfois d'usage difficile.

L'*Anacyclus valentinus* est l'une des plantes médicinales. Elle a des diverses activités biologiques.

L'intérêt de cette étude est d'évaluer l'effet thérapeutique de l'extrait éthanolique d'*Anacyclus valentinus* sur la toxicité induite par trois doses (7 mg/ kg) de cisplatine par voie intraveineuse durant 6 jours, une seule dose tous les deux jours. Suite à une approche biochimique, une étude du statut oxydatif au niveau érythrocytaire, hépatique et rénal, une étude neurocomportementale, une étude des marqueurs d'inflammation et une étude histologique.

L'analyse qualitative et quantitative d'extrait éthanolique des parties aériennes d'*Anacyclus valentinus* a montré la présence de 20 composés dans l'extrait. Le composant principal d'EEA est le quercétine. Le dosage d'EEA a révélé qu'il était riche en polyphénols totaux et en flavonoïdes.

Le test antioxydant d'EEA selon la méthode du piégeage du radical libre DPPH a montré que l'EEA possède une bonne activité antioxydante.

Nos résultats indiquent clairement que l'utilisation du cisplatine est associée à la dépression, l'anxiété et l'hypoactivité locomotrice. Ces dysfonctionnements se produisent à cause des changements histopathologiques au niveau cérébral.

Dans la présente étude, il est clair que l'exposition au cisplatine a entraîné divers degrés de peroxydation lipidique et le monoxyde d'azote au niveau de foie, une inhibition des activités des enzymes antioxydantes hépatiques, des altérations des paramètres biochimiques (ASAT, ALAT, PAL, γ -GT et glycémie) dans le sanguin et des dommages histologiques dans le foie. A l'inverse, l'EEA peut fournir une protection contre les changements induits par le cisplatine dans les enzymes antioxydantes hépatiques, la concentration de malondialdéhyde (MDA) et

d'oxyde nitrique (NO) hépatique, les paramètres biochimiques et la structure histologique du foie.

La toxicité rénale induite par le cisplatine associée à des dommages oxydatifs, une peroxydation lipidique, des modifications histologiques et l'élévation de taux de créatinine et d'urée au niveau de sang. Un traitement quotidien d'EEA à 200mg/kg/J pendant 28 jours exerce des effets d'amélioration contre la toxicité rénale induite par le CP. L'effet antioxydant de l'EEA a été mis en évidence par la restauration des activités des marqueurs oxydatifs/antioxydants, les coupes histologiques subnormales des reins et l'amélioration d'urémie et de créatininémie.

Nos données suggèrent que l'administration de CP par voie intraveineuse induit une hématotoxicité chez le rat par des altérations du biomarqueur de la peroxydation lipidique (MDA), des enzymes antioxydantes (y compris CAT, SOD et GSH-Px) et des thiols au niveau érythrocytaire et des paramètres de la numération de la formule sanguine (le nombre de globules rouges, le nombre de globules blancs, le taux d'hématocrite et le nombre des plaquettes). Cependant, le traitement par l'EEA a joué un rôle bénéfique dans ces changements antérieurs induits par le CP grâce à ses activités antioxydantes et de piégeage des radicaux libres.

Les résultats obtenus après l'exposition a trois doses de cisplatine (7 mg/ kg) ont indiqué une augmentation au taux des marqueurs d'inflammation (PGE2, TNF- α). Le traitement par l'EEA a récupéré efficacement les niveaux des marqueurs d'inflammation. Ce potentiel d'EEA est associé à ses propriétés anti-inflammatoires.

En conclusion, L'extrait éthanolique d'*anacyclus valentinus* peut corriger les altérations induites par le cisplatine y compris l'hépatotoxicité, la néphrotoxicité, l'hématotoxicité et la neurotoxicité.

Par ailleurs, les résultats de cette étude restent préliminaires. En fait, des études plus approfondies nécessaires pour explorer l'effet de l'EEA sur l'activité anticancéreuse. Cette recherche sera complétée par le dosage des marqueurs du stress oxydatif au niveau cérébral. Les expérimentations chez l'animal ont permis d'identifier les effets protecteurs de l'*Anacyclus valentinus* sur la toxicité induite par les traitements chimiothérapeutiques à la base de cisplatine, mais ces hypothèses restent à vérifier chez l'humain.

Références bibliographiques

1. Abd-El-kader, N. F., Saad, M. A., & Abdelsalam, R. M. (2017). Neuroprotective effect of nebivolol against cisplatin associated depressive like behavior in rats. *Journal of neurochemistry*, 141(3), 449-460.
2. Abd-El-Moneim, A. (2014). *Azadirachta indica* attenuates cisplatin-induced neurotoxicity in rats. *Indian Journal of Pharmacology*, 46(3), 316.
3. Abd-El-Wahab, B. A., Alkahtani, S. A., & Elagab, E. A. (2020). Tadalafil alleviates cisplatin-induced reproductive toxicity through the activation of the Nrf2/HO-1 pathway and the inhibition of oxidative stress and apoptosis in male rats. *Reproductive Toxicology*, 96, 165-174.
4. Abo-Elmaaty, A., Behairy, A., El-Naseery, N. I., & Abdel-Daim, M. M. (2020). The protective efficacy of vitamin E and cod liver oil against cisplatin-induced acute kidney injury in rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(35), 44412-44426.
5. Aggarwal, A., Singla, S. K., & Tandon, C. (2014). Urolithiasis: Phytotherapy as an adjunct therapy. *Indian Journal of Experimental Biology*, 53, 103-111.
6. Agudo, A. B., Torices, R., Loureiro, J., Castro, S., Castro, M., & Álvarez, I. (2019). Genome size variation in a hybridizing diploid species complex in *Anacyclus* (Asteraceae: Anthemideae). *International Journal of Plant Sciences*, 180(5), 374-385.
7. Ahmad, R. M., & Al-Jawary, A. H. (2012). Effect of vitamin C on the hepatotoxicity induced by cisplatin in rats. *Rafidain journal of science*, 23(3), 23-33.
8. Alam, N., Dubey, R. D., Kumar, A., Koul, M., Sharma, N., Sharma, P. R., ... & Gupta, P. N. (2015). Reduced toxicological manifestations of cisplatin following encapsulation in folate grafted albumin nanoparticles. *Life sciences*, 142, 76-85.
9. Alam, M. N., Bristi, N. J., & Rafiquzzaman, M. (2013). Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi pharmaceutical journal*, 21(2), 143-152.
10. Alexander, T. C., Han, F. X., Arslan, Z., & Tchounwou, P. B. (2019). Toxicity of As in *Crassostrea virginica* (Gmelin, 1791) from the Northern Gulf of Mexico at the presence of Zn and its antioxidant defense mechanisms. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 172, 514-522.
11. Alhoshani, A. R., Hafez, M. M., Husain, S., Al-Sheikh, A. M., Alotaibi, M. R., Al Rejaie, S. S., ... & Al-Shabanah, O. A. (2017). Protective effect of rutin

- supplementation against cisplatin-induced Nephrotoxicity in rats. *BMC nephrology*, 18(1), 1-10.
12. Ali, A. A., & Alqurainy, F. (2006). Activities of antioxidants in plants under environmental stress. *The lutein-prevention and treatment for diseases*, 187-256.
 13. Ali, B. H., Al-Moundhri, M., Tageldin, M., Al Hussein, I. S., Mansour, M. A., Nemmar, A., & Tanira, M. O. (2008). Ontogenic aspects of cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 46(11), 3355-3359.
 14. Ali, B. H., Abdelrahman, A. M., Al-Salam, S., Sudhadevi, M., AlMahruqi, A. S., Al-Husseni, I. S., ... & Al-Moundhri, M. (2011). The effect of sildenafil on cisplatin nephrotoxicity in rats. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*, 109(4), 300-308.
 15. Ali, S. K., Hamed, A. R., Soltan, M. M., Hegazy, U. M., Elgorashi, E. E., El-Garf, I. A., & Hussein, A. A. (2013). In-vitro evaluation of selected Egyptian traditional herbal medicines for treatment of Alzheimer disease. *BMC complementary and alternative medicine*, 13(1), 1-10.
 16. Aliboudhar, H., Tigrine-Kordjani, N., & Youcef Meklati, B. (2015). Competition of microwave-assisted hydro-distillation in highlighting volatile phytochemicals of *Anacyclus clavatus* species. *Journal of Essential Oil Research*, 27(4), 355-362
 17. Álvarez, I., Agudo, A. B., Herrero, A., & Torices, R. (2020). The Mendelian inheritance of gynomonoeicy: insights from *Anacyclus* hybridizing species. *American journal of botany*, 107(1), 116-125.
 18. Amrouche, A., Bessenouci, C., Gherib, M., Fellah, K., Malainine, H., & Benmehdi, H. (2019). Approche ethnobotanique descriptive de la flore médicinale en milieu désertique «Cas des oasis du Gourara, de Tidikelt et de Touat» région d'Adrar, Algérie. *Phytothérapie*, 17(6), 334-345.
 19. Antonucci, S., Di Lisa, F., & Kaludercic, N. (2021). Mitochondrial reactive oxygen species in physiology and disease. *Cell Calcium*, 102344.
 20. Antunes, L. M. G., DARIN, J. D. A. C., & Bianchi, M. D. L. P. (2000). Protective effects of vitamin C against cisplatin-induced nephrotoxicity and lipid peroxidation in adult rats: a dose-dependent study. *Pharmacological research*, 41(4), 405-411.
 21. Arnous, A., Makris, D. P., & Kefalas, P. (2002). Correlation of pigment and flavanol content with antioxidant properties in selected aged regional wines from Greece. *Journal of food composition and analysis*, 15(6), 655-665.
 22. Aslani, B. A., & Ghobadi, S. (2016). Studies on oxidants and antioxidants with a brief glance at their relevance to the immune system. *Life sciences*, 146, 163-173.

23. Ateyya, H., Yosef, H., & Nader, M. A. (2016). Ameliorative effect of trimetazidine on cisplatin-induced hepatotoxicity in rats. *Canadian journal of physiology and pharmacology*, *94*(2), 225-230.
24. Avendaño, C., & Menéndez, J. C. (2015). DNA Alkylating Agents. *Medicinal Chemistry of Anticancer Drugs*, 197–241.
25. Bami, E., Ozakpınar, O. B., Ozdemir-Kumral, Z. N., Köroglu, K., Ercan, F., Cirakli, Z., ... & Okuyan, B. (2017). Protective effect of ferulic acid on cisplatin induced nephrotoxicity in rats. *Environmental toxicology and pharmacology*, *54*, 105-111.
26. Barakat, L. A., Barakat, N., Zakaria, M. M., & Khirallah, S. M. (2020). Protective role of zinc oxide nanoparticles in kidney injury induced by cisplatin in rats. *Life Sciences*, *262*, 118503.
27. Belaïch, R., & Boujraf, S. (2016). Facteurs inflammatoires et stress oxydant chez les hémodialysés: effets et stratégies thérapeutiques. *Médecine des maladies Métaboliques*, *10*(1), 38-42.
28. Benahmed, D. A., Issad, M., Benali, Y., Besombes, C., Benseddik, A., Mohamed, B., ... & Allaf, K. (2019). Preliminary In-vivo study on rats to enhance recognizing the use of Anacyclus clavatus as traditional diet by the local population from Tizi-Ouzou. *Journal of Food and Clinical Nutrition*, *2*(1), 1-6.
29. Bensakhria, A. (2018). Le stress oxydatif. *Toxicologie générale*, 70-86.
30. Bentli, R., Parlakpınar, H., Polat, A., Samdanci, E., Sarihan, M. E., & Sagir, M. (2013). Molsidomine prevents cisplatin-induced hepatotoxicity. *Archives of medical research*, *44*(7), 521-528.
31. Bergamini, C. M., Gambetti, S., Dondi, A., & Cervellati, C. (2004). Oxygen, reactive oxygen species and tissue damage. *Current pharmaceutical design*, *10*(14), 1611-1626.
32. Bhalchandra, W., Alqadhi, Y. A., & Ninawe, A. (2018). Ameliorative role of bee honey and royal jelly against cisplatin induced Alteration In Hematological parameters in Male wister albino Rat. *Int J Pharm Pharmaceut Sci*, *10*(4), 10.
33. Bhattacharyya, A., Chattopadhyay, R., Mitra, S., & Crowe, S. E. (2014). Oxidative stress: an essential factor in the pathogenesis of gastrointestinal mucosal diseases. *Physiological reviews*, *94*(2), 329-354.
34. Bielefeld, E. C., Gonzalez, A., & DeBacker, J. R. (2021). Changing the time intervals between cisplatin cycles alter its ototoxic side effect. *Hearing Research*, *404*, 108204.
35. Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., & Kalayci, O. (2012). Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organization Journal*, *5*(1), 9-19.

36. Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, *181*(4617), 1199-1200.
37. Boroja, T., Katanić, J., Rosić, G., Selaković, D., Joksimović, J., Mišić, D., ... & Mihailović, V. (2018). Summer savory (*Satureja hortensis* L.) extract: Phytochemical profile and modulation of cisplatin-induced liver, renal and testicular toxicity. *Food and Chemical Toxicology*, *118*, 252-263.
38. Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, *28*(1), 25-30.
39. Brown, V., Sridhar, T., & Symonds, R. P. (2011). Principles of chemotherapy and radiotherapy. *Obstetrics, Gynaecology & Reproductive Medicine*, *21*(12), 339-345.
40. Buonocore, G., Perrone, S., & Tataranno, M. L. (2010, August). Oxygen toxicity: chemistry and biology of reactive oxygen species. In *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine* (Vol. 15, No. 4, pp. 186-190). WB Saunders.
41. Burton, G. J., & Jauniaux, E. (2011). Oxidative stress. *Best practice & research Clinical obstetrics & gynaecology*, *25*(3), 287-299.
42. Cagin, Y. F., Erdogan, M. A., Sahin, N., Parlakpinar, H., Atayan, Y., Polat, A., ... & Tanbek, K. (2015). Protective effects of apocynin on cisplatin-induced hepatotoxicity in rats. *Archives of medical research*, *46*(7), 517-526.
43. Camus, G., Jandard, V., Caffin, A. G., & Bohand, X. (2013). Effets indésirables des médicaments anticancéreux utilisés en pneumologie. *Revue des Maladies Respiratoires Actualités*, *5*(5), 367-374.
44. Canli, K., Yetgin, A., Akata, I., & Altuner, E. M. (2017). Antimicrobial activity and chemical composition screening of *Anacyclus pyrethrum* root. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*.
45. Cao, Y. Z., Tu, Y. Y., Chen, X., Wang, B. L., Zhong, Y. X., & Liu, M. H. (2012). Protective effect of Ulinastatin against murine models of sepsis: Inhibition of TNF- α and IL-6 and augmentation of IL-10 and IL-13. *Experimental and Toxicologic Pathology*, *64*(6), 543-547.
46. Cerri, S., Piccolini, V. M., Santin, G., Bottone, M. G., De Pascali, S. A., Migoni, D., ... & Bernocchi, G. (2011). The developmental neurotoxicity study of platinum compounds. Effects of cisplatin versus a novel Pt (II) complex on rat cerebellum. *Neurotoxicology and teratology*, *33*(2), 273-281.

47. Chabner, B. A., & Roberts, T. G. (2005). Chemotherapy and the war on cancer. *Nature Reviews Cancer*, 5(1), 65-72.
48. Chan, T. C., Berka, J. L. W., Deliyanti, D., Hunter, D., Fung, A., Liew, G., & White, A. (2020). The role of reactive oxygen species in the pathogenesis and treatment of retinal diseases. *Experimental Eye Research*, 108255.
49. Chandel, S. S., Shirsat, M., Sahu, R. K., & Nayak, S. S. (2018). Modulatory effect of dietary inclusion of aegle marmelos fruits against cisplatin-induced hepatotoxicity in Wistar rats. *Annals of Hepatology*, 17(3), 482-489.
50. Chatelut, É. (2011). Pharmacologie des dérivés du platine: différences entre les trois composés et les facteurs de variabilité entre patients. *Bulletin du cancer*, 98(11), 1253-1261.
51. Chen, Z., Tian, R., She, Z., Cai, J., & Li, H. (2020). Role of oxidative stress in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *Free Radical Biology and Medicine*, 152, 116-141.
52. Chirino, Y. I., & Pedraza-Chaverri, J. (2009). Role of oxidative and nitrosative stress in cisplatin-induced nephrotoxicity. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 61(3), 223-242.
53. Chu, C. S., & Rubin, S. C. (2018). Basic Principles of Chemotherapy. *Clinical Gynecologic Oncology*, 449–469.e2.
54. Chu, C. S., & Rubin, S. C. (2007). *Basic Principles of Chemotherapy*. *Clinical Gynecologic Oncology*, 569–592.
55. Chun, R. (2007). Cancer Chemotherapy. *Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology*, 163–192.
56. Chortkoff, B., & Stenehjem, D. (2019). Chemotherapy, Immunosuppression, and Anesthesia. *Pharmacology and Physiology for Anesthesia*, 753–768.
57. Chtourou, Y., Aouey, B., Aroui, S., Kebieche, M., & Fetoui, H. (2016). Anti-apoptotic and anti-inflammatory effects of naringin on cisplatin-induced renal injury in the rat. *Chemico-Biological Interactions*, 243, 1-9.
58. Corrie, P. G. (2011). Cytotoxic chemotherapy: clinical aspects. *Medicine*, 39(12), 717-722.
59. Dana, P., Bunthot, S., Suktham, K., Surassmo, S., Yata, T., Namdee, K., ... & Saengkrit, N. (2019). Active targeting liposome-PLGA composite for cisplatin delivery against cervical cancer. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 196, 111270.

60. Dasari, S., & Tchounwou, P. B. (2014). Cisplatin in cancer therapy: molecular mechanisms of action. *European journal of pharmacology*, 740, 364-378.
61. Daszuta, A., Banasr, M., Soumier, A., Hery, M., & Mocaer, E. (2005). Dépression et neuroplasticité: implication des systèmes sérotoninergiques. *Therapies*, 60(5), 461-468.
62. Dickens, E., & Ahmed, S. (2018). Principles of cancer treatment by chemotherapy. *Surgery (Oxford)*, 36(3), 134-138.
63. Diyabalanage, H. V., Granda, M. L., & Hooker, J. M. (2013). Combination therapy: histone deacetylase inhibitors and platinum-based chemotherapeutics for cancer. *Cancer letters*, 329(1), 1-8.
64. Dkhil, M. A., Al-Quraishy, S., Aref, A. M., Othman, M. S., El-Deib, K. M., & Abdel Moneim, A. E. (2013). The potential role of *Azadirachta indica* treatment on cisplatin-induced hepatotoxicity and oxidative stress in female rats. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2013.
65. Dobson, J. M., Hohenhaus, A. E., & Peaston, A. E. (2008). *Cancer chemotherapy. Small Animal Clinical Pharmacology*, 330–366.
66. Dong, S., Lyu, X., Yuan, S., Wang, S., Li, W., Chen, Z., ... & Jiang, Q. (2020). Oxidative stress: a critical hint in ionizing radiation induced pyroptosis. *Radiation Medicine and Protection*, 1(04), 179-185.
67. Drury, R.A.B., Wallington, E.A. (1980) Carleton's Histologic Techniques. 5th ed., Oxford University Press, London, pp. 199–205.
68. Dugbartey, G. J., Bouma, H. R., Lobb, I., & Sener, A. (2016). Hydrogen sulfide: a novel nephroprotectant against cisplatin-induced renal toxicity. *Nitric Oxide*, 57, 15-20.
69. Eid, B. G., & El-Shitany, N. A. (2021). Captopril downregulates expression of Bax/cytochrome C/caspase-3 apoptotic pathway, reduces inflammation, and oxidative stress in cisplatin-induced acute hepatic injury. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 139, 111670.
70. Ekinci-Akdemir, F. N., Gülçin, I., Gürsul, C. E. B. R. A. İ. L., Alwasel, S. H., & Bayir, Y. (2017). Effect of p-coumaric acid against oxidative stress induced by cisplatin in brain tissue of rats. *JAPS: Journal of Animal & Plant Sciences*, 27(5).
71. Ekinci-Akdemir, F. N., Bingöl, Ç., Yıldırım, S., Kandemir, F. M., Küçükler, S., & Sağlam, Y. S. (2020). The investigation of the effect of fraxin on hepatotoxicity induced by cisplatin in rats. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 23(11), 1382.
72. Elazzouzi, H., Soro, A., Elhilali, F., Bentayeb, A., El Belghiti, M. A., & Zair, T. (2014). Phytochemical study of *Anacyclus pyrethrum* (L.) of Middle Atlas (Morocco), and in

- vitro study of antibacterial activity of pyrethrum. *Advances in natural and applied sciences*, 8(8), 131-141.
73. El-Gizawy, M. M., Hosny, E. N., Mourad, H. H., Razik, A. E., & Amira, N. (2020). Curcumin nanoparticles ameliorate hepatotoxicity and nephrotoxicity induced by cisplatin in rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 393(10), 1941-1953.
74. Elkhoully, G., Abd, S. M., Mohamed, A. S., Ibrahim, I. S., Hantera, M., & Ezzat, S. (2012). The level of bronchoalveolar lavage fluid prostaglandine E₂; is it diagnostic of bronchogenic carcinoma?. *Egyptian Journal of Chest Diseases and Tuberculosis*, 61(3), 167-170.
75. Ellahioui, Y., Prashar, S., & Gomez-Ruiz, S. (2017). Anticancer applications and recent investigations of metallodrugs based on gallium, tin and titanium. *Inorganics*, 5(1), 4.
76. El-Sayed, E. S. M., Abd El-Raouf, O. M., Fawzy, H. M., & Manie, M. F. (2013). Comparative study of the possible protective effects of cinnamic acid and cinnamaldehyde on cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 27(12), 508-514.
77. El-Sayyad, H. I., Ismail, M. F., Shalaby, F. M., Abou-El-Magd, R. F., Gaur, R. L., Fernando, A., ... & Ouhtit, A. (2009). Histopathological effects of cisplatin, doxorubicin and 5-fluorouracil (5-FU) on the liver of male albino rats. *International journal of biological sciences*, 5(5), 466.
78. Elstner, E. F., Youngman, R. J., Obwald, W. 1983. Superoxyde dismutase. In: Bergmeyer. H.U. (Ed), *Methods of Enzymatic Analysis* 3: 293-302.
79. English, M. W. (2010). Principles of chemotherapy. *Paediatrics and Child Health*, 20(3), 123-128.
80. Falzon, C. C., & Balabanova, A. (2017). Phytotherapy: an introduction to herbal medicine. *Primary Care: Clinics in Office Practice*, 44(2), 217-227.
81. Ferreira, C. A., Ni, D., Rosenkrans, Z. T., & Cai, W. (2018). Scavenging of reactive oxygen and nitrogen species with nanomaterials. *Nano research*, 11(10), 4955-4984.
82. Fleming, E., & Luo, Y. (2021). Co-delivery of synergistic antioxidants from food sources for the prevention of oxidative stress. *Journal of Agriculture and Food Research*, 3, 100107.
83. Forman, H. J., Maiorino, M., & Ursini, F. (2010). Signaling functions of reactive oxygen species. *Biochemistry*, 49(5), 835-842.

84. Fuchs-Tarlovsky, V. (2013). Role of antioxidants in cancer therapy. *Nutrition*, 29(1), 15-21.
85. Fulco, B. C. W., Jung, J. T. K., Chagas, P. M., Rosa, S. G., Prado, V. C., & Nogueira, C. W. (2020). Diphenyl diselenide is as effective as Ebselen in a juvenile rat model of cisplatin-induced nephrotoxicity. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 60, 126482.
86. Gauthier, M. R., Senhorinho, G. N. A., & Scott, J. A. (2020). Microalgae under environmental stress as a source of antioxidants. *Algal Research*, 52, 102104.
87. Ghosh, S. (2019). Cisplatin: The first metal based anticancer drug. *Bioorganic chemistry*, 88, 102925.
88. Gomaa, D.H., Hozayen, G .W., Al-shafeey, H., Hussein Elkelawy, A. M. M., & Hashem, K.S. (2020). Ginkgo biloba alleviates cisplatin-mediated neurotoxicity in rats via modulating APP/A β /P2X7R/P2Y12R and XIAP/BDNF-dependent caspase-3 apoptotic pathway. *Applied Sciences*, 10(14), 4786.
89. Guéraud, F., Atalay, M., Bresgen, N., Cipak, A., Eckl, P. M., Huc, L., ... & Uchida, K. (2010). Chemistry and biochemistry of lipid peroxidation products. *Free radical research*, 44(10), 1098-1124.
90. Gustafson, D. L., & Bailey, D. B. (2019). Cancer Chemotherapy. *Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology*, 182–208.
91. Gustafson, D. L., & Page, R. L. (2013). Cancer Chemotherapy. *Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology*, 157–179.
92. Habib, S. A., Suddek, G. M., Rahim, M. A., & Abdelrahman, R. S. (2021). The protective effect of protocatechuic acid on hepatotoxicity induced by cisplatin in mice. *Life Sciences*, 277, 119485.
93. Hagar, H., El Medany, A., Salam, R., El Medany, G., & Nayal, O. A. (2015). Betaine supplementation mitigates cisplatin-induced nephrotoxicity by abrogation of oxidative/nitrosative stress and suppression of inflammation and apoptosis in rats. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 67(2), 133-141.
94. Hagar, H., Husain, S., Fadda, L. M., Attia, N. M., Attia, M. M., & Ali, H. M. (2019). Inhibition of NF- κ B and the oxidative stress-dependent caspase-3 apoptotic pathway by betaine supplementation attenuates hepatic injury mediated by cisplatin in rats. *Pharmacological Reports*, 71(6), 1025-1033.
95. Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007). Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62(10), 628-38.

96. Hammami, S., Bergaoui, A., Bouzidi, A., Ciavatta, M. L., Cimino, G &, Abreu, P. M., & Mighri, Z. (2011). Isolation and structure elucidation of flavonol glycosides, methyl linoleate and fatty acids from *Anacyclus cyrtolepidioides* (Pomel) growing in Tunisia. *Analytical chemistry letters*, 1(5-6), 384-392.
97. Hassan, I., Chibber, S., & Naseem, I. (2010). Ameliorative effect of riboflavin on the cisplatin induced nephrotoxicity and hepatotoxicity under photoillumination. *Food and Chemical Toxicology*, 48(8-9), 2052-2058.
98. Hayati, F., Hossainzadeh, M., Shayanpour, S., Abedi-Gheshlaghi, Z., & Mousavi, S. S. B. (2016). Prevention of cisplatin nephrotoxicity. *Journal of nephro pharmacology*, 5(1), 57.
99. Heeba, G. H., Hamza, A. A., & Hassanin, S. O. (2016). Induction of heme oxygenase-1 with hemin alleviates cisplatin-induced reproductive toxicity in male rats and enhances its cytotoxicity in prostate cancer cell line. *Toxicology letters*, 264, 38-50.
100. Heidary, N., Naik, H., & Burgin, S. (2008). Chemotherapeutic agents and the skin: an update. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 58(4), 545-570.
101. Hellal, K., Maulidiani, M., Ismail, I. S., Tan, C. P., & Abas, F. (2020). Antioxidant, α -glucosidase, and nitric oxide inhibitory activities of six Algerian traditional medicinal plant extracts and ¹H-NMR-based metabolomics study of the active extract. *Molecules*, 25(5), 1247.
102. Houicher, A., Hamdi, M., Hechachna, H., & Özogul, F. (2018). Chemical composition and antifungal activity of *Anacyclus valentinus* essential oil from Algeria. *Food Bioscience*, 25, 28-31.
103. Houlston, A. (2008). Principles of Chemotherapy. *Cancer in children and young people*, 3-5.
104. Hounnimassou, H. M. A., Attindehou, S., Salifou, S., Koumodji, K. D., & Salifou, S. (2017). Effets strongylicides in vitro de l'extrait aqueux de feuilles de *Ficus exasperata* Valh. 1805 (Moraceae). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 11(3), 1012-1020.
105. Hsu, T. H., Hung, S. W., Wu, C. Y., Chiu, C. C., Hong, H. T., Lee, G. C., ... & Wu, C. P. (2020). Supplementation of beef extract improves chemotherapy-induced fatigue and toxic effects in mice. *Journal of Functional Foods*, 75, 104232.
106. Huang, J., Wu, L., Tashiro, S. I., Onodera, S., & Ikejima, T. (2005). The augmentation of TNF α -induced cell death in murine L929 fibrosarcoma by the pan-caspase

- inhibitor Z-VAD-fmk through pre-mitochondrial and MAPK-dependent pathways. *Acta Medica Okayama*, 59(6), 253-260.
107. Hulin, A., Royer, B., Chatelut, E., & Le Guellec, C. (2010). Niveau de preuve du suivi thérapeutique pharmacologique du cisplatine. *Thérapie*, 65(3), 151-155.
108. Ibrahim, A., Al-Hizab, F. A., Abushouk, A. I., & Abdel-Daim, M. M. (2018). Nephroprotective effects of benzyl isothiocyanate and resveratrol against cisplatin-induced oxidative stress and inflammation. *Frontiers in pharmacology*, 9, 1268.
109. Ighodaro, O. M., & Akinloye, O. A. (2018). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria journal of medicine*, 54(4), 287-293.
110. Irrazabal, T., Thakur, B. K., Croitoru, K., & Martin, A. (2021). Preventing colitis-associated colon cancer with antioxidants: a systematic review. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology*.
111. Jaffé, M. (1886). Ueber den Niederschlag, welchen Pikrinsäure in normalem Harn erzeugt und über eine neue Reaction des Kreatinins. *Z Physiol chem*, 10,391-400.
112. Jaffe M. Ueber den Neiderschlag, welchen Pikrinsäure in normalen Chem 10 : 391-400.
113. Jangra, A., Kwatra, M., Singh, T., Pant, R., Kushwah, P., Ahmed, S., ... & Lahkar, M. (2016). Edaravone alleviates cisplatin-induced neurobehavioral deficits via modulation of oxidative stress and inflammatory mediators in the rat hippocampus. *European Journal of Pharmacology*, 791, 51-61.
114. Jawhari, F. Z., El Moussaoui, A., Bourhia, M., Imtara, H., Mechchate, H., Es-Safi, I., ... & Bari, A. (2020). *Anacyclus pyrethrum* (L): Chemical composition, analgesic, anti-inflammatory, and wound healing properties. *Molecules*, 25(22), 5469.
115. Jones, R. (2016). Cytotoxic chemotherapy: clinical aspects. *Medicine*, 44(1), 25-29.
116. Jones, R., & Ocen, J. (2020). Cytotoxic chemotherapy: Clinical aspects *Medicine*, 48(2), 97-102.
117. Juan, C. A., Pérez de la Lastra, J. M., Plou, F. J., & Pérez-Lebeña, E. (2021). The Chemistry of Reactive Oxygen Species (ROS) Revisited: Outlining Their Role in Biological Macromolecules (DNA, Lipids and Proteins) and Induced Pathologies. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(9), 4642.
118. Jurić, T., Stanković, J. S. K., Rosić, G., Selaković, D., Joksimović, J., Mišić, D., ... & Mihailović, V. (2020). Protective effects of *Alchemilla vulgaris* L. extracts against

- cisplatin-induced toxicological alterations in rats. *South African Journal of Botany*, 128, 141-151.
119. K
120. Kamel, K. M., Abd El-Raouf, O. M., Metwally, S. A., Abd El-Latif, H. A., & El-sayed, M. E. (2014). Hesperidin and rutin, antioxidant citrus flavonoids, attenuate cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *Journal of biochemical and molecular toxicology*, 28(7), 312-319.
121. Kanfon, R. E., Gnawe, M., Dossa, C. P. A., Yedomonhan, H., Wotto, D. V., & Sohounhloue, C. D. (2018). Caractérisation physico-chimique et évaluation de l'activité antiradicalaire des extraits de sept morphotypes de gombo (*Abelmoschus* spp.) cultivés au Bénin. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 12(3), 1447-1458.
122. Karale, S., & Kamath, J. V. (2017). Effect of daidzein on cisplatin-induced hematotoxicity and hepatotoxicity in experimental rats. *Indian journal of pharmacology*, 49(1), 49.
123. Kart, A., Cigremis, Y., Karaman, M., & Ozen, H. (2010). Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) ameliorates cisplatin-induced hepatotoxicity in rabbit. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 62(1), 45-52.
124. Katanić, J., Mihailović, V., Matic, S., Stanković, V., Stanković, N., Boroja, T., ... & Mihailović, M. (2015). The ameliorating effect of *Filipendula hexapetala* extracts on hepatorenal toxicity of cisplatin. *Journal of Functional Foods*, 18, 198-212.
125. Khadrawy, Y. A., El-Gizawy, M. M., Sorour, S. M., Sawie, H. G., & Hosny, E. N. (2019). Effect of curcumin nanoparticles on the cisplatin-induced neurotoxicity in rat. *Drug and Chemical Toxicology*, 42(2), 194-202.
126. Khan, A. Q., Rashid, K., AlAmodi, A. A., Agha, M. V., Akhtar, S., Hakeem, I., ... & Uddin, S. (2021). Reactive oxygen species (ROS) in cancer pathogenesis and therapy: An update on the role of ROS in anticancer action of benzophenanthridine alkaloids. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 143, 112142.
127. Kim, S. H., Hong, K. O., Chung, W. Y., Hwang, J. K., & Park, K. K. (2004). Abrogation of cisplatin-induced hepatotoxicity in mice by xanthorrhizol is related to its effect on the regulation of gene transcription. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 196(3), 346-355.

128. Kıvrak, E. G., Yurt, K. K., Kaplan, A. A., Alkan, I., & Altun, G. (2017). Effects of electromagnetic fields exposure on the antioxidant defense system. *Journal of microscopy and ultrastructure*, 5(4), 167-176.
129. Klaunig, J. E., & Wang, Z. (2018). Oxidative stress in carcinogenesis. *Current Opinion in Toxicology*, 7, 116-121.
130. Kowaltowski, A. J., de Souza-Pinto, N. C., Castilho, R. F., & Vercesi, A. E. (2009). Mitochondria and reactive oxygen species. *Free Radical Biology and Medicine*, 47(4), 333-343.
131. Kucukler, S., Darendelioğlu, E., Caglayan, C., Ayna, A., Yıldırım, S., & Kandemir, F. M. (2020). Zingerone attenuates vancomycin-induced hepatotoxicity in rats through regulation of oxidative stress, inflammation and apoptosis. *Life Sciences*, 259, 118382.
132. Kuniishi, H., Ichisaka, S., Yamamoto, M., Ikubo, N., Matsuda, S., Futora, E., ... & Hata, Y. (2017). Early deprivation increases high-leaning behavior, a novel anxiety-like behavior, in the open field test in rats. *Neuroscience research*, 123, 27-35.
133. Lam, P. L., Wong, R. M., Lam, K. H., Hung, L. K., Wong, M. M., Yung, L. H., ... & Chui, C. H. (2020). The role of reactive oxygen species in the biological activity of antimicrobial agents: An updated mini review. *Chemico-biological interactions*, 320, 109023.
134. Lamarck, J.B. M., Candolle, A.P. (1805). Flore française ou description succincte de toutes les plantes qui croissent naturellement en France. Paris, Agasse. 3e éd., 612 p.
135. Larbi, K. S., Meddah, B., Belkhodja, H., Belmimoun, A., Slimani, K., & Sonnet, P. (2017). Chemical composition and anti-arthritic activity of *Anacyclus valentinus* extract on adjuvant-induced arthritis in rats. *International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology*, 2(6), 238995.
136. Larbi, K. S., Meddah, B., Meddah, A. T. T., & Sonnet, P. (2016). The antibacterial effect of two medicinal plants *Inula viscosa*, *Anacyclus valentinus* (Asteraceae) and their synergistic interaction with antibiotic drugs. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 8(2), 244-255.
137. Leite, P. M., Camargos, L. M., & Castilho, R. O. (2021). Recent progress in phytotherapy: A Brazilian perspective. *European Journal of Integrative Medicine*, 41, 101270.
138. Li, X., Li, B., Shi, Y., Wang, C., & Ye, L. (2021). Targeting reactive oxygen species in stem cells for bone therapy. *Drug Discovery Today*.
139. Lind, M. J. (2016). Principles of systemic anticancer therapy. *Medicine*, 44(1), 20-24.

140. Lind, M. J. (2020). Principles of systemic anticancer therapy. *Medicine*, 48(2), 90-96.
141. Liu, N., Zhou, S., Olatunji, O. J., & Wu, Y. (2021). Nucleosides rich extract from *Cordyceps cicadae* alleviated cisplatin-induced neurotoxicity in rats: A behavioral, biochemical and histopathological study. *Arabian Journal of Chemistry*, 15(1), 103476.
142. Luck, H. 1963. In *Methods of Enzymatic Analysis*. (Ed. Bergmeyer, H. V.) New York: Academic Press 885-894.
143. Lundqvist, E. Å., Fujiwara, K., & Seoud, M. (2015). Principles of chemotherapy. *International Journal of gynecology & obstetrics*, 131, S146-S149.
144. Madkour, L. H. (2020). Effects of interactions between antioxidant defense therapy and ROS. Reactive Oxygen Species (ROS), Nanoparticles, and Endoplasmic Reticulum (ER) Stress-Induced Cell Death Mechanisms, 645-691.
145. Malpas, J. S., & Rohatiner, A. (1996). Principles of cancer chemotherapy. *Some Aspects of Oncology*, 1, 317–350.
146. Manohar, S., & Leung, N. (2018). Cisplatin nephrotoxicity: a review of the literature. *Journal of nephrology*, 31(1), 15-25.
147. Marković, S. D., Djačić, D. S., Cvetković, D. M., Obradović, A. D., Žižić, J. B., Ognjanović, B. I., & Štajn, A. Š. (2011). Effects of acute in vivo cisplatin and selenium treatment on hematological and oxidative stress parameters in red blood cells of rats. *Biological trace element research*, 142(3), 660-670.
148. Marković, S., Žižić, J., Šeklić, D., Obradović, A., Ćurčić Milutinović, M., Cvetkovic, D., ... & Štajn, A. (2011). Alteration of oxidative stress parameters in red blood cells of rats after chronic in vivo treatment with cisplatin and selenium. *Archives of Biological Sciences*.
149. Massai, L., Pratesi, A., Gailer, J., Marzo, T., & Messori, L. (2019). The cisplatin/serum albumin system: A reappraisal. *Inorganica Chimica Acta*, 495, 118983.
150. Meirow, D., & Nugent, D. (2001). The effects of radiotherapy and chemotherapy on female reproduction. *Human reproduction update*, 7(6), 535-543.
151. Miodragović, Đ., Swindell, E. P., Waxali, Z. S., Bogachkov, A., & O'Halloran, T. V. (2019). Beyond cisplatin: Combination therapy with arsenic trioxide. *Inorganica chimica acta*, 496, 119030.
152. Mir, M., Arab, M. R., Shahraki, M. R., Mashhadi, M. A., Shahraki, S. M., Sargolzaei, A. F., & Karimfar, M. H. (2015). Toxic effects of cisplatin on hepatocytes and liver enzymes of rats.

153. Mirończuk-Chodakowska, I., Witkowska, A. M., & Zujko, M. E. (2018). Endogenous non-enzymatic antioxidants in the human body. *Advances in medical sciences*, 63(1), 68-78.
154. Nasr, A. Y. (2014). Protective effect of aged garlic extract against the oxidative stress induced by cisplatin on blood cells parameters and hepatic antioxidant enzymes in rats. *Toxicology reports*, 1, 682-691.
155. Natarajan, A., Jayavelu, A., Thangamani, R., Prabakarakrishnan, R., Choi, D., Mohammed, A. A., ... & Kumar, B. S. (2021). In vivo evaluation of protective effect of Sargassum fusiforme on cisplatin induced hepato-renal toxicity. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 117, 101748.
156. Negre-Salvayre, A., Auge, N., Ayala, V., Basaga, H., Boada, J., Brenke, R., ... & Zarkovic, N. (2010). Pathological aspects of lipid peroxidation. *Free radical research*, 44(10), 1125-1171.
157. Neha, K., Haider, M. R., Pathak, A., & Yar, M. S. (2019). Medicinal prospects of antioxidants: A review. *European journal of medicinal chemistry*, 178, 687-704.
158. North, S. M., & Banks, T. A. (2009). *Principles of chemotherapy. Small Animal Oncology*, 31-43.
159. Nygren, P. (2001). What is cancer chemotherapy?. *Acta Oncologica*, 40(2-3), 166-174.
160. Omar, H. A., Mohamed, W. R., Arafa, E. S. A., Shehata, B. A., El Sherbiny, G. A., Arab, H. H., & Elgendy, A. N. (2016). Hesperidin alleviates cisplatin-induced hepatotoxicity in rats without inhibiting its antitumor activity. *Pharmacological Reports*, 68(2), 349-356.
161. Paksoy, M. Y., Selvi, S., Sevindik, E., & Uysal, H. (2016). Soil content in the Anacyclus L.(Asteraceae) genus growing in Turkey. *Turkish Journal of Life Sciences*, 1(1), 8-12.
162. Park, M. H., Jung, I. K., Min, W. K., Choi, J. H., Kim, G. M., Jin, H. K., & Bae, J. S. (2017). Neuropeptide Y improves cisplatin-induced bone marrow dysfunction without blocking chemotherapeutic efficacy in a cancer mouse model. *BMB reports*, 50(8), 417.
163. Pham-Huy, L. A., He, H., & Pham-Huy, C. (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. *International journal of biomedical science: IJBS*, 4(2), 89.
164. Phaniendra, A., Jestadi, D. B., & Periyasamy, L. (2015). Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian journal of clinical biochemistry*, 30(1), 11-26.

165. Pisoschi, A. M., & Pop, A. (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European journal of medicinal chemistry*, 97, 55-74.
166. Pisoschi, A. M., Pop, A., Iordache, F., Stanca, L., Predoi, G., & Serban, A. I. (2020). Oxidative stress mitigation by antioxidants-an overview on their chemistry and influences on health status. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 112891.
167. Pitchot, W., Polis, M. H., Belachew, S., & Ansseau, M. (2008). Dépression et neuroplasticité. *Revue médicale de Liège*, 63.
168. Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., ... & Bitto, A. (2017). Oxidative stress: harms and benefits for human health. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2017.
169. Podratz, J. L., Tang, J. J., Polzin, M. J., Schmeichel, A. M., Nesbitt, J. J., Windebank, A. J., & Madigan, N. N. (2020). Mechano growth factor interacts with nucleolin to protect against cisplatin-induced neurotoxicity. *Experimental Neurology*, 331, 113376.
170. Porsolt, R. D., Le Pichon, M., & Jalfre, M. L. (1977). Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature*, 266(5604), 730-732.
171. Pratibha, R., Sameer, R., Rataboli, P. V., Bhiwgade, D. A., & Dhume, C. Y. (2006). Enzymatic studies of cisplatin induced oxidative stress in hepatic tissue of rats. *European journal of pharmacology*, 532(3), 290-293.
172. Pruchniak, M. P., Araźna, M., & Demkow, U. (2015). Biochemistry of oxidative stress. *Advances in Clinical Science*, 9-19.
173. Purena, R., Seth, R., & Bhatt, R. (2018). Protective role of *Emblica officinalis* hydro-ethanolic leaf extract in cisplatin induced nephrotoxicity in Rats. *Toxicology reports*, 5, 270-277.
174. Qi, L., Luo, Q., Zhang, Y., Jia, F., Zhao, Y., & Wang, F. (2019). Advances in toxicological research of the anticancer drug cisplatin. *Chemical research in toxicology*, 32(8), 1469-1486.
175. Rajendrakumar, T., Suguna Rao, M. L. Satyanarayana, H. D. Narayanaswamy, S. M. Byregowda and Shridhar, N. B. 2020. Hematological Alterations in Cisplatin Induced Toxicity in Rats and Its Amelioration by *Andrographis paniculata*. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*, 9(4): 525-532.
176. Rancoule, C., Guy, J. B., Vallard, A., Mrad, M. B., Rehailia, A., & Magné, N. (2017). Les 50 ans du cisplatine. *Bulletin du cancer*, 104(2), 167-176.

177. Rahal, A., Kumar, A., Singh, V., Yadav, B., Tiwari, R., Chakraborty, S., & Dhama, K. (2014). Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: the interplay. *BioMed research international*, 2014.
178. Rao, M. A., Palaksha, M. N., Sirisha, K. N., Bhargavi, V. L., & Manikandhar, P. (2014). Effect of Aerva lanata on cisplatin induced Neurotoxicity in rats. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3(2), 2431-2451.
179. Rehman, M. U., Ali, N., Rashid, S., Jain, T., Nafees, S., Tahir, M., ... & Sultana, S. (2014). Alleviation of hepatic injury by chrysin in cisplatin administered rats: probable role of oxidative and inflammatory markers. *Pharmacological Reports*, 66(6), 1050-1059.
180. Rezaee, R., Momtazi, A. A., Monemi, A., & Sahebkar, A. (2017). Curcumin: a potentially powerful tool to reverse cisplatin-induced toxicity. *Pharmacological research*, 117, 218-227.
181. Richetto, J., Polesel, M., & Weber-Stadlbauer, U. (2018). Effects of light and dark phase testing on the investigation of behavioural paradigms in mice: relevance for behavioural neuroscience. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 178, 19-29.
182. Riddles, P. W., Blakeley, R. L., & Zerner, B. (1979). Ellman's reagent: 5, 5'-dithiobis (2-nitrobenzoic acid)—a reexamination. *Analytical biochemistry*, 94(1), 75-81.
183. Roberts, C. K., & Sindhu, K. K. (2009). Oxidative stress and metabolic syndrome. *Life sciences*, 84(21-22), 705-712.
184. Rocha, C. R. R., Silva, M. M., Quinet, A., Cabral-Neto, J. B., & Menck, C. F. M. (2018). DNA repair pathways and cisplatin resistance: an intimate relationship. *Clinics*, 73.
185. Rojas, C., & Casablanca, Y. (2019). Chemotherapy, biologic, and immunotherapy breakthroughs in cancer care. *Obstetrics and Gynecology Clinics*, 46(1), 137-154.
186. Rotruck, J. T., Pope, A. L., Ganther, H. E., Swanson, A. B., Hafeman, D. G., & Hoekstra, W. (1973). Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Science*, 179(4073), 588-590.
187. Rustin, P., Chretien, D., Bourgeron, T., Gerard, B., Rötig, A., Saudubray, J. M., & Munnich, A. (1994). Biochemical and molecular investigations in respiratory chain deficiencies. *Clinica chimica acta*, 228(1), 35-51.
188. Sahin, M., Neumann, J. M., Riefke, B., Bednarz, H., Gutberlet, K., Giampà, M., ... & Fatangare, A. (2020). Spatial evaluation of long-term metabolic changes induced by cisplatin nephrotoxicity. *Toxicology letters*, 334, 36-43.

189. Salem, H. A. E. A., Tahoun, E. A. E. A., & Kamel, A. A. (2019). Morphopathological and Biochemical Changes Induced by Cisplatin as Anticancer Drug and The Protective Role of Moringa Leaf Ethanolic Extract and L-Carnitine in Rat. *Journal of Current Veterinary Research*, 1(1), 94-102.
190. Sánchez, C. (2017). Reactive oxygen species and antioxidant properties from mushrooms. *Synthetic and systems biotechnology*, 2(1), 13-22.
191. Sarri, M., Sarri, D., Hendel, N., & Fodil, H. (2018). Note sur une nouvelle station d'*Anacyclus monanthos* subsp. *cyrtolepidioides* (Pomel) Humphries dans la région du Chott el Hodna (M'sila, Algérie). *Acta Botanica Malacitana*, (43), 153-155.
192. Scholar, E. (2007). Cisplatin. *xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference*, 1-6
193. Ścibior, A., Gołębiowska, D., Adamczyk, A., Kurus, J., Staniszewska, M., & Sadok, I. (2018). Evaluation of lipid peroxidation and antioxidant defense mechanisms in the bone of rats in conditions of separate and combined administration of vanadium (V) and magnesium (Mg). *Chemico-Biological Interactions*, 284, 112-125.
194. Selles, C., Dib, M. E. A., Djabou, N., Beddou, F., Muselli, A., Tabti, B., ... & Hammouti, B. (2013). Antimicrobial activity and evolution of the composition of essential oil from Algerian *Anacyclus pyrethrum* L. through the vegetative cycle. *Natural product research*, 27(23), 2231-2234.
195. Shabani, M., Larizadeh, M. H., Parsania, S., Hajali, V., & Shojaei, A. (2012). Evaluation of destructive effects of exposure to cisplatin during developmental stage: no profound evidence for sex differences in impaired motor and memory performance. *International Journal of Neuroscience*, 122(8), 439-448.
196. Shirwaikar, A., Verma, R., Lobo, R., & Shirwaikar, A. (2009). Phytotherapy–Safety aspects. *Natural Product Radiances*, 8(1), 55-63.
197. Silici, S., Ekmekcioglu, O., Kanbur, M., & Deniz, K. (2011). The protective effect of royal jelly against cisplatin-induced renal oxidative stress in rats. *World journal of urology*, 29(1), 127-132.
198. Si Moussa, L., Belabid, L., Lazreg, F., Sanchez, J., & Gallego, E. (2018). Effect of three essential oils from Asteraceae on *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* the causal fungi of chickpea wilt. *Biopesticides International*, 14(1), 41-46.
199. Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In *Methods in enzymology* (Vol. 299, pp. 152-178). Academic press.

200. Sissi, S., Di Giacomo, S., Ferrante, C., Angelini, P., Macone, A., Giusti, A. M., ... & Di Sotto, A. (2022). Characterization of the Phytochemical Composition and Bioactivities of *Anacyclus maroccanus* Ball. and *Anacyclus radiatus* Loisel Aerial Parts: Preliminary Evidence for the Possible Development of Moroccan Plants. *Molecules*, 27(3), 692.
201. Smith, S., & Prewett, S. (2019). Principles of chemotherapy and radiotherapy. *Obstetrics, Gynaecology & Reproductive Medicine*, 30(3), 72-78.
202. Sosa, V., Moliné, T., Somoza, R., Paciucci, R., Kondoh, H., & LLeonart, M. E. (2013). Oxidative stress and cancer: an overview. *Ageing research reviews*, 12(1), 376-390.
203. Sprangers, B., Cosmai, L., & Porta, C. (2020). Conventional chemotherapy. *Oncology*, 127-153.e11.
204. Sultana, S., Verma, K., & Khan, R. (2012). Nephroprotective efficacy of chrysin against cisplatin-induced toxicity via attenuation of oxidative stress. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 64(6), 872-881.
205. Sujith, K., Darwin, R., & Suba, V. (2012). Toxicological evaluation of ethanolic extract of *Anacyclus pyrethrum* in albino wistar rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 2(6), 437-441.
206. Sun, C. Y., Zhang, Q. Y., Zheng, G. J., & Feng, B. (2019). Phytochemicals: current strategy to sensitize cancer cells to cisplatin. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 110, 518-527.
207. Tadjeddine, A. L., Kambouche, N., Medjdoub, H., Meddah, B., Dicko, A., Saidi, S., & Derdour, A. (2013). Antidiabetic effect of *Anacyclus valentinus* L. aqueous extract in normoglycemic and streptozotocin induced-diabetic rats. *Am. J. Phytomed. Clin. Ther*, 1(5), 424-431.
208. Tauffenberger, A., & Magistretti, P. J. (2021). Reactive oxygen species: beyond their reactive behavior. *Neurochemical Research*, 1-11.
209. Torices, R., Agudo, A., & Álvarez, I. (2013, June). Not only size matters: achene morphology affects time of seedling emergence in three heterocarpic species of *Anacyclus* (Anthemideae, Asteraceae). In *Anales del Jardín Botánico de Madrid* (Vol. 70, No. 1, pp. 48-55).
210. Towne, T. G., & Murray, A. (2014). Cisplatin. *Encyclopedia of Toxicology*, 973-975.
211. Un, H., Ugan, R. A., Kose, D., Bayir, Y., Cadirci, E., Selli, J., & Halici, Z. (2020). A novel effect of Aprepitant: Protection for cisplatin-induced nephrotoxicity and hepatotoxicity. *European journal of pharmacology*, 880, 173168.

212. Usmani, A., Khushtar, M., Arif, M., Siddiqui, M. A., Sing, S. P., & Mujahid, M. (2016). Pharmacognostic and phytopharmacology study of *Anacyclus pyrethrum*: An insight. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 6(3), 144-150.
213. Vitales, D., Feliner, G. N., Valles, J., Garnatje, T., Firat, M., & Alvarez, I. (2018). A new circumscription of the Mediterranean genus *Anacyclus* (Anthemideae, Asteraceae) based on plastid and nuclear DNA markers. *Phytotaxa*, 349(1), 1-17.
214. Vona, R., Pallotta, L., Cappelletti, M., Severi, C., & Matarrese, P. (2021). The Impact of Oxidative Stress in Human Pathology: Focus on Gastrointestinal Disorders. *Antioxidants*, 10(2), 201.
215. Vuillet-A-Ciles, H., Lagarde, A., & Buxeraud, J. (2014). La chimiothérapie cytotoxique. *Actualités Pharmaceutiques*, 53(540), 16-24.
216. Vukovic, R., Kumburovic, I., Joksimovic Jovic, J., Jovicic, N., Katanic Stankovic, J. S., Mihailovic, V., ... & Rosic, G. (2019). N-acetylcysteine protects against the anxiogenic response to cisplatin in rats. *Biomolecules*, 9(12), 892.
217. Wang, L., Kuang, Z., Zhang, D., Gao, Y., Ying, M., & Wang, T. (2021). Reactive oxygen species in immune cells: A new antitumor target. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 133, 110978.
218. Warncke, U. O., Toma, W., Meade, J. A., Park, A. J., Thompson, D. C., Caillaud, M., ... & Damaj, M. I. (2021). Impact of dose, sex, and strain on oxaliplatin-induced peripheral neuropathy in mice. *Frontiers in Pain Research*, 2, 683168.
219. Woisky, R. G., & Salatino, A. (1998). Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. *Journal of apicultural research*, 37(2), 99-105.
220. Yadav, Y. C. (2015). Hepatoprotective effect of *Ficus religiosa* latex on cisplatin induced liver injury in Wistar rats. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 25, 278-283.
221. Yagi, K. (1976). A simple fluorometric assay for lipoperoxide in blood plasma. *Biochem. Med.*, 15, 212-216.
222. Yousef, M. I., Saad, A. A., & El-Shennawy, L. K. (2009). Protective effect of grape seed proanthocyanidin extract against oxidative stress induced by cisplatin in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 47(6), 1176-1183.
223. Yousef, B. A., Awad, Z., Adam, S., Abdelgadir, S., & Mergani, A. (2021). Assessment of Anticonvulsant Activities of Petroleum Ether Extract of *Anacyclus pyrethrum* Roots on Experimental Rats. *Pharmaceutical and Biomedical Research*, 7(1), 47-54.
224. Zhang, L., Hall, M., & Bastola, D. (2018). Utilizing Twitter data for analysis of chemotherapy. *International journal of medical informatics*, 120, 92-100.

CHEMICAL COMPOSITION AND PROTECTIVE EFFECT OF *ANACYCLUS VALENTINUS* AGAINST CISPLATIN-INDUCED HEPATOTOXICITY IN WISTAR RATS

Aicha Dif¹, Mokhtaria Yasmina Boufadi^{2,3}*, Abdelkader Ammam¹, Miloud Slimani¹

Address(es):

¹Laboratory of Biotoxicology, Pharmacognosy and Biological Valorisation of plants (LBPVBP). Department of Biology, Faculty of Sciences, Moulay Tahar University, 20000 Saida, Algeria.

²Laboratory of Bioeconomics, Food Safety and Health, Faculty of Natural Sciences and Life, Université de Abdelhamid Ibn Badis, 27000 Mostaganem, Algeria.

³Laboratory of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmacy, Université Libre de Bruxelles, 1050 Brussels, Belgium.

*Corresponding author: yasminaboufadi@yahoo.fr; yasmina.boufadi@univ-mosta.dz

<https://doi.org/10.55251/jmbfs.5290>

ARTICLE INFO

Received 15. 9. 2021
Revised 2. 1. 2022
Accepted 12. 1. 2022
Published 1. 6. 2022

Regular article



ABSTRACT

The current study was conducted to evaluate the protective effect of the ethanolic extract of *Anacyclus valentinus* (EEA) against hepatotoxicity resulting from exposure to cisplatin (CP) in male rats. In this study, a total of twenty four adult male Wistar rats were used and divided into four groups. The first group (G1) was the control group, the second group (G2) was exposed to CP (three doses of 7 mg/Kg body weight for 6 days; by intravenous injection), the third group (G3) received 200 mg/Kg EEA orally per day for a period of 28 days and the last group (G4) was exposed to CP and treated with 200 mg/Kg EEA. Thus, the levels of γ -GT, ALP, AST and ALT were significantly increased ($p < 0.01$) due to exposure to CP and these enzymes levels were reversed in the CP group receiving EEA. Further, CP caused a significant decrease ($p < 0.001$) in the activity of antioxidant enzymes (SOD, CAT and GSH-PX) with an increase in the level of MDA and NO. Besides, administration of EEA to rats (G4) restored the impaired activity of the antioxidant system with a decrease in MDA and NO. A significant increase ($p < 0.001$) in markers of inflammation (TNF- α and PGE2) was observed in animals treated with CP; while the effect was diminished by EEA. In addition, histological study of the liver indicated that injection of CP to rats caused vascular congestion, microvacuolar steatosis, inflammatory reaction and chronic hepatitis; these changes were resolved by administration of EEA. In conclusion, EEA possessed a therapeutic effect against CP-induced hepatotoxicity in rats.

Keywords: *Anacyclus valentinus*; HPLC/UV; cisplatin; hepatotoxicity; oxidative stress

INTRODUCTION

Cisplatin (cis-diaminedichloroplatin) is among favored cancer remedies (Naseem et al., 2015). It is effective in the treatment of epithelial malignancies such as cancer in lungs, head, neck, ovaries, bladder, testes (Boulikas and Vougiouka, 2003), cervix, stomach and some other cancers (Ghosh, 2019). Despite its therapeutic efficacy, treatment with cisplatin is associated with various side effects, in particular on the central nervous system and kidneys, as well as ototoxicity (Ferreira and al., 2018), hematotoxicity, vomiting (Hulin and al., 2010), gastrointestinal toxicity, asthenia (Boulikas and Vougiouka, 2003) nausea / vomiting and particularly, hepatotoxicity (Wang et al., 2020). The hepatotoxic potential is dependent on high doses of cisplatin (Atasayar et al., 2009).

Cisplatin molecule is composed of one platinum atom, bonded with two amide groups and two reactive chlorides (Xie et al., 2019). Cisplatin primarily targets DNA and induces cytotoxicity (Liu et al., 2013). Cisplatin chloride ligands are replaced by water molecules, generating a positively charged electrophile [PtCl (H₂O) (NH₃)₂]⁺ (Sultana et al., 2012). The aqueous form of cisplatin binds to DNA primarily through the N7 atoms of purine bases with a preference for guanine over adenine (Madrigras et al., 2020). It efficiently crosslinks adjacent purines and facilitates the formation of DNA folds, thereby preventing DNA replication and transcription (Liu et al., 2013) and inducing massive cell death, including by apoptosis (Rocha et al., 2018).

Medicinal plants have a great effect on the prevention and treatment of illnesses (Wang et al., 2020). Herbal medicines are extracted from plants and are also referred to as secondary metabolites or phytochemicals (Schuhladena et al., 2019). Phytochemicals have a high toxicity and yield various molecular responses in prokaryotic and eukaryotic animal cells by modulating several biological processes including cell cycle, metabolism, protein synthesis, stress response, energy metabolism and cell senescence (Singh et al., 2020). Phytochemicals, being cheap and available, have limited or lower toxicity as opposed to that in synthetic drugs (Welcome, 2020).

Anacyclus which is from the Asteraceae family is a yearly Mediterranean genus (Torices et al., 2013). 12 different species are found in northwest Africa, southern Europe and the Middle East.

Anacyclus valentinus, commonly called "ghertoufa" or valence ancyclus, is an annual specie mainly found in different regions of Algeria where it is used as a food condiment (Houicher et al., 2018). *Anacyclus* has various pharmacological activities such as anti-arthritis power and reduction of rheumatoid arthritis (Side Larbi et al., 2017), anti-inflammatory and analgesic (Jawhari et al., 2020), diabetes and cholesterol (Tadjeddine et al., 2013). Antimicrobial and antifungal activities were also observed (Side Larbi et al., 2016). Recently, it has also been reported that extract of *anacyclus* is effective against Human Colorectal Cancer Cell Line (Mohammadi et al., 2017). Their medicinal property is due to the presence of flavonoids and terpenoids (Elazzouzi et al., 2014, Jawhari et al., 2021).

This study aims to identify the biochemistry of *Anacyclus valentinus* ethanolic extract and evaluate the protective effect it has on cisplatin-induced hepatotoxicity on our lab-subjects.

MATERIAL AND METHODS

Reagents and chemicals

Cisplatin (CP, 25 mg) were procured from Mylan (Saint Priest, France). Ethanol (95% purity), trifluoroacetic acid (TFA), formic acid, acetonitrile, chloroform, tris-HCl, sucrose, EDTA and bovine serum albumin from Sigma - Aldrich Corporation (St. Louis, MO, USA) and formaldehyde from Biochem (Montreal, NJ, Canada). Alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP) and gamma glutamyl transpeptidase (γ -GT) were assessed through bioMerieux packs (bioMerieux SA France) The standards (trans-cinnamic acid, gallic acid, benzoic acid, ferulic acid, m-coumaric acid, caffeic acid, rosmarinic acid and ellagic acid, catechin, hesperidin, thymol, galangin, tectochrysin, pinocembrin, acetone, rutin, chrysin, apigenin, kaempferol,

quercétine, ascorbic acid and menthol) were acquired from Sigma-Aldrich as well.

Origin and collection of *Anacyclus valentinus*

Anacyclus valentinus Linnaeus (Asteraceae) used in this study was collected in spring 2018 in El Bayadh located in southwest Algeria, 1313 m above sea level (33° 40' 49.001" N 1° 1' 13.001" E). El-Bayadh has a cold semi-arid climate. We then dried the aerial parts of *Anacyclus valentinus* at room temperature, finely crushed it with an electric grinder and stored away from light and humidity. The plant was identified and authenticated by the botanist Pr Terras Mohamed in Laboratory of Water Resources and Environment from the Saida University.

Plant material and ethanolic extraction of *Anacyclus valentinus*

The extract of *Anacyclus valentinus* was carried out, with some adjustments, through the protocol of Sujith et al. (2012). We cut 500 g of the aerial parts of this plant into small pieces and grind them before extracting the active ingredients in 2 liters of 95% (v/v) ethanol in a cold water bath with ultrasound for 1h30. This extraction operation was repeated 3 times. We then filtered by means of Whatman N° 1 paper before evaporation of the dry solvent under reduced pressure at a temperature of 60°C. These filtrates represented *Anacyclus valentinus* ethanolic extract (EEA).

High performance liquid chromatography/ultraviolet analysis

EEA constituents were identified through high-performance liquid chromatography (HPLC) combined with ultraviolet (UV) detection (Agilent 1100). We performed separation in a HPLC apparatus equipped with an Agilent poroshell 120EC column 100 mm long, 2.1 mm in diameter and 2.7 µm thick. The mobile phase was solvent A (water / TFA / formic acid (99: 0.25: 0.75)) and solvent B (acetonitrile) according to the following gradient (t / min,% B): (0, 0), (1, 10), (2, 12.5), (3, 15), (9, 80), (10, 100), (11, 100), (14, 0) with post 5 min. We set the analytical conditions to maintain the column temperature at 50°C, flow rate of 0.6 mL/min, and directly inject aliquots (10 µL). Absorbance was checked at 270 and 320 nm (Moulai-Hacene et al., 2020; Boufadi et al., 2021).

The sample was treated in the EEA extract with 1: 100 (v/v) diluted in methanol. The constituents of *Anacyclus valentinus* were determined by comparing their retention times and UV spectra with different phenolic standards (trans-cinnamic acid, gallic acid, benzoic acid, ferulic acid, m-coumaric acid, caffeic acid, rosmarinic acid and ellagic acid), flavonoids (catechin, hesperidin, thymol, galangin, tectochrysin, pinocembrin, acetone, rutin, chrysin, apigenin, kaempferol and quercetin) and others (ascorbic acid, menthol). Stock solutions were obtained by dissolving the standards in methanol (1 mg/mL). The components were quantified in mg through standard curves per 1 g of crude *Anacyclus valentinus*.

Animal study

The experiment was carried out on 24 adult male Wistar rats, with a body weight between 120 and 140 g, from the Pasteur Institute of Algiers. The animals were acclimatized in the animal house of the Department of Biology, Faculty of Sciences, Saida University. All animal experiments were approved by the local ethical committee for animal care of the institution (Saida University) (rat/mouse 20% maintenance, RN-01-20K12; Carfil Quality).

The rats were placed in metabolic cages for a 2 weeks adaptation period at temperatures between 18°C at 25°C and natural environment. The rats are provided with food (kibble; production company, Bouzaréa, Algiers). Two weeks later, the animals were split into four groups. All the rats have access to water and food (Silici et al., 2011; Chaa et al., 2019).

- G1: Rats received 1 mL of physiological water for 28 days (control group).
- G2: Rats received 1 mL of physiological water for 22 days, followed by three injections of CP (7 mg/Kg) intravenously (i.v) (every 48 hours one injection).
- G3: Rats received 200 mg/Kg/day of EEA by force-feeding for 28 days.
- G4: Rats received 200 mg/Kg/day of EEA by force-feeding for 28 days, with three injections of CP (7 mg/Kg) intravenously (i.v) (every 48 hours one injection).

Serum collection and tissue sampling

On day 29 (the end of the treatment period), the animals were abstained from food for 12 hours prior to blood collection. They were as well kept under light chloroform anesthesia to avoid any risk of changing biochemical parameters by general anesthesia, before being sacrificed. EDTA, heparin and dry tubes were used for the collection of blood. The blood was centrifuged at 3000 rpm for 15 minutes. Serum or plasma was collected for biochemical assays.

The liver was retrieved, rinsed in saline solution (NaCl 0.9%) and weighed. A part of the liver was placed in phosphate buffer (PBS) and stored in the freezer at -80°C for the determination of antioxidant status and tumor necrosis factor alpha (TNF-α). In order to make histological sections, another part of the liver was fixed by

formalin (10%). Samples of peritoneal tissue were collected and stored in PBS for the determination of prostaglandin E2 (PGE2).

Biochemical analysis of liver function

Alanine aminotransferase (ALT, EC 2.6.1.2), aspartate aminotransferase (AST, EC 2.6.1.1), alkaline phosphatase (ALP, EC 3.1.3.1) and gamma glutamyl transpeptidase (γ-GT; EC 2.3.2.2) levels were evaluated in serum by the chemistry analyzer (Mindray BS-240, China).

Determination of oxidative stress markers

Frozen liver portions were homogenized in ice buffer (10 mM tris-HCl, pH 7.4, 250 mM sucrose, 0.5 mM EDTA and 0.5% bovine serum albumin). Then centrifuged at 10000 rpm/10 min at 4°C, in order to determine the parameters of the antioxidant status the supernatant was kept at 4°C, in accordance with Rustin et al. (1994).

Thiobarbituric acid was used to determine liver lipid peroxidation. It was quantified in terms of malondialdehyde (MDA) content (Yagi et al., 1976). The protocol of Elstner et al. (1983) was used to determine the enzymatic activity of superoxide dismutase (SOD). The method of Lück (1963) was used to determine the enzymatic activity of catalase (CAT). The method described by Rostruck et al. (1073) was used to measure the activity of hepatic glutathione peroxidase (GSH-Px). The protocol of Alam et al. (2013) was used to measure the Nitric oxide (NO) scavenging activity.

Determination of inflammation markers

ELISA kit (Thermo Fisher Scientific, USA) was used to perform the TNF-α assay on liver tissue homogenate, results were expressed in ng/g tissue was quantified using the ELISA kit (Abcam Discover More, UK) was used to quantify PGE2 assay in peritoneal fluid, values were expressed in pg/mL of peritoneal fluid.

Histopathologica studies

The rat liver was fixed by immersion in formaldehyde (10%) and coated in kerosene. A rotating microtome (Leica, Germany) was used to cut 4 µm thick sections which were stained with hematoxylin and eosin in duplicate, observed under an optical microscope with magnification X100 (OPTIKA-B383 PLI, Italy) was used to examine them.

Statistical analysis

SigmaStat software (SPSS, 3.0, SPSS, Inc., Chicago, IL) was used for the analysis. Data was presented as mean±SD and were evaluated by one-way ANOVA, with Dunnett's post hoc test. When appropriate, ANOVA on Rank with Dunn's post hoc test was used.

RESULTS AND DISCUSSION

Determination of the chemical composition of eea by HPLC

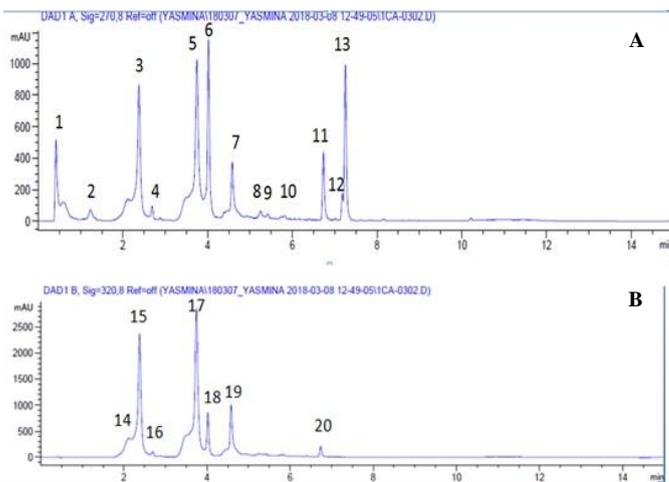
Results of the identification of chemical compounds of EEA by HPLC/UV are shown in Table 1 and Figure 1.

Table 1 HPLC/UV Composition of *Anacyclus valentinus* ethanolic extract (EEA) in (mg/g).

Peak number	Components	Retention time per EEA	
		min	(mg/g)
1	Luteolin	0.42	0.45
2	Galangin	0.59	0.11
3	Catechin	2.37	0.89
4	Thymol	2.68	0.12
5	Bis-methylated Quercetin	3.74	1.16
6	Quercetin	4.01	1.36
7	Rutin	4.57	0.26
8	Acacetin	5.25	0.17
9	hesperidin	5.41	0.10
10	Apigenin	5.81	0.02
11	Kaempferol	6.73	0.30
12	Pinocembrin	7.18	0.19
13	Chrysin	7,25	0.95
14	Gallic acid	2.11	0.18
15	Caffeic acid	2.37	1.01
16	ascorbic acid	2.68	0.12
17	Ferulic acid	3.74	1.24
18	m-coumaric	4.01	0.33
19	Rosmarinic acid	4.57	0.41
20	Trans cinnamic	6.73	0.11

Caffeic acid appears at 2.37 min with a level of 1.01 mg/g, chrysin also comes out at 7.25 min, but with a concentration of 0.95 mg/g and luteolin was also present at a level of 0.45 mg/g (Rt=0.42 min). *Anacyclus valentinus* is rich in quercetin (1.36 mg/g at 4.01 min), ferulic acid (1.24 mg/g at 3.74 min) and bis-methylated quercetin (1.16 mg/g at 3.74 min). While it isn't rich in apigenin (0.02 mg/g).

Figure 1 EAA analysis through HPLC/UV Chromatograms , wavelength 270 (A) and 320 nm (B): 1. Luteolin; 2. Galangin; 3. Catechin; 4. Thymol; 5. Bis-methylated Quercetin; 6. Quercetin; 7. Rutin ; 8. Acacetin; 9. Hesperidin; 10. Apigenin; 11. kaempferol; 12. pinocembrin; 13. chrysin; 14. Gallic acid ; 15. Caffeic acid; 16. Ascorbic acid; 17. Ferulic acid; 18. M-coumaric acid; 19. Rosmarinic acid; 20. Trans-cinnamic.



Based on the HPLC results, it can be noted that *Anacyclus valentinus* chemical composition differs from that of **Side Larbi et al. (2017)** who reported the absence of certain compounds in the methanolic extract of *Anacyclus valentinus* such as galangine, rutoside, acetine, hesperidin, pinocembrin, chrysin, caffeic acid, m-coumaric acid, rosmarinic acid gallic acid and trans cinnamic acid, with the presence of myricetin, sinapic acid, malic acid, azelaic acid and lycoperodine. **Canli et al. (2017)** showed that the ethanolic extract of *Anacyclus pyrethrum* (one of the species of the genus *Anacyclus*) consists mainly of palmitic acid, naphthalene, decahydro-1,1-dimethyl, 9,12-octadecadienoic acid (Z,Z) , 7-tetradecenal, gamma-sitosterol, N-isobutyl-tetradeca-2,4-dienamide, (Z) and benzofuran-2-carboxaldehyde. These elements are different from the ethanol extract components of *Anacyclus valentinus*.

Liver function

Table 2 presents the results of the different liver parameter assays (ALT, AST, γ -GT and ALP).

Table 2 Effect of ethanolic extract of *Anacyclus valentinus* (EEA) on the hepatic function parameters on rats dosed by cisplatin.

Parameters	Groups			
	G1	G2	G3	G4
ALT (UI/l)	39.75 ± 2.26	57.26 ± 7.23 ^a	45.32 ± 1.49	41 ± 4.40 ^b
AST (UI/l)	106.20 ± 3.82	143.50 ± 11.26 ^a	106.04 ± 4.32 ^a	107.45 ± 5.26 ^b
ALP (UI/l)	53.83 ± 1.74	213 ± 9.84 ^a	52 ± 2.88 ^a	79.66 ± 3.38 ^b
γ -GT (UI/l)	29 ± 1.15	174.66 ± 7.51 ^a	34.66 ± 2.02 ^b	53.66 ± 2.60 ^b

Parameters expressed as mean ± SEM (n=6).

^a Significant difference from the control group (G1) (p < 0.05). ^b Significant difference from the G2 group (p < 0.05). G1: control ; G2: 7 mg/ Kg of cisplatin; G3: 200 mg / kg of EEA (28 days); G4: 200 mg / kg of EEA (28 days) then 7 mg /kg of cisplatin.

ALP concentration was 75% elevated (P<0.05) in G2 rats (7 mg/Kg cisplatin-injected only) as opposed to G1 (53.83 IU/L). A 63% decrease was noticed in G4 cured by 200 mg/Kg of EEA as to the G opposed to G2. In contrast, G3 which was only dosed EEA for a 21 day period, ALP levels were not significant as opposed to G1.

Based on our results, AST and ALT respectively increased by 26% and 31%, in G2 (which were solely dosed by cisplatin) as opposed to G1 (control). CP exposed rats dosed by EEA (G4) showed a -25 and -28% (p<0.05) decrease AST and ALT activity as opposed to G2.

Our present results show that CP (p<0.05) (G2) significantly increased γ -GT (+145.66 IU/L) concentration as opposed to (G1). In contrast, γ -GT was reduced by -121 IU/L in G4 (dosed by 200 mg/Kg of EEA and CP simultaneously) as opposed to (G1).

Cisplatin is a common platinum metaldrug used in chemotherapy because of its ability to bind to genomic DNA (**Ferreira et al., 2020**). The cytotoxicity of cisplatin correlates with the formation of DNA adducts that block DNA replication, encourages G2 cell cycle arrest, hinders RNA transcription and ultimately promotes cell death (**Abdel-Daim et al., 2020**).

The results of our experiment reveal that intravenous injection of cisplatin in male rats produced significant hepatotoxic effects. Significant increase (P<0.05) in the level of liver function parameters (ALT, AST, ALP and γ -GT), hepatic

malondialdehyde, NO free radical and inflammation markers (TNF- α , PGE2) were noticeable , together with enzymatic antioxidants (SOD, CAT and hepatic GSH-Px) activity reduction in animals dosed by cisplatin compared to controls. These results were proven by the histopathological alterations observed in the liver. This confirms what has been described by **Hagar et al. (2019)**; **Boraja et al. (2018)**; **Chandel et al. (2018)** and **Kart et al. (2010)**. They reported that exposure to cisplatin decreased antioxidant enzyme activities (SOD, GSH-Px, CAT) and increased lipid peroxidation, NO and serum levels of transaminases, alkaline phosphatase and γ -GT; with the production of changes in liver tissue particularly around central vein cells and hepatocellular vacuolization and sinusoidal dilation and lymphocyte infiltration.

Cisplatin ability to induce changes in ALT and AST activity may be a secondary incident resulting from cisplatin-induced liver damage and resulting in hepatocyte leakage (**Yadav, 2015**).

Liver oxidative stress markers and histology

Table 3 presents values for Liver antioxidant status of the different groups.

Table 3 *Anacyclus valentinus* ethanolic extract (EEA) effect on malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GSH-Px) tumor necrosis factor alpha (TNF- α) and nitric oxide (NO) in rats dosed with cisplatin.

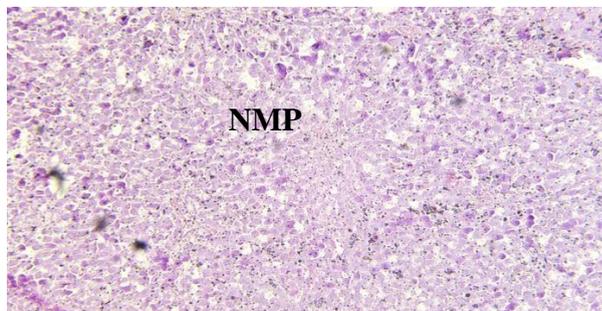
Parameters	Groups			
	G1	G2	G3	G4
MDA liver (nmol/ml)	0.93 ± 0.01	3.22 ± 0.12 ^a	0.80 ± 0.02	1.26 ± 0.35 ^b
SOD liver (U/cg Hb)	46.61 ± 0.81	12.83 ± 0.76 ^a	75.52 ± 0.85	35.93 ± 1.13 ^b
CAT liver (U/mg Hb)	101.72 ± 1.33	28.11 ± 0.68 ^a	109.76 ± 0.85	97.41 ± 0.43 ^b
GSH-Px liver (U/g Hb)	84.97 ± 0.69	15.06 ± 0.41 ^a	93.96 ± 0.86	82.88 ± 0.88 ^b
TNF- α (ng/g)	47.00 ± 0.61	105.49 ± 0.94 ^a	39.8 ± 0.67	54.20 ± 0.53 ^b
NO (μ mol/g)	5.45 ± 0.25	25.32 ± 0.24 ^a	4.23 ± 0.19	6.12 ± 0.09 ^b

Parameters expressed as mean ± SEM (n=6).

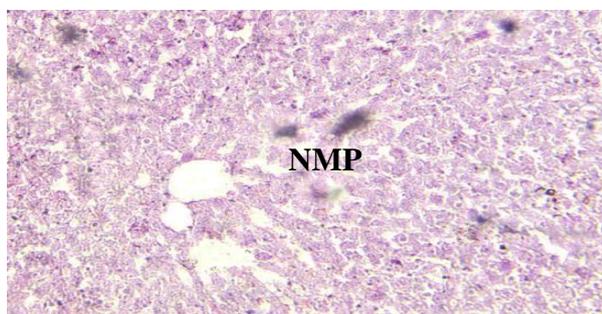
^aSignificant difference from the control group (G1) (p < 0.05). ^bSignificant difference from the G2 group (p < 0.05). G1: control ; G2: 7 mg/ Kg of cisplatin; G3: 200 mg / kg of EEA (28 days); G4: 200 mg / kg of EEA (28 days) then 7 mg /kg of cisplatin.

Our findings showed a significant decrease ($P < 0.05$) in SOD, CAT and GSH-Px levels in the liver of G2 (rats exposed to 7 mg/Kg CP) by -72.47%, -72.36% and -82.27%, as opposed to G1. Hepatic antioxidant enzymes activity highly augmented ($P < 0.05$) in rats treated by *Anacyclus valentinus* namely G4 (treated with 200 mg/Kg of EEA and CP at the same time), where an increase in SOD (+23.09 U/cg), CAT (69.29 U/mg) and GSH-Px (67.82 U/g) was recorded compared to rats in group G2. Intravenous injection of CP in G2 significantly increased MDA and NO levels ($p < 0.001$) in the liver by 71.11% and 78.47%, respectively, compared to (G1). In the same context, a significant reduction ($p < 0.001$) separately of -1.96 nmol/mg and -19.20 $\mu\text{mol/g}$ in hepatic MDA and NO was observed in G4 (which were dosed CP and EEA at the same time) compared to G2.

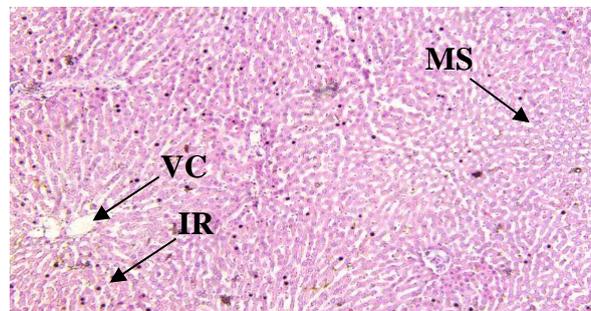
A



C



B



D

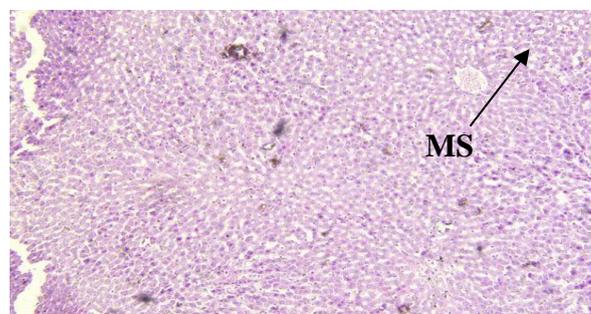


Figure 2 Microscopic examination of hepatic tissue (HE x 100) of groups G1 (A), G2 (B): vascular congestion, an inflammatory reaction and microvacuolar steatosis, G3 (C) and G4 (D): microvacuolar steatosis. G1 : G2: cisplatin 7 mg/ Kg ; G3:EEA 200 mg / Kg (over a 28 day period); G4: EEA 200 mg / Kg (over a28 day period) then cisplatin 7 mg /Kg NMP: normal hepatic parenchyma, IR: inflammatory reaction, MS: microvacuolar steatosis, VC: vascular congestion.

Oxidative stress is commonly known to be a disbalance between reactive oxygen species (ROS), reactive nitrogen species (RNS) production and antioxidant capacity (Ścibior et al., 2018). Under stressful conditions, antioxidants serve as a defense mechanism against free radicals and control ROS. Antioxidants restrain oxidation and antioxidant deficiencies in the body (Alexander et al., 2019).

Oxidative stress is one of the most important states of liver tissue induced by cisplatin. The O_2^- generated by cisplatin is transformed into H_2O_2 by SOD and detoxified by CAT or GSH-Px by conversion into H_2O and O_2 (Bentli et al., 2013). According to Youcef et al. (2009), cisplatin toxicity mechanism relates to the depletion of the antioxidant defense system. Experiments showed that a high decrease in antioxidant activities and increase in free radicals is typical under chemotherapy regimens, namely to cisplatin treatment.

Cisplatin stimulates the production of ROS by damaged mitochondria, which decreases the production of antioxidants and increases the production of free radicals (Omar et al., 2016) including NO. MDA is a lipid peroxidation product namely resulting from the toxic effects of active ROS. ROS is a result of the oxidation of unsaturated fatty acids in cell membranes (Cagin et al., 2015).

Markers of inflammation

The results presented in Table 3 show a very high level of $\text{TNF-}\alpha$ (+55%) in G2 (CP 7 mg/Kg injected three times) as opposed to (G1). Contrastingly, EEA dosing (200 mg/Kg for a 21 days period) and EEA injection to G3 showed a significant decrease (-51.29 ng/g) by report to the G2. In group G3 (EEA dosed / 200 mg/Kg), the level of $\text{TNF-}\alpha$ (39.8 ng/g) was close to that of the control group (47 ng/g).

Based on our results shown in Figure 3, there was a significant increase ($P < 0.05$) of +50% PGE2 in G2 (injected with CP only) compared to the rats of the first group G1. In addition, there was a 42% decrease in prostaglandin E2 in the rats of group G4 (which received 200 mg/Kg of EEA and CP) in comparison to group G2. Administration of the EEA to rats in the G3 group improved PGE2 levels compared to the control group.

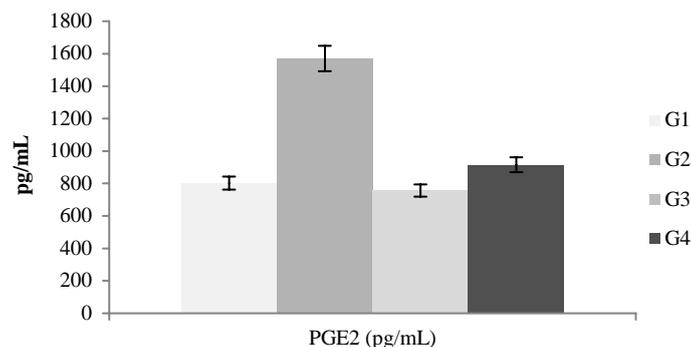


Figure 3 Effect of ethanolic extract of *Anacyclus valentinus* (EEA) on prostaglandin E2 (PGE2) in Wistar rats dosed by cisplatin. Parameters expressed as mean \pm SEM (n=6).

Increased amounts of PGE2 are produced under several pathological conditions, including inflammation and tissue damage (Elkhouly et al., 2012). $\text{TNF-}\alpha$, is a major mediator in several immunological and inflammatory responses and in a number of pathological conditions (Huang et al., 2005). It is essential in initiating an effective inflammation process against infection. Their excessive production may lead to organ system dysfunction and mortality (Cao et al., 2012).

Our experimental data show that *Anacyclus valentinus* ethanolic extract caused in rats a significant reduction ($P < 0.05$) in hepatic parameters, hepatic malondialdehyde, NO free radical and biomarkers of inflammation, and induced a significant increase in oxidative enzymes (SOD, CAT, GSH-Px), together with histopathological alteration disappearance.

The therapeutic effect of the ethanolic extract of *Anacyclus valentinus* against cisplatin-induced hepatotoxicity is due to the fact that it is rich in phenolic

compounds (thymol, ferulic acid, caffeic acid, etc.) and flavonoids (luteolin, galangin, catechin, quercetin, etc.).

Polyphenols, including flavonoids, are bioactive compounds with a number of biological activities (González et al., 2011). The hepatotoxicity of cisplatin is hypothesized via the oxidative stress dependent mechanism mediated through generating reactive oxygen species (ROS) (Palipoch et al., 2014) and decreasing the antioxidant defense system, including antioxidant enzymes (Kart et al., 2010). Polyphenols exert an anti-inflammatory actions through various mechanisms: radical scavenging, metal chelation, NADPH oxidase inhibition (NOX), mitochondrial respiratory chain tempering, inhibition of enzymes involved in the production of ROS such as xanthine oxidase, together with endogenous antioxidant enzymes SOD positive regulation (Yahfouf et al., 2018), CAT and GSH-Px (Zhang and Tsao, 2016). Flavonoids help inhibit enzymes in arachidonic acid metabolism through lowering inflammatory mediators release derived from this pathway. They are likely to inhibit prostaglandin biosynthesis by warding off phospholipase A2 and cyclooxygenase enzymes (Maleki et al., 2019).

CONCLUSION

Our study demonstrates that the aerial parts of *Anacyclus valentinus* contain polyphenols and flavonoids. It also revealed that cisplatin produces hepatotoxicity by increasing hepatic and inflammatory markers and the NO free radical; triggering lipid peroxidation and reducing antioxidant enzyme activities. Administration of ethanolic extract of *Anacyclus valentinus* to rats beneficially reduced cisplatin toxicity.

Acknowledgments: This work was sponsored with the Abdelhamid Ibn Badis University (a research project PRFU D00L01UN270120190001), Moulay Tahar University and University ULB Bruxelles.

REFERENCES

- Abdel-Daim, M. M., Abdel-Rahman, H. G., Dessouki, A. A., Ali, H., Khodeer, D. M., Bin-Jumah, M., Alhaderh, M. S., Alkahtani, S., Aleya, L. (2020). Impact of garlic (*Allium sativum*) oil on cisplatin-induced hepatorenal biochemical and histopathological alterations in rats. *Science of the Total Environment* 710:136338. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.136338>
- Alam, M. N., Bristi, N. J., Rafiquzzaman M. (2013). Review on *in vivo* and *in vitro* methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal* 21(2):143-152. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sjps.2012.05.002>
- Alexander, T. C., Han, F. X., Arslan, Z., Tchounwou, P. B. (2019). Toxicity of As in *Crassostrea virginica* (Gmelin, 1791) from the Northern Gulf of Mexico at the presence of Zn and its antioxidant defense mechanisms *Ecotoxicology and Environmental Safety* 172:514-522. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.02.009>
- Atasayar, S., Güreç-Orhan, H., Polat, A., Samdancı, E., Sarihan, M. E., Sagir, M. 2009. Preventive effect of aminoguanidine compared to vitamin E and C on cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *Experimental and Toxicologic Pathology* 61(1):23-32. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.etp.2008.04.016>
- Bentli, R., Parlakpinar, H., Polat, A., Samdancı, E., Sarihan, M. E., Sagir, M. 2013. Molsidomine prevents cisplatin-induced hepatotoxicity. *Archives of Medical Research* 44(7): 521-528. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2013.09.013>
- Boroja, T., Katanić, J., Rosić, G., Selaković, D., Joksimović, J., Mišić, D., Stanković, V., Jovičić, N., Mihaailović, V. 2018. Summer savory (*Satureja hortensis* L.) extract: phytochemical profile and modulation of cisplatin-induced liver, renal and testicular toxicity. *Food and Chemical Toxicology* 118:252-263. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.05.001>
- Boufadi, M.Y., Keddari, S., Moulai-Hacene, F., Chaa, S. 2021. Chemical composition, antioxidant and anti-inflammatory properties of *Salvia officinalis* extract from Algeria. *Pharmacognosy Journal* 13(2): 506-515. DOI: [10.5530/pj.2021.13.64](https://doi.org/10.5530/pj.2021.13.64)
- Boulikas, T., Vougiouka, M. 2003. Cisplatin and platinum drugs at the molecular level. *Oncology Reports* 10(6): 1663-1682. DOI: <https://doi.org/10.3892/or.10.6.1663>
- Cagin, Y.F., Erdogan, M. A., Sahin, N., Parlakpinar, H., Atayan, Y., Polat, A., Vardie, N., Yildize, A., Tanbek, K. 2015. Protective effects of apocynin on cisplatin-induced hepatotoxicity in rats. *Archives of Medical Research* 46(7): 517-526. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2015.08.005>
- Canli, Yetgin, A., Akata, I., Altuner, E. M. 2017. Antimicrobial activity and chemical composition screening of *Anacyclus pyrethrum* root. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research* 51(3s): s244-s248. DOI: [http://doi.org/10.5530/ijper.51.3s.22](https://doi.org/10.5530/ijper.51.3s.22)
- Cao, Y. Z., Tu, Y. Y., Chen, X., Wang, B. L., Zhong, Y. X., Liu, M. H. 2012. Protective effect of Ulinastatin against murine models of sepsis: inhibition of TNF- α and IL-6 and augmentation of IL-10 and IL-13. *Experimental and Toxicologic Pathology* 64(6): 543-547. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.etp.2010.11.011>
- Elazzouzi, H., Soro, A., Elhilali, F., Bentayeb, A., El Belghiti, M. A., Zair, T. 2014. Phytochemical study of *Anacyclus pyrethrum* (L.) of Middle Atlas (Morocco), and *in vitro* study of antibacterial activity of pyrethrum. *Advances in Natural and Applied Sciences* 8(8): 131-141.
- Elkhouly, G., Abd, S. M., Mohamed, A. S., Ibrahim, I. S., Hantera, M., Ezzat, S. 2012. The level of bronchoalveolar lavage fluid prostaglandine E2; is it diagnostic of bronchogenic carcinoma? *Egyptian Journal of Chest Diseases and Tuberculosis* 61(3): 167-170. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejcdt.2012.10.028>
- Elstner, E. F., Youngman, R. J., Obwald, W. 1983. Superoxyde dismutase. In: Bergmeyer, H.U. (Ed), *Methods of Enzymatic Analysis* 3: 293-302.
- Ferreira, B. L., Martel, F., Silva, C., Santos, T. M., Daniel-da-Silva, A. L. 2020. Nanostructured functionalized magnetic platforms for the sustained delivery of cisplatin: Synthesis, characterization and *in vitro* cytotoxicity evaluation. *Journal of Inorganic Biochemistry* 213:111258. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2020.111258>
- Ferreira, N. H., Furtado, R. A., Ribeiro, A. B., De Oliveira, P. F., Ozelin, S. D., De Souza, L. D. R., Neto, F. R., Miura, B. A., Magalhães, G. M., Nassar, E. J., Tavares, D. C. 2018. Europium (III)-doped yttrium vanadate nanoparticles reduce the toxicity of cisplatin. *Journal of Inorganic Biochemistry* 182: 9-17. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2018.01.014>
- Ghosh, S. 2019. Cisplatin: The first metal based anticancer drug. *Bioorganic Chemistry* 88:102925. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.102925>
- González, R., Ballester, I., López-Posadas, R., Suárez, M. D., Zarzuelo, A., Martínez-Augustin, O., Medina, F. S. D. 2011. Effects of flavonoids and other polyphenols on inflammation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 51(4): 331-362. DOI: <https://doi.org/10.1080/10408390903584094>
- Hagar, H., Husain, S., Fadda, L. M., Attia, N. M., Attia, M. M., Ali, H. M. 2019. Inhibition of NF- κ B and the oxidative stress-dependent caspase-3 apoptotic pathway by betaine supplementation attenuates hepatic injury mediated by cisplatin in rats. *Pharmacological Reports* 71(6): 1025-1033. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pharep.2019.06.003>
- Houicher, A., Hamdi, M., Hechachna, H., Özogul, F. 2018. Chemical composition and antifungal activity of *Anacyclus valentinus* essential oil from Algeria. *Food Bioscience* 25: 28-31. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2018.07.005>
- Huang, J., Wu, L., Tashiro, S. I., Onodera, S., Ikejima, T. 2005. The augmentation of TNF α -induced cell death in murine L929 fibrosarcoma by the pan-caspase inhibitor Z-VAD-fmk through pre-mitochondrial and MAPK-dependent pathways. *Acta medica Okayama* 59(6): 253-260. DOI: <http://doi.org/10.18926/AMO/31959>
- Hulin, A., Royer, B., Chatelut, E., Le Guellec, C. 2010. Niveau de preuve du suivi thérapeutique pharmacologique du cisplatine. *Thérapie* 65(3): 151-155. DOI : <https://doi.org/10.2515/therapie/2010022>
- Chaa, S., Boufadi M.Y., Keddari, S., Benchaib, A.H., Soubhye, J., Van Antwerpen, P., Riazi, A. 2019. Chemical composition of propolis extract and its effects on epirubicin-induced hepatotoxicity in rats. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 29(3): 294-300. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2019.01.005>
- Chandel, S. S., Shirsat, M., Sahu, R. K., Nayak, S. S. 2018. Modulatory Effect of Dietary Inclusion of *Aegle marmelos* Fruits against Cisplatin-Induced Hepatotoxicity In Wistar Rats. *Annals of Hepatology* 17(3): 482-489. DOI: [10.5604/01.3001.0011.7393](https://doi.org/10.5604/01.3001.0011.7393)
- Jawhari, F.Z., El Moussaoui, A., Bourhia, M., Imtara, H., Mechchate, H., Es-Safi, I., Ullah, R., Ezzeldin, E., Mostafa, G.A., Grafov, A., Ibenmoussa, S., Bousta, D., Bari, A. 2020. *Anacyclus pyrethrum* (L): Chemical Composition, Analgesic, Anti-inflammatory, and Wound Healing Properties. *Molecules* 25: 5469. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules25225469>
- Jawhari, F.Z., Moussaoui, A.E.L., Bourhia, M., Imtara, H., Saghrouchni, H., Ammor, K., Ouassou, H., Elamine, Y., Ullah, R., Ezzeldin, E., Mostafa, G.A.E., Bari, A. 2021. *Anacyclus pyrethrum* var. *pyrethrum* (L.) and *Anacyclus pyrethrum* var. *depressus* (Ball) Maire: Correlation between Total Phenolic and Flavonoid Contents with Antioxidant and Antimicrobial Activities of Chemically Characterized Extracts. *Plants* 10: 149. Doi: <https://doi.org/10.3390/plants10010149>
- Kart, A., Cigremis, Y., Karaman, M., Ozen, H. 2010. Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) ameliorates cisplatin-induced hepatotoxicity in rabbit. *Experimental and Toxicologic Pathology* 62(1): 45-52. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.etp.2009.02.066>
- Liu, Y. R., Ji, C., Zhang, H. Y., Dou, S. X., Xie, P., Wang, W. C., Wang, P. Y. 2013. Transplatin enhances effect of cisplatin on both single DNA molecules and live tumor cells. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 536(1): 12-24. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.abb.2013.04.014>
- Luck, H. 1963. In *Methods of Enzymatic Analysis*. (Ed. Bergmeyer, H. V.) New York: Academic Press 885- 894.
- Madrígal, E. A., Taylor, J. K., Raghu, G., West, R. M. 2020. Cross-linking of DNA monolayers by cisplatin examined using electrostatic denaturation. *Journal of Electroanalytical Chemistry* 860:113762. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2019.113762>
- Maleki, S. J., Crespo, J. F., Cabanillas, B. 2019. Anti-inflammatory effects of flavonoids. *Food Chemistry* 299:125124. DOI: [10.1016/j.foodchem.2019.125124](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125124)
- Moulai-Hacene, F., Boufadi, M.Y., Keddari, S., Homrani, A. 2020. Chemical composition and antimicrobial properties of *Elettaria cardamomum* extract, *Journal of Pharmacognosy* 12: 5-9. DOI: [10.5530/pj.2020.12.149](https://doi.org/10.5530/pj.2020.12.149)
- Naseem, I., Hassan, I., Alhazza, I. M., Chibber, S. 2015. Protective effect of riboflavin on cisplatin induced toxicities: A gender-dependent study. *Journal of*

- Trace Elements in Medicine and Biology 29:303-314. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2014.08.003>
- Omar, H. A., Mohamed, W. R., Arafa, E. S. A., Shehata, B. A., El Sherbiny, G. A., Arab, H. H., Elgendy, A. N. A. 2016. Hesperidin alleviates cisplatin-induced hepatotoxicity in rats without inhibiting its antitumor activity. *Pharmacological Reports* 68(2): 349-356. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pharep.2015.09.007>
- Palipoch, S., Punsawad, C., Koomhin, P., Suwannalert, P. 2014. Hepatoprotective effect of curcumin and alpha-tocopherol against cisplatin-induced oxidative stress. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 14(1): 111. DOI : <https://doi.org/10.1186/1472-6882-14-111>
- Rocha, C. R. R., Silva, M. M., Quinet, A., Cabral-Neto, J. B., Menck, C. F. M. 2018. DNA repair pathways and cisplatin resistance: an intimate relationship. *Clinics* 73(suppl 1):e478s. DOI: <https://doi.org/10.6061/clinics/2018/e478s>
- Rotruck, J. T., Pope, A. L., Ganther, H. E., Swanson, A. B., Hafeman, D. G., Hoekstra, W. 1973. Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Science* 179(4073): 588-590. DOI: [10.1126/science.179.4073.588](https://doi.org/10.1126/science.179.4073.588)
- Rustin, P., Chrétien, D., Bourgeron, T., Gérard, B., Rotig, A., Munnich, A. 1994. Biochemical and molecular investigation in respiratory chain deficiencies. *Clinical Chemistry Acta* 228(1): 35-51. DOI : [https://doi.org/10.1016/0009-8981\(94\)90055-8](https://doi.org/10.1016/0009-8981(94)90055-8)
- Ścibior, A., Gołębiowska, D., Adamczyk, A., Kurus, J., Staniszewska, M., Sadok, I. 2018. Evaluation of lipid peroxidation and antioxidant defense mechanisms in the bone of rats in conditions of separate and combined administration of vanadium (V) and magnesium (Mg). *Chemico-Biological Interactions* 284: 112-125. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2018.02.016>
- Schuhladen, K., Roether, J. A., Boccaccini, A. R. 2019. Bioactive glasses meet phytotherapeutics: The potential of natural herbal medicines to extend the functionality of bioactive glasses. *Biomaterials* 217:119288. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2019.119288>
- Side Larbi, K., Meddah, B., Belkhdja, H., Belmimoun, A., Slimani, K., Sonnet, P. 2017. Chemical composition and anti-arthritis activity of *Anacyclus valentinus* extract on adjuvant-induced arthritis in rats. *International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology* 2(6): 3025-3032. DOI: [10.22161/ijeeab/2.6.31](https://doi.org/10.22161/ijeeab/2.6.31)
- Side Larbi, K., Meddah, B., Tir Touil Meddah, A., Sonnet, P. 2016. Central Analgesic Property of Extracts and Essential Oils from *Inula viscosa* And *Anacyclus valentinus* (Asteraceae) In Wistar Rats. *Journal of Applied Environnement Biology Sciences* 6(9): 72-77.
- Silici, S., Ekmekcioglu, O., Kanbur, M., Deniz, K. 2011. The protective effect of royal jelly against cisplatin-induced renal oxidative stress in rats. *World Journal of Urology* 29(1):127-132. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00345-010-0543-5>
- Singh, B., Mal, G., Sharma, D., Sharma, R., Antony, C. P., Kalra, R. S. 2020. Gastrointestinal biotransformation of phytochemicals: Towards futuristic dietary therapeutics and functional foods. *Trends in Food Science & Technology* 106: 64-77. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.09.022>
- Sujith, K., Darwin, R., Suba, V. 2012. Toxicological evaluation of ethanolic extract of *Anacyclus pyrethrum* in albino Wistar rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease* 2(6): 437-441. DOI: [10.1016/S2222-1808\(12\)60096-6](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(12)60096-6)
- Sultana, S., Verma, K., Khan, R. 2012. Nephroprotective efficacy of chrysin against cisplatin-induced toxicity via attenuation of oxidative stress. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 64(6): 872-881. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.2012.01470.x>
- Tadjeddine, A. L., Kambouche, N., Medjdoub, H., Meddah, B., Dicko, A., Saidi, S., Derdour, A. 2013. Antidiabetic effect of *Anacyclus valentinus* L. aqueous extract in normoglycemic and streptozotocin induced-diabetic rats. *American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics* 5: 424-43.
- Torices, R., Agudo, A., Fernández, I. A. 2013. Not only size matters: achene morphology affects time of seedling emergence in three heterocarpic species of "Anacyclus" (Anthemideae, Asteraceae). *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 70(1): 48-55. DOI: [10.3989/ajbm.2351](https://doi.org/10.3989/ajbm.2351)
- Wang, R., Wang, S., Chan, S., Wang, Y., Zhang, Y., Zuo, Z., Chan, G. C., Li, H., Sun, H. 2020. Bismuth Porphyrin Antagonizes Cisplatin-induced Nephrotoxicity via Unexpected Metallothionein Independent Mechanisms. *iScience* 23: 101054. DOI: [10.1016/j.isci.2020.101054](https://doi.org/10.1016/j.isci.2020.101054)
- Wang, W., Xu, J., Fang, H., Li, Z., Li, M. 2020. Advances and challenges in medicinal plant breeding. *Plant Science* 298: 110573. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2020.110573>
- Welcome, M. O. 2020. Blood brain barrier inflammation and potential therapeutic role of phytochemicals. *PharmaNutrition* 11: 100177. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phanu.2020.100177>
- Xie, Z., Guo, Z., Lei, J., Yu, J. 2019. Scutellarin synergistically enhances cisplatin effect against ovarian cancer cells through enhancing the ability of cisplatin binding to DNA. *European Journal of Pharmacology* 844: 9-16. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2018.11.040>
- Yadav, Y. C. 2015. Hepatoprotective effect of *Ficus religiosa* latex on cisplatin induced liver injury in Wistar rats. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 25(3): 278-283. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2015.03.012>
- Yagi, K. 1976. A simple fluorometric assay for lipoperoxide in blood plasma. *Biochemical Medicine* 15(2): 212- 216.
- Yahfoufi, N., Alsadi, N., Jambi, M., Matar, C. 2018. The immunomodulatory and anti-inflammatory role of polyphenols. *Nutrients* 10(11): 1618. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu10111618>
- Yousef, M. I., Saad, A. A., El-Shennawy, L. K. 2009. Protective effect of grape seed proanthocyanidin extract against oxidative stress induced by cisplatin in rats. *Food and Chemical Toxicology* 47(6): 1176-1183. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.02.007>
- Zhang, H., Tsao, R. 2016. Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects. *Current Opinion in Food Science* 8: 33-42. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2016.02.002>

Résumé

L'objectif de ce travail est d'évaluer l'effet thérapeutique de l'extrait éthanolique d'*Anacyclus valentinus* (EEA) sur des rats Wistar mâles adultes exposés aux trois doses de 7 mg/ Kg de cisplatine (CP). 24 rats Wistar mâles adultes ont été utilisés et ils ont été répartis en quatre groupes; le premier groupe était le groupe témoin, le deuxième groupe était exposé au CP (trois doses de 7 mg / kg pendant 6 jours; par injection intraveineuse), le troisième groupe a reçu quotidiennement l'EEA (200 mg/kg/j pendant 28 jours; par voie orale) et le quatrième groupe a été exposé au CP et traité avec l'EEA en même temps.

L'analyse HPLC de l'EEA montre que l'EEA contient 20 composés, il est riche en quercétine, l'acide férulique, la quercétine bis méthylée et l'acide caféique. Le test DPPH constate que l'EEA est capable à piéger les radicaux libres.

Les résultats de cette étude montrent qu'au cours du test de la nage forcée, le temps d'immobilité (TIM) est significativement ($p < 0,05$) supérieur chez les rats intoxiqués par le CP par rapport à celui des rats témoins. Tandis que les rats du groupe CP-EEA montrent une diminution significative du TIM en comparaison avec le groupe CP. L'analyse statistique concernant le test d'anxiété clair/obscur, montrent que les rats exposés au CP ont un temps passé dans le compartiment obscur significativement plus important que les témoins. L'injection intraveineuse de cisplatine provoque une diminution significative ($p < 0,05$) du nombre de carreaux traversés et au nombre de redressement durant le test d'Open Field chez les rats CP comparés aux témoins. En revanche, les rats qui ont reçu le CP+EEA montrent une amélioration du nombre de carreaux traversés et du nombre de redressement.

Le taux de γ -GT, PAL, ASAT, ALAT, glycémie, urée et créatinine ont été significativement augmentés chez les rats intoxiqués (G2). Ce taux a été inversé chez le groupe CP+EEA. En outre, le CP a provoqué une diminution significative de l'activité des enzymes antioxydantes hépatiques, rénales et érythrocytaires et de thiols érythrocytaires avec une augmentation du taux de MDA et NO hépatiques, rénales et érythrocytaire. Par ailleurs, l'administration d'EEA aux rats du groupe CP a restauré l'activité altérée du système antioxydant avec une diminution du MDA et le NO. Une augmentation significative des marqueurs d'inflammation (TNF- α et PGE2) a été observée chez les animaux intoxiqués avec le CP; tandis que l'effet était atténué par l'EEA. Le cisplatine provoque aussi des lésions tissulaires et des nécroses au niveau du foie, reins, cerveau et cervelet.

En conclusion, le cisplatine induit la dépression du système nerveux, la réduction d'activité locomotrice et l'anxiété, l'hépatotoxicité, la néphrotoxicité, l'hématotoxicité et la neurotoxicité. Tandis que, L'EEA peut corriger les effets toxiques induits par le CP.

Mots clés : *Anacyclus valentinus*, HPLC/UV, cisplatine, toxicité, tests neurocomportementaux, homéostasie, statut antioxydant, les marqueurs de l'inflammation.

Abstract

The objective of this work is to evaluate the therapeutic effect of ethanolic extract of *Anacyclus valentinus* (EEA) on adult male Wistar rats exposed to three doses of 7 mg/kg of cisplatin (CP). 24 adult male Wistar rats were used and they were divided into four groups; the first group was the control group, the second group was exposed to CP (three doses of 7 mg/kg for 6 days; by intravenous injection), the third group received daily EEA (200 mg/kg/d for 28 days; orally) and the fourth group was exposed to CP and treated with EEA simultaneously.

HPLC analysis of EEA shows that EEA contains 20 compounds, it is rich in quercetin, ferulic acid, bis-methylated quercetin and caffeic acid. The DPPH test finds that EEA is able to scavenge free radicals.

The results of this study show that during the forced swimming test, the time of immobility (TIM) is significantly ($p < 0,05$) higher in CP intoxicated rats compared to control rats. While the rats in the CP-EEA group show a significant decrease in TIM compared to the CP group. Statistical analysis of the light/dark anxiety test shows that rats exposed to CP have a significantly longer time spent in the dark compartment than controls. Intravenous injection of cisplatin causes a significant decrease ($p < 0,05$) in the number of tiles crossed and the number of straightenings during the Open Field test in CP rats compared to controls. In contrast, rats that received CP+EEA show an improvement in the number of crossed tiles and the number of rightings.

The level of γ -GT, PAL, ASAT, ALAT, blood glucose, urea and creatinine were significantly increased in intoxicated rats (G2). This rate was reversed in the CP+EEA group. In addition, CP caused a significant decrease in the activity of hepatic, renal and erythrocyte antioxidant enzymes and erythrocyte thiols with an increase in hepatic, renal and erythrocyte MDA and NO. On the other hand, the administration of EEA to rats of the CP group restored the impaired activity of the antioxidant system with a decrease in MDA and NO. A significant increase in inflammatory markers (TNF- α and PGE2) was observed in animals intoxicated with CP; whereas the effect was attenuated by EEA. Cisplatin also causes tissue damage and necrosis in the liver, kidneys, brain and cerebellum.

In conclusion, cisplatin induces nervous system depression, reduced locomotor activity and anxiety, hepatotoxicity, nephrotoxicity, hematotoxicity and neurotoxicity. While, EEA can correct the toxic effects induced by CP.

Keywords : *Anacyclus valentinus*, HPLC/UV, cisplatin, toxicity, neurobehavioral tests, homeostasis, antioxidant status, markers of inflammation.